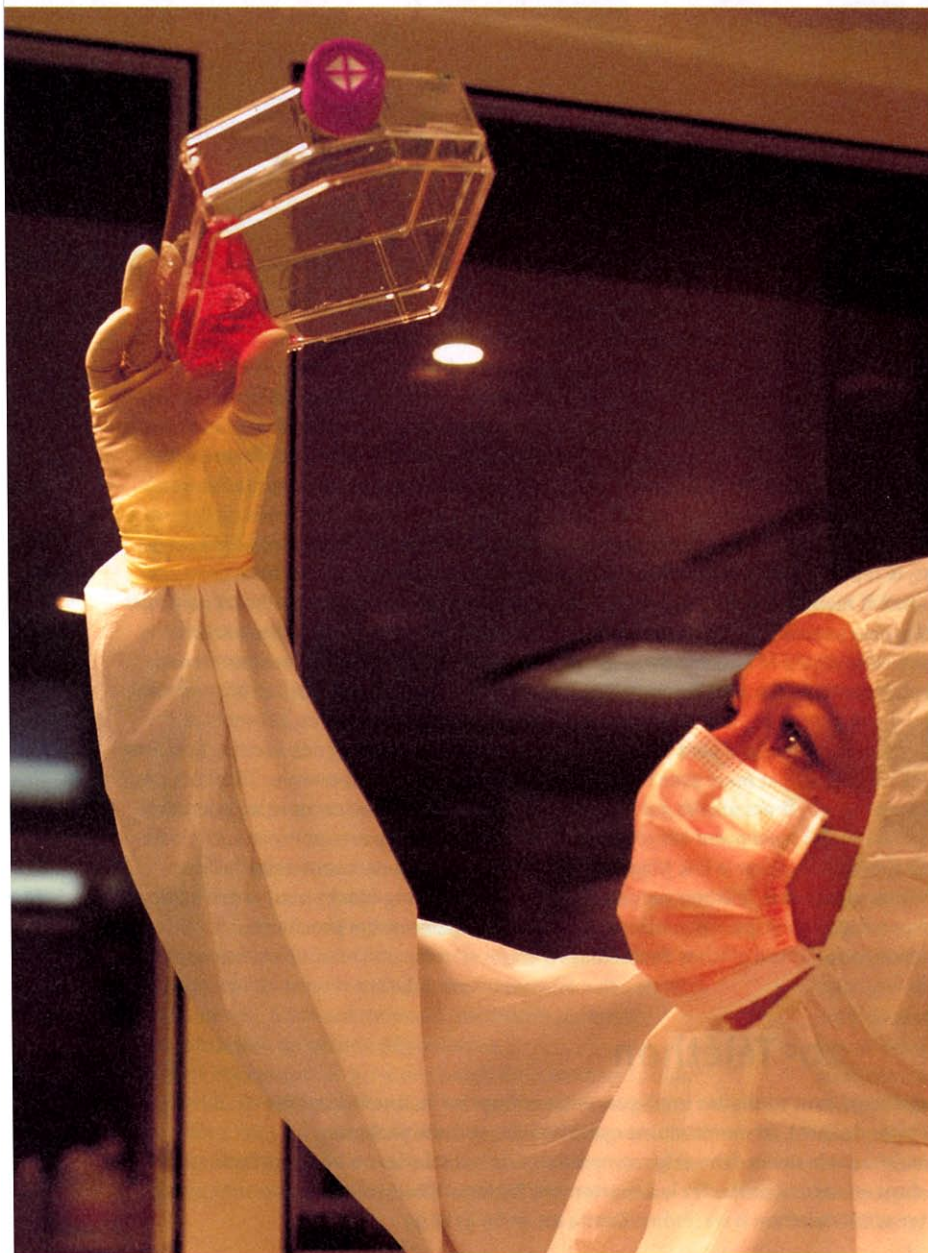


Un foisonnement d'approches thérapeutiques dans les myopathies



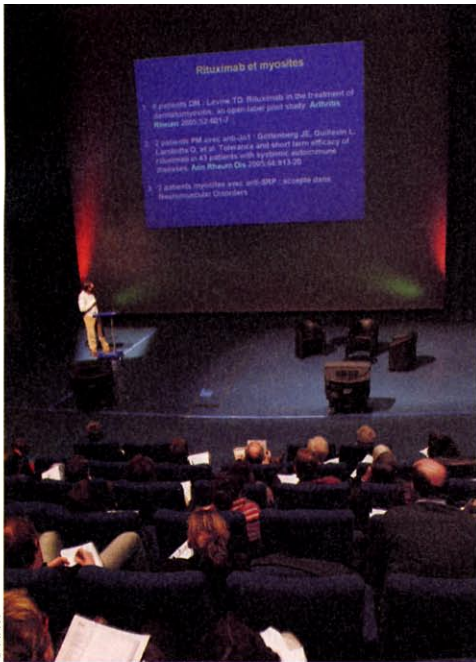
L'AFM a organisé, le 13 février à Évry, un workshop sur les approches thérapeutiques appliquées au muscle. Chercheurs et médecins – tous soutenus par l'AFM – ont fait le point sur les dernières avancées à noter en pharmacologie, thérapies génique et cellulaire, pour le traitement des maladies neuromusculaires.

Modèles animaux, imagerie, pharmacologie, thérapies génique et cellulaire... des thèmes qui ont ponctué ce premier workshop organisé par l'AFM, centré sur les thérapeutiques appliquées au muscle. De fait, les essais précliniques et cliniques dans les maladies neuromusculaires ont fait l'objet de la plupart des interventions. Voici, en résumé, quelques-unes d'entre elles...

→ ESSAIS PRÉCLINIQUES

Pharmacologie : surexpression de l'utrophine

Lors de la session de pharmacothérapie, Sabine de La Porte (CNRS, Gif-sur-Yvette) a exposé ses travaux sur la surexpression de l'utrophine dans la dystrophie musculaire de Duchenne. L'utrophine est une protéine apparentée à plus de 80% à la dystrophine. Au cours du développement embryonnaire, l'utrophine est présente dans l'ensemble de la fibre musculaire, puis elle est remplacée



© AFM

par la dystrophine chez l'adulte. À ce stade, elle ne persiste qu'au niveau des jonctions neuromusculaires. Il a été montré que l'utrophine pouvait pallier l'absence de dystrophine et empêcher ainsi la progression de la dystrophie musculaire. En outre, étant normalement exprimée chez les patients, elle ne déclenche pas de réaction immunitaire. La chercheuse a émis l'hypothèse que la L-arginine, un acide aminé, pouvait influencer sur la quantité d'utrophine exprimée. Un tel traitement a amélioré significativement la morphologie des muscles de souris mdx (qui présentent une dystrophie musculaire), avec une réduction de 30% des zones nécrosées, une récupération de la force de l'ordre de 30%, et une amélioration significative (30%) sur le plan fonctionnel.

Thérapie génique : VEGF et SLA

Peggy Lafuste (université de Louvain) a présenté ses travaux portant sur le potentiel thérapeutique d'un facteur de croissance, le VEGF, dans la sclérose latérale amyotrophique (SLA). Cette maladie est caractérisée par la dégénérescence des jonctions neuromusculaires ainsi que la mort des motoneurones, entraînant une faiblesse puis la paralysie des muscles. Les chercheurs ont observé que l'administration de VEGF (par injection ou par transfert de gène) entraînait un retardement de l'apparition des symptômes de la maladie ainsi qu'une augmentation de la survie des animaux. Ils ont aussi récemment montré que le VEGF induisait la croissance des motoneurones et qu'une expression réduite du VEGF était en relation avec le développement de la SLA

chez la souris et chez l'homme. Les expériences menées actuellement laissent penser que le VEGF pourrait avoir une influence sur le développement des motoneurones, et qu'une administration soutenue de VEGF pourrait permettre le maintien de jonctions neuromusculaires fonctionnelles.

■ ■ ■ SUITE PAGE 14

3 questions à...

Vincent Mouly,
chercheur au CNRS (hôpital
de La Pitié-Salpêtrière, Paris)
et co-investigateur de l'essai
de thérapie cellulaire dans
la dystrophie musculaire
oculo-pharyngée



© AFM/Roland Bourguet

Sur quelle hypothèse majeure est basé l'essai de phase I-II de thérapie cellulaire en cours dans la dystrophie musculaire oculo-pharyngée ?

De façon générale, la thérapie cellulaire est basée sur les capacités régénératives des cellules, qui dépendent à la fois du nombre de cellules disponibles et du nombre de divisions possibles de ces cellules. Cet essai clinique concerne une pathologie qui n'atteint que quelques muscles. Le principe est donc de travailler avec les propres cellules du malade, isolées des muscles non atteints, qui sont porteuses de l'anomalie génétique mais qui ne présentent pas encore la pathologie, et qui sont donc encore fonctionnelles, ce que nous avons vérifié au laboratoire. En outre, utiliser les cellules des patients évite les rejets immunitaires. Les bénéfices potentiels des greffes réalisées pour cet essai sont l'arrêt de la progression de la dégradation des muscles du pharynx et l'amélioration de la fonction de déglutition.

Quels sont les premiers résultats obtenus ?

Après avoir prélevé des cellules musculaires non différenciées [sur des muscles de la cuisse ou du cou] et les avoir multipliées en culture, les professeurs Lacau St Guily et Périé les ont injectées dans le muscle du pharynx du patient. Au même moment, ils subissent une section chirurgicale du sphincter supérieur de l'œsophage [myotomie]. Les sept patients opérés dans le cadre de cet essai sur les dix prévus par le protocole présentent tous une amélioration marquée de la déglutition, mais c'est d'abord une conséquence de la myotomie. En ce qui concerne les effets de la greffe proprement dits, il est encore un peu tôt pour se prononcer : l'évaluation de l'absence de dégradation nécessite du recul et nous cherchons les outils pertinents pour quantifier directement l'amélioration de la fonction pharyngée.

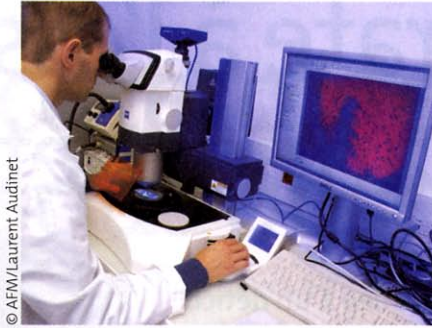
Quelles seront les prochaines étapes ?

Du point de vue technique, nous souhaitons trouver une solution pour suivre le devenir des cellules greffées, sans recourir à une technique invasive. En outre, la dispersion de cellules injectées reste faible et nous voudrions améliorer ce point. Enfin, il faut penser à élargir cet essai à plus de malades, par exemple au niveau européen.

prématuré» (cf. VLM n° 119, p. 27) ou dite «mutation stop», la synthèse de la protéine pour laquelle il code est arrêtée prématurément. La protéine obtenue est alors souvent non fonctionnelle ou même absente, ce qui engendre la pathologie. Chez la souris mdx, l'injection de gentamycine a permis la synthèse d'une dystrophine par translecture. Cependant, cet antibiotique est toxique à haute dose, l'utilisation d'autres molécules innovantes, à la fois plus efficaces et moins toxiques, est nécessaire. Actuellement, un essai de phase II chez des enfants atteints de dystrophie musculaire de Duchenne est en cours avec l'une de ces nouvelles molécules, PTC124 (voir encadré p. 15). Dans une perspective thérapeutique, Jean-Pierre Rousset a rappelé l'intérêt de déterminer, pour chaque patient, la nature de la mutation génétique dont il est affecté, ainsi que l'emplacement des codons stop prématurés s'ils existent, pour pouvoir cibler le traitement. Cette technique pourrait s'appliquer à toute maladie causée par la présence d'une mutation «stop» (c'est le cas par exemple de certaines mutations observées dans la mucoviscidose).

Saut d'exon et myopathie de Duchenne

L'approche thérapeutique dite du saut d'exon a été abordée par Terry Partridge (CNMR, Washington) et Luis Garcia (Généthon, Évry). C'est une technique de «chirurgie du gène» réalisée au niveau de l'ARN (cf. dossier VLM n° 119) : des ARN antisens, transportés par des vecteurs viraux, sont injectés et vont masquer la séquence mutée sur le gène, permettant la synthèse d'une protéine tronquée mais fonctionnelle. Les intervenants ont souligné les succès expérimentaux remportés chez la souris mdx et chez le chien grmd (modèle de la myopathie de Duchenne). Chez l'homme, plus de 70% des patients atteints de divers types de mutations génétiques pourraient bénéficier de cette approche du saut d'exon. Dans la dystrophie musculaire de Duchenne, des essais vont être lancés pour valider cette approche, à l'instar de l'essai de phase I qui vient d'être autorisé en Hollande et mené par la société de biotechnologies Prosensa (après les travaux de l'équipe de Judith Van Deutekom du Leiden University Medical Center). Un essai qui suppose des



© AFM/Laurent Audinet

injections répétées à intervalles réguliers d'ARN antisens, car ils ne restent pas durablement dans l'organisme. D'où l'intérêt de l'approche alternative proposée par les chercheurs de Généthon qui explorent actuellement une voie d'administration des ARN antisens grâce à un vecteur viral AAV capable de produire dans les muscles ces ARN antisens de manière stable sur la durée. Cependant, chez l'animal, la deuxième injection provoque une réaction de rejet immunitaire du vecteur, le rendant inopérant. Pour contourner cet obstacle, l'utilisation d'un nouveau type d'ARN synthétisé en laboratoire (Peptide nucleic acid ou morpholino) est envisagée, notamment par un consortium de recherche anglais. Pour clore la journée, Ketty Schwartz, présidente du conseil scientifique de l'AFM, a souligné la pluridisciplinarité des intervenants, nécessaire à la construction de la myologie. Elle a également insisté sur l'importance de la connaissance des mécanismes des maladies, et pas seulement des mutations génétiques, et s'est réjouie du foisonnement d'approches thérapeutiques dans les maladies neuromusculaires. Un foisonnement qui impose de faire des choix rigoureux dans les essais à mener. D'abord parce que les financements sont limités. Ensuite, parce que les maladies neuromusculaires

“ Les recherches sont passées à la vitesse supérieure en matière d'essais précliniques. ”

sont des maladies rares : le nombre de patients susceptibles d'être inclus dans des essais est limité. D'où la nécessité de travailler à l'échelle européenne et de «recruter» des cohortes de patients venant de plusieurs pays. ■

Anne Berthomier

(1) ARN : molécule qui participe à la traduction de l'ARN messenger en protéine.

(2) Le codon stop est un petit morceau d'ADN qui ne code aucun acide aminé mais qui désigne la fin du message génétique sur un ARN messenger et par conséquent la fin de la synthèse de la protéine. La translecture signifie que le codon stop n'est pas lu comme tel et que le processus de traduction continue, autrement dit la traduction de l'ARNm se fait au-delà du codon stop.

FENÊTRE SUR

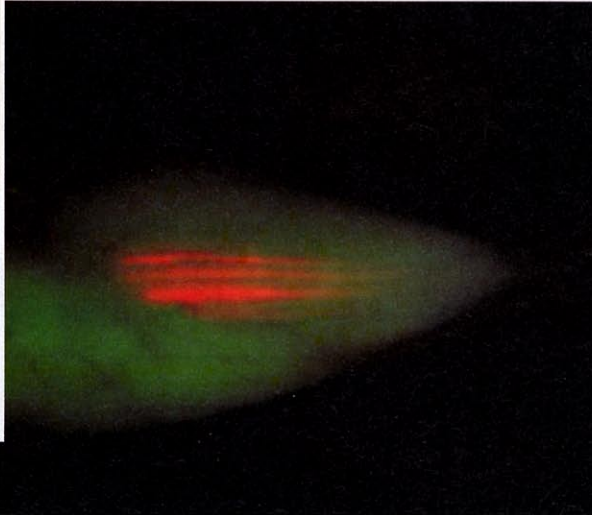
PTC 124 : lancement de l'essai de phase II

L'entreprise de biotechnologie PTC Therapeutics a annoncé, le 27 janvier dernier, le lancement d'un essai clinique de phase II testant l'effet du PTC124 chez des patients atteints de dystrophie musculaire de Duchenne.

Ce nouveau composé est utilisé dans le traitement des maladies génétiques dues à des mutations conduisant à la formation d'un codon stop prématuré dans l'ARN messenger. La mutation stop provoque la synthèse d'une protéine nettement plus courte et non fonctionnelle par rapport à la normale. Le PTC124 a la capacité de passer outre ces codons stop prématurés et permet de restaurer ainsi la production d'une protéine entière et fonctionnelle. On estime que 15% des patients atteints de dystrophie musculaire de Duchenne sont associés à des mutations de codon stop. Dernièrement, un essai de phase I dans la myopathie de Duchenne avait démontré que le PTC124 était bien toléré et n'induisait pas la translecture de codons stop normaux, dans d'autres gènes par exemple. L'étude de phase II entreprise par PTC Therapeutics est un essai ouvert et non randomisé, qui a lieu sur plusieurs sites. Le protocole porte sur 56 jours et concernera 24 patients, avec 28 jours de traitement et 28 jours de suivi. L'essai devrait se terminer en décembre 2006.



Justin Teissié (CNRS, Toulouse) a présenté la technique d'«imagerie par fluorescence in vivo». Elle permet de visualiser des protéines musculaires et de suivre dans la durée ce que deviennent les protéines issues des gènes transférés par thérapie génique.



Visualisation sur l'animal vivant de l'expression du gène codant pour la protéine DsRed dans le muscle (Tibialis) d'une souris transgénique GFP (Green Fluorescent Protein) transféré par électroporéabilisation. L'expression est restreinte aux fibres musculaires dont la membrane a été déstabilisée par le champ électrique. L'électroporéabilisation permet un transfert ciblé et efficace dans la zone électroporéabilisée.

■ ■ ■ SUITE DE LA PAGE 13

→ ESSAIS THÉRAPEUTIQUES

Rituximab et myopathies inflammatoires

Olivier Boyer (Immunologie, CHU de Rouen et Inserm U519) et Olivier Benveniste (Médecine interne, CHU Pitié-Salpêtrière et CNRS UMR 7087) ont présenté les nouvelles approches thérapeutiques dans les myopathies inflammatoires primitives (appelées également myosites : polymyosite, dermatomyosite, myosite à inclusions...). Des pathologies qui font partie de la même famille de maladies, mais qui restent différentes dans leurs mécanismes pathogéniques et dans leurs réponses à des traitements immunosuppresseurs qui ne sont pas toujours

efficaces. Pour ces chercheurs, trouver des molécules innovantes implique d'abord d'approfondir les connaissances des mécanismes physiopathologiques de ces maladies. Ainsi, l'équipe d'Olivier Benveniste dans le laboratoire dirigé par David Klatzmann arrive à déclencher une attaque immunitaire du muscle chez une souris normale. Egalement, le laboratoire d'Olivier Boyer a mis au point une souris transgénique modèle où le muscle est attaqué par des cellules immunitaires spécifiques. Dans ces modèles, ces chercheurs travaillent conjointement pour tester de nouvelles approches thérapeutiques comme la thérapie cellulaire par lymphocytes T régulateurs qui vise à bloquer l'activité des cellules

immunitaires qui détruisent le muscle. Ils ont également évoqué la tenue d'essais thérapeutiques en cours pour différents types de myosites, avec notamment l'utilisation d'un anticorps monoclonal dirigé contre les lymphocytes B, le Rituximab, déjà utilisé dans les leucémies mais qui pourrait trouver dans les myosites (et aussi dans la myasthénie) une nouvelle indication.

Translecture du codon stop prématuré et myopathie de Duchenne

Jean-Pierre Rousset (université Paris 11, Orsay) a abordé la technique de translecture de codon stop⁽²⁾ grâce à un antibiotique, la gentamycine. Lorsqu'un gène porte une mutation dite de «codon stop

Des vecteurs synthétiques pour transférer les gènes

Bruno Pitard (Inserm, Nantes; en photo) a présenté de nouveaux vecteurs, dits synthétiques, qui servent de véhicules pour faire entrer du matériel génétique dans les cellules. Ces vecteurs fabriqués en laboratoires sont formés de structures appelées «blocs copolymères» qui se lient à l'ADN. Grâce à leurs propriétés physico-chimiques, elles permettent de faire entrer l'ADN ou l'ARN dans la cellule. Ce système a été utilisé en thérapie génique pour effectuer du saut d'exon et délivrer des ARN directement dans les fibres musculaires de souris mdx. Forts de résultats encourageants au niveau local, les chercheurs veulent maintenant expérimenter une nouvelle voie d'administration de ces vecteurs synthétiques qui permettrait la distribution de gènes médicaments sur des territoires plus étendus, voire dans l'ensemble de l'organisme, *via*, par exemple, le système vasculaire.

