



Il est également bien établi que l' α -DG possède une grande affinité pour les laminines et autres protéines contenant un domaine LG (laminine globulaire) et diverses protéoglycanes. Il représente ainsi un module autonome qui peut être libéré par la protéolyse dirigée par les furines dans l'espace extracellulaire et/ou les fluides corporels. Le domaine N-terminal Ig a été proposé comme ayant des fonctions supplémentaires dans le processus de la glycosylation impliqué dans la voie de maturation du peptide précurseur des dystroglycanes comme le souligne une récente revue sur le sujet [4]. On peut y ajouter une potentielle fonction dans la signalisation trans-synaptique spécifique d'un sous-type inter-neuronal, révélant une corrélation entre la diversité moléculaire pré-synaptique et post-synaptique. Pour toutes ces raisons, il paraît important de bien établir le degré de flexibilité qui existe dans cette portion N-terminale de l' α -DG pour mieux en comprendre la structure nécessaire à une fonctionnalité totale.

Structural flexibility of the human α -dystroglycan

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Covaceuszach S, Bozzi M, Bigotti MG, et al. Structural flexibility of human α -dystroglycan. *FEBS Open Bio* 2017 ; 7 : 1064-77.
2. Kanagawa M, Saito F, Kunz S, et al. Molecular recognition by LARGE is essential for expression of functional dystroglycan. *Cell* 2004 ; 117 : 953-64.
3. Sbardella D, Sciandra F, Gioia M, et al. α -dystroglycan is a potential target of matrix metalloproteinase MMP-2. *Matrix Biol* 2015 ; 41 : 2-7.
4. Brancaccio A, Adams JC. An evaluation of the evolution of the gene structure of dystroglycan. *BMC Res Notes* 2017 ; 10 : 19.

Myopathie de Duchenne Bénéfices de la thérapie génique par voie systémique chez le chien

Jean-Thomas Vilquin

Résumé

L'injection chez le chien GRMD, un des modèles animaux de la myopathie de Duchenne, d'un vecteur viral contenant un gène codant une microdystrophine stabilise ou améliore durablement l'état clinique des animaux. L'injection est réalisée par voie locale ou systémique, sans immunosuppression, et les effets, mesurés par de nombreuses techniques complémentaires, persistent jusqu'à deux ans au moins [1].

La myopathie de Duchenne est provoquée par des mutations du gène de la dystrophine causant l'absence de son expression et/ou de sa fonctionnalité. Un microgène canin optimisé, appelé microdystrophine (cMD1), a été développé pour permettre l'emballage par un vecteur adéno-associé (rAAV2/8), particulièrement efficace pour le ciblage

musculaire squelettique et cardiaque. Deux voies d'injections ont été testées successivement chez le chien GRMD, en absence de toute immunosuppression. La voie locorégionale par perfusion de membre sous légère surpression, et la voie systémique intraveineuse ont toutes deux permis une distribution efficace des vecteurs. Les injections ont été bien tolérées à toutes doses (1×10^{13} , 2×10^{13} et 10^{14} génomes viraux par kg), n'entraînant pas de toxicité hématologique, biologique, rénale, hépatique. L'expression de dystrophine tronquée a été mise en évidence par des techniques complémentaires (immunohistochimie, *Western-blot*, Q-PCR). Ces traitements ont permis la réduction de la régénération musculaire et des dépôts de collagène (fibrose), une réduction oedémateuse, de l'inflammation et de la nécrose, une stabilisation ou une amélioration de la force musculaire, l'ensemble suggérant une réduction de la pathologie dystrophique chez les chiens. Des variations ont été rapportées en fonction des voies, des doses, et des territoires analysés. Par voie locorégionale, les effets sont particulièrement marqués au territoire d'injection, mais sont également observés dans des zones en aval. L'administration systémique, plus globale, améliore à long terme le phénotype clinique : les chiens restent ambulants, ont un meilleur score clinique, et survivent plus longtemps par rapport aux animaux non traités. De manière très intéressante, une réponse immunitaire humorale est générée contre le produit de transgène, mais de manière transitoire et non délétère, et disparaît au cours du temps. Une réponse humorale forte (anticorps neutralisants) est développée contre les capsides des vecteurs. Aucune réponse à médiation cellulaire n'a été observée. Ces résultats vont dans le sens d'une stabilisation ou d'une amélioration dose-dépendante du statut clinique et ouvrent la voie à des essais cliniques chez l'Homme.

Commentaire

Ces travaux représentent une synthèse, un aboutissement d'années de recherche consacrées à comprendre puis à circonvenir les nombreuses complexités liées à la myopathie de Duchenne et à son approche thérapeutique. La conception d'un transgène canin « microdystrophine » optimisé et finement régulé est indissociable des études structurales et fonctionnelles de cette protéine et de son gène gigantesques, et de la biologie moléculaire des contrôles d'expression. Mais la définition d'un petit transgène résulte aussi de la définition rigoureuse des meilleurs vecteurs et de leur biologie. L'efficacité du concept de supplémentation génique a dû être prouvée successivement *in vitro*, puis chez le petit animal par différentes voies, puis finalement chez

le gros animal, qui reproduit plus fidèlement la physiopathologie et la sensibilité immunologique humaines, ce qui nécessite une connaissance approfondie des subtilités de ces modèles. L'efficacité des vecteurs est particulièrement remarquable, et l'absence de réaction immunologique peut lever des obstacles thérapeutiques, éthiques, et battre en brèche certains dogmes.

Plusieurs publications confirment et renforcent l'intérêt thérapeutique de ces approches d'injection systémique de vecteurs AAV. Ainsi, l'expression de dystrophine peut être promue par la technique du saut d'exon en utilisant un transgène spécifique véhiculé par voie locorégionale au sein d'un vecteur AAV chez le chien GRMD [1]. De même, en utilisant un transgène codant cette fois-ci la myotubularine, il est possible de corriger la totalité de la musculature et d'améliorer durablement la survie, les scores neurologiques, la force, la respiration dans un modèle canin déjà symptomatique de myopathie myotubulaire liée au chromosome X (XLMT1), sans déclencher de réaction immunologique délétère [2].

Des questions peuvent certes encore se poser : l'effet s'atténue-t-il au très long cours, notamment du fait de la croissance corporelle, de la dilution des génomes viraux, de l'inactivation des promoteurs ?

La réponse immunologique anti-virale persiste-t-elle, décline-t-elle, peut-elle être contrôlée ? Est-il possible d'envisager une ré-administration, ou le traitement de sujets sensibilisés aux AAV ? Il est cependant permis d'espérer qu'une étape importante est franchie vers la définition de nouvelles stratégies d'essais cliniques.

Duchenne muscular dystrophy: efficacy of systemic AAV-mediated gene transfer in a dog model

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Le Guiner C, Montus M, Servais L, et al. Forelimb treatment in a large cohort of dystrophic dogs supports delivery of a recombinant AAV for exon skipping in Duchenne patients. *Mol Ther* 2014 ; 22 : 1923-35.
2. Mack DL, Poulard K, Goddard MA, et al. Systemic AAV8-mediated gene therapy drives whole-body correction of myotubular myopathy in dogs. *Mol Ther* 2017 ; 25 : 839-54.



NEGATIVE RESULTS

SCIENTIFIC JOURNAL

Scientific findings are like icebergs,
it floats with around 10% of published
discovery above 90% of negative results.

To shape a better science, we need to
have access to the whole 100% of results.



www.negative-results.org