

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie appliquée

كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم البيولوجيا التطبيقية

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master**  
**Domaine :** Sciences de la Nature et de la vie  
**Filière :** Biotechnologie  
**Spécialité :** Biotechnologie et biothérapie

**Intitulé :**

---

***Perspectives de traitement de la maladie d'Alzheimer par  
l'immunothérapie et les fragments dérivés d'anticorps***

---

**Présenté par :** Dr ABADA Fany Sandra

**Le 20/06/2022**

**Jury d'évaluation :**

**Encadrant :** Dr ADJROUD Moussa

Maitre de conférences B, UFM, Constantine 1

**Examineur :** Dr BOUDOUKHANI Meriem

Maitre assistante B, UFM, Constantine 1

**Examineur :** Dr MOSBAH Asma

Maitre de conférences A, UFM, Constantine 1

**Année universitaire  
2021 - 2022**

# *Remerciements*

*Tout d'abord, Je tiens à remercier Dieu, de m'avoir guidée tout au long de mon parcours universitaire, et de m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce travail de recherche*

*Mes remerciements s'adressent particulièrement à mon encadrant Dr ADJROUD pour son encadrement de qualité, sa bienveillance, et la confiance accordée pour mener à bien ce projet*

*Je tiens également à exprimer ma gratitude envers les membres du Jury : Dr BOUDOUKHANI et Dr MOSBAH, pour m'avoir fait l'honneur d'évaluer ce travail et de contribuer à son analyse par leurs compétences respectives.*

*Enfin, je tiens à remercier toute personne, ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

# *Dédicaces*

*A mes chers parents, A ma chère sœur,*

*Je vous dédie ce mémoire pour vous faire part de ma  
profonde gratitude pour toute l'affection et le soutien que  
vous m'apportez au quotidien*

*Je vous remercie d'être toujours à mes côtés et de  
m'accompagner dans toutes les étapes de ma vie.*

## SOMMAIRE

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Liste des Annexes

Abréviations

**Introduction ..... 2**

### **Chapitre I : La maladie d'Alzheimer**

**I.1- Définition..... 4**

**I.2- Historique..... 4**

**I.3- Epidémiologie ..... 4**

**1.4- Physiopathologie ..... 5**

1.4.1- La protéine Tau ..... 5

1.4.2- Le peptide bêta amyloïde (A $\beta$ )..... 6

1.4.3- Les pertes neuronales et altérations synaptiques..... 8

1.4.4- Autres manifestations physiopathologiques..... 8

1.4.5-Mécanisme physiopathologique hypothétique ..... 8

**1.5- Facteurs de risque..... 9**

1.5.1-Facteurs de risque génétique de la forme précoce de la MA ..... 9

1.5.2-Facteurs de risque génétique de la forme tardive de la MA..... 9

1.5.3-Autres facteurs de risque ..... 9

**I.6-Clinique de la maladie d'Alzheimer ..... 10**

**I.7-Diagnostic de la maladie d'Alzheimer ..... 10**

**I.8- Traitement..... 11**

1.8.1-Les inhibiteurs de l'Acétylcholinestérase ..... 11

1.8.2- Les antagonistes des récepteurs glutaminergiques ..... 11

## **Chapitre II : L'immunothérapie dans le cadre du traitement de la maladie d'Alzheimer**

<b>II.1- L'immunothérapie</b> .....	13
II.1.1-Généralités .....	13
A- L'immunothérapie active .....	14
B- L'immunothérapie passive .....	14
<b>II.2- L'immunothérapie dans le cadre du traitement de la maladie d'Alzheimer</b> .....	15
II.2.1-L'immunothérapie active dans le traitement de la maladie d'Alzheimer	16
A- L'immunothérapie active anti-A $\beta$ .....	16
B-L'immunothérapie active anti Tau.....	17
II.2.2-L'immunothérapie passive dans le traitement de la maladie d'Alzheimer .....	18
II.2.2.1- Les anticorps monoclonaux .....	18
A-Généralités .....	18
B- Les anticorps monoclonaux dirigés contre l'A $\beta$ .....	19
C- Les anticorps monoclonaux dirigés contre la protéine Tau .....	21
D- Les anticorps monoclonaux et la microglie .....	22
E- Limites de l'utilisation des anticorps monoclonaux et formats alternatifs .....	23

## **Chapitre III : Les fragments dérivés d'anticorps dans le cadre du traitement de la maladie d'Alzheimer**

<b>III.1-Les fragments variables simple chaîne (ScFv)</b> .....	25
III.1.1- Généralités.....	25
A-Définition.....	25

B-Production des fragments ScFv.....	26
C- Les fragments ScFv approuvés en thérapeutique.....	27
III.1.2- Applications des ScFv dans le traitement de la maladie d'Alzheimer..	27
A- Les ScFv dirigés contre l'A $\beta$ .....	27
B-Les ScFv dirigés contre la protéine Tau .....	28
<b>III.2- Les fragments d'anticorps à domaine unique ( Nanobodies ou VHH) 29</b>	
III.2.1-Généralités .....	29
A-Définition .....	29
B- Production des Nanobodies .....	30
C-Potentiel thérapeutique des Nanobodies.....	31
III.2.2- Applications des Nanobodies dans le traitement de la maladie d'Alzheimer .....	31
III.2.2.1- Les Nanobodies pour prévenir la production et l'agrégation de l'A $\beta$ .....	31
A-VHHs inhibant la production d'A $\beta$ .....	31
B-VHHs inhibant l'agrégation d'A $\beta$ .....	32
III.2.2.2- Les Nanobodies dirigés contre la protéine Tau.....	32
<b>Conclusion.....</b>	<b>34</b>

## **Bibliographie**

## **Annexes**

## **Résumés**

## Liste des Figures

<b>Figure 1:</b> La protéine Tau en conditions physiologiques et pathologiques.....	5
<b>Figure 2:</b> Agrégats de protéines Tau dans le cerveau d'un patient Alzheimer, révélés par immuno-histo-chimie anti-Tau .....	6
<b>Figure 3:</b> Progression chronologique des dégénérescences neurofibrillaires (DNF)	6
<b>Figure 4:</b> Production du peptide A $\beta$ . .....	7
<b>Figure 5 :</b> Différents types de dépôts extracellulaires de peptide A $\beta$ dans le cerveau d'un patient Alzheimer, révélés par immuno-histo-chimie anti- A $\beta$ . .....	7
<b>Figure 6:</b> Progression chronologique des dépôts amyloïdes dans la MA .....	7
<b>Figure 7:</b> Hypothèse de la cascade amyloïde . .....	8
<b>Figure 8:</b> Immunité innée et l'immunité adaptative. ....	13
<b>Figure 9 :</b> Types de réponses immunitaires adaptatives .....	13
<b>Figure 10:</b> Thérapies anti-A $\beta$ (A) et Thérapies anti Tau (B). .....	15
<b>Figure 11:</b> Immunisation active de souris par des fibrilles d'A $\beta$ .....	16
<b>Figure 12:</b> Structure d'une immunoglobuline (IgG) .....	18
<b>Figure 13:</b> Structure des anticorps monoclonaux .....	19
<b>Figure 14:</b> Immunothérapies passives dirigées contre A $\beta$ .....	19
<b>Figure 15:</b> Représentation schématique du mode d'action de l'Aducanumab .....	20
<b>Figure 16:</b> Mécanisme d'action hypothétique des anticorps monoclonaux .....	21
<b>Figure 17:</b> Immunothérapies passives dirigées contre la protéine Tau .....	22
<b>Figure 18:</b> Structure de divers fragments d'anticorps (Fab, ScFv, VHH) .....	23
<b>Figure 19:</b> Structure des fragments ScFv .....	25
<b>Figure 20:</b> Structure des ScFv multimériques .....	25
<b>Figure 21:</b> Génération d'une librairie de fragments ScFv.....	26
<b>Figure 22:</b> processus de sélection des ScFv par <i>phage display</i> .....	26
<b>Figure 23:</b> Schématisation du mode d'action des ScFv anti-Tau médiés par AAV	28
<b>Figure 24:</b> Structure des anticorps conventionnels, des anticorps de camélidés et des Nanobodies.....	29
<b>Figure 25:</b> Etapes de production des Nanobodies. ....	30
<b>Figure 26:</b> Mode d'action du VHH-B9.....	32

## **Liste des Tableaux**

**Tableau I :** Critères diagnostiques du National Institute of Aging ..... 10

## **Liste des Annexes**

**Annexe A :** Principaux gènes impliqués dans la forme tardive de la MA

**Annexe B :** Immunothérapies actives anti-A $\beta$  en phase d'essai clinique

**Annexe C :** Immunothérapies passives anti-A $\beta$  en phase d'essai clinique

**Annexe D :** Immunothérapies passives anti-Tau en phase d'essai clinique

**Annexe E :** Fragments ScFv dirigés contre l'A $\beta$

**Annexe F :** Etapes de réalisation d'une librairie de Nanobodies

## Abréviations

**AAV** : Virus Adéno-Associé

**ADI** : Alzheimer disease International

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**ADNc** : ADN complémentaire

**ADRDA** : Alzheimer's Disease and Related Disorders Association

**AMM** : Autorisation de Mise sur le Marché

**APP** : Amyloid Precursor Protein

**ARN** : Acide Ribonucléique

**ARNm** : ARN messenger

**A $\beta$**  : Bêta Amyloïde

**BACE1** :  $\beta$ -site of Amyloid precursor protein Cleaving Enzyme 1

**CH** : Constant domain from Heavy chain

**CL** : Constant domain from Light chain

**DNF** : Dégénérescences Neurofibrillaires

**Fab** : Fragment Antigen Binding

**Fc** : Fragment Cristallisable

**FDA** : Food and Drug Administration

**Fv** : Fragment Variable

**HcAbs** : Heavy Chain Antibodies

**IgG** : Immunoglobuline de type G

**MA** : Maladie d'Alzheimer

**Mab** : Monoclonal antibody

**NIA-AA** : National Institute of Aging- Alzheimer's Association

**NINCDS** : National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke

**NMDA** : N-méthyl-D-aspartate

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PCR** : Polymerase Chain Reaction

**PSEN1** : Préséniline de type 1

**PSEN2** : Préséniline de type 2

**ScFv** : Single Chain Fragment Variable

**VH** : Variable domain from Heavy chain

**VHH** : Variable domain of Heavy-chain antibody

**VL** : Variable domain from Light chain

# **Introduction**

## Introduction

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) plus de 50 millions de personnes sont atteintes de démence dans le monde. Dans 60 à 70 % des cas la maladie d'Alzheimer en serait à l'origine (1).

La maladie d'Alzheimer (MA) est une affection neurodégénérative du système nerveux central qui se caractérise par une détérioration durable et progressive des fonctions cognitives. Les patients atteints présentent initialement des troubles de la mémoire puis un déclin graduel des fonctions instrumentales et exécutives qui aboutit à la perte de leur autonomie.

La MA est associée principalement à deux types de lésions neuropathologiques : les plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires. La complexité des mécanismes physiopathologiques sous jacents à ces lésions a limité pendant de nombreuses années le développement de traitements curatifs.

En effet, les traitements disponibles pour la prise en charge de la MA ont été jusqu'à récemment exclusivement d'ordre symptomatique.

Néanmoins, la maîtrise actuelle des techniques de biotechnologie a permis l'émergence de nouvelles biothérapies qui ciblent spécifiquement les entités pathologiques impliquées dans la MA. Parmi ces biothérapies l'immunothérapie est la piste thérapeutique la plus prometteuse.

En outre, le 7 Juin 2021, la FDA (*Food and Drug Administration*) a approuvé la mise sur le marché de l'Aducanumab (2). Cet anticorps monoclonal dirigé contre les plaques amyloïdes est la première immunothérapie à être approuvée pour le traitement de la MA. Cette approbation est un véritable tournant dans le traitement de la pathologie Alzheimer car aucun autre traitement n'avait été approuvé depuis 2003 dans ce cadre.

Le but de ce mémoire est de passer en revue les différentes immunothérapies en cours de développement pour le traitement de la MA, ainsi que d'apprécier les outils immunologiques pouvant être utilisés dans ce contexte.

Un intérêt particulier sera porté aux anticorps monoclonaux, et aux avantages, limites et effets indésirables potentiels de leur usage. Enfin, des formats alternatifs à ces anticorps seront décrits ainsi que leurs éventuelles applications au traitement de la MA.

# **Chapitre I :**

## **La maladie d'Alzheimer**

## **I.1- Définition**

La maladie d'Alzheimer est une affection neurodégénérative du système nerveux central. Elle se caractérise par une détérioration durable et progressive des fonctions cognitives, associée à deux types de lésions neuropathologiques : les plaques amyloïdes et les amas neurofibrillaires (3). Cette pathologie se manifeste typiquement par un déficit de la mémoire épisodique, suivi d'un déficit des fonctions instrumentales et exécutives, qui entraînent la perte d'autonomie du patient puis son décès (4).

## **I.2- Historique**

La maladie d'Alzheimer fut décrite pour la première fois par le psychiatre allemand Alois Alzheimer (1864-1915) (5) lors d'une communication présentée en décembre 1906 à la 52<sup>ème</sup> réunion de la société des psychiatres de l'Allemagne du Sud-ouest (6). Cette communication fut ensuite publiée en 1907 (7).

Alois Alzheimer y relate le cas d'une patiente de 51 ans, présentant un « processus pathologique particulier » qui se manifeste par une altération progressive de la mémoire avec des troubles du comportement et des lésions du cortex cérébral (7).

Ce n'est qu'au cours des années 1980 que les constituants biologiques des lésions histologiques des patients ont été mis en évidence.

Ainsi, le pathologiste George Glenner a identifié, en 1984, le peptide bêta amyloïde (A $\beta$ ) comme composant principal des plaques amyloïdes (8). Puis, a suivi l'identification de la protéine Tau, en 1985, au niveau des amas neurofibrillaires par Jean-pierre Brion (9).

Lors des années 1990, les progrès en génétique ont permis d'identifier plusieurs gènes liés à l'apparition de la maladie et aboutir à une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques sous jacents.

## **I.3- Epidémiologie**

Selon l'OMS plus de 50 millions de personnes sont atteintes de démence dans le monde. Dans 60 à 70 % des cas la maladie d'Alzheimer en serait à l'origine. La maladie d'Alzheimer représente, ainsi, la cause la plus courante de démence (1).

Selon le rapport « Alzheimer et méditerranée 2016 » basé sur les estimations de l'*Alzheimer disease International* (ADI) 2015, l'Algérie aurait compté 129.000 personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer au cours de l'année 2015 et estime à près de 493.000 le nombre de malades en 2050 (10).

En 2018, une étude réalisée au niveau de la wilaya de Blida fait état d'une prévalence estimée à 200.000 cas à l'échelle nationale (11).

Néanmoins, il est fort probable que ces estimations soient nettement inférieures aux chiffres réels car selon le rapport de l'ADI 2021 près de 75% des patients atteints de démence ne sont pas diagnostiqués dans le monde (12).

## 1.4- Physiopathologie

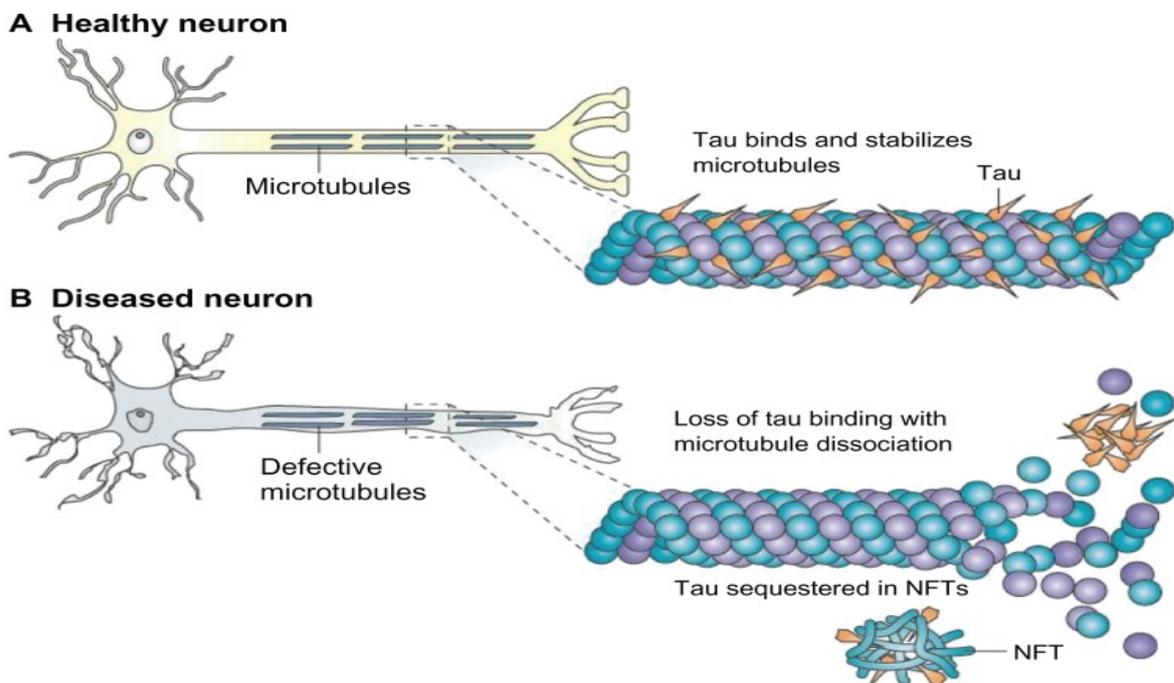
Les principales constatations pathologiques observées au cours de la MA sont :

L'accumulation intracellulaire de protéine Tau phosphorylée dans les dégénérescences neurofibrillaires (DNF), les dépôts extracellulaires de peptides bêta-amyloïde ( $A\beta$ ) et les pertes synaptiques ou neuronales (14).

### 1.4.1- La protéine Tau

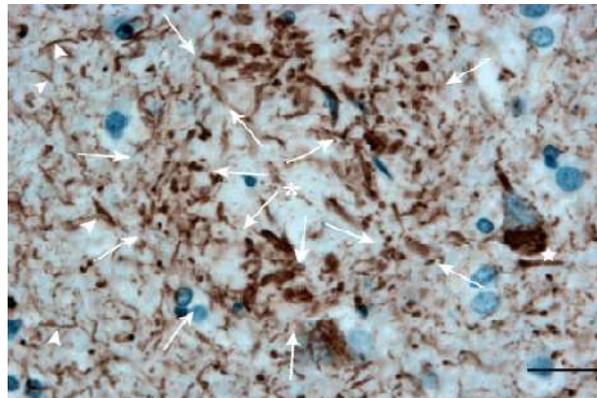
Les protéines Tau sont des phosphoprotéines solubles intracellulaires, normalement présentes dans les neurones. Elles permettent de moduler la polymérisation et la stabilité des microtubules axonaux en interagissant avec la tubuline. (Figure 1A)

Dans la maladie d'Alzheimer, il existe une tau-opathie caractérisée par une hyperphosphorylation et une modification de la solubilité des protéines Tau, conduisant à des filaments insolubles appariés en hélices (14). (Figure 1B)



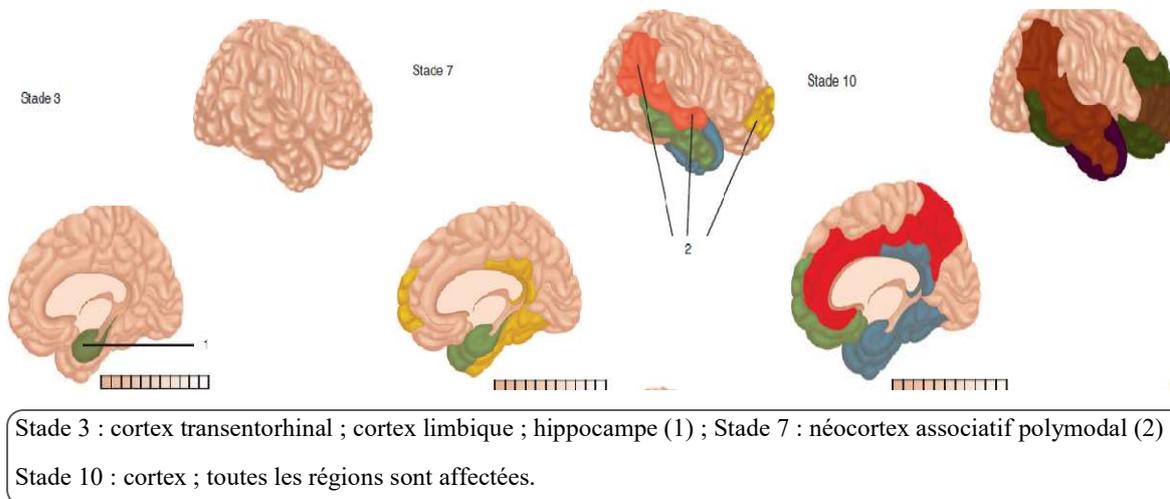
**Figure 1:** La protéine Tau en conditions physiologiques et pathologiques. (13)

Ces filaments pathologiques peuvent siéger au niveau du corps neuronal (formant des DNF), au niveau des dendrites (formant de fibres tortueuses) ou encore au niveau des axones dégénérés (14). (Figure 2)



**Figure 2:** Agrégats de protéines Tau dans le cerveau d'un patient Alzheimer, révélés par immuno-histo-chimie anti-Tau (14)

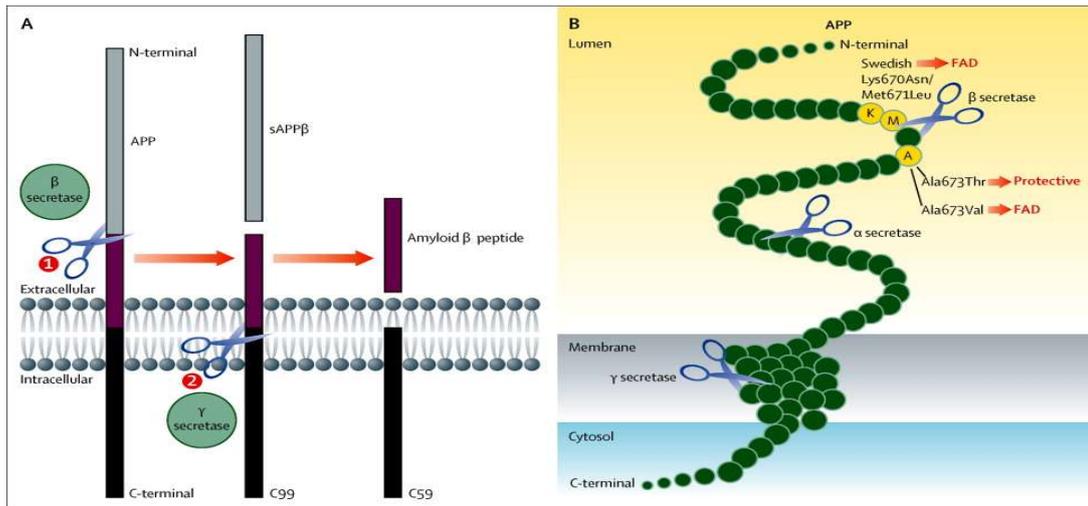
La progression chronologique de ces agrégats à travers le cerveau humain au cours de la MA est décrite par une classification en plusieurs stades, dénommée classification de Braak (15) (Figure 03).



**Figure 3:** Progression chronologique des dégénérescences neurofibrillaires (DNF) (4)

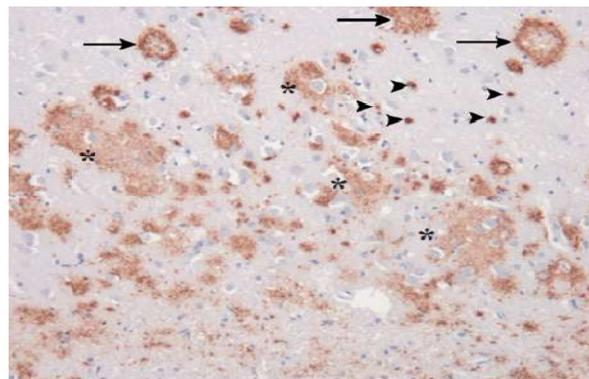
#### 1.4.2- Le peptide bêta amyloïde (A $\beta$ )

Le peptide A $\beta$  est produit dans le cerveau par le clivage d'une protéine transmembranaire, l'*amyloid precursor protein* (APP), par les enzymes  $\beta$  et  $\gamma$ -sécrétase. La variabilité des sites de clivage par les sécrétases donne lieu à de nombreuses isoformes contenant de 36 à 43 acides aminés. (14). (Figure 4).



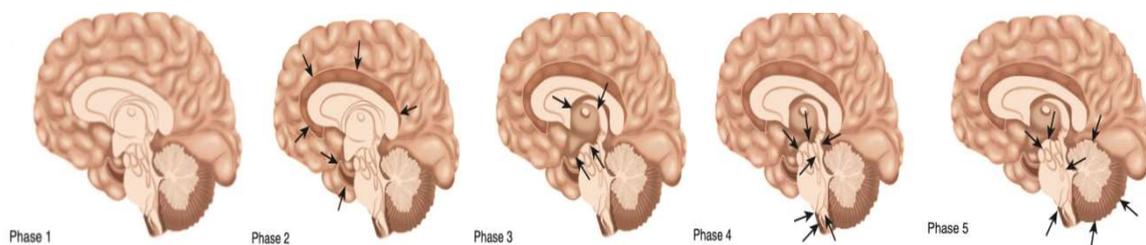
**Figure 4:** Production du peptide A $\beta$ . (16)

Dans la MA, l'A $\beta$  42 principalement, s'agrège en oligomères puis en protofibrilles et en fibrilles formant des plaques amyloïdes (4). Ces dépôts amyloïdes peuvent se présenter histologiquement sous formes variées. (Figure 5)



**Figure 5 :** Différents types de dépôts extracellulaires de peptide A $\beta$  dans le cerveau d'un patient Alzheimer, révélés par immuno-histo-chimie anti- A $\beta$  (14).

L'apparition progressive de ces dépôts au cours de la maladie obéit à une séquence topographique, décrite en cinq phases par Thal et al (17). (Figure 6)



Phase 1 : néocortex ; phase 2 : atteinte de l'hippocampe (allocortex) (flèches) ; phase 3 : atteinte du diencephale et des noyaux gris centraux (flèches) ; phase 4 : atteinte du tronc cérébral (flèches) ; phase 5 : atteinte du pont et du cervelet

**Figure 6:** Progression chronologique des dépôts amyloïdes dans la MA (4).

### 1.4.3- Les pertes neuronales et altérations synaptiques

La perte neuronale s'observe dans les phases lésionnelles les plus tardives de la maladie.

L'altération synaptique se manifeste par un nombre total de synapses et d'épines dendritiques diminué. Cette perte synaptique contribue probablement de façon très significative aux déficits cognitifs et serait un élément majeur de la physiopathologie (14).

### 1.4.4- Autres manifestations physiopathologiques

On observe, au cours de la MA, une réaction inflammatoire caractérisée notamment par la présence de cellules microgliales activées, et l'élévation de cytokines pro-inflammatoires. Cette neuro-inflammation serait induite par les agrégats de peptides A $\beta$  et contribuerait très probablement à la neurotoxicité.

Une baisse de l'acétylcholine corticale et des déficits dans ses enzymes de synthèse sont également observés chez les patients Alzheimer (14).

### 1.4.5-Mécanisme physiopathologique hypothétique

Actuellement, la théorie dominante sur le mécanisme physiopathologique de la MA reste l'hypothèse de la cascade amyloïde (18). Selon laquelle les différentes formes agrégées de peptide A $\beta$  stimulent la phosphorylation de la protéine Tau qui, en excès, désolidarise les microtubules, ce qui génère les DNF et induit la mort neuronale. (Figure 07)

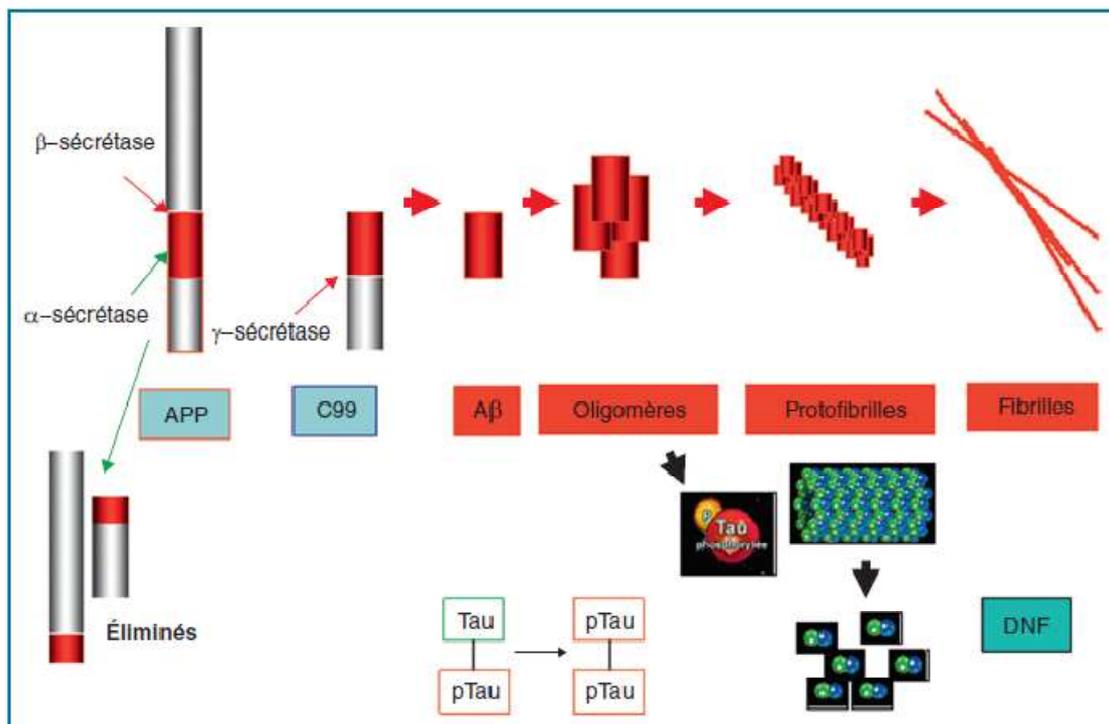


Figure 7: Hypothèse de la cascade amyloïde (19).

## 1.5- Facteurs de risque

Une grande quantité de facteurs de risque, souvent génétiques, sont suspectés ou identifiés d'être en lien avec la maladie d'Alzheimer. Il est à noter que cette pathologie comprend une forme précoce qui apparaît le plus souvent entre 30 et 55 ans, et une forme tardive apparaissant entre 80 et 90 ans. Cette dernière est de loin la plus fréquente. (20).

### 1.5.1-Facteurs de risque génétique de la forme précoce de la MA

Certaines familles possédant un héritage de gènes autosomiques dominants et développent la forme précoce de la maladie. Pour ces patients, la MA est liée à une mutation causale concernant un de ces trois gènes : APP, PSEN1 ou PSEN2 (20).

**a- le gène codant pour la protéine *amyloid precursor protein* (APP) :** est clivé par les sécrétases ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ). La plupart des mutations d'APP se situent près des sites de clivage des  $\beta$  et  $\gamma$ -sécrétases. Environ 49 différentes mutations sont connues.

**b- le gène codant pour la préséniline de type 1 (PSEN1) :** faisant partie du complexe  $\gamma$ -sécrétase. Les mutations dans ce gène représentent environ 50 % des MA précoces.

**c- le gène codant pour la préséniline de type 2 (PSEN2) :** La fréquence des mutations dans ce gène est beaucoup plus rare. Elle touche également le complexe  $\gamma$ -sécrétase.

### 1.5.2-Facteurs de risque génétique de la forme tardive de la MA

La génétique de la forme tardive est beaucoup plus complexe. De multiples gènes sont impliqués et codent pour des protéines dans des domaines biologiques distincts. Le tableau en annexe regroupe les principaux gènes impliqués dans la forme tardive (Annexe A). (20)

### 1.5.3-Autres facteurs de risque

**A-L'âge :** est le plus grand facteur de risque pour l'apparition de la MA. En effet, le vieillissement accroît notamment la proportion de mutations somatiques qui s'accumulent dans le génome nucléaire des neurones (20).

**b- Facteurs métaboliques et nutritionnels :** Divers études indiquent que le diabète, l'obésité, l'hypercholestérolémie, ou encore l'hypertension artérielle constituent des facteurs de risque de développer une MA (21-27).

**c- Facteurs toxiques et environnementaux :** les facteurs de risque liés à l'ingestion de sels d'aluminium ou l'emploi des pesticides ont été mis en cause dans certaines études. (28), (29). Une déficience en vitamine D pourrait également favoriser une neuro-dégénérescence (30).

## I.6-Clinique de la maladie d'Alzheimer

L'installation des signes cliniques de la maladie d'Alzheimer est lente et son évolution se fait de façon progressive. Les difficultés de mémorisation des faits récents, initient la maladie et s'accompagnent rapidement d'une désorientation temporelle puis spatiale.

La progression se fait vers une dégradation des facultés mentales du patient et l'apparition de troubles du comportement tels que l'anxiété ou l'agressivité.

Par la suite, une atteinte des fonctions instrumentales et exécutives est observée. Les fonctions de langage, de mouvement ou de reconnaissance sont altérées entraînant l'apparition d'une aphasie, d'une apraxie et d'une agnosie (4).

La chronologie de l'installation des symptômes cognitifs est déterminante dans la discussion diagnostique car des modalités évolutives différentes peuvent orienter vers d'autres diagnostics différentiels. Il est à noter toutefois que des formes cliniques atypiques de la maladie d'Alzheimer peuvent exister et sont décrites dans la littérature (31).

## I.7-Diagnostic de la maladie d'Alzheimer

Le diagnostic de la MA a reposé pendant près de 30 ans sur les critères cliniques du *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke* (NINCDS) et de l'*Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (ADRDA) de 1984 (32).

La démarche diagnostique de la MA a ensuite évoluée vers une démarche clinico-biologique grâce au développement de marqueurs biologiques qui reflètent les lésions neuropathologiques et permettent l'établissement d'un diagnostic précoce (31).

De nouveaux critères de diagnostic de la MA ont donc été publiés en 2011 par les équipes du *National Institute of Aging-Alzheimer's Association* (NIA-AA) (33). (Tableau I)

**Tableau I:** Critères diagnostiques du National Institute of Aging (4)

Catégorie diagnostique		Diagnostic de la MA au stade de MCI		
		Probabilité du diagnostic étiologique de MA	BM A $\beta$ (TEP ou LCR A $\beta$ )	BM neurod. (FDG, IRM, LCS tau et p-tau)
MCI – diagnostic syndromique (sans précision étiologique)		Non informatif	Contradictoires, ou indéterminés, ou non testés	
MCI dû à la MA	Diagnostic de probabilité intermédiaire	Intermédiaire	Positifs	Non testés
			Non testés	Positifs
MCI dû à la MA	Diagnostic de probabilité élevée	Élevée	Positifs	Positifs
MCI probablement non dû à la MA		Faible	Négatifs	Négatifs
		Diagnostic de MA au stade de démence		
Probable MA au stade de démence				
	Sur des critères cliniques	Non informatif	Contradictoires, non concluants, non testés	
	Avec arguments en faveur d'un mécanisme pathophysiologique de MA	Intermédiaire	Non testés ou indéterminés	Positifs
		Intermédiaire	Positifs	Non testés ou indéterminés
		Élevé	Positifs	Positifs
Probable MA avec présentation clinique atypique				
	Sur des critères cliniques	Non informatif	Contradictoires, non concluants, non testés	
	Avec arguments en faveur d'un mécanisme pathophysiologique de MA	Élevée mais n'exclut pas d'autres causes	Positifs	Positifs
Démence probablement pas due à la MA		Faible	Négatifs	Négatifs

## **I.8- Traitement**

Le traitement pharmacologique classique de la maladie d'Alzheimer se résume à quatre molécules approuvés par la FDA : le Donepezil, la Rivastigmine, la Galantamine , et la Mémantine (34),(35),(36),(37).Ce sont des traitements qualifiés de « symptomatiques » car ils se basent sur la modulation de la neurotransmission cholinergique et glutaminergiques pour atténuer les symptômes liés à la MA.

### **1.8.1-Les inhibiteurs de l'Acétylcholinestérase**

Une diminution de la transmission de l'acétylcholine ainsi qu'une perte progressive des neurones cholinergiques est observée chez les patients Alzheimer aboutissant à un déficit cognitif et des troubles du comportement (38).

Pour palier à ces effets, des traitements visant à augmenter la transmission cholinergique ont été commercialisés (le Donepezil, la Rivastigmine et la Galantamine).

Ce sont des inhibiteurs de la cholinestérase, enzyme de dégradation de l'acétylcholine et sont indiqués en première ligne de traitement de la forme légère à modérée de la MA.

Des essais cliniques randomisés ont montré que ces produits améliorent ou retardent la dégradation des fonctions cognitives (39),(40),(41)

### **1.8.2- Les antagonistes des récepteurs glutaminergiques**

La Mémantine est un antagoniste des récepteurs glutaminergiques NMDA (N-méthyl-D-aspartate) qui permet de diminuer la suractivité des neurones glutaminergiques qui interviennent dans les mécanismes de mort neuronale. (42), (43).

Les études cliniques dans les formes modérées à sévères de la MA ont montré un bénéfice sur l'autonomie et les troubles cognitifs des patients. Elle est donc actuellement proposée à un stade avancé de la maladie, en mono ou bithérapie avec les inhibiteurs de la cholinestérase (44).

Il est à noter que toutes ces molécules ont des effets limités sur la maladie. Bien qu'elles permettent une légère amélioration des fonctions cognitives, elles n'agissent pas sur les processus pathologiques sous jacents.

Le développement de traitements permettant de cibler plus spécifiquement les mécanismes physiopathologiques est donc nécessaire pour traiter durablement la maladie.

Actuellement les biothérapies (en particulier l'immunothérapie) constituent une piste prometteuse de traitement potentiel.

## **Chapitre II**

# **L'immunothérapie dans le cadre du traitement de la maladie d'Alzheimer**

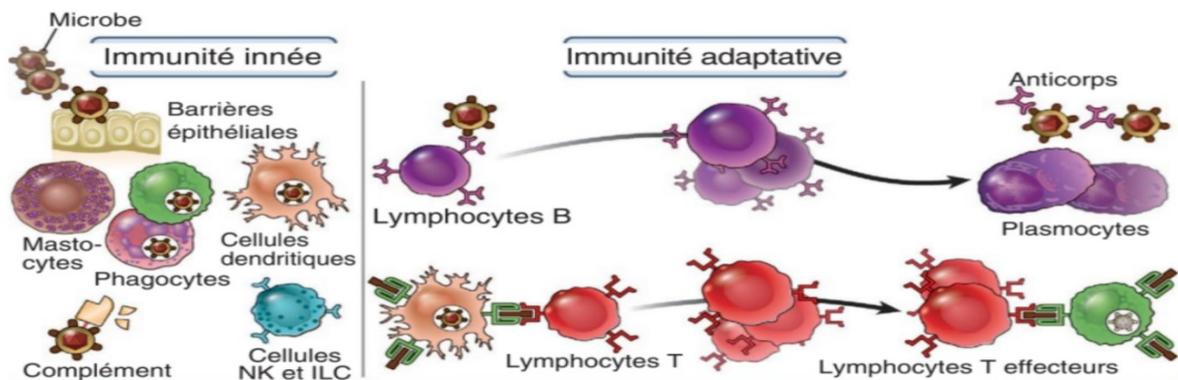
## II.1- L'immunothérapie

### II.1.1-Généralités

L'immunothérapie désigne un ensemble de traitements pouvant stimuler, restaurer, ou inhiber l'action du système immunitaire (45).

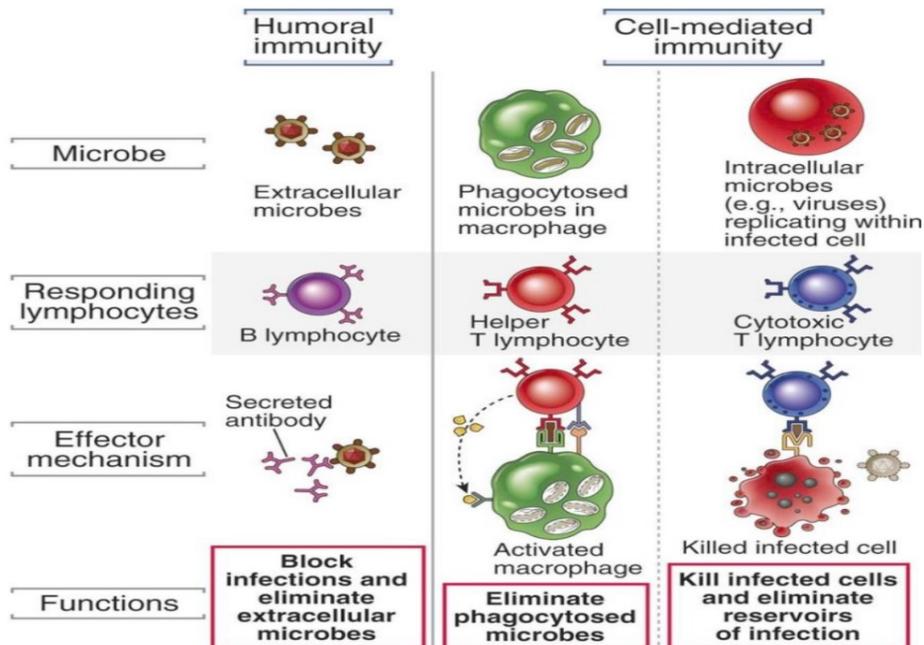
Le système immunitaire correspond à l'ensemble des mécanismes de défenses capables de protéger l'organisme et de maintenir son intégrité (46). Notamment en générant des réponses immunitaires à travers l'activation de deux types d'immunité :

L'immunité innée (ou naturelle qui est la première ligne de défense) et l'immunité adaptative, qui est plus spécifique. (Figure 8)



**Figure 8:** Immunité innée et l'immunité adaptative. (47)

L'immunité adaptative implique deux types de réponses : des réponses humorales médiées par des lymphocytes B qui sécrètent des anticorps, et des réponses à médiation cellulaire dont les effecteurs sont des lymphocytes T. (Figure 09)



**Figure 9 :** Types de réponses immunitaires adaptatives (47).

L'immunothérapie permet la modulation de ces réponses immunitaires à des fins thérapeutiques. Elle s'appuie notamment sur l'utilisation de substances biologiques modifiées par biotechnologie pour pouvoir aboutir à cette modulation (48).

En pratique on distingue deux types d'immunothérapies :

### **A- L'immunothérapie active**

Elle vise généralement à stimuler le système immunitaire que ce soit de façon spécifique ou non spécifique :

- L'immunothérapie active spécifique repose sur la stimulation du système immunitaire par l'injection d'un agent antigénique donné. Cet antigène est le plus souvent un pathogène infectieux (virus, bactérie ...) qui sera injecté sous forme atténuée ou inactivée et contre lequel une réponse immune est générée. C'est le principe de la vaccination traditionnelle (49). Une autre forme d'immunisation active sans injection d'antigène infectieux est cependant possible. Cette approche regroupe :

- Les vaccins peptidiques dont le principe est d'injecter un fragment d'antigène (peptide) afin de stimuler une réponse globale contre l'antigène cible.
- les vaccins à ADN ou ARN qui consistent en l'injection de matériel génétique pour permettre la production de l'antigène d'intérêt à l'intérieur de la cellule et la stimulation d'une réaction immunitaire spécifique contre cet antigène (50).

- L'immunisation active non spécifique permet une stimulation moins spécifique en utilisant des agents immunomodulateurs comme des cytokines (51).

### **B- L'immunothérapie passive**

Elle consiste à administrer directement au patient des molécules ou des cellules effectrices spécifiques du système immunitaire. La production de ces derniers se fait, contrairement à l'immunothérapie active, en amont et non dans l'organisme du patient.

Cette immunothérapie s'appuie notamment sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux, ou encore de lymphocytes T activés et modifiés génétiquement. (52).

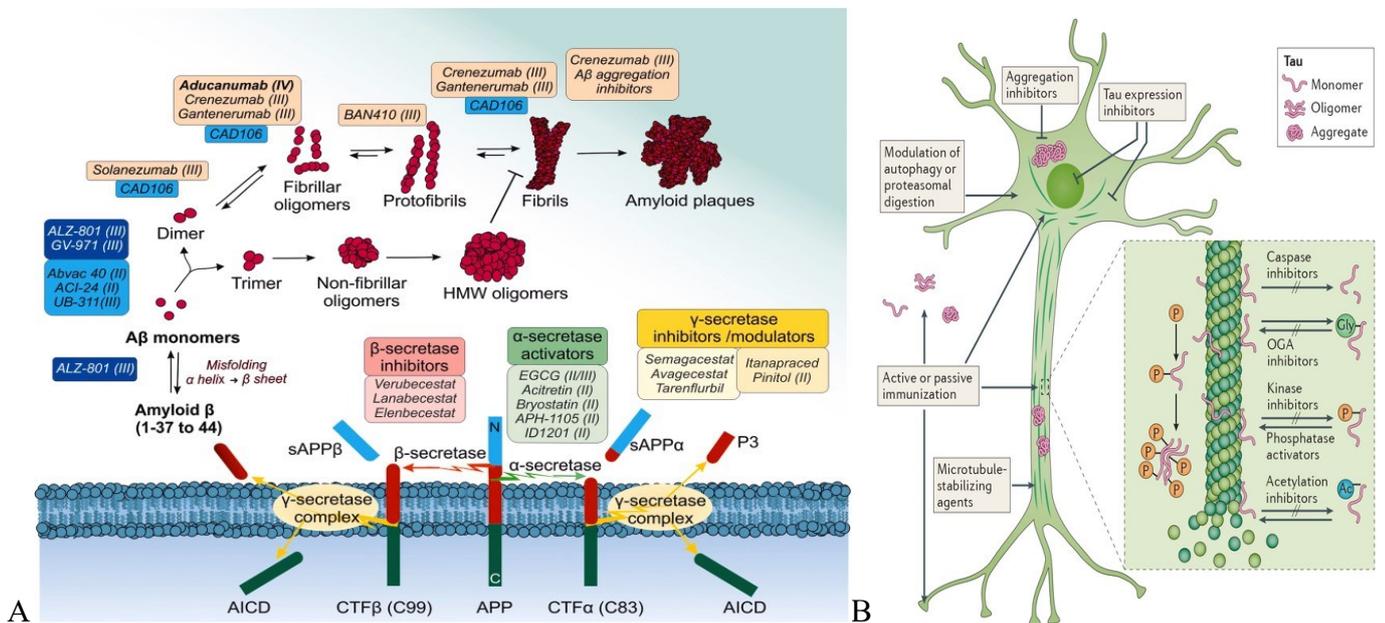
Il est à noter que divers immunothérapies sont déjà disponibles pour traiter différentes pathologies notamment en oncologie, en infectieux et en rhumatologie (53).

L'application de l'immunothérapie au traitement des maladies neurodégénératives est une approche prometteuse qui fait actuellement l'objet de nombreuses études.

## II.2- L'immunothérapie dans le cadre du traitement de la maladie d'Alzheimer

L'immunothérapie dans le cadre du traitement de la MA est dirigée principalement contre les deux entités pathologiques majeures : l'A $\beta$  et la protéine Tau hyperphosphorylée, qui jouent un rôle essentiel dans la physiopathologie de la maladie.

En effet, L'A $\beta$  aurait selon l'hypothèse de la cascade amyloïde un rôle pivot dans le développement de la MA, aboutissant à des dysfonctions synaptiques et la dégénérescence neuronale. En s'appuyant sur cette hypothèse, divers thérapies ciblant l'A $\beta$  ont été développées dans le but soit de diminuer sa production, d'inhiber son agrégation ou de promouvoir sa clairance (54). (Figure 10A)



**Figure 10:** Thérapies anti-A $\beta$  (A) et Thérapies anti Tau (B). (55) (56)

D'autre part, l'hyperphosphorylation de la protéine Tau, et la formation de DNF seraient fortement corrélées au déclin cognitif (57). Cette corrélation fait donc de la protéine Tau une cible privilégiée. Par conséquent, Les thérapies anti-Tau visent soit à la prévention de son hyperphosphorylation, ou à l'inhibition de son agrégation et de sa propagation, ou encore à l'accélération de sa clairance (Figure 10B).

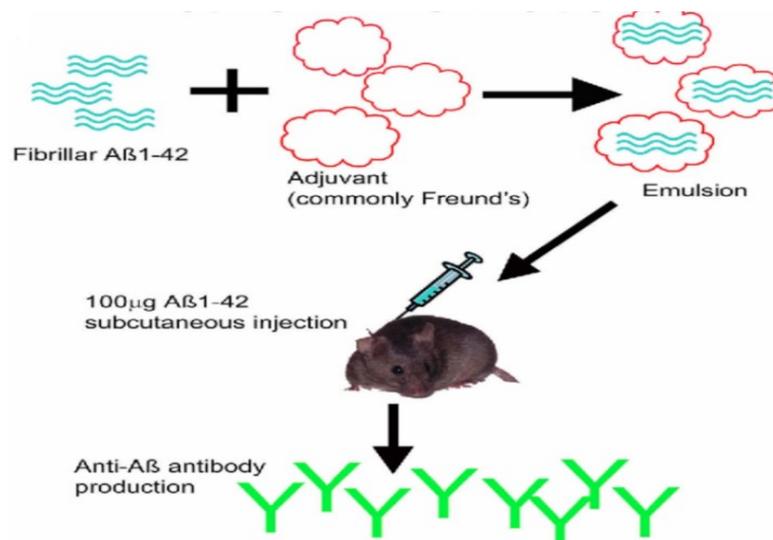
Il est à noter que ce sont ces principales immunothérapies dirigées contre ces entités pathologiques caractéristiques de la MA qui seront détaillées au cours de cette revue. Toutefois, divers autres immunothérapies ciblant le système immunitaire et ses composants sont en cours d'investigation dans le cadre de la MA. Elles visent notamment les cellules microgliales, le système du complément et les médiateurs de l'inflammation et pourraient ainsi agir par leurs effets immuno-modulateurs ou anti-inflammatoires. (58).

## II.2.1-L'immunothérapie active dans le traitement de la maladie d'Alzheimer

### A- L'immunothérapie active anti-A $\beta$

Le concept d'immunothérapie active anti-A $\beta$  consiste en l'injection de peptides A $\beta$  synthétiques ou leurs fragments dans le but de stimuler la production endogène d'anticorps anti-A $\beta$ .

En 1999, Schenk et al ont immunisé des souris mutées contre le peptide A $\beta$ 42 humain synthétique (Figure 11) et ont démontré que ce vaccin pouvait réduire la pathologie chez un modèle murin d'Alzheimer.(59)



**Figure 11:** Immunisation active de souris par des fibrilles d'A $\beta$  (60).

Ce qui a conduit à réaliser un premier essai clinique portant sur un vaccin anti-A $\beta$  dénommé AN-1792 sur des malades d'Alzheimer. Ce vaccin avait permis de réduire les plaques amyloïdes, mais fut suspendu en 2002 au vu de l'apparition d'importants effets indésirables dont des méningo-encéphalites chez 6% des participants.(61)

Cet échec a permis de comprendre que ces effets secondaires étaient dus à une réaction lymphocytaire excessive aboutissant à une réaction pro-inflammatoire.

Ainsi, une deuxième génération de vaccins anti-amyloïde a été développée en utilisant un fragment synthétique de petite taille d'A $\beta$  de manière à mieux contrôler la réponse immunitaire et être mieux toléré.(62)

Parmi ces immunothérapies de seconde génération, cinq d'entre elles sont actuellement en développement clinique : le CAD 106 , ACI-24 , UB311 , LuAF20513 et un vaccin à ADN codant pour A $\beta$ 42 .(63)

Le tableau de l'Annexe B résume les caractéristiques de ces immunothérapies actives ainsi que l'évolution de leurs essais cliniques respectifs. (Annexe B)

## **B-L'immunothérapie active anti Tau**

De manière analogue à l'immunothérapie anti-A $\beta$ , l'immunisation active anti-Tau a été inspirée d'une expérience sur un modèle de souris puis développée pour des essais cliniques humains. Parmi les vaccins anti-tau en phase d'essais cliniques :

-**L'AADvac-1** : est un vaccin basé sur un peptide synthétique dont le but est la production d'anticorps qui ciblent des épitopes qui relient la protéine Tau aux microtubules afin d'empêcher l'agrégation et la propagation de la pathologie Tau. Un essai clinique de phase II a confirmé son innocuité, son immunogénicité et sa bonne tolérance.(64)

-**ACI-35** : est un vaccin qui combine un phospho-peptide Tau à un vecteur de type liposome. Il a permis de réduire la pathologie Tau et d'améliorer le phénotype clinique dans un modèle murin sans signe de neuroinflammation.(65) Il est actuellement en phase d'essai clinique I/II.(66)

Bien que ces immunothérapies actives aient un potentiel prometteur, leur efficacité est observée essentiellement au stade débutant de la maladie. Elles seraient donc plus préventives que thérapeutiques, de plus le risque de développement d'une réaction inflammatoire reste contraignant. Par conséquent, d'autres thérapeutiques basées sur l'immunothérapie passive ont été développées.

## II.2.2-L'immunothérapie passive dans le traitement de la maladie d'Alzheimer

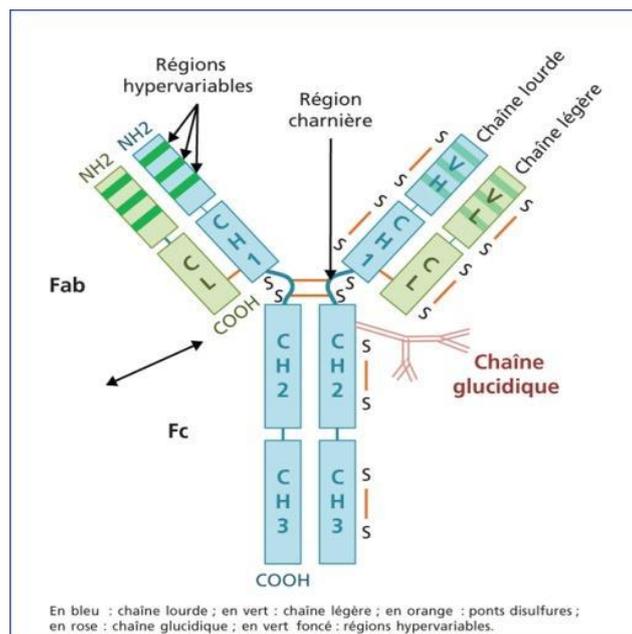
L'immunothérapie passive repose essentiellement sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux pour conférer une immunité contre une cible pathologique. En l'occurrence, le peptide A $\beta$  ou la protéine Tau hyperphosphorylée dans le cas de la MA.

### II.2.2.1- Les anticorps monoclonaux

#### A-Généralités

Un anticorps monoclonal est un anticorps synthétisé par un seul clone de lymphocytes B. Les anticorps monoclonaux sont donc des immunoglobulines ayant toutes la même propriété de reconnaissance d'un seul épitope.

Une immunoglobuline est une protéine d'un haut poids moléculaire (environ 150 KDa) constituée de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères identiques. Des ponts dissulfures confèrent à la structure une forme de Y avec des domaines constants (nommés CH et CL) et des domaines variables (nommés VH et VL). (67) (Figure 12)



**Figure 12:** Structure d'une immunoglobuline (IgG) (67)

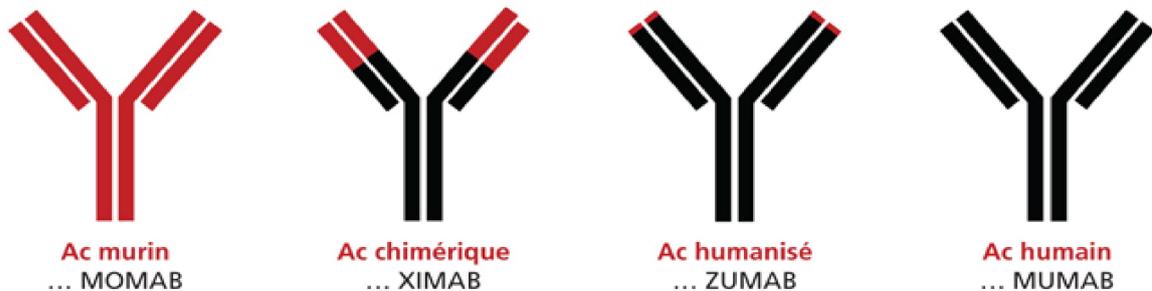
Le fragment cristallisable (Fc) permet la liaison avec divers récepteurs cellulaires de surface et aux fragments du complément. Quant au fragment Fab, il permet la liaison à l'antigène cible. (Figure 12)

Ces particularités confèrent aux anticorps monoclonaux un double mécanisme d'action :

-La liaison de l'antigène au fragment Fab induit sa neutralisation et antagonise ses effets.

-La région Fc induit une action cytotoxique par l'activation du complément et le recrutement d'autres cellules immunitaires.(68)

Les anticorps monoclonaux sont produits par insertion de matériel génétique dans des cellules en culture, selon la technique des hybridomes décrite par Kohler et Milstein en 1975 (69). Les premiers anticorps monoclonaux produits industriellement furent d'origine murine (1984), puis a suivi la production d'anticorps chimériques humanisés (1988-1991) et enfin d'anticorps monoclonaux humains (1994-1999).(70) (Figure 13)



**Figure 13:** Structure des anticorps monoclonaux selon leur origine (67)

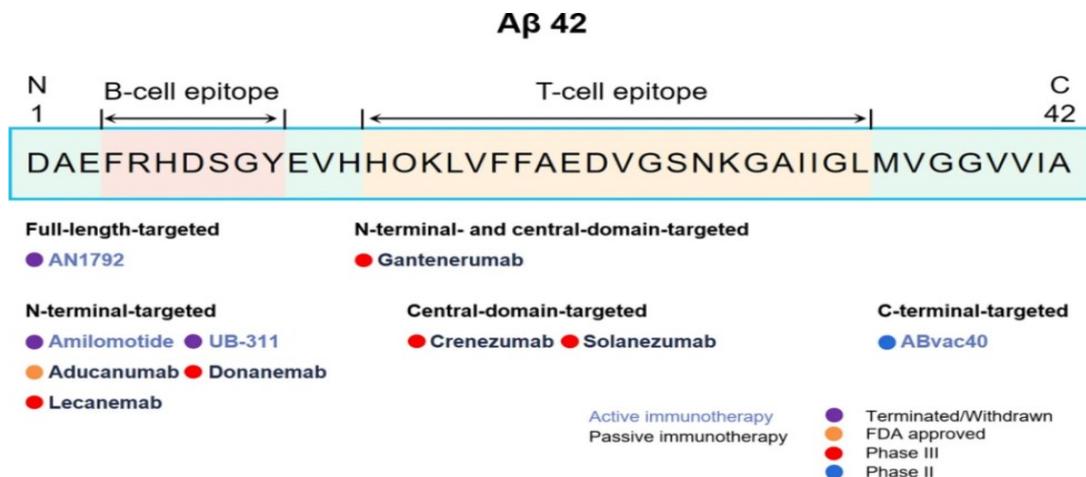
En Noir : Séquence d'origine humaine  
En rouge : Séquence d'origine murine

Il est à noter que les anticorps monoclonaux sont nommés selon une nomenclature :

Le nom de l'anticorps doit débuter par un préfixe de fantaisie (nom donné par le laboratoire), suivi par des abréviations définies de son action thérapeutique (ex : Immunomodulatrice (Li)) et de son origine (ex : Souris (nu), chimérique (xi), humanisé (zu)). Enfin, le suffixe « Mab » est ajouté pour indiquer la mention « *Monoclonal antibody* » (ou anticorps monoclonal en français). (70)

### B- Les anticorps monoclonaux dirigés contre l'Aβ

Divers anticorps monoclonaux ont été développés pour cibler l'Aβ. Chaque anticorps monoclonal cible un domaine précis du peptide Aβ42 comme l'illustre la Figure 14.



**Figure 14:** Immunothérapies passives dirigées contre Aβ (54)

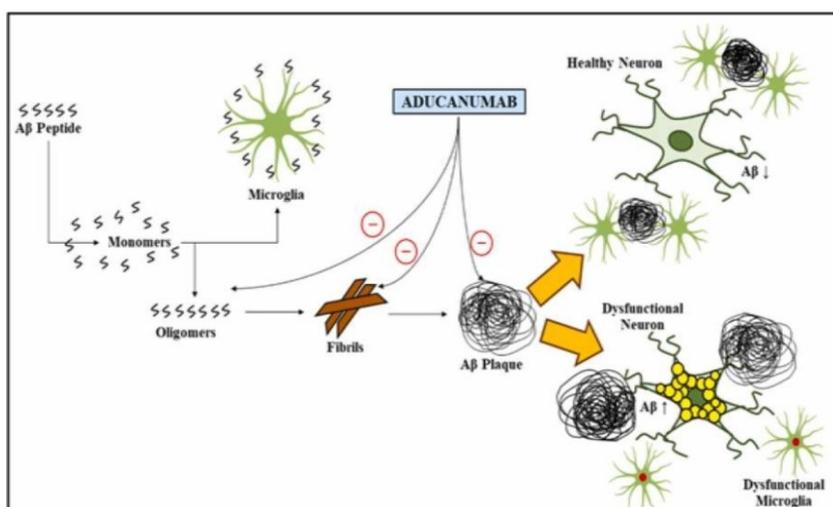
- **L’Aducanumab**

Le seul anticorps monoclonal à avoir eu une autorisation de mise sur le marché est l’Aducanumab. Il a fait l’objet d’une procédure d’autorisation accélérée par la FDA et a été approuvé le 7 Juin 2021, devenant ainsi le premier nouveau traitement approuvé pour la maladie d’Alzheimer depuis 2003 (2), (71).

L’Aducanumab est un anticorps monoclonal qui se lie à un épitope linéaire formé par les acides aminés 3-7 du peptide Aβ. Des études structurales ont indiqué sa forte sélectivité pour les formes agrégées (oligomères et fibrilles) les plus toxiques.(72) (Figure 15).

Durant l’essai clinique de phase I (PRIME), l’Aducanumab a montré des résultats prometteur en réduisant les plaques amyloïdes des patients atteints d’Alzheimer léger à modéré (73) et des effets positifs sur la cognition ainsi que l’état clinique des patients.

Ce qui a permis de passer directement à des essais cliniques de Phase III (ENGAGE et EMERGE). Néanmoins, les résultats de ces derniers étaient contradictoires. (74)



**Figure 15:** Représentation schématique du mode d’action de l’Aducanumab (75)

La FDA a tout de même donné l’approbation de mise sur le marché de l’Aducanumab en se basant sur le fait qu’il puisse aboutir à la clairance des plaques amyloïdes. Un nouveau essai clinique de phase III est cependant nécessaire afin de trancher sur son efficacité.

- **Autres anticorps monoclonaux dirigés contre l’Aβ**

Au moins cinq autres anticorps monoclonaux ont été développés contre l’Aβ et sont actuellement en phase d’essai clinique.

Le tableau en Annexe C résume leurs caractéristiques et l’évolution de leurs essais cliniques respectifs. (Annexe C)

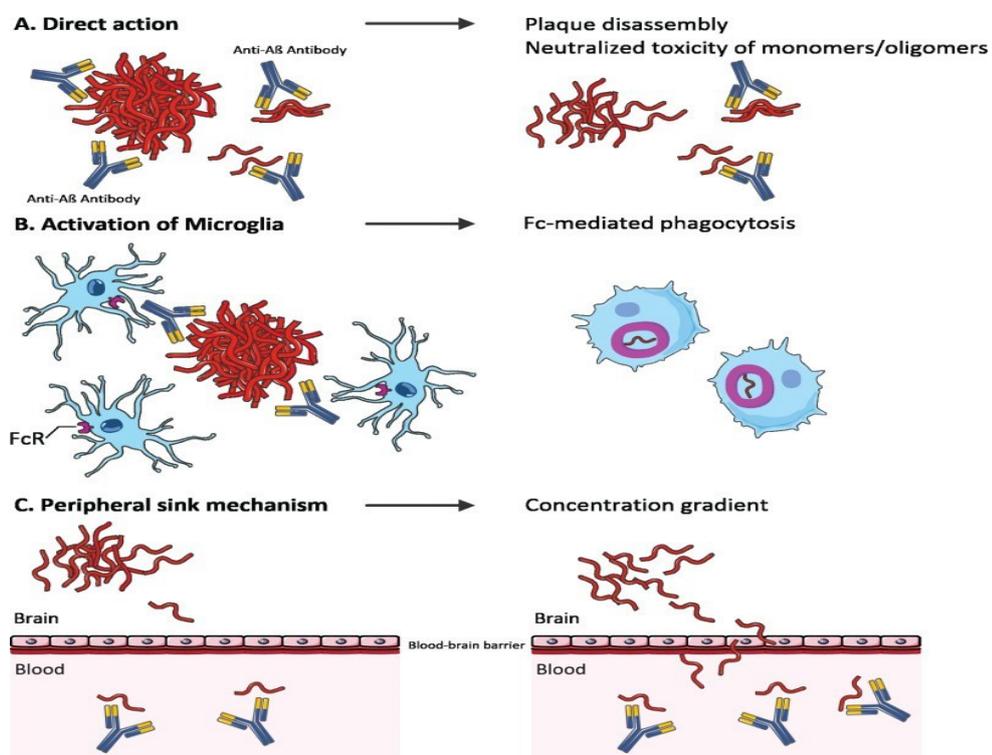
- **Mécanisme d'action des anticorps monoclonaux anti- A $\beta$**

Les anticorps monoclonaux peuvent agir par divers mécanismes sur l'A $\beta$  :

-soit directement en désassemblant les dépôts d'A $\beta$  et en prévenant l'agrégation des monomères, oligomères et fibrilles d'A $\beta$ .

- soit indirectement par activation des cellules de la microglie qui permettent la clairance de l'A $\beta$  par l'induction d'une réaction immunitaire.

-soit par un effet gradient crée par les anticorps au niveau de la barrière hémato-encéphalique.(76) (Figure 16)



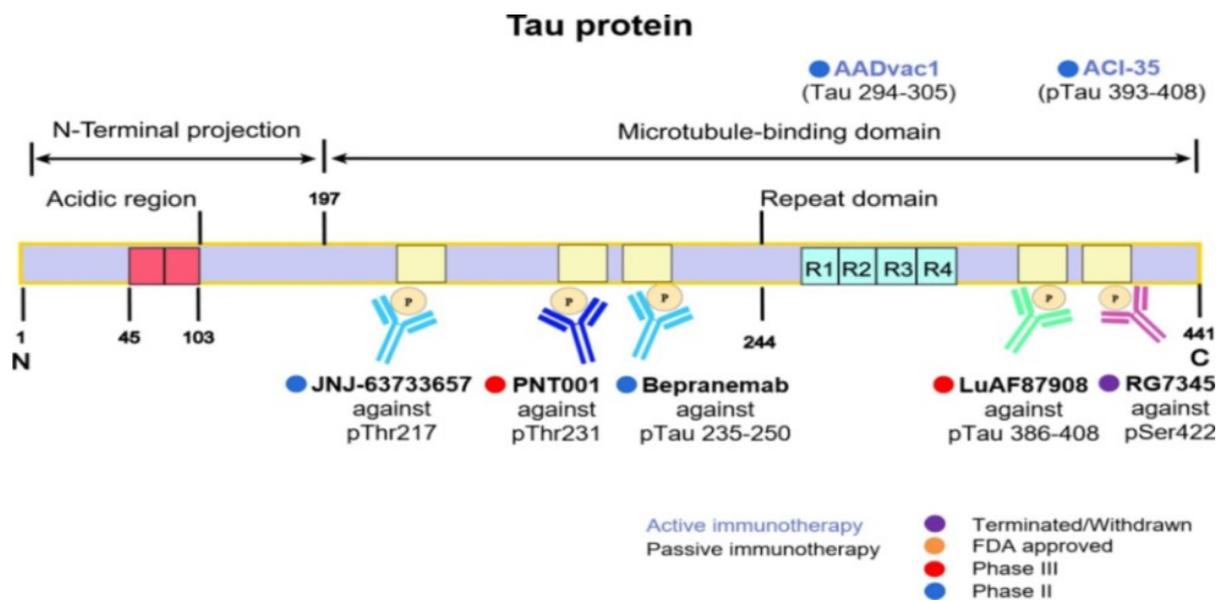
**Figure 16:** Mécanisme d'action hypothétique des anticorps monoclonaux (76)

### C- Les anticorps monoclonaux dirigés contre la protéine Tau

Onze anticorps monoclonaux dirigés contre la protéine Tau ont été développés dont sept actuellement en essais cliniques. La plupart ciblent le domaine de liaison aux microtubules de la protéine Tau. (Figure 17)

Le tableau de l'annexe D regroupe leurs différentes caractéristiques ainsi que l'avancée de leurs essais cliniques respectifs. (Annexe D)

Le mécanisme d'action de ces anticorps est principalement d'empêcher la propagation de la protéine Tau extracellulaire à travers les neurones. (77)



**Figure 17:** Immunothérapies passives dirigées contre la protéine Tau (54)

Il est à noter que les recherches cliniques sur l'immunothérapie passive contre la protéine Tau sont moins avancées que ceux contre l'A $\beta$ . En effet, aucun traitement n'a encore atteint la phase III d'essai clinique.

La difficulté de développement des traitements anti-Tau consiste à arriver à cibler la protéine Tau pathologique au niveau intracellulaire et d'inhiber sa progression extracellulaire sans induire d'inflammation.

#### **D- Les anticorps monoclonaux et la microglie**

La microglie joue un rôle important dans la neuroinflammation et les réponses immunes du système nerveux central.

Des études démontrent que certains gènes exprimés par des cellules de la microglie peuvent constituer des facteurs de risque pour la MA tels que des variants du gène TREM2. Ainsi, un anticorps monoclonal humanisé (AL002) ciblant le domaine extracellulaire de TREM2 a été développé. Il permet une prolifération de la microglie et la réduction du déclin cognitif (78). Une phase II d'essai clinique est en cours pour démontrer son efficacité (79).

Il est à noter que d'autres anticorps monoclonaux possédant également des effets immunomodulateurs tels que le Daratumumab sont en cours d'évaluation chez des patients Alzheimer (80).

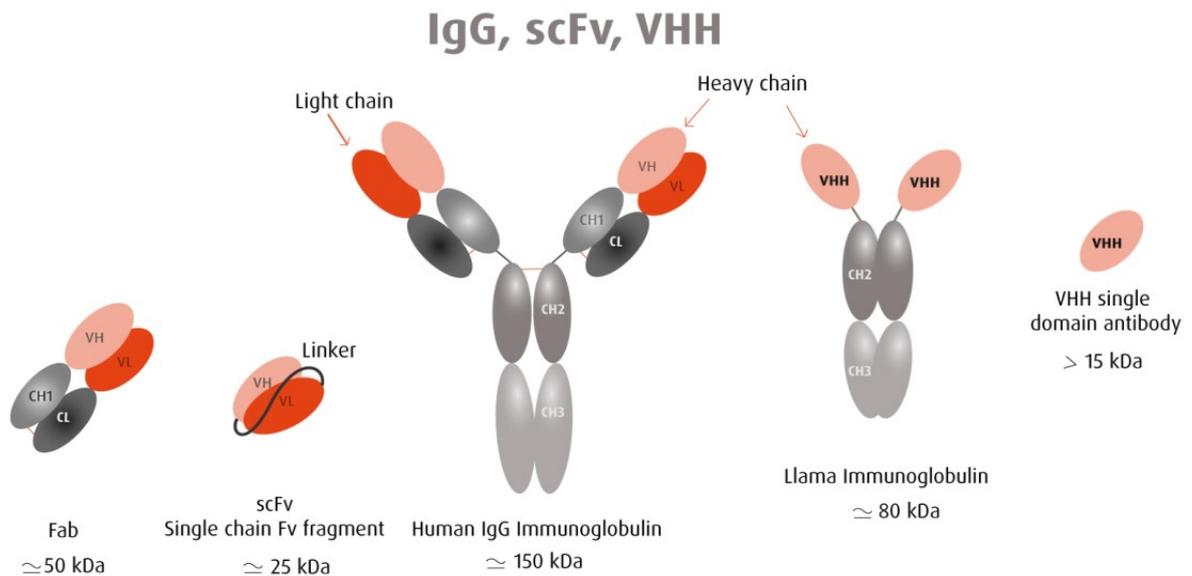
## E- Limites de l'utilisation des anticorps monoclonaux et formats alternatifs

Les anticorps monoclonaux sont le format conventionnel de l'immunothérapie passive. Bien qu'ils aient un potentiel thérapeutique élevé par la mise en place de nombreux mécanismes d'action, certaines de leurs caractéristiques physico-chimiques peuvent limiter leur action.

En effet, leur taille (150 KDa) limite leur diffusion dans les tissus, et empêche leur passage à travers la barrière hémato-encéphalique (77). De plus, elle restreint l'accès à certains antigènes d'intérêt situés au niveau intracellulaire (tels que la protéine Tau).

En outre, leur capacité à recruter les cellules immunitaires peut également induire des réactions inflammatoires parfois indésirables.

Ainsi, des fragments d'anticorps ont été développés en tant qu'outils immunologiques d'exploration, de diagnostic ou même thérapeutiques comme alternative aux anticorps monoclonaux (81). (Figure 18).



**Figure 18:** Structure de divers fragments d'anticorps (Fab, ScFV, VHH) (82)

Parmi ces fragments les ScFv (*Single Chain fragment variable*) et les VHH (ou Nanobodies) sont les principaux étudiés dans le cadre du traitement des maladies neurodégénératives (83).

Le chapitre III sera dédié à leurs applications potentielles au traitement de la maladie d'Alzheimer.

**Chapitre III :**  
**Les fragments dérivés d'anticorps dans le cadre  
du traitement de la maladie d'Alzheimer**

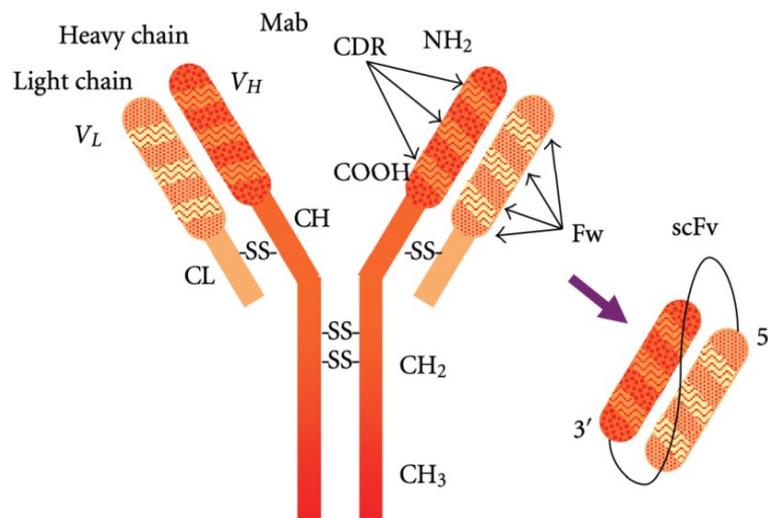
### III.1-Les fragments variables simple chaîne (ScFv)

#### III.1.1- Généralités

##### A-Définition

Le fragment variable (Fv) des immunoglobulines représente la plus petite unité pouvant se lier à l'antigène. Pour augmenter la stabilité de cette unité, elle a été produite sous la forme dite simple-chaîne (*Single Chain Fragment Variable* ou ScFv)

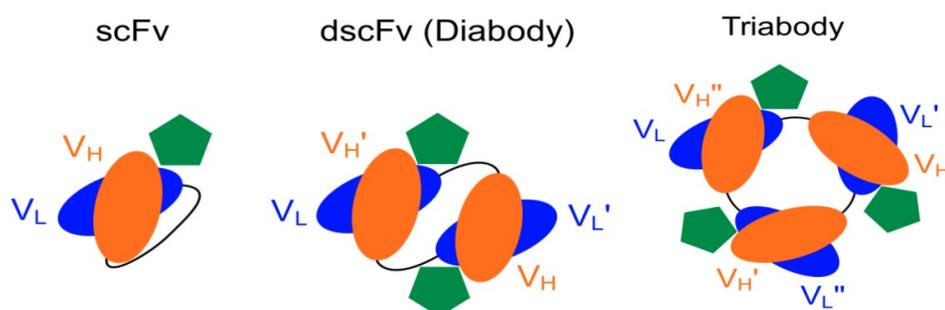
Les ScFv sont donc le produit de la jonction du domaine variable de la chaîne lourde (VH) et du domaine variable de la chaîne légère (VL) par un peptide d'une quinzaine d'acides aminés (84) (Figure 19). Ils se lient à l'antigène d'intérêt avec la même spécificité et affinité que les anticorps conventionnels.



**Figure 19:** Structure des fragments ScFv (84).

Il est à noter qu'il est possible de former des ScFv dimériques (appelés *diabodies*) ou trimériques (*triabodies*) en modifiant la taille du peptide de liaison. (85) (Figure 20)

Il est également possible de générer des ScFv multispécifiques qui reconnaissent simultanément plusieurs épitopes sur le même antigène.



**Figure 20:** Structure des ScFv multimériques (86).

## B-Production des fragments ScFv

Les fragments ScFv, de part leur petite taille, peuvent être produits à grande échelle et à moindre coût par biotechnologie.

Une librairie de ScFv peut être générée par l'isolement d'ARN messager (ARNm) à partir d'hybridomes, de cellules de souris immunisées ou encore de lymphocytes B humains.

Cet ARNm sera ensuite retranscrit en ADN complémentaire (ADNc) pour pouvoir être amplifié par PCR (*polymerase Chain reaction*) (87). Les gènes codant pour les ScFv sont ensuite clonés dans un vecteur approprié tel qu'un phagémide puis transformés dans des bactéries. (Figure 21)

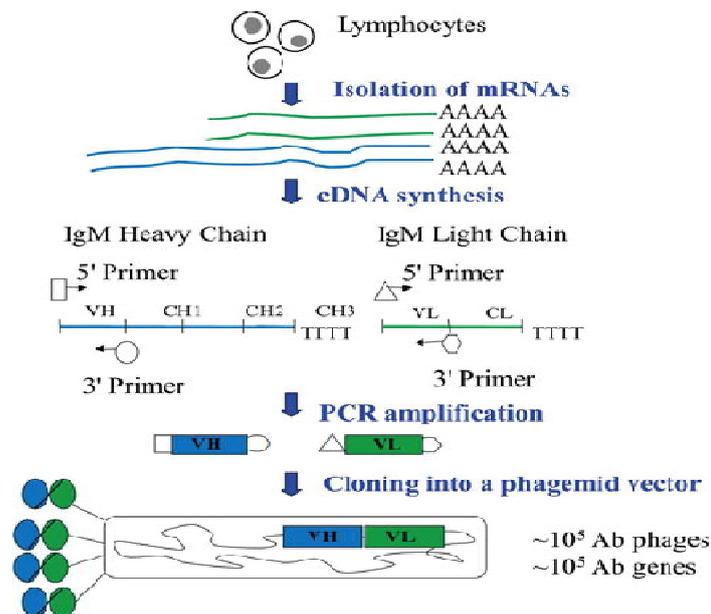


Figure 21: Génération d'une librairie de fragments ScFv. (87)

Enfin, une méthode appelée « *Phage display* » permet la présentation des fragments ScFv à la surface d'un phage pour pouvoir procéder à leur sélection par affinité pour l'antigène cible. (88) (Figure 22)

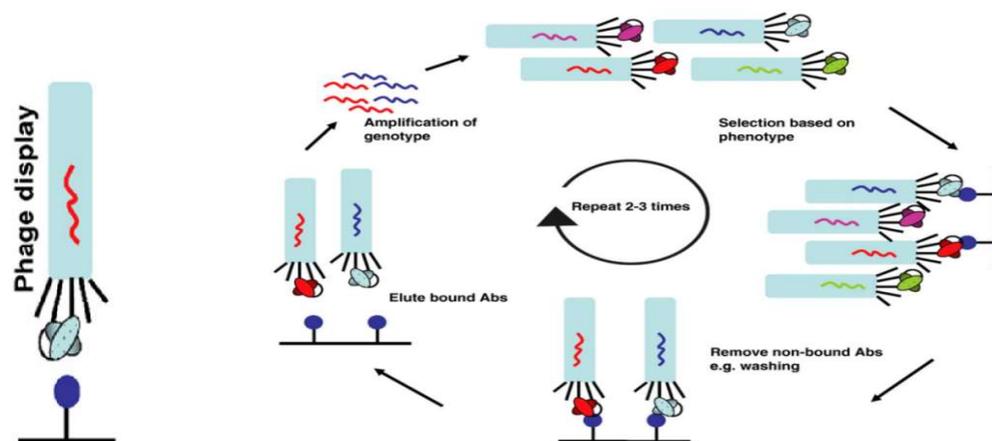


Figure 22: processus de sélection des ScFv par *phage display* (89).

## **C- Les fragments ScFv approuvés en thérapeutique**

Divers fragments ScFv ont été approuvés ces dernières années par la FDA.

Le Blinatumomab est la première molécule approuvée utilisant ce format, c'est un dimère de ScFv qui a obtenu l'autorisation de mise sur le marché (AMM) en 2014 pour le traitement de la leucémie aigue lymphoblastique à précurseurs B. (90)

En 2019, le Brolucizumab, un ScFv inhibant un facteur de croissance le VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) a été approuvé pour le traitement de la dégénérescence maculaire liée à l'âge.(91)

Plus récemment, en janvier 2022, le Tebentafusp a été autorisé dans le traitement du mélanome uvéale, un rare cancer de l'œil. (92)

### **III.1.2- Applications des ScFv dans le traitement de la maladie d'Alzheimer**

L'utilisation des fragments ScFv peut être avantageuse dans le traitement de la MA car l'absence du fragment Fc de ce format évite l'activation de la microglie et du système du complément et permet ainsi d'éviter l'apparition de réaction inflammatoire (93).

#### **A-Les ScFv dirigés contre l'A $\beta$**

Les ScFv peuvent cibler divers régions du peptide A $\beta$ , dont la région N-terminale, centrale et C terminale. Ils peuvent également être dirigés contre les différentes formes d'agrégats d'A $\beta$  (oligomères, protofibrilles et fibrilles) (94).

Divers études réalisées *In vitro* ont démontré la capacité des ScFv à prévenir l'agrégation d'A $\beta$  ou à favoriser sa désagrégation. *In Vivo* certains ScFv peuvent même réduire les taux d'A $\beta$  et améliorer les fonctions cognitives (95).

Le tableau en annexe résume les ScFv décrits dans ce contexte ainsi que les résultats obtenus de leurs études respectives. (Annexe E).

Il est également possible d'utiliser des virus adéno-associés (AAV) comme vecteurs pour les fragments ScFv. En effet, plusieurs études portant sur l'injection d'AAV contenant des ScFv décrivent des résultats positifs *In Vivo*. (95)

En 2019, He et al, ont notamment décrit un ScFv bispécifique qui permet simultanément de bloquer le clivage de la  $\beta$ -sécrétase et de l'augmenter par l' $\alpha$ -sécrétase afin de réduire la production d'A $\beta$ . L'injection d'un AAV contenant ce ScFv a eu des effets neuroprotecteurs dans un modèle de souris.(96)

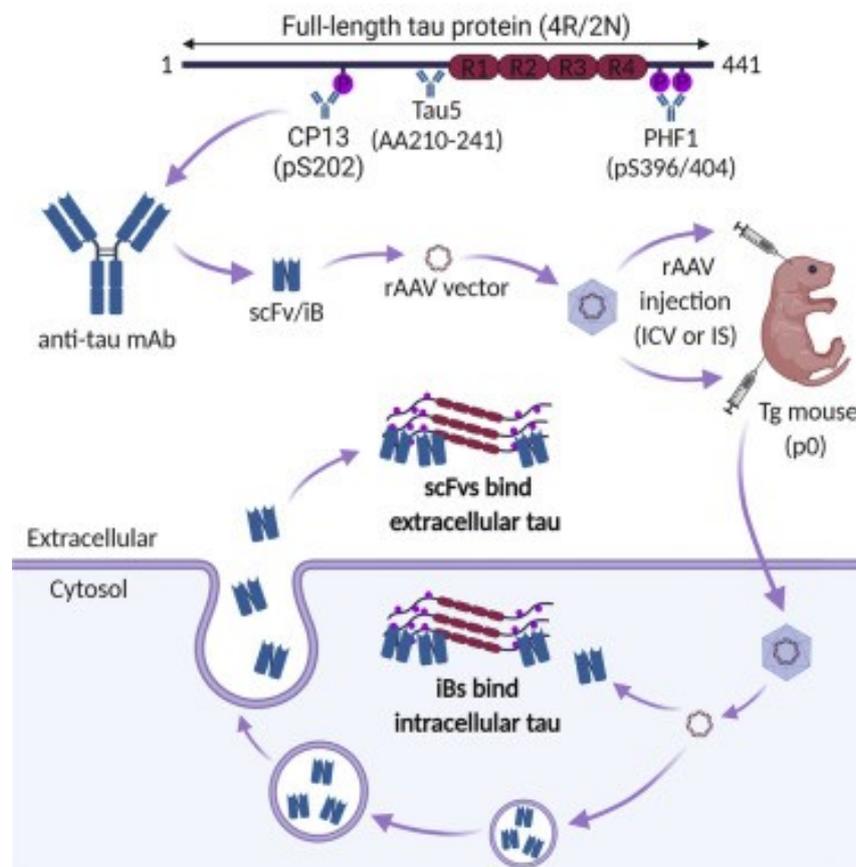
## B- Les ScFv dirigés contre la protéine Tau

La protéine Tau est une protéine intracellulaire, difficilement accessible par les anticorps conventionnels. L'utilisation de ScFv anti-Tau au niveau neuronal permet de désassembler les agrégats de Tau et d'accélérer sa dégradation par le lysosome et le protéosome

En 2007, Melchionna et Cattaneo, ont démontré que le ScFv#2 couplé à une protéine inhibitrice de facteurs de transcription (I $\kappa$ B $\alpha$ ) pouvait réduire l'agrégation et l'apoptose induite par la protéine Tau. Néanmoins cette approche peut induire une réaction inflammatoire indésirable (97).

Le ScFv RN2N est un ScFv spécifique d'un isoforme de la protéine Tau, il permet de diminuer l'hyperphosphorylation de Tau dans un modèle de souris transgéniques (98).

Par ailleurs, l'utilisation d'AAV exprimant des ScFv anti-Tau a été décrite dans de nombreuses études *In Vivo*. Toutes ces études précliniques ont obtenu des résultats positifs quant à la réduction de la pathologie Tau. (99) (100) (101). (Figure 23)



**Figure 23:** Schématisation du mode d'action des ScFv anti-Tau médiés par AAV (101)

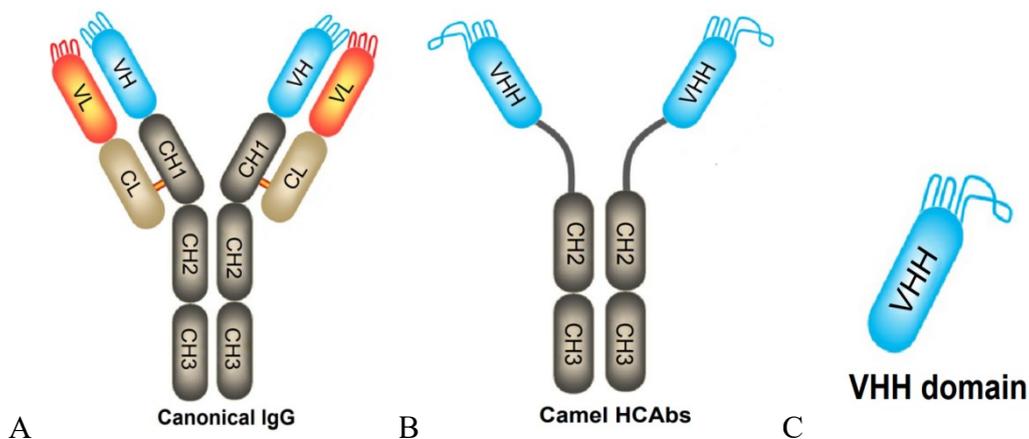
## III.2- Les fragments d'anticorps à domaine unique(Nanobodies ou VHH)

### III.2.1-Généralités

#### A-Définition

Les Nanobodies sont des petits fragments d'anticorps d'environ 15 KDa composés d'un seul domaine variable de chaîne lourde : le domaine VHH.

Ils sont dérivés d'un type d'anticorps présent naturellement chez les *camélidés* dénommé HcAbs (*Heavy Chain antibodies*). Les HcAbs sont des anticorps composés uniquement de chaînes lourdes contrairement aux anticorps conventionnels. Le domaine variable de ces anticorps à chaînes lourdes correspond au domaine VHH.(102) (Figure 24)



**Figure 24:** Structure des anticorps conventionnels, des anticorps de camélidés et des Nanobodies.(102)

- (A) Structure des anticorps conventionnels (IgG)
- (B) Structure des anticorps de camélidés (HcAbs)
- (C) Structure du domaine VHH (Nanobody)

De part leur ressemblance avec les fragments VH humains, les Nanobodies, peuvent être injectés chez l'homme sans être immunogènes (103). Ils ont, par ailleurs, de nombreux avantages.

En effet, les VHH sont stables, solubles et capable de reconnaître spécifiquement leur antigène et se lier à ce dernier avec une haute affinité (102). Leur petite taille leur confère une bonne pénétration tissulaire et leur permet le passage de la barrière hémato-encéphalique, ainsi que l'accès à des cibles intracellulaires (104).

Leur production est également peu coûteuse et se fait de manière similaire à celle des ScFv par biotechnologie.

## B- Production des Nanobodies

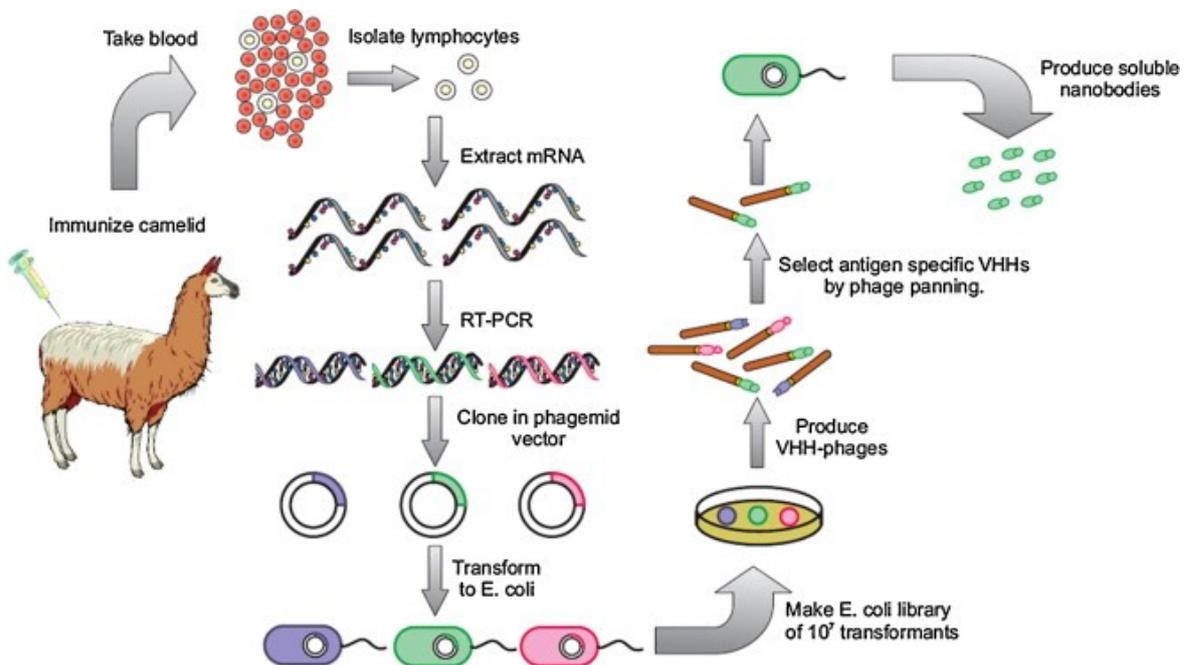
La production de Nanobodies se fait par des étapes analogues à la production de ScFv.

Une librairie de VHH doit être réalisée afin de pouvoir sélectionner les variants qui se lient à l'antigène d'intérêt. Il existe trois types de librairies : les librairies immunes, les librairies naïves, et les librairies semi-Synthétiques ou synthétiques.(105)

La librairie la plus souvent utilisée est la librairie immune. Sa réalisation débute par l'immunisation d'un *camélidé* (chameau, lama,...) par l'antigène d'intérêt puis le sang contenant les lymphocytes B de l'animal immunisé est collecté.

L'ARNm est extrait des lymphocytes puis converti en ADN complémentaire qui servira à amplifier par PCR les gènes codant pour les différents VHHs. Ces gènes sont par la suite clonés dans un phagémide puis transformés dans des bactéries (de type E.coli généralement).(105)

Enfin une phase de sélection des Nanobodies se fait par « *Phage display* » qui permet de sélectionner les VHHs les plus affins pour se lier avec l'antigène cible. (Figure 25)



**Figure 25:** Etapes de production des Nanobodies.(106)

Il est toutefois possible de produire des VHH sans immunisation d'animaux par le biais de la construction d'une librairie naïve, semi-synthétique ou synthétique. Ce qui s'avère intéressant notamment lorsque l'antigène d'intérêt est peu immunogène, toxique ou contagieux ainsi que pour éviter l'expérimentation sur les animaux.(105) . Les étapes de réalisation de ces librairies sont illustrés dans les figures B et C de l'Annexe F.(107)

## **C-Potentiel thérapeutique des Nanobodies**

Les Nanobodies sont de part leurs avantages structuraux des outils immunologiques exploitables dans de nombreux domaines. Ils peuvent être utilisés en tant qu'outils de recherche, de diagnostic et de thérapeutique.

En 2019, le premier Nanobody thérapeutique a été approuvé par la FDA. Il s'agit du « Caplacizumab » pour le traitement d'une pathologie hématologique rare, le purpura thrombotique thrombocytopénique (108).

D'autres Nanobodies sont actuellement en cours d'essai clinique pour être appliqués notamment dans le domaine de l'oncologie et des maladies infectieuses (109).

En oncologie, les VHH pourraient être exploités en tant qu'antagonistes pour prévenir la liaison de ligands activant des cascades de signalisation cellulaire ou en tant qu'inhibiteurs enzymatiques pour moduler l'activité de certaines protéines cibles. Ils peuvent également être utilisés pour leur capacité à pénétrer dans des tumeurs solides (110).

En infectieux, ils sont exploités pour cibler et neutraliser des organismes pathogènes (bactéries, virus, parasites) et pour l'identification et la détoxification de toxines d'origine bactériennes ou animales (111).

Leur utilisation pourrait également s'étendre au traitement des maladies inflammatoires et neurodégénératives (112), (83).

## **III.2.2- Applications des Nanobodies dans le traitement de la maladie d'Alzheimer**

### **III.2.2.1- Les Nanobodies pour prévenir la production et l'agrégation de l'A $\beta$**

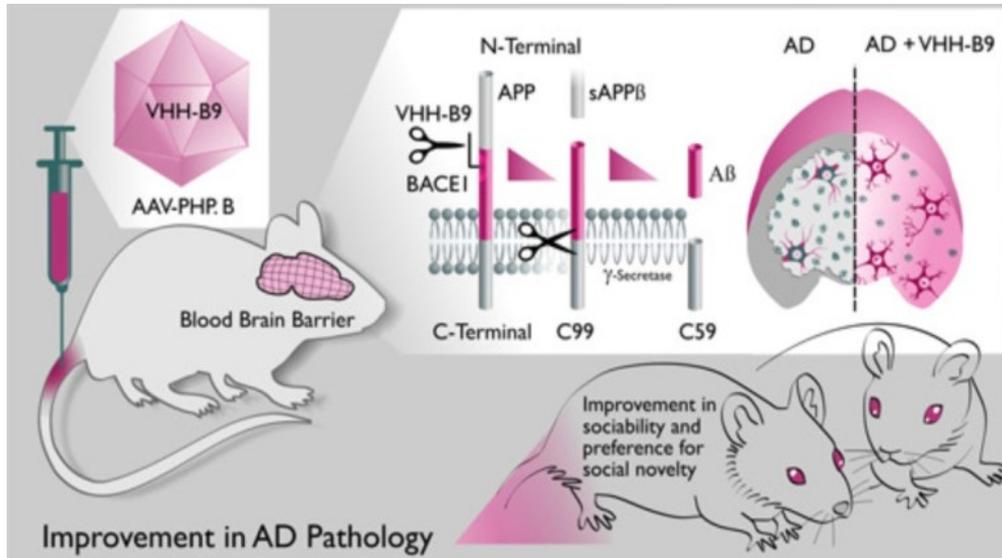
Les Nanobodies développés visent soit à inhiber la production d'A $\beta$  ou à prévenir et éviter son agrégation. Des résultats positifs ont été obtenus sur des modèles murins mais aucun essai clinique n'a encore été réalisé dans ce contexte.

#### **A-VHHs inhibant la production d'A $\beta$**

L'A $\beta$  est généré à partir de l'APP par l'action de la  $\beta$ -sécrétase ou BACE1 ( *$\beta$ -site of amyloid precursor protein cleaving enzyme 1*). L'inhibition de cette enzyme permet de prévenir la production d'A $\beta$ .

Un VHH dirigé contre la BACE1 nommé « VHH B3a » a notamment réussi à inhiber l'action de cette enzyme et à réduire la pathologie A $\beta$  chez un modèle de souris Alzheimer.(113)

Une autre étude décrit le développement d'un VHH anti-BACE1 nommé « VHH B9 » délivré par le biais d'un vecteur AAV pour permettre sa production à long terme au niveau cérébral. Ce VHH a pu réduire les taux d'A $\beta$  et obtenir des résultats positifs *in vivo*.(114) (Figure 26).



**Figure 26:** Mode d'action du VHH-B9.(114)

### **B- VHHs inhibant l'agrégation d'A $\beta$**

Divers VHHs dirigés contre les différentes formes d'A $\beta$  (monomères, oligomères, protofibrilles et fibrilles) ont été développés dans le but d'inhiber l'agrégation pathologique d'A $\beta$ .

Parmi ces Nanobodies le « V31-1 » dirigé spécifiquement contre les oligomères a permis de prévenir la neurotoxicité de ces derniers et d'inhiber la formation de fibrilles (115).

Un VHH nommé « B10 » développé contre les fibrilles d'A $\beta$  permet de prévenir leur formation et de stabiliser les protofibrilles (116) nous ignorons néanmoins si cette stabilisation est désirable en thérapeutique (117).

### **III.2.2.2- Les Nanobodies dirigés contre la protéine Tau**

L'inhibition de l'agrégation et la propagation de la protéine Tau par des fragments d'anticorps de type Nanobodies est une des stratégies thérapeutiques anti-Tau actuellement explorées (118), (119), (120).

Parmi les Nanobodies développés pour inhiber l'agrégation de la protéine Tau, on peut citer notamment un VHH dénommé « VHH Z70 » optimisé pour se lier au centre de nucléation de Tau au niveau neuronal. Il permet d'inhiber l'agrégation de la protéine Tau dans des tests *In vitro*, ainsi que de diminuer son agrégation dans un modèle cellulaire. De plus, il a été démontré que son expression intracellulaire au niveau du cerveau d'un modèle de souris transgénique (THY-tau 30) a pu aboutir à la diminution de l'accumulation pathologique de la protéine Tau (120).

## Conclusion

L'objectif principal de ce mémoire est de passer en revue les perspectives de traitement de la maladie d'Alzheimer par l'immunothérapie et les fragments dérivés d'anticorps.

Au cours de ce travail, la maladie d'Alzheimer a été, initialement, abordée dans sa globalité. Les principales caractéristiques clinico-biologiques et physiopathologiques de cette affection ont été détaillées afin de mieux apprécier les éléments pertinents au développement de thérapeutiques efficaces.

Actuellement, l'immunothérapie est une piste thérapeutique prometteuse pour traiter la maladie d'Alzheimer, notamment après l'approbation de l'Aducanumab par la FDA en Juin 2021.

Ce travail a essentiellement permis de revoir les stratégies thérapeutiques et l'avancée des études précliniques et cliniques de diverses immunothérapies développées dans ce cadre.

Au terme de cette revue, l'immunothérapie passive par les anticorps monoclonaux semble être l'approche privilégiée. Elle permet de cibler spécifiquement les entités pathologiques associées à la maladie d'Alzheimer à savoir le peptide A $\beta$  et la protéine Tau.

Néanmoins, elle présente certaines limites relatives à la restriction de passage des anticorps monoclonaux par la barrière hémato-encéphalique et aux réactions inflammatoires indésirables qu'ils induisent.

Par ailleurs, il s'est avéré que les limites de l'utilisation de ces anticorps pourraient être surmontées, notamment, par l'emploi d'un format alternatif, les fragments dérivés d'anticorps.

Ce format, de taille réduite, a la capacité d'assurer les fonctions des anticorps monoclonaux sans induire les effets indésirables qui leurs sont associés.

Ce travail a donc été conclu par la revue du potentiel thérapeutique des deux principaux fragments d'anticorps employés : les fragments variables simple chaîne (ScFv) et les fragments d'anticorps à domaine unique (VHH). La multiplicité des études précliniques réalisées dans ce contexte permet de présager une éventuelle application future au traitement de la maladie d'Alzheimer.

# **Bibliographie**

## Références

1. Organisation Mondiale de la santé. La démence. Septembre 2021. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
2. Dhillon S. Aducanumab: First Approval. *Drugs*. août 2021;81(12):1437-43.
3. Benhalla S, El Moutawakil B, El Kadmiri N, Nadifi S. La génétique de la maladie d'Alzheimer. *NPG Neurologie - Psychiatrie - Gériatrie*. mars 2019;19(110):83-90.
4. Sarazin M, Lagarde J, Roué-Jagot C. Maladie d'Alzheimer. *EMC - Psychiatrie*. 2017;14(2):15.
5. Manuel B. Graeber. Alzheimer Alois. University Department of Neuropathology, Imperial College London and Hammersmith Hospitals Trust, London, UK; 2020. Disponible sur: <https://www.fens.org/wp-content/uploads/2020/11/Alzheimer-Alois.pdf>
6. Derouesné C. La maladie d'Alzheimer : regards sur le présent à la lumière du passé. Une approche historique. *Psychologie NeuroPsychiatrie du Vieillissement*. 2008;6:14.
7. Alzheimer A. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-gerichtliche Medizin*. 1907;64(146):8.
8. Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease: Initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 16 mai 1984;120(3):885-90.
9. Brion JP, Passareiro H, Nunez J, Flament Durand J. Mise en évidence immunologique de la protéine tau au niveau des lésions de dégénérescence neurofibrillaire de la maladie d'Alzheimer. *Archives de biologie*. 1985;95:229-35.
10. Nicaise S, Palermi F. Rapport Alzheimer et Méditerranée 2016 - Etat des lieux -Enjeux - Perspectives. 2016;52.
11. Amalou S. Données épidémiologiques de la maladie d'Alzheimer dans la région de Blida, difficultés diagnostiques et propositions pour améliorer la qualité de prise en charge. 2018; Disponible sur: <https://www.ccdz.cerist.dz/admin/notice.php?id=00000000000000903720000841>
12. World Alzheimer Report 2021: Journey through the diagnosis of dementia. 314.
13. Chen S, Ge X, Chen Y, Lv N, Liu Z, Yuan W. Advances with RNA interference in Alzheimer's disease research. *Drug design, development and therapy*. 22 février 2013;7:117-25.
14. Lebon V, Duyckaerts C. Physiopathologie de la maladie d'Alzheimer - ClinicalKey. *Traité de médecine AKOS*. 2014;17(2):1-8.
15. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta neuropathologica*. 1991;82(4). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1759558/>
16. Yan R, Vassar R. Targeting the  $\beta$  secretase BACE1 for Alzheimer's disease therapy. *The Lancet Neurology*. 1 mars 2014;13(3):319-29.

17. Thal D, Rüb U, Orantes M, Braak H. Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology*. 25 juin 2002;58(12). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12084879/>
18. Hardy J, Higgins G. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science (New York, NY)*. 4 oct 1992;256(5054). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1566067/>
19. Krolack Salmon P. Physiopathologie de la maladie d'Alzheimer : le rôle central de la plaque amyloïde et de la protéine Tau. *NPG-Neurologie psychiatrie gériatrie*. 2020;20(120):120S2-6.
20. Maitre M, Klein C, Menseh-Nyagan AG. Mécanismes, facteurs de risque et stratégies thérapeutiques dans la maladie d'Alzheimer. *NPG Neurologie - Psychiatrie - Gériatrie*. 1 déc 2017;17(102):352-64.
21. Rosales-Corral S, Tan D, Manchester L, Reiter R. Diabetes and Alzheimer disease, two overlapping pathologies with the same background: oxidative stress. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2015;2015. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25815110/>
22. Cavadas C, Aveleira C, Souza G, Velloso L. The pathophysiology of defective proteostasis in the hypothalamus - from obesity to ageing. *Nature reviews Endocrinology*. déc 2016;12(12). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27388987/>
23. Raider K, Ma D, Harris JL, Fuentes I, Rogers RS, Wheatley JL, et al. A high fat diet alters metabolic and bioenergetic function in the brain: A magnetic resonance spectroscopy study. *Neurochemistry international*. juill 2016;97:172.
24. Löffler T, Schweinzer C, Flunkert S, Sántha M, Windisch M, Steyrer E, et al. Brain cortical cholesterol metabolism is highly affected by human APP overexpression in mice. *Molecular and cellular neurosciences*. juillet 2016;74. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27013422/>
25. Giudetti A, Romano A, Lavecchia A, Gaetani S. The Role of Brain Cholesterol and its Oxidized Products in Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer research*. 2016;13(2). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26391039/>
26. Hughes T, Sink K. Hypertension and Its Role in Cognitive Function: Current Evidence and Challenges for the Future. *American journal of hypertension*. févr 2016;29(2). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26563965/>
27. Carnevale D, Perrotta M, Lembo G, Trimarco B. Pathophysiological Links Among Hypertension and Alzheimer's Disease. *High blood pressure & cardiovascular prevention : the official journal of the Italian Society of Hypertension*. mars 2016;23(1). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26054481/>
28. Chin-Chan M, Navarro-Yepes J, Quintanilla-Vega B. Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: Alzheimer and Parkinson diseases. *Frontiers in cellular neuroscience*. 4 oct 2015;9. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25914621/>
29. Sensi S. Metal homeostasis in dementia. *Free radical biology & medicine*. oct 2014;75 Suppl 1. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26461423/>

30. Landel V, Annweiler C, Millet P, Morello M, Féron F. Vitamin D, Cognition and Alzheimer's Disease: The Therapeutic Benefit is in the D-Tails. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*. 5 nov 2016;53(2). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27176073/>
31. Lagarde J, Olivieri P, Bottlaender M, Sarazin M. Diagnostic clinicobiologique de la maladie d'Alzheimer. *Neurologie EMC*. 2020;44(2):1-15.
32. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurology*. 1 juill 1984;34(7):939.
33. McKhann G, Knopman D, Chertkow H, Hyman B, Jack C, Kawas C, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*. mai 2011;7(3). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21514250/>
34. Drug Approval Package: Aricept (donepezil hydrochloride) NDA #022568. Disponible sur: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2010/022568\\_aricept\\_toc.cfm](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2010/022568_aricept_toc.cfm)
35. Drug Approval Package: Exelon (Rivastigmine Tartrate) NDA #20-823. Disponible sur: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2000/20823\\_Exelon.cfm](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2000/20823_Exelon.cfm)
36. Drug Approval Package: Razadyne (Galantamine Hydrobromide) ER (Formerly Reminyl) NDA #021615. Disponible sur: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2004/021615s000\\_RazadyneTOC.cfm](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2004/021615s000_RazadyneTOC.cfm)
37. Drug Approval Package: Namenda (Memantine HCl) NDA #021487. Disponible sur: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2003/21-487\\_namenda.cfm](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2003/21-487_namenda.cfm)
38. Mesulam M. Cholinergic circuitry of the human nucleus basalis and its fate in Alzheimer's disease. *The Journal of comparative neurology*. 15 déc 2013;521(18). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23852922/>
39. Birks J, Chong L, Grimley Evans J. Rivastigmine for Alzheimer's disease. *The Cochrane database of systematic reviews*. 22 sept 2015;9(9). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26393402/>
40. Hansen RA, Gartlehner G, Webb AP, Morgan LC, Moore CG, Jonas DE. Efficacy and safety of donepezil, galantamine, and rivastigmine for the treatment of Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis. *Clinical Interventions in Aging*. juin 2008;3(2):211.
41. Knight R, Khondoker M, Magill N, Stewart R, Landau S. A Systematic Review and Meta-Analysis of the Effectiveness of Acetylcholinesterase Inhibitors and Memantine in Treating the Cognitive Symptoms of Dementia. *Dementia and geriatric cognitive disorders*. 2018;45(3-4). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29734182/>
42. Lipton S. The molecular basis of memantine action in Alzheimer's disease and other neurologic disorders: low-affinity, uncompetitive antagonism. *Current Alzheimer research*. avr 2005;2(2). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15974913/>
43. Xia P, Chen H, Zhang D, Lipton S. Memantine preferentially blocks extrasynaptic over synaptic NMDA receptor currents in hippocampal autapses. *The Journal of neuroscience : the official*

- journal of the Society for Neuroscience. 18 août 2010;30(33). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20720132/>
44. Tampi RR, van Dyck CH. Memantine: efficacy and safety in mild-to-severe Alzheimer's disease. *Neuropsychiatr Dis Treat*. avr 2007;3(2):245-58.
  45. Conrad Stöppler M. Medical Definition of Immunotherapy [Internet]. MedicineNet. Disponible sur: <https://www.medicinenet.com/immunotherapy/definition.htm>
  46. Parkin J, Cohen B. An overview of the immune system. *The Lancet*. juin 2001;357(9270):1777-89.
  47. Abbas AK, Lichtman AH, Masson PL, Pillai S. Les Bases de l'Immunologie Fondamentale Et Clinique. In: 5ème. 2016. (Elsevier Masson).
  48. Les biothérapies [Internet]. VIDAL. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/utilisation/biotherapie-biosimilaire/biotherapies.html>
  49. Pollard AJ, Bijker EM. A guide to vaccinology: from basic principles to new developments. *Nat Rev Immunol*. févr 2021;21(2):83-100.
  50. Lelièvre JD. Les vaccins de demain. *Revue Francophone Des Laboratoires*. mai 2019;2019(512):52.
  51. Xue D, Hsu E, Fu YX, Peng H. Next-generation cytokines for cancer immunotherapy. *Antibody Ther*. 1 avr 2021;4(2):123-33.
  52. Naran K, Nundalall T, Chetty S, Barth S. Principles of Immunotherapy: Implications for Treatment Strategies in Cancer and Infectious Diseases. *Front Microbiol* [Internet]. 2018. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.03158/full#B244>
  53. Bascones-Martinez A, Mattila R, Gomez-Font R, Meurman JH. Immunomodulatory drugs: Oral and systemic adverse effects. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*. janv 2014;19(1):e24.
  54. Song C, Shi J, Zhang P, Zhang Y, Xu J, Zhao L, et al. Immunotherapy for Alzheimer's disease: targeting  $\beta$ -amyloid and beyond. *Transl Neurodegener*. déc 2022;11(1):18.
  55. Jeremic D, Jiménez-Díaz L, Navarro-López JD. Past, present and future of therapeutic strategies against amyloid- $\beta$  peptides in Alzheimer's disease: a systematic review. *Ageing Research Reviews*. 1 déc 2021;72:101496.
  56. Congdon EE, Sigurdsson EM. Tau-targeting therapies for Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*. juill 2018;14(7):399-415.
  57. Vaz M, Silvestre S. Alzheimer's disease: Recent treatment strategies. *European Journal of Pharmacology*. nov 2020;887:173554.
  58. Jevtic S, Sengar AS, Salter MW, McLaurin J. The role of the immune system in Alzheimer disease: Etiology and treatment. *Ageing Research Reviews*. 1 nov 2017;40:84-94.
  59. Schenk D, Barbour R, Dunn W, Gordon G, Grajeda H, Guido T, et al. Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature*

[Internet]. 7 août 1999;400(6740). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10408445/>

60. Wilcock DM, Colton CA. Anti-Amyloid- $\beta$  Immunotherapy in Alzheimer's Disease: Relevance of Transgenic Mouse Studies to Clinical Trials. Woodruff-Pak D, éditeur. JAD. 17 déc 2008;15(4):555-69.
61. Bayer AJ, Bullock R, Jones RW, Wilkinson D, Paterson KR, Jenkins L, et al. Evaluation of the safety and immunogenicity of synthetic A 42 (AN1792) in patients with AD. Neurology. 11 janv 2005;64(1):94-101.
62. Delrieu J, Vellas B. Les nouveaux traitements de la maladie d'Alzheimer. Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine. 1 mars 2020;204(3):237-47.
63. Weninger S, Sperling B, Alexander R, Ivarsson M, Menzies FM, Powchik P, et al. Active immunotherapy and alternative therapeutic modalities for Alzheimer's disease. A&D Transl Res & Clin Interv. janv 2020;6(1). Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/trc2.12090>
64. Novak P, Kovacech B, Katina S, Schmidt R, Scheltens P, Kontsekova E, et al. ADAMANT: a placebo-controlled randomized phase 2 study of AADvac1, an active immunotherapy against pathological tau in Alzheimer's disease. Nat Aging. juin 2021;1(6):521-34.
65. Theunis C, Crespo-Biel N, Gafner V, Pihlgren M, López-Deber MP, Reis P, et al. Efficacy and safety of a liposome-based vaccine against protein Tau, assessed in tau.P301L mice that model tauopathy. PLoS One. 19 août 2013;8(8):e72301-e72301.
66. AC Immune SA. A Phase Ib/IIa Multicenter, Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Study to Evaluate the Safety, Tolerability and Immunogenicity of Different Doses, Regimens and Combinations of Tau Targeted Vaccines in Subjects With Early Alzheimer's Disease [Internet]. clinicaltrials.gov; 2021 juin. Report No.: NCT04445831. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04445831>
67. Hélène Salaün, David Ternant, Mathilde Cancel, Claude Linassier, Gilles Paintaud. Pharmacologie des anticorps monoclonaux à usage thérapeutique dans le cancer. Innovations & Thérapeutiques en Oncologie. 1 sept 2019;5(5):255-66.
68. Bejan-Angoulvant T, Alexandre J. Mécanismes d'action et toxicités potentielles des anticorps monoclonaux. Med Sci (Paris). 2019;35(12):1114-20.
69. Wade N. Hybridomas: The Making of a Revolution: Scientific prize committees sometimes skimp on their homework. The awards for the hybridoma technique may be a case in point. Science. 26 févr 1982;215(4536):1073-5.
70. Debré P, Galibert F. Immunothérapie par anticorps monoclonaux : ingénierie, indications et perspectives. Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine. 1 sept 2017;201(7):1023-35.
71. Commissioner O of the. FDA Grants Accelerated Approval for Alzheimer's Drug [Internet]. FDA. FDA; 2021. Disponible sur: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-grants-accelerated-approval-alzheimers-drug>

72. Arndt JW, Qian F, Smith BA, Quan C, Kilambi KP, Bush MW, et al. Structural and kinetic basis for the selectivity of aducanumab for aggregated forms of amyloid- $\beta$ . *Sci Rep.* déc 2018;8(1):6412.
73. Sevigny J, Chiao P, Bussière T, Weinreb PH, Williams L, Maier M, et al. The antibody aducanumab reduces A $\beta$  plaques in Alzheimer's disease. *Nature.* 1 sept 2016;537(7618):50-6.
74. von Hehn C, Tian Y. EMERGE and ENGAGE topline results: two phase 3 studies to evaluate aducanumab in patients with early Alzheimer's disease. 2019;
75. Behl T, Kaur I, Sehgal A, Singh S, Sharma N, Makeen HA, et al. "Aducanumab" making a comeback in Alzheimer's disease: An old wine in a new bottle. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 1 avr 2022;148:112746.
76. Zampar S, Wirths O, Department of Psychiatry and Psychotherapy, University Medical Center (UMG), Georg-August-University, Goettingen, Germany. Immunotherapy Targeting Amyloid- $\beta$  Peptides in Alzheimer's Disease. In: Neurochemistry Laboratory, Department of Psychiatry, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School, Charlestown, MA, USA, Huang X, éditeurs. *Alzheimer's Disease: Drug Discovery* [Internet]. Exon Publications; 2020. p. 23-49. Disponible sur: <https://exonpublications.com/index.php/exon/article/view/257>
77. Yu YJ, Watts RJ. Developing therapeutic antibodies for neurodegenerative disease. *Neurotherapeutics.* juill 2013;10(3):459-72.
78. Wang S, Mustafa M, Yuede CM, Salazar SV, Kong P, Long H, et al. Anti-human TREM2 induces microglia proliferation and reduces pathology in an Alzheimer's disease model. *Journal of Experimental Medicine.* 7 sept 2020;217(9):e20200785.
79. Alector Inc. A Phase 2 Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multicenter Study to Evaluate the Efficacy and Safety of AL002 in Participants With Early Alzheimer's Disease [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2022 mai. Report No.: NCT04592874. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04592874>
80. MD MLG. An Open-Label, Pilot Study of Daratumumab SC in Patients With Mild to Moderate Alzheimer's Disease [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2021 nov. Report No.: NCT04070378. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04070378>
81. Kitten O, Martineau P. Les formats alternatifs aux anticorps - Fragments et nouvelles charpentes. *Med Sci (Paris).* 1 déc 2019;35(12):1092-7.
82. VHH antibody properties [Internet]. Disponible sur: <https://www.hybridbody.com/contenu/synthetic-vhh-library-menu/take-advantage-of-vhh-antibody-properties>
83. Messer A, Butler DC. Optimizing intracellular antibodies (intrabodies/nanobodies) to treat neurodegenerative disorders. *Neurobiology of Disease.* 1 févr 2020;134:104619.
84. Ahmad ZA, Yeap SK, Ali AM, Ho WY, Alitheen NBM, Hamid M. scFv Antibody: Principles and Clinical Application. *Clinical and Developmental Immunology.* 2012;2012:1-15.
85. Hudson PJ, Kortt AA. High avidity scFv multimers; diabodies and triabodies. *Journal of Immunological Methods.* déc 1999;231(1-2):177-89.

86. Lüdel F, Bufe S, Bley Müller WM, de Jonge H, Iamele L, Niemann HH, et al. Distinguishing Between Monomeric scFv and Diabody in Solution Using Light and Small Angle X-ray Scattering. *Antibodies*. 2019;8(4).
87. Hirvonen T, Suila H, Tiitinen S, Natunen S, Laukkanen ML, Kotovuori A, et al. Production of a Recombinant Antibody Specific for i Blood Group Antigen, a Mesenchymal Stem Cell Marker. *BioResearch open access*. 1 oct 2013;2:336-45.
88. McCafferty J, Griffiths AD, Winter G, Chiswell DJ. Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains. *Nature*. 1 déc 1990;348(6301):552-4.
89. Weisser NE, Hall JC. Applications of single-chain variable fragment antibodies in therapeutics and diagnostics. *Biotechnology Advances*. 1 juill 2009;27(4):502-20.
90. Przepiorka D, Ko CW, Deisseroth A, Yancey CL, Candau-Chacon R, Chiu HJ, et al. FDA Approval: Blinatumomab. *Clinical Cancer Research*. 15 sept 2015;21(18):4035-9.
91. Markham A. Brolucizumab: First Approval. *Drugs*. déc 2019;79(18):1997-2000.
92. First Drug Approved for Rare Eye Cancer. *Cancer Discovery*. 1 avr 2022;12(4):879-80.
93. Bitencourt ALB, Campos RM, Cline EN, Klein WL, Sebollela A. Antibody Fragments as Tools for Elucidating Structure-Toxicity Relationships and for Diagnostic/Therapeutic Targeting of Neurotoxic Amyloid Oligomers. *IJMS*. 24 nov 2020;21(23):8920.
94. Robert R, Wark KL. Engineered antibody approaches for Alzheimer's disease immunotherapy. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. oct 2012;526(2):132-8.
95. Sun ZT, Ma C, Li GJ, Zheng XY, Hao YT, Yang Y, et al. Application of Antibody Fragments Against A $\beta$  With Emphasis on Combined Application With Nanoparticles in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Pharmacology* [Internet]. 2021;12. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2021.654611>
96. He P, Xin W, Schulz P, Sierks MR. Bispecific Antibody Fragment Targeting APP and Inducing  $\alpha$ -Site Cleavage Restores Neuronal Health in an Alzheimer's Mouse Model. *Molecular Neurobiology*. 1 nov 2019;56(11):7420-32.
97. Melchionna T, Cattaneo A. A Protein Silencing Switch by Ligand-induced Proteasome-targeting Intrabodies. *Journal of Molecular Biology*. 30 nov 2007;374(3):641-54.
98. Nisbet RM, Van der Jeugd A, Leinenga G, Evans HT, Janowicz PW, Götz J. Combined effects of scanning ultrasound and a tau-specific single chain antibody in a tau transgenic mouse model. *Brain*. 1 mai 2017;140(5):1220-30.
99. Vitale F, Giliberto L, Ruiz S, Steslow K, Marambaud P, d'Abramo C. Anti-tau conformational scFv MC1 antibody efficiently reduces pathological tau species in adult JNPL3 mice. *acta neuropathol commun*. déc 2018;6(1):82.
100. Ising C, Gallardo G, Leyns CEG, Wong CH, Jiang H, Stewart F, et al. AAV-mediated expression of anti-tau scFvs decreases tau accumulation in a mouse model of tauopathy. *Journal of Experimental Medicine*. 17 avr 2017;214(5):1227-38.

101. Goodwin MS, Sinyavskaya O, Burg F, O'Neal V, Ceballos-Diaz C, Cruz PE, et al. Anti-tau scFvs Targeted to the Cytoplasm or Secretory Pathway Variably Modify Pathology and Neurodegenerative Phenotypes. *Molecular Therapy*. 3 févr 2021;29(2):859-72.
102. Wang Y, Fan Z, Shao L, Kong X, Hou X, Tian D, et al. Nanobody-derived nanobiotechnology tool kits for diverse biomedical and biotechnology applications. *Int J Nanomedicine*. 21 juill 2016;11:3287-303.
103. Muyldermans S. Nanobodies: Natural Single-Domain Antibodies. *Annu Rev Biochem*. 2 juin 2013;82(1):775-97.
104. Smolarek D, Bertrand O, Czerwinski M. Variable fragments of heavy chain antibodies (VHHs): A new magic bullet molecule of medicine? *Postępy higieny i medycyny doświadczalnej (Online)*. 4 janv 2012;66:348-58.
105. Muyldermans S. A guide to: generation and design of nanobodies. *The FEBS Journal*. 1 avr 2021;288(7):2084-102.
106. Schoonooghe S, Laoui D, Van Ginderachter JA, Devoogdt N, Lahoutte T, De Baetselier P, et al. Novel applications of nanobodies for in vivo bio-imaging of inflamed tissues in inflammatory diseases and cancer. *Immunobiology*. déc 2012;217(12):1266-72.
107. Cawez F, Université de Liège. Master biotechnologie & biologie moléculaire. & cellulaire. Æ. Ingénierie de fragments d'anticorps de camélidés (nanobodies) capables de reconnaître des ARNs structurés. 5 sept 2017;128.
108. Scully M, Cataland SR, Peyvandi F, Coppo P, Knöbl P, Kremer Hovinga JA, et al. Caplacizumab Treatment for Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *N Engl J Med*. 24 janv 2019;380(4):335-46.
109. ClinicalTrials.gov [Internet].. Disponible sur: <https://www.clinicaltrials.gov/>
110. Kijanka M, Dorresteijn B, Oliveira S, van Bergen en Henegouwen PM. Nanobody-based cancer therapy of solid tumors. *Nanomedicine*. janv 2015;10(1):161-74.
111. Steeland S, Vandenbroucke RE, Libert C. Nanobodies as therapeutics: big opportunities for small antibodies. *Drug Discovery Today*. 1 juill 2016;21(7):1076-113.
112. Rissiek B, Koch-Nolte F, Magnus T. Nanobodies as modulators of inflammation: potential applications for acute brain injury. *Front Cell Neurosci*. 21 oct 2014;8:344-344.
113. Dorresteijn B, Rotman M, Faber D, Schraevesande R, Suidgeest E, van der Weerd L, et al. Camelid heavy chain only antibody fragment domain against  $\beta$ -site of amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 inhibits  $\beta$ -secretase activity in vitro and in vivo. *The FEBS Journal*. 1 sept 2015;282(18):3618-31.
114. Rincon MY, Zhou L, Marneffe C, Voytyuk I, Wouters Y, Dewilde M, et al. AAV mediated delivery of a novel anti-BACE1 VHH reduces Abeta in an Alzheimer's disease mouse model. *bioRxiv*. 1 janv 2019;698506.
115. Lafaye P, Achour I, England P, Duyckaerts C, Rougeon F. Single-domain antibodies recognize selectively small oligomeric forms of amyloid  $\beta$ , prevent A $\beta$ -induced neurotoxicity and inhibit fibril formation. *Molecular Immunology*. 1 févr 2009;46(4):695-704.

116. Habicht G, Haupt C, Friedrich RP, Hortschansky P, Sachse C, Meinhardt J, et al. Directed selection of a conformational antibody domain that prevents mature amyloid fibril formation by stabilizing A $\beta$  protofibrils. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 4 déc 2007;104(49):19232-7.
117. Wacker J, Röncke R, Westermann M, Wulff M, Reymann KG, Dobson CM, et al. Oligomer-targeting with a conformational antibody fragment promotes toxicity in A $\beta$ -expressing flies. *Acta Neuropathol Commun*. déc 2014;2(1):43.
118. Annadurai N, De Sanctis JB, Hajdúch M, Das V. Tau secretion and propagation: Perspectives for potential preventive interventions in Alzheimer's disease and other tauopathies. *Experimental Neurology*. 1 sept 2021;343:113756.
119. Buee L, Danis C, Dupre E, Arrial A, Cantrelle FX, Rain JC, et al. Nanobodies (VHHs) for targeting tau in Alzheimer's disease and tauopathies. *IBRO Reports*. 1 sept 2019;6:S100.
120. Danis C, Dupré E, Zejneli O, Caillierez R, Arrial A, Bégard S, et al. Inhibition of Tau seeding by targeting Tau nucleation core within neurons with a single domain antibody fragment. *Molecular Therapy*. avr 2022;30(4):1484-99.
121. Wiessner C, Wiederhold KH, Tissot AC, Frey P, Danner S, Jacobson LH, et al. The Second-Generation Active A Immunotherapy CAD106 Reduces Amyloid Accumulation in APP Transgenic Mice While Minimizing Potential Side Effects. *Journal of Neuroscience*. 22 juin 2011;31(25):9323-31.
122. Riviere M, Turner RS, Sui Y, Laurent N, Langbaum JB, Cazorla P, et al. API generation program: Active immunotherapy CAD106 slows amyloid deposition in cognitively unimpaired APOE4 homozygotes. *Alzheimer's & Dementia*. déc 2021;17(S9). Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/alz.051287>
123. Muhs A, Hickman DT, Pihlgren M, Chuard N, Giriens V, Meerschman C, et al. Liposomal vaccines with conformation-specific amyloid peptide antigens define immune response and efficacy in APP transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 5 juin 2007;104(23):9810-5.
124. Vukicevic M, Fiorini E, Siegert S, Carpintero R, Rincon-Restrepo M, Lopez-Deber P, et al. An amyloid beta vaccine that safely drives immunity to a key pathological species in Alzheimer's disease: pyroglutamate amyloid beta. *Brain Communications*. 1 févr 2022;4(1):fcac022.
125. Wang CY, Wang PN, Chiu MJ, Finstad CL, Lin F, Lynn S, et al. UB-311, a novel UBITH<sup>®</sup> amyloid  $\beta$  peptide vaccine for mild Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*. juin 2017;3(2):262-72.
126. Davtayan H, Ghochikyan A, Petrushina I, Hovakimyan A, Davtayan A, Poghosyan A, et al. Immunogenicity, efficacy, safety, and mechanism of action of epitope vaccine (Lu AF20513) for Alzheimer's disease: prelude to a clinical trial. *J Neurosci*. 13 mars 2013;33(11):4923-34.
127. Lambracht-Washington D, Rosenberg RN. Co-stimulation with TNF receptor superfamily 4/25 antibodies enhances in-vivo expansion of CD4+CD25+Foxp3+ T cells (Tregs) in a mouse study for active DNA A $\beta$ 42 immunotherapy. *Journal of Neuroimmunology*. janv 2015;278:90-9.

128. Rosenberg RN, Fu M, Lambracht-Washington D. Active full-length DNA A $\beta$ 42 immunization in 3xTg-AD mice reduces not only amyloid deposition but also tau pathology. *Alz Res Therapy*. déc 2018;10(1):115.
129. Mintun MA, Lo AC, Duggan Evans C, Wessels AM, Ardayfio PA, Andersen SW, et al. Donanemab in Early Alzheimer's Disease. *N Engl J Med*. 6 mai 2021;384(18):1691-704.
130. A Study of Donanemab (LY3002813) in Participants With Early Alzheimer's Disease (TRAILBLAZER-ALZ 2) - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04437511>
131. A Donanemab (LY3002813) Prevention Study in Participants With Alzheimer's Disease (TRAILBLAZER-ALZ 3) - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05026866>
132. Swanson CJ, Zhang Y, Dhadda S, Wang J, Kaplow J, Lai RYK, et al. A randomized, double-blind, phase 2b proof-of-concept clinical trial in early Alzheimer's disease with lecanemab, an anti-A $\beta$  protofibril antibody. *Alz Res Therapy*. déc 2021;13(1):80.
133. A Study to Confirm Safety and Efficacy of Lecanemab in Participants With Early Alzheimer's Disease - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03887455>
134. Eli Lilly and Company. Anti-Amyloid Treatment in Asymptomatic Alzheimer's Disease (A4 Study) [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2022 avr. Report No.: NCT02008357. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02008357>
135. Genentech, Inc. A Double-Blind, Placebo-Controlled Parallel-Group Study in Preclinical PSEN1 E280A Mutation Carriers Randomized to Crenezumab or Placebo, and in Non-Randomized, Placebo-Treated Non-Carriers From the Same Kindred, to Evaluate the Efficacy and Safety of Crenezumab in the Treatment of Autosomal-Dominant Alzheimer's Disease [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2022 mars. Report No.: NCT01998841. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01998841>
136. Salloway S, Farlow M, McDade E, Clifford DB, Wang G, Llibre-Guerra JJ, et al. A trial of gantenerumab or solanezumab in dominantly inherited Alzheimer's disease. *Nat Med*. juill 2021;27(7):1187-96.
137. Hoffmann-La Roche. A Phase III, Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel-Group, Efficacy, and Safety Study of Gantenerumab in Patients With Early (Prodromal to Mild) Alzheimer's Disease [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2022 mars. Report No.: NCT03444870. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03444870>
138. Mullard A. Failure of first anti-tau antibody in Alzheimer disease highlights risks of history repeating. *Nat Rev Drug Discov*. janv 2021;20(1):3-5.
139. Genentech, Inc. A Phase II, Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel-Group, Efficacy, and Safety Study of MTAU9937A in Patients With Moderate Alzheimer's Disease [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2022 févr. Report No.: NCT03828747. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03828747>
140. Biogen. A Phase 1, Randomized, Blinded, Placebo-Controlled, Single-Ascending-Dose Study to Evaluate the Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics of BIIB076 in Healthy

- Volunteers and Subjects With Alzheimer's Disease [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2020 mars. Report No.: NCT03056729. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03056729>
141. Dam T, Boxer AL, Golbe LI, Höglinger GU, Morris HR, Litvan I, et al. Safety and efficacy of anti-tau monoclonal antibody gosuranemab in progressive supranuclear palsy: a phase 2, randomized, placebo-controlled trial. *Nat Med.* août 2021;27(8):1451-7.
  142. AbbVie. A Phase 2 Multiple Dose, Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study to Evaluate the Efficacy and Safety of ABBV-8E12 in Subjects With Early Alzheimer's Disease [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2022 févr. Report No.: NCT02880956. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02880956>
  143. UCB Biopharma SRL. A Patient- and Investigator-Blind, Placebo-Controlled Study to Evaluate the Efficacy, Safety, and Tolerability of Bepranemab (UCB0107) in Study Participants With Prodromal to Mild Alzheimer's Disease (AD), Followed by an Open-Label Extension Period [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2022 mai. Report No.: NCT04867616. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04867616>
  144. Eli Lilly and Company. Assessment of Safety, Tolerability, and Efficacy of LY3303560 in Early Symptomatic Alzheimer's Disease [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2021 nov. Report No.: NCT03518073. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03518073>
  145. Janssen Research & Development, LLC. A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Parallel-group, Multicenter Study to Assess the Efficacy and Safety of JNJ-63733657, an Anti-tau Monoclonal Antibody, in Participants With Early Alzheimer's Disease [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2022 avr. Report No.: NCT04619420. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04619420>
  146. Eisai Inc. An Open-Label Phase 1b/2 Study to Assess Safety and Target Engagement of E2814 in Subjects With Mild to Moderate Cognitive Impairment Due to Dominantly Inherited Alzheimer's Disease [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2022 mars. Report No.: NCT04971733. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04971733>
  147. H. Lundbeck A/S. Interventional, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Single-ascending-dose Study Investigating the Safety, Tolerability, and Pharmacokinetic Properties of Lu AF87908 in Healthy Subjects and Patients With Alzheimer's Disease [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2022 mai. Report No.: NCT04149860. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04149860>
  148. Pinteon Therapeutics, Inc. A Phase 1, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Single-Ascending-Dose Trial to Evaluate the Safety, Tolerability, Immunogenicity, and Pharmacokinetics of Intravenous PNT001 in Healthy Volunteers [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2021 févr. Report No.: study/NCT04096287. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04096287>
  149. Hoffmann-La Roche. a single-center, randomized, investigator/subject blind, single ascending dose, placebo controlled, parallel study to investigate the safety, tolerability and pharmacokinetics of ro6926496 following intravenous infusion in healthy subjects. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2016 nov. Report No.: NCT02281786. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02281786>

# **Annexes**

## Annexe A : Principaux gènes impliqués dans la forme tardive de la MA (20)

Fonctions	Gènes	Caractérisation
Gènes impliqués dans le métabolisme du cholestérol	<i>APOE</i>	Facteur de risque le plus important. Principal transporteur du cholestérol dans le cerveau
	<i>ABCA7</i>	ATP binding cassette. Transport HDL, rôle dans le transport du cholestérol
	<i>Clusterin (CLU)</i>	Apolipoprotéine J. Rôle dans le transport des lipides, l'apoptose et la protection membranaire
Gènes impliqués dans la réponse immunitaire	<i>SORL1</i>	Rôle dans le transport cellulaire et la maturation de l'APP
	<i>MS4A</i>	Interagit avec les cellules B activées par les antigènes
	<i>CR1</i>	Récepteur pour l'activation du complément. Impliqué dans la formation des dépôts de protéine tau
	<i>TREM2</i>	Exprimé dans la microglie. Rôle dans la phagocytose et l'inflammation
	<i>CD33</i>	Inhibe les réponses immunitaires. Régule les phénomènes apoptotiques
Gènes impliqués dans le transport vésiculaire et l'endocytose	<i>CD2AP</i>	Rôle dans le trafic intracellulaire et la régulation des fonctions cytosquelettiques
	<i>PICALM</i>	Fonctions dans la transmission synaptique, dans la clearance de l'APP
	<i>EPHA1</i>	Participe à la formation des synapses et au développement du système nerveux
	<i>BIN1</i>	Intervient dans le trafic intracellulaire de l'APP, dans les phénomènes d'endocytose et d'apoptose

## Annexe B : Immunothérapies actives anti-A $\beta$ en phase d'essai clinique

Vaccin	Description	Etudes in vivo et essais cliniques
<b>CAD106</b> ou <b>Amilomotide</b>	Il est obtenu à partir de fragments du peptide A $\beta$ de façon à produire des anticorps spécifiques sans provoquer de réactions inflammatoires.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les études indiquent une réponse positive contre les plaques amyloïdes sans effets indésirables majeurs.(121)</li> <li>-En 2021, l'étude <i>Alzheimer's prevention initiative generation study</i> a testé le CAD 106 sur des malades d'Alzheimer homozygotes pour le gène APOE (<math>\epsilon</math>4), et affirme que c'est la première immunothérapie active à pouvoir freiner le dépôt d'A<math>\beta</math> chez l'humain avec une balance bénéfice/risque positive.(122)</li> </ul>
<b>ACI-24</b>	Il repose sur l'utilisation du peptide A $\beta$ 1-15 entouré d'un liposome et d'adjuvant pour permettre l'obtention d'une forte réponse sans activer les lymphocytes T (123)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Une étude datant de Février 2022 a exploré l'optimisation de l'ACI-24 pour générer des anticorps anti-pyroglutamate A<math>\beta</math> qui est une forme très neurotoxique d'A<math>\beta</math> et a obtenu des résultats positifs.(124)</li> </ul>
<b>UB311</b>	Il comprend deux peptides A $\beta$ 1-14 fusionnés à des peptides de lymphocytes T.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Il a également prouvé pouvoir générer une forte réponse immunitaire sans induire de cytotoxicité. (125).</li> <li>- Une étude clinique de phase II de l'UB311 rapporte une efficacité à réduire les plaques amyloïdes et une amélioration de la connectivité neuronale chez des patients atteints d'Alzheimer de forme légère à modérée.</li> </ul>
<b>Lu AF20513</b>	C'est un trimère du fragment A $\beta$ 1-12 séparé par des séquences d'épitopes de toxines tétanique. Cet assemblage permet d'activer une réponse spécifique des lymphocytes T à la toxine tétanique grâce à une immunisation préexistante par le vaccin antitétanique et ainsi aboutir à une production spécifique d'anticorps anti A $\beta$ .(126)	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Bien qu'il soit bien toléré, les titres de ce vaccin étaient plus réduits chez l'homme comparé au modèle animal ce qui a freiné la poursuite des essais cliniques.(63)</li> </ul>
<b>Vaccin à ADN codant pour A<math>\beta</math>42</b>	L'injection cutanée d'ADN codant pour un trimère d'A $\beta$ 42, permet son expression in vivo et stimule une réponse immune au niveau des nœuds lymphatiques, ce qui aboutit à l'obtention de divers anticorps contre différents épitopes sans générer d'inflammation cytotoxique.(127)	<ul style="list-style-type: none"> <li>-L'étude de Rosenberg et al réalisée en 2018 affirme que ce vaccin permet non seulement de réduire la pathologie A<math>\beta</math> mais agirait aussi sur la réduction de la pathologie Tau.(128)</li> </ul>

**Annexe C : Immunothérapies passives anti-A $\beta$  en phase d'essai clinique.**

<b>Anticorps monoclonal</b>	<b>Description</b>	<b>Essais Cliniques</b>
<b>Donanemab (LY3002813)</b>	Anticorps monoclonal humanisé qui se lie spécifiquement à l'épitope N Terminal pyroglutamate des dépôts d'A $\beta$ .	<p>-Un essai clinique de phase II (TRAILBLAZER-ALZ) a indiqué une réduction des plaques amyloïdes et une amélioration conséquente de la cognition des patients.(129)</p> <p>-Une étude de Phase III (TRAILBLAZER-ALZ2) est en cours avec 1800 participants pour évaluer sa capacité à prévenir la maladie chez des patients à un stade débutant.(130)</p> <p>-Une 2<sup>ème</sup> étude de phase III avec 3300 participants Alzheimer visera également à déterminer son efficacité.(131)</p>
<b>Lecanemab (BAN2401)</b>	Anticorps monoclonal humanisé qui se lie préférentiellement aux formes agrégées d'A $\beta$ (oligomères, protofibrilles et fibrilles)	<p>-Un essai clinique de phase II (BAN2401-GOOO-201) indique une réduction d'A<math>\beta</math> et du déclin cognitif après 18 mois de traitement.(132)</p> <p>-Ainsi un essai clinique de Phase III (Clarity AD) est en cours pour évaluer son efficacité.(133)</p>
<b>Solanezumab (LY2062430)</b>	Anticorps monoclonal humanisé ciblant le domaine A $\beta$ 13-28.	<p>-Divers essais cliniques de phase III se sont soldés par un échec et n'ont pu démontrer l'efficacité du Solanezumab sur des patients atteint d'Alzheimer léger à modéré.</p> <p>-Malgré cela un nouveau essai clinique de phase III (A4) est en cours pour évaluer son efficacité sur des patients asymptomatiques ou à un stade débutant d'Alzheimer.(134)</p>
<b>Crenezumab (RG7412)</b>	Anticorps monoclonal humanisé ciblant de multiples formes d'A $\beta$ (monomères compris) avec une plus haute affinité pour les oligomères.	<p>-Divers essais cliniques de phase III ont été arrêtés avant leur fin, due aux résultats d'analyses intermédiaires qui prédisaient leur échec.</p> <p>-Actuellement une étude de phase II est en cours pour évaluer son efficacité sur des patients atteints d'Alzheimer de forme génétique (mutation du gène PSEN1).(135)</p>
<b>Gantenerumab (RO4909832)</b>	Anticorps monoclonal humanisé se liant aux formes agrégées d'A $\beta$ avec une haute affinité et permet leur clearance par phagocytose.	<p>-Un essai clinique de phase II DIAN-TU-001 effectué chez des patients Alzheimer de forme familiale (ayant des mutations génétiques) a démontré une diminution des plaques amyloïdes mais sans effets sur la cognition des patients. (136)</p> <p>- Actuellement deux essais cliniques de phase III (GRADUATE 1 et 2) étudient son efficacité chez des patients dont la forme d'Alzheimer n'est pas due à des mutations génétiques. (137)</p>

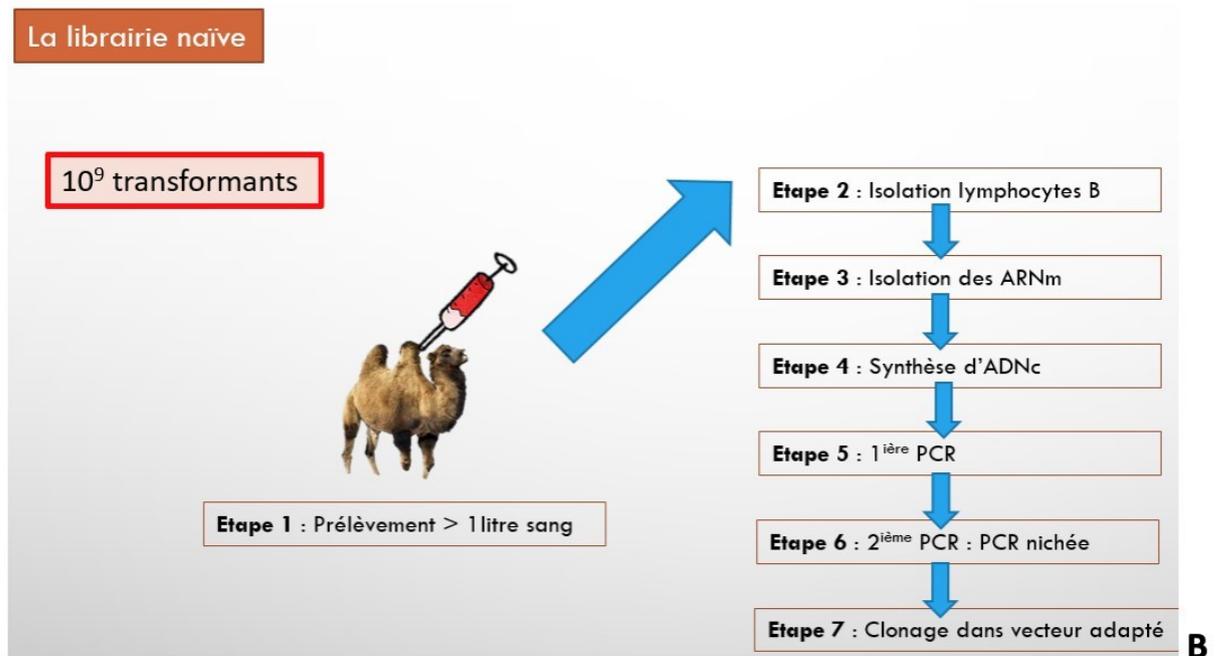
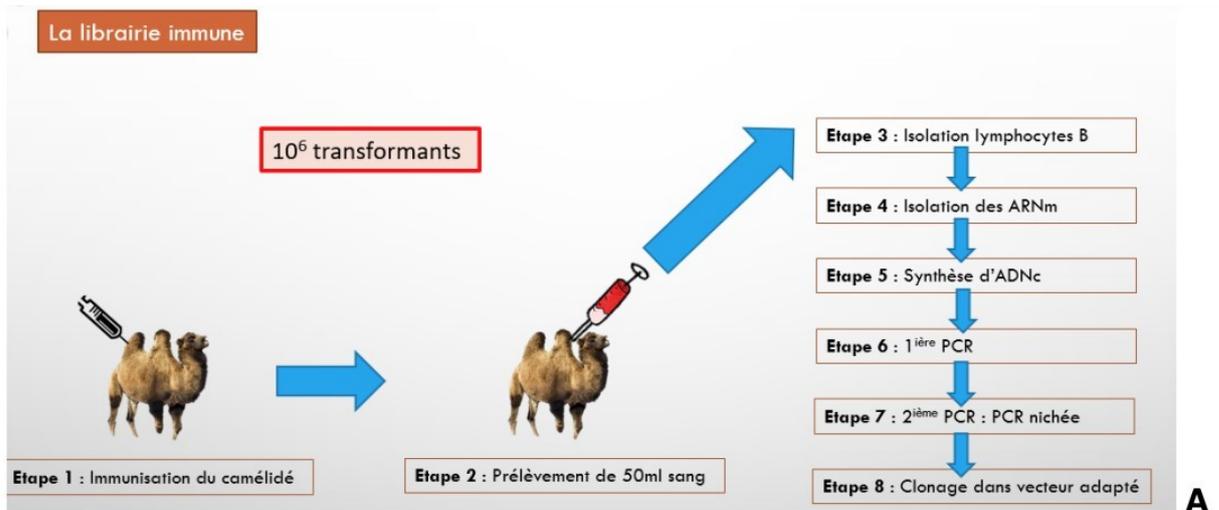
**Annexe D : Immunothérapies passives anti-Tau en phase d'essai clinique.**

<b>Anticorps monoclonal</b>	<b>Description</b>	<b>Essai clinique</b>
<b>Semorinemab (Ro705705)</b>	Anticorps monoclonal humanisé dirigé contre la protéine Tau extracellulaire	-En janvier 2021 un essai clinique de phase II a conclu à l'absence d'amélioration des symptômes de patients Alzheimer et s'est donc soldé par un échec.(138) -Un nouvel essai clinique est actuellement en cours.(139)
<b>BIIB076</b>	Anticorps monoclonal de type IgG1 ciblant le domaine central de Tau	-Un essai clinique de phase I a été complété en Mars 2020 pour évaluer sa pharmacocinétique.(140)
<b>Gosuranemab</b>	Anticorps monoclonal humanisé dirigé contre la partie N terminale extracellulaire de Tau dans le liquide interstitiel et le liquide céphalorachidien.	-Un essai clinique de phase II a conclu que la neutralisation de la partie N terminale de Tau ne se traduisait pas par une amélioration clinique, ce qui freina la poursuite d'autres essais cliniques.(141)
<b>Tilvonemab (ABBV-8E12)</b>	Anticorps monoclonal ciblant la protéine Tau extracellulaire sous forme agrégée.	-Un essai de phase II visant à évaluer son efficacité s'est soldé par un échec.(142)
<b>Bepranemab</b>	Anticorps monoclonal humanisé ciblant la région centrale de Tau.	-Un essai de phase II est actuellement en cours pour évaluer son efficacité et son innocuité. (143)
<b>Zagotenemab (LY3303560)</b>	Anticorps monoclonal dirigé contre une conformation pathologique de Tau.	-Un essai clinique de phase II sur des patients Alzheimer symptomatiques a échoué aboutissant à l'interruption de son développement.(144)
<b>JNJ-63733657</b>	Anticorps monoclonal humanisé ciblant la région de liaison aux microtubules de Tau	-Un essai clinique de phase II est actuellement en cours pour évaluer son efficacité sur le déclin cognitif.(145)
<b>E2814</b>	Anticorps monoclonal humanisé dirigé contre l'épitope HVPGG de Tau	-Essai clinique de Phase II en cours. (146)
<b>LuAF87908</b>	Anticorps monoclonal humanisé ciblant les régions pSer 396 et p Ser 404 de Tau	-Un essai clinique de phase I est actuellement en cours.(147)
<b>PNT001</b>	Anticorps monoclonal dirigé contre le Cis-isomère de la protéine Tau phosphorylée au niveau de la thréonine 231.	-Un essai clinique de phase I a été complété dont les résultats ne sont pas encore publiés.(148)
<b>RG7345</b>	Anticorps monoclonal dirigé contre le fragment pSer422 de Tau.	-L'essai clinique sur de volontaires sains a été arrêté à cause du développement d'une réponse inflammatoire.(149)

### Annexe E : Fragments ScFv dirigés contre l'Aβ (95)

ScFv	Conformation/ Région ciblées	Description et études ( <i>InVivo/InVivo</i> )
<b>ScFv-h3D6</b>	N-Terminale	Obtenu à partir d'un anticorps monoclonal (Bapineuzumab). Il a pu inhiber la cytotoxicité du peptide Aβ et prévenir la formation de fibrilles dans un modèle cellulaire. Des études <i>In Vivo</i> indiquent également des résultats positifs sur les fonctions cognitives et une réduction des taux d'Aβ sans induction de réaction inflammatoire
<b>ScFv-IC16</b>	N-Terminale	Dirigé contre les différentes formes agrégées d'Aβ. Il pourrait être utilisé comme outil moléculaire pour le diagnostic et le traitement de la MA
<b>A8 scFv</b>	N-Terminale	Il prévient l'agrégation d'Aβ <i>in Vitro</i>
<b>HT7</b>	N-Terminale	Obtenu d'une librairie d'anticorps humains. Il cible les oligomères, les protofibrilles et les fibrilles d'Aβ 42 Il permet de désagréger l'Aβ 42 <i>In vitro</i> et d'inhiber sa toxicité dans un modèle cellulaire
<b>ScFv 9</b>	N-Terminale	Protège contre le déficit de mémoire dans un modèle de <i>Drosophila</i>
<b>B4.4</b>	Centrale	Inhibe la toxicité des oligomères et fibrilles d'Aβ42 dans un modèle cellulaire
<b>H1v2</b>	Centrale	Inhibe l'agrégation d'Aβ et prévient ses effets toxiques dans un modèle cellulaire
<b>1 E8</b>	Centrale	Diminue la formation de fibrilles d'Aβ dans un modèle cellulaire
<b>ScFv 4.8 et ScFv 3.20</b>	Centrale	Préviennent la toxicité des oligomères d'Aβ42 dans des cultures cellulaires. Ils identifient et diminuent les dépôts d'Aβ dans un modèle murin.
<b>B6 et D4</b>	Centrale	Restreint l'agrégation d'Aβ 42 et diminue sa toxicité dans un modèle cellulaire.
<b>ScFv 42.2</b>	C-Terminale	Protège contre le déficit de mémoire et la perte neuronale dans un modèle de <i>drosophila</i> Il a une action synergique avec le ScFv 9.
<b>ScFv 17</b>	C-Terminale	Diminue les oligomères d'Aβ dans un modèle murin
<b>W8,W9, W20, WC2</b>	Oligomères	Préviennent la formation de fibrilles d'Aβ dans un modèle cellulaire
<b>A4 ScFv</b>	Oligomères	Restreint l'agrégation d'Aβ et diminue sa toxicité dans un modèle cellulaire et tissulaire de cerveau humains.
<b>C6ScFv, et NuSc1</b>	Oligomères	Ciblent les oligomères d'Aβ dans des tissus de cerveaux humains.
<b>ScFv MO6</b>	Oligomères	Se lie spécifiquement à l'Aβ 42. Il diminue les taux d'oligomères d'Aβ42 en prévenant leur formation et en favorisant leur désagrégation dans un modèle cellulaire.
<b>ScFv AS</b>	Oligomères/ protofibrilles	Il diminue les taux d'oligomères d'Aβ en prévenant leur formation et en favorisant leur désagrégation dans un modèle cellulaire.
<b>ScFv HT6</b>	Oligomères	Se lie à l'Aβ 42. Il permet sa désagrégation et l'inhibition de sa progression et donc la diminution de sa cytotoxicité.

## Annexe F : Etapes de réalisation d'une librairie de Nanobodies (107)



- (A) Une librairie immune
- (B) Une librairie naïve
- (C) Une librairie synthétique

# Résumés

## Résumé

La maladie d'Alzheimer est une affection neurodégénérative du système nerveux central. Elle se caractérise par une perte durable et progressive des fonctions cognitives associée à deux types de lésions neuropathologiques : les plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires. La complexité des mécanismes physiopathologiques sous jacents à cette maladie a pendant des décennies limité le développement de traitements curatifs.

Actuellement, l'immunothérapie constitue une piste thérapeutique prometteuse, notamment après l'approbation d'un anticorps monoclonal, l'Aducanumab, en juin 2021. Néanmoins, l'utilisation d'anticorps monoclonaux peut faire l'objet de limites et d'effets indésirables qui affectent leur efficacité. Ces limites pourraient, cependant, être surmontées par l'exploitation d'un format alternatif, les fragments dérivés d'anticorps.

L'application de fragments variables simple chaîne (ScFv) ou de fragments d'anticorps à domaine unique (VHH) au traitement de la maladie d'Alzheimer ouvrent donc de nouveaux horizons thérapeutiques.

**Mots clés :** Maladie d'Alzheimer, Immunothérapie, Fragments d'anticorps.

## الملخص

مرض الزهايمر هو اضطراب تنكسي عصبي في الجهاز العصبي المركزي. يتميز بفقدان دائم وتدرجي للوظائف المعرفية المرتبطة بنوعين من الآفات المرضية العصبية: لويحات الأميلويد والتنكس الليفي العصبي أدى تعقيد الآليات المرضية الكامنة وراء هذا الاضطراب إلى صعوبة تطوير علاجات فعالية حاليًا يعود العلاج المناعي وسيلة علاجية واعدة، خاصة بعد الموافقة على جسم مضاد أحادي النسيلة، في يونيو 2021. ومع ذلك، قد يكون استخدام الأجسام المضادة أحادية النسيلة عرضة لآثار جانبية قد تؤثر على فعاليتها. يمكن التغلب على هذه الآثار من خلال استغلال شكل بديل، قطع مشتقة من الأجسام المضادة يفتح تطبيق القطع المتغيرة أحادية السلسلة أو قطع الأجسام المضادة أحادية المجال أفقًا علاجية جديدة لعلاج مرض الزهايمر

**الكلمات المفتاحية:** مرض الزهايمر، العلاج المناعي، قطع الأجسام المضادة

## **Absract**

Alzheimer's disease is a neurodegenerative condition characterized by a progressive loss of cognitive functions associated with two types of neuropathological lesions: amyloid plaques and neurofibrillary tangles.

The pathophysiological mechanisms underlying this disease are complex. This has led to several limitations in the development of curative treatments.

Currently, immunotherapy is a promising therapeutic avenue, especially after the approval of the monoclonal antibody Aducanumab in June 2021.

However, the use of monoclonal antibodies might be limited and associated with adverse effects that affect their effectiveness. These limits could, nevertheless, be overcome by using an alternative format : antibody fragments.

Indeed, the application of single-chain variable fragments (ScFv) or single-domain antibody fragments (VHH) to the treatment of Alzheimer's disease opens up new therapeutic horizons.

**Key words** : Alzheimer's disease, Immunotherapy, Antibody fragments.

**Année universitaire : 2021-2022**

**Présenté par : ABADA Fany Sandra**

## **Perspectives de traitement de la maladie d'Alzheimer par l'immunothérapie et les fragments dérivés d'anticorps**

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en **biotechnologie et biothérapie**.

### **Résumé**

La maladie d'Alzheimer est une affection neurodégénérative du système nerveux central. Elle se caractérise par une perte durable et progressive des fonctions cognitives associée à deux types de lésions neuropathologiques : les plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires.

La complexité des mécanismes physiopathologiques sous jacents à cette maladie a pendant des décennies limité le développement de traitements curatifs.

Actuellement, l'immunothérapie constitue une piste thérapeutique prometteuse, notamment après l'approbation d'un anticorps monoclonal, l'Aducanumab, en juin 2021.

Néanmoins, l'utilisation d'anticorps monoclonaux peut faire l'objet de limites et d'effets indésirables qui affectent leur efficacité. Ces limites pourraient, cependant, être surmontées par l'exploitation d'un format alternatif, les fragments dérivés d'anticorps.

L'application de fragments variables simple chaîne (ScFv) ou de fragments d'anticorps à domaine unique (VHH) au traitement de la maladie d'Alzheimer ouvrent donc de nouveaux horizons thérapeutiques.

**Mots-clefs :** Maladie d'Alzheimer, Immunothérapie, Fragments d'anticorps.

**Encadrant :** Dr ADJROUD Moussa

Maitre de conférences B, UFM, Constantine 1

**Examineur :** Dr BOUDOUKHANI Meriem

Maitre assistante B, UFM, Constantine 1

**Examineur :** Dr MOSBAH Asma

Maitre de conférences A, UFM, Constantine 1