

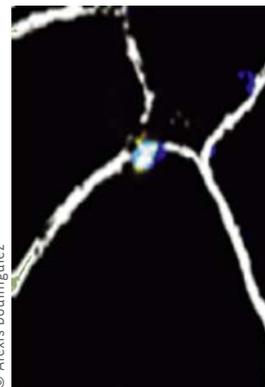
> La dystrophie musculaire oculopharyngée est une des maladies en rapport avec des expansions pathologiques de triplets nucléotidiques. Sa physiopathologie est encore imparfaitement connue même si la présence d'agrégats au niveau des noyaux de la fibre musculaire semble jouer un rôle déterminant. Les travaux fondamentaux présentés ici permettent de mieux comprendre leur composition et leur rôle délétère. Autant d'éléments qui pourraient déboucher sur des voies thérapeutiques nouvelles. <

## La dystrophie musculaire oculopharyngée

La dystrophie musculaire oculopharyngée (DMOP) est une maladie génétique rare caractérisée par une expansion de triplets nucléotidiques. En France, sa prévalence est estimée à 1/100 000 alors qu'elle est beaucoup plus élevée ailleurs du fait d'effets fondateurs comme dans la population du Québec (1/1 000) et dans la communauté juive-ouzbèke originaire de Boukhara et ayant migré en Israël (1/600). La DMOP est due à une expansion excessive de 11 à 18 triplets GCN (codant des alanines) située dans le premier exon du gène *PABPN1* codant la *poly(A)-binding protein nuclear 1* (Figure 1A) [1]. *PABPN1* est un facteur de polyadénylation ubiquitaire [2]. L'expansion anormale d'alanines dans le gène *PABPN1* conduit à l'apparition d'agrégats protéiques tubulofilamenteux dans les noyaux des muscles des patients atteints de DMOP [3,4] (Figure 1B). Cliniquement, les patients concernés par la DMOP présentent une faiblesse des muscles releveurs de la paupière supérieure conduisant à une chute des paupières (ptosis), un déficit des muscles pharyngés conduisant à des troubles de la déglutition (dysphagie), et une faiblesse progressive des muscles des membres proximaux [1]. La DMOP est une maladie autosomique dominante et la plupart des patients sont hétérozygotes. Les patients homozygotes sont eux plus sévèrement touchés et les patients hétérozygotes pour un allèle de grande taille (plus de 13 GCN) présentent généralement des symptômes plus précoces et plus sévères [5].

# Les agrégats nucléaires dans la dystrophie musculaire oculopharyngée

Alexis Boulinguez, Fany Roth,  
Hadidja Rose Mouigni, Gillian Butler-Browne,  
Vincent Mouly, Capucine Trollet



Sorbonne Université-Inserm,  
Centre de Recherche en Myologie,  
Institut de Myologie,  
Paris, France.  
[boulinguez.alexis@gmail.com](mailto:boulinguez.alexis@gmail.com)

De nombreuses études ont émis l'hypothèse d'un rôle délétère des agrégats nucléaires qui seraient responsables de plusieurs types de perturbations tels que le dysfonctionnement du système ubiquitine-protéasome [6,7], l'altération de l'épissage des ARN messagers (ARNm) [8], l'apoptose [9] et le stress du réticulum endoplasmique [10]. De plus, il a été démontré que la réduction des agrégats nucléaires améliorerait le phénotype dans les modèles cellulaires et animaux de la DMOP [6,9-14]. Une approche thérapeutique prometteuse ciblant les agrégats via l'autophagie a déjà fait l'objet d'un essai clinique de phase II à base d'injections intraveineuses de tréhalose [15]. Malgré tous ces éléments encourageants, la contribution exacte de ces agrégats nucléaires à la maladie humaine reste peu claire. En effet, une étude récente chez la drosophile a mis en évidence une absence de corrélation entre le phénotype musculaire et l'agrégation de *PABPN1* [16]. De plus, certaines caractéristiques pathologiques observées dans la DMOP telles que l'altération de la fonction mitochondriale sont à priori à ce jour sans relation directe avec les agrégats de *PABPN1* [17].

## Caractérisation des agrégats nucléaires dans la DMOP

Dans ce contexte, et afin de mieux caractériser les agrégats intranucléaires de *PABPN1* dans la DMOP, notre équipe a récemment mené une vaste étude [18] permettant la constitution et l'analyse d'une grande cohorte de 90 biopsies musculaires issues de 73 patients DMOP de



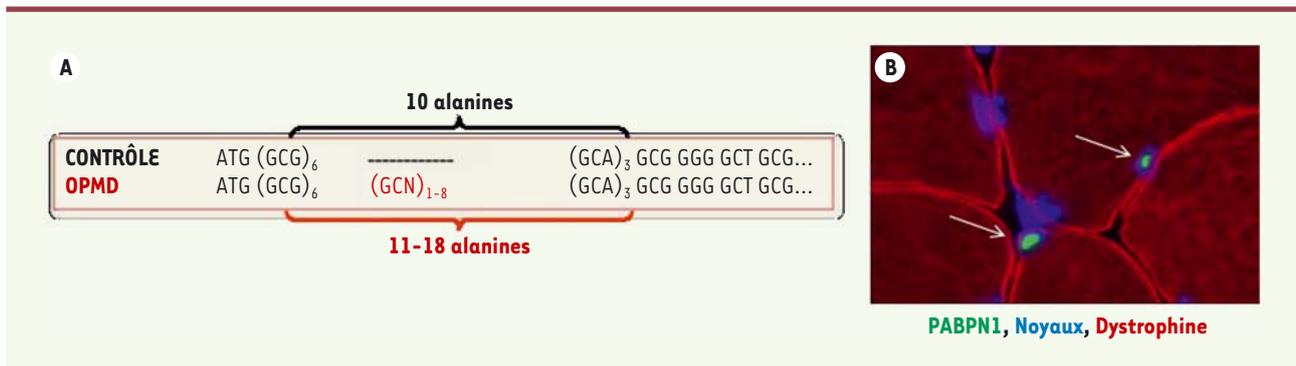


Figure 1. A. Expansion d'alanines dans le gène PABPN1. B. Agrégats nucléaires dans les muscles de patients DMOP.

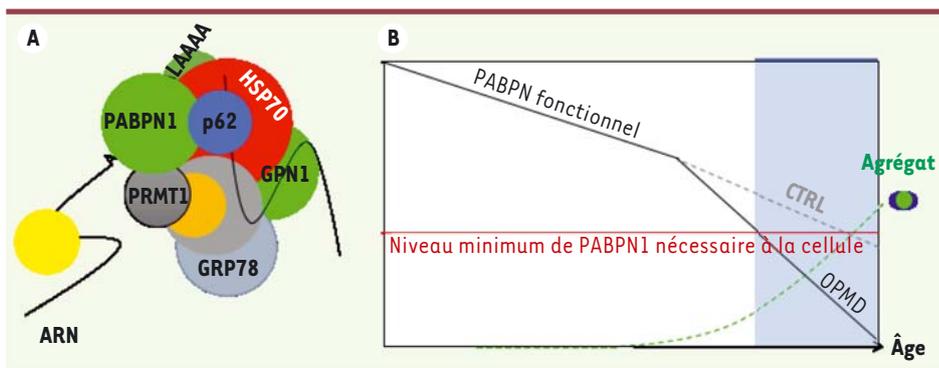


Figure 2. A. Agrégats de PABPN1 : un complexe ribonucléoprotéique. B. rôle toxique progressif des agrégats nucléaires conduisant à une perte de fonction.

génotypes et d'âges différents, et ce grâce à une collaboration internationale. Nous avons montré que l'âge et le génotype influencent les agrégats protéiques : le pourcentage de noyaux des fibres musculaires (ou *myonuclei*) contenant des agrégats PABPN1 augmente avec l'âge ; la protéine chaperonne HSP70 colocalise plus fréquemment avec les agrégats PABPN1 ayant une plus grande expansion de polyalanines. Nous savons depuis plusieurs années que les agrégats présents dans la DMOP sont de véritables complexes ribonucléoprotéiques contenant entre autres les protéines PRMT1 et HSP70 [19], de l'ubiquitine [20], et des ARNm [21]. Dans cette nouvelle étude, nous avons identifié des nouveaux composants des agrégats PABPN1 à savoir : la chaperonne principale du réticulum endoplasmique GRP78/BiP, la protéine ribosomale RPL24, et la protéine de l'autophagie p62 (ou SQSTM1, séquestome 1) (Figure 2A). Nous avons également observé que les *myonuclei* contenant des agrégats sont plus gros que ceux sans agrégats. Une proportion similaire d'agrégats est observée dans les différents muscles à l'exception du muscle pharyngé qui présente moins d'agrégats. Nous faisons l'hypothèse que cette faible proportion est due à la perte des fibres musculaires dans ces muscles pharyngés : le niveau d'expression de la protéine PABPN1 dans ces muscles est particulièrement faible par rapport aux autres muscles et autres tissus. Ce niveau faible combiné à l'accumulation d'agrégats qui séquestrent et donc déplètent le PABPN1 fonctionnel à l'intérieur de la fibre musculaire entraînent une dégénérescence de cette dernière. Pour confirmer cette hypothèse et étudier le statut des agrégats de PABPN1 dans une fibre en régénération, nous avons généré un modèle de xénotransfert de

muscle humain permettant de greffer des échantillons de biopsies de muscles humains DMOP dans le membre postérieur d'une souris immunodéficente. Les fibres musculaires DMOP humaines commencent par dégénérer puis, quelques mois après la xénotransfert, régénèrent. Les agrégats PABPN1 s'y reforment rapidement mais à un niveau moins élevé par rapport à la biopsie musculaire initiale. L'ensemble de nos données obtenues sur des biopsies musculaires provenant de patients atteints de DMOP (augmentation avec l'âge, séquestration de protéines essentielles) va dans le sens du modèle proposé par Apponi *et al.* [22] dans lequel les agrégats auraient un rôle toxique (en partie par séquestration) conduisant à une perte progressive de fonction (Figure 2B). Ce modèle expliquerait pourquoi la DMOP est une dystrophie musculaire d'apparition tardive affectant un ensemble bien spécifique de muscles qui sont caractérisés par leurs faibles niveaux d'expression de PABPN1.

### Le stress du réticulum endoplasmique : une piste thérapeutique ?

Plus de quarante ans après la première description des agrégats nucléaires [4], vingt ans après l'identification de la cause génétique [1], et malgré l'accumulation des connaissances, il n'existe toujours pas, à ce jour, de

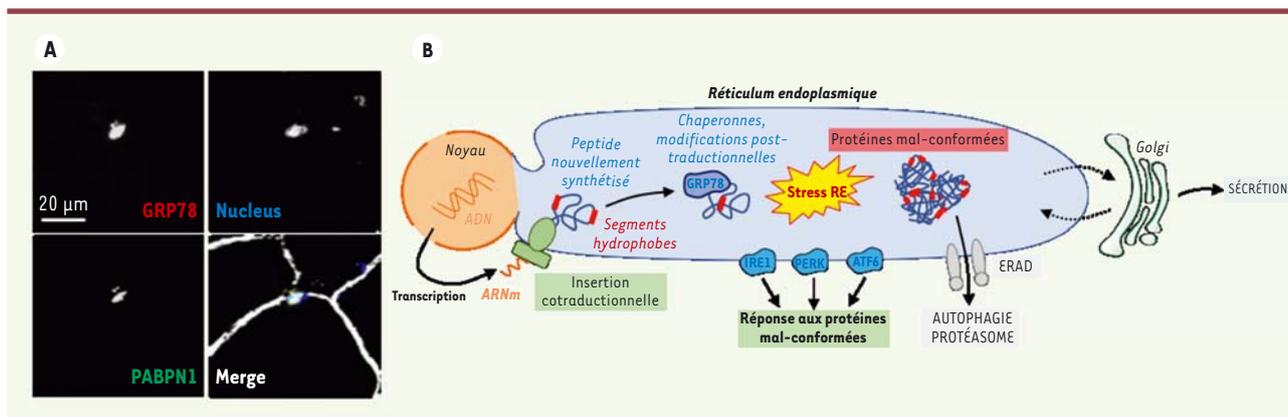


Figure 3. A. Séquestration de la chaperonne GRP78/BIP dans un agrégat nucléaire de PABPN1. B. Schéma du stress du réticulum endoplasmique.

traitement curatif pour la DMOP. Plusieurs approches cellulaires [23], géniques [24-26] et pharmacologiques [10,27] sont en cours d'étude à des stades pré-clinique et clinique. Aujourd'hui encore, cependant, les seules thérapies proposées aux patients sont des traitements symptomatiques destinés à améliorer la déglutition telle que la chirurgie par myotomie ou la dilatation cricopharyngée [28]. Ces interventions ont toutefois une efficacité limitée dans le temps. L'identification de nouvelles cibles thérapeutiques porteuses d'avenir est donc indispensable. Comme la protéine chaperonne Hsp70, la protéine GRP78/BIP est séquestrée dans les agrégats nucléaires de PABPN1 [18] (Figure 3A). GRP78 est la chaperonne principale du réticulum endoplasmique (RE) où elle se lie aux peptides nouvellement synthétisés et transloqués dans le RE pour les stabiliser et permettre l'acquisition de leur conformation [29]. Dans certaines conditions pathologiques telles que le cancer, GRP78 peut se délocaliser du RE et être retrouvé dans d'autres compartiments cellulaires [30]. On ne sait pas si la délocalisation de GRP78 en dehors du RE pourrait minorer la quantité de GRP78 présente dans le RE ou affecter la capacité de conformation du RE.

De manière intéressante, GRP78 est un acteur clé de la réponse aux protéines mal-conformées (ou UPR pour *Unfolded Protein Response*) (Figure 3B) [31]. En effet, à l'homéostasie, une proportion du GRP78 est fixée sur les trois protéines transmembranaires du réticulum : IRE1, PERK et ATF6. Divers stress cellulaires (redox, calcique) ou conditions physiopathologiques (vieillesse, maladie) peuvent rompre l'homéostasie protéique (protéostase) et conduire à l'accumulation de protéines mal-conformées dans la lumière du RE. En réaction, la fraction de GRP78 fixée aux trois senseurs transmembranaires du RE se détache pour augmenter la capacité de conformation de ce dernier. Ceci entraîne l'activation des trois voies de signalisation qui composent l'UPR ; les protéines IRE1, PERK et ATF6 vont conduire à diverses adaptations visant à rétablir la protéostase du RE : arrêt de la traduction protéique, synthèse de chaperonnes, dégradation des protéines mal-conformées etc. La délocalisation de la protéine GRP78 en dehors du RE pourrait ainsi impacter, chez les patients DMOP, la capacité du RE à répondre à un stress du RE. Nous avons montré l'existence d'un stress réticulaire chronique dans les muscles de la souris A17, modèle murin de la DMOP [10]. De plus, un traitement au guanabenz acétate, via l'amélioration

de la réponse UPR [32], réduit les agrégats nucléaires et améliore le phénotype et la fonction musculaire des souris A17 [10]. À ce jour, l'existence d'un stress réticulaire ou la pertinence d'une telle stratégie thérapeutique chez l'homme reste à démontrer. Le RE est le siège de la conformation des protéines résidentes du RE et des protéines de la voie sécrétoire. À ce titre, le RE participe à la protéostase cellulaire globale. Celle-ci implique de nombreux acteurs (protéines chaperonnes, modifications post-traductionnelles) et systèmes de régulation (systèmes autophagie-lysosome et ubiquitine-protéasome) qui sont décrits comme étant dérégulés dans les muscles des patients DMOP [6,7,33]. Ainsi, le développement et l'utilisation de drogues pouvant pallier simultanément les différentes défaillances de la protéostase pourraient s'avérer être une stratégie thérapeutique de premier plan dans la DMOP. ♦

## SUMMARY

### Nuclear aggregates in oculopharyngeal muscular dystrophy

Oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD) is one of the diseases related to pathological expansions of trinucleotides. Its pathogenesis remains unclear although the presence of aggregates within the nuclei of the muscle fiber seems to play an important role. The basic research studies presented here help understand their composition and their deleterious role. These elements may result in new therapeutic avenues. ♦

## REMERCIEMENTS

Le premier auteur de l'article, Alexis Boulinguiez, tient à remercier chaleureusement le jury du congrès Myology 2022 organisé par l'AFM-Téléthon à Nice, pour l'attribution du Prix « Jeune Chercheur ». Ses remerciements vont aussi à l'AFM-Téléthon, à l'Inserm, à Sorbonne Université et à l'Institut de Myologie qui soutiennent ce projet.

## LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

## RÉFÉRENCES

1. Brais B, Bouchard JP, Xie YG, et al. Short GCG expansions in the PABP2 gene cause oculopharyngeal muscular dystrophy. *Nat Genet* 1998 ; 18 : 164-167.
2. Banerjee A, Apponi LH, Pavlath GK, et al. PABPN1: Molecular function and muscle disease. *FEBS J* 2013 ; 280 : 4230-4250.
3. Gidaro T, Negroni E, Perié S, et al. Atrophy, fibrosis, and increased PAX7-positive cells in pharyngeal muscles of oculopharyngeal muscular dystrophy patients. *J Neuropathol Exp Neurol* 2013 ; 72 : 234-243.
4. Tomé FM, Fardeau M. Nuclear inclusions in oculopharyngeal dystrophy. *Acta Neuropathol* 1980 ; 49 : 85-87.
5. Richard P, Trollet C, Stojkovic T, et al. Correlation between PABPN1 genotype and disease severity in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Neurology* 2017 ; 88 : 359-365.
6. Abu-Baker A, Messaëd C, Laganier J, et al. Involvement of the ubiquitin-proteasome pathway and molecular chaperones in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 2003 ; 12 : 2609-2623.
7. Anvar SY, Hoen PA 't, Venema A, et al. Dereglulation of the ubiquitin-proteasome system is the predominant molecular pathology in OPMD animal models and patients. *Skelet Muscle* 2011 ; 1 : 15.
8. Chartier A, Klein P, Pierson S, et al. Mitochondrial Dysfunction Reveals the Role of mRNA Poly(A) Tail Regulation in Oculopharyngeal Muscular Dystrophy Pathogenesis. *PLoS Genet* 2015 ; 11.
9. Marie-Josée Sasseville A, Caron AW, Bourget L, et al. The dynamism of PABPN1 nuclear inclusions during the cell cycle. *Neurobiol Dis* 2006 ; 23 : 621-629.
10. Malerba A, Roth F, Harish P, et al. Pharmacological modulation of the ER stress response ameliorates oculopharyngeal muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 2019 ; 10 : 1694-1708.
11. Abu-Baker A, Laganier S, Fan X, et al. Cytoplasmic targeting of mutant poly(A)-binding protein nuclear 1 suppresses protein aggregation and toxicity in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Traffic* 2005 ; 6 : 766-779.
12. Bao YP, Sarkar S, Uyama E, et al. Congo red, doxycycline, and HSP70 overexpression reduce aggregate formation and cell death in cell models of oculopharyngeal muscular dystrophy. *J Med Genet* 2004 ; 41 : 47-51.
13. Davies JE, Rubinsztein DC. Over-expression of BCL2 rescues muscle weakness in a mouse model of oculopharyngeal muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 2011 ; 20 : 1154-1163.
14. Fan X, Dion P, Laganier J, et al. Oligomerization of polyalanine expanded PABPN1 facilitates nuclear protein aggregation that is associated with cell death. *Hum Mol Genet* 2001 ; 10 : 2341-2351.
15. Argov Z, Gliko-Kabir I, Brais B, et al. Intravenous trehalose improves dysphagia and muscle function in oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD): preliminary results of 24 weeks open label phase 2 trial (S28.004). *Neurology* 2016 ; 86.
16. Ribot C, Soler C, Chartier A, et al. Activation of the ubiquitin-proteasome system contributes to oculopharyngeal muscular dystrophy through muscle atrophy. *PLoS Genet* 2022 ; 18 : e1010015.
17. Vest KE, Phillips BL, Banerjee A, et al. Novel mouse models of oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD) reveal early onset mitochondrial defects and suggest loss of PABPN1 may contribute to pathology. *Hum Mol Genet* 2017 ; 26 : 3235-3252.
18. Roth F, Dhiab J, Boulinguez A, et al. Assessment of PABPN1 nuclear inclusions on a large cohort of patients and in a human xenograft model of oculopharyngeal muscular dystrophy. *Acta Neuropathol* 2022 ; (in press).
19. Tavanez JP, Bengoechea R, Berciano MT, et al. Hsp70 chaperones and type I PRMTs are sequestered at intranuclear inclusions caused by polyalanine expansions in PABPN1. *PLoS One* 2009 ; 4 : e6418.
20. Calado A, Tomé FM, Brais B, et al. Nuclear inclusions in oculopharyngeal muscular dystrophy consist of poly(A) binding protein 2 aggregates which sequester poly(A) RNA. *Hum Mol Genet* 2000 ; 9 : 2321-2328.
21. Klein P, Oloko M, Roth F, et al. Nuclear poly(A)-binding protein aggregates misplace a pre-mRNA outside of SC35 speckle causing its abnormal splicing. *Nucleic Acids Res* 2016 ; 44 : 10929-10945.
22. Apponi LH, Corbett AH, Pavlath GK. Control of mRNA stability contributes to low levels of nuclear poly(A) binding protein 1 (PABPN1) in skeletal muscle. *Skeletal Muscle* 2013 ; 3 : 23.
23. Périé S, Trollet C, Mouly V, et al. Autologous myoblast transplantation for oculopharyngeal muscular dystrophy: a phase I/IIa clinical study. *Mol Ther* 2014 ; 22 : 219-225.
24. Malerba A, Klein P, Lu-Nguyen N, et al. Established PABPN1 intranuclear inclusions in OPMD muscle can be efficiently reversed by AAV-mediated knockdown and replacement of mutant expanded PABPN1. *Hum Mol Genet* 2019 ; 28 : 3301-3308.
25. Malerba A, Klein P, Bachtarzi H, et al. PABPN1 gene therapy for oculopharyngeal muscular dystrophy. *Nat Commun* 2017 ; 8 : 14848.
26. Strings-Ufombah V, Malerba A, Kao S-C, et al. BB-301: a silence and replace AAV-based vector for the treatment of oculopharyngeal muscular dystrophy. *Mol Ther Nucleic Acids* 2021 ; 24 : 67-78.
27. Davies JE, Sarkar S, Rubinsztein DC. Trehalose reduces aggregate formation and delays pathology in a transgenic mouse model of oculopharyngeal muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 2006 ; 15 : 23-31.
28. Trollet C, Boulinguez A, Roth F, et al. Oculopharyngeal muscular dystrophy. In : Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews*®. Seattle (WA) : University of Washington, Seattle, 1993 :
29. Mayer MP, Bukau B. Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism. *Cell Mol Life Sci* 2005 ; 62 : 670-684.
30. Ni M, Zhang Y, Lee AS. Beyond the endoplasmic reticulum: atypical GRP78 in cell viability, signaling and therapeutic targeting. *Biochem J* 2011 ; 434 : 181-188.
31. Boulinguez A, Staels B, Duez H, et al. Mitochondria and endoplasmic reticulum: targets for a better insulin sensitivity in skeletal muscle? *Biochim Biophys Acta* 2017 ; 9 : 901-916.
32. Wang L, Popko B, Tixier E, et al. Guanabenz, which enhances the unfolded protein response, ameliorates mutant SOD1-induced amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Dis* 2014 ; 71 : 317-324.
33. Raz V, Dickson G, Hoen PAC 't. Dysfunctional transcripts are formed by alternative polyadenylation in OPMD. *Oncotarget* 2017 ; 8 : 73516-73528.

TIRÉS À PART

A. Boulinguez

Retrouvez toutes les Actualités de la Myologie  
sur les sites de :

la Société Française de Myologie

[www.sfmyologie.org](http://www.sfmyologie.org)

la filière de santé neuromusculaire FILNEMUS

[www.filnemus.fr](http://www.filnemus.fr)

