

L'inhibition d'expression de DUX4 comme stratégie thérapeutique dans la dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale

Jean-Thomas Vilquin

Résumé

L'utilisation d'oligonucléotides antisens dirigés contre la séquence de polyadénylation de *DUX4* permet d'inhiber son expression et de réduire l'impact sur les cibles moléculaires de la protéine *DUX4*, *in vitro* et *in vivo*.

La dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale (DMFSH) est une maladie génétique rare, autosomique dominante, caractérisée par l'atteinte sélective de certains groupes musculaires, et pour laquelle il n'existe pas actuellement de solution thérapeutique. Deux formes de la maladie, DMFSH1 et DMFSH2, sont cliniquement superposables mais se distinguent par leur défaut génétique. En position subtélomérique du chromosome 4q35 sont situées des séquences répétées D4Z4, contenant chacune un gène *DUX4*. La réduction du nombre de répétitions en-dessous de 11 dans la DMFSH1, ou des mutations du gène *SMCHD1* entraînant une relaxation de la chromatine dans cette région dans la DMFSH2, entraînent le démasquage du site de polyadénylation du *DUX4* terminal et sa production aberrante. La protéine *DUX4*, en agissant sur de nombreuses cibles moléculaires, est toxique pour les cellules musculaires qu'elle détruit. *DUX4* est donc une cible de choix pour les différentes approches thérapeutiques de la DMFSH.

Dans cette étude [1], l'analyse RNASeq de cellules de patients et de contrôles familiaux a permis l'identification de cibles transcriptionnelles directes et indirectes de *DUX4*, servant ultérieurement de biomarqueurs de l'activité de *DUX4*, car la mesure directe des mRNA de *DUX4* et de la protéine est plus délicate et aléatoire du fait de la présence de nombreux homologues. Plusieurs oligonucléotides antisens basés sur la chimie des phosphorodiamidates de morpholinos (PMOs) ont été testés pour leur efficacité d'inhibition *in vitro*, en cultures de myotubes. Les meilleurs résultats ont été obtenus à l'aide du PMO FM10 ciblant la séquence de polyadénylation de *DUX4*. L'expression des cibles ZSCAN4, TRIM43, MBD3L2 a été diminuée, sans affecter l'expression du marqueur de différenciation musculaire MHC1. En parallèle, le nombre de cellules présentant une expression nucléaire de *DUX4* a été fortement diminué. L'effet est dose-dépendant mais le PMO ne présente pas de toxicité cellulaire et aucun

ciblage aberrant n'a été détecté. Finalement, une normalisation de l'expression des gènes dérégulés a été obtenue par le traitement au PMO FM10. Pour évaluer l'efficacité de l'approche *in vivo*, les auteurs ont utilisé un modèle de xéno greffe de muscle de patient chez une souris immunodéficente. Les PMOs ont été administrés par électroporation dans ces fragments musculaires reconstitués, et ce traitement a réduit l'expression de *DUX4* et des gènes cibles transcriptionnels.

Discussion

Les pathologies autosomiques dominantes ne sont pas facilement accessibles aux approches traditionnelles de thérapie génique (complémentation de gène) ou de thérapie cellulaire. L'expression de la mutation se traduit souvent par un gain de fonction toxique, phénomène qu'il est primordial de diminuer ou d'éteindre. L'utilisation d'oligonucléotides visant des transcrits est donc prometteuse, du fait de la spécificité du ciblage, et de la versatilité actuelle d'utilisation de ces molécules.

L'étiologie de la DMFSH a longtemps été mystérieuse, mais la confirmation récente de l'implication de *DUX4* le désigne donc comme une cible de choix. Une équipe a décrit une approche très semblable à celle-ci *in vitro*, aboutissant au choix de séquences similaires [2], et une autre encore a démontré *in vitro* des bénéfices partiels liés à l'utilisation de certains oligonucléotides [3]. Ces résultats soulignent la pertinence de cette stratégie.

Ici, les auteurs ont également proposé une première validation de la stratégie *in vivo*, en utilisant un modèle original et élégant de xéno greffe. La pertinence des modèles murins de la DMFSH obtenus par modification génétique est en effet discutable, le système d'expression de *DUX4* étant artificiel chez la Souris. Celle-ci ne reproduit la physiopathologie et la présentation clinique de la maladie qu'imparfaitement. Le transfert d'une petite biopsie musculaire d'un patient dans une souris immunodéficente permet par contre de former localement, en quelques semaines à quelques mois, une structure musculaire humaine régénérée, vascularisée, reflétant la pathologie originelle, présentant des propriétés mécaniques et électrophysiologiques suffisantes pour explorer des mécanismes physiopathologiques

Jean-Thomas Vilquin
Centre de Recherche
en Myologie, Sorbonne
Universités,
UPMC-Inserm UMRS
974,
Institut de Myologie,
Groupe hospitalier
Pitié-Salpêtrière, Paris,
France
jt.vilquin@
institut-myologie.org

ou tester des solutions thérapeutiques. Pour obtenir un effet localisé et optimal, l'administration des PMOs a été facilitée par l'électroporation du muscle. Naturellement la toxicité éventuelle de l'approche devra être éprouvée au niveau des organismes entiers. Cependant, l'élargissement de l'utilisation des oligonucléotides antisens à de multiples indications thérapeutiques, et les connaissances acquises dans d'autres situations (on peut songer aux développements récents des oligonucléotides antisens pour le saut d'exon dans la dystrophie musculaire de

Duchenne) permettent d'espérer une accélération des avancées thérapeutiques, par une fertilisation croisée de ces expériences.

Targeting DUX4 expression as a therapeutic strategy for Facioscapulohumeral muscular dystrophy

LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Chen JC, King OD, Zhang Y, *et al.* Morpholino-mediated knockdown of DUX4 toward facioscapulohumeral muscular dystrophy therapeutics. *Mol Ther* 2016 ; 24 : 1405-11.
2. Marsollier AC, Ciszewski L, Mariot V, *et al.* Antisense targeting of 3' end elements involved in DUX4 mRNA processing is an efficient therapeutic strategy for facioscapulohumeral dystrophy: a new gene-silencing approach. *Hum Mol Genet* 2016 ; 25 : 1468-78.
3. Anseau E, Vanderplanck C, Wauters A, *et al.* Antisense oligonucleotides used to target the DUX4 mRNA as therapeutic approaches in facio-scapulo-humeral muscular dystrophy (FSHD). *Genes (Basel)* 2017 ; 8 : pii : E93.



Bulletin d'adhésion 2017

NOM/Prénom :

Clinique Fondamentale Autre fonction

Adresse :

Code Postal : Ville :

E-mail :

ADHÉSION : Je désire adhérer en qualité de (rayer la mention inutile)

Membre titulaire : 40 €

Membre étudiant : gratuit (fournir un justificatif de votre qualité d'étudiant non salarié)

RÈGLEMENT

Je joins un chèque libellé à l'ordre de la Société Française de Myologie d'un montant de 40 €

J'effectue un virement bancaire de 40 € (RIB de la SFM à demander à Rémi Mounier)

A RETOURNER A :

remi.mounier@univ-lyon1.fr

ou

Rémi MOUNIER – Trésorier de la SFM

CR HDR CNRS – UMR CNRS 5534

Centre de Génétique et de Physiologie Moléculaire et Cellulaire

Université Claude Bernard Lyon 1

Bâtiment Gregor Mendel – 2^è étage

16 Rue Raphaël Dubois

F-69622 Villeurbanne Cedex

N.B. : Bulletin à photocopier et à diffuser à toute personne intéressée