



# FSH

# TOUR D'HORIZON

## des recherches soutenues par l'AFM-Téléthon

La dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale (FSH) donne encore du fil à retordre aux chercheurs. L'AFM-Téléthon ne relâche pas ses efforts pour soutenir sur plusieurs années des projets stratégiques d'envergure. L'objectif : aider à comprendre cette maladie complexe, pour faire aboutir des pistes thérapeutiques.

Françoise Dupuy-Mauray



### Museler DUX4 grâce aux ciseaux moléculaires Crispr-Cas9

Les ciseaux moléculaires Crispr-Cas9 sont composés d'un guide – Cas9 – qui indique aux ciseaux – Crispr – où couper sur l'ADN. Le projet stratégique porté par Yegor Vassetzky, de l'institut Gustave-Roussy, à Paris, les utilise pour développer deux approches thérapeutiques potentielles. Edoardo Malfatti, de l'équipe Translarna, dirigée par Frédéric Relaix, à Créteil, explore une troisième piste.

#### NORMALISER LA CHROMATINE

La première approche explorée par Yegor Vassetzky, exploite la capacité d'une protéine particulière à maintenir la chromatine<sup>1</sup> compactée.

Pour cela, il a conçu un ARN spécifique qui, grâce à Cas9, guide cette protéine vers la séquence des D4Z4. « Dans un premier temps, comme normalement elle peut s'accrocher n'importe où sur l'ADN, nous avons dû concevoir

une version raccourcie qui cible uniquement la partie de l'ADN souhaitée », explique le chercheur.

Ensuite, l'équipe a testé sa construction sur des lignées de myoblastes malades immortalisés, c'est-à-dire des cellules souches musculaires manipulées afin qu'elles se multiplient à l'identique à l'infini. « Nous avons ainsi vérifié que notre construction est bien spécifique : elle va bien là où on voulait. D'autre part, elle est fonctionnelle et évite la relaxation de l'ADN "malade" », complète Yegor Vassetzky. Il reste maintenant à étudier si la conformation normale de la chromatine ainsi rétablie empêche l'expression de DUX4 et d'autres gènes potentiellement impliqués dans la FSH.

#### UTILISER LE CHROMOSOME 10

Sa deuxième approche thérapeutique repose sur le fait qu'« il existe des séquences D4Z4 sur le chromosome 10 et que lorsqu'il y en a moins de onze, elles ne sont pas pathologiques, contrairement à ce qui se passe sur le chromosome 4 », explique Yegor Vassetzky. Grâce à Crispr-Cas9, le chercheur se propose donc de déplacer

la séquence raccourcie et pathologique du chromosome 4 sur le chromosome 10 et de la remplacer par la version longue de ce dernier. « Nos résultats sur des cellules malades sont positifs. Nous envisageons donc de l'évaluer chez des primates non humains, dans la mesure où ce sont les seuls animaux à présenter des D4Z4 », indique Yegor Vassetzky.

#### ÉLIMINER LES SÉQUENCES D4Z4

Edoardo Malfatti, va, quant à lui, aussi utiliser Crispr-Cas9, pour tenter d'éliminer les D4Z4, car les personnes qui en sont dépourvues ne développent pas la FSH.

### Détruire DUX4 ou piéger cette protéine grâce à un leurre

Le projet stratégique porté par Julie Dumonceaux, de l'University College London (UCL), en Grande-Bretagne, se concentre sur DUX4 et explore des moyens de l'empêcher de nuire.



© AFM-Téléthon/Laetitia Villelard

## REPÈRE

### FSH 1 et 2 : une même maladie, d'origines diverses

La FSH1 concerne 95 % des malades. Elle est due à une diminution du nombre de répétitions (compris entre 1 et 10) d'une petite séquence D4Z4 sur le chromosome 4. À cet endroit, l'ADN est moins compacté et moins méthylé, c'est-à-dire riche en une petite molécule appelée « groupe méthyle » qui est composé d'un atome de carbone et de 3 atomes d'hydrogène.

La FSH2 concerne 5 % des malades. Ils n'ont pas de diminution du nombre de D4Z4 sur le chromosome 4, mais l'ADN y est aussi moins compacté et moins méthylé. Parmi ces malades, 85 % ont des mutations sur le gène SMCHD1 situé sur le chromosome 18, tandis qu'un petit nombre ont des anomalies dans le gène DNMT3B, sur le chromosome 20. Un troisième gène, LRIF1, sur le chromosome 1, vient d'être identifié.

### UNE STRATÉGIE ANTISENS

La première option envisagée par Julie Dumonceaux est la destruction de l'ARN messager du gène qui code pour DUX4, grâce à une stratégie dite « antisens ». Elle repose sur des oligonucléotides antisens, de petites molécules synthétisées en laboratoire qui, en se liant à l'ARN messager, l'empêchent d'être traduit en protéine. Les oligonucléotides antisens sont injectés tels quels ou à l'aide d'un vecteur AAV (*adeno-associated virus*) chez des souris dont l'expression de DUX4 peut être déclenchée et modulée à la demande.

### PIÉGER DUX4

La deuxième option consiste à piéger la protéine DUX4. Il a été montré qu'elle est produite par un seul noyau d'un myotube, puis qu'une fois libérée dans le cytoplasme elle se propage aux autres noyaux. Or DUX4 est un facteur de transcription, c'est-à-dire qu'elle se fixe sur l'ADN pour favoriser l'expression de gènes. C'est cette propriété que l'équipe de l'UCL a eu l'idée d'exploiter. Elle place sur son chemin, dans le cytoplasme ▶



**Sylvie Genet,**  
membre du Groupe d'intérêt FSH,  
représentante de l'AFM-Téléthon  
dans les associations internationales



L'AFM-Téléthon est membre de FSHD Europe<sup>2</sup> depuis trois ans et maintenant de son conseil d'administration. Sous peu, nous allons consulter les malades européens afin de déterminer ce qu'ils attendent des essais cliniques, ce qui les motiverait ou les démotiverait pour y participer. Le but est d'avoir des éléments chiffrés et des conseils à présenter aux laboratoires. Par ailleurs, nous souhaitons organiser une réunion de chercheurs et de cliniciens européens pour montrer, lors du congrès de la FSHD Society de juin 2021, qu'en Europe aussi nous sommes prêts pour les essais cliniques. De plus, il est important que, dans cette perspective, l'Agence européenne du médicament (l'EMA) ait au moins un interlocuteur européen. Au niveau mondial, en 2018, a été créé un club, la World FSHD Alliance, qui regroupe des associations du monde entier et qui commence à prendre de l'ampleur. Nous nous réunissons en visio tous les deux ou trois mois pour partager nos expériences sur un point particulier, par exemple les observatoires de malades, l'exercice physique, etc. Dans le cadre de l'Alliance, à notre initiative avec la FSHD Europe, nous avons lancé une lettre d'information mondiale bimestrielle dans laquelle les associations témoignent de leurs réussites et de leurs difficultés. Plus largement, toutes ces actions internationales doivent permettre à l'Europe de faire sa place sur la scène de la recherche internationale, où l'association américaine, la FSHD Society, est très présente.



1. Chromatine : sorte de pelote d'ADN enroulé très serré  
2. FSHD Europe rassemble les associations de malades de six pays : Allemagne, Espagne, France, Italie, Pays-Bas et Royaume-Uni



- ▶ et/ou le noyau du myotube, une séquence d'ADN qui fait croire à DUX4 qu'elle est arrivée à bon port et qu'elle doit se fixer sur l'ADN cellulaire pour réguler des gènes. Ainsi leurrée, la protéine se retrouve piégée. Comme pour la stratégie antisens, Julie Dumonceaux évalue deux méthodes pour apporter le leurre chez le même modèle murin : l'injection intramusculaire et intraveineuse d'une séquence d'ADN nue, ou d'une séquence d'ADN véhiculée dans un vecteur viral de type AAV.



© AFM-Téléthon/Thomas Lang

**LA MYOSTATINE : UN BIOMARQUEUR ?**

Enfin, l'équipe s'intéresse à la myostatine, une protéine qui limite naturellement la croissance des muscles. Dans les souris dont l'expression de DUX4 peut être modulée, la myostatine diminue lorsque DUX4 s'exprime. Il s'agit maintenant de vérifier si elle remonte sous l'influence des traitements anti-DUX4. Si c'est le cas, elle pourrait être utilisée dans les essais cliniques en tant que biomarqueur de l'évolution de la FSH.

**L'étude de la méthylation**

**Le projet de l'équipe de Frédérique Magdinier, du Marseille Medical Genetics, vise à préciser le rôle d'une méthylation diminuée dans la FSH.**

Très schématiquement, pour rester bien compacté, l'ADN doit être « méthylé », c'est-à-dire riche en une petite molécule appelée « groupe méthyle ». Or, chez tous les malades, avec ou sans contraction du nombre de D4Z4 sur le chromosome 4, l'ADN présente une hypométhylation de cette zone. Cela a conduit à considérer qu'elle était une caractéristique de la FSH puisqu'elle entraînait la relaxation de l'ADN et l'expression de DUX4. Mais l'équipe de Frédérique Magdinier a fait plusieurs observations qui relativisent l'hypométhylation comme spécificité de la maladie<sup>3</sup>. Des analyses fines de la méthylation montrent que deux autres maladies rares liées au gène

SMCHD1<sup>4</sup> et à DNMT3B<sup>5</sup> s'accompagnent aussi d'une hypométhylation au niveau des répétitions D4Z4. Pour autant, les malades n'ont pas d'atteintes musculaires typiques de la FSH, alors que DUX4 s'exprime également chez ceux atteints de celle associée à SMCHD1. Et inversement, les patients FSH de type 2 qui ont des mutations sur SMCHD1 ou DNMT3B et une hypométhylation n'ont aucun symptôme correspondant à ces syndromes. Par ailleurs, les chercheurs marseillais ont observé une conformation de la chromatine particulière qui serait propre à la FSH et vont investiguer l'expression des gènes de cette région. Selon eux, il faut comprendre plus finement la méthylation et la façon dont la région des D4Z4 est régulée, pour comprendre le processus conduisant à la maladie et traduire cela en thérapie. Ces études permettent également de continuer à améliorer le diagnostic dans un certain nombre de cas, dont la FSH de type 2.

**En quête d'outils d'évaluation pour les essais cliniques**

**L'étude internationale ReSOLVE s'attache à valider une échelle d'évaluation fonctionnelle spécifique à la FSH (FSHD-COM) et un examen musculaire non invasif (myographie d'impédance électrique).**

L'objectif de l'étude ReSOLVE est de disposer d'outils fiables pour évaluer les traitements qui feront l'objet d'essais cliniques. Parmi les centres impliqués, le CHU de Nice va évaluer la fiabilité du score de l'échelle fonctionnelle. Ce projet, appelé ReSOLVE-France et soutenu par l'AFM-Téléthon, est coordonné par Sabrina Sacconi. Lancé en septembre 2019, il inclut 30 malades âgés de 18 à 75 ans, qui seront suivis pendant dix-huit mois. ●

**— LOSMAPIMOD : PREMIERS RÉSULTATS DES ESSAIS —**

Le losmapimod, développé par la société Fulcrum Therapeutics, inhibe une enzyme, la MAP-kinase p38, ce qui permettrait de réduire l'expression de DUX4. Il fait l'objet d'un essai international de phase II, appelé ReDUX4, auquel participe, en France, le CHU de Nice. Il est évalué par rapport à un placebo pendant six mois chez 80 malades adultes. Des résultats intermédiaires publiés en août indiquent qu'après seize semaines DUX4 n'a pas statistiquement diminué chez 29 malades traités. Toutefois, le losmapimod serait plus efficace que le placebo chez trois d'entre eux, dont l'activité de DUX4 était la plus élevée à l'origine. D'autres résultats sont attendus d'ici à avril 2021. Enfin, si ces participants le souhaitent, à l'issue de cette phase II, ils pourront intégrer l'extension, qui prévoit de les traiter et de les suivre pendant cinq ans.

3. « Does DNA Methylation Matter in FSHD? », *Genes*, mars 2020 ; 11 (3) : 258

4. Syndrome de microphthalmie et d'arhinie de Bosma (BAMS)

5. Syndrome d'immunodéficience et d'instabilités centromériques avec anomalies faciales (ICF)