



# Dégénérescence programmée de maladies musculaires : aspects moléculaires et prévisions thérapeutiques

Rev Med Suisse 2006 ; 2 : 1174-7

**T. Kuntzer**  
**C. R. Bader**  
**M. Sinnreich**

**Pr Thierry Kuntzer**  
Unité nerf-muscle  
Service de neurologie  
CHUV – BH07, 1011 Lausanne

**Pr Charles R. Bader**  
Unité de myologie  
Département de neurosciences  
cliniques et dermatologie  
CMU et HUG, 1211 Genève 14

**Dr M. Sinnreich**  
Neuromuscular research group,  
Montreal Neurological Hospital  
and Institute  
McGill University  
3801 University Street  
Montreal, Que., Canada H3A 2B4

## Mechanisms leading to muscle degeneration : molecular mechanisms and therapeutic forecasts

In inclusion body myositis (IBM), there is muscular amyloidogenesis and inflammation. A related disorder is due to alterations in the ubiquitin pathway involving the valsoin-containing protein leading to IBM, dementia and Paget's disease. Alteration in the dystrophin glycoprotein complex leads to several muscular dystrophies (MD), and the pathogenesis of dystrophin related MD as well as certain limb girdle MD are discussed. Therapeutic strategies involving inhibition of proteolytic cascades as well as inhibition of a negative regulator of muscle growth (myostatin) are briefly introduced. Finally, molecular aspects of the most common form of adult myopathy, myotonic MD, are discussed. This disease is caused by an aberrant splicing mechanism and interference thereof may be useful in designing therapeutic strategies.

Dans la myosite à inclusions (IBM) existe une amyloïdogenèse musculaire et une réaction immunitaire. Ces mécanismes ont permis la découverte d'une nouvelle voie pathologique centrée sur l'ubiquitine, qui est impliquée dans une maladie génétique nouvelle, la VCPathie (VCP = *valsoin-containing protein*), associant IBM, démence, et maladie de Paget. Dans les dystrophies musculaires (DM), l'analyse de la membrane musculaire a permis de découvrir les fonctions de protéines impliquées dans la DM de Duchenne et les DM des ceintures ; l'inhibition de la calpaïne et l'inactivation de la myostatine pourraient stimuler la régénération musculaire. Finalement, nous discutons la DM myotonique qui est la myopathie la plus fréquente ; elle est due à une maladie de l'épissage de l'ARN et pourrait être traitée par destruction spécifique des transcrits anormaux.

## INTRODUCTION

Les maladies musculaires forment un groupe varié de maladies. Cette diversité a permis la compréhension de nouveaux mécanismes physiopathologiques généraux mais a aussi limité le développement de nouvelles thérapies. Dans cette revue, nous examinons diverses myopathies dans lesquelles des progrès dans la compréhension de la pathogenèse, réalisés récemment, ouvrent de nouvelles perspectives thérapeutiques.

## UNE ANOMALIE DE LA PROTÉOLYSE CELLULAIRE PEUT INDUIRE UNE AMYLOÏDGENÈSE ET UNE RÉACTION IMMUNITAIRE ; L'EXEMPLE DE LA MYOSITE À INCLUSIONS

La myosite sporadique à inclusions (s-IBM) est la plus fréquente des myopathies après l'âge de 50 ans. Elle a été initialement décrite lors de l'essor de l'étude ultrastructurale des biopsies musculaires. La découverte de vacuoles bordées avec inclusions dans des cas de myosites considérées comme polymyosites, a permis d'introduire le terme. Le début est progressif, révélé par une fatigabilité musculaire et le déficit moteur prédomine sur les muscles proximaux. Le caractère asymétrique de la distribution et l'atteinte sélective de certains muscles sont évocateurs :<sup>1,2</sup> atteinte du quadriceps aux membres inférieurs, fléchisseurs des doigts aux membres supérieurs.

L'immunohistochimie a permis de préciser la nature des inclusions.<sup>1,3</sup> Il existe des dépôts de protéines amyloïdes, notamment la protéine bêta-amyloïde. Cette protéine et la protéine précurseur s'accumulent dans les fibres vacuolisées, sous le sarcolemme ou à l'extérieur de la fibre sous forme de matériel amorphe. Par ailleurs, l'ubiquitine, protéine physiologique de transport et de régulation de la protéolyse, est anormalement présente dans les IBM. L'ubiquitine permet le transport des protéines cellulaires anormales, notamment les protéines filamentaires du cytosquelette, vers le système protéolytique lysosomal, puis leur dégradation. Or, cette protéine est anormalement abondante et suggère une anomalie de la protéolyse cellulaire induisant une amyloïdogenèse et une réaction immunitaire (figure 1). Les inclusions cytoplasmiques pourraient



également correspondre à des dépôts d'une protéine associée aux microtubules qui constituent, avec les filaments d'actine, la trame protéique du cytosquelette des cellules permettant le déplacement des organites dans le cytoplasme. Ces microtubules sont constitués de tubuline et des protéines MAP (*microtubule-associated proteins*). Les inclusions pourraient correspondre à une protéine MAP, soit sous sa forme normalement phosphorylée, la protéine tau, soit sous sa forme anormalement phosphorylée, la protéine ALZ 50. D'autres protéines précurseurs ou non de la protéine bêta-amyloïde, notamment apolipoprotéine E, alpha-1-antichymotrypsine et protéine prion, ont été mises en évidence en excès dans les IBM, raison pour laquelle certains auteurs ont rapproché l'IBM de la maladie d'Alzheimer.<sup>3</sup>

### UNE NOUVELLE VOIE PATHOLOGIQUE CENTRÉE SUR L'UBIQUITINE (MALADIES À INCLUSIONS, DÉMENCES ET MALADIE OSSEUSE DE PAGET)

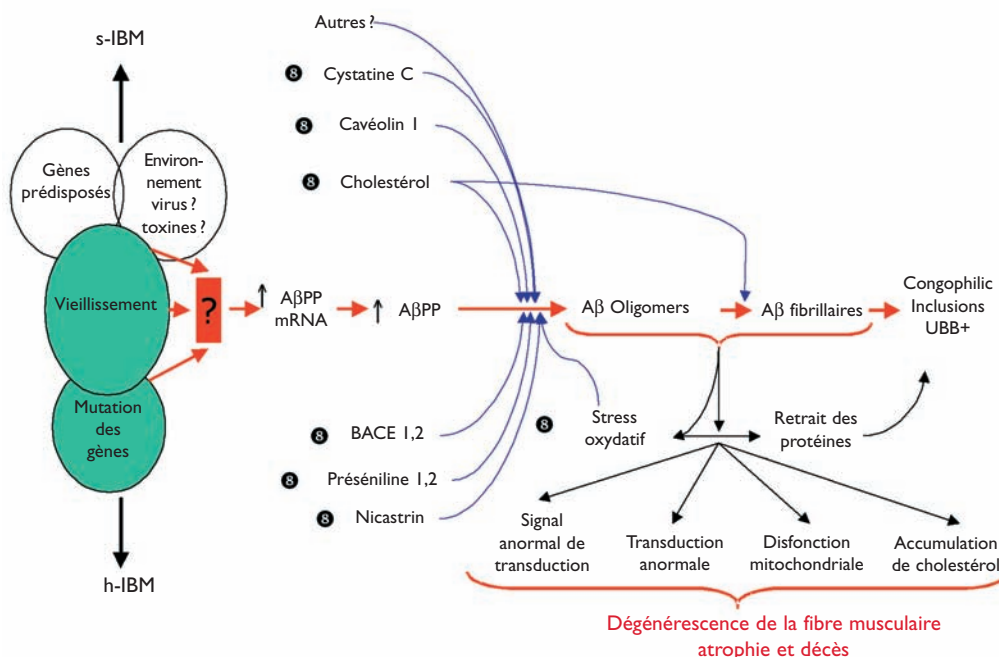
En 2001, Kovach et coll.<sup>4</sup> rapportaient quatre familles associant IBM, maladie de Paget et démence fronto-temporale (IBM-P-DFT). En 2004, l'étude de treize familles permettait d'identifier des mutations du gène VCP en 9q13-p12.<sup>5</sup> La répartition des pathologies était myopathie (82%), Paget (49%), démence (30 %) avec un âge de début inférieur à 60 ans. Les biopsies musculaires révélaient des agrégats cytoplasmiques marquant VCP. VCP est une ATPase et est impliquée dans plusieurs voies biologiques comme la reconstruction de l'enveloppe nucléaire, du cycle cellulaire,

de la réparation de l'ADN, de la suppression d'apoptose, ainsi que dans les mécanismes de transport intranucléaire liés à l'ubiquitine et de la dégradation de protéines ubiquitinées par le protéasome. Les mutations de VCP concernent les sites de liaison à l'ubiquitine, parmi d'autres mécanismes dont la compréhension est à venir; elles élargissent le spectre des DFT mais surtout illustrent une fois de plus que les mécanismes perturbant l'adressage des protéines au protéasome sont sources de pathologies neurodégénératives. Pour les cliniciens, cette maladie à expressivité variable démontre que devant une démence du sujet jeune, l'interrogatoire sans a priori sur les différentes pathologies qui touchent différents membres d'une même famille peut s'avérer riche d'enseignements.

### UNE STRUCTURE GLYCOPROTÉIQUE PERMET UN ANCRAGE DES PROTÉINES CONTRACTILES AU SARCOLEMME

La contraction musculaire cardiaque et squelettique aboutit à une déformation mécanique cellulaire avec un raccourcissement; au cours de ce processus, la machinerie contractile à l'intérieur de la fibre musculaire est connectée avec la membrane cellulaire (sarcolemme) et la matrice extracellulaire. Sans ces ancrages, le mouvement ne peut être transmis correctement et les myocytes pourraient endommager leur membrane cellulaire.

Les dystrophies musculaires (DM) sont caractérisées par une parésie amyotrophique progressive et les gènes responsables codant pour des protéines du DGC (complexe-



**Figure 1. Cascade pathogène dans les myosites à inclusions<sup>3</sup>**

La s-IBM est considérée comme une myopathie multifactorielle liée à l'âge. Les agents prédisposants concourent à la surexpression du précurseur de la bêta protéine de l'amyloïde (bêta-APP) et accroît l'amyloïdogénèse; c'est ce processus qui augmente le stress oxydatif et d'autres troubles du métabolisme cellulaire aboutissant à la destruction du myocyte.



dystrophine-glycoprotéines), de la matrice extracellulaire (qui lie le DGC) et des enzymes nécessaires à la glycosylation des dystroglycanes. Le déficit du complexe DGC entraîne une rupture du lien entre la matrice extracellulaire et le cytosquelette.<sup>6</sup>

Lors de mutations de gènes codant pour ces protéines, les éléments du complexe DGC sont instables, rendant les fibres musculaires susceptibles aux contraintes mécaniques. La fragilité de la membrane musculaire aboutit à une réentrée de composants extracellulaires, notamment l'entrée de calcium ; il en résulte une activation des protéases et de phospholipases qui va aboutir à une digestion myofibrillaire et à une destruction de la membrane cellulaire se terminant par une nécrose.

### LES MALADIES MUSCULAIRES IMPLIQUÉES DANS COMPLEXE DGC SONT LA DYSTROPHIE MUSCULAIRE DE DUCHENNE (DMD) ET LES DM DES CEINTURES

La DMD est la forme la plus sévère des DM, causée par mutation du gène de la dystrophine. Une difficulté à la marche et à l'utilisation des escaliers est observée chez les garçons aux alentours de quatre ans. Il existe une progression de la maladie avec perte de la déambulation vers l'âge de douze ans. La faiblesse du diaphragme est à l'origine de problèmes respiratoires. Les patients restant ambulants au-delà de seize ans sont considérés comme présentant la forme allélique de la maladie, la DM de Becker. D'autres phénotypes sont possibles, comme la cardiomyopathie dilatée isolée, dont l'évolution peut aboutir à une insuffisance cardiaque sévère.

Les DM des ceintures forment un groupe hétérogène. Leur classification a considérablement évolué puisqu'à ce jour quinze loci sont connus (dix autosomiques récessifs et cinq dominants). La myopathie des ceintures avec déficit en calpaïne et celle avec déficit en dysferline sont les deux plus fréquentes.

#### Calpaïnopathie

La découverte d'un isolat de patients dans l'île de la Réunion a permis de cartographier le gène,<sup>7</sup> qui code pour la calpaïne 3 ; il s'agit d'une enzyme et on était loin d'imaginer qu'elle puisse être à l'origine d'une DM à la différence des mutations des protéines du complexe DGC. Le début des signes survient habituellement entre dix et quinze ans et se traduit par un déficit musculaire des ceintures, lentement progressif.<sup>6</sup> Le contraste avec la relative préservation du quadriceps est évocateur du diagnostic, d'où l'intérêt à une imagerie musculaire à un stade précoce. Il n'y a pas d'atteinte cardiaque. Le diagnostic est basé sur la mise en évidence d'une absence de calpaïne. Les calpaïnes représentent une famille d'enzymes protéolytiques calcium-dépendant dont seule la calpaïne 3, appelée aussi P94, est spécifique aux muscles.<sup>6</sup> La calpaïne est impliquée dans la fusion des myoblastes en myotubes, l'activation d'enzymes (exemple : PKC alpha, caspase 3) mais est antiapoptotique. Son absence aboutirait ainsi à une absence d'inhibition de l'apoptose dans les myocytes.

#### Dysferlinopathie

La myopathie des ceintures avec déficit en dysferline est une DM récessive.<sup>8</sup> Le gène muté peut donner lieu à deux entités différentes : une myopathie des ceintures, et une myopathie distale des membres inférieurs, de type Miyoshi. A l'intérieur d'une même famille, la coexistence des deux myopathies est possible. L'absence de dysferline chez les souris entraîne une DM lentement progressive. Il a été démontré que la dysferline était la première protéine identifiée intervenant dans la réparation de la membrane musculaire.<sup>9</sup> Les dysferlinopathies apparaissent ainsi comme une nouvelle classe de DM où le mécanisme de réparation (et non la structure) de la membrane cytoplasmique est anormale.

### DES APPROCHES PHARMACOLOGIQUES POURRAIENT S'AVÉRER UTILES POUR PRÉSERVER LES FONCTIONS MUSCULAIRES DANS LES DM, EN ATTENDANT LE DÉVELOPPEMENT DES THÉRAPIES GÉNIQUES

La dégradation des protéines du muscle, que l'on trouve dans la DM de Duchenne, est principalement provoquée par l'enzyme de la calpaïne, une enzyme destructrice de protéines, ou protéase, activée par le calcium.<sup>6</sup> Les cellules musculaires contiennent une forme inactive de cette enzyme. Lorsque les membranes des cellules musculaires sont endommagées par l'absence de dystrophine, les ions calcium activent la calpaïne, conduisant à la destruction de la majorité des protéines. Les inhibiteurs de calpaïne, tels que la leupeptine – un tripeptide modifié – permettent d'arrêter la dégradation du muscle chez la souris. La leupeptine, qui peut être administrée par voie orale, pourrait par conséquent s'avérer être un traitement de la DM de Duchenne. Lors d'une étude préliminaire en Italie, sept garçons atteints ont été traités pendant un an avec des doses très faibles de leupeptine. L'activité de leur créatine kinase (CK) a beaucoup diminué : d'environ 10 000 U/L elle a atteint un taux entre 600 et 2000 U/L, mais sans qu'une amélioration clinique ne soit observée.

La *myostatine*, appelée aussi facteur 8 de différenciation de croissance, GDF-8, est une protéine inactive, qui activée provoque une cascade de signaux interrompant la régulation génétique de la synthèse des protéines musculaires. On ne comprend pas encore bien comment cela se produit, mais on a pensé qu'en inactivant la myostatine on pourrait favoriser la régénération musculaire et même augmenter leur masse.<sup>10</sup> Lors d'une première approche pour bloquer l'activité de la myostatine, on a utilisé un anticorps monoclonal chez des souris. Une solution contenant ces anticorps a été injectée dans le muscle diaphragme de souris mdx une fois par semaine ; trois mois après le fonctionnement musculaire était en effet meilleur et l'activité des CK était abaissée. Lors d'une seconde approche, un propeptide artificiel a été utilisé et les résultats étaient proches de ceux obtenus lors de la première approche. Ces résultats ont conduit à des études cliniques, qui sont en cours. Il faut toutefois bien comprendre que ce type de traitement ne pourrait pas permettre une guérison de la DM de Duchenne car la cause génétique de la maladie ne serait pas supprimée. Toutefois, en comparaison avec les



autres méthodes, celle-ci aurait l'avantage de ne pas entraîner de problèmes d'immunité ou de toxicité, ni aucun risque génétique provoqué par l'utilisation de virus. Des industries pharmaceutiques s'intéressent déjà à cette technique car l'augmentation de la masse musculaire concerne également les personnes âgées et les personnes atteintes de maladie entraînant une dégénérescence des muscles.

## LA DYSTROPHIE MYOTONIQUE DE STEINERT EST DUE À UNE MALADIE DE L'ÉPISSAGE DE L'ARN MESSAGER

La dystrophie myotonique de type 1, DMI, est la forme adulte de DM la plus fréquente; elle est caractérisée par une parésie amyotrophiant progressive et une myotonie (raideur, difficulté à la décontraction musculaire). C'est une maladie de transmission autosomique dominante avec anticipation, la maladie tend à s'aggraver avec les générations. Elle présente une grande variabilité d'expression; de formes bénignes tardives jusqu'aux formes graves du nouveau-né. Les signes cliniques comprennent une atteinte oculaire et endocrinienne, des perturbations du rythme cardiaque et du transit gastrointestinal, une atteinte musculaire avec myotonie, parfois des troubles neurologiques avec un retard intellectuel modéré. Un suivi annuel multidisciplinaire est préconisé pour la prise en charge et la surveillance des patients atteints de cette affection.

Les patients ont une répétition d'anomalies géniques consistant en une expansion anormale de répétition de codons CTG situés à l'extrémité non codante du gène. Les allèles normaux comportent moins de 30 répétitions; au-delà de 50 répétitions, l'allèle est pathologique. Un nombre élevé de répétitions s'accompagne d'une plus grande sévérité de la maladie; dans les formes peu symptomatiques, le nombre de CTG est compris entre 50 et 100; il dépasse plusieurs Kgb (1 kgb = 333 CTG) dans les formes néonatales. L'instabilité méiotique de l'expansion CTG anormale explique le phénomène d'anticipation observé cliniquement. Une instabilité mitotique est également notée chez les patients dont le nombre de répétitions varie selon les tissus étudiés et tend à augmenter avec l'âge.

La DMI est causée par l'expansion du triplet CTG situé dans la région de la myotonine protéine kinase (DMPK).

Toutefois, il a été démontré que la plupart des symptômes de la maladie seraient liés à l'accumulation nucléaire de l'ARNm de DMPK portant l'expansion.<sup>11</sup> Ces ARNm mutés se lient à des facteurs nucléaires formant des agrégats dans les noyaux des cellules, engendrant des effets toxiques sur le métabolisme cellulaire et sur l'épissage alternatif de certains ARNm (l'épissage ou *splicing* en anglais consiste en l'excision des introns et le «rabotage» des exons. Les exons ainsi retenus vont permettre à l'ARNm mature d'être traduit en protéines).

La destruction sélective de l'ARNm mutant de DMPK permettrait de maintenir un niveau basal de la protéine DMPK dans les myocytes. En effet, en exprimant de longs antisenses à l'ARNm de DMPK par un oncorétrovirus, on peut observer une restauration de la fusion cellulaire, de la capture de glucose ainsi qu'une diminution de *CUG-binding protein* (CUGBP), un facteur d'épissage alternatif. Par ailleurs, la surexpression de hnRNP H, un facteur d'épissage liant les expansions de CUG, permet aussi de diminuer les niveaux de CUGBP et ainsi de corriger le défaut d'épissage alternatif du récepteur à l'insuline.<sup>12,13</sup> Ces résultats démontrent pour la première fois le lien direct entre la rétention de l'ARN mutés, la déplétion nucléaire d'un facteur d'épissage s'y liant et l'exacerbation de certaines caractéristiques du phénotype DMI. La somme de ces observations permet d'établir un nouveau modèle expliquant la pathogenèse de la DMI et de valider la démarche consistant à détruire spécifiquement les transcrits mutés de DMPK comme une thérapie génique potentiellement efficace pour la DMI.

## CONCLUSIONS ET IMPLICATIONS PRATIQUES

La génétique d'animaux transgéniques et de modèles cellulaires trouve un champ d'application d'importance croissante pour l'étude de la physiopathologie des maladies humaines. Ces modèles sont de plus utiles pour rechercher et caractériser des molécules présentant un potentiel thérapeutique. Des retombées pratiques concrètes en myopathologie sont attendues par l'amélioration de la compréhension de ces quelques exemples de maladies musculaires. La centralisation à des plate-formes spécialisées en myologie clinique permettra le développement de ces perspectives thérapeutiques. ■

### Bibliographie

- 1 Kuntzer T, Lobrinus JA. Parésie indolore segmentaire progressive de l'adulte; myosites à inclusions. La Lettre du neurologue 2004;5:19-21.
- 2 \*\* Engel WK, Askanas V. Inclusion-body myositis: Clinical, diagnostic, and pathologic aspects. Neurology 2006;66(2 Suppl. 1):S20-9.
- 3 Askanas V, Engel WK. Inclusion-body myositis: A myodegenerative conformational disorder associated with Abeta, protein misfolding, and proteasome inhibition. Neurology 2006;66(2 Suppl. 1):S39-48.
- 4 Kovach MJ, Waggoner B, Leal SM, et al. Clinical delineation and localization to chromosome 9p13.3-p12 of a unique dominant disorder in four families: Hereditary inclusion body myopathy, Paget disease of bone, and frontotemporal dementia. Mol Genet Metab 2001;74: 458-75.
- 5 Watts GD, Wymer J, Kovach MJ, et al. Inclusion body myopathy associated with Paget disease of bone and frontotemporal dementia is caused by mutant valosin-containing protein. Nat Genet 2004;36:377-81.
- 6 \*\* Zatz M, Starling A. Calpains and disease. N Engl J Med 2005;352:2413-23.
- 7 Fardeau M, Hillaire D, Mignard C, et al. Juvenile limb-girdle muscular dystrophy. Clinical, histopathological and genetic data from a small community living in the Reunion Island. Brain 1996;119:295-308.
- 8 Liu J, Aoki M, Illa I, et al. Dysferlin, a novel skeletal muscle gene, is mutated in Miyoshi myopathy and limb girdle muscular dystrophy. Nat Genet 1998;20:31-6.
- 9 Bansal D, Miyake K, Vogel SS, et al. Defective membrane repair in dysferlin-deficient muscular dystrophy. Nature 2003;423:168-72.
- 10 Patel K, Amthor H. The function of Myostatin and strategies of Myostatin blockade-new hope for therapies aimed at promoting growth of skeletal muscle. Neuromuscul Disord 2005;15:117-26.
- 11 Langlois MA, Boniface C, Wang G, et al. Cytoplasmic and nuclear retained DMPK mRNAs are targets for RNA interference in myotonic dystrophy cells. J Biol Chem 2005;280:16949-54.
- 12 Langlois MA, Lee NS, Rossi JJ, Puymirat J. Hammerhead ribozyme-mediated destruction of nuclear foci in myotonic dystrophy myoblasts. Mol Ther 2003;7:670-80.
- 13 Kim DH, Langlois MA, Lee KB, et al. HnRNP H inhibits nuclear export of mRNA containing expanded CUG repeats and a distal branch point sequence. Nucleic Acids Res 2005;33:3866-74.

\* à lire

\*\* à lire absolument