END-I

Handicap Neu

Physiopathologie,

Pharmacolo

ÉQUIPE 1 : BIOTHÉRAPIES DES MALADIES NEUROMUSCULAIRES

Mots clés :
Oligonucléotides antisens, thérapie génique, vecteurs AAV, modulation d'épissage, maladies neuromusculaires, évaluation préclinique, vecteurs HSV, vessie neurologique

Les travaux de l'équipe Biothérapies des maladies neuromusculaires s'articulent autour de trois axes principaux : 1) Les approches thérapeutiques antisens pour la correction d' ARNm morbides par modulation d'épissage (splice switching) et thérapie génique ; 2) La physiopathologie des maladies neuromusculaires et 3) les vecteurs herpes simplex recombinants pour thérapie génique ciblant les afférences.

AXE 1 : LES APPROCHES THERAPEUTIQUES ANTISENS

Les travaux de l'équipe s'inscrivent dans la recherche d'issues thérapeutiques pour des maladies neuromusculaires telles que DMD, SMA et GSD II, pour lesquelles une approche de thérapie génique et/ou de « splice switching » est possible. Pour ces

indications, le contexte international scientifique et économique est très concurrentiel et différentes approches sont d'ores et déjà en évaluation clinique, voire ont obtenu une autorisation de mise sur le marché aux USA et en Europe. En conséquence, nous avons principalement focalisé nos efforts sur la conception : (i) de nouveaux composés antisens plus efficaces (tricyclo-DNA); (ii) de nouveaux modes de production de vecteurs AAV plus performant; et (iii) de modalités de traitement systémiques satisfaisant les objectifs cliniques concernés (e.g. ciblage de l'ensemble de la musculature squelettique, le cœur, le système nerveux central, etc.). Nous avons également contribué au développement socio-économique en créant une startup (SQYTherapeutics), partenaire de notre unité. L' équipe participe également au LIA-BAHN (UVSQ et CSM): une coopération scientifique initiée en 2013 entre la République française et la Principauté de Monaco dans le domaine de l'innovation biomédicale.
Le développement de nos outils innovants et uniques a contribué à la reconnaissance aujourd'hui internationale de l'équipe en matière d'outils thérapeutiques pour les maladies neuromusculaires. Plusieurs membres de l'équipe appartiennent à des réseaux collaboratifs internationaux clés dans le domaine (COST Action BM1207 et CA17103 réunissant tous les spécialistes des thérapeutiques ARN) et collaborent avec les laboratoires le plus renommés dans ces thématiques (University of Oxford, University College London, Leiden University Medical Center, Washington Center for Genetic Medicine Research etc.).

AXE 2 : PHYSIOPATHOLOGIE DES DYSTROPHIES MUSCULAIRES (Nouvelles approches pharmacologiques issues de la compréhension des mécanismes dystrophiques)

• Genèse des fibres révertantes chez DMD : Au cours des dernières années, nous avons conçu des outils pour mener un programme de recherche sur la genèse des fibres révertantes, observées chez les patients DMD ou les animaux modèles. En particulier, nous avons généré et caractérisé une lignée de souris transgénique rapporteur, permettant de « traquer » les dystrophines révertantes in vivo, ex vivo et in vitro. Ce modèle nous permet d'étudier l'hypothèse selon laquelle les événements de réversion ont lieu dans des cellules souches musculaires postnatales et chaque foyer de fibres révertantes est issu du développement clonal d'un évènement singulier. L'utilisation de stratégies thérapeutiques tcDNA et CRISPR-Cas9 pour sauter l'exon 23 au niveau de l'ARNm nous permet d'évaluer l'expression de la dystrophine dans les cellules souches musculaires et les possibilités de normaliser leur signature moléculaire et leur comportement in vivo.
• Niveaux minimaux de dystrophine : Etude rétrospective de patients DMD visant à déterminer l'impact réel d'une expression de dystrophine résiduelle (<5%).

• Restauration de la signalisation de Ca2+ chez les souris mdx en ciblant le canal endo-lysosomal TPC : Evaluation de l'effet du NED-19 (antagoniste de NAADP) sur la structure et la fonction du muscle squelettique et du cœur chez la souris mdx.

AXE 3 : VECTEURS HERPES SIMPLEX RECOMBINANTS POUR THERAPIE GENIQUE

Cette activité de recherche translationnelle concerne l'exploitation de vecteurs HSV-1 construits à des fins thérapeutiques pour lesquels nous avons acquis la preuve d'une activité biologique sur des neurones sensitifs embryonnaires, sur des cultures organotypiques de ganglions sensitifs (DRG) de rat et sur des neurones de DRG humains adultes en culture primaire. Une série d'expérimentations in vivo de preuve de concept est en cours de réalisation et permettra de sélectionner la stratégie la plus efficace afin de poursuivre le développement préclinique du vecteur thérapeutique sélectionné.

IMPACT SOCIO-ECONOMIQUE

Le laboratoire Biothérapie des maladies neuromusculaires bénéficie du soutien de plusieurs associations de patients et parents (Association Monégasque contre les Myopathies, Duchenne Parent Project France, Association Française contre les Myopathies, SMA France etc.) et a ainsi établi un lien socio-culturel fort avec les associations de malades qui reflète l'objectif translationnel des projets de recherche. L'impact économique et sociétal majeur des travaux de l'équipe réside dans le développement préclinique & clinique de nouvelles stratégies thérapeutiques efficaces pour les maladies neuromusculaires. A ce titre, l'équipe s'intègre parfaitement au cœur de l'unité dont l'objectif est de développer, non pas une approche thérapeutique singulière fondée sur une technologie donnée, mais plutôt un bouquet de solutions complémentaires issues de différentes disciplines dont la finalité est l'amélioration du statut des patients.

LEXIQUE

ARN (acide ribonucléique) : molécule intermédiaire qui porte une partie de l'information génétique provenant de l'ADN et qui sert de matrice pour la synthèse des protéines.

Dystrophine : protéine retrouvée en grande quantité dans les muscles squelettiques et qui garantit la stabilité des fibres musculaires. Les mutations du gène codant pour la dystrophine sont responsables des dystrophies musculaires telles que DMD ou BMD (maladie de Becker).

AAV (adeno-associated virus) : petit virus à ADN utilisé comme vecteur de gène dans les stratégies de thérapies géniques.

Oligonucléotides : courte séquence d'ADN ou d'ARN (de 10 à 30 nucléotides) utilisée entre autre dans les stratégies antisens (saut d'exon, réinclusion d'exon, etc).

Tricyclo-DNA : oligonucléotides chimiquement modifiés pour une meilleure résistance à l' environnement in vivo. Ces molécules ont récemment prouvé une plus grande efficacité que les oligonucléotides dans les stratégies antisens pour DMD.

Saut d'exon : stratégie permettant d'éliminer une partie codante de la molécule d'ARN. En effet, les parties éliminées, les exons, correspondent aux « blocs » codants pour les protéines (contrairement aux « blocs » non codants appelés introns). Ainsi, le saut d'exon peut être utilisé pour inactiver une protéine spécifique, ou comme approche thérapeutique pour supprimer les exons mutés. Dans le cas de DMD, le saut d'exon élimine les exons mutés et rétablit l'expression d'une dystrophine écourtée mais qui reste fonctionnelle.

10 publications significatives de l'équipe

1. Petkova M, Stantzou A, Morin A, Petrova O, Morales-Gonzalez S, Seifert F, Bellec-Dyevre J, Manoliu T, Goyenvalle A, Garcia L, Richard I, Laplace-Builhé C, Schuelke M and Amthor H. Live-imaging of revertant and therapeutically restored dystrophin in the DmdEGFP-mdx mouse model for Duchenne muscular dystrophy. Neuropath Appl Neuro. 2020 In press.
2. Aupy P, Zarrouki F, Sandro Q, Gastaldi C, Buclez PO, Mamchaoui K, Garcia L, Vaillend C and Goyenvalle A. Long term efficacy of AAV9-U7snRNA mediated exon 51 skipping in Mdx52 mice. Mol Ther Clin Dev. 2020 May 4;17: 1037-1047.
3. Marg A, Escobar H, Karaiskos N, Grunwald SA, Metzler E, Kieshauer J, Sauer S, Pasemann D, Malfatti E, Mompoint D, Quijano-Roy S, Boltengagen A, Schneider J, Schülke M, Kunz S, Carlier R, Birchmeier C, Amthor H, Spuler A, Kocks C, Rajewsky N, Spuler S. Human muscle-derived CLEC14A-positive cells regenerate muscle independent of PAX7. Nat Commun. 2019 Dec 18;10(1):5776.
4. Aupy P, Echevarria L, Relizani K, Zarrouki F, Haeberli A, Komisarski M, Tensorer T, Jouvion G, Svinartchouk F, Garcia L and Goyenvalle A. Identifying and avoiding tcDNA-ASO sequence specific toxicity for the development of DMD exon 51 skipping therapy. Mol Ther Nucleic Acids. 2019 Nov 27;19:371-383.
5. Echevarría L, Aupy P, Relizani K, Bestetti T, Griffith G, Blandel F, Komisarski M, Haeberli A, Svinartchouk F, Garcia L and Goyenvalle A. Evaluating the Impact of

Variable Phosphorothioate Content in Tricyclo-DNA Antisense Oligonucleotides in a Duchenne Muscular Dystrophy Mouse Model. Nucleic Acid Ther. 2019 Jun;29(3):148-160.
6. Malcher J, Heidt L, Goyenvalle A, Escobar H, Marg A, Beley C, Benchaouir R, Bader M, Spuler S, García L, Schöwel V. “Exon Skipping in a Dysf-Missense Mutant Mouse Model”, Mol Ther Nucleic Acids. 2018 Aug 22;13:198-207.
7. Relizani K, Griffith G, Echevarría L, Zarrouki F, Facchinetti P, Vaillend C, Leumann C, Garcia L and Goyenvalle A. Efficacy and safety profile of tricyclo-DNA oligonucleotides: promising tools toward an antisense therapy for Duchenne muscular dystrophy. Mol Ther Nucleic Acids. 2017 Sep 15;7:144-157.
8. Robin, V, Griffith G, Leumann C, Garcia L and Goyenvalle A. “Efficient SMN rescue following subcutaneous tricyclo-DNA antisense oligonucleotide treatment”, Mol Ther Nucleic Acids. 2017 Jun 16;7:81-89.
9. Goyenvalle A, Griffith G, Babbs A, ELAndaloussi S, Ezzat K, Avril A, Dugovic B, Chaussenot R, Ferry A, Voit T, Amthor H, Bühr C, Schürch S, Wood MJA, Davies KE, Vaillend C, Leumann C et Garcia L “Functional correction in muscular dystrophic mice using splice-switching tricyclo-DNA oligomers.” Nat. Med. 2015 Mar;21(3):270-5.
10. Goyenvalle, A., Vulin A, Fougerousse F, Leturcq F, Kaplan JC, Garcia L and Danos O. (2004). "Rescue of dystrophic muscle through U7 snRNA-mediated exon skipping." Science 306(5702): 1796-9.