



HAL
open science

Recherche pharmacologique et cellules souches pluripotentes : du paradigme expérimental novateur à l'essai clinique fructueux

Sandrine Baghdoyan, Guillaume Bassez, Etienne Audureau, Marc Peschanski

► To cite this version:

Sandrine Baghdoyan, Guillaume Bassez, Etienne Audureau, Marc Peschanski. Recherche pharmacologique et cellules souches pluripotentes : du paradigme expérimental novateur à l'essai clinique fructueux. *Médecine/Sciences*, 2019, 35 (1), pp.26-29. 10.1051/medsci/2018316 . hal-02970141

HAL Id: hal-02970141

<https://hal.science/hal-02970141v1>

Submitted on 17 Oct 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Recherche pharmacologique et cellules souches pluripotentes : du paradigme expérimental novateur à l'essai clinique fructueux

Sandrine Baghdoyan¹, Guillaume Bassez², Etienne Audureau³, Marc Peschanski⁴

► On associe souvent le terme de cellules souches pluripotentes humaines à celui de thérapie cellulaire. C'est oublier qu'aujourd'hui, la majorité des études à but thérapeutique qui s'appuient sur ces cellules les utilisent comme modèles *in vitro* de maladies, essentiellement monogéniques, dont elles répliquent les bases moléculaires [1, 2] (→).

L'intérêt de ces modèles cellulaires pour la pharmacologie a donné lieu à des dizaines de travaux expérimentaux permettant d'identifier des composés à potentiel thérapeutique pour des maladies aussi diverses que la progeria¹, la neurofibromatose de type 1², des formes génétiques de la maladie de Parkinson ou de la sclérose latérale amyotrophique³, des troubles du spectre autistique et bien d'autres. Toutefois, la démonstration chez l'homme, validée par un essai clinique standardisé, de l'efficacité d'un composé identifié *in vitro* par cette approche n'avait pas encore été obtenue. Les résultats d'une

récente étude de phase II randomisée en double-aveugle testant la metformine contre un placebo chez des patients atteints de dystrophie myotonique de type 1 (DM1, ou maladie de Steinert)⁴ en apporte une preuve de concept [3].

Le paradigme expérimental qui conduit jusqu'au stade d'identification de composé à potentiel thérapeutique a été progressivement validé par de nombreuses équipes (Figure 1). Il débute par l'obtention de lignées de cellules souches pluripotentes humaines, soit à partir du bourgeon embryonnaire au stade blastocyste [4], soit, depuis quelques années, par reprogrammation de cellules somatiques humaines en cellules induites à la pluripotence [5, 6]. Grâce à leurs potentiels uniques d'auto-renouvellement illimité et de pluripotence, ces lignées permettent aux chercheurs de disposer de lots homogènes de cellules de tout volume souhaité, différenciées à la demande dans les phénotypes d'intérêt [7] (→).

Rapidement après l'ouverture de l'Institut I-Stem⁵ en 2005, nous avons obtenu plusieurs lignées importées de Suède et de Belgique, réputées normales et issues d'embryons surnuméraires de féconda-

¹Inserm/UEVE 861, I-Stem, 28, rue Henri Desbruères, 91100 Corbeil-Essonnes, France.

²Institut de myologie, hôpital de la Salpêtrière, 75651 Paris Cedex 13, France.

³Service de santé publique, hôpital Henri-Mondor, 94010 Créteil Cedex, France.

⁴CECS/AFM, I-Stem, 28, rue Henri Desbruères, 91100 Corbeil-Essonnes, France.

mpeschanski@istem.fr

tion *in vitro*, ou porteuses d'une mutation responsable de la DM1 (à la suite d'un diagnostic pré-implantatoire (DPI) [8] (→).

Depuis, ces ressources ont été complétées par des lignées iPS (*Induced pluripotent stem cells*) de cellules de patients DM1 reprogrammées. La première étape d'analyse a visé à vérifier l'adéquation du modèle cellulaire avec ce qui était connu des phénotypes pathologiques qui lui sont rattachés *in vitro*. Nous avons ainsi retrouvé les inclusions intranucléaires associées à la forme mutée du transcrite du gène *DMPK* (dystrophie myotonine protéine kinase) et les anomalies d'épissage qui en découlent [9]. Cette première étape a par ailleurs permis d'identifier des altérations moléculaires et cellulaires associées à la maladie jusque-là passées inaperçues [10, 11]. Nous nous sommes alors engagés dans la recherche de composés pharmacologiques possédant une action correctrice de ces anomalies, afin d'identifier des candidats-médicaments. Plusieurs techniques de criblage ont été utilisées, en particulier un crible de génomique fonctionnelle par ARN interférence ciblant un panel de facteurs d'épissage connus. Cette approche nous a permis d'identifier une protéine de fixation à l'ARN, ELAVL1 (*[Embryonic lethal, abnormal vision, Drosophila]-like 1* ou HuR), dont la perte

(→) Voir l'article de B. Baertschi (*Le diagnostic préimplantatoire [DPI] à l'ère de la médecine prédictive*), page 72 de ce numéro

(→) Voir l'Éditorial de M. Peschanski, m/s n° 4, avril 2008, page 335

¹ La progeria, ou syndrome de Hutchinson-Gilford, est une maladie génétique extrêmement rare qui provoque des changements physiques qui ressemblent fort à une sénescence accélérée.

² La neurofibromatose de type 1 (NF1) ou maladie de Von Recklinghausen est une maladie qui se manifeste notamment par des taches café au lait sur la peau et l'apparition de tumeurs situées le long des nerfs, appelées neurofibromes.

³ La sclérose latérale amyotrophique (SLA), aussi connue sous le nom de maladie de Charcot, est une maladie neurodégénérative grave qui se traduit par une paralysie progressive des muscles impliqués dans la motricité volontaire.

⁴ La maladie de Steinert ou dystrophie myotonique de type 1 (DM1) est la plus fréquente des maladies musculaires de l'adulte et est d'origine génétique.

⁵ Institut des cellules souches pour le traitement et l'étude des maladies monogéniques.

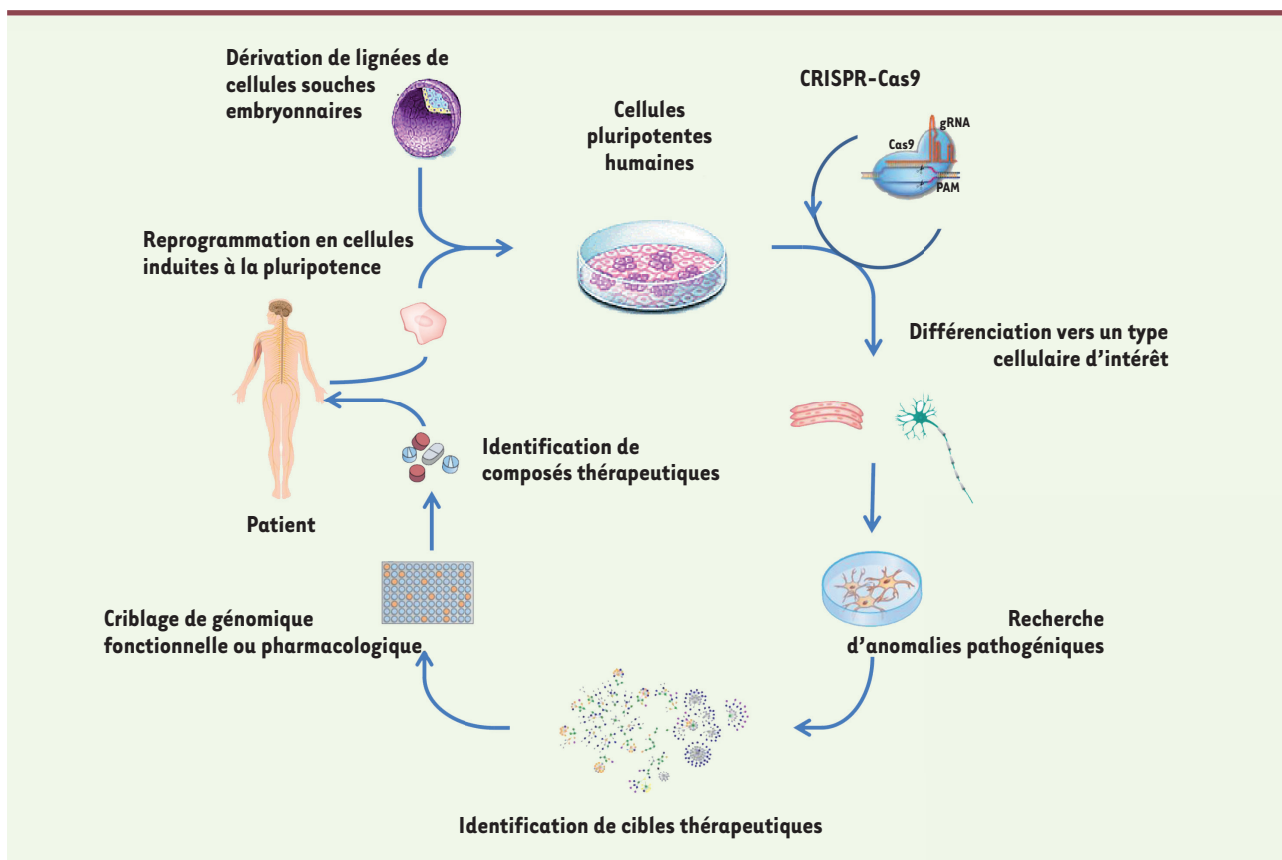


Figure 1. Paradigme de l'utilisation des cellules souches pluripotentes humaines pour des approches de criblages thérapeutiques. Les cellules souches pluripotentes humaines permettent de modéliser les défauts cellulaires associés à des maladies génétiques. Celles-ci peuvent être dérivées à partir d'embryons dans le cas de maladies autorisées au diagnostic pré-implantatoire ou induites à la pluripotence à partir de cellules somatiques de patients (*induced pluripotent stem cells*, iPS). Il est également possible de créer ces modèles cellulaires par édition du génome à partir d'iPS saines. Grâce à leur potentiel d'auto-renouvellement et leur pluripotence, ces cellules permettent la production de lots homogènes de cellules différenciées vers un type cellulaire d'intérêt, utilisés pour de la modélisation pathologique et des approches de criblage de génomique fonctionnelle ou pharmacologique pour l'identification de composés thérapeutiques.

d'expression induit une correction de plusieurs défauts d'épissage dérégulé dans la DM1 (sans qu'il existe une quelconque spécificité d'ELAVL1, également active dans des cellules non mutées). Sur la base de la littérature qui faisait de cette protéine une cible de l'AMPK (protéine kinase activée par l'AMP), nous avons alors réussi à mimer l'effet correcteur de l'ARN interférent ciblant le gène *ELAVL1* sur l'épissage de plusieurs gènes affectés à l'aide d'activateurs de la kinase. Deux composés ont été identifiés : l'AICAR (*5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucléotide*), un agoniste direct puissant, mais inutilisable en clinique ; et la metformine, activateur

indirect moins puissant, mais disposant d'une autorisation de mise sur le marché (dans le traitement du diabète de type II). L'effet bénéfique de ces molécules a été validé *in vitro* dans des myoblastes issus de patients [12]. L'effet biologique de la metformine sur la correction de certains épissages a été vérifié *in vivo*, d'abord chez la souris modèle DMSXL⁶, puis lors d'un essai clinique observationnel qui impliquait des patients diabétiques traités au long cours par ce médicament.

⁶ Un modèle de souris reproduisant la DM1 développé par le Dr Geneviève Gourdon, IHU Imagine - Institut des maladies génétiques, Paris, France.

L'ensemble de ces résultats a conduit à la mise en place d'un essai clinique afin d'évaluer l'impact thérapeutique de la molécule ainsi « repositionnée⁷ » [13] (→) chez des patients atteints de DM1. L'essai clinique de phase II Myomet, randomisé, en double aveugle, a impliqué plusieurs équipes du CHU Henri-Mondor de Créteil. Il a mobilisé quarante patients adultes ambulatoires répartis en deux groupes

(→) Voir l'Éditorial de C. Martinat et M. Peschanski, *m/s* n° 12, décembre 2018, page 1019

⁷ Une molécule prescrite pour certaines indications thérapeutiques peut être développée et utilisée pour soigner d'autres maladies.

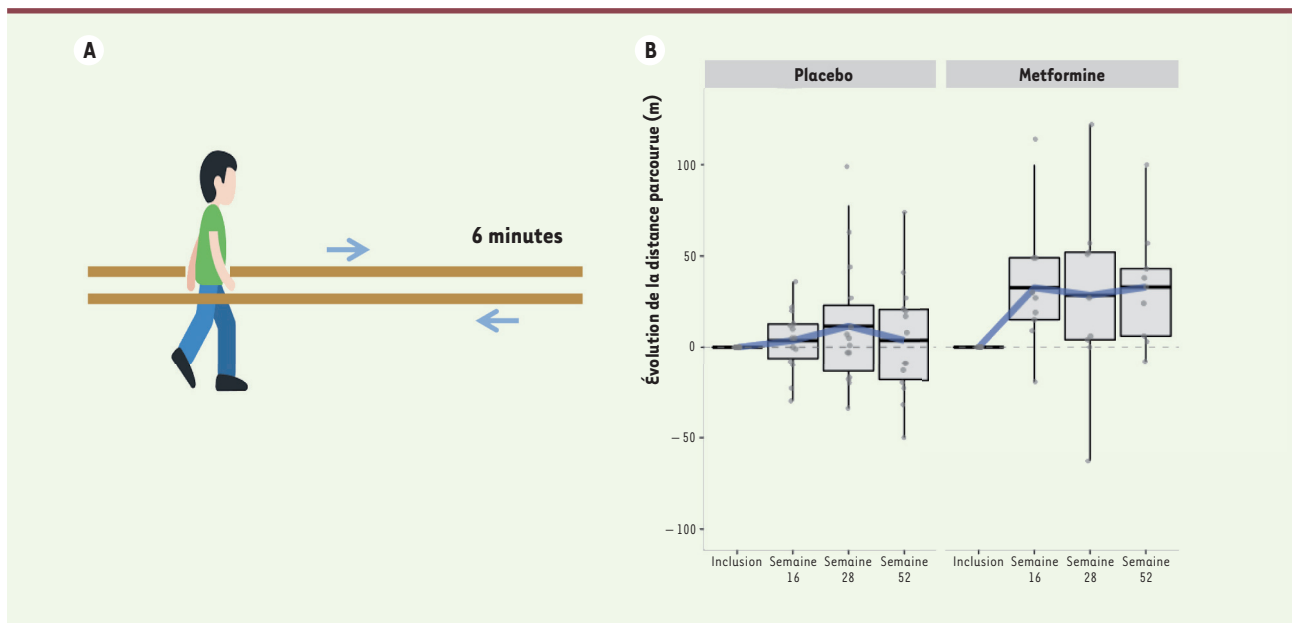


Figure 2. Évolution de la distance parcourue au test de marche de 6 minutes des patients atteints de dystrophie myotonique de type 1 au cours des différentes visites de suivi de l'essai Myomet. **A.** Le test de marche des six minutes (*six minutes walk test*, 6MWT) est un test de terrain couramment utilisé pour évaluer la capacité fonctionnelle des patients. Le but de ce test est de définir le périmètre de marche maximal parcouru par le patient en 6 minutes. Ce test exige un parcours de 25 mètres, au calme, en intérieur, plat, idéalement dans un couloir rectangulaire rectiligne. Les instructions sont lues au patient en début de test. Durant l'effort, le patient peut ralentir, s'arrêter ou se reposer en s'appuyant contre un mur si nécessaire avant de reprendre la marche dès qu'il le peut. Les valeurs obtenues sont comprises entre 0 mètre pour une personne non ambulatoire et 800-900 mètres chez un sujet en bonne santé. **B.** Évolution moyenne (trait bleu) et variabilité (« boîtes à moustaches ») de la distance parcourue depuis l'inclusion à partir des résultats individuels (points) au jour 0 puis à 16, 28 et 52 semaines de traitement.

égaux qui ont reçu soit la metformine (3 g/j), soit un placebo. L'effet de la metformine chez les patients DM1 a été évalué par le test de marche de six minutes schématisé dans la Figure 2, durant lequel le patient est appelé à marcher aussi vite qu'il le peut pendant 6 minutes en aller-retour sur un trajet de 25 mètres. Les patients étaient par ailleurs appareillés durant ce test avec un système Locometryx développé par l'équipe de Jean-Yves Hogrel (Institut de myologie, Paris) qui permettait, outre une grande précision sur les distances parcourues, une appréciation fine de la posture et de la puissance lors de la marche. Les résultats de cette étude ont révélé une amélioration significative de la mobilité des patients DM1 traités par la metformine par rapport au groupe contrôle [3]. Ce bénéfice est apparu dès la première évaluation intermédiaire, réalisée après 16 semaines de traitement, et a perduré au moins

jusqu'au terme de l'étude (d'une durée d'un an). Les mécanismes moléculaires par lesquels la metformine améliore les capacités motrices des patients ne sont pas aisément identifiables en l'absence, notamment, de prélèvements tissulaires considérés comme trop invasifs. Sur le plan clinique, le seul paramètre pertinent dont l'amélioration intervenait en parallèle de celle de la marche était la posture, sans amélioration enregistrée ni sur la myotonie ni sur la force musculaire, ce qui suggère que l'augmentation du périmètre de marche était probablement plus liée à un changement qualitatif qu'à une modification quantitative. Cette étude clinique monocentrique de phase II présente bien évidemment des limites caractéristiques des essais de phase précoce s'appuyant sur des échantillons de taille limitée, et ses résultats nécessitent confirmation, au mieux par un essai clinique multi-cen-

trique de phase III doté d'une puissance statistique supérieure. Ces résultats sont cependant encourageants à double titre. D'une part en tant que première démonstration d'un effet pharmacologique significatif sur la mobilité de malades atteints de dystrophie myotonique. De l'autre, comme première validation chez l'homme, au travers d'un essai clinique standardisé, d'une hypothèse thérapeutique issue de la modélisation d'une pathologie génétique *in vitro*, grâce à des lignées de cellules souches pluripotentes. Au vu des multiples travaux de modélisation pathologique des maladies génétiques à l'aide de ces lignées, réalisés ou en cours, il n'y a que peu de doute que cette étude sera bientôt suivie de beaucoup d'autres. ♦ **Pharmacological research and pluripotent stem cells: from the innovative experimental paradigm to the successful clinical trial**

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient tous les participants aux travaux cités et plus particulièrement Jacqueline Gide (CECS/1-Stem) qui en a été une actrice essentielle à toutes les étapes.

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

- Shi Y, Inoue H, Wu JC, Yamanaka S. Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress. *Nat Rev Drug Discov* 2017 ; 16 : 115-30.
- Laustriat D, Gide J, Hécharde C, Peschanski M. Les cellules souches embryonnaires et la pharmacologie. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 32-8.
- Bassez G, Audureau E, Hogrel JY, et al. Improved mobility with metformin in patients with myotonic dystrophy type 1: a randomized controlled trial. *Brain* 2018 ; 141 : 2855-65.
- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998 ; 282 : 1145-7.
- Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007 ; 131 : 861-72.
- Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007 ; 318 : 1917-20.
- Peschanski M. Cellules souches : l'heure est venue du changement d'échelle. *Med Sci (Paris)* 208 ; 24 : 335-8.
- Bernard Baertschi. Le diagnostic préimplantatoire (DPI) à l'ère de la médecine prédictive. *Med Sci (Paris)* 2019 ; 35 : 72-7.
- Marteyn A, Maury Y, Gauthier MM, et al. Mutant human embryonic stem cells reveal neurite and synapse formation defects in type 1 myotonic dystrophy. *Cell Stem Cell* 2011 ; 8 : 434-44.
- Denis JA, Gauthier M, Rachdi L, et al. mTOR-dependent proliferation defect in human ES-derived neural stem cells affected by myotonic dystrophy type 1. *J Cell Sci* 2013 ; 126 : 1763-72.
- Gauthier M, Marteyn A, Denis JA, et al. A defective Krab-domain zinc-finger transcription factor contributes to altered myogenesis in myotonic dystrophy type 1. *Hum Mol Genet* 2013 ; 22 : 5188-98.
- Laustriat D, Gide J, Barrault L, et al. *In vitro* and *in vivo* modulation of alternative splicing by the biguanide metformin. *Mol Ther Nucleic Acids* 2015 ; 4 : e262.
- Martinat C, Peschanski M. L'heure est venue d'un (re) positionnement thérapeutique des maladies ultra-raras. *Med Sci (Paris)* 2018 ; 34 : 1019-20.

De la jaunisse à l'hépatite C

5 000 ans d'histoire



2^e édition mise à jour
Jean-Louis Payen

ISBN : 978-2-8425-4136-1 128 pages

La jaunisse est un symptôme facilement identifiable ; il paraissait bien naturel que l'homme, confronté à une modification de la couleur de ses yeux et de sa peau ait de tous temps recherché les causes de cette transformation.

Il n'est donc pas surprenant que le premier traité de médecine, écrit 3 000 ans avant J.C. par un médecin sumérien, décrive déjà la jaunisse. À chaque époque de l'histoire de la médecine, les praticiens, influencés par les concepts médicaux de leur temps, attribuèrent une ou plusieurs explications particulières à ce symptôme. Ainsi, du démon *Ahhâzu* des Sumériens à la sophistication des biotechnologies qui permirent la découverte du virus de l'hépatite C, le lecteur cheminera sur une période de 5 000 ans au travers des différents continents.

Ici encore, l'histoire se révèle une formidable source de réflexion : le foie souvent impliqué dans l'apparition des jaunisses est-il le siège de l'âme ?

Les expérimentations humaines chez des volontaires ou chez des enfants handicapés mentaux étaient-elles justifiées pour permettre la découverte des virus des hépatites ?

Le formidable développement de la transfusion sanguine, des vaccinations, mais aussi de la toxicomanie explique-t-il les épidémies d'hépatites du xx^e siècle ?

Autant de questions qui sont abordées dans ce livre passionnant et accessible à tous.

À retourner à EDP Sciences, 17 avenue du Hoggar, 91944 Les Ulis Cedex
Tél. : 01 49 85 60 69 - Fax : 01 49 85 03 45 - E-mail : francois.flori@edpsciences.org

NOM : Prénom :
 Adresse :
 Code postal : Ville :
 Pays :
 Fonction :

Je souhaite recevoir l'ouvrage **De la jaunisse à l'hépatite C, 5 000 ans d'histoire** : 12 € + 3 € de port = 15 € TTC

en exemplaire, soit un total de €

- Par chèque, à l'ordre de EDP Sciences
 Par carte bancaire : Visa Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | |

BON DE COMMANDE



Tarifs d'abonnement m/s - 2019

Abonnez-vous à médecine/sciences

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement page 86 dans ce numéro de m/s

