



Inactivation allélique ciblée par CRISPR/Cas9 de variants pathogènes du VWF dans la maladie de von Willebrand de type 2

Allele-selective Disruption of Pathogenic VWF Variants in Type 2 Von Willebrand Disease using CRISPR/Cas9

Bär I, Groten SA, Barraclough A, Bürgisser PE, van Kwawegen C, Lenting PJ, *et al.*
Blood Adv 2026 ; 10 : 1429-43.

Analyse commentée réalisée par Victor-Emmanuel BRETT

Date de publication : 27 avril 2026

JUSTIFICATIFS ET OBJECTIFS

La maladie de von Willebrand (MVW) est la coagulopathie héréditaire la plus fréquente, liée à des anomalies quantitatives ou qualitatives du facteur von Willebrand (VWF). Pour la MVW qualitative (type 2), les variants hétérozygotes peuvent avoir un effet dominant-négatif. Dans ce cas, l'incorporation de sous-unités mutées altère les multimères circulants et perturbe la fonction de la protéine sauvage. Les traitements actuels reposent sur des perfusions de concentrés de VWF ou la desmopressine (DDAVP) qui permettent d'augmenter les taux circulants mais qui ne traitent pas la cause génétique sous-jacente. L'objectif est d'évaluer une stratégie de thérapie génique par CRISPR/Cas9 ciblant un SNP commun (rs1800378) afin d'inactiver sélectivement l'allèle pathogène et restaurer un phénotype VWF normal *ex vivo*.

METHODES

Des cellules progénitrices endothéliales (ECFC) isolées de témoins sains et de patients atteints de MVW2A (p.C1190R) et 2B (p.R1306W), tous hétérozygotes pour le SNP c.1451G/A (rs1800378), ont été transduites par lentivirus exprimant SpCas9 associé à des ARN guides spécifiques de l'allèle G ou A du SNP. L'efficacité et la sélectivité allélique ont été évaluées par séquençage NGS. L'impact sur la synthèse protéique est apprécié par spectrométrie de masse (MS) permettant la discrimination des peptides sauvages et mutants. L'analyse phénotypique a reposé sur l'immunofluorescence (IF) haute résolution qui a permis d'apprécier le trafic intracellulaire du VWF (colocalisation avec des marqueurs du réticulum endoplasmique) et la morphologie des corps de Weibel-Palade (WP).

RESULTATS

Le ciblage du SNP hétérozygote rs1800378 par CRISPR/Cas9 a montré une inactivation sélective et efficace de l'allèle mutant du gène *VWF* dans les ECFC d'un donneur sain. L'édition génomique a atteint des taux de *knock-out* allant de 70 à 93 %. Cette édition s'est traduite par une réduction d'environ 50 % du taux de VWF, cohérente avec l'inactivation d'un seul allèle, sans altération de la morphologie cellulaire ni du nombre de corps de WP. Chez les patients atteints de MVW de types 2A et 2B, cela a permis de supprimer les peptides variants dans le sécrétome. Sur le plan cellulaire, dans les ECFC du sujet atteint d'une MVW de type 2A, cette approche a corrigé la rétention du VWF dans le réticulum endoplasmique (RE), appréciée par colocalisation en IF de l'expression de PDI et VWF. Les corps de WP retrouvaient une morphologie allongée compatible avec une multimérisation normale.

Dans les ECFC MVW 2B, l'inactivation de l'allèle mutant (≈ 70 % d'édition) a réduit significativement les peptides pathologiques et supprimé le marquage par un *nanobody* spécifique de la forme dite « active » du VWF, caractéristique du type 2B, tout en préservant l'expression de l'allèle sauvage.

Ces résultats prouvent que l'expression d'un seul allèle sauvage est suffisante pour maintenir un phénotype endothélial sain, transformant ainsi un état dominant-négatif sévère en un état de porteur hétérozygote asymptomatique.

Modèle	Allèle ciblé	Édition (%)	Effet protéique	Effet phénotypique
Contrôle	Monoallélique	70-93	↓ VWF total ~50 %	WPB conservés
MVW 2A	Muté	~78	↓ peptide muté	Correction rétention RE et morphologie WP
MVW 2B	Muté	~70	↓ peptide muté	Disparition conformation pathologique domaine A1

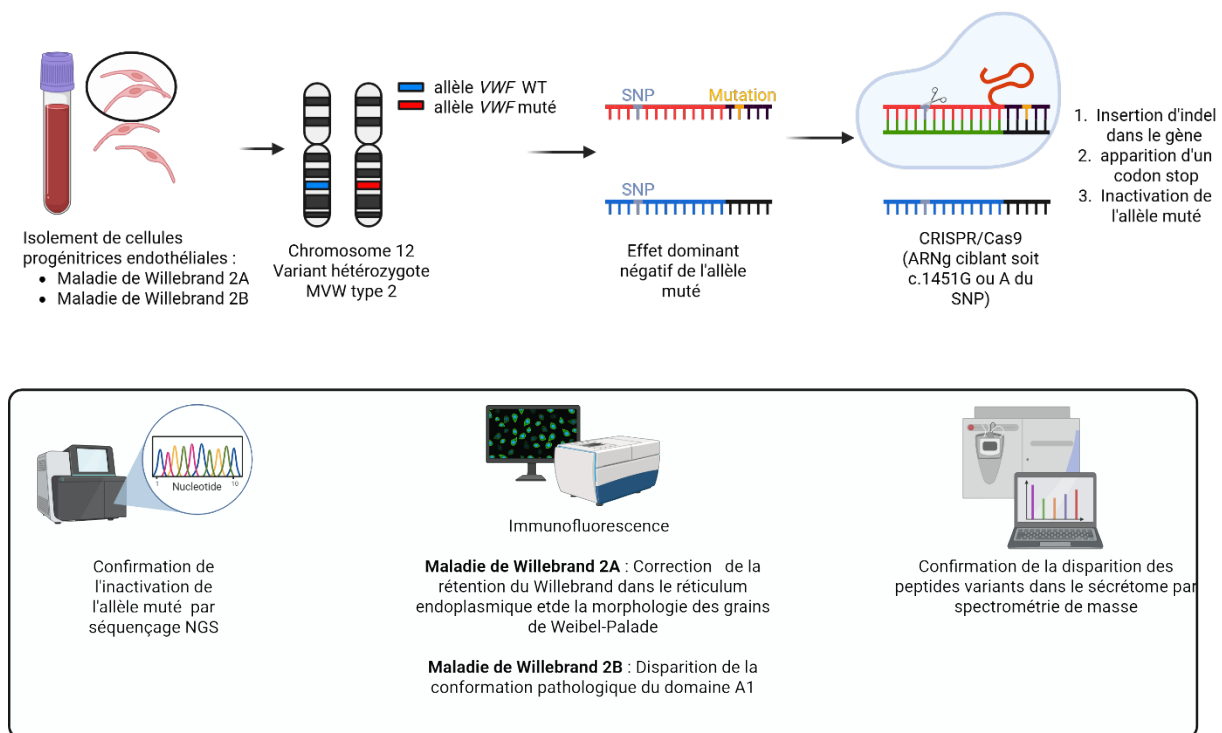


Figure 1 : Principe expérimental de l'inactivation sélective de l'allèle du gène *VWF* muté par CRISPR/Cas9 dans la maladie de von Willebrand de type 2. (Réalisée avec Biorender®)

Figure 1: Experimental principle of selective inactivation of the mutated *VWF* allele using CRISPR/Cas9 in type 2 von Willebrand disease. (Made with Biorender®)

AVIS D'EXPERT

Cette étude constitue une avancée conceptuelle majeure dans le traitement de la maladie de von Willebrand par thérapie génique. L'innovation centrale repose sur le ciblage par CRISPR/Cas9 d'un SNP hétérozygote lié à l'allèle pathogène plutôt que de la mutation elle-même. Cette stratégie « universelle » contourne l'hétérogénéité mutationnelle élevée du gène *VWF*, qui comporte plus de 750 variants décrits, et rend un développement translationnel plus réaliste. Les auteurs estiment que la combinaison de quatre SNPs pourrait concerner jusqu'à 83 % des patients, conférant à cette approche une portée inédite. Le rationnel physiopathologique est innovant : l'extinction de l'allèle mutant dans les formes dominantes négatives équivaut à transformer le patient en porteur hétérozygote d'un allèle nul, situation généralement peu ou asymptomatique, proches d'un phénotype de MVW de type 1 léger.

Dans des ECFC dérivées de patients, l'édition montre une efficacité élevée et une bonne sélectivité pour l'allèle mutant, corrigeant la rétention intracellulaire du VWF (type 2A) et l'hyperaffinité plaquettaire (type 2B). L'expression d'un seul allèle sauvage suffit à restaurer la biogenèse normale des corps de WP et la sécrétion fonctionnelle du VWF, suggérant qu'une correction partielle *in vivo* pourrait suffire à prévenir les manifestations hémorragiques.

Néanmoins, plusieurs défis subsistent pour la translation clinique. La délivrance *in vivo* demeure complexe : les vecteurs virus adéno-associés (AAV) sont limités par la taille de SpCas9 et présentent un tropisme endothélial restreint. Les nanoparticules lipidiques constituent une alternative prometteuse, mais leur capacité à cibler efficacement l'endothélium vasculaire, en particulier pulmonaire, site clé de production du VWF plasmatique, reste à démontrer. Le mosaïcisme est une autre inconnue critique : le seuil minimal de cellules endothéliales « éditées » nécessaire pour obtenir un bénéfice clinique n'est pas défini. Enfin, la spécificité doit être maximale : le risque d'édition hors-cible de l'allèle sauvage doit être minimisé pour éviter une aggravation vers un déficit quantitatif sévère.

En conclusion, en dépit de ces obstacles, cette preuve de concept *ex vivo* est méthodologiquement robuste et biologiquement cohérente. Elle valide l'édition génomique comme stratégie crédible pour restaurer durablement une production endogène de VWF fonctionnel et ouvre une perspective curative au-delà des approches substitutives actuelles.