

9EME RAPPORT ANNUEL DU PROJET DE RECHERCHE DE COLLABORATION SUR LA FIBRODYSPLASIE OSSIFIANTE PROGRESSIVE (FOP)

AVRIL 2000

Frederick S. Kaplan, M.D et Eileen M. Shore, Ph.D.

1999 aura été une année importante pour la recherche sur la FOP, avec de nombreux progrès réalisés dans le domaine de la carte génétique, la génétique moléculaire, la régulation du gène, l'immunologie, la biologie cellulaire, la biologie de développement et les nouvelles méthodes thérapeutiques. Voici donc le résumé de toute une année de travail.

Table des Matières

I. Rôle du gène noggin

II. Gènes candidats

III. Projet du génome humain

IV. BMP4: une pièce du puzzle?

V. Rôle des mastocytes

VI. Réaction en chaîne

VII. HOP: une maladie voisine

VIII. Squalamine et Cancer

IX. La thalidomide

X. Recherche pré-clinique sur le noggin

XI. Centre de Recherche sur la FOP

I. Rôle du gène noggin

Gènes candidats prometteurs

Grâce aux analyses effectuées dans notre laboratoire FOP et aux études cliniques, nous avons pu identifier plusieurs gènes candidats prometteurs responsables de la FOP. Identiques à ceux qui contrôlent le développement du squelette et de la moelle épinière, la fonction immunitaire et/ou l'inflammation et impliqués pour la plupart dans les chemins moléculaires de la protéine BMP4, nous nous intéressons particulièrement au noggin et à son rôle dans la régulation de la BMP4.

Histoire de la recherche sur le noggin

Afin de mieux comprendre l'importance du noggin dans l'histoire de la FOP, revenons quelques années en arrière. En 1996, tandis que les études effectuées par notre laboratoire FOP démontraient une abondance de protéine BMP4 (puissante hormone de la formation osseuse) dans les lymphocytes (cellules impliquées dans les systèmes sanguins et immunitaires) et les cellules lésionnelles des patients atteints de FOP, notre confrère et collaborateur Richard Harland (Berkeley, Université de Californie) découvrait la fonction de désactivation de la protéine noggin sur la BMP4.

Découverte du Dr. Harland

Lors de ses travaux, le Dr. Harland a constaté un taux élevé de BMP4 ainsi qu'une formation osseuse excessive chez des animaux modèles dépourvus de la protéine noggin. Ces résultats suggèrent donc que le gène noggin peut jouer un rôle déterminant dans la FOP, et que sa protéine pourrait être essentielle dans les futurs traitements de la maladie.

Etudes du noggin dans la FOP

En approfondissant nos investigations sur le gène noggin, nous n'y avons cependant identifié aucune mutation responsable de surproduction de BMP4. Par ailleurs, les résultats des analyses de liaison génétique ont démontré que même si son rôle est important dans le processus d'ossification, le gène noggin n'est probablement pas le seul responsable de la maladie.

Analyse du gène noggin

La découverte de mutations sur le gène noggin dans deux autres maladies rares de l'ossification nous a incité à travailler de nouveau sur ce gène. De fait, après avoir collecté de nombreux échantillons d'ADN de patients atteints de FOP puis séquencé le gène à la recherche d'éventuelles mutations, nous n'avons détecté aucune anomalie suspecte.

En décembre 1999, un patient Français nous a informé qu'un généticien Français dont le travail est parrainé par l'Association Pierre-Yves avait déclaré avoir identifié des mutations sur le gène noggin de plusieurs patients et qu'une déclaration à ce sujet serait publiée le même mois dans la revue *Clinical Genetics*.

Déclaration non confirmée

Mi-1999, ce médecin nous avait lui-même annoncé la nouvelle de sa découverte mais avait paradoxalement refusé de nous délivrer le moindre détail sur le sujet. Toutefois, tout opposé qu'il soit à partager toute information avec la communauté scientifique, il n'en avait pas moins informé ses patients et la presse!

Valider la déclaration

Toute découverte scientifique majeure doit être vérifiée et contre-vérifiée par des laboratoires de recherches indépendants. Aussi, après avoir pris connaissance du document relatif à cette déclaration et promis à la communauté FOP de la tenir informée de nos progrès en la matière, nous avons repris nos investigations sur le noggin et avons minutieusement analysé les échantillons sanguins collectés à différentes étapes du processus lésionnel caractéristique de la FOP afin d'entériner ou non ladite découverte.

Analyses de liaison génétique

Nous savons qu'en plus d'être un élément indispensable à la formation des articulations et un régulateur des concentrations de BMP4, la protéine noggin est un puissant antagoniste de la BMP4. Or, malgré l'absence de mutations identifiables sur son gène, le fort taux de BMP4 relevé dans les cellules de patients atteints de FOP suggère qu'une mutation sur un de ses inhibiteurs pourrait être responsable de la FOP.

Dans un article récemment publié, nous avons lu qu'une mutation hétérozygote survenue sur l'une des deux copies du gène noggin d'un patient avait été identifiée. Afin de confirmer ou non l'hypothèse selon laquelle des mutations sur le noggin seraient à l'origine de la maladie, nous avons donc repris nos travaux sur le gène: une analyse du noggin et une étude complète de la liaison génétique ont ainsi été réalisées en collaboration avec nos collègues de L'Association Française contre les Myopathies (France), l'Université d'Oxford (Angleterre), l'Université de Glasgow (Ecosse) et The National Institutes of Health (Bethesda, Maryland, USA).

Chez trois des quatre familles atteintes sur plusieurs générations sur lesquelles nous avons pratiqué l'analyse de la liaison, il résulte que la FOP n'est pas liée au gène noggin. Pour autant, l'analyse ne peut exclure la possibilité qu'une de ces familles puisse être liée au locus du noggin; le séquençage du gène noggin chez tous les membres affectés de cette famille n'a révélé aucune mutation sur le gène.

II. Gènes candidats

Identifier le gène de la FOP

Publiée en janvier 2000 dans l'*American Journal of Human Genetics*, une analyse de la liaison effectuée sur quatre familles dont plusieurs membres sont atteints de FOP localise le gène de la FOP sur une petite région du bras long du chromosome 4.

Si plusieurs gènes candidats prometteurs pour la FOP ont par ailleurs été identifiés à l'intérieur de la liaison du chromosome 4, leur analyse complète n'a pas permis de découvrir de mutations. Toutefois, plusieurs gènes candidats supplémentaires à l'intérieur de l'intervalle de la liaison sont actuellement examinés avec une attention particulière.

III. Projet du génome humain

Comment le génome peut aider la recherche sur la FOP

La liaison génétique de la FOP localisée au chromosome 4 contient plus de 100 gènes encore non identifiés, et le gène de la FOP pourrait bien être l'un d'entre eux. La première séquence complète du génome est annoncée pour le courant de cette année; il est évident qu'outre fournir une mine d'informations supplémentaires nécessaires à l'avancée médicale, le Projet de Recherche de Collaboration sur la FOP bénéficiera immédiatement de cet extraordinaire progrès scientifique. De fait, les informations qui émaneront de la séquence complète du génome nous permettront de déterminer la localisation de gènes supplémentaires dans la région de la liaison chromosomique en question, et de savoir si ces gènes récemment découverts peuvent être pris en considération dans nos recherches sur la FOP.

IV. BMP4: une pièce du puzzle?

Rôle de la BMP4 dans la FOP

Les hormones, les protéines et les enzymes sont des signaux moléculaires produits dans une cellule particulière, puis sécrétés à partir de cette cellule. Après sécrétion, elles peuvent agir sur la cellule qui les aura produites (facteur autocrine), sur une cellule de l'environnement local (facteur paracrine), ou sur une cellule dans un tissu distant ou organe (hormone). Dans chaque cas, le facteur doit être lié à un récepteur situé sur la cellule cible de sorte que le signal soit transmis au noyau de la cellule où les gènes sont activés et/ou désactivés. La BMP4 peut agir dans chacun des trois cas cités ci-dessus, selon le contexte physiologique.

Lors d'études préliminaires, nous avons ainsi pu noter que toutes les molécules signalant la présence de BMP4 sont présentes dans les cellules lymphocytaires. Or, si le taux de récepteurs de BMP4 est identique chez les sujets sains comme chez les patients, celui des messagers de BMP4 est en revanche élevé dans les lymphocytes des patients atteints par la maladie. Nous pouvons donc en conclure que si le taux de récepteurs de BMP4 est normal, il est insuffisant par rapport au taux de BMP4 en circulation.

Sachant que le messager ADN est un intermédiaire transitoire et éphémère entre le gène et la protéine, nous orientons maintenant nos études sur les chemins génétiques et moléculaires qui régulent les taux de la protéine BMP4 et de ses récepteurs dans la FOP et les cellules saines.

La BMP4 et le gène de la FOP

Parce qu'il est situé à proximité de la liaison chromosomique incriminée, le gène codant l'un des récepteurs de la BMP4 est également un gène candidat pour la FOP. Une erreur de transcription qui activerait de manière inadéquate un récepteur de BMP4 serait donc responsable de nombreux symptômes cliniques de la FOP; ce que confirmerait les taux élevés de BMP4 que nous avons trouvés.

Plusieurs articles au sujet de la fonction des récepteurs de BMP ont récemment été publiés. Après avoir sélectionné des embryons de souris puis éliminé des récepteurs de BMP dans leurs cellules, nos collaborateurs ont démontré que ces récepteurs ont des fonctions importantes dans la formation du squelette, surtout au niveau des doigts et des orteils.

Nous étudions maintenant les relations entre la BMP4 et ses récepteurs, ainsi que les relations entre les ensembles "hormone - récepteur" et les molécules situées en aval (appelées SMAD) qui transmettent le signal BMP.

Concrètement, la BMP4 active les récepteurs de BMP qui activent en aval les SMAD et leur permettent d'entrer dans le noyau pour activer ou désactiver les gènes de production de BMP4. Les molécules SMAD nous intéressent particulièrement du fait de leur importance dans l'ossification, mais également à cause de leur rôle central dans la biologie moléculaire du cancer.

Notez que comme toute recherche médicale, celle que nous effectuons sur la FOP peut nous aider à comprendre le(s) mécanisme(s) de maladies plus répandues.

V. Rôle des mastocytes

Processus de poussée

L'oedème du muscle atteint, la fibroprolifération, et l'angiogenèse (formation d'un nouveau vaisseau sanguin) sont les premiers symptômes d'une lésion pré-osseuse de FOP. Comme la plupart des malades et familles le savent, ces lésions peuvent apparaître en quelques heures et prendre une dimension importante en une nuit. L'apparition soudaine et l'étendue rapide de ces lésions dans le tissu adjacent

suggèrent la participation d'une armada de médiateurs inflammatoires avec une réponse lésionnelle anormale du tissu conjonctif, et met l'accent sur le rôle potentiel des mastocytes dans le processus de la maladie.

Que sont les mastocytes?

Situés à proximité des vaisseaux sanguin et des nerfs, les mastocytes sont des cellules de tissus conjonctifs fabriqués par la moelle épinière. Ils circulent dans le sang comme toute autre cellule et migrent dans de nombreux tissus, y compris le muscle strié où ils croissent et résident comme spectateurs inoffensifs jusqu'à ce qu'un stimulus traumatique ou inflammatoire les provoquent.

Dans le muscle strié normal, les mastocytes sont éparpillés dans les tissus conjonctifs qui enveloppent le muscle. Véritables bombes à retardement, les puissantes granules chimiques qu'ils contiennent induisent l'oedème, la fibroprolifération et l'angiogenèse dès lors qu'elles sont libérées dans le tissu environnant.

Rôle des mastocytes dans la réponse à une lésion musculaire

Si nous avons longtemps tout ignoré du rôle des mastocytes, nous savons désormais qu'ils sont indispensables à la réparation du tissu et/ou à la réponse à une lésion; toute mobilisation et activation inadéquates conduit à une réaction inflammatoire sévère tels que l'asthme ou l'urticaire.

Nous savons également que les mastocytes sont stimulés par quantité d'influences externes et internes telles que les réponses immunitaires et la lésion tissulaire.

Comment agissent les mastocytes?

Les mastocytes contiennent des granules d'histamine, d'héparine, de protéines angiogéniques (protéines qui stimulent la formation de nouveaux vaisseaux sanguins) et d'enzymes qui permettent au tissu lésé de cicatriser.

Les mastocytes fabriquent les protéines angiogéniques parmi lesquelles on compte le facteur de base de la croissance du fibroblaste, le facteur de la croissance vasculaire endothéliale, et le facteur de croissance bêta.

Ils fabriquent également une quantité de molécules impliquées dans l'inflammation, dont le facteur alpha de nécrose de la tumeur, les prostaglandines, et les leucotriènes.

Dès que les mastocytes sont libérés, ces substances influencent un vaste champ de processus biologiques comme l'inflammation, la fonction immunitaire, la vascularisation, la formation du tissu fibreux, la reconstruction extra-cellulaire du tissu, et la cicatrisation du tissu.

Enfin, les mastocytes favorisent la vascularisation des tumeurs qu'elles envahissent par accumulation.

Nouvelles études sur la FOP

L'oedème musculaire localisé, la fibroprolifération, l'angiogenèse et l'étendue rapide des lésions pré-osseuses caractéristiques de la FOP aux muscles et aux tissus adjacents suggèrent que les mastocytes ont un rôle déterminant dans le processus de la maladie.

Afin d'approfondir nos connaissances à leur sujet, nous avons étudié le comportement de ces cellules

dans le muscle strié normal, dans le muscle atteint de FOP, dans les lésions de FOP, dans les maladies musculaires d'origine inflammatoire et génétique, ainsi que dans les modèles animaux d'ossification hétérotopique.

Les résultats de ces analyses ont été aussi étonnants qu'inattendus. En effet, si nous savions depuis longtemps que les mastocytes sont impliqués dans l'entretien de l'os, nous avons été surpris de les rencontrer en nombre à toutes les étapes du processus lésionnel caractéristique de la FOP et donc d'apprendre qu'ils participent activement à l'ossification.

Nouvelle hypothèse

En nous basant sur les résultats issus de nos études, nous avons pu établir l'hypothèse suivante: tout traumatisme du tissu musculaire ou conjonctif chez des patients atteints de FOP conduit à une migration des lymphocytes dans le muscle apparaissant comme normalement strié. Certains de ces lymphocytes semblent surproduire de la BMP4 et favoriser la mobilisation des mastocytes.

En étudiant la pathologie de la FOP ainsi que nos modèles animaux d'ossification hétérotopique, nous avons remarqué que les médiateurs libérés par les mastocytes stimulent un cycle d'oedème inflammatoire, une fibrose et une angiogenèse caractéristiques d'une lésion de FOP. Dans les tissus musculaires, des fibroblastes réactifs produisent des protéines qui conduisent à une prolifération de mastocytes supplémentaires et à une escalade autonome du processus de la maladie communément appelé "poussée".

Il est possible que, libéré par les mastocytes et d'autres cellules lésionnelles, le TGF bêta limite la mobilisation et la migration des lymphocytes et donc la dimension et l'extension des lésions en cours tandis que la sur-expression endogène de BMP4 oriente la lésion fibroproliférative vers une ossification endochondrale.

Afin d'évaluer l'efficacité des thérapies anti-mastocytes, nous observerons la mobilisation des mastocytes dans les lésions de FOP de modèles animaux chez lesquels l'activité des mastocytes est inhibée.

VI. Réaction en chaîne

Des signaux moléculaires à l'ossification excessive

Il est essentiel d'identifier les signaux moléculaires qui déclenchent le processus d'ossification caractéristique de la FOP, mais également les cellules qui reçoivent et propagent le signal de déclenchement.

Nous avons vu l'an dernier qu'une cellule du tissu musculaire (pas nécessairement une cellule de muscle strié elle-même, mais peut-être une cellule placée à la périphérie d'un petit vaisseau sanguin) est impliquée dès le début du processus lésionnel.

Avec nos collègues de l'Université de Cambridge, nous avons concentré nos derniers travaux sur l'identification de la signature moléculaire de la cellule de réponse. Les résultats préliminaires de ces études encore en cours suggèrent que les cellules fibroprolifératives présentes dès le début d'une lésion de FOP expriment des protéines de muscle lisse semblables aux protéines exprimées dans les cellules qui entourent les vaisseaux sanguins.

Ceci suggère également que le taux excessif de BMP4 peut stimuler les cellules qui entourent les vaisseaux sanguins au début de la réponse fibroproliférative. Bien que nous ne connaissions pas encore exactement le mécanisme de déclenchement, l'identification des principaux acteurs tels que les BMP4, les lymphocytes, les mastocytes et les cellules périvasculaires nous permet d'ores et déjà de resserrer l'étape moléculaire et cellulaire responsable du processus de la FOP. Les informations qui émanent des études génétiques, moléculaires et cellulaires nous permettront de déchiffrer les événements impliqués dans l'ossification excessive caractéristique de la FOP.

VII. HOP: une maladie voisine

HOP et FOP

Proche de la FOP, l'Hétéroplasie Osseuse Progressive (HOP) se caractérise par une ossification des tissus de la peau.

Fin 1998, nous avons recensé plus de 20 patients atteints de HOP; nombre d'analyses de localisation plus tard, nous avons identifié le gène responsable de la maladie.

Afin de confirmer notre découverte, nous avons donc lancé une recherche sur ce gène chez tous les patients atteints de HOP dans le monde entier.

Identifier le gène de la HOP

Comme pour toute maladie, l'identification du gène responsable de la HOP nous permettra de mieux comprendre les mécanismes qui régissent l'ossification hétérotopique et d'élaborer la thérapie la plus efficace.

Le gène de la HOP est appelé GNAS1 et est localisé sur le bras long du chromosome 20. Sa structure et la régulation de son expression sont extraordinairement complexe. En effet, le GNAS1 code la Gs-Alpha, une protéine située à l'intérieur de la membrane cellulaire de la plupart des cellules du corps humain et dont les fonctions diffèrent selon les cellules.

La Gs-Alpha fonctionne comme un composant dans un relais de transformation à trois parties: elle est reliée à des récepteurs moléculaires qui dirigent l'environnement de la cellule, envoie des signaux au noyau (l'emplacement des chromosomes), et dicte non seulement à la cellule ce qu'elle doit faire mais surtout quel type de cellule elle doit devenir.

Des recherches complémentaires nous permettront de comprendre exactement comment des mutations dans le gène GNAS1 (et les anomalies correspondantes dans la protéine Gs-Alpha) déclenchent l'ossification ectopique. Nous savons déjà que la Gs-Alpha agit comme un inhibiteur d'ossification dans le tissu conjonctif (peau, graisse, et muscle strié); quand le relais de transformation de la protéine G est détérioré, l'inhibition cesse et la cellule devient une cellule osseuse par défaut.

Chez les enfants atteints de HOP, l'ossification se produit dans le tissu graisseux situé sous la peau et progresse ensuite dans le tissu plus profond tel que le muscle, le tendon et le ligament. Nous savons également que cette ossification se produit spontanément, et non à travers un précurseur cartilagineux comme c'est le cas dans la FOP.

La HOP et les autres maladies

La HOP peut être aussi invalidante que la FOP selon l'ampleur de l'ossification. Par ailleurs, même si les gènes responsables des deux maladies sont différents, il semble que la portion du chemin moléculaire

incriminé dans la FOP soit mal activé dans la HOP. Il est donc intéressant et important de noter que le gène *GNAS1* qui est endommagé dans la HOP l'est également dans plusieurs autres maladies osseuses d'origine génétique, y compris dans la dysplasie fibreuse (ou Syndrome de McCune Albright et ses variantes), l'ostéodystrophie héréditaire dite d'Albright (AHO), et la Pseudo Hypo Parathyroïdie (PHP).

Outre un progrès dans le domaine de la biologie de l'os, la découverte du gène de la HOP fin 1998, et son élucidation l'année passée nous permettront de mieux comprendre le processus d'ossification et de déterminer les premiers signaux cellulaires et moléculaires présents.

Enfin, l'identification du gène de la HOP nous permettra de concevoir des traitements efficaces contre cette maladie mais fera également avancer les recherches sur la FOP et les autres maladies osseuses.

Déjà, la technique de localisation du gène candidat nous aide à identifier le(s) gène(s) responsable(s) d'une maladie quelconque sans exiger d'études approfondies sur plusieurs familles.

Le fait d'avoir recensé plusieurs familles atteintes de HOP sur plusieurs générations nous permettra de déchiffrer les chemins génétiques de la HOP. Par ailleurs, la diffusion de documentaires au sujet de la FOP nous a permis de diagnostiquer davantage de patients atteints de FOP et de HOP; d'où des progrès de la recherche dans ces deux maladies.

Etudes en cours

Nos travaux sur la mutation génétique s'achèvent; quatre articles relatant notre découverte seront publiés dans les revues médicales et scientifiques.

Nous aimerions également pouvoir annoncer que les National Institutes of Health nous ont attribué la même subvention que celle reçue par le laboratoire FOP.

La première description des mutations génétiques dans la HOP a été présentée au 21ème meeting annuel de l'American Society for Bone and Mineral Research (St Louis, Missouri, U.S.A) en octobre 1999.; nous reparlerons de cette maladie au symposium de Philadelphie (Pennsylvanie, U.S.A) en novembre 2000...

VIII. Squalamine et Cancer

Comment agit la squalamine

L'an dernier, nous avons réalisé un immense progrès dans la compréhension des mécanismes d'action moléculaire de la squalamine ainsi que dans le déchiffrement du rôle de l'angiogenèse aux tout premiers stades de la formation osseuse induite par la BMP4.

Des recherches pré-cliniques et cliniques faites au John Hopkins Medical School, à l'Institute for Drug Development, au Dana Farber Cancer Institute, à l'Université du Wisconsin, à l'Université de Virginie, à l'Université de Georgetown et à UCLA ont démontré que l'utilisation de la squalamine pour ses propriétés anti-angiogéniques peut être favorable dans le traitement de nombreux cancers et autres maladies angiogéniques.

Des informations complètes sur la toxicité de la squalamine chez l'homme ainsi que des données biochimiques complètes sur l'identification, l'emplacement et la distribution de cette molécule dans les cellules endothéliales nous offrent maintenant l'opportunité de concevoir des protocoles cliniques pour tester la toxicité de la squalamine chez des patients atteints de FOP.

IX. La thalidomide

La FDA a autorisé la vente de la thalidomide aux Etats-Unis. Largement administré en Europe dans les années 50 comme tranquillisant et/ou dans le traitement des nausées matinales associées à la grossesse, la thalidomide était jusqu'à présent interdite aux Etats-Unis. Un inspecteur de la FAD sans doute plus consciencieux que ses collègues l'avait, en effet, soupçonnée d'être à l'origine des lésions sévères observées à la naissance chez de nombreux nourrissons Européens.

Suite à cette tragédie, la thalidomide a été supprimé du marché mondial. Ceci démontre bien le fait que les médicaments doivent faire l'objet d'études rigoureuses avant d'être commercialisés.

Pour le cas présent, des scientifiques se sont simplement demandés pourquoi ce médicament avait stoppé la croissance des bras et des jambes chez les foetus. Après nombre d'analyses, ils ont découvert que la thalidomide avait un effet inhabituel sur le système immunitaire.

Plus tard, des médecins de la santé publique ont découvert que le médicament agissait sur l'Erythème Nodisum Léprosum (ENL), une complication douloureuse et invalidante liée à la lèpre. Or, s'il y a environ 10 000 cas de lèpre aux Etats-Unis, seul un petit pourcentage est atteint de ENL. La thalidomide retirée de la vente, les scientifiques qui étudiaient la lèpre ont décidé de fabriquer leur médicament eux-mêmes jusqu'à ce qu'il devienne commercialement accessible dans trois pays du monde où la maladie est dominante.

Aujourd'hui, les essais cliniques pour tester la thalidomide sur plusieurs maladies auto-immunes comme l'arthrose rhumatoïde ou le lupus, les complications liées au sida et aux transplantations de moelle osseuse, la tuberculose, quelques cancers du poumon et la maladie de Bechet ont repris.

Quand la FDA a annoncé l'autorisation de mise sur le marché de la thalidomide en juillet dernier, 50 ans après que ses effets horribles aient été découverts, l'agence a insisté sur le fait que sa distribution sera réglementée. Outre que le médicament ne pourra être prescrit aux femmes enceintes, tous les patients se verront remettre une cassette vidéo les informant des dangers de la thalidomide pendant la grossesse. Les femmes en âge de procréer seront soumises à un test de grossesse avant et après le traitement; la contraception des deux partenaires sera vivement encouragée durant tout le traitement; les patients seront répertoriés et devront répondre tous les mois à un questionnaire; les médecins prescripteurs seront répertoriés et enregistrés auprès des pharmaciens qui distribueront le médicament. Enfin, une note d'avertissement sera jointe au médicament.

Bien qu'elle ait donné aux Etats-Unis le record de sécurité en terme de commercialisation des médicaments, la FDA a été vivement critiquée en étant trop lente et trop consciencieuse; elle empêcherait ainsi les malades d'avoir accès rapidement aux nouveaux traitements.

Il est cependant important de souligner que malgré les pressions de l'Etat, une commercialisation trop rapide de nouveaux thérapeutiques peut se révéler dangereuse si ceux-ci ne sont pas suffisamment testés. En effet, ce n'est qu'après avoir été vendu à de nombreux sujets que l'on connaît généralement tout des effets indésirables et parfois néfastes d'un médicament; des millions de personnes prennent de l'aspirine sans aucun problème pourtant 7000 personnes décèdent chaque années aux Etats-Unis simplement parce qu'ils y sont allergiques.

Bien que dramatique, la tragédie de la thalidomide a permis aux scientifiques de progresser dans leurs travaux. Certes ce médicament est toujours aussi nocif chez les femmes enceintes mais comme nous

l'avons vu plus haut, il peut être efficace dans le traitement de nombreuses pathologies. Médicament orphelin, il aura fallu quarante années pour convaincre les entreprises de son utilité.

X. Recherche pré-clinique sur le noggin

La noggin inhibe la BMP4

C'est en 1996 que nous avons découvert la BMP4 et l'importance du noggin dans la FOP. Lors de nos études, nous avons effectivement remarqué que ce gène contrôle l'ossification en régulant les concentrations de BMP4 disponibles dans les tissus. De fait, le noggin offre une piste thérapeutique intéressante pour inhiber l'ossification hétérotopique caractéristique de la FOP.

Thérapie génique

La thérapie génique vise à remplacer des gènes déficients responsables de maladies génétiques par des gènes-médicaments apportés, par exemple, par des virus neutralisés. A partir du moment où les chercheurs découvrent le(s) gène(s) responsable(s) d'une maladie, la thérapie génique peut être tentée. Pour le moins novatrice, cette méthode devra par ailleurs s'acquitter des nombreux soucis techniques qui jalonnent son chemin vers la réussite avant de devenir une réalité.

Pour le cas de la FOP, il nous faut réguler l'expression du gène noggin; aussi avons-nous conçu des vecteurs dans cet espoir. Nous les avons ensuite fournis à nos collaborateurs du Regeneron Pharmaceuticals qui les ont développés puis étudiés dans des tests effectués chez des modèles animaux d'ossification hétérotopique. Les données préliminaires de ces expériences se sont montrées pour le moins encourageantes, et nous pouvons maintenant envisager d'utiliser cette méthode thérapeutique pour des essais sur l'homme.

Problèmes techniques

Avec la première génération de vecteur viraux, le problème était d'exprimer un gène de façon suffisamment longue et stable pour parvenir à corriger efficacement l'erreur génétique responsable d'une maladie. Moins toxiques que leurs prédécesseurs, l'arrivée de nouveaux adéno-virus (AAV) plus stables aura relégué ce souci dans le passé, et les services de santé envisagent de les inclure rapidement comme base de leurs protocoles de thérapie.

Réglementation

Le Congrès américain a récemment voté une loi afin de réglementer plus rigoureusement les essais de thérapie génique chez l'homme. De fait, toutes les institutions concernées sont désormais contrôlées. En 1999, un décès survenu lors d'un essai de thérapie génique chez l'homme a temporairement gelé nombre d'études. Ceci n'a cependant pas interrompu la poursuite des recherches pré-cliniques.

Il est clair qu'un grand nombre de questions scientifiques devront être résolues pour que la thérapie génique devienne une réalité médicale. Les contretemps récemment rencontrés n'entacheront néanmoins pas notre enthousiasme.

Les débuts de la thérapie génique

Afin de réduire travail et coût, la FDA et les National Institutes of Health ont proposé de créer des plates-formes d'études grâce auxquelles les scientifiques effectueraient des tests pré-cliniques de toxicité

d'un vecteur donné. Reste maintenant à modifier les protocoles.

Dans ce contexte, notre objectif est de poursuivre les études en cours afin d'évaluer la toxicité du noggin transgénique dans les études pré-cliniques. Il est important de rappeler que la thérapie génique n'est pas seulement un nouveau médicament, mais aussi une nouvelle façon de délivrer des médicaments essentiels au traitement et à la guérison d'une maladie.

Paru en janvier dernier dans la revue *Nature Medicine*, un éditorial affirme: "La thérapie génique débute seulement. Comme toute méthode thérapeutique, elle est potentiellement dangereuse". Comme nous aussi nous débutons dans cette nouvelle voie, nous devons nous montrer extrêmement vigilants afin d'évaluer tout risque lié à ce nouveau mode de thérapie.

Le Troisième Symposium International sur la FOP aura lieu en novembre prochain; le sujet de la thérapie génique par le noggin sera évidemment au coeur de nos discussions. .

XI. Centre de Recherche sur la FOP

Programmes et Subventions

Le Centre vient d'accorder trois subventions afin de promouvoir la recherche dans la FOP.

L'un des programmes étudie l'activité des cellules musculaires primitives dans l'ossification hétérotopique induite par la BMP4 chez la souris.

L'an dernier, nous avons déjà réalisé un grand pas en concevant des souris transgéniques qui expriment un nouveau récepteur de cellules musculaires sous le contrôle du Myo-D, un puissant gène régulateur. Chez les cinq lignées ainsi produites, il apparaît que l'activation de ce gène est restreinte aux seules cellules musculaires primitives; les autres cellules sont quant à elles tout à fait normales. Nous avons ainsi pu démontrer qu'un seul type de cellules est impliqué dans l'ossification hétérotopique caractéristique de la FOP.

Afin de déterminer le rôle exact de ces cellules musculaires dans l'ossification induite par la BMP4, nous avons sélectionné deux lignées de souris. Les études qui s'ensuivront nous permettront de savoir si les cellules du muscle strié participent au processus d'ossification hétérotopique ou si les cellules musculaires en apoptose sont simplement remplacées par un os hétérotopique formé par d'autres cellules du tissu conjonctif, des cellules périvasculaires ou des cellules de muscle lisse situées dans l'entourage du muscle strié

Activation et inhibition de la BMP

Le second programme étudie le processus de signalisation de la BMP. Contrairement au projet précédent basé sur la biologie cellulaire, celui-ci nous permettra de mieux comprendre le chemin moléculaire qui régit l'activation et l'inhibition de la BMP4 surexprimée dans la FOP. Nos travaux nous ont permis d'identifier le gène SANE, et nous étudions actuellement son rôle dans l'ossification. Sachant qu'il inhibe le signal de la BMP, nous avons donc créé des animaux modèles dépourvus de ce gène. En comprenant comment la BMP agit sur les cellules pour réguler l'expression d'un ensemble de gènes qui favorisent l'ossification, nous pourrions concevoir des traitements efficaces contre les maladies comme la FOP.

Enfin, le dernier programme encourage la conception et la production de vecteurs viraux nécessaires aux essais de thérapie génique chez l'animal.

Poursuite de la Recherche

L'objectif du Centre de Recherche sur la FOP et les Maladies Voisines est d'encourager le travail des chercheurs de l'Université de Pennsylvanie et du Laboratoire FOP. Suite aux progrès réalisés cette année, le Centre recrute de nouveaux internes pour l'année 2000 qui, quelque soit leur spécialité, se concentreront sur la découverte du gène responsable de la FOP et la conception d'un traitement efficace. Des collaborateurs diplômés en biologie moléculaire et biologie cellulaire seront également les bienvenus.

Un grand Merci! à Susan Lippo et Kay Rai pour leur dévouement et leur soutien; leur rôle respectif est important tant pour la gestion que pour la coordination et la réalisation des programmes.

© Copyright 2000 International Fibrodysplasia Ossificans Progressiva Association. All Rights Reserved.

.
. .
. .
. .