



INFO PRESSE

Paris, 27 avril 2009

Institut de Myologie : Foison de résultats avec le soutien du Téléthon

Avec pas moins de 8 publications dans des revues scientifiques internationales majeures en quelques semaines, les équipes de recherche* de l'Institut de Myologie démontrent leur rôle moteur dans la progression des connaissances et la lutte contre les maladies neuromusculaires. Fruits d'années de travail et d'investissements rendus possible grâce aux dons du Téléthon, certains de ces résultats contribuent à une meilleure compréhension des maladies, d'autres proposent des outils de recherche innovants, préparent les essais cliniques futurs. Tour d'horizon en bref (p1-2), puis dans le détail (p3-6), de ces 8 publications d'importance.

*Les équipes de recherche de l'Institut de Myologie depuis le 1^{er} janvier 2009 :

- (1) UMRS974 INSERM-UPMC-CNRS-AIM: « Thérapie des maladies du muscle strié » dirigée par Thomas Voit
- (2) UMRS787 INSERM-UPMC-AIM: "Groupe Myologie" dirigée par David Sassoon

1- De nouvelles perspectives thérapeutiques

▪ L'inhibition de la myostatine n'affecte pas les cellules souches des muscles

L'équipe de Helge Amthor (UMRS 974) en collaboration avec des équipes anglaises et américaines, vient de démontrer que, contrairement à ce que l'on croyait jusqu'alors, l'inhibition de la myostatine (un facteur qui limite normalement la croissance des muscles) n'a pas de conséquence néfaste sur les cellules satellites (cellules indispensables à la réparation des muscles lésés). Ces résultats éclairent d'un jour nouveau les pistes thérapeutiques impliquant le blocage de la myostatine. *PNAS, publié en ligne le 21 avril 2009. (Cf. p 3 pour plus de détails).*

▪ La moelle épinière enfin à portée de thérapie génique

L'un des défis majeurs de la thérapie génique pour les maladies affectant le système nerveux réside dans l'apport du gène thérapeutique jusqu'aux motoneurons et à la moelle épinière. Grâce aux travaux de Martine Barkats (UMRS 974/ CNRS FRE 3087, Génomique) et de ses collègues de l'équipe « Biothérapie des maladies du système neuromusculaire », cet obstacle est en passe d'être surmonté. Ces chercheurs viennent de montrer chez des animaux adultes qu'un vecteur de type AAV, en l'occurrence AAV9, est capable de transduire le système nerveux central, probablement en partie par le franchissement de la barrière hémato-encéphalique qui isole le système nerveux central — cerveau et moelle épinière — de la circulation sanguine de souris adulte. De plus, et en collaboration avec l'U649 de l'INSERM dirigée par Philippe Moullier à Nantes et l'Ecole Vétérinaire de Nantes, ces chercheurs ont montré que cette méthodologie était applicable au gros animal, le chat modèle d'amyotrophie spinale. *Molecular Therapy, 14 avril 2009, publié en ligne. (Cf. p 3/4 pour plus de détails).*

▪ **Syndrome de Hurler : évaluation chez les primates de la biodistribution de vecteurs pressentis pour un traitement de thérapie génique.** Les résultats d'une étude menée par l'U649 de l'INSERM dirigée par Philippe Moullier à Nantes, et l'Ecole Vétérinaire de Nantes, en collaboration avec Martine Barkats (UMRS 974) de l'équipe « Biothérapie des maladies du système neuromusculaire », indiquent que trois vecteurs évalués se sont distribués de manière équivalente

dans le cerveau et la moelle épinière de primate, deux d'entre eux pouvant se révéler plus efficaces. *Human Gene Therapy*, avril 2009, vol.20 n°4, pp. 350-360, publié en ligne le 9 mars 2009. (Cf. p 4 pour plus de détails).

2- Vers une meilleure compréhension des maladies

▪ Maladie de Steinert : vieillissement prématuré des cellules satellites

Denis Furling (UMRS 974) et ses collègues de l'équipe *Remodelage, Régénération et Thérapie Cellulaire du muscle strié* ont mis en évidence l'implication des cellules satellites dans la dystrophie myotonique de type 1. Ils ont découvert que, chez les malades, ces cellules sont victimes d'un vieillissement prématuré qui pourrait contribuer à l'atrophie progressive des muscles des malades. *American Journal of Pathology*, n°174, pp.1435-1442, publié en ligne le 26 février 2009. (Cf. p 4 pour plus de détails).

▪ La jonction neuromusculaire mise en cause dans la dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss autosomique dominante.

L'équipe de *Génétique et physiopathologie des maladies neuromusculaires* dirigée par Gisèle Bonne (UMRS 974), en étroite collaboration avec l'équipe américaine de Tom Misteli (NIH, Washington) et notamment avec Alexandre Méjat, vient de démontrer chez deux modèles murins de la maladie, que des défauts de la jonction neuromusculaire font partie des mécanismes conduisant à l'apparition de cette myopathie. *Journal of Cell Biology*, vol.184, n°1, pp. 31-44, publié en ligne le 5 janvier 2009. (Cf. p 5 pour plus de détails).

3- Des outils pour la recherche

▪ Un modèle murin de la polymyosite confirme l'intérêt thérapeutique des Treg

Les travaux de l'équipe *Remodelage, régénération et thérapie cellulaire du muscle strié* dirigée par Gillian Butler-Browne (UMRS 974 & UMRS 787) ont permis aux équipes des Pr Olivier Benveniste et David Klatzman (Pitié-Salpêtrière) de développer des souris « modèles » de la polymyosite et de tester une nouvelle approche thérapeutique. Ils ont confirmé le potentiel thérapeutique des lymphocytes régulateurs (Treg). *American Journal of Pathology*, n°174, pp. 989-998, publié en ligne le 13 février 2009. (Cf. p 5 pour plus de détails).

▪ Une source inépuisable de cellules souches musculaires au secours des chercheurs

L'équipe *Remodelage, régénération et thérapie cellulaire du muscle strié* a mis au point, en collaboration avec l'équipe « Biothérapie des maladies du système neuromusculaire » dirigée par Luis Garcia (UMRS 974), une technique permettant de disposer d'une source quasi inépuisable de cellules musculaires afin de valider des stratégies thérapeutiques pour les maladies neuromusculaires. *Human Gene Therapy*, publié en ligne avant impression le 9 avril 2009. (Cf. p 5 pour plus de détails).

▪ Une nouvelle méthode pour produire du tissu cardiaque

Jusqu'à présent, l'obtention de tissu cardiaque nécessitait l'utilisation de produits issus de tumeurs ce qui rendait inenvisageable leur utilisation chez l'Homme. Catherine Coirault et ses collègues de l'équipe *Génétique et physiopathologie des maladies neuromusculaires* (UMRS 974) viennent de mettre au point une méthode qui évite l'utilisation de ces produits toxiques et pourrait être adaptée, à terme, au muscle squelettique. *Nature Clinical Practice – Cardiovascular Medicine*, mars 2009, vol.6 n°3, pp.240-249. (Cf. p 6 pour plus de détails).

L'Institut de Myologie en quelques mots :

Créé en 1996 par [l'Association Française contre les Myopathies](#) (AFM), grâce aux dons du Téléthon, l'Institut de Myologie (IDM) est un centre international d'expertise sur le muscle et ses maladies situé à la Pitié-Salpêtrière. Il a pour originalité de rassembler, sur un même lieu, des activités complémentaires, en partenariat étroit avec l'Inserm, l'AP-HP, l'UPMC (Université Pierre et Marie Curie) et le CNRS : soins, recherche, enseignement et activités associatives pour comprendre le muscle, son fonctionnement, ses pathologies, son vieillissement et mieux le soigner. Il rassemble près de 250 chercheurs, médecins, étudiants et personnel associé, sur plus de 5000 m² de laboratoires. 22 protocoles cliniques y sont en cours. Le soutien global de l'AFM à l'IDM s'est élevé à près de 7 M€ en 2008. Pour plus d'info : www.institut-myologie.org

Contacts presse:

Stéphanie Bardon, Delphine Carvalho - Tel: 01.69.47.28.28 - presse@afm.genethon.fr

LES 8 PUBLICATIONS EN DETAILS

▪ L'inhibition de la myostatine n'affecte pas les cellules souches des muscles ; un résultat qui va impacter les essais cliniques à venir

Contrairement à ce qui était admis jusque-là, Helge Amthor⁽¹⁾ de l'Institut de Myologie (Paris), en collaboration avec des équipes anglaises et américaines, vient de montrer que l'augmentation du volume des muscles due à l'inhibition de la myostatine — un facteur qui limite normalement leur croissance — n'entraînerait pas une sollicitation excessive des cellules satellites musculaires⁽²⁾. Ces résultats éclairent d'un jour nouveau les pistes thérapeutiques impliquant le blocage de la myostatine. Lorsqu'un muscle est agressé, les cellules satellites — des cellules souches situées à la périphérie des fibres musculaires — sont sollicitées pour régénérer les fibres musculaires endommagées. Toutefois, cette régénération n'est pas éternelle car la réserve de cellules satellites est limitée. Or, jusqu'à aujourd'hui, on pensait que, chez les personnes atteintes de dystrophie musculaire, l'inhibition de la myostatine qui se traduit par une augmentation du volume de la masse musculaire, stimulait de manière plus importante que la normale les cellules satellites afin qu'elles régénèrent les fibres détruites par la maladie. Les voies thérapeutiques s'appuyant sur l'inhibition de la myostatine faisaient donc craindre une diminution prématurée de la réserve de ces cellules indispensables tout au long de la vie. Les travaux de l'équipe de Helge Amthor montrent qu'il n'en est rien. Dans les muscles de modèles murins n'exprimant pas la myostatine, les chercheurs ont pu associer l'augmentation du volume musculaire à celle du diamètre et de la longueur des fibres musculaires qui les composent par rapport à des souris "normales". Par ailleurs, chez des souris modèles de la myopathie de Duchenne dépourvues de myostatine (souris *mstr^{-/-} mdx*), il y a également une augmentation du volume musculaire mais les cellules satellites se comportent "normalement" c'est-à-dire qu'elles ne sont pas plus actives. En revanche, les muscles sont plus "gros" parce que les fibres régénérées sont plus volumineuses que lorsque la myostatine est présente. En d'autres termes, en l'absence de myostatine, le muscle dystrophique gagne en volume sans avoir besoin d'un nombre plus important de cellules satellites.

Nul doute que ces résultats auront un impact important sur la conception des essais cliniques à venir impliquant l'inhibition de la myostatine dans la mesure où le bénéfice éventuel de cette inhibition ne met pas en péril le pool de cellules satellites.

(1) Institut de Myologie, UMRS974 INSERM-UPMC-CNRS-AIM, Paris, France

(2) Amthor, H. et al. (2009). Muscle hypertrophy driven by myostatin blockade does not require stem/precursor-cell activity. **PNAS** published online before print April 21, 2009, doi:10.1073/pnas.0811129106.

▪ La moelle épinière enfin à portée de thérapie génique

L'un des défis majeurs de la thérapie génique pour les maladies neurodégénératives — des maladies à évolution progressive qui affectent le système nerveux — réside dans l'apport du gène thérapeutique jusqu'aux motoneurones et à la moelle épinière. Grâce aux travaux de Martine Barkats et de ses collègues de l'équipe Biothérapie des maladies du système neuromusculaire de l'Institut de Myologie (Paris)⁽¹⁾ cet obstacle est en passe d'être surmonté. Martine Barkats et ses collaborateurs viennent de montrer qu'un vecteur⁽²⁾ de type AAV, en l'occurrence AAV9 « double-brin », est capable de transduire le système nerveux central (SNC) (cerveau et moelle épinière) de la souris adulte après injection intravasculaire, ceci probablement en partie par le franchissement de la barrière hémato-encéphalique qui isole le SNC de la circulation sanguine⁽³⁾. De plus, ces chercheurs ont validé cette méthode chez le chat adulte en collaboration avec l'U649 de l'INSERM dirigée par Philippe Moullier à Nantes et l'Ecole Vétérinaire de Nantes.

Pour suivre le transfert de gène dans le SNC, les chercheurs ont doté le vecteur d'un transgène rapporteur fluorescent, puis l'ont injecté dans la circulation sanguine de souris et de chats adultes modèles de l'amyotrophie spinale, une maladie neuromusculaire.

Ils ont alors pu constater la présence du transgène rapporteur dans les neurones moteurs et la moelle épinière des animaux. En outre, ce gène s'est exprimé au moins 5 mois chez les souris, ceci sans perturbation artificielle de la barrière hémato-encéphalique. Ces résultats sont très encourageants pour le développement futur de traitements par thérapie génique de nombreuses maladies, dont l'amyotrophie spinale, la sclérose latérale amyotrophique ou encore les pathologies lysosomales.

Cependant, afin d'envisager l'utilisation de ce vecteur chez l'Homme, il s'agit maintenant pour les chercheurs de l'adapter en fonction des cellules qu'il devra traiter. Par exemple, si le traitement ne s'adresse qu'aux motoneurones, il faudra doter le vecteur d'un promoteur — sorte d'interrupteur — qui déclenchera l'expression du gène thérapeutique uniquement dans ces cellules. En revanche, si l'ensemble des cellules de l'organisme doit être corrigé, le promoteur pourra être ubiquitaire, c'est-à-dire efficace pour tous les types cellulaires.

(1) Institut de Myologie, UMRS974 INSERM-UPMC-CNRS-AIM, Paris, France/CNRS FRE 3087, Généthon

(2) Virus chargé d'apporter le gène thérapeutique au cœur

(3) Intravenous Administration of Self-complementary AAV9 Enables Transgene Delivery to Adult Motor Neurons, *Molecular Therapy*, 14 avril 2009, publié en ligne

▪ **Syndrome de Hurler : évaluation de la biodistribution de vecteurs pressentis pour un traitement de thérapie génique**

Le syndrome de Hurler est une maladie rare qui survient dès l'enfance et se traduit par un retard de croissance sévère, des malformations multiples et une déficience mentale grave. A ce jour, il n'existe aucun traitement. L'une des pistes thérapeutiques envisagées est la thérapie génique avec des vecteurs de type AAV. Or, avant d'évaluer ce traitement chez l'Homme, les chercheurs doivent s'assurer notamment du comportement de ces vecteurs dans l'organisme. Cette étude dite de diffusion et de biodistribution vient d'être faite chez des primates par Carine Ciron et ses collaborateurs de l'U649 de l'INSERM dirigée par Philippe Moullier à Nantes et de l'Ecole Vétérinaire de Nantes, en collaboration avec Martine Barkats de l'équipe Biothérapie des maladies du système neuromusculaire de l'Institut de Myologie (Paris)⁽¹⁾. Les résultats indiquent que les trois vecteurs évalués (AAV1, AAV2 et AAV5) se sont distribués de manière équivalente dans le cerveau et la moelle épinière, les sérotypes 1 et 5 apparaissant les plus efficaces⁽²⁾.

(1) Institut de Myologie, UMRS974 INSERM-UPMC-CNRS-AIM, Paris, France/CNRS FRE 3018, Généthon

(2) Human α -Iduronidase Gene Transfer Mediated by Adeno-Associated Virus Types 1, 2, and 5 in the Brain of Nonhuman Primates: Vector Diffusion and Biodistribution, *Human Gene Therapy*, avril 2009, vol.20 n°4, pp. 350-360, publié en ligne le 9 mars 2009

▪ **Maladie de Steinert : mise en cause du vieillissement prématuré des cellules satellites**

La maladie de Steinert, ou dystrophie myotonique de type 1, est due à la présence dans l'extrémité du gène DMPK de la répétition anormale du tri-nucléotide (unités constitutives de l'ADN) CTG (cytosine-C, thymine-T, guanine-G). Au niveau clinique, cette maladie se traduit par une déficience progressive des muscles. Les récents résultats obtenus par Denis Furling et ses collègues de l'équipe *Remodelage, Régénération et Thérapie Cellulaire du muscle strié* de l'Institut de Myologie (Paris)⁽¹⁾ suggèrent que la mutation CTG altère le comportement des cellules satellites. Les chercheurs ont tout d'abord noté un dysfonctionnement des cellules satellites musculaires des malades⁽²⁾; des cellules qui normalement sont capables de se multiplier à l'identique et de se différencier en cellules musculaires afin de régénérer les muscles lésés. Ils ont ensuite constaté que ces cellules satellites portant l'anomalie génétique étaient victimes d'un vieillissement prématuré lié à un processus impliquant une protéine particulière appelée p16. Ces observations pourraient expliquer à la fois la faible régénération musculaire constatée chez les malades et contribuer à l'atrophie de leurs muscles notamment chez ceux pour lesquels les répétitions de CTG sont importantes.

(1) Institut de Myologie, UMRS974 INSERM-UPMC-CNRS-AIM, Paris, France

(2) *Satellite cell dysfunction contributes to the progressive muscle atrophy in myotonic dystrophy type 1*, *Neuropathology and Applied Neurobiology*, article accepté pour publication

(3) *Large CTG Repeats Trigger p16-Dependent Premature Senescence in Myotonic Dystrophy Type 1 Muscle Precursor Cells*, *American Journal of Pathology*, n°174, pp.1435-1442, publié en ligne le 26 février 2009

▪ La jonction neuromusculaire mise en cause dans la dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss autosomique dominante

La dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss autosomique dominante est liée à des mutations du gène codant pour les lamines A/C, des protéines déterminantes pour le maintien de la structure du noyau des cellules. Pour l'heure, les mécanismes cellulaires selon lesquels ces mutations entraînent la maladie sont encore flous. Cependant, l'équipe de *Génétique et physiopathologie des maladies neuromusculaires* dirigée par Gisèle Bonne à l'Institut de Myologie (Paris)⁽¹⁾ en étroite collaboration avec l'équipe de Tom Misteli (NIH, Washington) et notamment avec Alexandre Méjat, vient de démontrer chez deux modèles murins de la maladie, que des défauts de la jonction neuromusculaire — jonction entre les neurones et les muscles — font partie de ces mécanismes conduisant à l'apparition de cette myopathie⁽²⁾. Un pas de plus vient donc d'être franchi vers la compréhension de la déficience musculaire qui se manifeste progressivement chez les malades.

(1) Institut de Myologie, UMRS974 INSERM-UPMC-CNRS-AIM, Paris, France

(2) *Lamin A/C-mediated neuromuscular junction defects in Emery-Dreifuss muscular dystrophy*, *The Journal of Cell Biology*, vol.184, n°1, pp. 31-44, publié en ligne le 5 janvier 2009

▪ Un modèle murin de la polymyosite confirme l'intérêt thérapeutique des Treg

La polymyosite est une maladie musculaire auto-immune, c'est-à-dire que le système immunitaire du malade s'attaque à tort à ses propres muscles. Une étroite collaboration entre l'équipe *Remodelage, régénération et thérapie cellulaire du muscle strié* de l'Institut de Myologie (Paris)⁽¹⁾ dirigée par Gillian Butler-Browne et celle dirigée par Olivier Benveniste du Service de Médecine interne de la Pitié-Salpêtrière et rattachée à l'Institut de Myologie (Paris)⁽²⁾ a permis de développer un modèle murin de cette maladie pour tester de nouvelles approches thérapeutiques⁽³⁾. D'ores et déjà, ces chercheurs ont constaté que chez les souris ayant reçu des lymphocytes T régulateurs (Treg) — des cellules qui contrôlent naturellement l'auto-immunité —, la maladie est moins sévère que chez celles qui n'en ont pas eu. Cette observation confirme le potentiel thérapeutique des Treg ; un traitement qui devrait faire à terme l'objet d'un essai clinique mené par les équipes des Pr David Katzmann de l'hôpital Pitié – Salpêtrière (Paris)⁽⁴⁾ et Olivier Benveniste.

(1) Institut de Myologie, UMRS974, UMRS787, INSERM-UPMC-CNRS-AIM, Paris, France

(2) Service de Médecine interne et Unité Biologie et thérapeutique des pathologies immunitaires, groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

(3) *Role of regulatory T cells in a new mouse model of experimental autoimmune myositis*, *American Journal of Pathology*, n°174, pp. 989-998, publié en ligne le 13 février 2009

(4) Unité "Biologie et thérapeutique des pathologies immunitaires" (UPMC-CNRS U7087) et service de Biothérapies de l'hôpital La Pitié – Salpêtrière

▪ Une source inépuisable de cellules souches musculaires au secours des chercheurs

Afin de valider les stratégies thérapeutiques envisagées pour les maladies neuromusculaires, les chercheurs ont besoin, entre autres éléments, de quantités importantes de cellules musculaires de malades. Or, il n'est pas possible de multiplier les biopsies musculaires chez ces personnes déjà fragilisées par la maladie. Pour résoudre ce problème, Denis Furling et Vincent Mouly de l'équipe *Remodelage, régénération et thérapie cellulaire du muscle strié* de l'Institut de Myologie (Paris)⁽¹⁾ dirigée par Gillian Butler-Browne, en collaboration avec l'équipe *Biothérapie des maladies du système neuromusculaire* dirigée par Luis Garcia de l'Institut de Myologie (Paris)⁽¹⁾, a mis au point une technique permettant de disposer d'une source quasi inépuisable de cellules musculaires⁽²⁾. Chez des malades atteints de myopathie de Duchenne, ils ont prélevé des cellules de la peau qu'ils ont immortalisées afin qu'elles se multiplient à l'identique "éternellement". Ils y ont ensuite introduit le gène *MyoD*, les transformant ainsi en cellules musculaires. De fait, sous certaines conditions, ces cellules sont capables de donner naissance à des fibres musculaires. En outre, ils ont vérifié qu'elles peuvent être corrigées par saut d'exon en utilisant le petit gène U7 et qu'une fois injectées à des modèles murins de la myopathie de Duchenne, les cellules musculaires corrigées y permettent la restauration de la dystrophine, la protéine dont l'absence ou la déficience est à l'origine de la maladie.

(1) Institut de Myologie, UMRS974 INSERM-UPMC-CNRS-AIM, Paris, France

(2) *Immortalized skin fibroblasts expressing conditional MyoD as a renewable and reliable source of converted human muscle cells to assess therapeutic strategies for muscular dystrophies: validation of an exon skipping approach to restore dystrophin in DMD cells*, *Human Gene Therapy*, publié en ligne avant impression le 9 avril 2009.

▪ Une nouvelle méthode pour produire du tissu cardiaque

L'une des pistes thérapeutiques envisagées pour soigner le cœur est la greffe de tissu cardiaque, un peu à l'image de ce qui se fait pour les greffes de peau. Or, jusqu'à présent, l'obtention de tissu cardiaque nécessitait l'utilisation de produits issus de tumeurs ce qui rendait inenvisageable leur utilisation chez l'Homme. Catherine Coirault et ses collègues de l'équipe *Physiopathologie et thérapie du muscle strié* de l'Institut de Myologie⁽¹⁾ viennent de mettre au point une méthode qui évite l'utilisation de ces produits toxiques⁽²⁾. Dans un premier temps, les chercheurs ont ajouté à la matrice de collagène — une armature naturelle de protéines qui assure la cohésion d'un tissu — des éléments de base de protéines particuliers dits peptides d'adhésion. Une fois cette matrice obtenue, ils l'ontensemencée avec des cellules musculaires cardiaques, ou cardiomyocytes, de rats nouveaux-nés qui n'étaient pas encore différenciés. Quelques jours plus tard, les chercheurs n'ont pas obtenu une simple couche de cardiomyocytes comme c'est généralement le cas avec les méthodes habituelles, mais un "bout" de muscle cardiaque structuré en trois dimensions dont les cellules se contractent et battent. Outre l'intérêt de ce travail pour les thérapies cardiaques, Catherine Coirault qui a intégré le groupe *Génétique et physiopathologie des maladies neuromusculaires*⁽³⁾ tente maintenant d'adapter cette méthode au muscle squelettique. Son objectif est d'obtenir, à partir de cellules de malades, du tissu musculaire qui permettra d'étudier la physiopathologie de ces maladies.

(1) Inserm U582, Institut de Myologie, Université Pierre et Marie Curie – Paris 06, Service d'explorations cardio-respiratoires, Hôpital Bicêtre, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Le Kremlin-Bicêtre

(2) *Use of arginine–glycine–aspartic acid adhesion peptides coupled with a new collagen scaffold to engineer a myocardium-like tissue graft*, *Nature Clinical practice – Cardiovascular Medicine*, mars 2009, vol.6 n°3, pp.240-249

(3) UMRS 974

Contacts presse:

**Stéphanie Bardon, Delphine Carvalho -
Tel : 01.69.47.28.28 - presse@afm.genethon.fr**

Pour plus d'info : www.institut-myologie.org