



# ***PATHOGENIE ET PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES AU COURS DES VASCULARITES ASSOCIEES AUX ANCA***

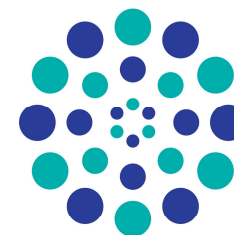
**Benjamin Terrier**

**CMR Maladies AutoImmunes et Systémiques Rares**

**Equipe "Neutrophiles et Vascularites", INSERM U1016**

**Hôpital Cochin, Université Paris Descartes**

**Paris, France**



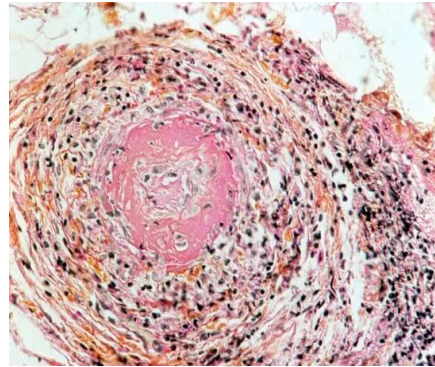
**GFEV** | GROUPE FRANÇAIS  
D'ÉTUDE DES  
VASCULARITES

## ***Liens d'intérêt***

- **Boards : Roche, Chugai, Vifor, LFB, Grifols, AstraZeneca**
- **Consultations/avis : Roche, Chugai, LFB, Grifols, GSK, AstraZeneca**
- **Frais de déplacement/congrès : Roche, LFB, Grifols, Octapharma, GSK, Janssen**

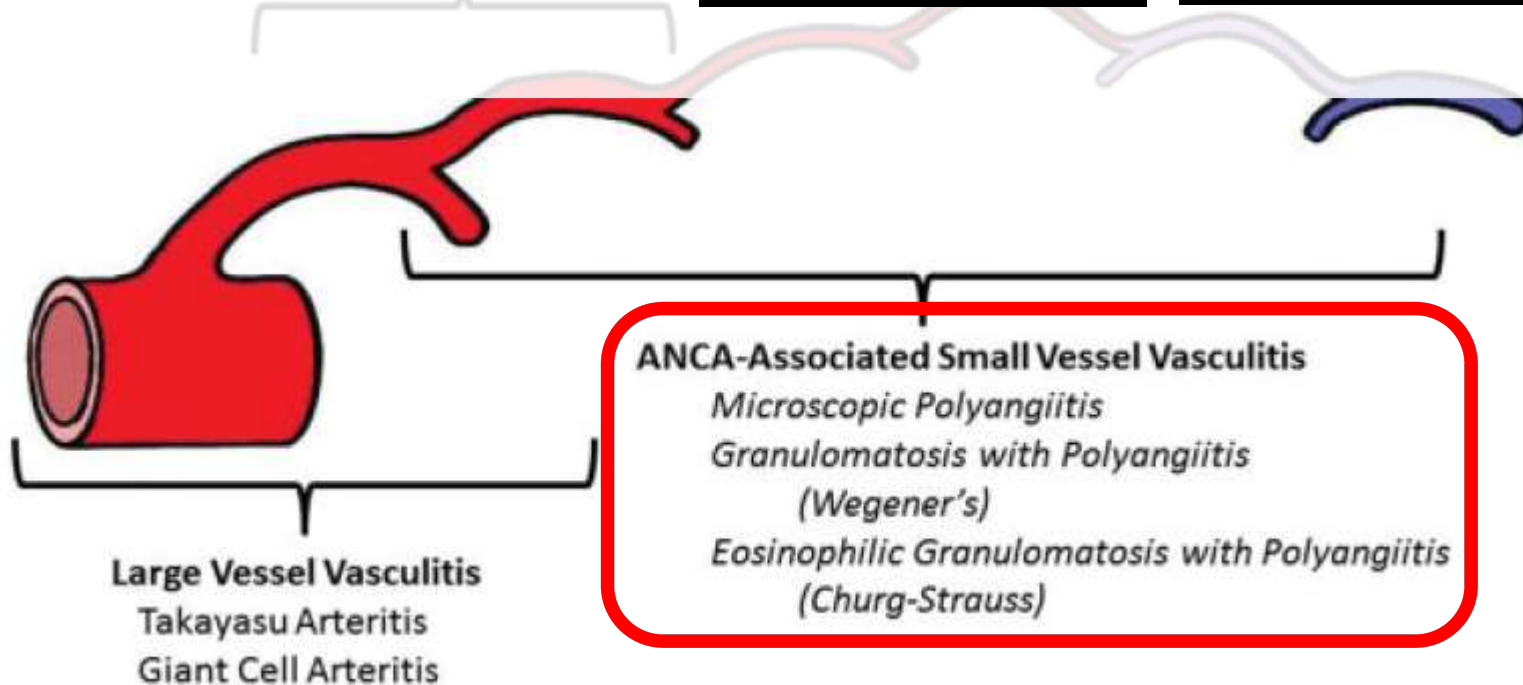
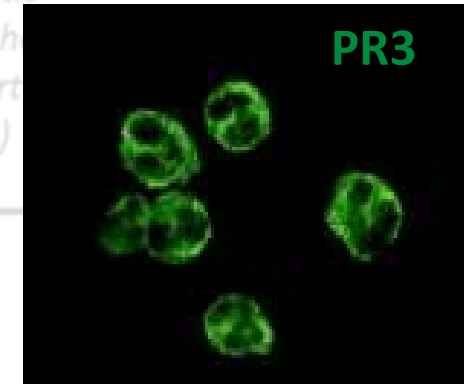
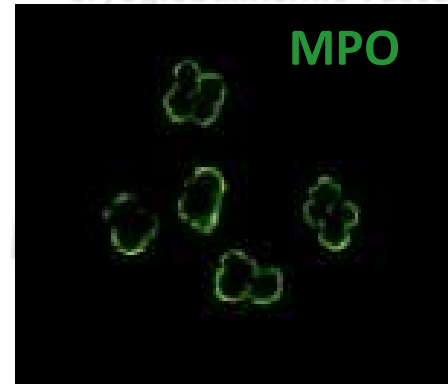
# Nomenclature de Chapel Hill 2012

**Vascularite  
nécrosante**



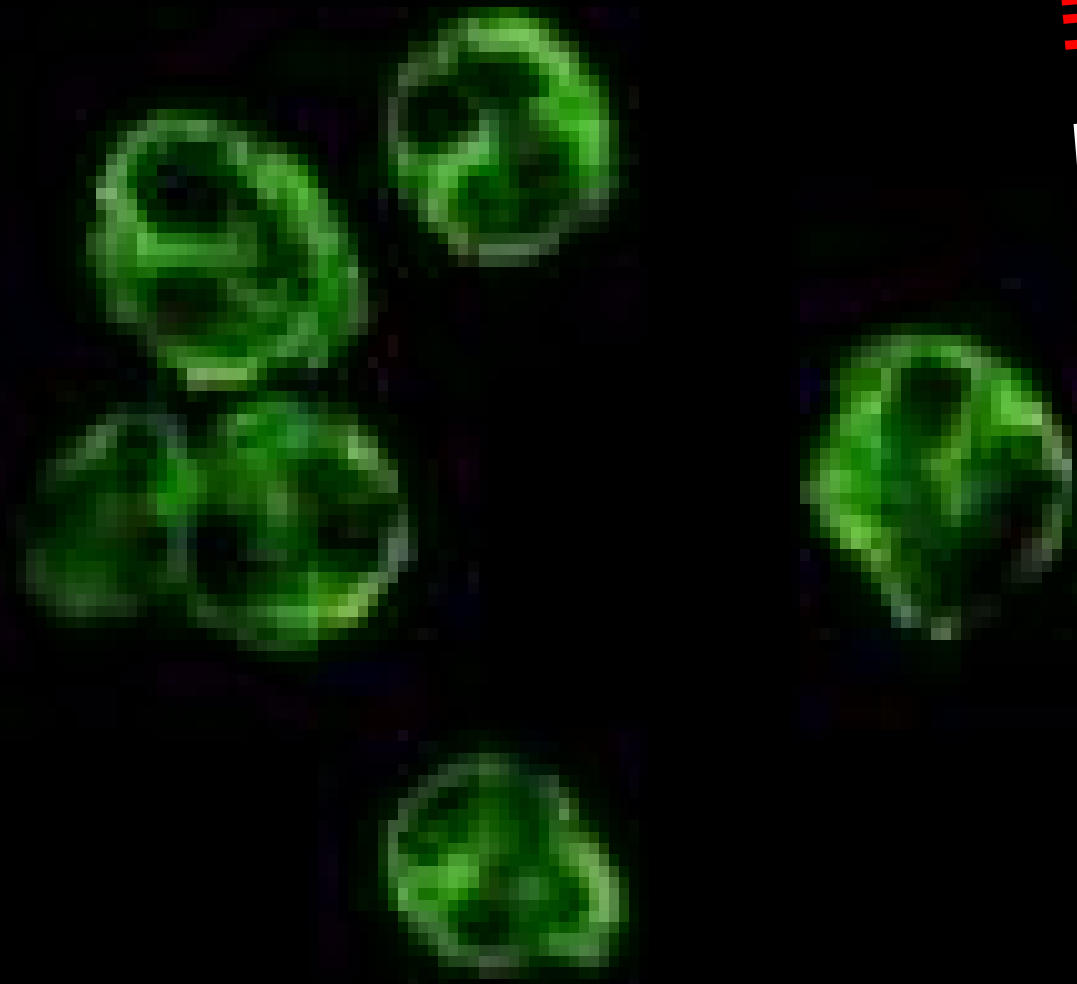
Immune Complex Small Vessel Vasculitis  
*Cryoglobulinemic Vasculitis*

**ANCA**



# *Anticorps anti-cytoplasme des neutrophiles*

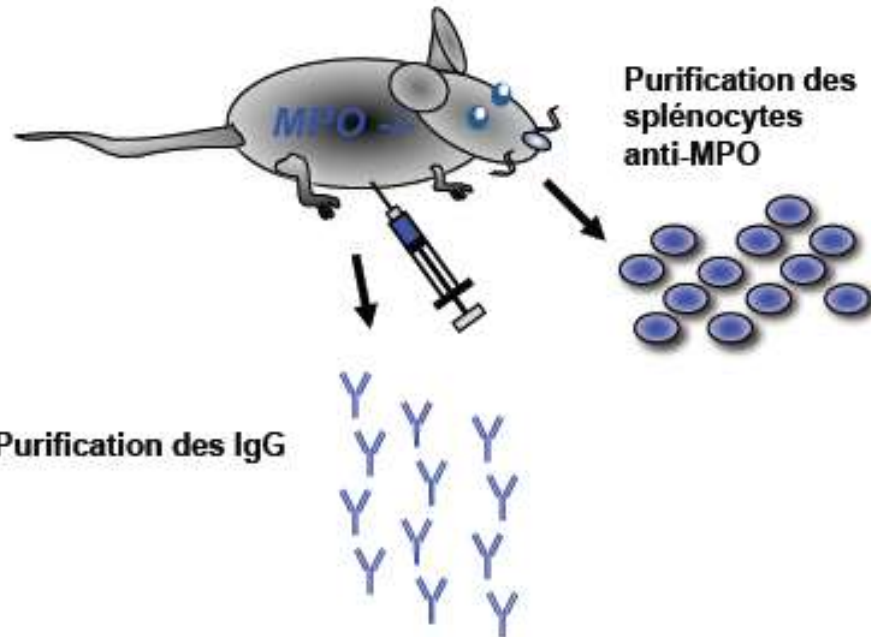
**≡ COUPABLE  
IDEAL**



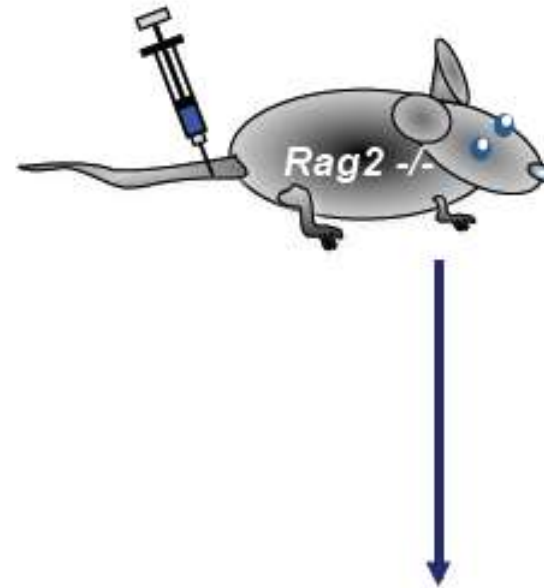
*Davies, Br Med J, 1982  
Van der Woode, Lancet, 1985*

# Rôle pathogène des ANCA anti-MPO

A. Immunisation des souris MPO<sup>-/-</sup> par la MPO murine



B. Injection de  $5 \times 10^7$  à  $10^8$  splénocytes des souris MPO<sup>-/-</sup> immunisées par la MPO



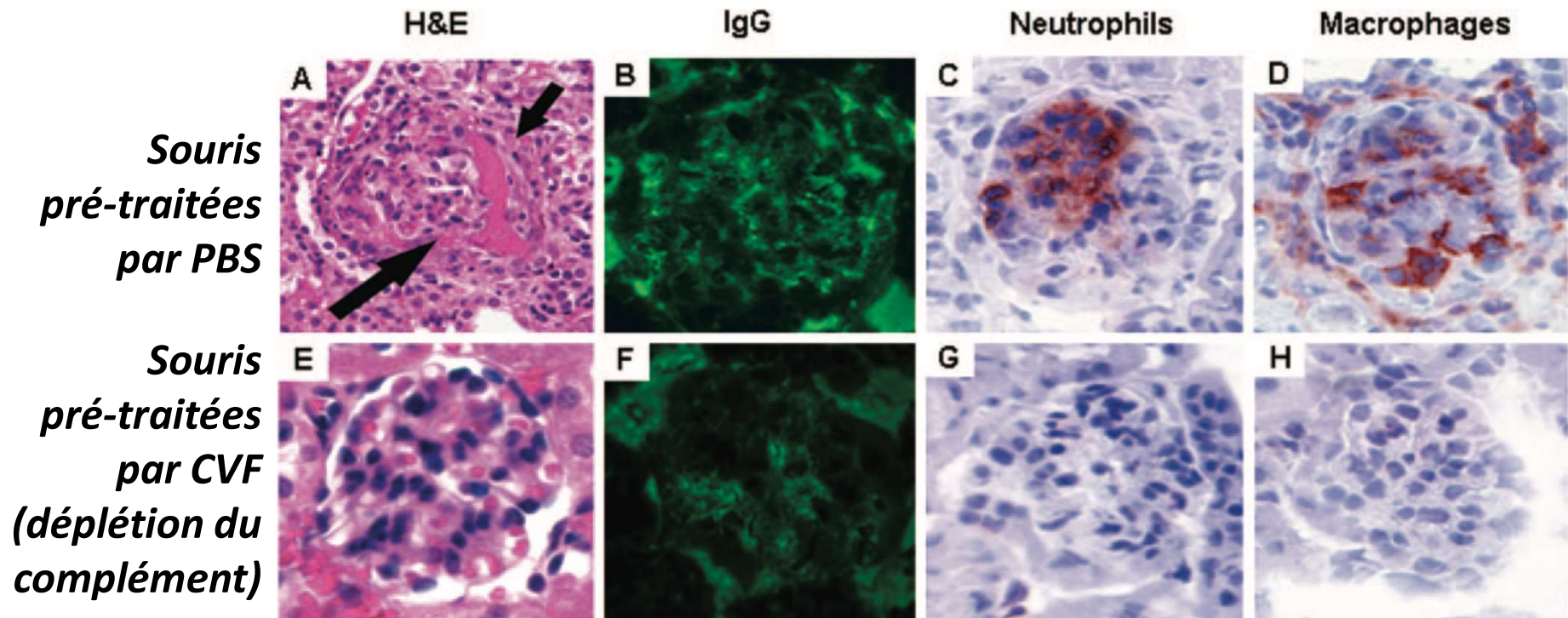
C. Injection des IgG purifiés Anti-MPO des souris MPO<sup>-/-</sup> immunisé par la MPO



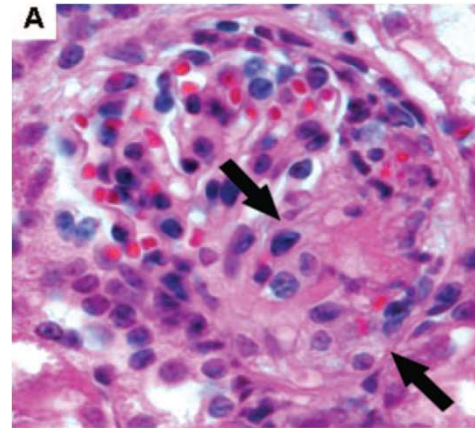
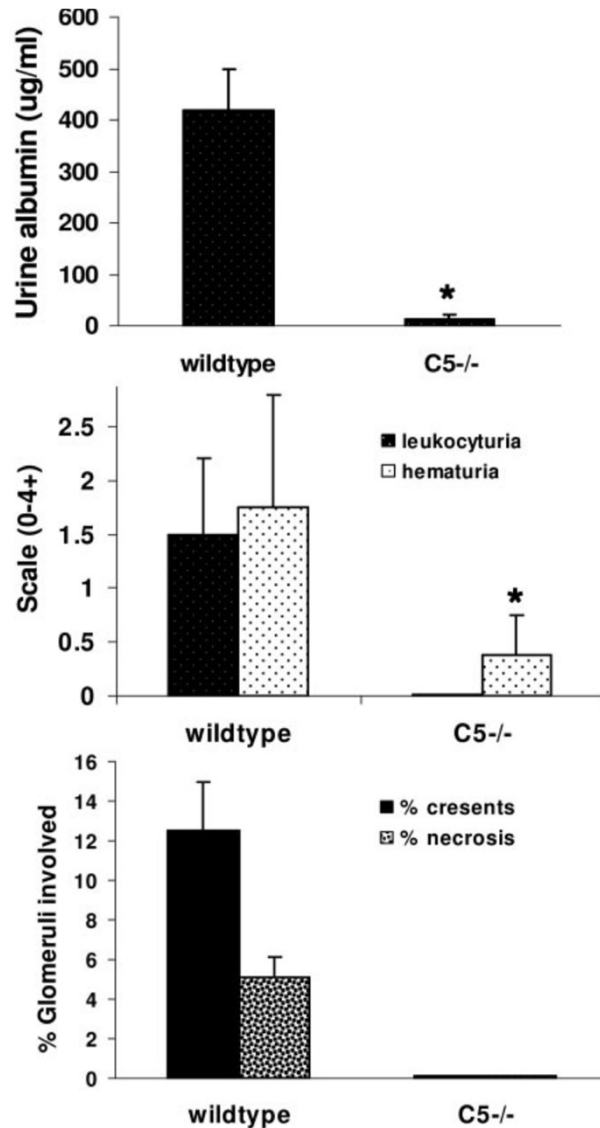
Xiao, *J Clin Invest*, 2002

# ***Rôle de la voie alterne du complément au cours des vascularites avec ANCA-MPO***

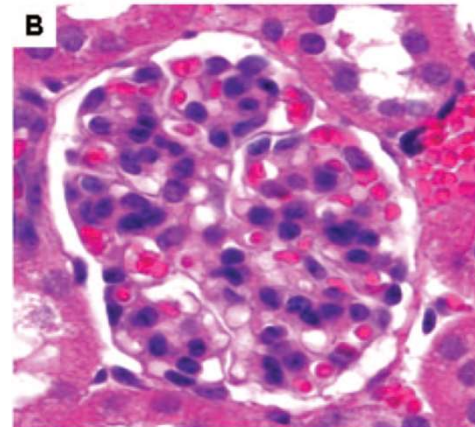
***Modèle murin avec injection IV d'anti-MPO ayant montré le rôle pathogène des ANCA-MPO***



# Rôle de la voie alterne du complément au cours des vascularites avec ANCA-MPO



*Souris WT  
(ou C4-/-)*

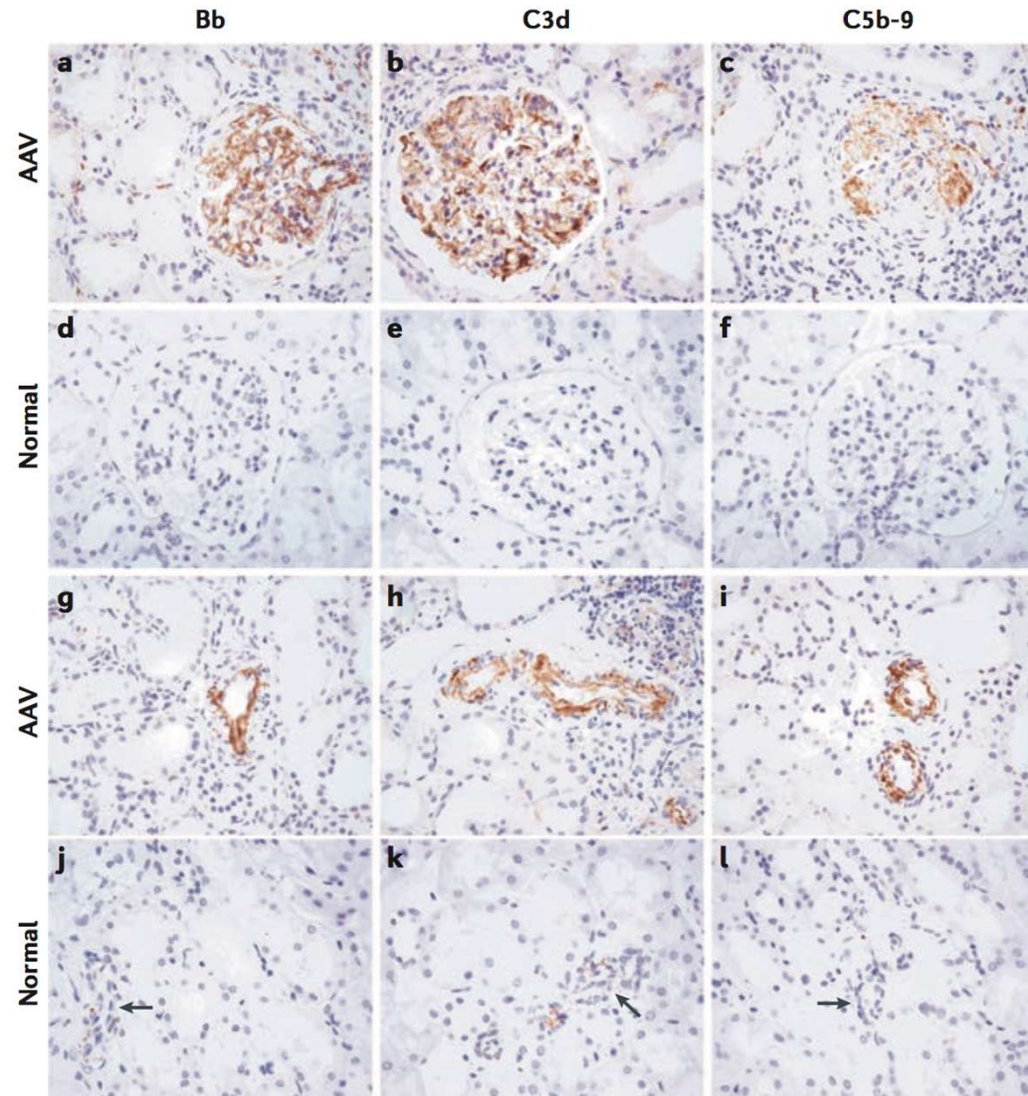


*Souris C5-/-  
(ou FB-/-)*

**Relargage par les PNN activés par le ANCA de facteurs activateurs du complément**

# ***Rôle de la voie alterne du complément au cours des vascularites avec ANCA-MPO***

- Expression des produits d'activation du complément dans les lésions glomérulaires des VAA
- Expression des produits d'activation du complément dans les lésions vasculaires des VAA





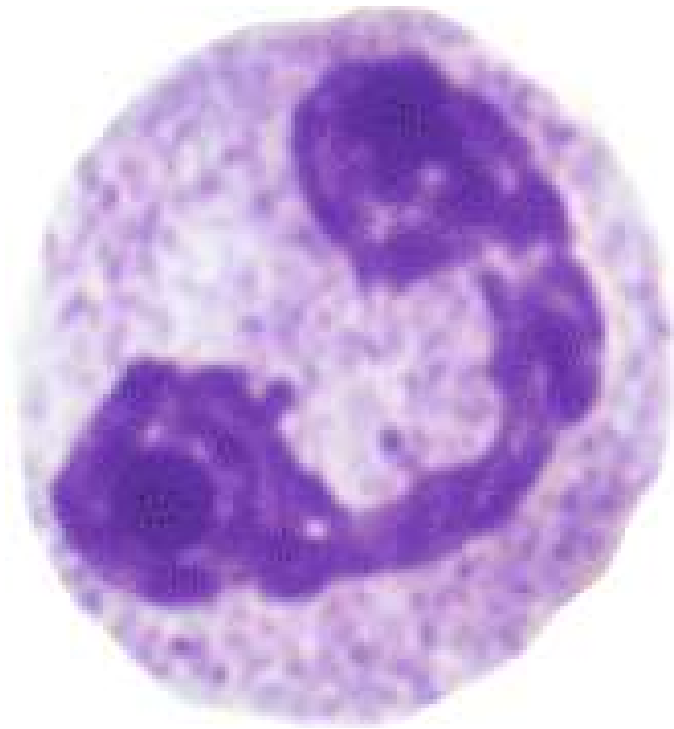
## ***Pas de rôle pathogène des ANCA anti-PR3***

- Pas de modèle murin spontané de glomérulonéphrite ou de vascularite associée à des anticorps anti-PR3
- Modèle de souris humanisées immunodéficientes *NOD-SCID-IL2R $\gamma$ -/-* reconstituées avec des cellules souches hématopoïétiques humaines
- Souris développant une glomérulonéphrite et une hémorragie pulmonaire faible à modérée (sans granulome) à la suite du transfert passif d'IgG contenant des ANCA-PR3 de patients atteints de GPA

*Salama, Curr Opin Rheumatol, 2012*

*Little, PLoS One, 2012*

# *Le polynucléaire neutrophile*



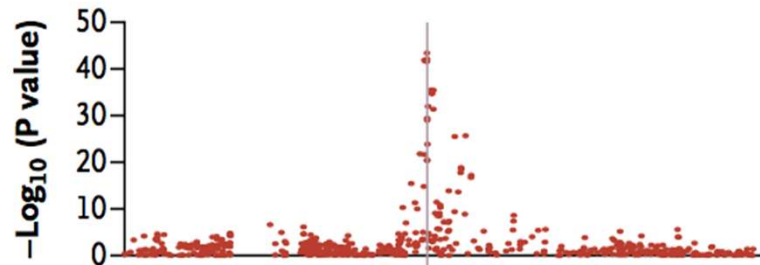
**Σ COUPABLE**

**IDEAL**

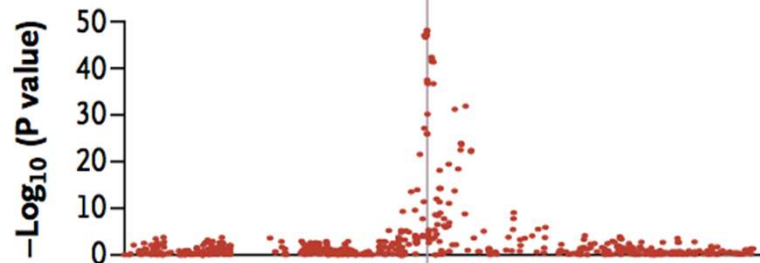
**LA SUITE...**

# Terrains génétiques distincts selon la spécificité des ANCA

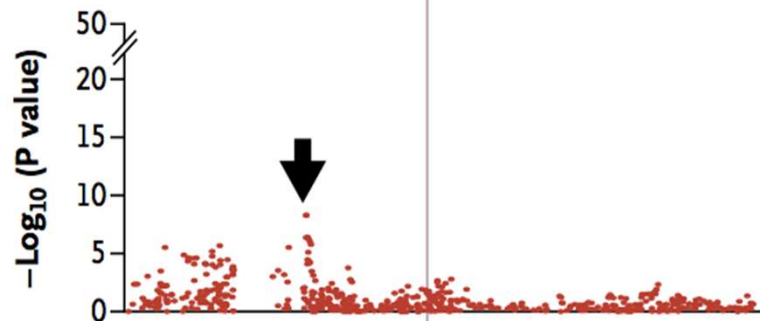
B AAV



C PR3 ANCA



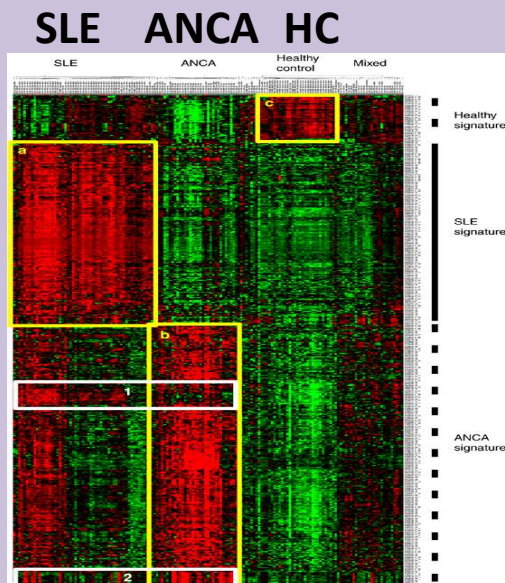
D MPO ANCA



ANCA-PR3 associés à *HLA-DP*, *SERPINA1* (codant pour l' $\alpha$ 1- antitrypsine) et à *PRTN3* (codant pour la protéinase 3)

ANCA-MPO associés à *HLA-DQ*

# Dérégulation des neutrophiles, effecteurs du dommage endothéliale, au cours des VAA



Profil d'expression génique spécifique des PNN

Expression inappropriée de PR3/MPO par perturbation du contrôle épigénétique

## Données *in vitro*

- PR3 → production IL-8 et MCP-1 par CE → recrutement PNN et monocytes
- Internalisation de PR3 dans les CE → apoptose des CE
- MPO → oxydants dans CE
- ANCA stabilisant adhésion endothéliale des PNN et ↑ transmigration

## Données *in vivo*

- ↑ ICAM-1 et VCAM-1 sur endothélium des patients avec VAA (biopsies)
- ANCA stabilisant adhésion endothéliale et ↑ transmigration des PNN
- CE circulantes au cours des VAA

Ciavatta, *J Clin Invest*, 2010  
Alcorta, *Kidney Int*, 2007  
Yang, *J Am Soc Nephrol*, 2004

Taekema-Roelvink, *JASN*, 2001  
Yang, *Am J Pathol*, 2001  
Radford, *Arthritis Rheum*, 2001

Woywodt, *Ann Rheum Dis*, 2006  
Little, *Blood*, 2005

# La PR3 est une protéase avec des propriétés pro-inflammatoires

Vésicules sécrétoires



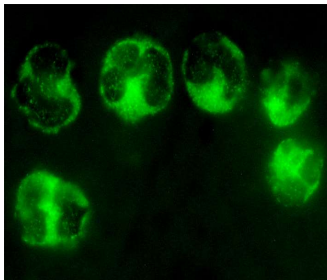
Granules tertiaires (gélatinase)



Granules spécifiques ou secondaires (gélatinase, lactoferrine)



Granules azurophiles/primaires



Elastase

Protéinase 3

Cathepsine G

Azurocidine

Myéloperoxydase



Impliquée dans la prolifération et la différenciation myéloïde

*Bories, Cell, 1989*

Rôles pro-inflammatoires

Clivage de protéines anti-inflammatoires: annexin-A1, récepteurs (PAR2)

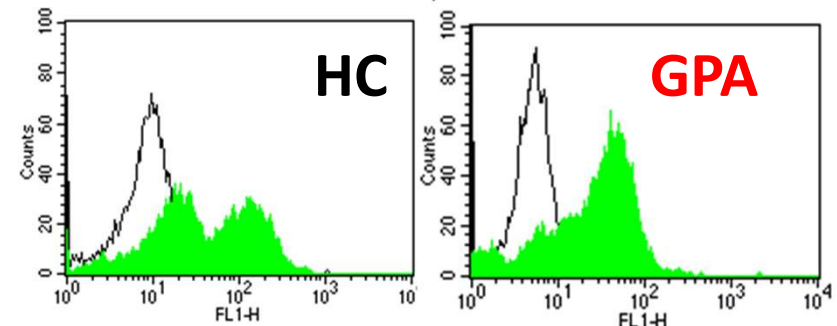
Activation de chimiokines (IL-8) ou cytokines (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ )

Clivage de protéines de la matrice

PR3 stockée dans les granules azurophiles mais aussi dans les vésicules de sécrétion et exprimés à la membrane

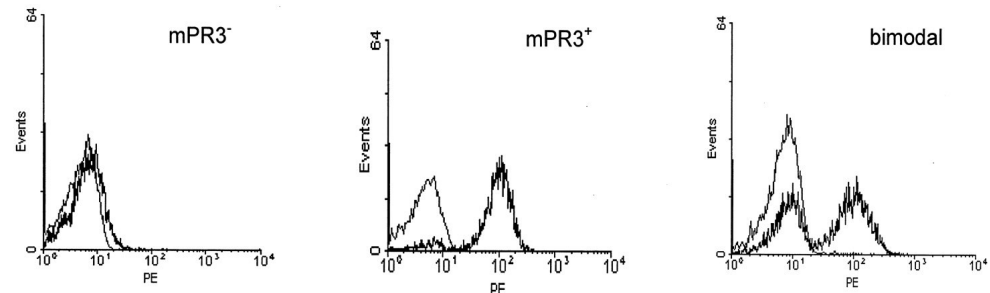
*Witko-Sarsat, Blood, 1999*

Expression de PR3 sur les neutrophiles



# ***Expression membranaire de la PR3 au cours de la GPA***

- Existence dans des proportions constantes chez un même individu de PNN exprimant une grande quantité de mPR3 et de PNN l'exprimant peu



- Expression accrue de mPR3 à la surface des PNN associée à risque accru de développer une maladie inflammatoire, en particulier la GPA
- Expression accrue de mPR3 corrélée à l'activité de la GPA et associée à un risque plus élevé de rechutes
- Allèle rare A-564 G du promoteur du gène de la PR3 plus fréquent au cours de la GPA

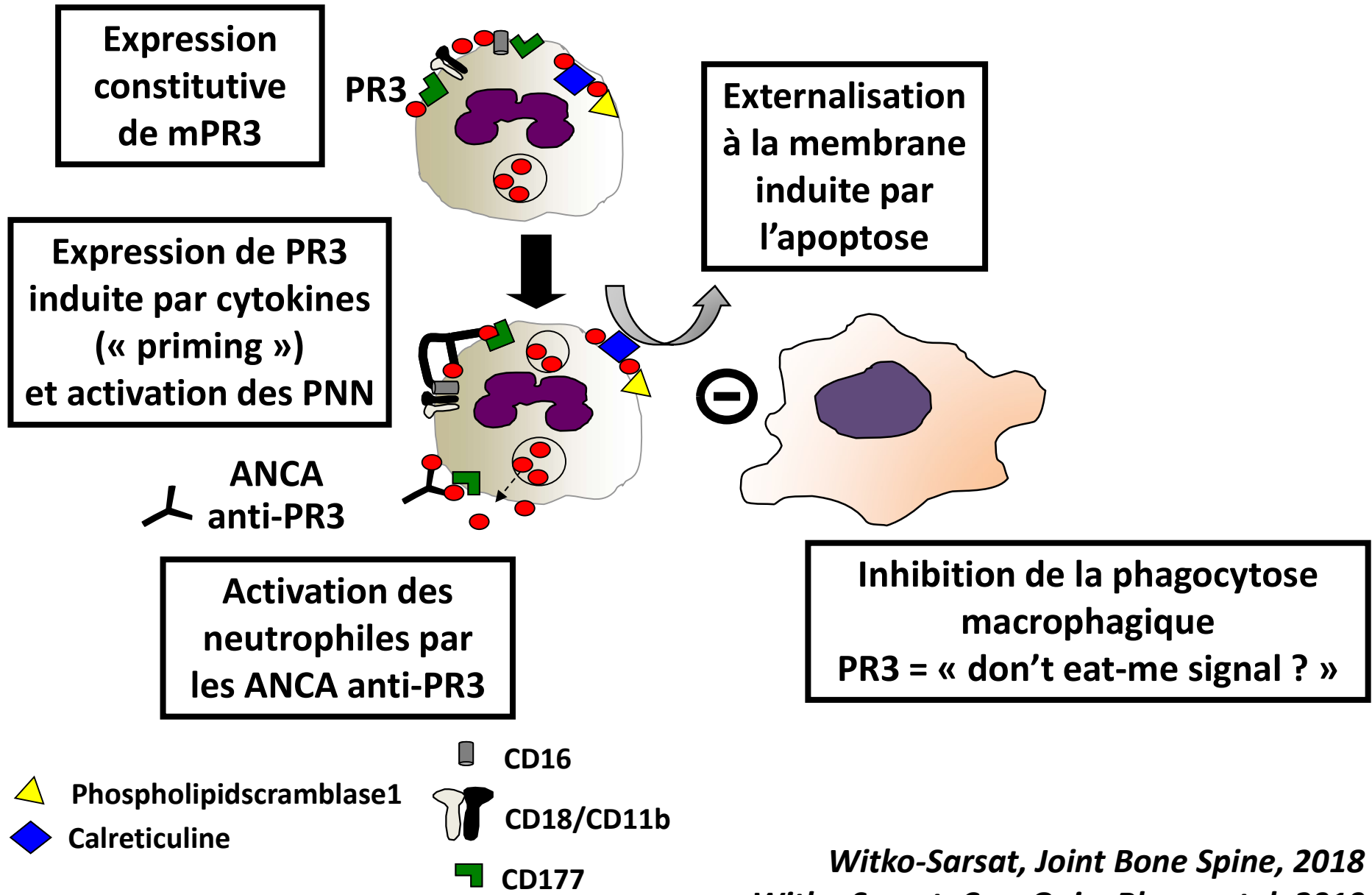
*Rarok, JASN, 2002*

*Gencik, Kideny Int, 2000*

*Witko-Sarsat, JASN, 1999*

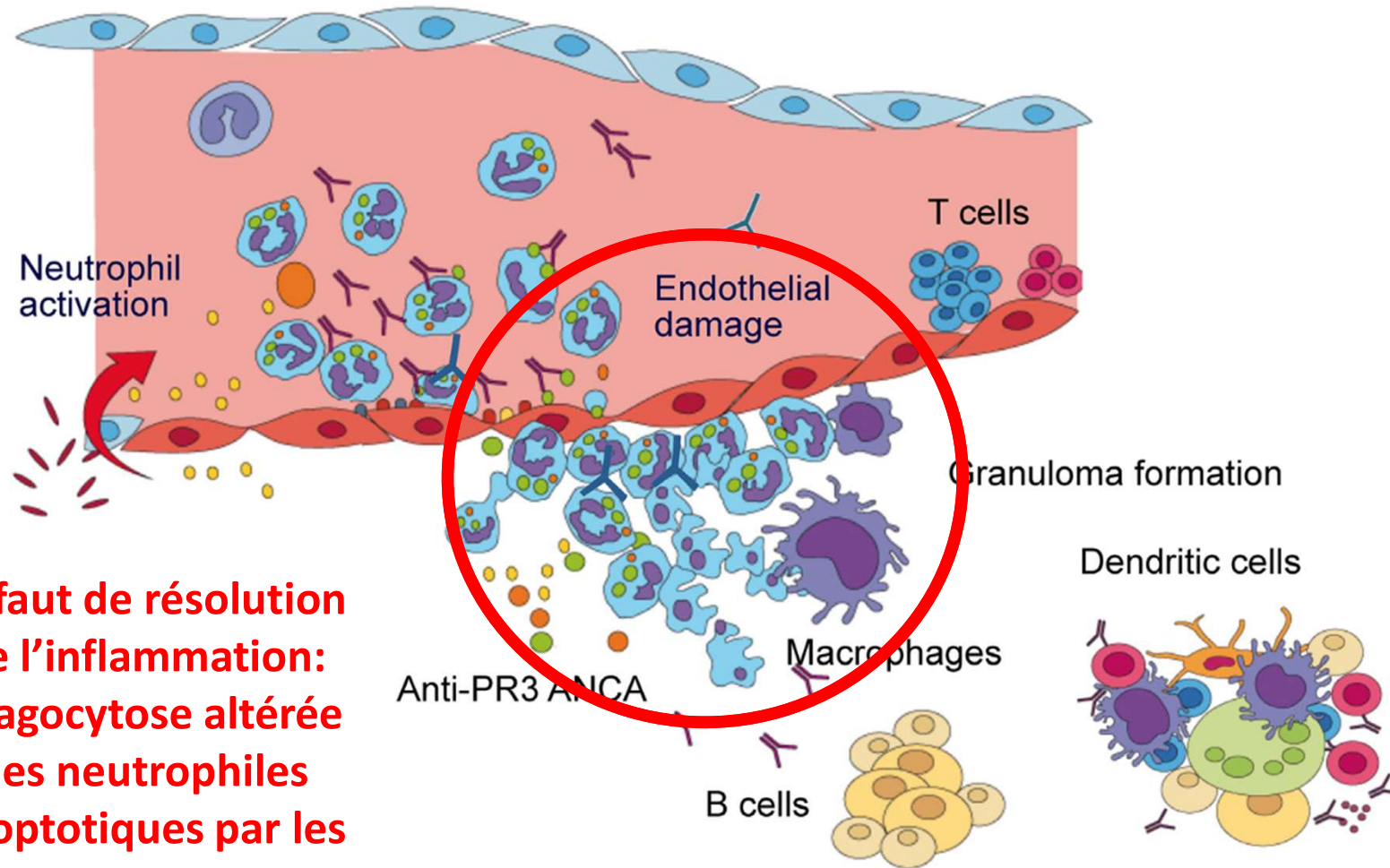
*Muller Kobold, Br J Rheumatol, 1998*

# Rôle de la PR3 dans le processus inflammatoire



Witko-Sarsat, Joint Bone Spine, 2018  
Witko-Sarsat, Curr Opin Rheumatol, 2010

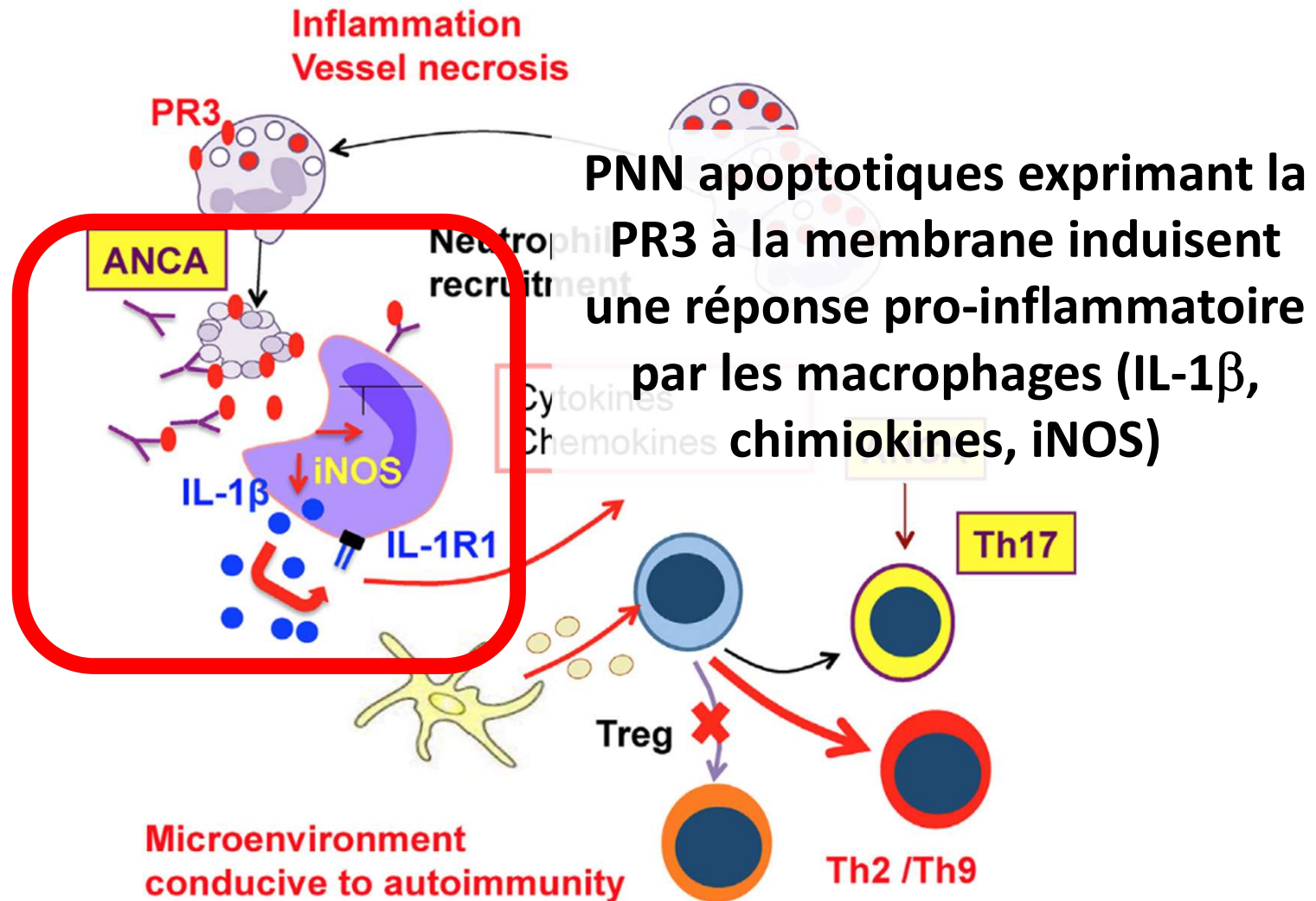
# Rôle de la PR3 dans le processus inflammatoire et la dérégulation immunitaire



**Défaut de résolution de l'inflammation: Phagocytose altérée des neutrophiles apoptotiques par les macrophages ?**



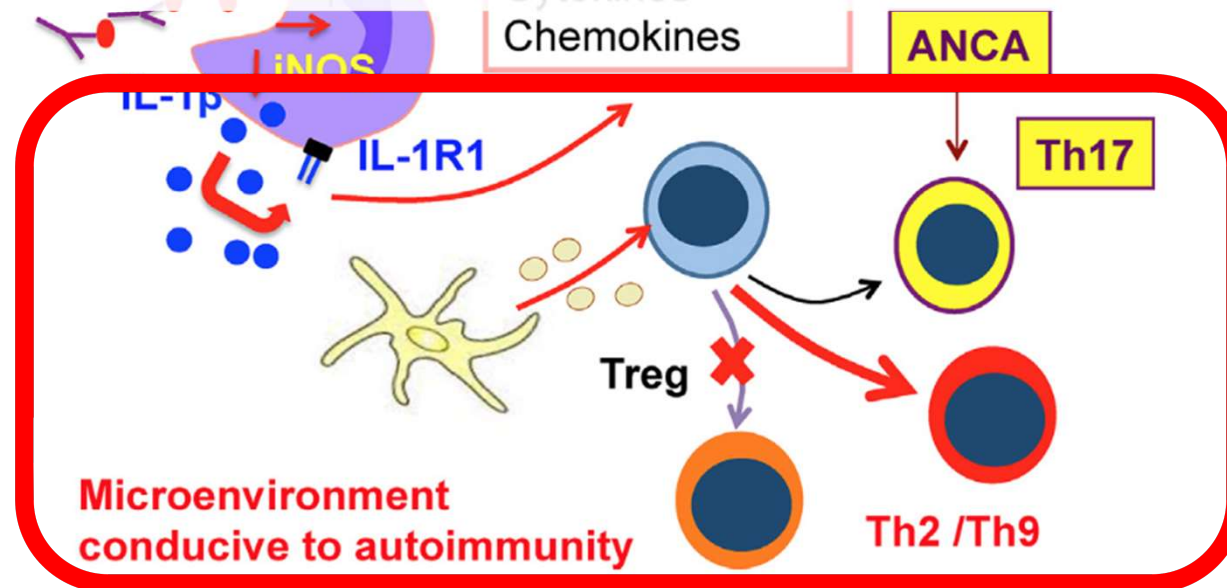
# La PR3 agit comme un signal de danger pour les macrophages



Witko-Sarsat, Joint Bone Spine, 2018  
Millet, J Clin Invest, 2015

# La PR3 agit comme un signal de danger pour les macrophages

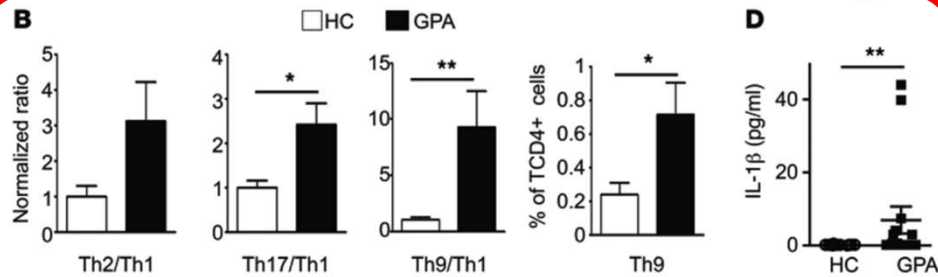
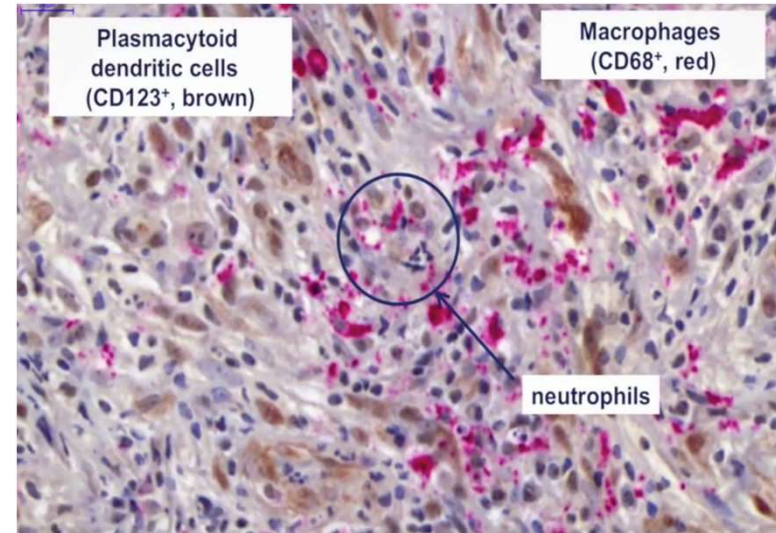
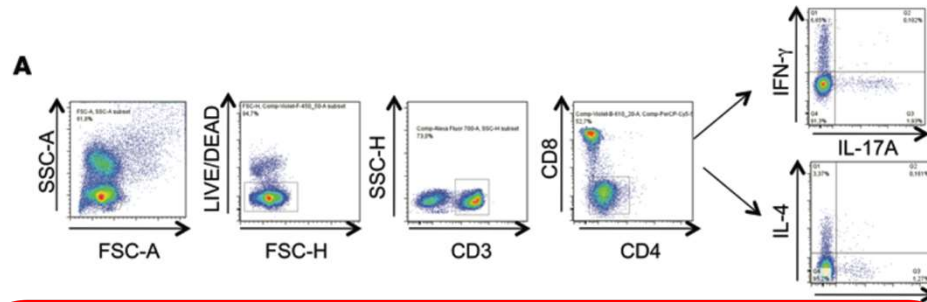
Réponse pro-inflammatoire favorisant la maturation et l'activation des cellules dendritiques, créant un microenvironnement favorable à la persistance de l'inflammation (↓ T régulateurs, ↑ Th2, Th9 et Th17, et G-CSF recrutant les PNN amplifiant la boucle)



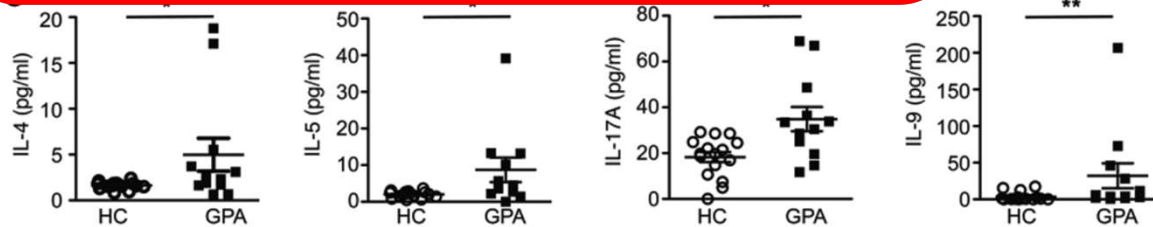
Witko-Sarsat, Joint Bone Spine, 2018  
Millet, J Clin Invest, 2015

# Perturbations lymphocytaires T observées chez les patients avec GPA et ANCA-PR3

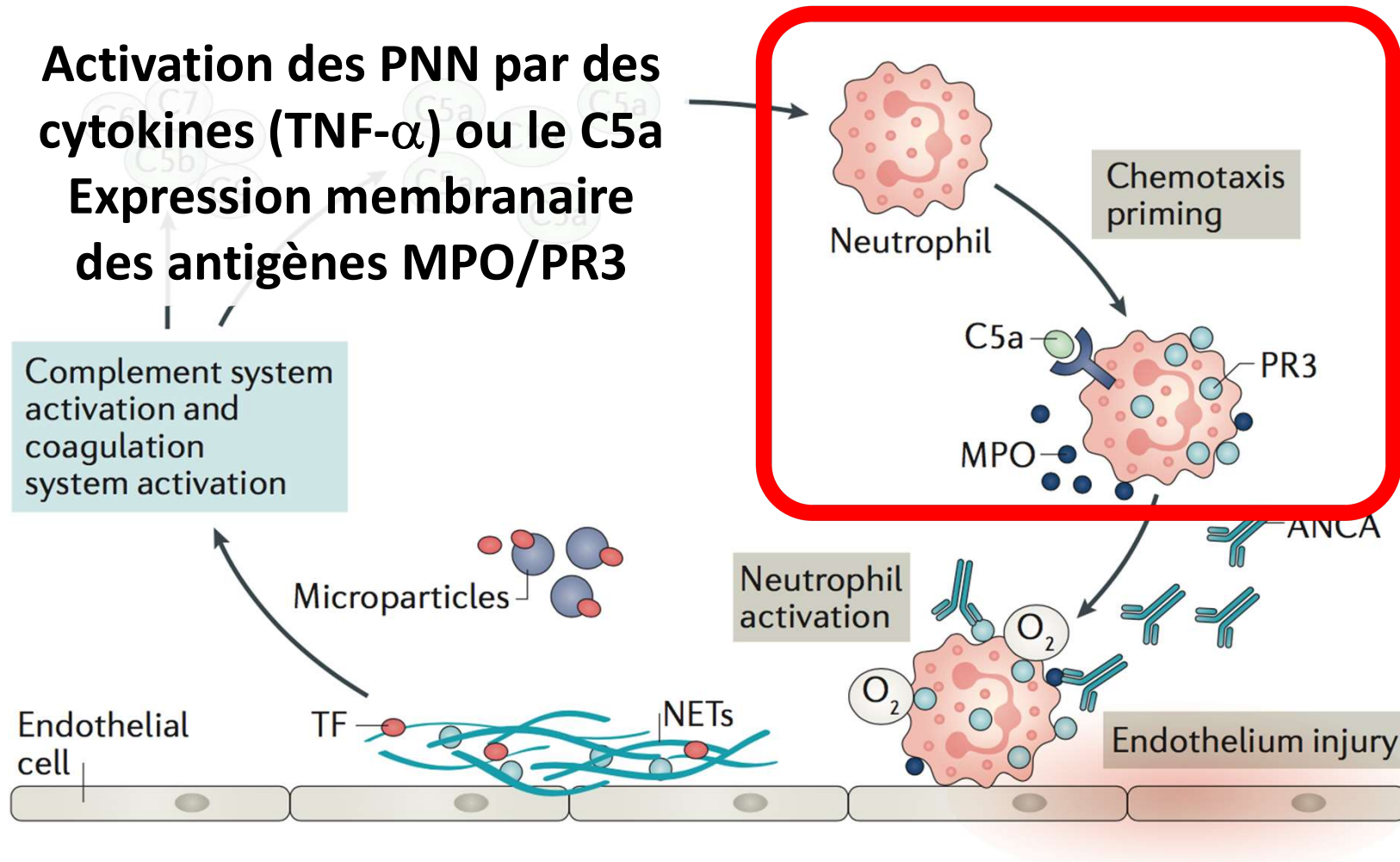
## Sang périphérique



## Lésion tissulaire

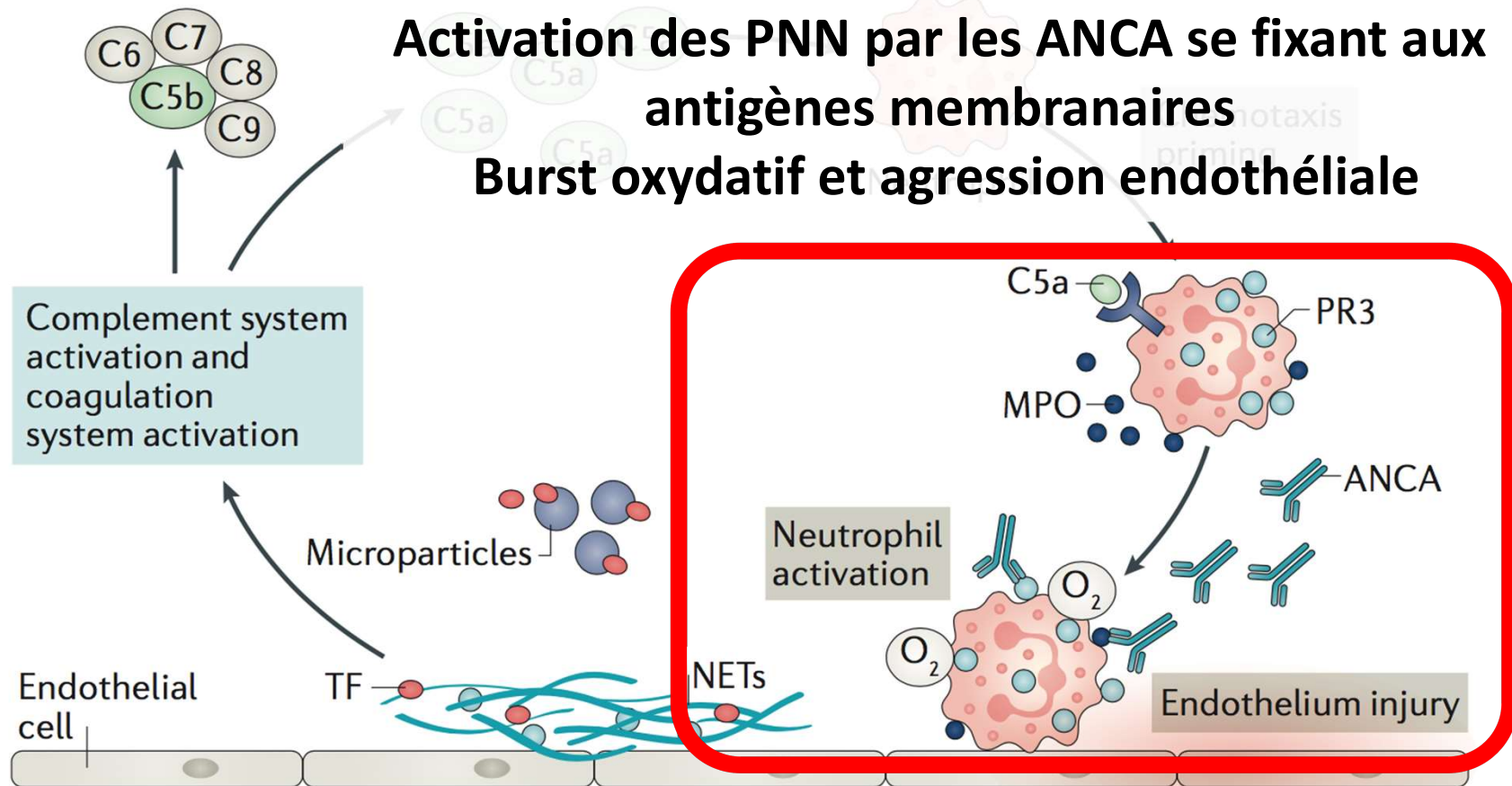


# Rôles respectifs des ANCA, des PNN et de l'activation du complément

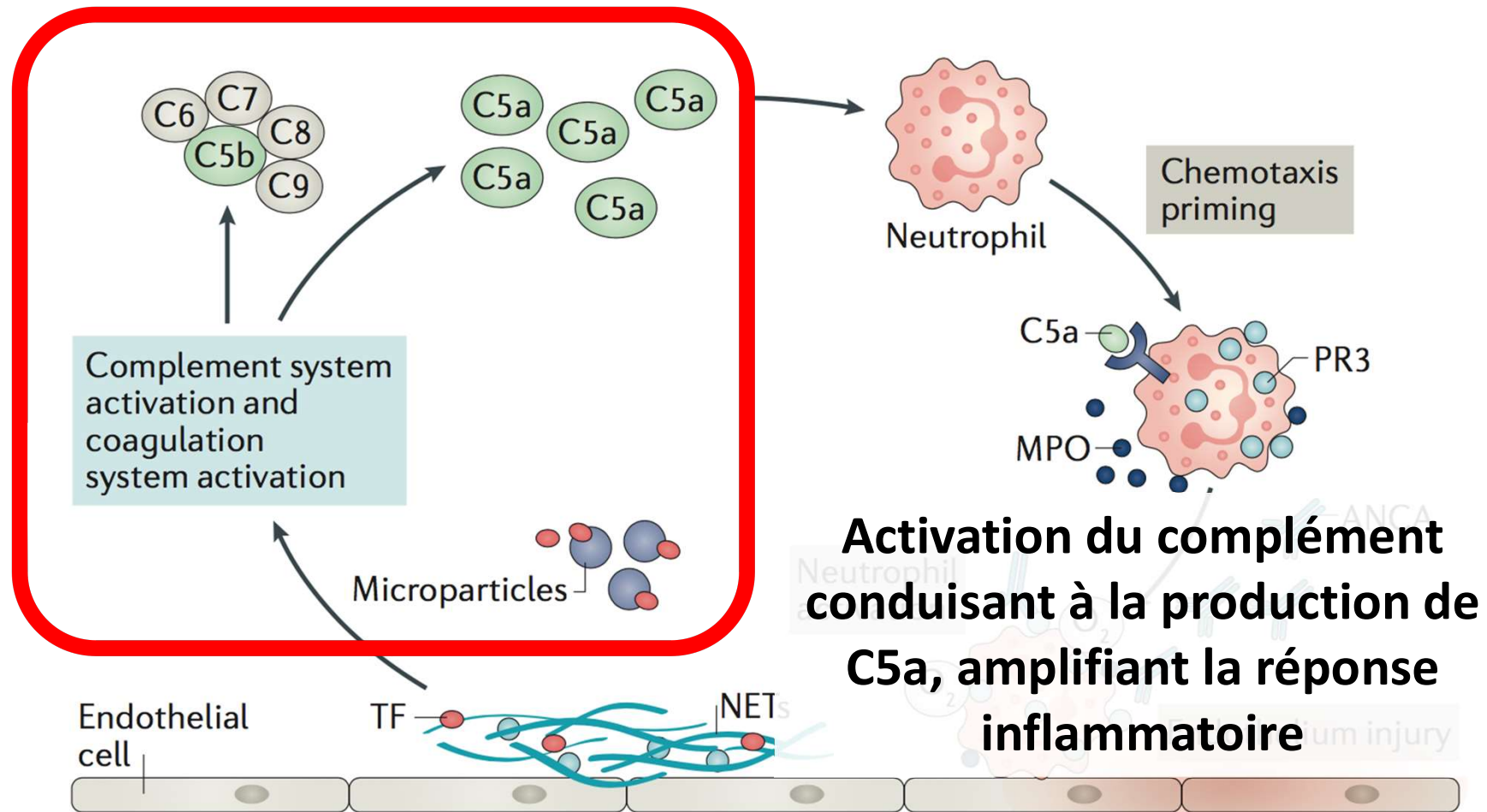


# Rôles respectifs des ANCA, des PNN et de l'activation du complément

Rôle pro-inflammatoire de la PR3 membranaire  
Activation des PNN par les ANCA se fixant aux antigènes membranaires  
Burst oxydatif et agression endothéliale



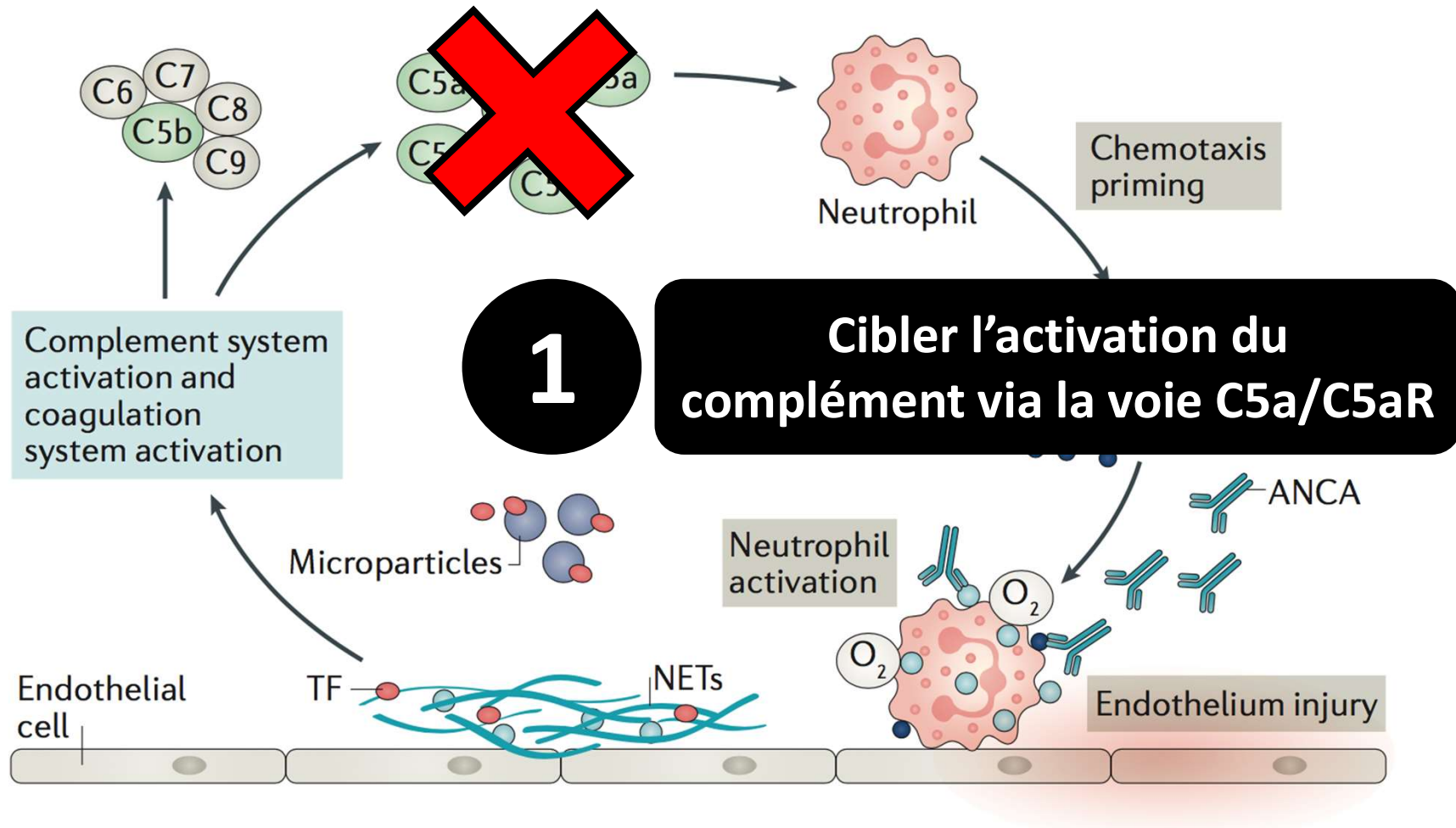
# Rôles respectifs des ANCA, des PNN et de l'activation du complément



# Rôles respectifs des ANCA, des PNN et de l'activation du complément

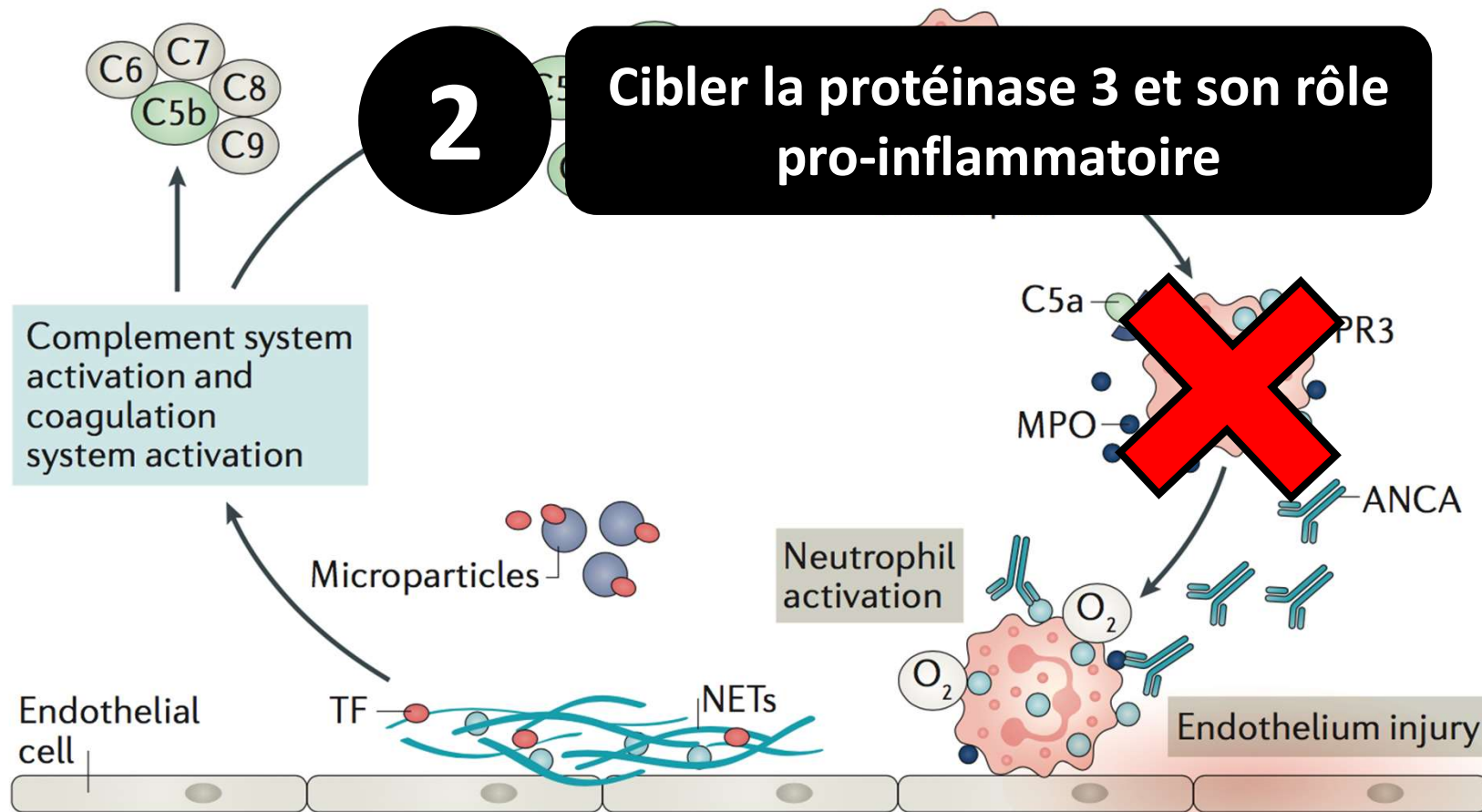


# Quelles perspectives thérapeutiques ?

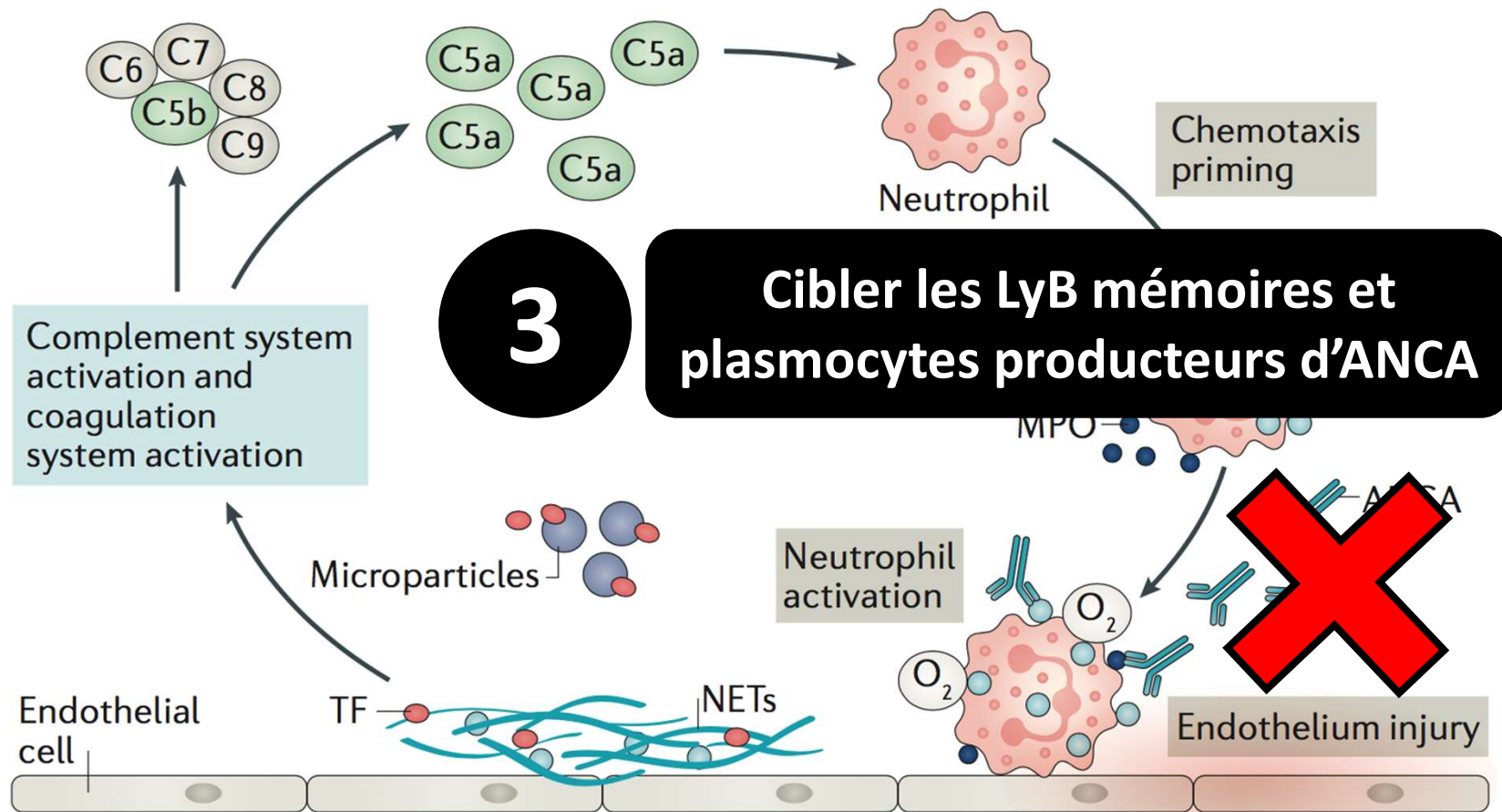




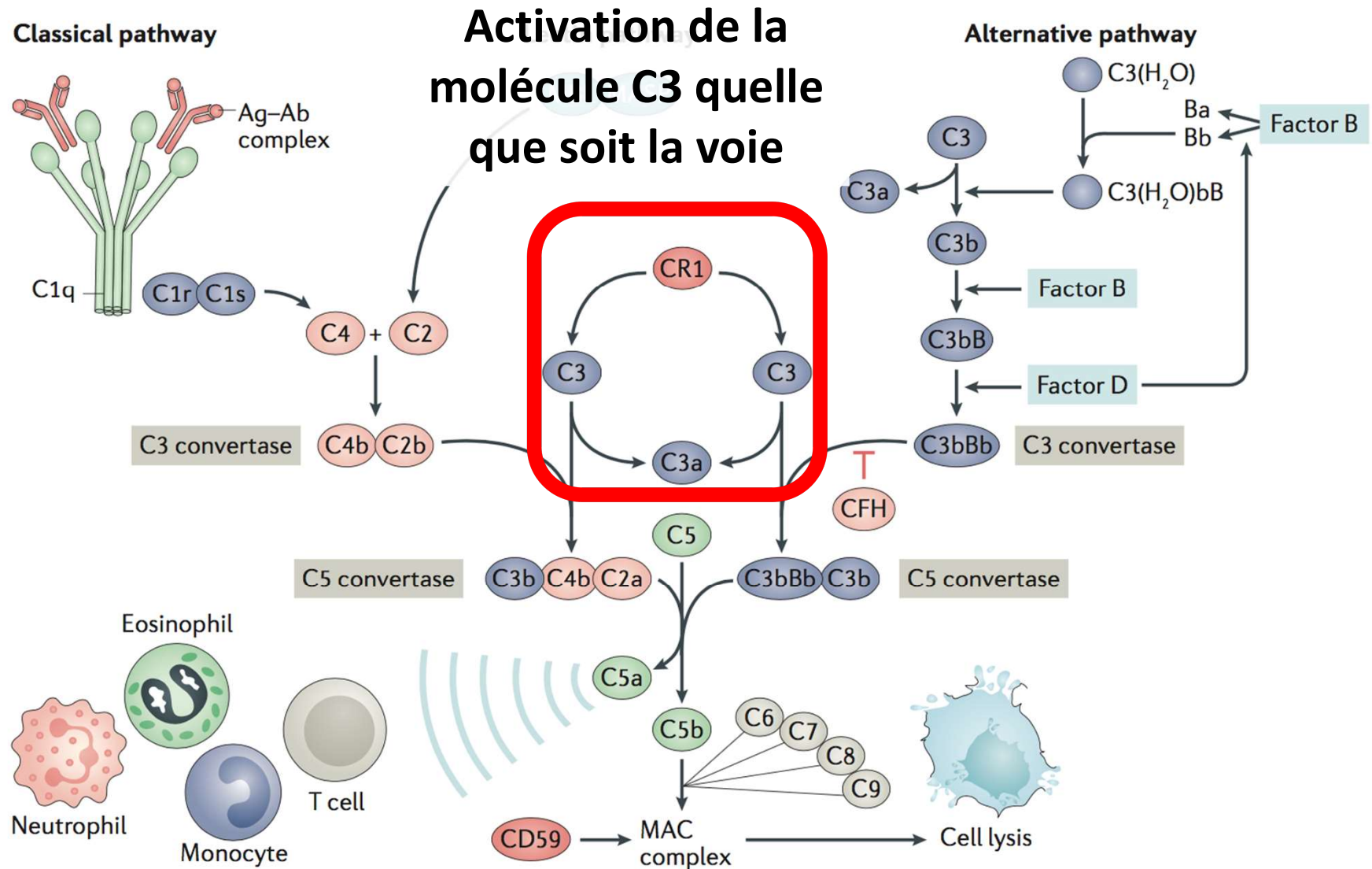
# Quelles perspectives thérapeutiques ?



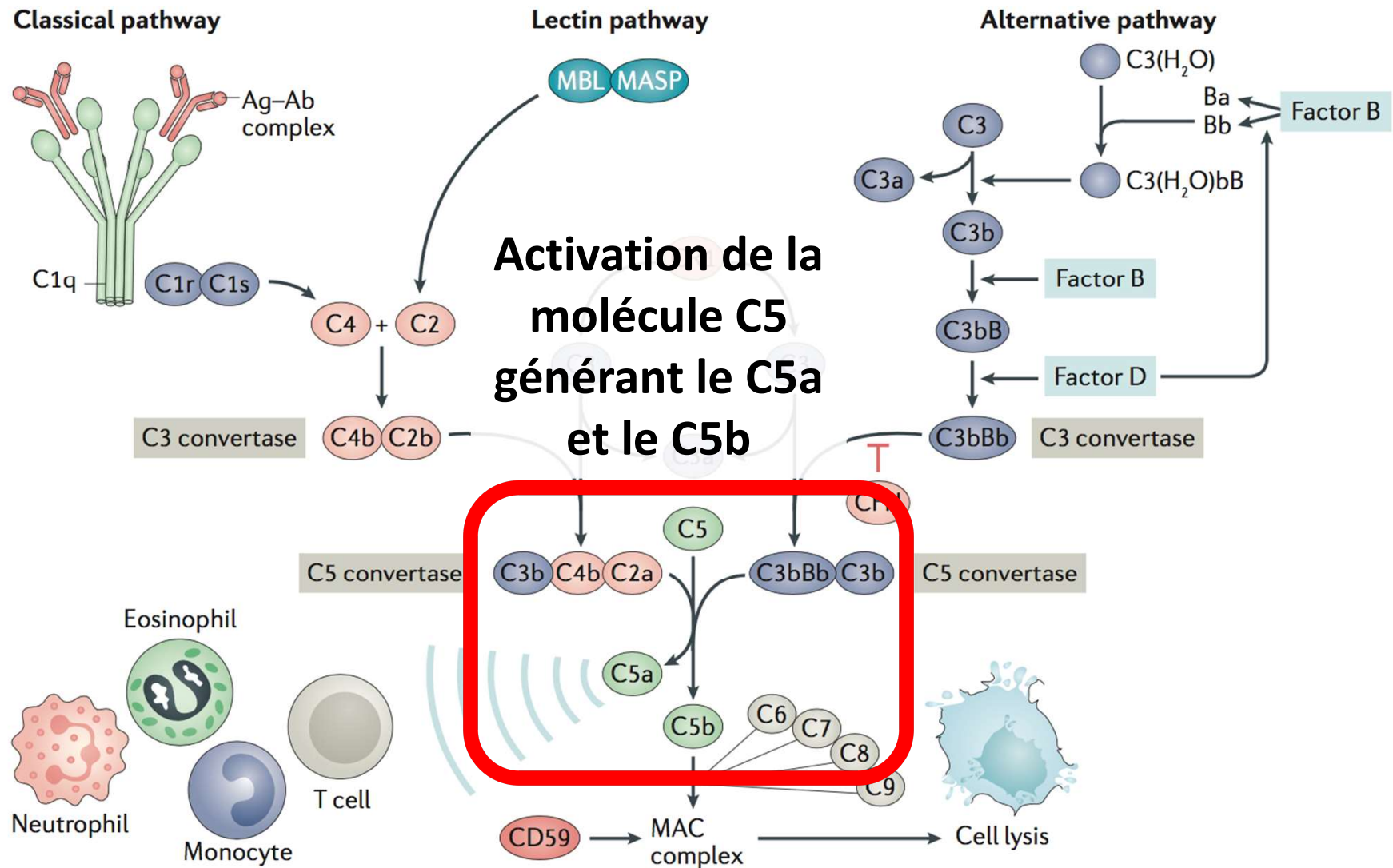
# Quelles perspectives thérapeutiques ?



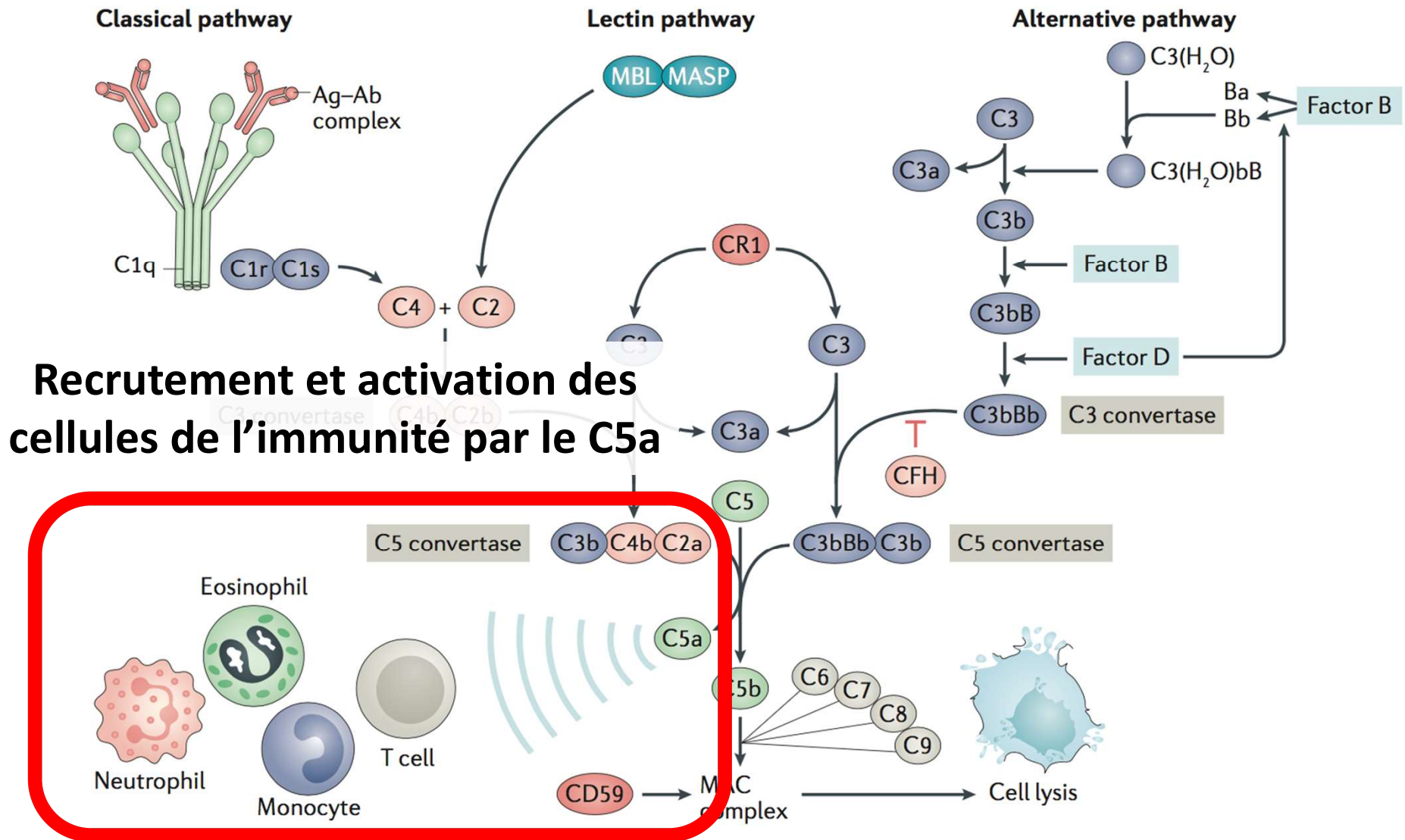
# Voies d'activation du complément



# Voies d'activation du complément



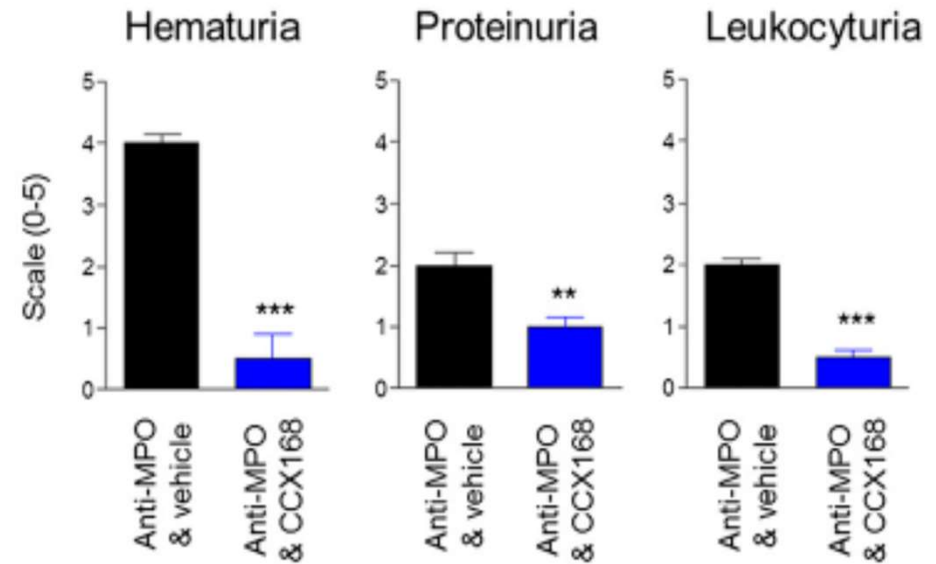
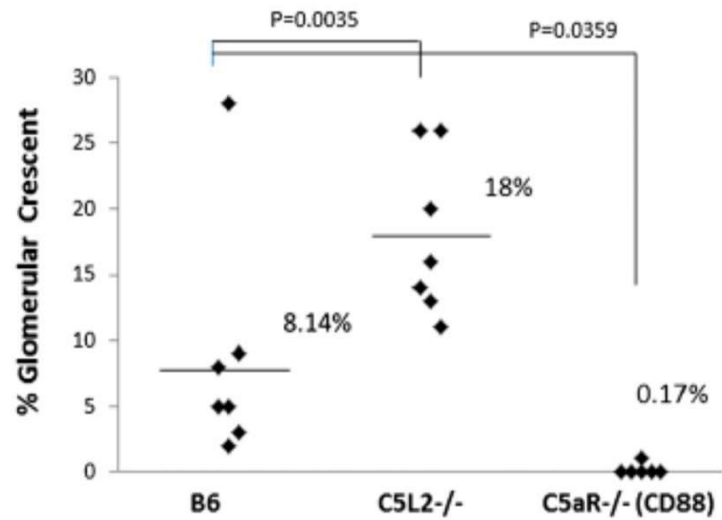
# Voies d'activation du complément



# 1. Cibler l'activation du complément via la voie C5a/C5aR

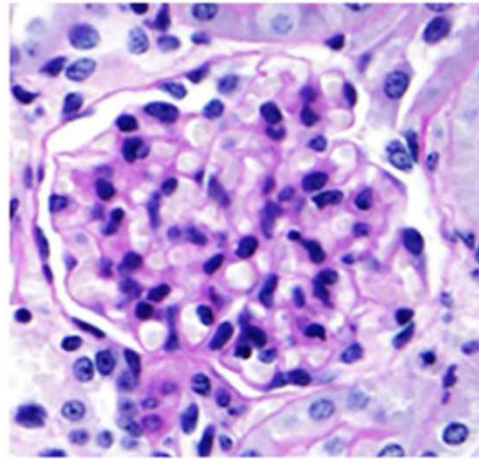
*C5L2 : récepteur anti-inflammatoire*  
*C5aR : récepteur pro-inflammatoire*

*CCX168 : molécule inhibant spécifiquement le C5aR*

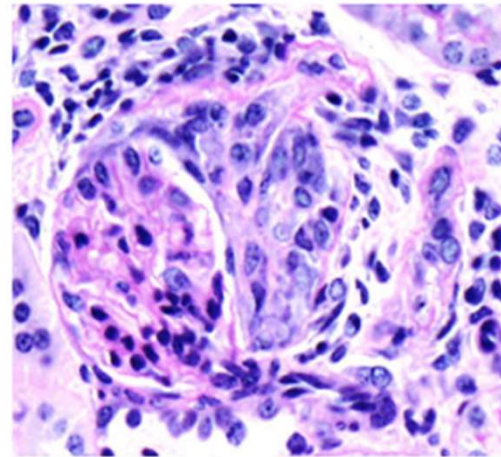


# **1. Cibler l'activation du complément via la voie C5a/C5aR**

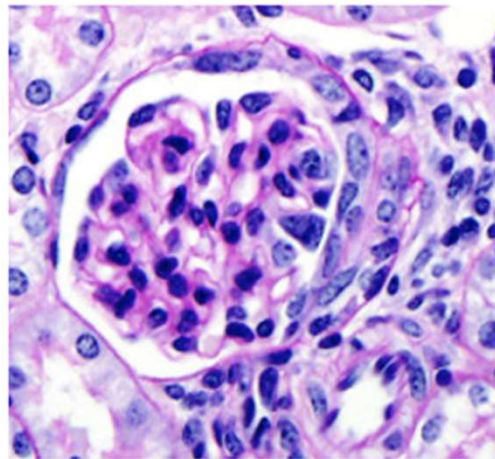
***Souris C5aR-/-  
Glomérule  
normal***



***Souris C5L2-/-  
Nécrose  
fibrinoïde et  
croissant***



***Souris C6-/-  
Nécrose  
fibrinoïde et  
croissant***



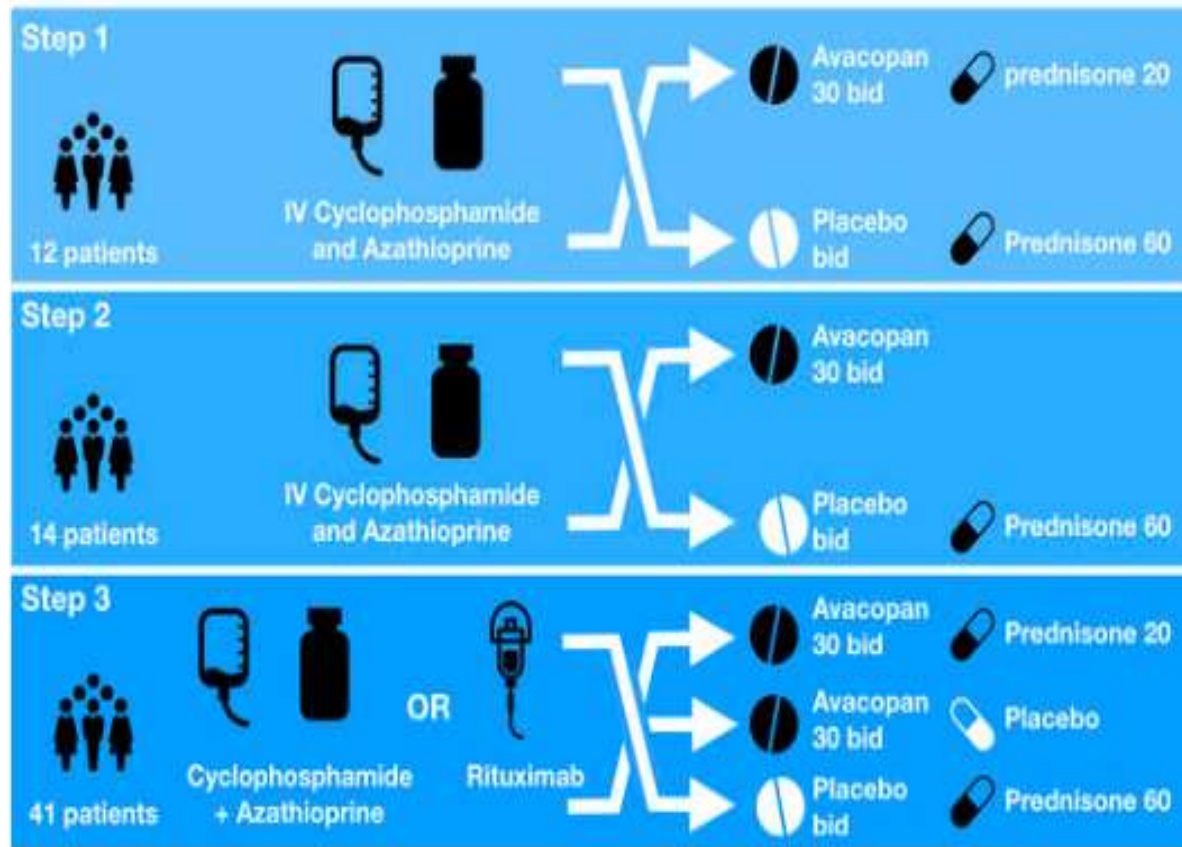
***Modèle murin avec  
injection IV d'anti-MPO  
ayant montré le rôle  
pathogène des ANCA-MPO***



# Randomized Trial of C5a Receptor Inhibitor Avacopan in ANCA-Associated Vasculitis

*Jayne DR et al, J Am Soc Nephrol, 2017;28:2756-67*

- Essai de phase 2 (CLEAR), de non-infériorité
- Patients naïfs ou en rechute, PR3 ou MPO
- Induction par CYC ou RTX
- 67 patients
  - CTC 60 + placebo
  - CTC 20 + CCX168
  - CTC 0 + CCX168
- Réponse clinique à S12



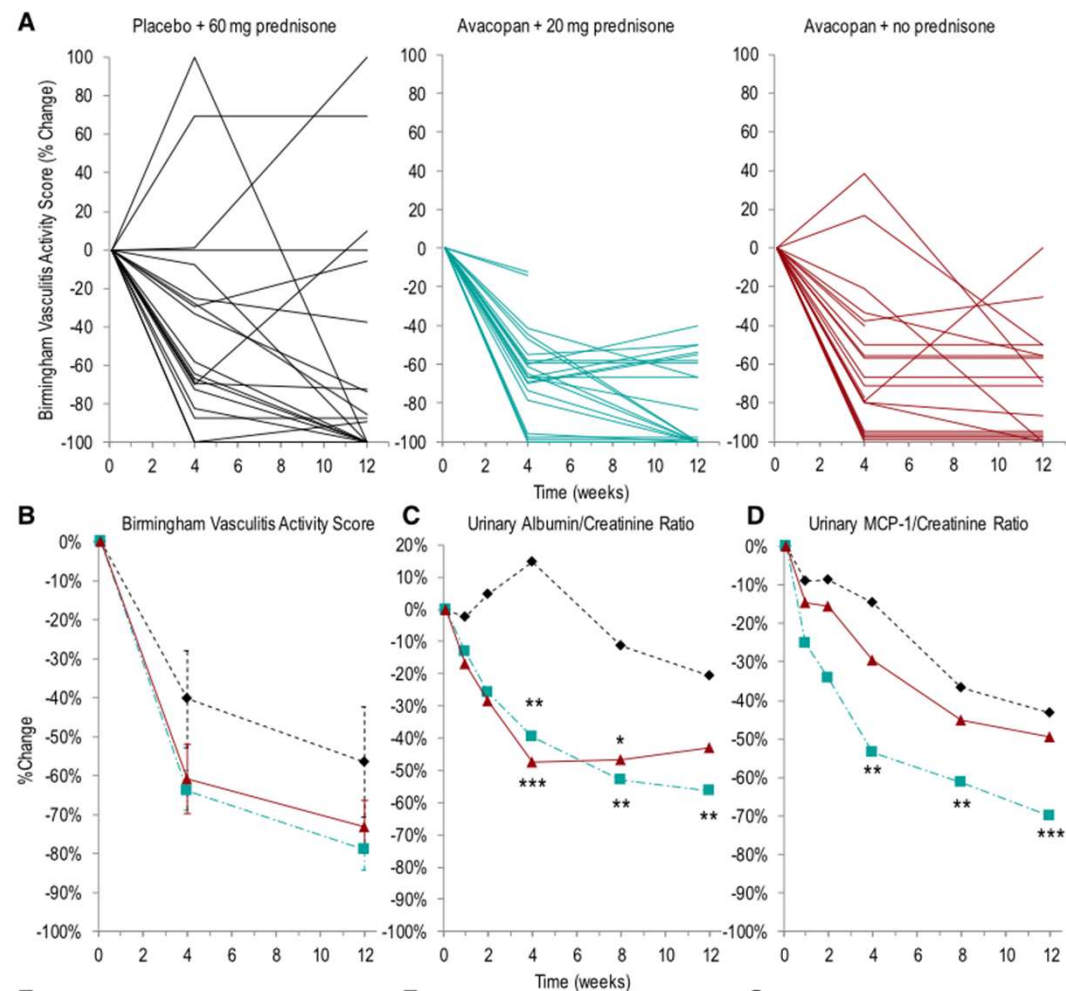




# Randomized Trial of C5a Receptor Inhibitor Avacopan in ANCA-Associated Vasculitis

*Jayne DR et al, J Am Soc Nephrol, 2017;28:2756-67*

- Essai de phase 2 (CLEAR), de non-infériorité
- Patients naïfs ou en rechute, PR3 ou MPO
- Induction par CYC ou RTX
- 67 patients
  - CTC 60 + placebo
  - CTC 20 + CCX168
  - CTC 0 + CCX168
- Réponse clinique à S12



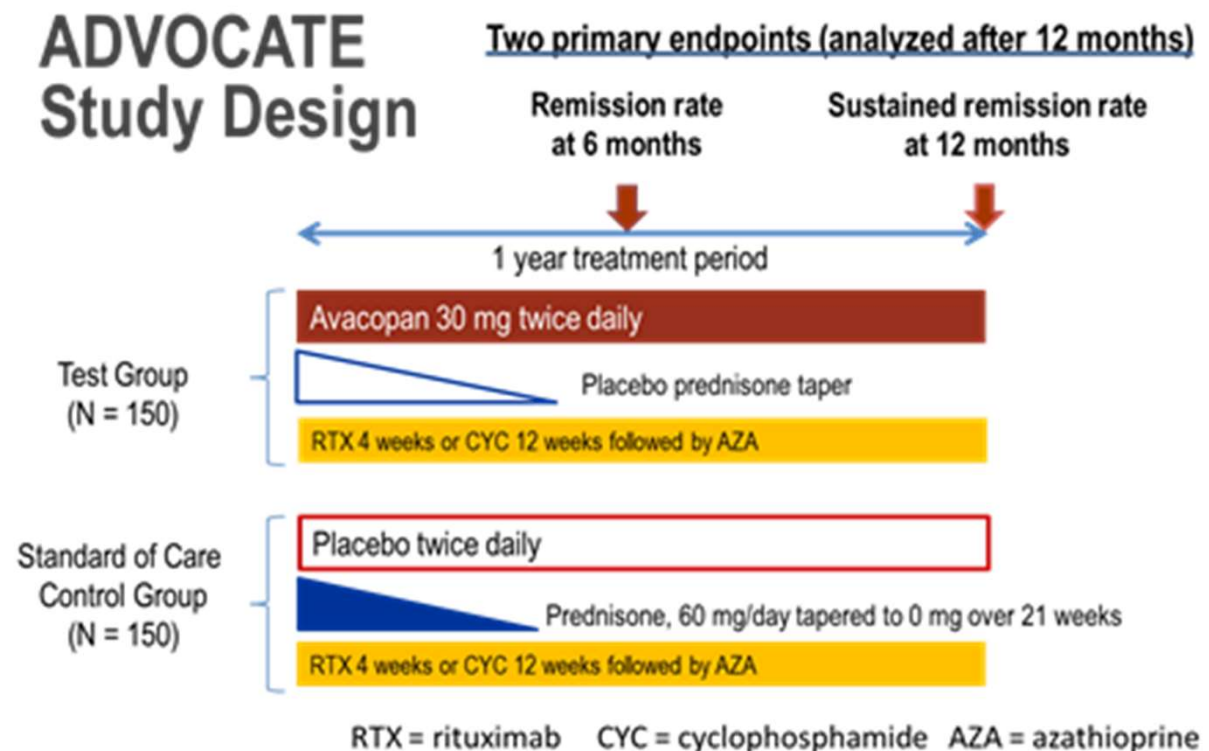
# Essais ciblant l'activation du complément via la voie C5a/C5aR

- Etude de phase 3, internationale, évaluant CCX168/Avacopan
- >300 patients inclus

- Critères de jugement:

- Rémission à M6
- Rémission maintenu à M12

- Fin du suivi des derniers patients en septembre 2019



# Essais ciblant l'activation du complément via la voie C5a/C5aR

## IXPLORE

Etude de phase 2

USA

Evaluant l'IFX-1 (anti-C5a)

Idem étude CLASSIC (Tolérance)

36 patients à inclure

## IXCHANGE

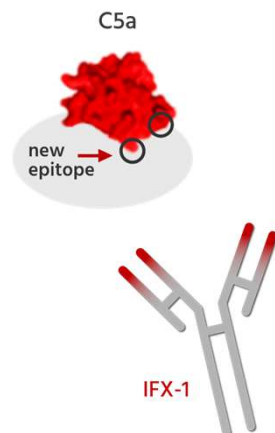
Phase 2

Europe

Evaluant l'IFX-1 (anti-C5a)

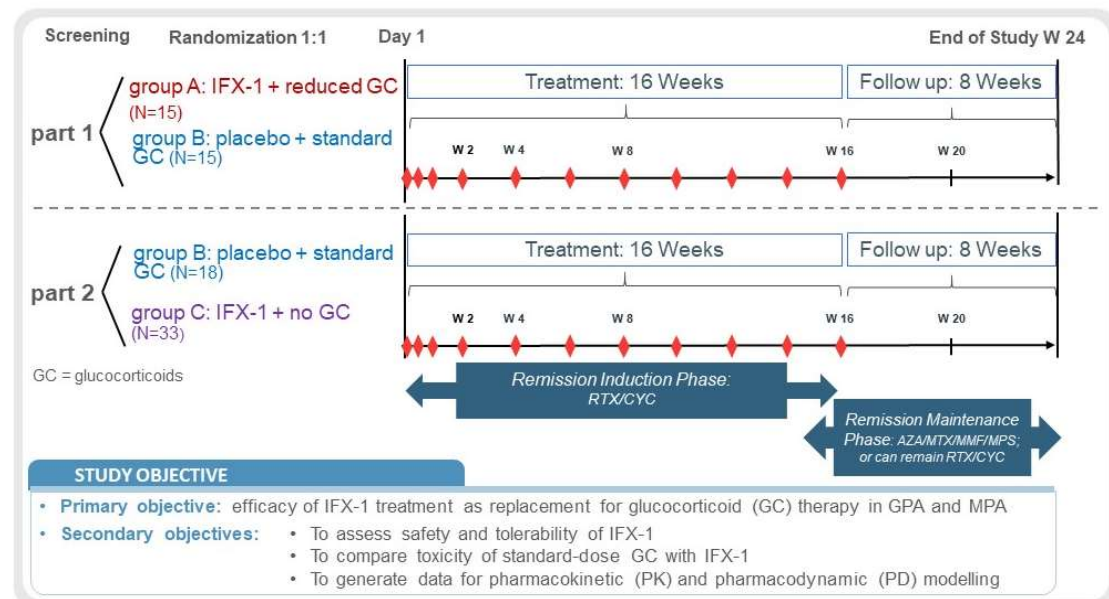
Idem étude CLEAR (Efficacité)

81 patients à inclure



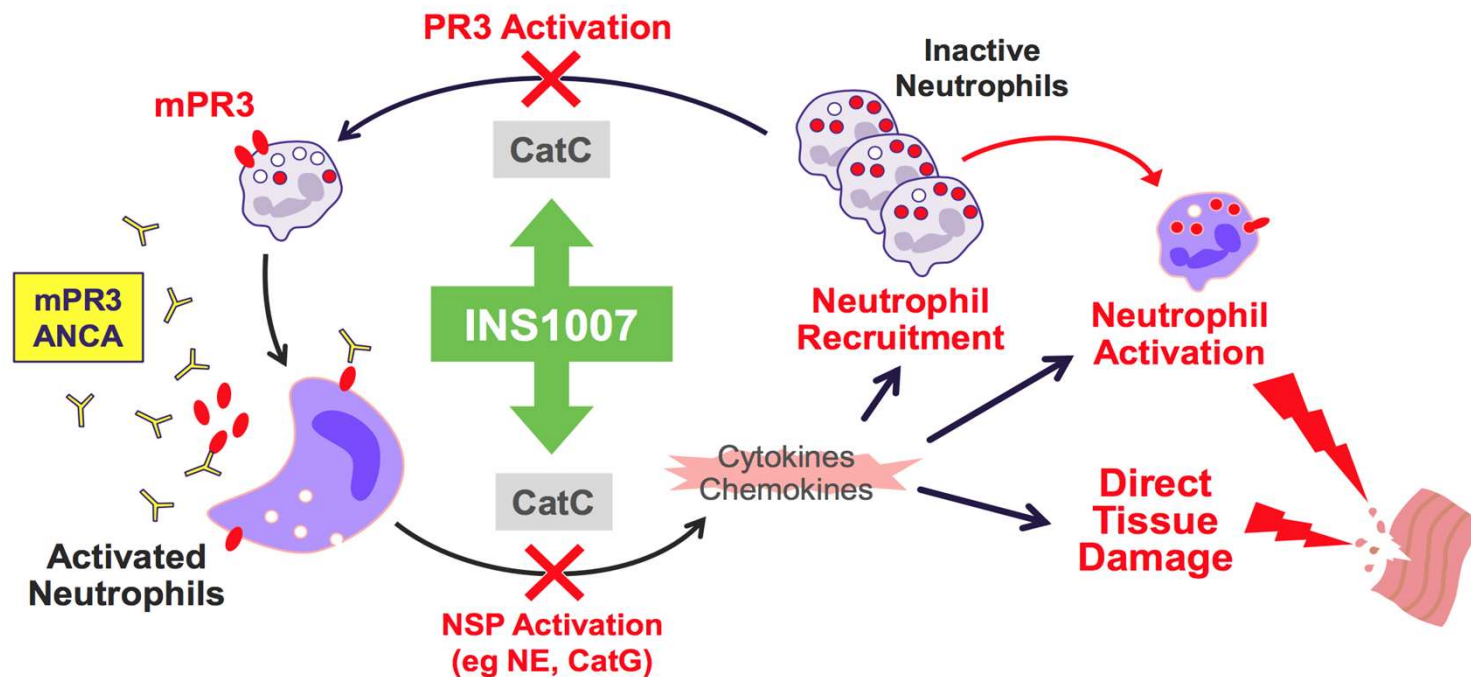
### Key Features

- Blocks C5a biological effects up to 100% in human blood
- Leaves MAC formation intact
- Binds with high affinity to the discovered epitope

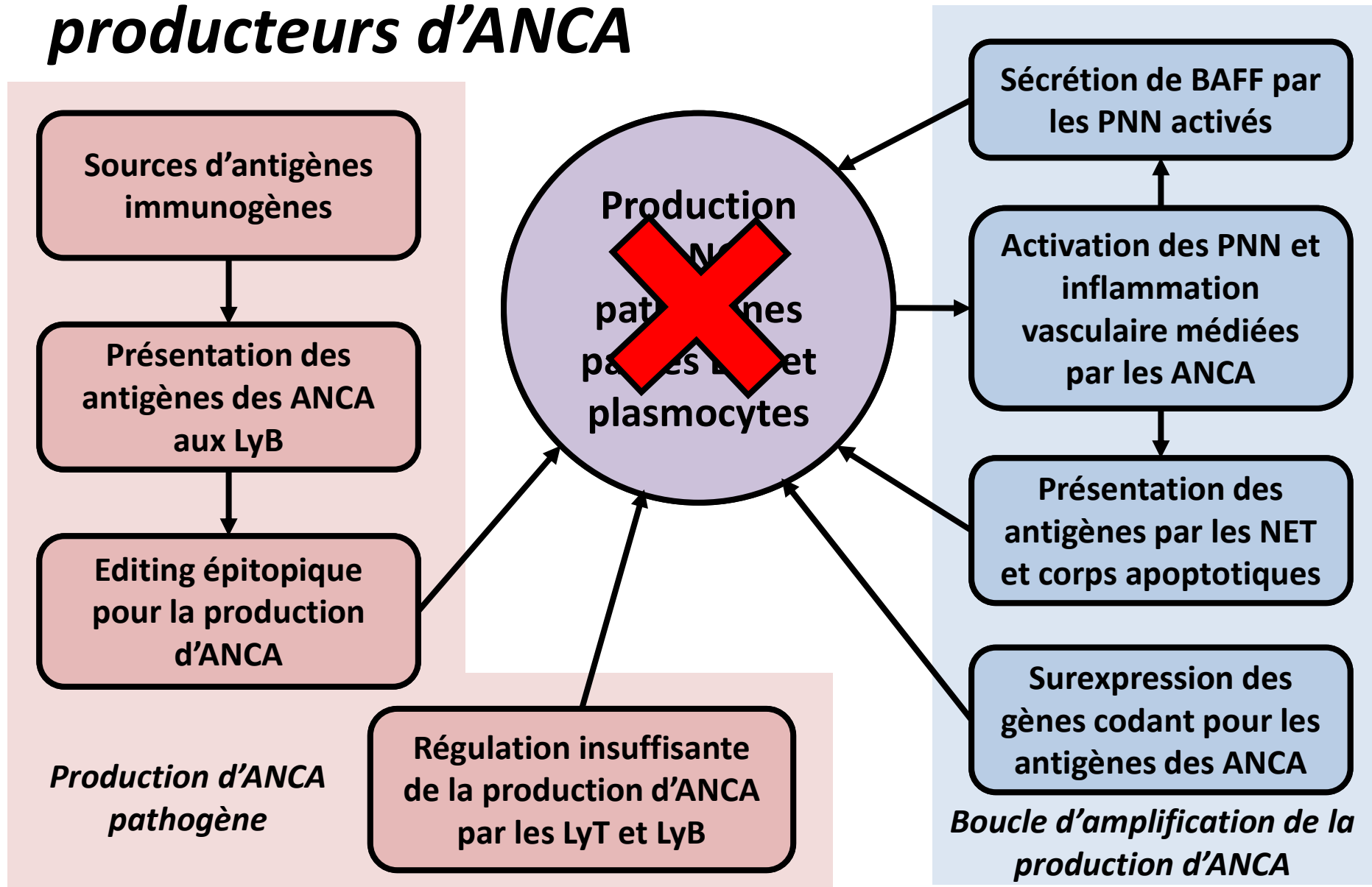


## 2. Cibler la protéinase 3 et son rôle pro-inflammatoire

INS1007 : petite molécule orale inhibant la **dipeptidyl peptidase 1 (DPP1) ou cathépsine C** (enzyme catalysant l'activation des sérine protéases jouant un rôle clé dans des maladies inflammatoires pulmonaires chroniques)



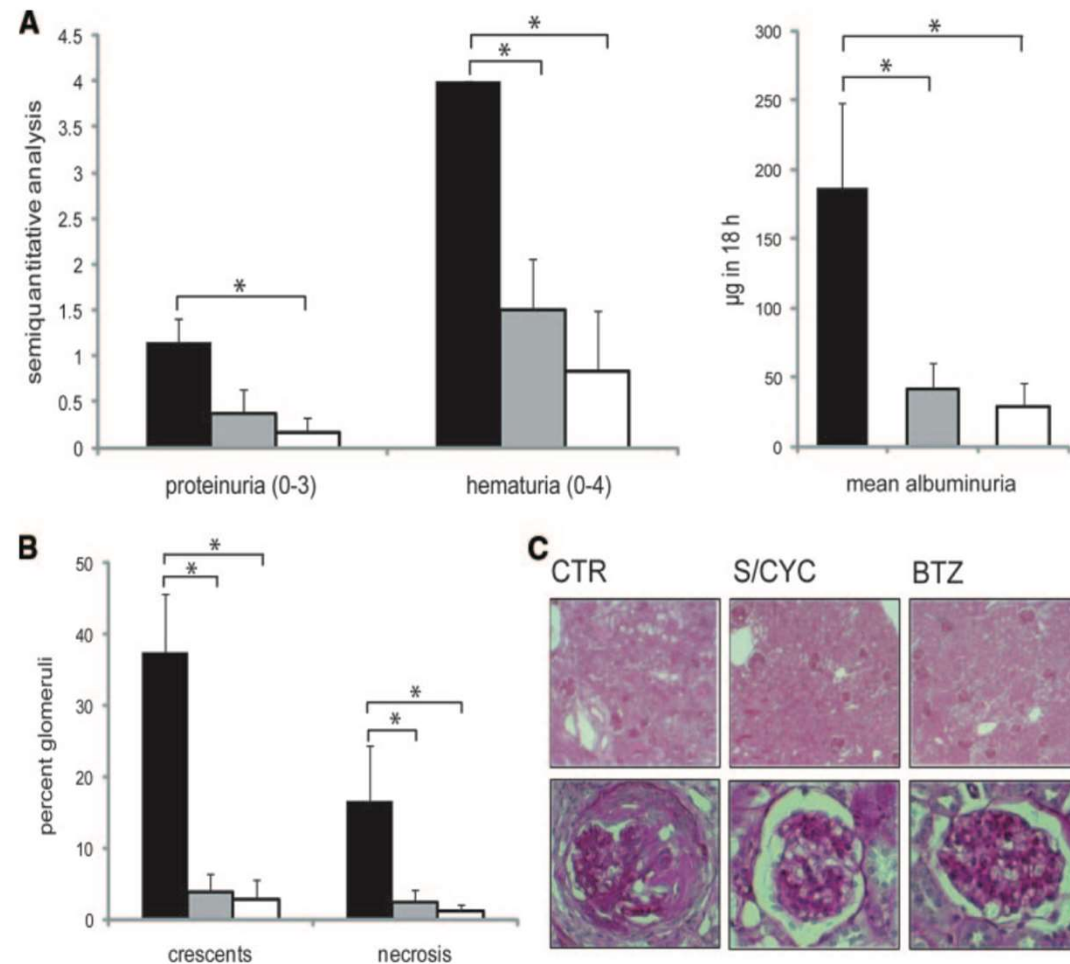
### 3. Cibler les LyB mémoires et plasmocytes producteurs d'ANCA



Adapted from Jennette, *Semin Immunopathol*, 2014

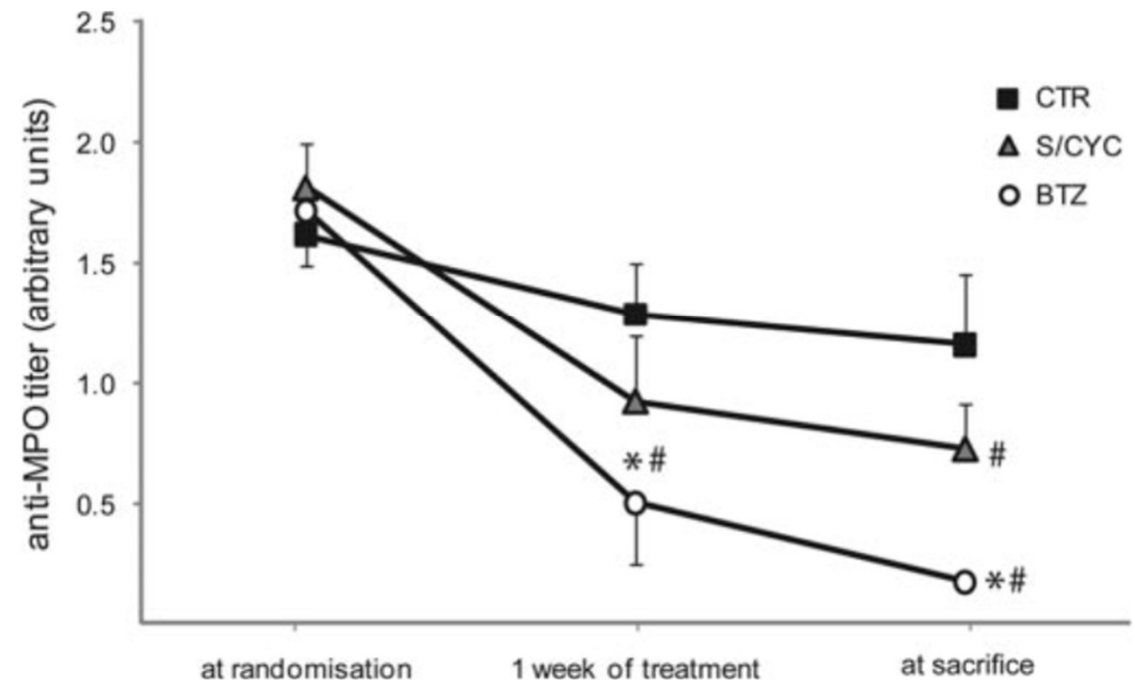
### 3. Cibler les LyB mémoires et plasmocytes producteurs d'ANCA

**Modèle murin de transplantation de moelle osseuse de souris WT chez des souris déficientes pour la MPO et immunisées avec la MPO**  
**Traitement par CTC + CYC, ou bortezomib seul**



### **3. Cibler les LyB mémoires et plasmocytes producteurs d'ANCA**

**Modèle murin de transplantation de moelle osseuse de souris WT chez des souris déficientes pour la MPO et immunisées avec la MPO**  
**Traitement par CTC + CYC, ou bortezomib seul**

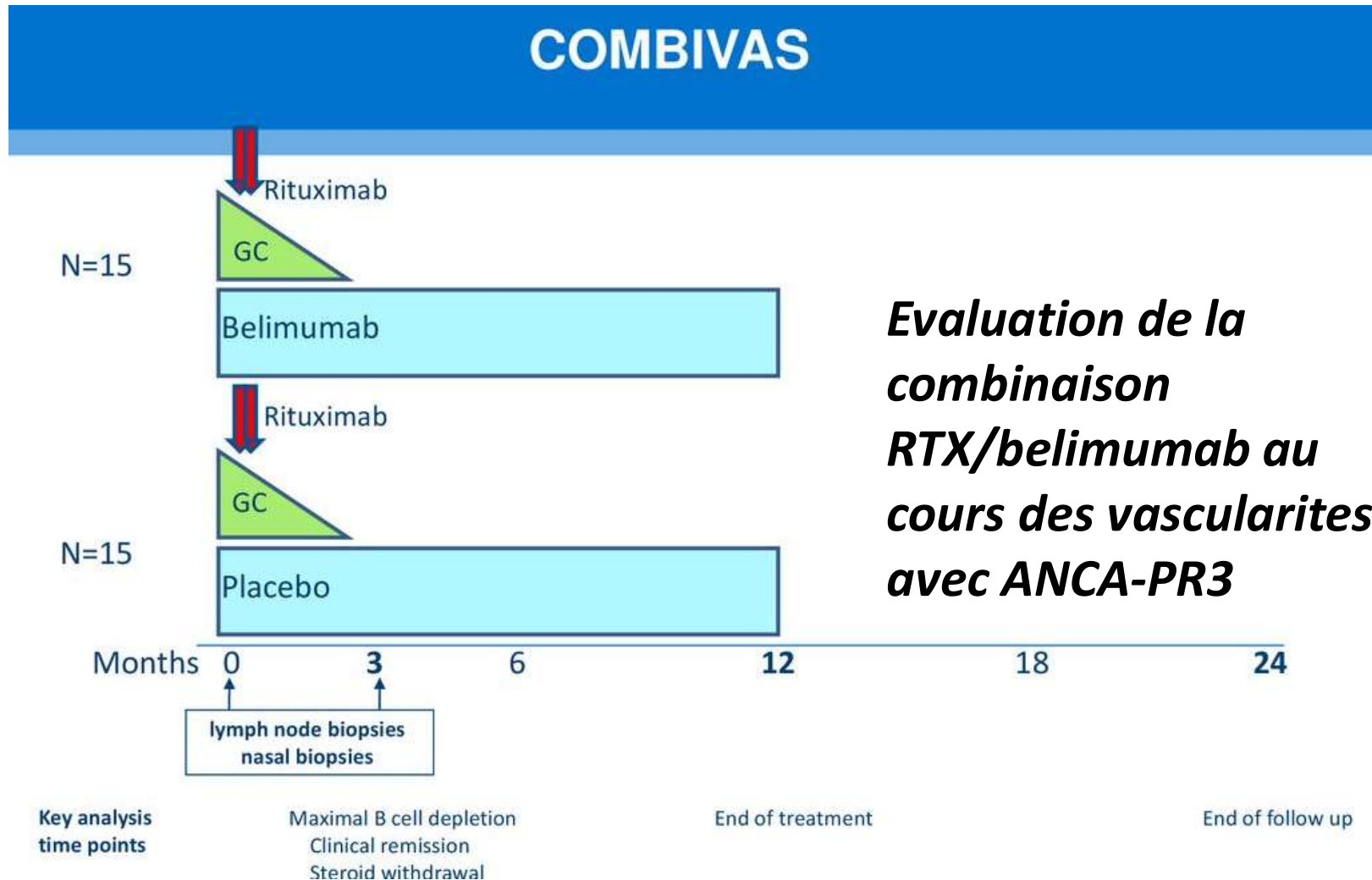


### ***3. Cibler les LyB mémoires et plasmocytes producteurs d'ANCA***

- **Diminution des LyB mémoires circulants chez les malades actifs** → Recrutement dans les sites inflammatoires ou différenciation en plasmocytes ?
- **Efficacité chez la souris MPO des inhibiteurs du protéasome**
- **Rationnel d'une combinaison RTX/belimumab :**
  - Production locale de BAFF, notamment par les neutrophiles activés, limitant la déplétion B
  - Excès de BAFF après RTX pourrait favoriser de développement de lymphocytes B autoréactifs



### 3. Cibler les LyB mémoires et plasmocytes producteurs d'ANCA



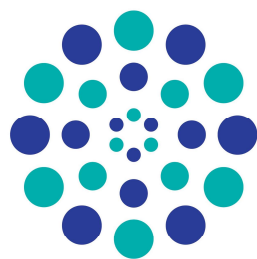
## ***Take home message***

- **Rôle clé des ANCA (MPO +++), de l'activation du complément (MPO +++, PR3 ?) et de la protéinase 3 membranaire (PR3 +++) au cours des VAA**
  
- **Trois axes principaux ciblés par les futurs essais thérapeutiques :**
  1. **Activation du complément ciblée par les inhibiteurs de la voie du C5a/C5aR**
  2. **Rôle pro-inflammatoire de la protéinase 3 membranaire ciblée par l'inhibition des sérines protéases du neutrophile**
  3. **Production d'ANCA ciblée par les anti-CD20 ou les combinaisons anti-CD20/anti-BAFF**



CENTRE DE REFERENCE GROUPE I  
MALADIES AUTO-IMMUNES ET MALADIES SYSTEMIQUES RARES  
Vascularites, Sclerodermies Systemiques,  
Histiocytose langerhansienne non pulmonaire de l'adulte

***[www.maladiesautoimmunes-cochin.org](http://www.maladiesautoimmunes-cochin.org)***



**GFEV** | GROUPE FRANÇAIS  
D'ÉTUDE DES  
VASCULARITES

***[www.vascularites.org](http://www.vascularites.org)***

