



RÉPUBLIQUE  
FRANÇAISE

*Liberté  
Égalité  
Fraternité*

**anr**®  
agence nationale  
de la recherche



# 10 ans de recherche sur les maladies rares

PROJETS FINANCÉS  
SUR LA PÉRIODE 2011-2021

Les cahiers de l'ANR  
NUMÉRO 16 – JUIN 2023





## Les cahiers de l'ANR

*Les cahiers de l'ANR* traitent de questions thématiques transverses aux différents appels à projets financés par l'Agence nationale de la recherche (ANR). Cette collection, qui existe depuis 2009, met en perspective les recherches, les innovations et les avancées en cours dans un domaine spécifique. Sans prétention d'exhaustivité, son objectif est de revenir sur les enjeux sociétaux et les défis d'avenir identifiés par les communautés de recherche mobilisées sur une thématique. *Les cahiers de l'ANR* s'adressent aussi bien aux chercheurs qu'aux décideurs politiques et au grand public.

Le présent *cahier* constitue un bilan des projets maladies rares financés par l'ANR entre 2011 et 2021. Ce *cahier*, le 16<sup>e</sup> de la collection, a été conçu par le Département Biologie-Santé, en collaboration avec la Direction de l'information et de la communication.

Nous remercions les coordinateurs et les coordinatrices des projets présentés dans ce *cahier* ainsi que les personnes qui ont contribué à son écriture et à sa relecture.

Ce cahier dresse un bilan des projets financés par l'Agence nationale de la recherche dans le domaine des maladies rares de 2011 à 2021.

Une maladie rare est une maladie qui atteint moins d'une personne sur 2 000 en population générale. À ce jour, 5 000 à 8 000 maladies rares ont été identifiées. On estime qu'en France 4,5% de la population est atteinte d'une maladie rare (soit 3 millions de personnes). Seule une personne sur deux dispose d'un diagnostic précis qui nécessite parfois 5 ans pour être établi.

Les maladies rares constituent un enjeu de santé publique et la France joue un rôle pionnier dans ce domaine.

Depuis 2005, sous l'impulsion en particulier des associations de patients, la France s'est dotée de trois plans dédiés aux maladies rares. Les aspects de recherche sur les maladies rares ont été inclus dès le deuxième plan, en 2011, et poursuivis dans le troisième à partir de 2018.

L'ANR contribue à faire avancer la recherche dans ce domaine *via* ses différents appels à projets – nationaux, internationaux, France 2030 – qui ne sont pas dédiés spécifiquement aux maladies rares, mais qui financent des projets dans ce domaine. Elle a participé également (de 2007 à 2019) à un appel spécifique Maladies rares (ERA-Net E-Rare), et depuis 2019 participe au Programme conjoint européen sur les maladies rares (EJP RD).

Les différents aspects analysés dans ce cahier sont :

- l'apport et la complémentarité des différents types de financements de l'ANR attribués à la thématique maladies rares ;
- les pathologies maladies rares étudiées ;
- les types d'études réalisées sur ces pathologies ;
- la localisation géographique des équipes de recherche impliquées ;
- les retombées des résultats obtenus en termes de diagnostic, pronostic et soins.

L'ensemble des projets identifiés a permis de développer des études sur un grand nombre de maladies rares différentes couvrant différents domaines médicaux. Des données importantes ont été obtenues sur la compréhension des mécanismes à l'origine de ces pathologies, ce qui a permis la mise en place d'un grand nombre de tests diagnostiques et pronostiques performants. Des avancées importantes ont aussi été obtenues sur le développement de nouvelles approches thérapeutiques avec la mise en place de collaborations avec des équipes hospitalières ou des industriels, ou encore grâce à la création de start-ups.

Des exemples de ces différents types d'études et de leurs résultats sont présentés à la fin de ce cahier, sous la forme de fiches rédigées par les porteurs de projets.

# Sommaire

P. 04

**LISTE DES ABRÉVIATIONS**

P. 06

**PARTIE 1 | CONTEXTE, ÉTAT DE L'ART  
SUR LES MALADIES RARES**

P. 09

**PARTIE 2 | LES ACTEURS  
ET L'ORGANISATION DE LA  
RECHERCHE SUR LES MALADIES  
RARES EN FRANCE**

P. 11

**PARTIE 3 | PROJETS FINANCÉS  
DANS LE CADRE DES APPELS À  
PROJETS GÉNÉRIQUES NATIONAUX  
ET INTERNATIONAUX DE L'ANR**

P. 12

Instruments de financements  
soutenant la recherche sur les MR

P. 17

Bilan financier

P. 20

Localisation géographique des  
équipes financées dans le cadre  
des projets collaboratifs  
concernant les MR

P. 22

Cartographie des partenariats  
européens et internationaux

P. 23

**PARTIE 4 | PROJETS FINANCÉS  
DANS LE CADRE DE FRANCE 2030**

P. 24

Instruments de financement  
soutenant la recherche sur les MR

P. 25

Bilan financier

P. 25

Projets et programmes structurants  
ou remarquables pour les MR

P. 26

Localisation géographique  
des projets France 2030

P. 27

Cartographie des collaborations  
internationales : le cas d'Imagine

P. 29

**PARTIE 5 | TYPOLOGIE ET IMPACT  
DES PROJETS FINANCÉS PAR L'ANR**

P. 30

Répartition des projets par  
domaines médicaux, par filières  
et par pathologies

P. 34

Typologie des projets nationaux  
et internationaux

P. 36

Impact des projets financés

P. 38

Bilans

P. 41

Conclusions générales

P. 44

**ANNEXE**

P. 47

**PARTIE 6 | EXEMPLES  
DE PROJETS FINANCÉS**

P. 48

Projets de recherche structurants

P. 55

Projets de recherche

P. 113

**FINANCEURS ÉTRANGERS**

P. 116

**INDEX DES FICHES PROJETS**

# LISTE DES ABRÉVIATIONS

|         |  |
|---------|--|
| AAP     | Appel à projets  |
| AAPG    | Appel à projets générique                                    |
| AFM     | Association française pour la myopathie                      |
| BNDMR   | Banque nationale de données sur les maladies rares           |
| CCMR    | Centres de compétences maladies rares                        |
| CE      | Comité d'évaluation  |
| CNSA    | Caisse nationale de solidarité pour l'autonomie              |
| COEN    | Centre of Excellence in Neurodegeneration                    |
| CRMR    | Centre de référence maladies rares                           |
| DGOS    | Direction générale de l'offre de soins                       |
| DPBS    | Démonstrateurs pré-industriels en biologie santé             |
| EJP     | European Joint Programme                                     |
| EJP RD  | European Joint Programme on Rare Diseases                    |
| EquipEx | Équipement d'excellence                                      |
| ERA-Net | European Research Area Network(s)                            |
| ERC     | European Research Council                                    |
| ERN     | European Reference Network                                   |
| FMR     | Fondation maladies rares                                     |
| IHU     | Institut hospitalo-universitaire                             |
| INBS    | Infrastructures nationales en biologie et santé              |
| IRDIRC  | International Rare Diseases Research Consortium              |
| ITMO    | Instituts thématiques multi-organismes                       |
| JCJC    | Jeunes Chercheuses et Jeunes Chercheurs                      |
| JPND    | Joint Programme Neurodegenerative Disease                    |
| LabEx   | Laboratoire d'excellence                                     |
| MR      | Maladie rare   |
| MRSEI   | Montage de réseaux scientifiques européens ou Internationaux |
| PNMR    | Plan national maladie rare                                   |
| PPR     | Programme prioritaire de recherche                           |
| PRC     | Programme recherche collaborative                            |
| PRCE    | Programme recherche collaborative- entreprise                |
| PRCI    | Programme recherche collaborative-international              |
| PRTS    | Programme recherche translationnelle en santé                |
| RaDiCo  | RAre DIsease COHORTS   |
| RHU     | Recherche hospitalo-universitaire                            |
| SATT    | Sociétés d'accélération du transfert de technologies         |
| TGIR    | Très grandes infrastructures de recherche                    |

# PARTIE 1 CONTEXTE, ÉTAT DE L'ART SUR LES MALADIES RARES



Une maladie rare (MR) est une maladie qui atteint moins d'une personne sur 2 000 en population générale. Les MR touchent environ 3 millions de personnes en France (et 30 millions en Europe). Leur nombre a été estimé entre 5 000 et 8 000<sup>(1)</sup>. Les deux enjeux majeurs dans le domaine des maladies rares sont de réduire l'errance diagnostique à laquelle font face les patients et de développer des thérapies. En effet, 50 % des patients atteints d'une maladie rare ne sont pas diagnostiqués de manière précise et, pour un quart d'entre eux, le diagnostic prend en moyenne 5 ans pour être établi. Par ailleurs, une fois le diagnostic établi, seulement 5 à 6 % des patients ont accès à un traitement. Ces difficultés à établir les diagnostics retardent aussi la découverte de nouveaux traitements. Les maladies rares représentent donc un important problème de santé publique.

Étant donné le nombre grandissant de MR répertoriées, un accroissement constant des capacités en recherche et développement dans ce domaine est nécessaire pour répondre aux besoins des patients. Selon une étude sur les essais cliniques publiée en 2022 par le Leem (l'organisation professionnelle des entreprises de médicament), les MR bénéficient d'une recherche clinique forte (22 % des essais à promotion industrielle, soit 2 801 essais cliniques). Mais plus de la moitié de ces essais (55 %) traitent de l'oncologie rare, alors que les cancers rares sont loin de représenter la moitié des maladies rares<sup>(2)</sup>. Ces données révèlent un important déficit d'essais cliniques sur les MR ne concernant pas l'oncologie et l'importance de mener des recherches dans ce domaine.

L'intérêt soutenu pour les MR en France a pour origine un engagement fort des patients et de leur famille, qui a d'abord conduit à la création de l'Association française contre les myopathies en 1958, puis à l'Association française de lutte contre la mucoviscidose en 1965 et, plus récemment, à l'Alliance maladies rares (2000). Par ailleurs, l'État français a rapidement pris la mesure des enjeux dans ce domaine et soutenu de nombreuses actions dont l'obtention d'une prise en charge totale des soins par la Sécurité sociale, la création d'une mission des « médicaments orphelins » (1995), et le financement d'une ligne d'assistance téléphonique pour les malades (1995).

Cette politique volontariste a joué un rôle important dans l'adoption en 2000 du règlement européen sur les médicaments orphelins. D'une manière générale, comme nous le verrons plus loin, la France a été à l'initiative de plusieurs actions européennes.

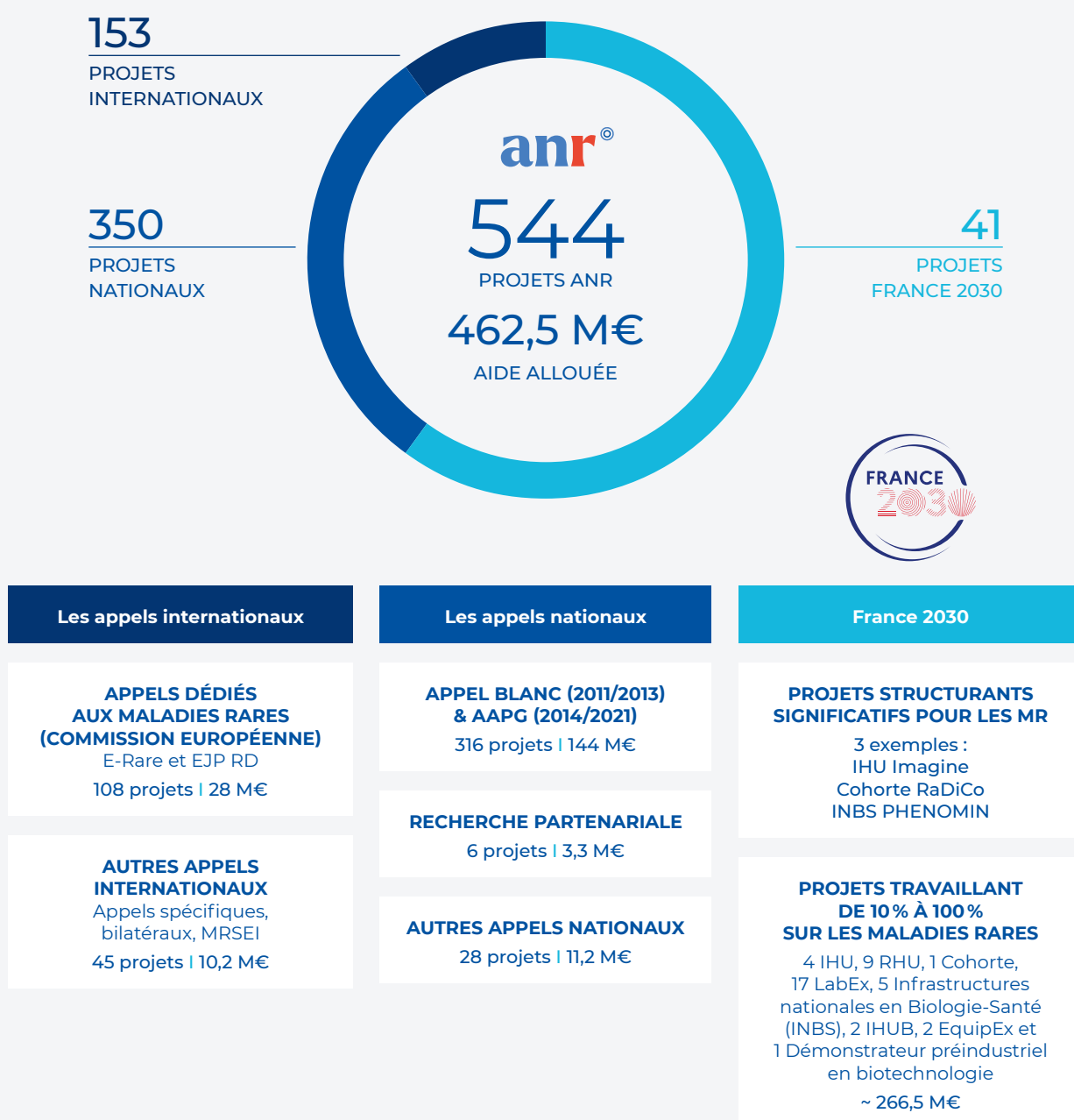
Depuis 2004, l'État français a engagé trois Plans nationaux maladies rares ou PNM. Le PNM1 (2005-2008) visait à « Assurer l'équité pour l'accès au diagnostic, au traitement et à la prise en charge ». Le PNM2 (2011-2016), « Qualité de la prise en charge, Recherche, Europe : une ambition renouvelée », visait un renforcement de la qualité des soins, mais aussi de la recherche en France, et ce dans le cadre européen. Parmi les actions soutenues, on peut citer : la prise en charge des patients, l'organisation de l'accès aux soins et à l'expertise, et le développement de la prévention et de la recherche avec : la structuration des Centres de référence (CRMR) et des Centres de compétences maladies rares (CCMR) ; la création des Filières de santé maladies rares (FSMR) qui ont constitué la base de la création des réseaux de référence européens (les ERNs) ; l'optimisation de la collecte de données et de la conservation des échantillons. Le troisième Plan national maladies rares (PNM3) (2018-2022), « Partager l'innovation, un diagnostic et un traitement pour chacun », avait en particulier l'ambition d'améliorer le diagnostic et le traitement des MR<sup>(3)</sup>.

La contribution de l'ANR au domaine des maladies rares a commencé dès sa création en 2005 par le financement de projets de recherche au sein de l'appel BLANC, sur le plan national et au niveau international *via* le premier ERA-Net E-Rare (2007-2011). En 2011, une dynamique nationale de recherche sur les MR a été impulsée dans le cadre du PNM2<sup>(4)</sup>. L'ANR a financé un nombre important de projets dans ce domaine, à la fois au niveau national et dans un cadre international. En parallèle, *via* le Programme d'investissements d'avenir – devenu France 2030 –, ce même plan a permis la mise en place de structures qui ont fortement stimulé le développement des recherches sur les MR en France.

Une synthèse des projets financés en fonction des instruments de financement de l'ANR est présentée dans la Figure 1.

1. Haendel M., et al. (2020) How many rare diseases are there?, *Nat Rev Drug Discov*, 19(2), pp. 77-78. <https://doi.org/10.1038/d41573-019-00180-y>.
2. <https://www.leem.org/publication/rapport-d-horizon-scanning-sur-les-maladies-rares>.
3. [https://sante.gouv.fr/IMG/pdf/plan\\_national\\_maladies\\_rares\\_2018-2022.pdf](https://sante.gouv.fr/IMG/pdf/plan_national_maladies_rares_2018-2022.pdf).
4. [https://sante.gouv.fr/IMG/pdf/plan\\_national\\_maladies\\_rares\\_2011-2014.pdf](https://sante.gouv.fr/IMG/pdf/plan_national_maladies_rares_2011-2014.pdf).

Figure 1. Synthèse des projets concernant les maladies rares financés par l'ANR.



# **PARTIE 2**

# **LES ACTEURS ET L'ORGANISATION DE LA RECHERCHE SUR LES MALADIES RARES EN FRANCE**

## Les acteurs publics de la recherche dans le domaine des MR

L'ITMO Génétique, génomique et bio-informatique (GGB) d'Aviesan assure une coordination de la recherche sur les MR en France en animant le groupe miroir qui rassemble les principaux acteurs impliqués dans le domaine des MR : les organismes de recherche, les ministères de la Santé et de la Prévention, de l'Enseignement supérieur et de la Recherche, les associations de patients, ainsi que les financeurs privés ou publics.

Les établissements de santé et les grands organismes de recherche – en particulier l'Inserm, le CNRS et le CEA, ainsi que les universités – participent largement, au travers de leurs laboratoires, équipements et personnels, au développement de la recherche sur les maladies rares. L'INRAE, l'Institut Pasteur et l'Institut Curie participent à des degrés divers à l'effort de recherche dans ce domaine, leurs priorités en termes de pathologies étant respectivement : la santé animale, l'infectiologie et la cancérologie.

Par ailleurs, deux structures spécifiques, importantes pour le développement des recherches sur les MR, ont été créées dans le cadre du PNMR2 : la Banque nationale de données sur les maladies rares (BNDMR<sup>(5)</sup>) et Orphanet<sup>(6)</sup>.

- La BNDMR a mis en place un système sécurisé rassemblant les données médicales anonymisées de tous les patients français répertoriés comme étant atteints d'une maladie rare, ce qui a permis de développer un registre national BaNaMaRa servant de base aux études épidémiologiques sur les MR.

- Orphanet est une source unique d'informations, rassemblant et produisant des connaissances sur les maladies rares, utiles pour la recherche, mais aussi pour établir et améliorer le diagnostic, ainsi que la prise en charge et le traitement des patients. À noter qu'Orphanet maintient également la nomenclature Orphanet des maladies rares (ORPHAcode), essentielle pour le traitement des données sur les MR dans les systèmes d'information de santé et de recherche.

Outre les grands organismes de recherche, d'autres agences nationales participent au financement des recherches sur les MR : la DGOS, la CNSA, Bpifrance et l'ANR. Nous présentons ici le bilan de l'action de l'ANR dans ce domaine sur la période 2011-2021.

Dans le cadre du PNMR3, l'État a mis en place un Programme prioritaire de recherche (PPR) sur les MR, doté de 20 M€ sur 10 ans, pour permettre la mise en œuvre de deux mesures majeures<sup>(7)</sup>. La première visait à renforcer et accompagner la collecte de données clinicobiologiques, la constitution de cohortes et de registres, ainsi que leur utilisation et leur valorisation. Cette mesure s'est concrétisée par le lancement en 2021 d'un appel à manifestations d'intérêt sélectif France 2030 « Maladies rares : accélérer la recherche et l'innovation sur les maladies rares grâce aux bases de données », géré par l'ANR, qui permettra le financement de 11 projets concernant les MR dès l'année suivante, pour un budget total de 16 M€. La seconde mesure, gérée par l'Inserm, visait à réduire l'impasse diagnostique des patients.

À partir de 2019, le gouvernement a également décidé de renforcer la coopération entre équipes cliniques et équipes de recherche fondamentale spécialistes de génétique et/ou physiopathologie, en attribuant pendant 5 ans un budget supplémentaire de 2 M€/an à des projets nationaux collaboratifs soumis dans le cadre de l'axe recherche translationnelle de l'appel à projets national ANR.

## Les acteurs privés dans le domaine des MR

Depuis de nombreuses années, les recherches sur les maladies rares en France ont bénéficié d'une impulsion forte de la société civile, et tout particulièrement des associations de patients, telles que l'AFM-Téléthon, Vaincre la mucoviscidose, la Fondation maladies rares (FMR) et EURORDIS-Rare Diseases qui ont permis de grandes avancées sociales, réglementaires, mais aussi au niveau de la recherche tant en France qu'en Europe.

Du côté des entreprises, malgré l'investissement de certains grands groupes pharmaceutiques ou d'entreprises de taille moyenne, telles qu'Ipser, ces efforts ne permettent pas de couvrir toutes les maladies. Peu de grandes entreprises privées s'intéressent aux maladies rares, et en particulier aux maladies dites ultra-rares. En outre, les innovations de pointe sont souvent obtenues par de petites structures. C'est ainsi que les acteurs issus des organismes de recherche/établissements hospitaliers et/ou de la société civile ont démontré un important dynamisme dans la création de spin-offs ou start-ups avec des modèles de développement innovants et alternatifs.

Il faut noter que, dans le domaine des MR, en France, certaines start-ups ont été créées par des membres de la société civile (non scientifiques) ayant un membre de leur famille atteint d'une MR (ex. Lysogene ou AtmosR). D'une manière générale, les start-ups qui développent des thérapies ciblant spécifiquement une maladie ou un groupe de maladies rares doivent souvent prendre appui sur d'autres start-ups, ou sur des plateformes développant des approches thérapeutiques spécifiques, telles que : 1) la thérapie génique ou la thérapie cellulaire avec, comme exemple, la start-up TreeFrog Therapeutics qui collabore avec l'Institut hospitalo-universitaire *Imagine* et est soutenue par Bpifrance et la SATT Aquitaine ; 2) les thérapies ADN ou ARN ; et 3) d'autres approches reposant sur le repositionnement de médicaments (ex. Apteeus).

5. <https://www.bndmr.fr/>

6. <https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/index.php?lng=FR>

7. [https://sante.gouv.fr/IMG/pdf/plan\\_national\\_maladies\\_rares\\_2018-2022.pdf](https://sante.gouv.fr/IMG/pdf/plan_national_maladies_rares_2018-2022.pdf)

# **PARTIE 3** **PROJETS FINANCÉS** **DANS LE CADRE** **DES APPELS À PROJETS** **NATIONAUX ET** **INTERNATIONAUX** **DE L'ANR**

## Instruments de financements soutenant la recherche sur les MR

L'analyse a porté sur les projets financés dans le cadre des appels à projets (AAP) de l'ANR lancés au niveau national et international entre 2011 et 2021, ceci hors France 2030 (les projets financés dans le cadre de France 2030 sont traités dans le chapitre suivant). L'année de l'édition de l'appel, et non l'année de démarrage des projets, a été prise en compte. La recherche a été effectuée à l'aide de mots-clés correspondant à la thématique MR sur l'ensemble des projets financés par l'ANR, qu'ils soient nationaux ou internationaux.

Ensuite, chaque projet retenu par cette approche a été analysé en utilisant le texte du projet déposé, le rapport final ainsi que les publications issues du projet, ceci pour valider ou non l'appartenance à la thématique MR, mais aussi afin d'en tirer un certain nombre d'informations sur les caractéristiques des différents projets identifiés et sur les résultats obtenus, informations qui seront résumées dans le texte qui suit. Au total, 503 projets correspondant aux différents instruments de financement de l'ANR (hors France 2023) ont été répertoriés (Tableau 1).

**Tableau 1. Nombre de projets financés et aide totale allouée par instrument de financement.**

|  | Nb. de projets | Aide allouée (M€) |
|--|----------------|-------------------|
| <b>National</b>                                  |                |                   |
| Projets collaboratifs*                           | 279            | 136,7             |
| Jeunes chercheurs et jeunes chercheuses (JCJC)   | 54             | 15,3              |
| Émergence  | 5              | 1,4               |
| Covid  | 5              | 0,5               |
| Retour Post-Doc (2011-2013)                      | 4              | 2,5               |
| Chaires d'excellence                             | 2              | 2,3               |
| Tremplin-ERC                                     | 1              | 0,1               |
| <b>International</b>                             |                |                   |
| <b>Internationaux spécifiques</b>                |                |                   |
| Accords bilatéraux                               | 20             | 6,3               |
| MRSEI  | 10             | 0,3               |
| <b>Dans le cadre de la Commission européenne</b> |                |                   |
| ERA-Net  | 82             | 20,1              |
| EJP  | 40             | 11,2              |
| COEN   | 1              | 0,3               |

\* Projets collaboratifs : incluant les AAP de l'appel BLANC (2011-2013) et les AAPG (depuis 2014).

## Projets collaboratifs nationaux

Depuis 2014, l'appel à projets générique (AAPG) est le principal outil de financement de l'ANR, hors France 2030. L'AAPG inclut plusieurs instruments de financement, le principal étant les Projets de recherche collaboratifs (PRC), rassemblant plusieurs équipes ou laboratoires académiques possédant des compétences complémentaires nécessaires à la réalisation du projet. L'AAPG inclut aussi des projets développés en collaboration avec des industriels (projets PRCE) – où une collaboration scientifique réelle doit être établie entre l'entreprise partenaire et les partenaires académiques –, ainsi que des projets dits bilatéraux (PRCI), au travers desquels une ou plusieurs équipes françaises collaborent avec une ou plusieurs équipes financées par une agence étrangère de financement ayant signé un accord avec l'ANR. Les résultats de l'analyse des projets PRCI sont présentés plus bas, dans la section correspondant aux recherches menées dans le cadre de collaborations internationales. L'AAPG inclut aussi l'instrument Jeunes chercheuses et jeunes chercheurs (JCJC). Il vise à favoriser la prise d'indépendance de jeunes scientifiques talentueux, au cours des 10 années qui suivent l'obtention de leur doctorat, en les aidant financièrement à développer une recherche de pointe et à acquérir une reconnaissance internationale dans leur domaine, ceci en harmonie avec leur laboratoire d'accueil.

L'AAPG est structuré en différents axes scientifiques, chacun correspondant à un Comité scientifique d'évaluation (CE). Bien que le nombre d'axes ait quelque peu évolué au cours du temps, les axes majeurs concernant les maladies rares sont restés constants depuis 2014<sup>(8)</sup>.

Notre analyse montre que, d'une manière assez logique, les projets concernant les maladies rares correspondent principalement aux axes Recherche translationnelle en santé (Comité 17), Physiologie et physiopathologie (Comité 14), Neurosciences moléculaires et cellulaires – Neurobiologie du développement (Comité 16), Innovation biomédicale (Comité 18) et Génétique, génomique et ARN (Comité 12) (Figure 2).

8. <https://anr.fr/fr/detail/call/aapg-appel-a-projets-generique-2023/>

Figure 2. Répartition des 223 projets MR sélectionnés de 2014 à 2021 dans le cadre des appels PRC, PRCE et JCJC dans les différents axes thématiques de l'AAPG ANR. Cette analyse ne couvre pas la période 2011-2014 car les axes étaient différents.

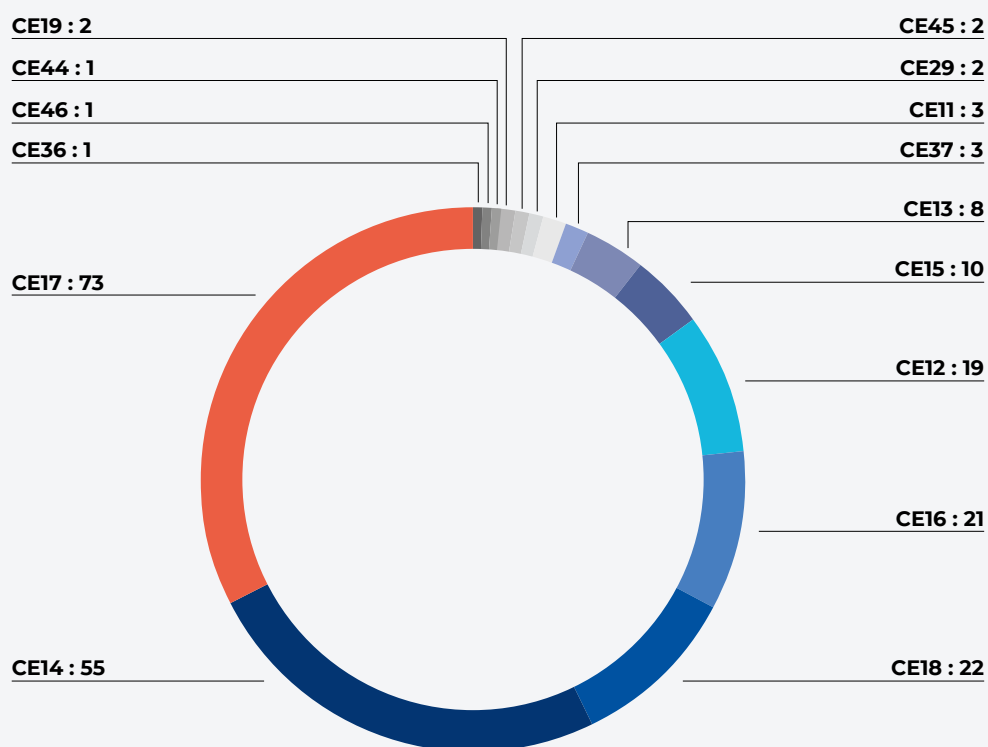


Tableau des comités de sélection de l'ANR et leurs intitulés.

|      |   |
|------|---|
| CE11 | Caractérisation des structures et relations structure-fonction des macromolécules biologiques |
| CE12 | Génétique, génomique et ARN   |
| CE13 | Biologie cellulaire, biologie du développement et de l'évolution                              |
| CE14 | Physiologie et physiopathologie   |
| CE15 | Immunologie, Infectiologie et Inflammation  |
| CE16 | Neurosciences moléculaires et cellulaires – Neurobiologie du développement                    |
| CE17 | Recherche translationnelle en santé   |
| CE18 | Innovation biomédicale  |
| CE19 | Technologies pour la santé  |
| CE36 | Santé publique, santé et sociétés   |
| CE37 | Neurosciences intégratives et cognitives  |
| CE44 | Biochimie et chimie du vivant   |
| CE45 | Interfaces : mathématiques, sciences du numérique / biologie, santé                           |
| CE46 | Modèles numériques, simulations, applications   |
| CE52 | Médecine régénérative   |

### Résultats de la priorité MR dans la recherche translationnelle (2019-2022)

Les projets ayant bénéficié de la priorité recherche translationnelle lancée dans le cadre du PNMR3 ne sont pas terminés. L'impact de cette priorité ne peut donc pas encore être mesuré. La priorité semble avoir joué le rôle escompté en attirant de nombreux postulants vers l'axe de recherche translationnelle, le nombre de projets MR soumis ayant doublé entre 2018 et 2019 et les projets financés étant passés de sept en 2018 à 22 en 2022 (Tableau 2). Il faut néanmoins relativiser cette augmentation en tenant compte du fait que le taux moyen de sélection dans le département Biologie-Santé est passé de 16% en 2018 à 23% en 2021.

Tableau 2. Comparaison du nombre de projets soumis et financés par le Comité 17 dans le domaine des MR et en totalité (2018-2022).

|   | 2018 | 2019 | 2020 | 2021 | 2022 |
|---|------|------|------|------|------|
| Nb. total de projets soumis             | 219  | 204  | 241  | 241  | 261  |
| Nb. de projets MR soumis                | 27   | 54   | 67   | 49   | 53   |
| Nb. total de projets financés           | 26   | 32   | 40   | 64   | 87   |
| Nb. de projets MR financés              | 7    | 11   | 17   | 15   | 22   |
| Nb. de projets financés sur la priorité | N/A  | 3    | 3    | 3    | 3    |

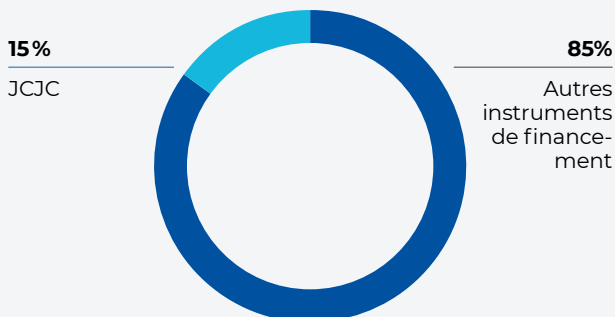
### Le rôle des appels JCJC dans la promotion de jeunes chercheurs travaillant sur les maladies rares

Depuis 2011, un instrument spécifique est dédié au financement des jeunes chercheuses et des jeunes chercheurs. Cet instrument est inclus dans l'AAPG depuis 2014.

Pour un axe scientifique donné, les projets JCJC, PRC et PRCE sont évalués par un même comité (voir la liste des comités page précédente). Pour pouvoir déposer un projet à l'appel JCJC, le jeune chercheur ou la jeune chercheuse doit avoir soutenu sa thèse depuis moins de 10 ans et, depuis 2022, ne pas occuper un poste permanent depuis plus de 5 ans.

En moyenne, dans le domaine des MR, la proportion de projets JCJC financés par rapport aux projets financés dans les autres instruments s'élève à 15% (Figure 3).

Figure 3. Proportion des projets JCJC au sein de l'ensemble des projets nationaux MR de 2011 à 2021.



Notre analyse montre qu'entre 2011 et 2021, 67 jeunes chercheuses ou chercheurs ont été financés pour développer un projet concernant les MR (Tableau 3). Ces projets se répartissent entre divers domaines médicaux avec une forte dominance des projets en neurobiologie, suivis par l'hématologie/immunologie et les maladies cardiovasculaires. Quatre projets ont été financés par l'instrument Retour post-doc de 2011 à 2013, et un projet dans le cadre de l'appel Tremplin-ERC. Au niveau international, l'ERA-Net E-Rare-2 a lancé un appel à projet JCJC en 2012 dans lequel huit projets incluant des équipes françaises ont été financés.

Comme nous le verrons plus loin, plusieurs bénéficiaires de l'aide JCJC sont devenus des chercheurs très reconnus dans le domaine des MR.

### Autres appels nationaux

16 projets concernant les MR ont également été financés *via* des instruments de financement nationaux incluant les appels Émergence (Émergence et maturation de projets de biotechnologie et de technologie pour la santé), les appels Covid en 2020 et 2021, l'appel Retour Post-Doc, ainsi que l'appel Chaire d'excellence (Tableau 3, colonne de droite).

Tableau 3. Répartition par domaines médicaux des 67 projets JCJC financés entre 2011 et 2021 et des 16 projets issus d'AAP nationaux autres que les appels PRC et PRCE.

| Domaines médicaux          | Nb. de projets Jeunes chercheuses et jeunes chercheurs | Autres projets nationaux |
|----------------------------|--|--------------------------|
| Neurologie                 | 20   | 5                        |
| Hématologie/Immunologie    | 10   | 6                        |
| Cardio-vasculaire          | 7  |                          |
| Myologie                   | 5  |                          |
| Métabolisme                | 4  | 2                        |
| Dysmorphologie             | 4  |                          |
| Ophtalmologie              | 3  | 1                        |
| Pneumologie                | 2  |                          |
| Génétique ou chromosomique | 2  | 1                        |
| Rhumatologie               | 2  |                          |
| Néphrologie/Urologie       | 2  | 1                        |
| Dermatologie               | 1  |                          |
| Toutes                     | 4  |                          |
| Autre                      | 1  |                          |

### Projets collaboratifs internationaux

Cet intitulé rassemble les projets correspondant à des collaborations bilatérales (appelés PRCI) sélectionnés dans le cadre de l'AAPG, mais aussi les projets sélectionnés dans le cadre du programme MRSEI et les initiatives de collaborations multinationales européennes.

1/ Des appels pour des collaborations bilatérales internationales ouverts à quelques pays existaient déjà de 2011 à 2013 dans le cadre de l'appel BLANC international. Ce type d'appel a été intégré à l'AAPG à partir de 2014, avec comme partenaires étrangers



pour le domaine de la biologie : la DFG (Deutsch Forshungs Gemeinschaft) pour l'Allemagne, le FNS (Fonds national de recherche) pour la Suisse, et le FWF (Austrian Science Fund) pour l'Autriche. Les évaluations sont alternativement réalisées par l'ANR et l'agence de financement étrangère. Des projets maladies rares sélectionnés ont essentiellement été identifiés dans l'appel commun avec la DFG, démontrant le potentiel des collaborations franco-allemandes dans ce domaine. L'ANR a ainsi financé 31 projets pour un montant d'environ 9,7 M€.

2/ Le programme MRSEI a été créé pour donner les moyens aux scientifiques travaillant dans des laboratoires français de déposer, en tant que coordinateur ou coordinatrice, un projet de recherche lors d'appels collaboratifs européens (H2020, Horizon Europe) ou

d'autres appels internationaux de haut niveau, afin de développer des projets interdisciplinaires ambitieux et de renforcer leur visibilité au niveau international. L'évaluation des propositions est réalisée au fil de l'eau (plusieurs vagues par an), et l'aide reçue (30 000 € maximum sur 2 ans) finance les actions permettant d'élaborer ou de renforcer le réseau scientifique pour aider le coordinateur ou la coordinatrice à monter le projet européen ou international. Cet instrument a permis d'accompagner la création de 10 réseaux portant sur les MR pour un montant total de 285 000 €. Sur les sept projets MRSEI financés par l'ANR entre 2011 et 2020, deux ont réussi à obtenir un financement européen (Tableau 4). Pour les trois projets issus de l'édition 2021, les résultats de la candidature aux AAP européens ne seront connus qu'à partir de 2024.

Tableau 4. Les deux projets issus de l'appel MRSEI financés par la Commission européenne.

| Acronyme du projet | Budget (€) | Coordination | Lien  |
|--------------------|------------|--------------|---|
| ENHPATHY           | 3 992 397  | Inserm       | <a href="https://cordis.europa.eu/project/id/860002">https://cordis.europa.eu/project/id/860002</a> |
| ImmunAID           | 15 835 851 | Inserm       | <a href="https://cordis.europa.eu/project/id/779295">https://cordis.europa.eu/project/id/779295</a> |

3/ Depuis sa création, l'ANR participe aussi à des appels organisés dans le cadre d'initiatives multinationales cofinancées par la Commission européenne. L'une d'elle est dédiée aux maladies rares et correspond à une succession de trois ERA-Net E-Rare (de 2007 à 2019), suivis depuis 2019 du Programme conjoint européen sur les MR (EJP RD). D'autres appels européens du même type, dédiés au domaine cardiovasculaire et à la neurobiologie, ont par ailleurs aussi permis le financement de projets sur les MR : ERA-Net ERA-CVD (cardiovasculaire), Neuron, le Programme joint européen sur les maladies neurodégénératives (JPND) ou encore le réseau des Centres d'excellence en neurodégénérescence (Network of Centres of Excellence in Neurodegeneration, COEN).

Contrairement à ce qui se passe pour l'AAPG, les thématiques et les financements des appels à projets collaboratifs européens diffèrent chaque année pour l'EJ PRD. Ces thématiques sont déterminées par des membres du comité scientifique d'IRDIRC (International Rare

Diseases Research Consortium) et des membres du panel d'évaluation des AAP d'E-Rare et de l'EJP RD. Les financements dépendent du nombre d'agences participant aux AAP et du montant apporté par chacune. Chaque agence décide de sa participation à un AAP en fonction de ses priorités nationales. Le Tableau 5 montre les différentes thématiques des AAP d'E-Rare et de l'EJP RD entre 2011 et 2021. Il est à noter que les AAP de 2016 et 2021 sont les seuls appels lancés sur les essais cliniques et en Sciences humaines et sociales (SHS), ce qui a eu pour conséquence une baisse des projets soumis ces années-là. L'AAP sur les essais cliniques (financé par la DGOS, mais géré par l'ANR) a permis de mettre en évidence un manque d'harmonisation dans les procédures d'autorisation des différentes agences européennes de sécurité des médicaments. Cette faible réponse aux appels d'offres sur les essais cliniques est à déplorer car, du fait de la rareté des patients, le montage d'essais cliniques à plusieurs pays est indispensable pour réussir.

Tableau 5. Thématiques des AAP des ERA-Net d'E-Rare et de l'EJP RD.

#### E-Rare / E-Rare-2

| Année | Thématique  | Titre de l'AAP  | Nb. de projets soumis |                 | Nb. de projets financés |                 | Budget       |             |
|-------|-------------|---|-----------------------|-----------------|-------------------------|-----------------|--------------|-------------|
|       |             |   | Totaux                | Avec équipes FR | Totaux                  | Avec équipes FR | Totaux       | ANR         |
| 2011  | Général     | Recherche translationnelle sur les maladies rares                           | 139                   | 106             | 13                      | 13              | 9 481 639 €  | 2 153 767 € |
| 2012  | JCJC        | Recherche translationnelle sur les maladies rares                           | 82                    | 56              | 11                      | 7               | 8 776 160 €  | 2 029 088 € |
| 2013  | Général     | Recherche translationnelle sur les maladies rares                           | 165                   | 107             | 12                      | 9               | 8 199 785 €  | 2 029 088 € |
| 2014  | Préclinique | Développement d'approches thérapeutiques innovantes pour les maladies rares | 141                   | 77              | 14                      | 9               | 10 788 197 € | 2 296 282 € |

**E-Rare-3**

| Année   | Thématique                             | Titre de l'AAP   | Nb. de projets soumis |                 | Nb. de projets financés |                 | Budget       |               |
|---------|--|--|-----------------------|-----------------|-------------------------|-----------------|--------------|---------------|
|         |  |  | Totaux                | Avec équipes FR | Totaux                  | Avec équipes FR | Totaux       | ANR           |
| 2015*   | Général                                | Recherche translationnelle sur les maladies rares  | 234                   | 135             | 19                      | 15              | 18 375 221 € | 3 461 922 €   |
| 2016**  | Clinique                               | Études précliniques et cliniques pour de nouvelles utilisations thérapeutiques de molécules déjà existantes (repositionnement) dans les maladies rares | 30                    | 22              | 8                       | 5               | 11 155 855 € | 1 140 639 €** |
| JTC2017 | Préclinique                            | Développement préclinique d'approches thérapeutiques dans des modèles cellulaires ou animaux appropriés  | 132                   | 86              | 11                      | 8               | 11 420 054 € | 2 491 340 €   |
| JTC2018 | Diagnostic et mécanismes pathologiques | Approches intégrées multi-omiques pour comprendre les maladies génétiques rares  | 143                   | 84              | 13                      | 9               | 16 970 249 € | 3 172 159 €   |

**EJP RD**

| Année    | Thématique                             | Titre de l'AAP  | Nb. de projets soumis |                 | Nb. de projets financés |                 | Budget       |             |
|----------|--|---|-----------------------|-----------------|-------------------------|-----------------|--------------|-------------|
|          |  |   | Totaux                | Avec équipes FR | Totaux                  | Avec équipes FR | Totaux       | ANR         |
| JTC2019* | Diagnostic et mécanismes pathologiques | Projets de recherche pour accélérer le diagnostic et/ou explorer la progression et les mécanismes des maladies rares  | 217                   | 147             | 23                      | 20              | 27 384 488 € | 5 170 875 € |
| JTC2020* | Préclinique                            | Recherche préclinique pour développer des thérapies efficaces pour les maladies rares   | 173                   | 104             | 18                      | 11              | 24 317 379 € | 2 685 570 € |
| JTC2021  | Sciences humaines et sociales          | Recherche en Sciences humaines et sociales pour améliorer l'implémentation de la santé et la vie de tous les jours des personnes vivant avec une maladie rare | 38                    | 22              | 10                      | 6               | 11 480 086 € | 2 156 687 € |

\*AAP cofinancé par la Commission européenne

\*\*AAP financé par la DGOS et géré par l'ANR

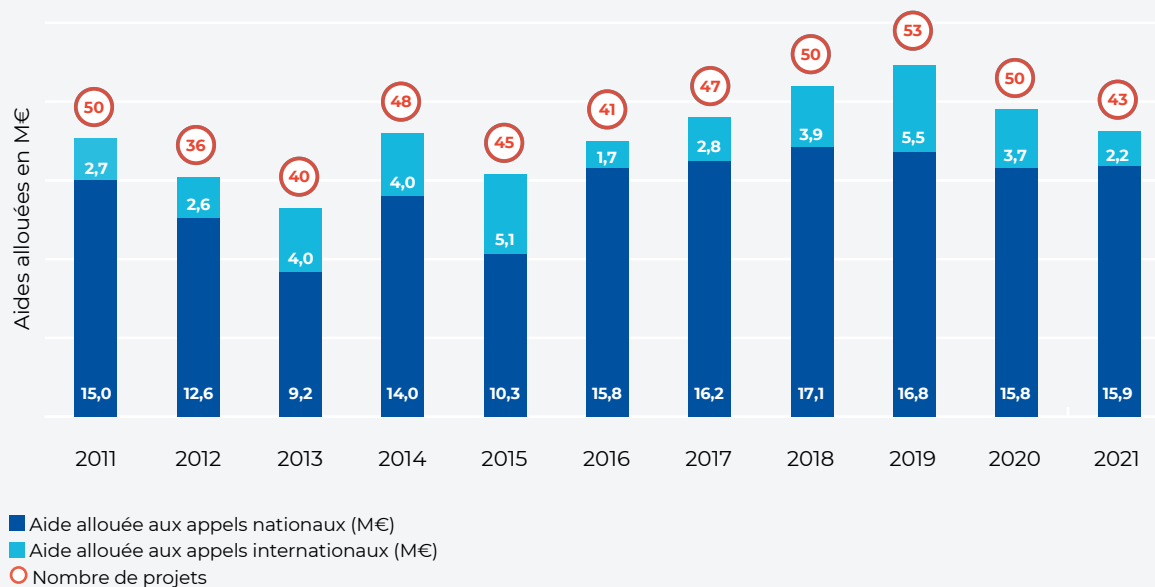
## Bilan financier

### Répartition financière annuelle entre appels nationaux et appels internationaux

En terme de volume financier, l'aide allouée aux maladies rares sur la période 2011-2021 suit globalement l'évolution du budget d'intervention de l'ANR jusqu'en 2019<sup>9)</sup>, à l'exception de 2014, où un plus grand nombre de projets MR ont été financés. Par contre, une diminution du nombre de projets financés sur les MR est observée en 2020 et 2021, alors que le budget d'intervention était en augmentation. L'aide allouée aux projets internationaux est plus variable pour les raisons déjà citées ci-dessus et aussi du fait d'un cofinancement par la Commission européenne sur certains appels des ERA-Net ou EJP.

En ce qui concerne les projets nationaux, les projets issus des appels à projets collaboratifs (appel BLANC et AAPG) représentent 80% des projets financés sur les maladies rares. Les projets MR issus des appels ANR spécifiques ne représentent que 5% des projets MR financés au niveau national. Ils sont issus des appels Recherche Action-Covid-19, Tremplin-ERC, Accueil de chercheurs de haut niveau, Retour post-doc, Chaires industrielles et Émergence. Les 15% restants correspondent aux projets JCJC.

Figure 4. Aides allouées (en M€) aux projets concernant les MR de 2011 à 2021 dans les appels nationaux et internationaux auxquels l'ANR a participé.



9. <https://anr.fr/fr/lanr/nous-connaître/budget/>

### Distribution financière annuelle pour les projets collaboratifs internationaux

La Figure 5 représente l'évolution annuelle du nombre de projets et de l'aide allouée aux projets MR internationaux financés par l'ANR de 2011 à 2021. 153 projets collaboratifs internationaux ont été financés, dont la majorité sont issus des initiatives multinationales européennes dédiées aux maladies rares : les ERA-Net d'E-Rare (de 2007 à 2018) et de l'EJP RD depuis 2019. Pour ces appels internationaux, on peut constater, qu'en général, plus il y a d'agences qui participent aux appels, plus le nombre de projets soumis est élevé lorsque les AAP concernent des investigations sur la compréhension des MR.

Le nombre de pays participant aux différents appels à projets multinationaux, de E-Rare-2 en 2011 à l'EJP RD en 2021, a régulièrement augmenté année après année, passant de 9 à 23 pays. Au cours de cette période, le coût global des projets s'élève à 160 M€, et la participation financière de l'ANR s'élève à environ 29 M€, derrière l'Allemagne (49,3 M€) (Figure 6).

Le pourcentage de projets de recherche incluant des équipes françaises dans les différents appels à projets d'E-Rare et de l'EJP RD (Figure 7) révèle que les équipes françaises sont en moyenne présentes dans plus de 70% des consortia de recherche financés, alors qu'elles ne sont présentes que dans 60% des consortia des projets soumis. Ce qui atteste un bon niveau de succès des consortia incluant des équipes françaises.

L'analyse des coordinations des projets financés montre une diminution des coordinations françaises depuis 2018. Une des explications de cette tendance est l'augmentation du nombre de pays participant à ces AAP entre 2011 et 2021, mais aussi le financement limité reçu par les équipes françaises, en particulier par rapport aux équipes allemandes.

Figure 5. Participation financière annuelle de l'ANR dans les projets internationaux par typologie d'appels. Le nombre de projets correspondant apparaît au-dessus de chaque barre.

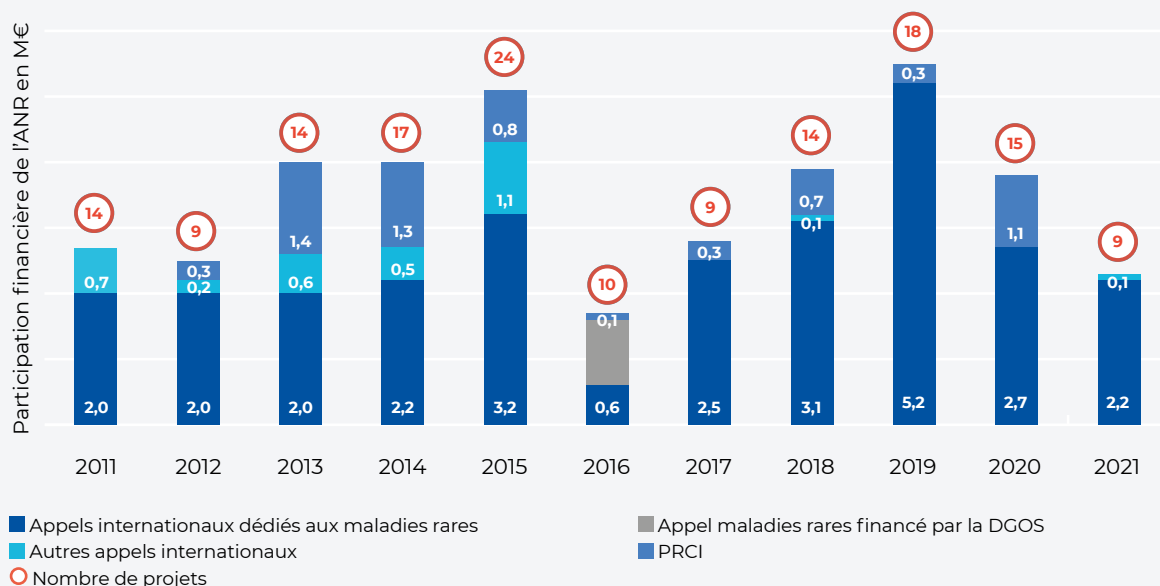


Figure 6. Participation financière de la France et des autres pays ayant participé aux appels transnationaux d'E-Rare et de l'EJP RD entre 2011 et 2021.

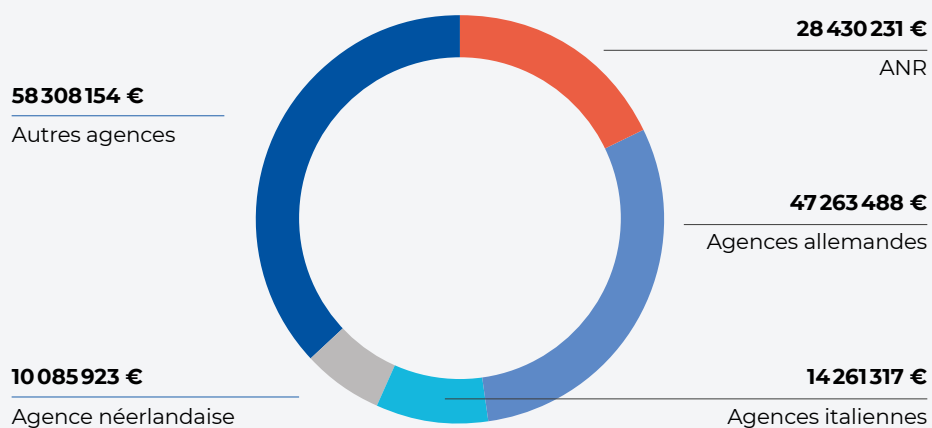
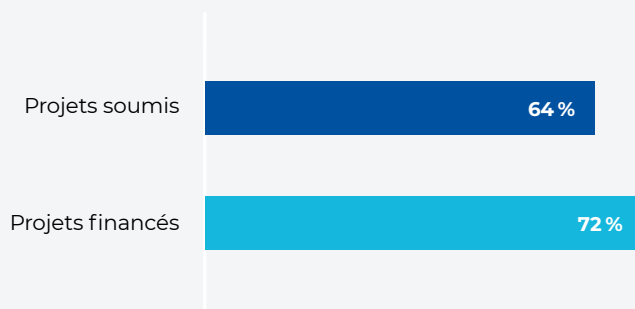


Figure 7. Pourcentage des projets soumis ou financés ayant un partenaire ou coordinateur français.

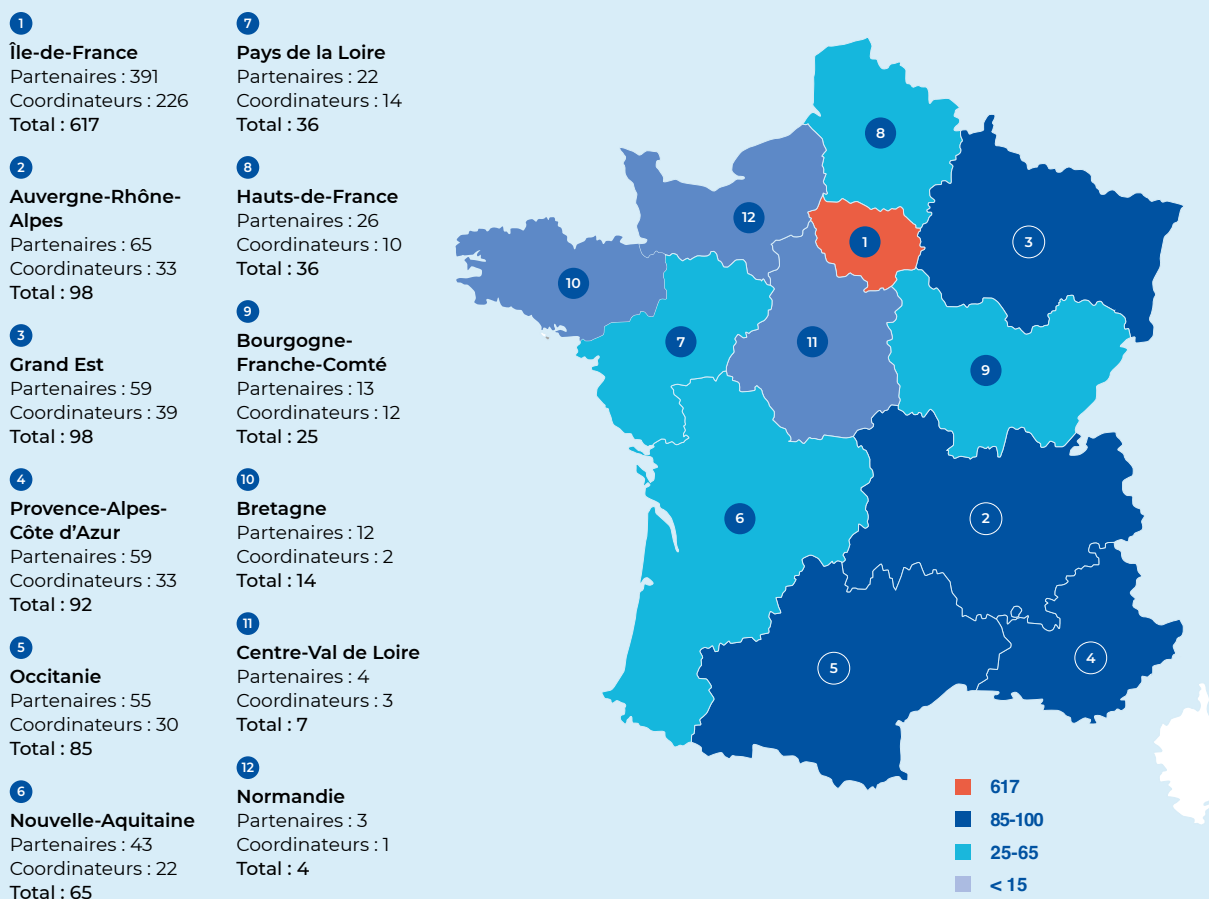


## Localisation géographique des équipes financées dans le cadre des projets collaboratifs concernant les MR

Une analyse des sommes allouées et des régions dont les équipes françaises financées sont issues montre, comme c'est le cas pour un grand nombre de thématiques, une prédominance de financement en Île-de-France (Figure 8). Les équipes de recherche travaillant sur les MR en Île-de-France sont reconnues depuis plusieurs années pour leur excellence scientifique, particulièrement l'Institut

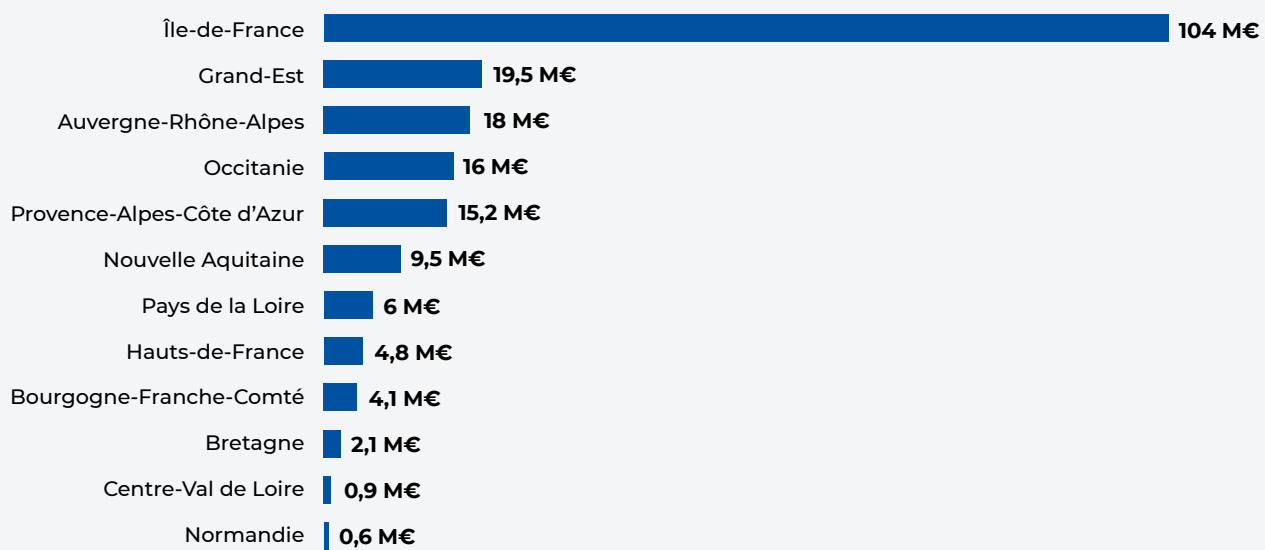
*Imagine*<sup>(10)</sup>, l'AP-HP (incluant Necker-Enfants malades), les laboratoires de l'AFM-Téléthon, l'Institut du cerveau, mais aussi les équipes d'universités telles que Sorbonne Université ou Université Paris-Saclay. Les autres grands centres de recherche sur les MR se situent : à Strasbourg, au niveau du CHU et de l'IGBMC ; à Lyon, avec l'université Claude Bernard, les Hospices civils de Lyon et l'Institut NeuroMyogène ; à Lille, à l'Université et à l'Institut Pasteur ; à Nantes, avec l'Institut du thorax ; les centres de recherche financés en Occitanie se situent à Montpellier et Toulouse ; et les centres financés en PACA à l'AP-HM à Marseille et au CHU de Nice.

Figure 8. Répartition régionale des chercheurs impliqués dans les projets des AAP nationaux et internationaux.



10. Une étude interne de l'ANR a mis en évidence que les chercheurs de l'Institut Imagine ont obtenu des financements à hauteur de 18 M€ sur les AAP nationaux et internationaux de 2012 à 2019.

Répartition par région des sommes allouées aux équipes de 2011 à 2021.



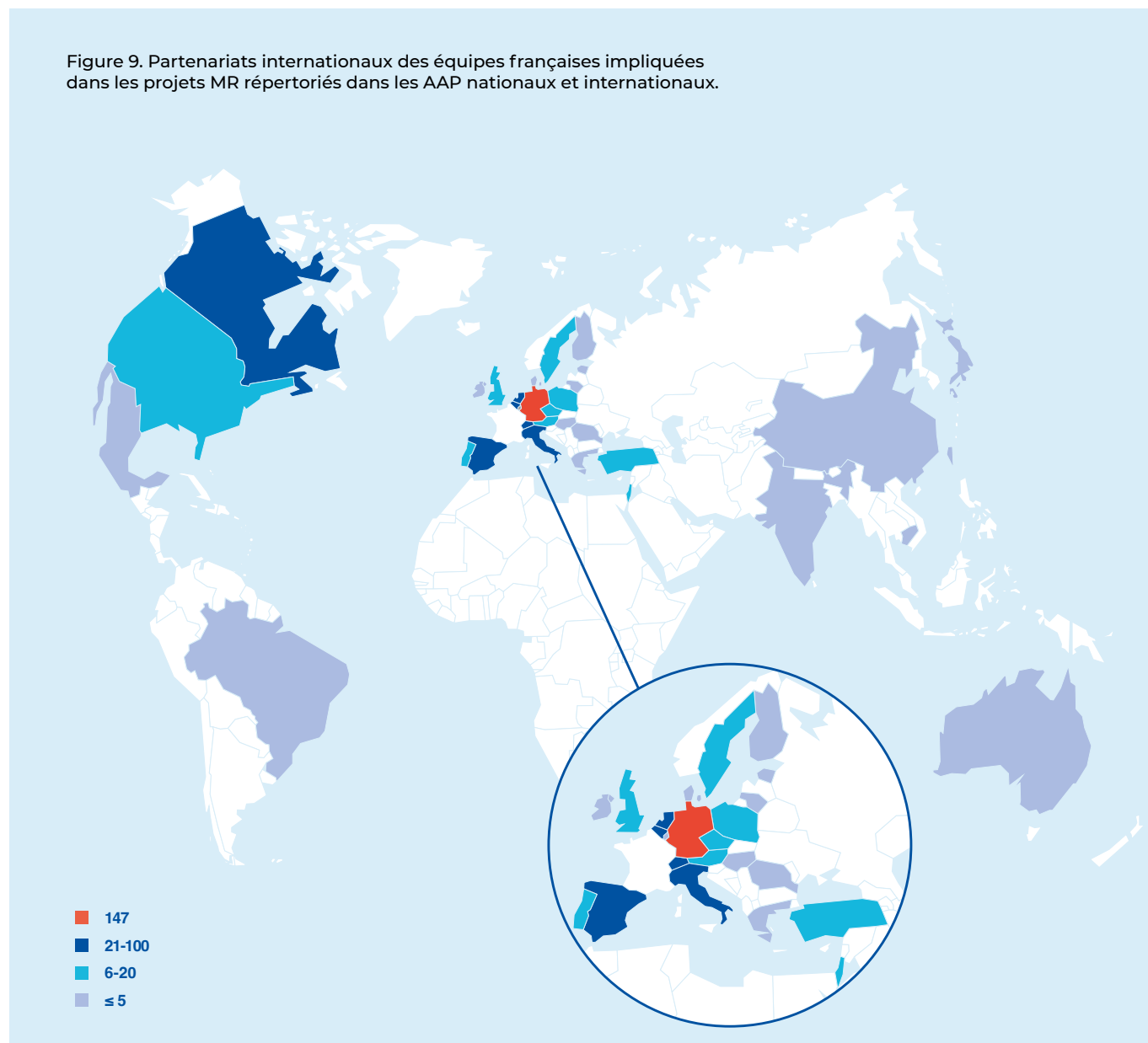
## Cartographie des partenariats européens et internationaux

Les partenariats internationaux de tous les projets collaboratifs de type PRCE et internationaux répertoriés ont été analysés (Figure 9). Les équipes françaises ont collaboré avec 33 pays différents, principalement les pays européens voisins : l'Allemagne, l'Italie, les Pays-Bas et l'Espagne. L'Allemagne est impliquée à la fois dans

l'action bilatérale et au niveau des ERA-Net et EJP, l'Italie, les Pays-Bas et l'Espagne sont partie prenante dans les ERA-Net et EJP. À ces pays européens s'ajoute le Canada, qui a fréquemment participé aux AAP des différentes initiatives européennes, en particulier celles d'E-Rare et de l'EJP RD.

Il est à noter que les collaborations avec les pays de l'EU-13 se sont renforcées depuis 2015, du fait de la mise en place de mesures incitant les collaborations avec les partenaires issus de ces pays dans les initiatives européennes.

Figure 9. Partenariats internationaux des équipes françaises impliquées dans les projets MR répertoriés dans les AAP nationaux et internationaux.





# **PARTIE 4** **PROJETS FINANCÉS** **DANS LE CADRE** **DE FRANCE 2030**

## Instruments de financement soutenant la recherche sur les MR

France 2030 se décompose en cinq programmes d'investissement de l'État (lancés en 2010, 2014, 2017-2020 et 2021), qui correspondent à l'engagement de nouveaux crédits pour poursuivre le déploiement du potentiel d'innovation et de croissance en France. L'ANR a été désignée par l'État comme l'un des opérateurs pour des actions de ce programme, assurant la mise en œuvre des appels à projets jusqu'au suivi des réalisations financées. France 2030 apporte par projet des financements significatifs sur des durées allant de 4 à plus de 10 ans.

Près de 80 actions ont été lancées depuis 2010, parmi lesquelles sept sont emblématiques pour la santé humaine, et plus particulièrement pour les MR.

- Les Instituts hospitalo-universitaires ou IHU : leur mission est de développer, dans leur domaine thématique, des compétences et une capacité de recherche de niveau mondial, incluant une infrastructure de recherche clinique et une infrastructure de recherche translationnelle ouvertes aux projets émanant de partenaires publics ou privés, d'origine nationale ou internationale. Deux appels à projets ont été ouverts en 2010 et 2018, à l'issue desquels sept projets d'IHU de rang A sont financés à hauteur de 45 à plus de 80 M€ et six IHU de rang B, financés à hauteur de 5 à 8 M€.
- Les Cohortes : cette action vise à doter la France de grands instruments épidémiologiques pour comprendre les déterminants de la santé, et optimiser les pratiques médicales et les politiques de santé publique. Les projets cohortes sont de type « instrument » plus que « projet de recherche », comme indiqué dans le texte de l'appel. Un appel à projets a été ouvert en 2010 à l'issue duquel 10 cohortes ont été financées, toutes très différentes les unes des autres aussi bien en termes d'objectifs scientifiques que de montage de projet.
- L'action Laboratoires d'excellence, dite LabEx, a pour objectifs de renforcer l'attractivité internationale de laboratoires ou de groupes de laboratoires français, ou encore d'équipes possédant déjà une réputation d'excellence et une visibilité internationale, par la mise en œuvre de politiques scientifiques de très haut niveau, et de participer à la structuration des sites concernés. Deux appels à projets ont été ouverts en 2010 et 2011, à l'issue desquels 45 LabEx en Biologie-Santé ont été financés.
- Le programme Infrastructure nationale en biologie et santé, ou INBS, a pour objectifs de permettre le développement d'infrastructures d'envergure nationale en biologie et en santé, et d'accélérer la mise en œuvre des feuilles de route nationales et européennes des très grandes infrastructures de recherche (TGIR) en sciences du vivant. Deux appels à projets ont été ouverts en 2010 et 2011, à l'issue desquels 22 INBS ont été financées, mais seules 18 sont relatives à la santé ou à la biologie humaine.
- Le programme Démonstrateurs pré-industriels en biologie santé, ou DPBS, entend favoriser le passage de la recherche fondamentale et appliquée à la production sur une échelle industrielle. Il donne la possibilité à des projets de tester rapidement la preuve de concept d'un passage d'une bioproduction en laboratoire à une bioproduction industrielle. Deux appels à projets ont été ouverts en 2010 et 2011, à l'issue desquels quatre DPBS ont été financés, dont trois concernent la santé humaine.
- L'action Équipements d'excellence, ou EquipEx, a pour destination de doter l'ensemble des secteurs scientifiques d'équipements mi-lourds (de 1 à 20 M€), capables d'offrir aux chercheurs un environnement de travail répondant aux critères internationaux de

qualité les plus exigeants. Deux appels à projets ont été ouverts en 2010 et 2011, à l'issue desquels 25 EquipEx relatifs à la biologie ou à la santé humaine ont été financés et dont plus de la moitié portent sur des équipements d'imagerie incluant l'imagerie préclinique et clinique.

- L'action Recherches hospitalo-universitaires, ou RHU, est un programme lancé en 2014. Elle vise à soutenir des projets de recherche translationnelle en santé ou de recherche clinique, appuyée sur des recherches fondamentales en biologie, en épidémiologie, en science sociale ou en économie de la santé, et à les prolonger en vue de bénéfices dans la prise en charge des patients, de l'amélioration de la compréhension des maladies, ainsi que la mise au point de traitements plus efficaces et mieux tolérés ou encore d'améliorer la performance des systèmes de soin. La présence d'entreprises privées dans le consortium a pour objet de faciliter un retour économique, médical et social des projets retenus. Quatre appels à projets ont été ouverts en 2014, 2015, 2016 et 2018, sélectionnant 39 RHU pour financement.

Aucun des Programmes d'investissements d'avenir lancés entre 2011 et 2021 n'était ciblé spécifiquement sur les maladies rares. Cependant, de par leurs objectifs initiaux présentés dans les documents de soumission, 12 projets issus de quatre programmes d'action décrits ci-dessus (neuf Recherches hospitalo-universitaires ou RHU ; un Institut hospitalo-universitaire ou IHU ; un Démonstrateur pré-industriel ; une Cohorte) ont été reconnus d'emblée comme proposant une recherche sur des maladies rares, avec une implication entre 50 et 100%.

Dans le cadre du PNMR3, l'État a mis en place un programme prioritaire de recherche (PPR) sur les MR, doté de 20 M€ sur 10 ans, pour permettre la mise en œuvre de deux mesures majeures : la première, gérée par l'Inserm, visait à réduire l'impasse diagnostique des patients (4 M€). La seconde visait à renforcer et accompagner la collecte de données clinico-biologiques, la constitution de cohortes et de registres, ainsi que leur utilisation et leur valorisation. Cette mesure s'est concrétisée par le lancement, en 2021, d'un appel à manifestations d'intérêt sélectif France 2030 : « Maladies rares : Accélérer la recherche et l'innovation sur les maladies rares grâce aux bases de données », géré par l'ANR, qui permet le financement de 11 projets concernant les MR dès 2022, pour un budget total de 16 M€<sup>(1)</sup>.

Afin d'identifier d'autres projets consacrés au domaine des maladies rares, des investigations ont été menées sur la base des projets eux-mêmes, de leur site internet le cas échéant, et de leurs publications scientifiques. La méthodologie employée pour identifier les projets MR France 2030 à partir des publications a été la suivante : après une recherche dans le WoS (*Web of Science*), un corpus, incluant l'ensemble des références bibliographiques 2011-2020 des projets France 2030 ayant remercié l'aide financière de l'État sous leur référence ANR distinctive, a été créé (soit près de 61 000 références). De ce corpus, environ 2 000 publications ayant un lien avec une ou des MR ont été identifiées, en utilisant des mots-clés trouvés dans le titre, le résumé, l'affiliation, les remerciements, le titre du journal ou la rubrique « mots-clés ». Une première recherche a été réalisée avec des mots-clés génériques (par exemple : *rare disease, rare, syndrome, disorder, hereditary, congenital, familial, mutation, deficiency, early-onset, juvenile, neonatal, patient, orphan, etc.*) et chaque publication contenant un de ces mots-clés a été analysée pour être répertoriée MR ou non.

11. Ces projets ne sont pas inclus dans l'analyse d'impact de ce cahier.

Une seconde recherche a été effectuée avec des mots-clés plus ciblés (*myopathy, atrophy, dysplasia, aenemia, mitochondr\**, *malaria* ou *Plasmodium, autism, sclerosis, dementia, dystrophy, dystonia*, etc.). Enfin, lorsque le nom d'une MR était repéré par ces approches, ce nom était systématiquement recherché dans le corpus de départ.

Cette analyse bibliographique a également permis d'estimer dans quelle proportion un projet était impliqué dans une ou plusieurs MR. Pour chaque projet France 2030 ayant au moins une publication identifiée comme décrit ci-dessus, l'implication dans une ou plusieurs maladies rares a été estimée par son nombre de publications MR rapporté au nombre total de ses publications, puis rapporté en pourcentage.

Ainsi, trois groupes de projets ont été définis selon leur degré d'implication dans le domaine MR : 1) groupe 1 de 13 projets, dont les 12 identifiés initialement, engagés entre 100 % et 40 % dans des MR et émanant de cinq programmes d'action (RHU (9 projets), Cohortes (un projet), IHU (un projet), DPBS (un projet) et LabEx (un projet)) ; 2) groupe 2 de 28 projets identifiés comme impliqués entre 40 et 10 % dans des recherches sur les MR et répartis dans quatre programmes d'action (LabEx, IHU, EquipEx, INBS) ; et 3) groupe 3 de 27 projets engagés à moins de 10 % (ce dernier groupe ne sera pas analysé dans le présent bilan).

Les deux listes des projets France 2030 appartenant aux groupes 1 et 2, avec le nom de l'action de rattachement et de l'établissement coordinateur, le nombre de partenaires, les dates de début et de fin, ainsi que la dotation totale non proratisée, sont consultables en annexe de ce cahier.

## Bilan financier

L'estimation des financements France 2030 a été déterminée pour les 41 projets impliqués entre 10 % et 100 % dans le domaine des MR. Pour chaque projet, la subvention allouée a été proratisée au pourcentage relatif au domaine MR.

Le budget France 2030 estimé consacré au domaine MR à fin 2021 s'élève à 266,5 M€.

## Projets et programmes structurants ou remarquables pour les MR

### Trois projets MR structurants emblématiques

Parmi les 41 projets France 2030 travaillant entre 100 et 10 % sur des MR, trois jouent un rôle prépondérant dans la structuration de la recherche nationale sur les maladies rares : la plateforme [RaDiCo](#) issue du programme Cohortes, l'Institut des maladies génétiques [Imagine](#) issu du programme IHU, et [PHENOMIN](#) issu du programme INBS.

La Cohorte [RaDiCo](#) (pour *RAre Disease COHORTS*) est une plateforme visant à constituer, à des fins de recherche, des cohortes d'envergure nationale et européenne de patients atteints de maladies rares. Par le biais d'un appel à projet interne lancé en 2014, [RaDiCo](#) s'est engagé à soutenir le développement de 13 cohortes maladies rares, en allant de la collecte, la structuration, le management (dont le contrôle qualité) jusqu'à l'analyse des données collectées. Pour plus d'informations, voir la fiche projet [RaDiCo](#) et son site web<sup>(12)</sup>.

La Fondation [Imagine](#) a été créée en 2007 par l'AP-HP, l'Inserm, l'Université Paris-Cité, la Fondation des Hôpitaux, la Ville de Paris et l'AFM-Téléthon. En 2011, l'Institut a été labellisé IHU (Institut hospitalo-universitaire) dans le cadre du premier Programme investissements d'avenir (France 2030). L'IHU [Imagine](#) est une entreprise pionnière et unique en Europe pour les maladies génétiques pédiatriques rares à l'hôpital Necker-Enfants malades (AP-HP), avec la vision d'intégrer la recherche fondamentale dans la pratique clinique. Les missions principales de l'Institut comprennent la recherche centrée sur le patient, dont l'identification et la caractérisation fonctionnelle des gènes sous-jacents aux maladies génétiques dans plusieurs domaines, les soins innovants, l'éducation et la formation, ainsi que le transfert de technologies. Pour en savoir plus, vous pouvez consulter la fiche projet [Imagine](#) et son site web<sup>(13)</sup>.

L'INBS [PHENOMIN](#) aide à la compréhension du génome, à la génération de modèles de maladies humaines et à l'expérimentation thérapeutique *in vivo*. Cette infrastructure a recours à la génétique murine pour analyser les mécanismes des maladies et a facilité l'accès aux modèles créés au profit de la recherche fondamentale et de la santé humaine. Dans le cadre des maladies rares, la Fondation maladies rares, [PHENOMIN](#) et l'Infrastructure nationale CELPHEDIA ont lancé un appel conjoint « Nouveaux modèles animaux expérimentaux de maladies rares » (en 2019), et trois appels conjoints successifs « Modèles souris et maladies rares » (en 2013, 2015 et 2017) pour donner une impulsion significative au développement de modèles murins, afin de : 1) mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques impliqués dans les maladies rares dont les gènes défectueux ont été identifiés ; et 2) tester et valider des preuves de concept, au niveau préclinique *in vivo*. 50 projets de nouveaux modèles de souris et trois projets de nouveaux modèles de rats ont été ou sont en cours de réalisation. Vous en apprendrez davantage en consultant la fiche projet [PHENOMIN](#) ou le site web<sup>(14)</sup>.

### Recherches cliniques au service des MR

Le programme Recherche hospitalo-universitaire en santé ou RHU a pour objectif de financer, à hauteur de 4 à 10 M€ sur une durée de 5 ans, des projets de recherche innovants, de nature translationnelle, avec un fort potentiel de transfert rapide vers la pratique des soins, la production industrielle, ou la mise en œuvre de politiques publiques, tout en s'engageant avec des partenaires privés. Parmi les 39 RHU des quatre premières vagues, de 2015 à 2018, neuf s'intéressaient à une maladie ou à un groupe de maladies rares (Tableau en annexe).

L'initiative RHU impose le développement d'un partenariat public-privé pour favoriser, entre autres, la recherche clinique et thérapeutique translationnelle et la promotion d'essais thérapeutiques. Les MR ont donc bénéficié de l'implication de diverses sociétés, allant de la conception de nouvelles molécules thérapeutiques à la production de thérapies innovantes, incluant des dispositifs de diagnostic et de suivi des patients.

Parmi ces partenariats, nous pouvons citer un grand groupe industriel (Sanofi/ATRACTION) ; une société de biotechnologie dans le développement de nouvelles molécules basé sur l'intelligence artificielle et la médecine de précision (Ariana Pharma/ATRACTION) ; des sociétés productrices de réactifs pour le diagnostic médical

12. <https://www.radico.fr/fr/>

13. <https://www.institutimagine.org/fr>

14. <http://www.phenomin.fr/fr-fr/>

(Euroimmun/BETPSY), de dispositif médical d'imagerie ostéoarticulaire (EOS imaging/COSY) ou d'imagerie à ultra-haute résolution de la rétine (Imagine Eyes/TRT-cSVD) ; des sociétés de développement de thérapies géniques innovantes (pour les troubles de l'oreille interne (Sensorion/ATRACTION) ou pour des maladies de l'œil (GenSight Biologics/LIGHT4DEAF), ou de bioproduction de vecteurs pour thérapie génique (Flash Therapeutics/IRIS) ; des sociétés de développement de logiciels (GENIOUS Systèmes/TRT-cSVD, KITWARE SAS/COSY) ; et enfin une start-up (Medetia C'IL-ICO).

Dans le cadre du programme Démonstrateurs pré-industriels, le projet PGT (Consortium pré-industriel des vecteurs de thérapie génique ou *Preindustrial Gene Therapy Vector Consortium*) a fait l'objet d'un financement. Ce projet, dont le coordinateur est le Généthon, a développé des procédés de production et de contrôle de médicaments de thérapies géniques innovantes. Depuis le début du programme PGT, des vecteurs, produits et contrôlés, ont permis la réalisation d'études précliniques et cliniques pour plus d'une dizaine de maladies rares.

### Infrastructure de recherche au service des MR

Outre l'infrastructure PHENOMIN, les projets issus du programme INBS sont susceptibles d'aider des travaux de recherches sur les MR, en recherche fondamentale, appliquée, préclinique ou clinique (Tableau en annexe). Le programme INBS devait permettre

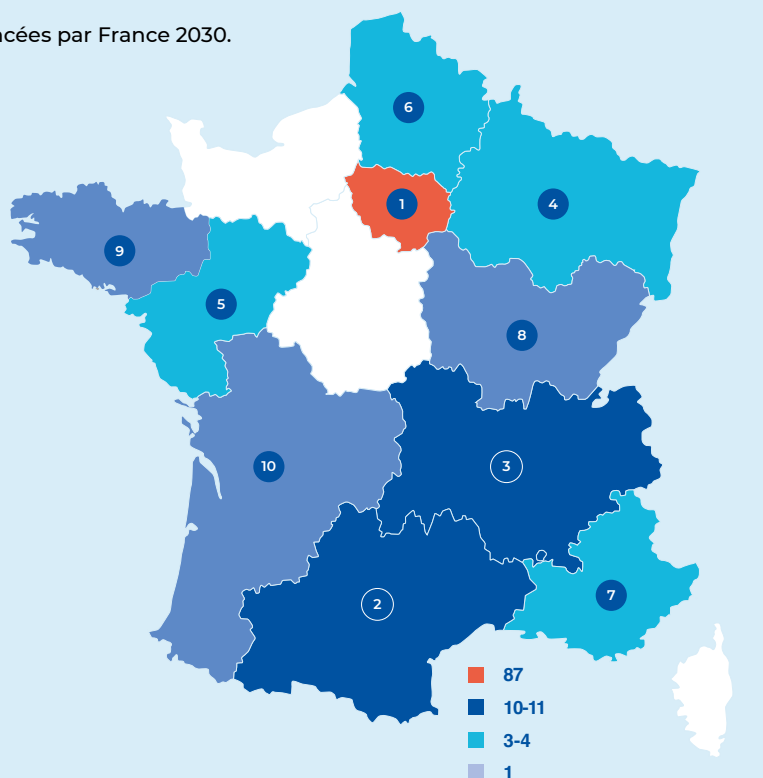
de financer, entre autres, des équipements, les développements technologiques nécessaires, les capacités de traitement bio-informatique des données générées, etc. Ce programme a pour objectifs de permettre le développement d'infrastructures d'envergure nationale en biologie et en santé, incluant la recherche de mutations, le développement de modèles expérimentaux (dont PHENOMIN, cité ci-dessus) et les technologies omics et leur exploitation. L'implication des INBS dans les MR, qui pour rappel est basée sur leur nombre de publications scientifiques sur ce sujet, peut être sous-estimée car les infrastructures ne sont pas systématiquement citées ou remerciées du fait de leur activité de prestataire de service.

### Localisation géographique des projets France 2030

La carte de France métropolitaine ci-dessous montre une centralisation importante en Île-de-France des établissements coordinateurs des 13 projets les plus impliqués dans les MR (92% des projets) (Figure 10). Cette répartition diffère fortement de celle de l'ensemble des établissements coordinateurs de tous les projets France 2030 en Biologie-Santé (moins de 50% des projets en Île-de-France, voir la Synthèse thématique en Biologie-Santé 2011-2018<sup>[15]</sup>).

Figure 10. Répartition régionale des équipes financées par France 2030.

|   |  |
|---|--|
| <p><b>1</b></p> <p><b>Île-de-France</b><br/>Partenaires : 75<br/>Coordinateurs : 12<br/>Total : 87</p>      | <p><b>6</b></p> <p><b>Hauts-de-France</b><br/>Partenaires : 3<br/>Total : 3</p>            |
| <p><b>2</b></p> <p><b>Occitanie</b><br/>Partenaires : 11<br/>Total : 11</p>                                 | <p><b>7</b></p> <p><b>Provence-Alpes-Côte d'Azur</b><br/>Partenaires : 3<br/>Total : 3</p> |
| <p><b>3</b></p> <p><b>Auvergne-Rhône-Alpes</b><br/>Partenaires : 9<br/>Coordinateurs : 1<br/>Total : 10</p> | <p><b>8</b></p> <p><b>Bourgogne-Franche-Comté</b><br/>Partenaires : 1<br/>Total : 1</p>    |
| <p><b>4</b></p> <p><b>Grand Est</b><br/>Partenaires : 4<br/>Total : 4</p>                                   | <p><b>9</b></p> <p><b>Bretagne</b><br/>Partenaires : 1<br/>Total : 1</p>                   |
| <p><b>5</b></p> <p><b>Pays de la Loire</b><br/>Partenaires : 4<br/>Total : 4</p>                            | <p><b>10</b></p> <p><b>Nouvelle-Aquitaine</b><br/>Partenaires : 1<br/>Total : 1</p>        |



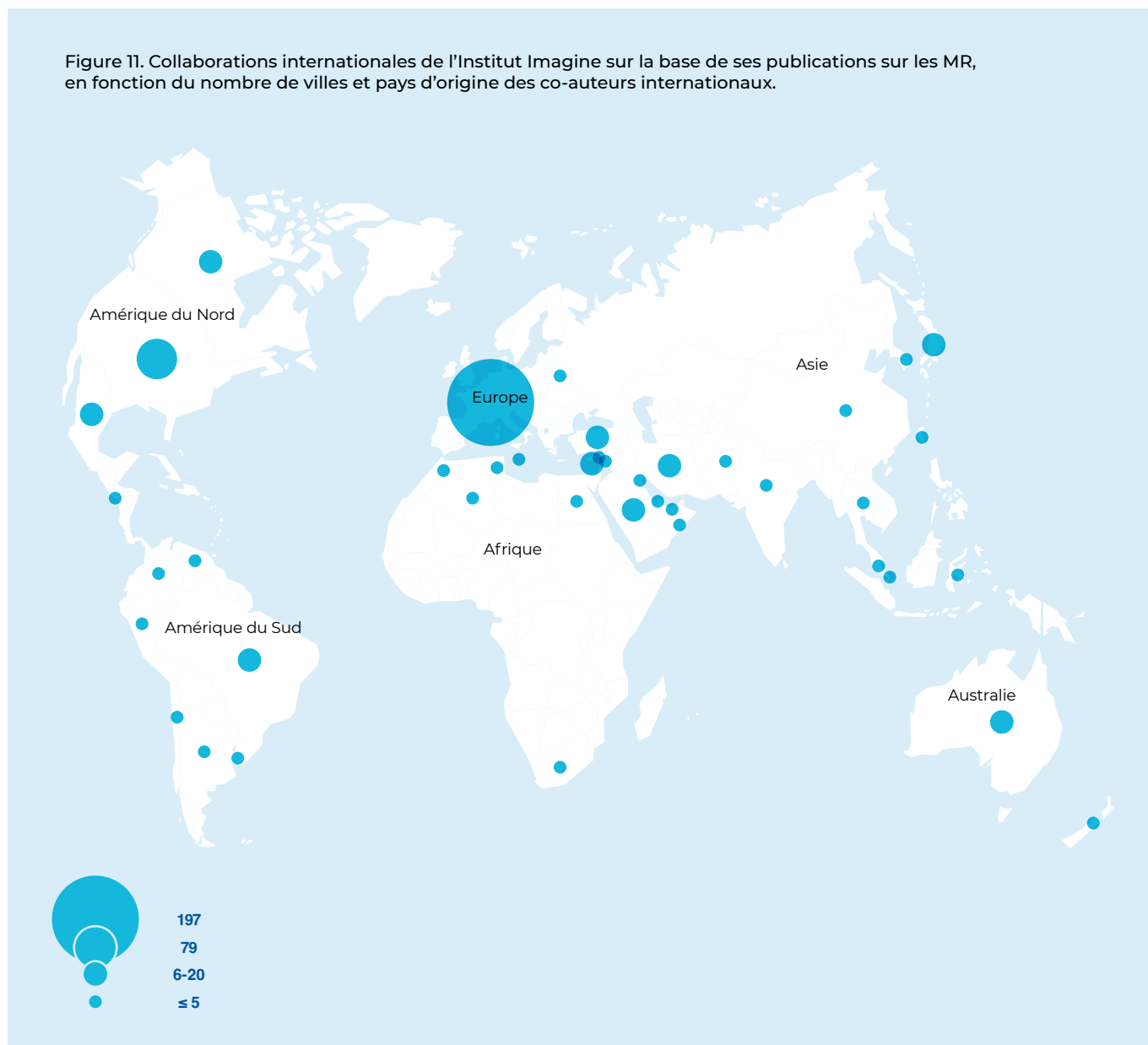
15. <https://anr.fr/fileadmin/documents/2019/IA-Synthese-thematique-2011-2018-BS.pdf>.

## Cartographie des collaborations internationales: le cas d'Imagine

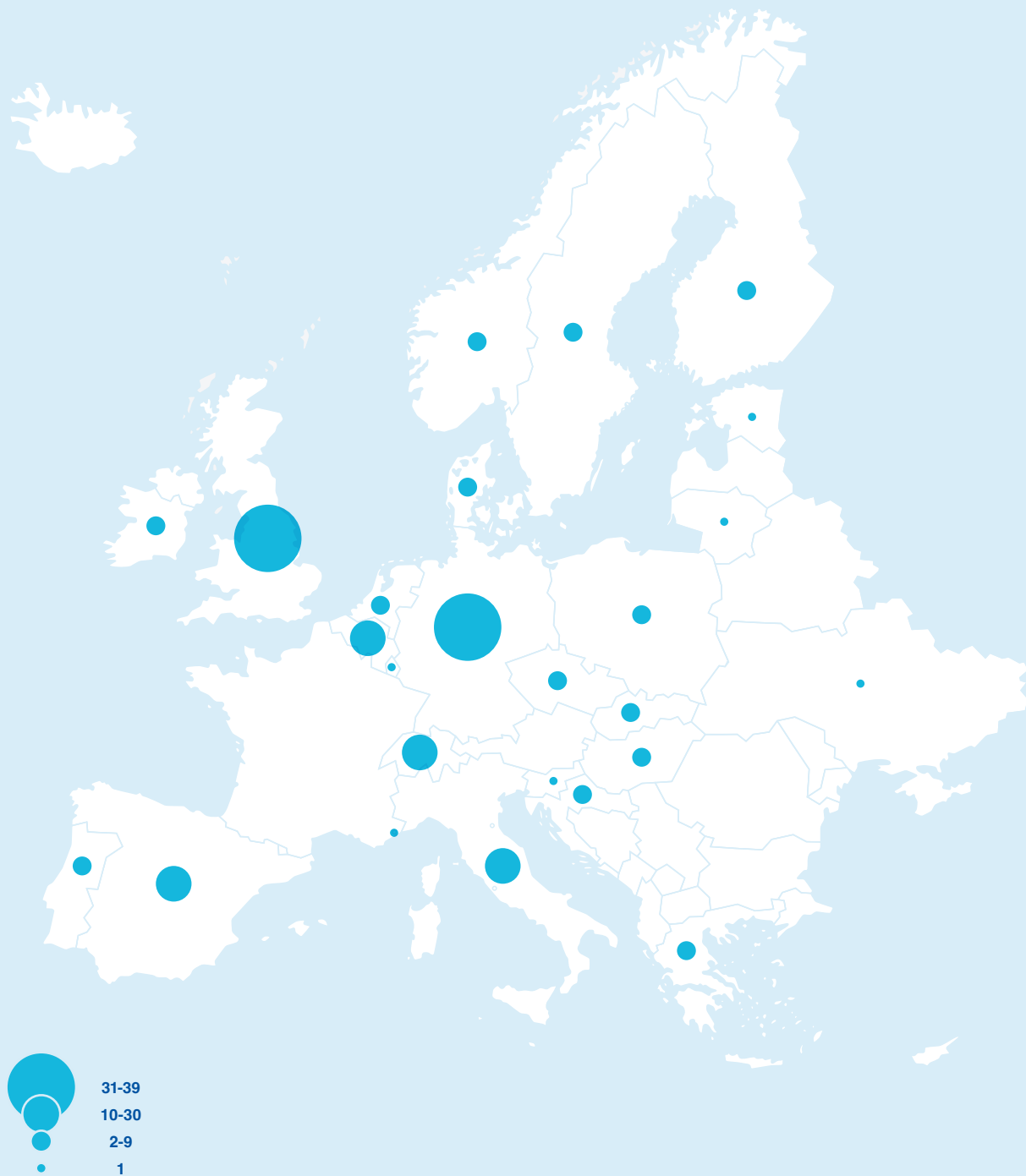
Parmi les programmes de France 2030, certains avaient comme objectif de développer des partenariats avec des institutions internationales scientifiques et/ou cliniques, comme les IHU. Ainsi, l'Institut Imagine, dont la production scientifique globale est conséquente, affiche une reconnaissance internationale qui se traduit par sa participation à de nombreux consortia européens et

internationaux. Ainsi, sur la base des publications d'Imagine en lien avec les MR, son rôle et sa place prépondérante dans la recherche sur les maladies rares sont illustrés par le nombre de villes et pays d'origine des co-auteurs internationaux (plus de 445 villes étrangères réparties dans 66 pays) ou européens (près de 200 villes réparties dans 26 pays européens, sans compter les 57 villes françaises des co-auteurs nationaux) (Figure 11). Au premier rang des pays collaborant avec l'institut Imagine se trouvent les États-Unis, le Royaume-Uni et l'Allemagne.

Figure 11. Collaborations internationales de l'Institut Imagine sur la base de ses publications sur les MR, en fonction du nombre de villes et pays d'origine des co-auteurs internationaux.



Collaborations internationales de l'Institut Imagine sur la base de ses publications sur les MR, en fonction du nombre de villes et pays d'origine des co-auteurs européens.



# **PARTIE 5**

## **TYPOLOGIE ET IMPACT DES PROJETS FINANCÉS PAR L'ANR**

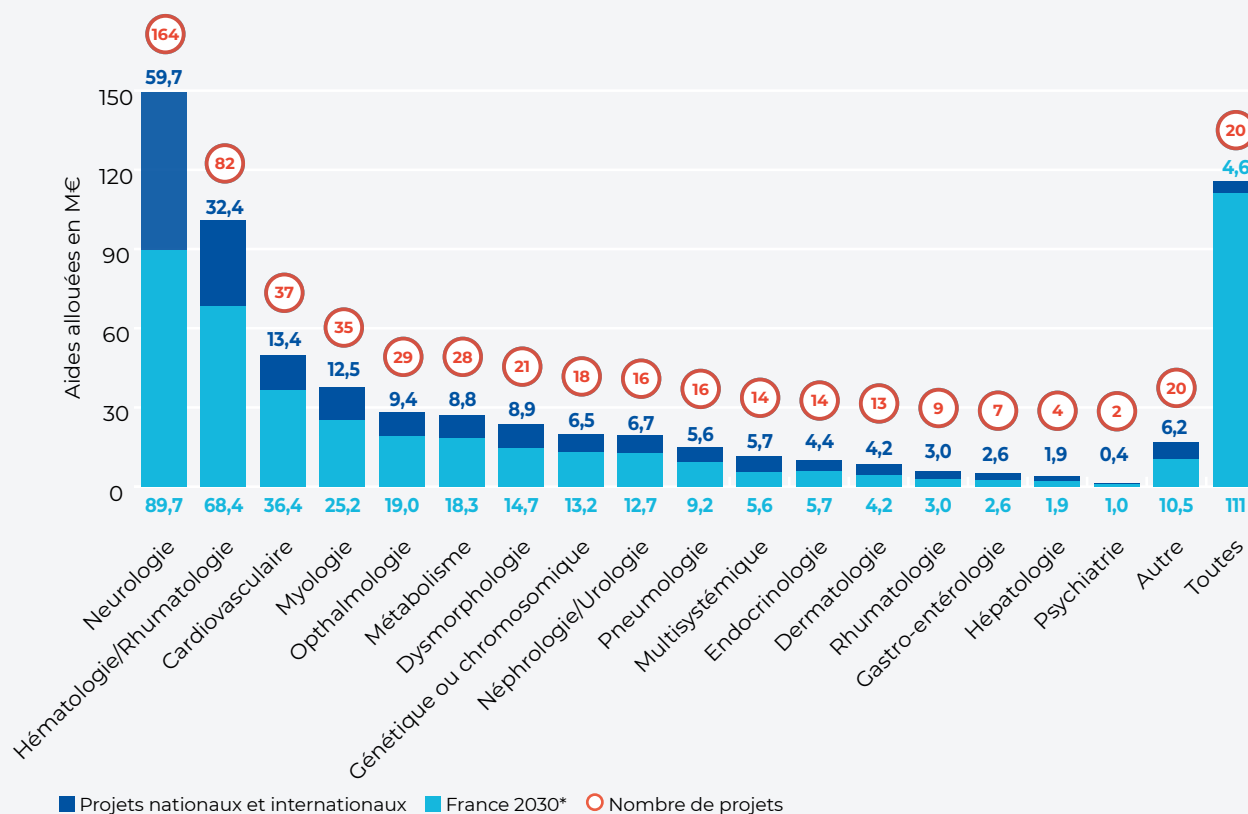
## Répartition des projets par domaines médicaux, par filières et par pathologies

### Domaines médicaux

Afin de mieux comprendre les profils des communautés scientifiques faisant de la recherche sur les MR en France et aussi pour déterminer les domaines de recherche d'excellence, les maladies répertoriées dans les projets ont été classées par grands domaines médicaux. L'histogramme ci-dessous représente l'aide allouée par domaines médicaux pour tous les projets financés de 2011-2021

(nationaux, internationaux et France 2030) (Figure 12). La part la plus importante de l'aide allouée s'oriente vers la neurologie, puis vers l'hématologie/immunologie, la cardiologie, la myologie et l'ophtalmologie. L'intitulé « génétique ou chromosomique » correspond à des projets uniquement focalisés sur ces aspects, mais des études génétiques sont bien sûr menées dans beaucoup de projets correspondant aux autres grands domaines médicaux. De par la nature des projets de grande ampleur de l'IHU *Imagine* ou des projets de plateformes comme les INBS, les centres de séquençage ou la plateforme *RaDiCo*, une partie importante de l'aide allouée par les appels France 2030 couvre l'ensemble des domaines médicaux (colonne « Toutes »).

Figure 12. Répartition de l'aide allouée et du nombre de projets par domaines médicaux. Les projets ont été cartographiés par domaine médical.



« Autre » correspond à un ensemble de domaines moins représentés non listés individuellement.

« Toutes » correspond à des projets dont les données s'appliquent à plusieurs, voire à tous les domaines médicaux.

\*Pour France 2030, la répartition des 41 projets est : 3 projets sont rattachés à trois domaines, 6 à deux domaines et 32 soit à un domaine spécifique, soit à un autre domaine (« autre »), soit les études sont applicables à un nombre important de catégories, « Toutes »). Pour les projets France 2030 ayant une implication inférieure à 100% sur les maladies rares, l'aide allouée a été établie au prorata de leur implication. Si un projet est rattaché à plusieurs domaines médicaux, le budget de chaque domaine est égal au budget total ou corrigé au prorata d'implication, divisé par le nombre de domaines médicaux identifiés.



## Maladies rares et filières associées

Au cours de la période 2011-2021, plus de 740 maladies rares ou groupes de pathologies différentes ont été étudiés par un ou plusieurs projets financés par l'ANR (tous type de projets confondus). Les 10 maladies rares (basé sur les ORPHAcodes, hormis ceux des groupes de pathologies) ayant la plus grande occurrence dans les projets financés sont listées dans le Tableau 6.

Les filières MR ont été créées en 2011 dans le cadre du PNMR2 et leur nombre s'élève désormais à 23 (18 au moment de leur création) (Tableau 7). Les filières et centres de compétences jouent un rôle très important pour l'accès des chercheurs et médecins aux données sur les maladies rares, mais aussi dans l'accès rapide des patients à un diagnostic, voire à un traitement.

Tableau 6. Occurrence des ORPHAcodes dans les projets financés entre 2011 et 2021.

| Nom de la maladie rare                                | ORPHAcode | Nb. de projets |
|---|-----------|----------------|
| Sclérose latérale amyotrophique ou maladie de Charcot | 803       | 38             |
| Maladie de Huntington                                 | 399       | 27             |
| Rétinite pigmentaire                                  | 791       | 14             |
| Fibrose pulmonaire idiopathique                       | 2032      | 13             |
| Syndrome de l'X fragile                               | 908       | 11             |
| Anémie de Blackfan-Diamond                            | 124       | 10             |
| Lupus érythémateux systémique                         | 536       | 10             |
| Dystrophie musculaire de Duchenne                     | 98 896    | 10             |
| Ataxie de Friedreich                                  | 95        | 7              |
| Neurofibromatose type 1                               | 636       | 7              |

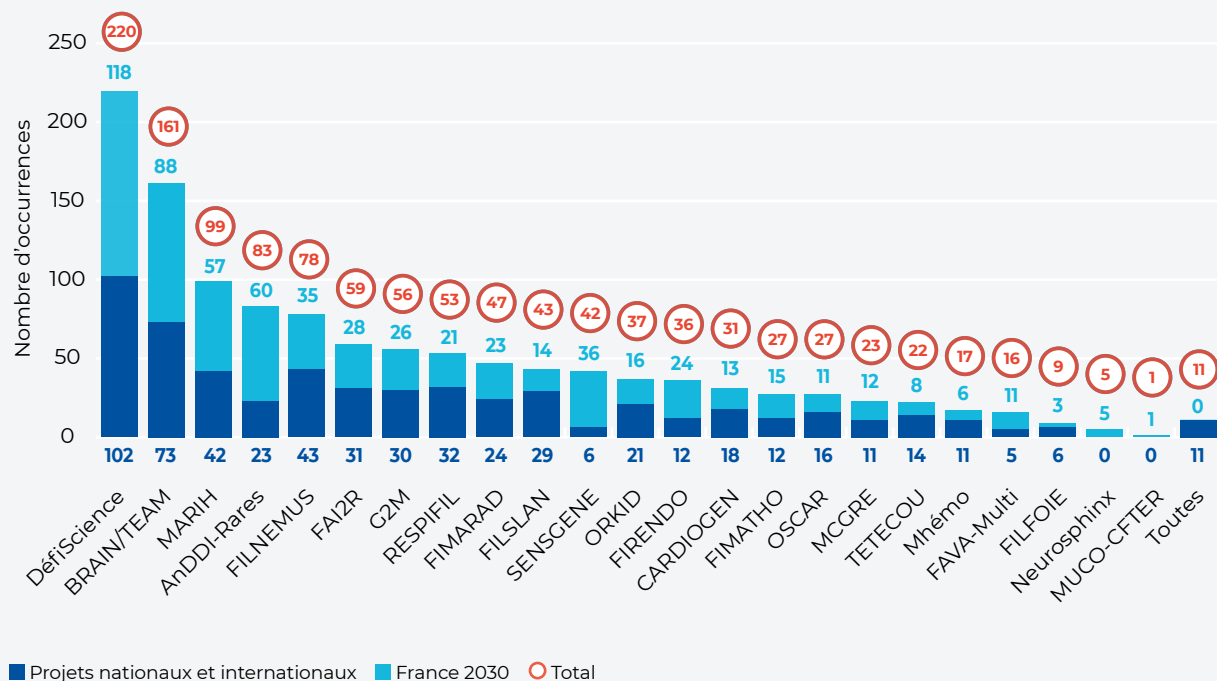
Tableau 7. Les filières de santé maladies rares et leur établissement d'accueil.

| Filières   | Établissement d'accueil  |
|--|--|
| AnDDI-Rares – Anomalies du développement déficience intellectuelle de causes rares                                 | CHU Dijon  |
| BRAIN-TEAM – Maladies rares à expression motrice ou cognitive du système nerveux central                           | CHU Angers   |
| CARDIOGEN – Maladies cardiaques héréditaires   | AP-HP Hôpital Pitié Salpêtrière  |
| DéfiScience – Maladies rares du développement cérébral et déficience intellectuelle                                | Hospices civils de Lyon  |
| FAI²R – Maladies auto-immunes et auto-inflammatoires systémiques rares   | CHU Lille  |
| FAVA-Multi – Maladies vasculaires rares avec atteinte multisystémique  | AP-HP Nord, site Bichat-Claude Bernard                                 |
| FILFOIE – Maladies hépatiques rares de l'enfant et de l'adulte   | Hôpital Saint-Antoine  |
| FILNEMUS – Maladies neuromusculaires   | AP-HM  |
| FILSLAN – Sclérose latérale amyotrophique  | CHU de Nice  |
| FIMARAD – Maladies rares en dermatologie   | Hôpital Necker-Enfants malades   |
| FIMATHO – Malformations abdominothoraciques  | CHU Lille  |
| FIRENDO – Maladies rares endocriniennes  | AP-HP, Groupe hospitalier Centre – Université de Paris, hôpital Cochin |
| G2M – Maladies héréditaires du métabolisme   | AP-HP, Hôpital Necker-Enfants malades                                  |
| MARIH – Maladies rares immuno-hématologiques   | AP-HP, Hôpital Saint-Louis   |
| MCGRE – Maladies constitutionnelles rares du globule rouge et de l'érythropoïèse                                   | AP-HP, Hôpital Henri Mondor  |
| MHémo – Maladies hémorragiques constitutionnelles  | Hospices civils de Lyon  |
| Muco/CFTR – Mucoviscidose et affections liées à une anomalie de CFTR   | Hospices civils de Lyon  |
| NeuroSphinx-GBS – Complications neurologiques et sphinctériennes des malformations pelviennes et médullaires rares | AP-HP, Hôpital Necker-Enfants malades                                  |
| ORKID – Maladies rénales rares   | CHU de Montpellier   |
| OSCAR – Os-Calcium/Cartilage-Rein  | AP-HP, Hôpital Bicêtre Paris Saclay                                    |
| RESPIFIL – Maladies respiratoires rares  | AP-HP, Université Paris-Saclay – Hôpital Bicêtre                       |
| SENSGENE – Maladies rares sensorielles   | CHU de Strasbourg  |
| TETECOUC – Maladies rares de la tête, du cou et des dents  | AP-HP, Hôpital Necker-Enfants malades                                  |

Une analyse représentant le nombre d'occurrence des filières MR dans tous les projets financés de 2011 à 2021 a montré une prédominance des filières DéfiScience et BRAIN-TEAM dans les projets nationaux, internationaux et France 2030 (Figure 13). Les filières concernées par les projets ont été identifiées sur la base des maladies rares ou des groupes de MR étudiés dans ces projets.

Ont été prises en compte les MR citées dans les textes de soumission, publications scientifiques, site internet le cas échéant, rapports annuels, rapports de clôture, etc. Lorsqu'une MR ou un groupe de MR est rattaché à plusieurs filières (deux à six), seules les deux premières ont été comptabilisées.

Figure 13. Nombre d'occurrences des filières MR mentionnées dans les projets financés de 2011 à 2021.



## Groupe de pathologies Orphanet

Une analyse partant de la liste des pathologies étudiées dans les projets financés, permettant d'identifier les groupes de pathologies chapeautant ces diverses maladies, a permis de déterminer

l'occurrence de ces groupes de pathologies dans les projets financés. Cette analyse a été effectuée grâce aux fichiers de classification d'Orphadata. Les groupes de maladies neurologiques rares et les défauts de développement rares au cours de l'embryogenèse s'avèrent avoir la plus forte occurrence (Tableau 8).

Tableau 8. Table donnant la nomenclature Orphanet associée aux ORPHAcodes.

| Nomenclature Orphanet                                   | Nb. d'occurrences |
|---|-------------------|
| Maladie neurologique rare                               | 144               |
| Défaut de développement rare au cours de l'embryogenèse | 130               |
| Maladie immunitaire rare                                | 32                |
| Maladie hématologique rare                              | 28                |
| Maladie systémique ou rhumatologique rare               | 24                |
| Maladie rare de la peau                                 | 19                |
| Erreurs innées rares du métabolisme                     | 17                |
| Maladie ophtalmique rare                                | 16                |
| Maladie endocrinienne rare                              | 16                |
| Maladie rénale rare                                     | 16                |
| Maladie osseuse rare                                    | 13                |
| Maladie cardiaque rare                                  | 12                |
| Maladie gastro-entérologique rare                       | 10                |
| Maladie respiratoire rare                               | 9                 |
| Maladie hépatique rare                                  | 8                 |
| Maladie néoplasique rare                                | 5                 |
| Maladie infectieuse rare                                | 5                 |
| Maladie otorhinolaryngologique rare                     | 4                 |
| Infertilité rare  | 3                 |
| Maladie rare de chirurgie maxillofaciale                | 1                 |
| Maladie urogénitale rare                                | 1                 |
| Maladie odontologique rare                              | 1                 |

Orphadata attribue une unique catégorie (le niveau de la catégorie est la classification la plus élevée dans la hiérarchie Orphadata) *via* un algorithme de linéarisation statistique. Quand une maladie peut être incluse dans plusieurs catégories, un système de priorité est mis en place basé sur trois critères :

1. correspondant au système corporel le plus sévèrement touché ;
2. correspondant à l'atteinte la plus déterminante pour le pronostic ;
3. correspondant au spécialiste le plus susceptible d'être sollicité pour la gestion de la maladie.

Plus d'information sur : [https://www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/GB/Orphanet\\_linearisation\\_rules.pdf](https://www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/GB/Orphanet_linearisation_rules.pdf)

En conclusion, quelle que soit l'approche utilisée pour déterminer le type de MR ayant une plus grande occurrence dans les projets ANR, nous constatons que les maladies liées à la neurologie, au développement et à l'hématologie/immunologie sont les plus étudiées. Point satisfaisant, ces données présentent des similarités

avec les données de la BNDMR, qui comptabilise les MR<sup>(16)</sup>, et d'Orphanet, qui détermine les prévalences des MR<sup>(17)</sup>.

16. <https://www.bndmr.fr/>

17. <https://www.orphadata.com/epidemiology/>

## Typologie des projets nationaux et internationaux

Nous abordons ici la classification des projets par domaine de recherche et par discipline scientifique pour l'ensemble des projets MR financés entre 2011 et 2021 (aux niveaux national et international), hors France 2030. Sans surprise, les quatre grands domaines de recherche sont : Compréhension des maladies rares, Thérapie, Diagnostic/Pronostic et Santé publique/données, mais le nombre de projets correspondant à chacun de ces domaines varie, comme le montre la Figure 14.

Une majorité des projets de recherche financés au travers des projets collaboratifs nationaux et internationaux concernent la compréhension des pathologies. Ils sont basés sur des études génétiques, mécanistiques et physiopathologiques, et mettent souvent en œuvre la création et l'exploitation de modèles de maladies.

La Figure 15 caractérise les projets financés issus des AAP nationaux et internationaux selon les domaines et approches scientifiques concernés. Dans cette représentation, où un seul mot clé est attribué à chaque projet, on observe une dominance des domaines de la physiologie/physiopathologie et des neurosciences, la génétique apparaissant en troisième position. Dans l'interprétation de ces données, il faut néanmoins tenir compte de la forte interdisciplinarité de la plupart des projets qui réunissent des équipes aux compétences complémentaires. Un grand nombre des projets comptabilisés en physiopathologie ou neurobiologie utilisaient à la fois des approches de génétique et de biologie cellulaire et moléculaire. Les projets apparaissant sous les intitulés Génétique ou Biologie cellulaire étaient quant à eux véritablement focalisés sur l'une ou l'autre de ces approches. L'examen détaillé des projets nous a conduits à constater une utilisation nettement plus limitée des approches de chimie, biochimie et biologie structurale dans les projets MR.

Du fait de l'utilisation d'approches génétiques dans la majorité des projets, une sous-classification utilisant des approches de « génétique » a été établie (Figure 16). Plus de la moitié portent sur l'étude de déterminants géniques (58%), vient ensuite l'identification de gènes (28%), la recherche de mutations (7%) et l'épigénétique (7%).

Figure 14. Nombre de projets financés par domaine de recherche pour l'ensemble des projets nationaux et internationaux. Certains projets entrent dans plusieurs domaines et ont été comptabilisés plusieurs fois.

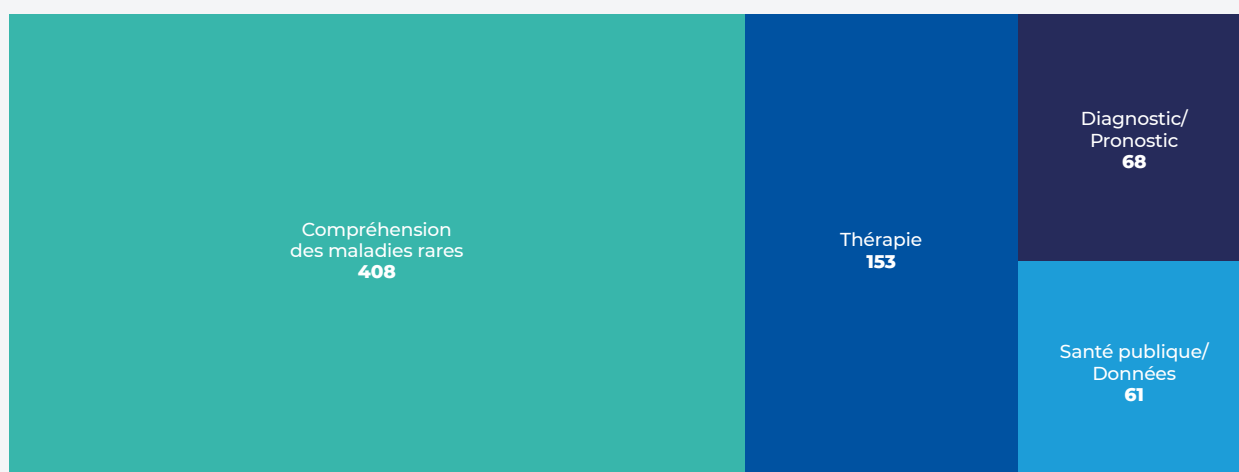
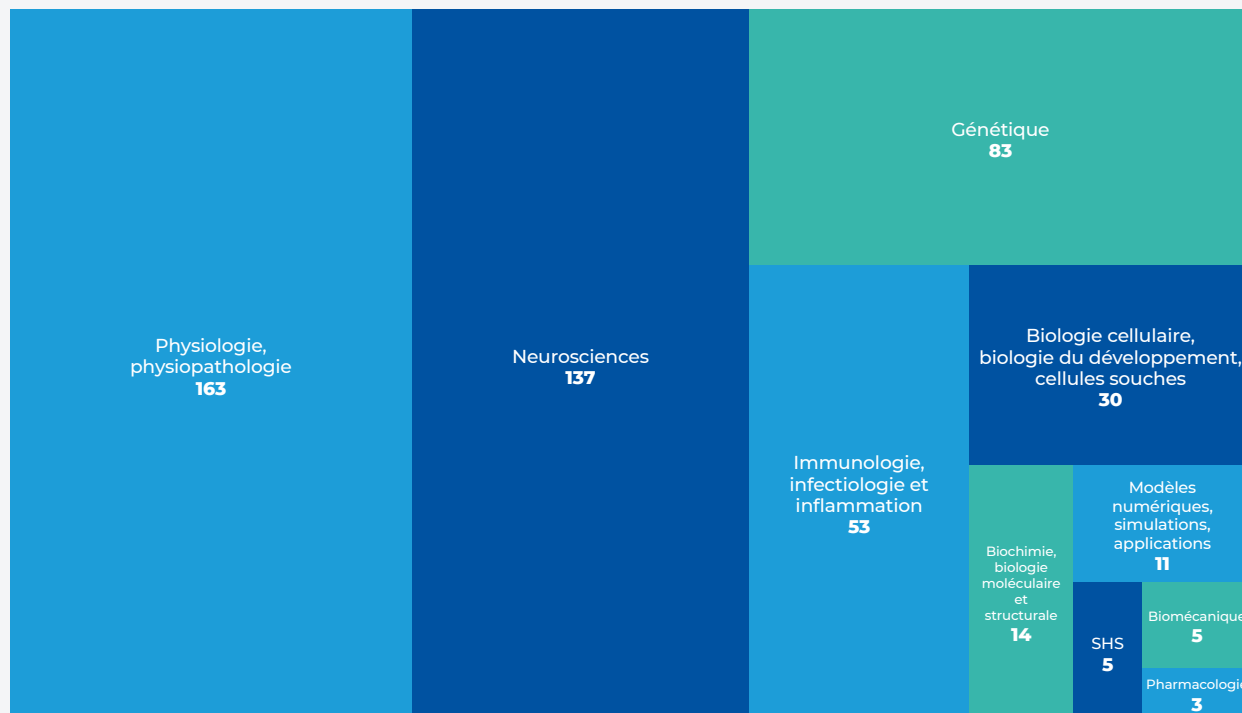
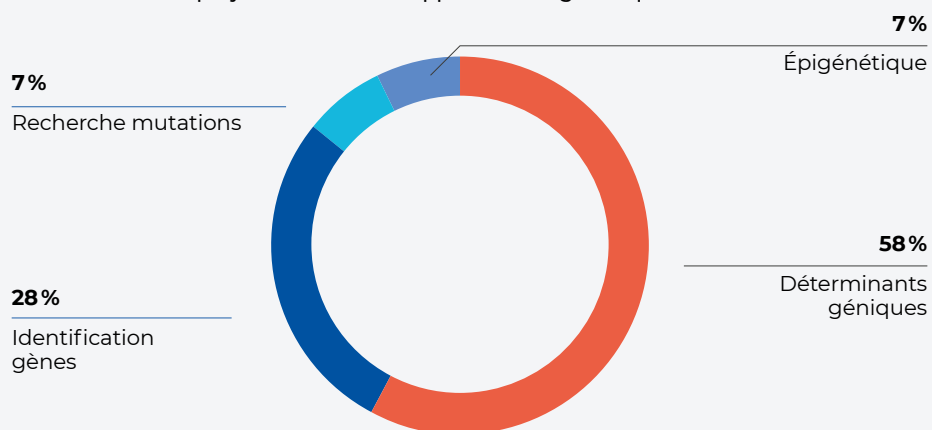


Figure 15. Nombre de projets financés par domaines scientifiques et/ou par approches scientifiques pour l'ensemble des projets des AAP nationaux et internationaux.



Une seule catégorie, considérée comme majeure pour le projet (soit le domaine scientifique, soit les approches utilisées), a été affectée à chaque projet.

Figure 16. Sous-classification des projets utilisant des approches de génétique.



## Impact des projets financés

### Bibliométrie

L'analyse bibliométrique a été effectuée à partir de publications ayant cité les projets répertoriés pour France 2030, ainsi que pour les projets nationaux et internationaux de la période 2011-2021 (Figure 17). Seules les publications scientifiques évaluées par les pairs ont été répertoriées, tandis que les revues et les proceeding papers ont été exclus. Un total de 3 560 publications a été identifié, certains articles citant à la fois des projets financés par France 2030 et des projets des AAP nationaux/internationaux. L'histogramme ci-dessous indique une progression constante du nombre de publications de 2011 à 2021 (à l'exception de 2019).

Parmi les journaux dans lesquels les équipes françaises ont le plus publié et qui font état d'un financement ANR, on note un nombre important de journaux spécialisés dans le domaine de la génétique (Tableau 9).

La liste du Top 12 des publications les plus citées (Tableau 10) par les pairs inclut majoritairement des journaux dédiés à la recherche clinique ou préclinique, mais on retrouve aussi des journaux généralistes (*Nature*) ou plus spécialisés comme *EMBO Journal*, ce qui est en adéquation avec les objectifs à la fois des actions France 2030 de promouvoir une recherche appliquée et des AAP nationaux qui soutiennent de nombreux projets de recherche fondamentale.

Figure 17. Nombre annuel de publications citant un projet MR financé par l'ANR.

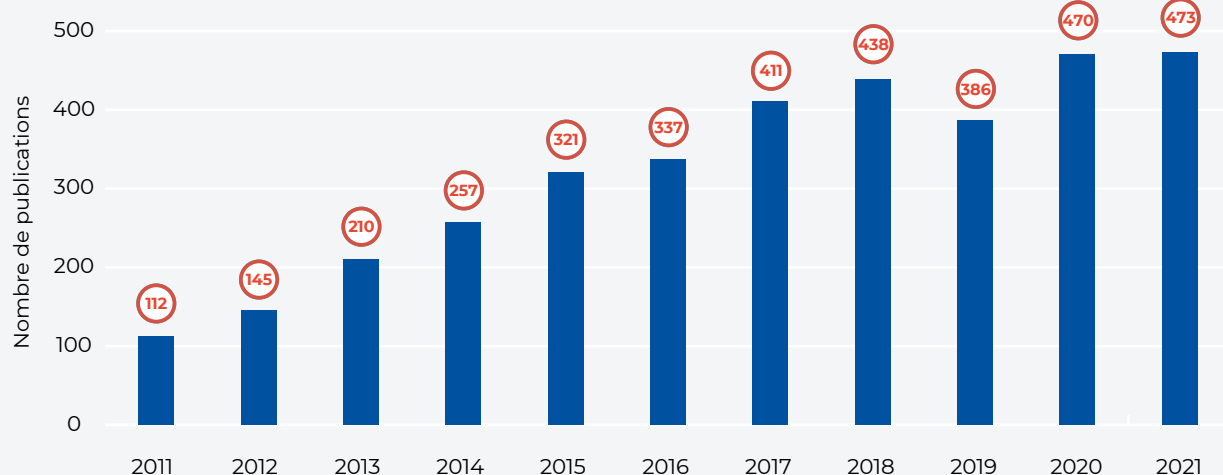


Tableau 9. Journaux les plus représentés pour les publications issues d'un projet sur les MR financé par l'ANR.

| Journal  | Nb. de publications |
|--|---------------------|
| <i>American Journal of Human Genetics</i>  | 123                 |
| <i>Human Molecular Genetics</i>  | 109                 |
| <i>Scientific Reports</i>  | 101                 |
| <i>Nature Communications</i>   | 94                  |
| <i>PLoS One</i>  | 76                  |
| <i>Blood</i>   | 76                  |
| <i>Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America</i> | 73                  |
| <i>Brain</i>   | 62                  |
| <i>Journal of Clinical Investigation</i>   | 60                  |
| <i>Human Mutation</i>  | 55                  |

Tableau 10. Liste des 12 publications les plus citées.  
 Cette liste comprend uniquement les publications citant l'ANR en tant que financeur.

| Acronyme du projet                            | Programme de financement   | Titre  | Journal   | Nb. de citations | DOI                               |
|---|--|--|---|------------------|-----------------------------------|
| PHENOMIN                                      | France 2030  | High-throughput discovery of novel developmental phenotypes  | <i>Nature</i>                                     | 624              | 10.1038/nature19356               |
| ICM   | France 2030  | G51D alpha-Synuclein mutation causes a novel Parkinsonian-pyramidal syndrome   | <i>Annals of Neurology</i>                        | 456              | 10.1002/ana.23894                 |
| Gr-Ex   | France 2030  | Gene Therapy in a Patient with Sickle Cell Disease   | <i>New England Journal of Medicine</i>            | 440              | 10.1056/NEJMc1704009              |
| LERMIT + RHU BioArt-Lung                      | France 2030  | Risk assessment, prognosis and guideline implementation in pulmonary arterial hypertension   | <i>European Respiratory Journal</i>               | 372              | 10.1183/13993003.00889-2017       |
| LERMIT + EPINE                                | France 2030 + projet JCJC  | Endothelial-to-Mesenchymal Transition in Pulmonary Hypertension  | <i>Circulation</i>                                | 363              | 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.008750 |
| Imagine                                       | France 2030  | Characterization of Human Disease Phenotypes Associated with Mutations in TREX1, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C, SAMHD1, ADAR, and IFIH1 | <i>American Journal of Medical Genetics</i>       | 350              | 10.1002/ajmg.a.36887              |
| Lumugene + Imagine + LabEx VRI + LabEx DCBIOL | France 2030 + projet collaboratif national en innovation biomédicale | Inherited STING-activating mutation underlies a familial inflammatory syndrome with lupus-like manifestations                          | <i>Journal of Clinical Investigation</i>          | 330              | 10.1172/JCI79100                  |
| ICM   | France 2030  | A mitochondrial origin for frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis through CHCHD10 involvement                       | <i>Brain</i>                                      | 299              | 10.1093/brain/awu138              |
| ICM + LabEx INRT                              | France 2030  | Loss of C9ORF72 impairs autophagy and synergizes with polyQ Ataxin-2 to induce motor neuron dysfunction and cell death                 | <i>EMBO Journal</i>                               | 255              | 10.15252/embj.201593350           |
| ICM   | France 2030  | Loss of Function of C9orf72 Causes Motor Deficits in a Zebrafish Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis                                | <i>Annals of Neurology</i>                        | 247              | 10.1002/ana.23946                 |
| Imagine + IMMUNEBV                            | France 2030 + projet collaboratif national                           | Clinical spectrum and features of activated phosphoinositide 3-kinase delta syndrome: A large patient cohort study                     | <i>Journal of Allergy and Clinical Immunology</i> | 243              | 10.1016/j.jaci.2016.06.021        |
| Imagine + Gr-Ex + SWITCHES                    | France 2030 + projet collaboratif Physiologie, physiopathologie      | An activin receptor IIA ligand trap corrects ineffective erythropoiesis in beta-thalassemia  | <i>Nature Medicine</i>                            | 240              | 10.1038/nm.3468                   |

## Bilans

Ce dernier chapitre dresse un bilan de l'apport des projets financés par l'ANR au domaine des MR. Afin d'illustrer l'impact respectif des différents types de projets financés par l'ANR dans ce domaine, nous avons sélectionné, à titre d'exemple, un ensemble de projets couvrant les différentes thématiques des MR. Pour chacun, les porteurs ont rédigé une fiche résumant les objectifs du projet et les résultats obtenus. Nous ferons donc référence à ces différentes fiches dans le texte qui suit.

### L'impact des projets France 2030 dans le domaine des MR

Comme mentionné plus haut, une des particularités des investissements France 2030 est la possibilité de financer de grands projets nationaux sur le long terme. Cela a, en particulier, permis d'implanter des instituts de recherche d'envergure internationale (IHU), des infrastructures nationales, ou de créer des cohortes.

L'IHU Imagine est un institut de recherche et de soins entièrement dédié aux maladies génétiques rares, alliant recherche fondamentale, compréhension des maladies, recherche translationnelle allant du diagnostic aux thérapies, recherche clinique, amélioration des soins, etc.

L'un des objectifs de l'IHU ICM est de mieux comprendre le fonctionnement du cerveau, à la fois dans la santé et dans la maladie, et d'ouvrir la voie à de nouvelles thérapies des maladies rares telles que la sclérose latérale amyotrophique (SLA) et la maladie de Huntington.

De même, l'infrastructure PHENOMIN est la vitrine française de la création et du développement de modèles expérimentaux, essentiels pour aborder des thématiques comme la recherche fondamentale, la physiopathologie des MR et la thérapie *via* des essais précliniques. De nombreux projets financés par l'ANR ont pu utiliser la plateforme sans toutefois la citer systématiquement dans les publications d'où la difficulté de mesurer son impact dans la recherche sur les MR en France.

Enfin, l'infrastructure NeurATRIS propose un continuum d'expertises translationnelles allant des modèles cellulaires *in vitro* aux essais cliniques de phase 2 sur des patients atteints de pathologies cérébrales majeures ou de pathologies neurologiques dites « rares », telles que la maladie de Huntington ou la SLA.

Il est cependant à noter que la thématique « Thérapie » est la plus représentée parmi les projets France 2030, et notamment les 13 projets impliqués entre 40 et 100% sur les MR.

Pour exemple, les neuf RHU MR. Par définition, les projets du programme RHU doivent associer intimement des activités de recherche fondamentale, de recherche translationnelle en santé, de recherche clinique, de soins et de valorisation pour aboutir à la découverte et au développement de nouvelles thérapies.

Le projet RHU AUDINNOVE a consisté en la caractérisation de cohortes parallèlement au développement de thérapies géniques dans les surdités congénitales neurosensorielles.

Un autre projet RHU a optimisé une double approche thérapeutique (génique et dispositif médical) pour le traitement de déficits immunitaires héréditaires (IRIS). Leur produit a en conséquence obtenu une désignation de médicaments orphelins par l'Agence européenne du médicament.

Dans les encéphalites auto-immunes, un premier projet fondamental (MECANO) sur la recherche de nouveaux biomarqueurs a mené à l'obtention du RHU BETPSY qui a abouti à la construction de la plus grande collection mondiale d'échantillons de patients afin de constituer une base de données permettant la découverte de nouveaux syndromes cliniques et facteurs génétiques associés à ces maladies. Parallèlement, BETPSY consiste en la conception de modèles animaux permettant d'identifier de nouvelles stratégies thérapeutiques et de comprendre les mécanismes physiopathologiques de ces maladies neuro-immunes.

Le RHU C'IL-LICO s'intéresse aux ciliopathies rénales et vise le développement de traitements personnalisés et la prévention de la progression des signes dégénératifs associés au dysfonctionnement des cils.

Les projets LIFESENSES (LabEx), LIGHT4DEAF (RHU) et FOReSIGHT (IHU), qui abordent les maladies rétinienne dont le syndrome d'Usher, s'inscrivent dans un continuum (2011-2028) qui a déjà permis la croissance et l'accélération d'innovations diagnostiques, thérapeutiques et palliatives, avec restauration de la vision et amélioration des soins.

Le RHU TRT-cSVD a l'ambition d'identifier de nouvelles cibles afin de développer des traitements de nouvelle génération pour les maladies des petits vaisseaux cérébraux.

Toujours dans le domaine thématique « Thérapie », les trois RHU COSY, IMAP et ATRACTION et le DPBS PGT ambitionnent, respectivement, de : guérir les syndromes d'hypercroissance dysharmonieuse après identification de médicaments potentiels à repositionner ou à réutiliser ; avancer sur la mise sur le marché de l'IL2 à faible dose dans les maladies auto-immunes ; développer des outils de diagnostic et de pronostic innovants pour définir des approches thérapeutiques personnalisées pour les patients pédiatriques souffrant de déficit immunitaire primaire, et développer des procédés de production et de contrôle de médicaments de thérapies géniques innovantes.

Enfin, le projet RaDiCo se déploie dans la quasi-totalité des thématiques de recherche, ses objectifs étant adaptés à la particularité de chaque cohorte : 1) décrire l'histoire naturelle des MR ciblées ; 2) identifier les gènes sous-jacents responsables de la maladie ; 3) établir des corrélations génotype-phénotype ; 4) déchiffrer les mécanismes physiopathologiques sous-jacents ; 5) identifier de nouvelles voies thérapeutiques ; et 6) estimer leur impact sociétal et médico-économique.



### Contribution des appels JCJC nationaux et JC internationaux au développement de nouvelles équipes sur les MR

Les appels à projets JCJC, ainsi qu'un appel équivalent (JC) lancé dans le cadre de l'ERA-Net E-Rare-2, ont permis de donner des moyens à de jeunes chercheurs et jeunes chercheuses de haut niveau pour développer des recherches sur les MR, comme le montrent, à titre d'exemples, les projets [SUMO-ID](#), [HEART-IPS](#) et [EMIR](#).

Les projets JCJC nationaux sur les MR correspondaient, durant la période concernée, à environ 15% des projets MR financés par l'ANR (hors projets France 2030 et internationaux). Les projets JCJC nationaux ainsi que les projets JC internationaux ont servi de tremplin aux lauréats et leur ont permis d'acquies une reconnaissance internationale. Un grand nombre d'entre eux ont ensuite pu poursuivre leurs travaux grâce à d'autres financements ANR nationaux ou internationaux. Des chercheurs ayant bénéficié d'un financement JCJC avant 2011 ont eux aussi obtenu des financements ANR durant la période 2011-2021, ce qui leur a permis de conforter leur notoriété dans le domaine des MR ([CM-WES](#)).

Point important, certains projets JC sélectionnés lors de l'appel E-Rare de 2012 ont aussi permis la création de réseaux européens, tel que celui sur les ribosomopathies [EuroDBA](#).

Certains projets JCJC ont conduit à la création d'entreprises, comme cela a été le cas avec le projet [EPINE](#), ou à une recherche translationnelle de haute importance, comme avec [Gene\\_transfer\\_Tolerance](#), sur la tolérance lors du transfert de gène.

Les financements JCJC nationaux et JC internationaux jouent un rôle particulièrement important pour les jeunes chercheurs et jeunes chercheuses de haut niveau ayant un intérêt pour le domaine des MR. En effet, la recherche dans ce domaine peut parfois demander beaucoup de temps et être difficile à développer du fait du petit nombre de patients atteints par chacune de ces pathologies. Par ailleurs, il est souvent plus facile de trouver des financements pour des pathologies beaucoup plus fréquentes que les MR. Dans ce contexte, on peut donc conclure à un rôle crucial des instruments de financement dédiés aux jeunes chercheurs. D'ailleurs, plusieurs des chercheurs français désormais reconnus ont débuté avec ce type de financement.

Un autre type d'appel ANR dédié à de jeunes chercheurs, ouvert jusqu'en 2014, l'appel Retour Post-Doc, a permis d'attirer en France des chercheurs de haut niveau venant de l'étranger et travaillant sur les MR. Par exemple, un chercheur français qui travaillait en Allemagne a pu venir s'installer en France pour poursuivre ses travaux ([CerID-Gene](#)). Il a ensuite pu bénéficier d'un autre financement ANR (PRC) pour poursuivre ses recherches ([SCD-Mec](#)).

### Un large spectre de contributions des projets nationaux pluri-équipes (PRTS, Émergence, PRC et PRCE) à la thématique MR

Ces différents appels ont fortement contribué aux progrès des différents volets de recherche sur les MR : la compréhension de leurs causes génétiques, le décryptage des mécanismes normaux et de leurs dérèglements dans les physiopathologies liées aux MR, le développement de diagnostics plus précis, et la recherche de nouvelles approches thérapeutiques, en particulier de nouvelles cibles thérapeutiques.

Comme l'illustre la sélection de projets présentés dans l'Annexe, les projets nationaux des appels PRTS et Émergence (ouverts jusqu'en 2013) ont notamment permis de financer des études visant des applications diagnostiques ou thérapeutiques ([Bio-GvHD](#), [Immune-Rep](#), [PREV-DEMALS](#), [COPDETOX](#)). Ces projets pouvaient inclure des développements bio-informatiques, comme la mise au point d'un système rapide d'analyse bio-informatique des cassures d'ADN ([ANI](#)).

Un champ de recherche important des projets concernait la découverte de prédispositions génétiques, comme l'illustrent les projets [IEIHSEER](#), [HGDIFD](#) ou [Immune-Rep](#).

Les projets PRC nationaux, dont les appels ont été ouverts durant toute la période concernée par ce bilan, couvrent des champs scientifiques très variés quant aux pathologies étudiées, mais aussi quant aux objectifs : décryptage des défauts génétiques et mécanismes entraînant les pathologies en vue d'améliorer le diagnostic ([SOLV-CDG](#), [CM-WES](#), [GOSAMPAC](#), [GP-PMAH](#)), et de rechercher les meilleures cibles thérapeutiques, ou développer des thérapies ([Dynamuscle](#), [CILAXCAL](#), [FSHDecipher](#), [GETH](#), [COPDETOX](#), [MN Progress](#), [DYStHer](#), [CYPHunt](#), [AMUSIA](#)). Certains projets PRC ont servi de tremplin pour la participation ultérieure à des projets internationaux de type H2020 ([DYStHer](#)) ou, à l'inverse, des chercheurs ayant bénéficié de projets ERA-NET ont parfois eu besoin, par la suite ou en parallèle, de financements PRC pour approfondir un aspect défini de la problématique ([DBA Multigènes](#), [GP-PMAH](#), [SOLV-CDG](#) et [EURO-CDG-2](#)). Ce qui permet de conclure à l'importance de maintenir différents types d'appels à projets afin d'offrir aux chercheurs les conditions les plus favorables possibles pour développer leurs travaux, en fonction de la nature de la question scientifique posée et des collaborations nationales ou internationales requises pour y répondre.

La plupart des projets relevant des MR ont été financés par le département Biologie-Santé de l'ANR. Les projets financés par d'autres départements correspondaient surtout à des projets de recherche à l'interface chimie-biologie. Quelques projets ont été sélectionnés par des comités dépendant de plusieurs départements de l'ANR, comme le Comité 35, sélectionnant des projets à l'interface entre biologie-santé et santé publique (département SHS), mais aussi le Comité 45 correspondant à un axe scientifique de recherche au croisement entre mathématiques, sciences du numérique et biologie-santé. La prédominance du financement par le département Biologie-Santé s'explique bien sûr par l'importance des aspects biologiques dans les projets MR, mais aussi par le caractère pluridisciplinaire des projets sélectionnés qui pouvaient en particulier inclure des approches de chimie, de physique, de mathématiques ou d'informatique ([COPDETOX](#)).

La complexité des MR, d'un point de vue diagnostique et physiopathologique, nécessite le développement de recherches translationnelles, d'où la mise en place, dans le cadre du PNMR3, d'une priorité nationale pour le financement de projets dans ce domaine. Cette priorité a permis d'augmenter le nombre de projets MR soumis dans l'axe « recherche translationnelle » et ainsi de financer plus de projets translationnels. Il est néanmoins encore trop tôt pour mesurer l'impact de cette priorité sur la recherche française car ces projets sont encore en cours.

### **Contribution des appels internationaux et bilatéraux, des initiatives européennes et de l'appel MRSEI, dans l'intégration et la prise de responsabilité d'équipes françaises dans des réseaux internationaux**

Vingt projets internationaux bilatéraux (PRCI) concernant les MR ont été identifiés sur la période 2011-2021. Cette contribution est bien entendu inférieure en nombre à celle des appels internationaux de type ERA-Net dédiés à cette thématique (123 projets). Beaucoup de projets bilatéraux identifiés étaient développés avec des équipes allemandes (DFG), reflétant l'intérêt des Allemands pour les MR. L'un d'eux est présenté à titre d'exemple (SPATAX-QUEST).

Les appels européens de type ERA-Net E-Rare ou EJP RD et certains appels des ERA-Net dans le domaine des neurosciences ont eu un impact important dans le domaine des MR. Outre l'intégration des équipes françaises au sein de grands réseaux internationaux, les projets sélectionnés par ces appels ont permis de décrypter ou d'affiner la compréhension de mécanismes à l'origine de MR, comme l'illustre le projet MicroKin. Grâce au grand nombre d'équipes participantes et d'approches utilisées, ces projets ont permis le développement de nouvelles méthodes diagnostiques et de thérapies, comme illustré par les projets EBThera, EURO-CDG-2, EuroDBA, SMART-HaemoCare et OPTOREMODE. Le projet RARE-G a été remarquable puisqu'il a permis de développer à la fois des biomarqueurs et un traitement efficace par la pioglitazone pour des maladies rénales rares (glomérulopathies). Ces résultats ont d'ailleurs ensuite permis à son porteur d'obtenir des financements dans le cadre des appels européens ERC et ERC-proof of concept. Le projet portant sur le désordre de Noonan (NS-EuroNet) est un autre exemple de réussite en matière de thérapie : des essais cliniques de la thérapie mise au point ont déjà pu être réalisés chez les enfants.

Les projets sélectionnés lors de ces appels européens ont par ailleurs permis aux équipes françaises d'intégrer de grands réseaux européens sur les MR et parfois même des réseaux étendus hors des frontières de l'Europe (DYSTher). Les équipes pouvaient travailler sur de plus grandes cohortes de patients, et échanger plus largement des technologies, des savoir-faire et des connaissances. Les financements ont concerné des équipes confirmées (GENO-MIT), ainsi que de jeunes chercheurs (EuroDBA, HEART DM et Cure-FXTAS). La participation aux projets ERA-Net et EJP RD a été, pour certaines équipes, un tremplin pour la participation à de plus grands programmes européens.

Le programme MRSEI est justement destiné à aider des chercheurs français à créer des réseaux dans le cadre des appels européens. Du fait de sa création récente, il n'y a encore pas encore assez de recul pour en dresser le bilan, néanmoins, il est important de noter que deux des projets sélectionnés dans ces appels qui incluaient des recherches d'intérêt pour les MR, ont ensuite été sélectionnés au niveau d'appels européens. Ces projets européens sont par ailleurs coordonnés par l'Inserm (Tableau 4).

Il convient aussi de noter que certains projets nationaux (PRC, PRCE, JCJC) et internationaux (ERA-Net) sur les MR ont été développés par ou avec la participation d'équipes de grands projets financés par France 2030, en particulier dans le cadre d'IHU tels que l'Institut Imagine, mais aussi de RHU, ce qui là encore révèle la complémentarité et la nécessité des différents types d'appels d'offres de l'ANR pour le bon développement de la thématique MR.

## Conclusions générales

### Un financement conséquent de l'ANR au domaine des MR dans la période de l'étude

Comme illustré dans la Figure 1, d'après cette analyse approfondie, durant la période 2011-2021, l'ANR a attribué :

- 158,5 M€ pour 350 projets nationaux hors France 2030 ;
- 38,2 M€ 153 projets internationaux ;
- 266,5 M€ pour les projets France 2030.

Soit un financement global de l'ANR estimé à 462,5 M€.

Il faut tenir compte, pour les projets France 2030, que beaucoup de projets de long terme ne sont pas encore terminés.

L'enveloppe attribuée aux projets internationaux peut paraître faible comparée aux deux autres sommes, mais il ne s'agit que de la contribution française au projet. Chaque agence de financement soutient les chercheurs du pays correspondant. Ainsi, les 153 projets internationaux correspondent à un financement total de 160 M€. Les chercheurs allemands sont quant à eux financièrement favorisés par le fait que deux agences de recherche allemandes participent aux appels. Les montants financiers mis en jeu varient suivant les années, en fonction du nombre d'agences participantes ou du cofinancement de la Commission européenne, mais aussi selon le taux de réussite des équipes françaises, dépendant lui-même des thèmes des appels d'offres (Tableau 5).

La Figure 4 illustre les variations des budgets nationaux et internationaux attribués par l'ANR aux projets MR, hors France 2030. Comme déjà mentionné, les budgets des projets internationaux varient chaque année en fonction des thèmes de recherche choisis. Pour les projets nationaux, après une augmentation importante du budget en 2016, les sommes attribuées aux projets MR sont restées relativement stables jusqu'en 2021, malgré l'augmentation globale du budget d'intervention de l'ANR et une action incitative en faveur des MR dans le Comité 17 (recherches translationnelles). Nous n'avons pas, après analyse, d'explication claire de la stagnation des financements dédiés aux MR, malgré l'augmentation conséquente du budget d'intervention de l'ANR.

### Une bonne corrélation entre les financements ANR 2011-2021, le nombre de pathologies répertoriées dans les groupes de MR et le potentiel scientifique français

La recherche sur les MR, stimulée depuis longtemps en France par les associations de patients, s'est traduite par différentes initiatives, notamment la création d'une nomenclature des maladies rares (ORPHAcodex), prise en charge par Orphanet. Cette nomenclature, désormais largement utilisée, a été croisée avec d'autres terminologies plus anciennes, afin d'assurer une interopérabilité des bases de données.

Afin d'améliorer les soins pour les patients, une organisation en 23 filières a été mise en place en France, système qui a ensuite été transposé au niveau européen, avec la création des réseaux européens sur les MR.

Dans cette étude, pour caractériser les projets, nous avons utilisé à la fois la classification par filières des projets (Figure 13), et celle par ORPHAcodex se référant aux groupes de pathologies d'Orphanet (Tableau 8). Quelle que soit la classification utilisée, les maladies rares neurologiques apparaissent comme les plus étudiées et les plus financées (filières DéfiScience et BRAIN-TEAM, Figure 13, et ceci aussi bien au niveau des appels nationaux et internationaux que des appels France 2030. Le même constat est fait pour les projets JCJC (Tableau 3). Ceci peut s'expliquer par le nombre important de MR recensées dans le domaine de la neurobiologie, mais aussi par le fort potentiel de la recherche française dans ce domaine.

Le deuxième groupe des pathologies les plus étudiées et financées au cours de la période étudiée, aussi bien au travers des projets proposés par des chercheurs confirmés que des projets JCJC, correspond aux maladies hématologiques et immunitaires rares (Figure 12), filière MARIH dans la Figure 13. Il s'agit aussi d'un large groupe en termes de MR, qui bénéficie d'un potentiel de recherche important en France. Ce domaine est en pleine expansion, avec l'étude des prédispositions d'origine génétique aux infections microbiennes et virales, y compris les études sur les prédispositions à la Covid-19.

Les MR du système cardiovasculaire se situent en troisième position dans les différents classements (tous projets confondus, y compris JCJC) (Figures 12 et 13). Le nombre de MR identifiées dans ce domaine est moins important que pour les deux domaines précédents mais, là encore, le potentiel de recherche en France est important.

Arrive en quatrième position le domaine de la myologie, dont la recherche a été depuis longtemps fortement stimulée en France par l'AFM. L'ophtalmologie, domaine d'excellence de l'Institut de la vision, se trouve en cinquième position. Le métabolisme, avec certains projets originaux ayant obtenu des résultats concrets en termes de thérapie, arrive en sixième position. Puis, avec des nombres de projets et des financements de moins en moins importants : la dysmorphologie, les aberrations chromosomiques, la néphrologie/urologie, la pneumologie, les maladies multisystémiques, l'endocrinologie, la dermatologie, la rhumatologie, la gastro-entérologie, l'hépatologie et la psychiatrie. À tout cela, il faut ajouter des projets concernant chacun un grand nombre de MR qui sont essentiellement financés par France 2030.

Le fait que la répartition des projets suivant les groupes de MR soit très similaire pour les projets PRC (chercheurs confirmés) et JCJC (jeunes chercheurs) s'explique par la formation que ces jeunes chercheurs ont reçue dans les grands centres de recherche français dont ils sont issus. Néanmoins, il serait intéressant que de jeunes chercheurs aient les moyens de développer des recherches sur des champs thématiques encore délaissés dans le domaine des MR.

### Un renforcement par les financements ANR des recherches sur les MR en Île-de-France et en région, ainsi que des collaborations internationales dans ce domaine

Lorsque l'on examine la localisation géographique des équipes impliquées dans les projets de recherches sur les MR financés par l'ANR, on constate une concentration très importante d'équipes en Île-de-France, ce qui est le cas pour beaucoup d'autres thématiques de recherche. La concentration particulièrement élevée observée dans le cas des MR s'explique par l'existence de sites hospitalo-universitaires – tels que Necker-Enfants malades, la Pitié Salpêtrière avec l'Institut de myologie, etc. – qui ont été des pionniers dans le domaine des MR et qui ont focalisé leurs recherches sur cette thématique. La création d'instituts comme *Imagine*, au travers des financements France 2030, a renforcé le potentiel existant. Néanmoins, les Figures 8 et 10 illustrent la présence de recherches sur les MR financées par l'ANR dans plusieurs régions françaises (Grand Est, Auvergne Rhône-Alpes, Provence Côte-d'Azur, Occitanie, Aquitaine). Il est à noter qu'aucun projet de recherche n'a été financé dans les territoires ultra-marins sur cette période.

Les projets internationaux financés par l'ANR ont, par ailleurs, clairement permis de renforcer les collaborations au sein de l'Europe avec l'Allemagne, l'Italie, l'Espagne et les Pays-Bas, et au-delà avec le Canada.

### Les projets financés ont largement contribué à la production de modèles d'étude, à la réduction de l'impasse diagnostique et au développement de nouveaux traitements

Grâce à l'identification des gènes mutés, ainsi que celle des mutations responsables des pathologies, un très grand nombre des projets financés, nationaux et internationaux, ont contribué à des améliorations marquantes en matière de diagnostic, comme l'illustrent les fiches en annexe.

On peut tout particulièrement noter que la mise en commun des registres de patients et la complémentarité des compétences mises en œuvre dans les projets internationaux ont permis des avancées significatives dans le domaine du diagnostic (*GENOMIT* et *EuroDBA*).

Un nombre conséquent de projets ont aussi permis de faire progresser les thérapies par le développement d'approches de thérapies géniques, mais aussi par des approches plus classiques.

En ce qui concerne la thérapie génique, plusieurs projets ont permis de mettre en évidence le potentiel d'une approche, assez récente au début de la période étudiée, la technique CRISPR-Cas9, tout particulièrement en matière de création de modèles d'étude,

comme la génération de lignées cellulaires iPS, modèles d'arythmies cardiaques dans le projet *HEART-iPS*, mais aussi en raison de son potentiel pour le développement de thérapies, avec par exemple l'obtention d'une preuve de concept de l'emploi de cette technologie pour le traitement de la dystrophie myotonique de Steinert (*GETH*). Ce développement a donné lieu à un brevet.

Un autre exemple d'utilisation d'approche assez récente – la thérapie par emploi d'oligonucléotides antisens – est présenté dans le projet *Dynamuscle* sur les myopathies centronucléaires dominantes.

Plusieurs projets ont permis de développer des approches plus classiques de thérapies géniques (*AUDINNOVE*, *SMART-Haemo-Care*, *CYPHunt*). Il faut noter l'intérêt, dans ce domaine du projet *DYSther*, avec la mise au point d'une méthode permettant de pratiquer la thérapie génique au niveau cérébral grâce au développement d'un système capable de franchir la barrière cérébrale, et aussi du projet *OPTOREMODE* pour le traitement de la rétinopathie pigmentaire par l'approche optogénétique.

Autre résultat remarquable, celui de la création d'un épithélium pigmentaire dérivé de cellules embryonnaires pour le traitement de rétinopathies (*SightREPAIR*).

Néanmoins, les projets présentés dans les fiches montrent que des traitements par les molécules chimiques peuvent aussi être performants : traitement de la maladie de Wilson par des chélateurs du cuivre (*COPDETOX*), de la glomérulonéphrite par la pioglitazone (*RARE-C*), de l'épidermolyse bulleuse par le Ruxolitinib (*EBThera*), ou encore du syndrome de Noonan par la simvastatine (*NS-EuroNet*). Le projet *AMUSIA* a quant à lui permis de développer une approche très particulière permettant de traiter des troubles de l'ouïe par des stimulations de la vision.

Outre le rôle très important des projets France 2030 en matière de création d'entreprises, des projets nationaux de l'AAPG ont aussi contribué à la création ou au développement de spin-offs et de start-ups. Par exemple, le projet *EPINE* a contribué à la création de Mifcare en 2013, une entreprise de biotechnologie incubée à Paris Biotech Santé, qui a pour mission de concevoir et développer de nouvelles molécules pour le traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire.

Plus récemment, une licence du brevet issu du projet *CYPHunt* a d'abord été achetée par la société Brain Vectis fondée en 2015, puis rachetée en 2020 par la compagnie américaine AskBio, leader mondial de thérapie génique. Les premiers essais cliniques de phase 1, chez des patients atteints de la maladie de Huntington, ont débuté.

À l'aide d'une approche ciblant l'ARN, la spin-off Dynacure, créée en 2016 et issue des projets *SCD-Mec* et *Dynamuscle*, tente de développer des thérapies contre les myopathies centronucléaires. Dynacure est une start-up appartenant encore au portefeuille de Bpifrance qui a réussi à lever 80,5 M€ en 2020 pour monter un essai clinique<sup>(8)</sup>.

## Perspectives à moyen terme

Grâce à France 2030, le programme géré par l'ANR « Maladies rares : accélérer la recherche et l'innovation sur les maladies rares grâce aux bases de données », selon la mesure 3.2 du PNMR3, va permettre la création *ex nihilo* de bases de données ou l'extension de bases de données déjà existantes relatives aux MR, et leur valorisation par des projets de recherche d'excellence. Dès 2022, 11 projets de bases de données bénéficient d'une aide financière à hauteur de 1,4 M€ par projet sur 6 ans. Ces bases de données devront répondre aux critères FAIR : Faciles à trouver, Accessibles, Interopérables et Réutilisables. Un autre objectif de ce programme est de permettre l'organisation des données, ainsi que leur interopérabilité et leur échange sur le plan national, européen ou international.

Pour la gestion des données générées par les projets financés par France 2030 décrits plus haut, le Plan France génomique 2025 a prévu la mise en place d'un Centre national de calcul intensif, créé en lien avec le Plan cancer, le Plan maladies rares, le Plan maladies neurodégénératives, le Collecteur analyseur de données, le CAD, dont le rôle consistera à traiter et exploiter les données générées. Cet outil France 2030 géré par l'ANR (ANR-21-ESRE-0001) a pour but d'être intégré dans les parcours de soins de médecine génomique en fournissant aux professionnels de santé des analyses *in silico* et un outil d'aide à la décision en matière de diagnostic, de pronostic et d'élaboration de stratégies thérapeutiques. Le projet CAD a débuté en 2021 et bénéficiera d'une aide financière de 80 M€ pour une durée de 7 ans. Il devrait aussi recevoir les données de quatre programmes pilotes dont l'un dans les MR (DEFIDIAG).

L'analyse sur les projets internationaux a démontré que les équipes françaises avaient pris part à la création de réseaux européens dans les maladies rares, tel qu'EuroDBA sur les ribosomopathies, NS-EuroNet sur le syndrome de Noonan ou GENOMIT sur les maladies mitochondriales rares. Ces initiatives s'avèrent indispensables pour mutualiser les financements d'une part, et pour rassembler le plus grand nombre de patients d'autre part. Ces efforts devraient être poursuivis dans le cadre du futur partenariat européen sur les MR, lancé par Horizon Europe en 2024, dont les objectifs généraux sont l'amélioration de la santé et le bien-être des personnes atteintes de maladies rares grâce à la prévention, au diagnostic et au développement des traitements.

Au sein des appels à projets nationaux, la priorité nationale en recherche translationnelle sur les maladies rares se termine en 2023. Comme nous l'avons montré précédemment, cette priorité a eu un impact important sur le dépôt et le financement de projets sur les MR. La poursuite de cette priorité pourrait s'avérer un instrument important pour maintenir un niveau élevé de financement.

18. <https://lehub.web.bpifrance.fr/startup/dynacure>.

# ANNEXE

Le premier tableau ci-dessous récapitule les différents projets impliqués entre 100 et 40 % dans les MR. Le second présente les projets impliqués entre 40 et 10 % dans les MR.

| Instrument                                   | Projet     | Établissement coordinateur                        | Nombre d'établissements partenaires | Date début projet | Date fin projet | Dotations totale non proratisée (en €) |
|--|------------|---|-------------------------------------|-------------------|-----------------|--|
| Cohortes                                     | RaDiCo     | Inserm Délégation Paris IDF Centre-Est            | 9                                   | 10/02/2011        | 31/12/2024      | 12 309 183                             |
| Démonstrateurs                               | PGT        | Genethon  | 3                                   | 15/04/2011        | 31/12/2021      | 19 994 072                             |
| Instituts hospitalo-universitaires           | Imagine    | Fondation Imagine                                 | 7                                   | 01/07/2011        | 31/12/2024      | 81 729 163                             |
| Laboratoires d'excellence                    | GR-Ex      | Université Paris-Cité                             | 27                                  | 01/03/2012        | 31/03/2022      | 10 183 676                             |
| Recherches hospitalo-universitaires en santé | ATRACTION  | Fondation Imagine                                 | 10                                  | 01/01/2020        | 30/06/2025      | 9 939 535                              |
| Recherches hospitalo-universitaires en santé | AUDINNOVE  | AP-HP   | 3                                   | 01/01/2020        | 30/06/2025      | 9 740 615                              |
| Recherches hospitalo-universitaires en santé | BETPSY     | Université de Lyon I (Claude Bernard)             | 5                                   | 01/12/2019        | 30/11/2024      | 7 381 509                              |
| Recherches hospitalo-universitaires en santé | C'IL-LICO  | Fondation Imagine                                 | 6                                   | 01/01/2018        | 31/12/2023      | 5 976 352                              |
| Recherches hospitalo-universitaires en santé | COSY       | Inserm Délégation Paris IDF Centre-Nord (Paris 5) | 10                                  | 01/12/2019        | 30/11/2024      | 9 423 907                              |
| Recherches hospitalo-universitaires en santé | iMAP       | AP-HP   | 8                                   | 25/06/2016        | 24/06/2023      | 9 000 000                              |
| Recherches hospitalo-universitaires en santé | IRIS       | AP-HP   | 4                                   | 01/11/2019        | 01/03/2025      | 7 000 000                              |
| Recherches hospitalo-universitaires en santé | LIGHT4DEAF | Sorbonne Université                               | 12                                  | 01/11/2015        | 31/10/2021      | 9 500 000                              |
| Recherches hospitalo-universitaires en santé | TRT-cSVD   | Inserm Délégation Paris IDF Centre-Nord (Paris 5) | 10                                  | 01/02/2017        | 31/01/2024      | 8 000 000                              |
| <b>Dotations proratisées :</b>               |            |   |                                     |                   |                 | <b>191,7M€</b>                         |

| Instrument                             | Projet              | Établissement coordinateur                         | Nombre d'établissements partenaires | Date début projet | Date fin projet | Dotations totale non proratisée (en €) |
|--|---------------------|--|-------------------------------------|-------------------|-----------------|--|
| Équipements d'excellence               | 7T AMI              | Université d'Aix-Marseille                         | 2                                   | 01/07/2012        | 31/12/2021      | 8 000 000                              |
| Équipements d'excellence               | LIGAN PM            | CNRS Hauts-de-France                               | 1                                   | 22/02/2011        | 30/06/2021      | 7 988 487                              |
| Infrastructures                        | ECELLFRANCE         | Université de Montpellier                          | 9                                   | 01/09/2012        | 31/12/2024      | 16 300 001                             |
| Infrastructures                        | IFB (ex Renabi-IFB) | CNRS IDF Sud (Gif)                                 | 5                                   | 01/01/2013        | 31/12/2024      | 22 800 000                             |
| Infrastructures                        | INGESTEM            | Inserm Délégation Paris IDF Sud                    | 7                                   | 01/08/2012        | 31/12/2024      | 17 502 744                             |
| Infrastructures                        | NeurATRIS           | CEA Fontenay-aux-Roses                             | 9                                   | 01/07/2012        | 31/12/2024      | 31 300 000                             |
| Infrastructures                        | PHENOMIN            | CNRS Alsace (Strasbourg)                           | 3                                   | 01/06/2011        | 31/12/2024      | 33 700 000                             |
| Instituts hospitalo-universitaires     | ICAN                | FCS Ican   | 3                                   | 15/03/2011        | 31/12/2024      | 45 000 000                             |
| Instituts hospitalo-universitaires     | IHU-A-ICM           | Institut du cerveau et de la moelle épinière       | 6                                   | 01/07/2011        | 31/12/2024      | 72 000 000                             |
| Instituts hospitalo-universitaires 2   | FOResIGHT           | Fondation Voir et Entendre                         | 6                                   | 01/01/2019        | 31/08/2028      | 50 000 000                             |
| Instituts hospitalo-universitaires B   | HandiMedEx          | Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines | 0                                   | 01/01/2012        | 31/12/2018      | 3 884 000                              |
| Instituts hospitalo-universitaires B 2 | PreciDIAB           | Université de Lille                                | 7                                   | 01/12/2019        | 30/05/2026      | 5 000 000                              |
| Laboratoires d'excellence              | BIOPSY              | Sorbonne Université                                | 10                                  | 01/03/2012        | 31/12/2019      | 12 000 000                             |
| Laboratoires d'excellence              | DISTALZ             | Fondation I-SITE Université Lille Nord-Europe      | 17                                  | 01/03/2012        | 31/03/2022      | 13 583 500                             |
| Laboratoires d'excellence              | EGID                | Fondation I-SITE Université Lille Nord-Europe      | 8                                   | 13/04/2011        | 31/03/2022      | 21 002 488                             |
| Laboratoires d'excellence              | GENMED              | Fondation Jean Dausset - CEPH                      | 4                                   | 13/04/2011        | 31/12/2022      | 12 000 000                             |
| Laboratoires d'excellence              | IBEID               | Institut Pasteur                                   | 8                                   | 13/04/2011        | 31/12/2024      | 44 594 595                             |
| Laboratoires d'excellence              | ICST                | Université Côte d'Azur                             | 18                                  | 01/03/2012        | 31/07/2021      | 8 630 276                              |
| Laboratoires d'excellence              | INFLAMEX            | Université Paris-Cité                              | 8                                   | 13/04/2011        | 31/03/2022      | 10 459 849                             |
| Laboratoires d'excellence              | INRT                | Université de Strasbourg                           | 3                                   | 13/04/2011        | 31/12/2019      | 20 000 000                             |
| Laboratoires d'excellence              | LERMIT              | Université Paris-Saclay                            | 11                                  | 13/04/2011        | 31/12/2020      | 19 000 000                             |
| Laboratoires d'excellence              | LIFESENSES          | Sorbonne Université                                | 5                                   | 13/04/2011        | 31/12/2019      | 22 000 000                             |
| Laboratoires d'excellence              | MABImprove          | Université de Tours                                | 12                                  | 13/04/2011        | 31/12/2024      | 11 891 892                             |
| Laboratoires d'excellence              | Medalis             | Université de Strasbourg                           | 3                                   | 13/04/2011        | 31/12/2019      | 12 000 000                             |
| Laboratoires d'excellence              | MitoCross           | Université de Strasbourg                           | 1                                   | 01/03/2012        | 31/12/2019      | 5 500 000                              |
| Laboratoires d'excellence              | ParaFrap            | CNRS Hauts-de-France                               | 39                                  | 01/03/2012        | 31/12/2024      | 16 751 79                              |
| Laboratoires d'excellence              | REVIVE              | Institut Pasteur                                   | 12                                  | 13/04/2011        | 31/12/2024      | 41 621 622                             |
| Laboratoires d'excellence              | TRAIL               | Université de Bordeaux                             | 8                                   | 13/04/2011        | 31/12/2019      | 9 000 000                              |

Dotations proratisées : 74,8 M€



# PARTIE 6

## EXEMPLES DE PROJETS FINANCÉS

P. 48  
Projets de recherche structurants

P. 55  
Projets de recherche

# Projets de recherche structurants

# Imagine

## Institut des maladies génétiques

### Rappel des objectifs

#### Contexte

Créé en 2007 comme fondation de coopération scientifique ayant pour fondateurs l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, l'Institut national de la santé et de la recherche médicale, l'Université Paris-Descartes, l'Association française contre les myopathies, la Fondation des hôpitaux et la Mairie de Paris, l'Institut des maladies génétiques Imagine (<http://www.institutimagine.org/en/>) est un institut de recherches et de soins figurant parmi les leaders mondiaux dans le domaine des maladies génétiques. Il a été labellisé Institut hospitalo-universitaire (IHU) en 2011, en reconnaissance de ses activités de recherche translationnelle et clinique, et Institut Carnot en 2020, en reconnaissance de ses activités de recherche partenariale avec l'industrie. Ses missions – recherche centrée sur le patient, soins innovants, formation et valorisation – ont pour but commun de proposer et développer les solutions diagnostiques et thérapeutiques attendues par les patients et leurs familles. L'Institut fédère une masse critique d'experts entièrement dédiés aux maladies génétiques rares : près de 1000 chercheurs, médecins, ingénieurs et techniciens, personnels paramédicaux et professionnels de l'innovation thérapeutique œuvrent autour des patients, en un même lieu : sur le campus hospitalo-universitaire de Necker-Enfants malades.

#### Objectif général

Les maladies rares touchent entre 4 et 6% de la population mondiale et ont une origine génétique dans 80% des cas. Ces maladies représentent un enjeu majeur de santé publique : plus de 8500 maladies rares ont été identifiées à ce jour et atteignent 3 millions de patients en France, et 35 millions en Europe. Prises collectivement, les maladies génétiques rares ne sont ainsi pas si rares. Elles sont caractérisées par leur prévalence (<1/2000 naissances), une forte errance diagnostique (>5 ans pour plus de 25% des patients) et leur sévérité : elles affectent considérablement la qualité de vie des patients, entraînent souvent un déficit moteur, sensoriel ou intellectuel, et sont associées à une forte morbidité clinique. Ces maladies concernent, dans la moitié des cas, des enfants de moins de 5 ans et sont responsables de 10% des décès survenant entre 1 et 5 ans. Enfin, l'offre thérapeutique spécifique pour les patients concernés est extrêmement faible : 90% des maladies génétiques n'ont pas de traitement. Un diagnostic rapide est la clé pour permettre l'accès à des soins médicaux et des services sociaux adaptés et efficaces, ainsi qu'à un traitement. Obtenir un diagnostic juste et précis, même en l'absence de traitement, multiplie les possibilités pour les patients et leurs familles de prévoir leur futur. L'absence de diagnostic accroît le risque et l'inquiétude d'avoir un autre enfant atteint de la même maladie non diagnostiquée.

Pour répondre à ces enjeux scientifiques, médicaux et sociétaux, l'Institut se donne cinq missions principales : nommer, comprendre, traiter, valoriser et transmettre.

### Résultats majeurs

L'histoire d'Imagine est récente, mais les avancées du programme de l'IHU labellisé en 2011 lui permettent aujourd'hui de rassembler une densité exceptionnelle de forces cliniques et de recherche dédiées aux maladies génétiques : 24 laboratoires de recherche, quatre laboratoires associés, 31 centres de référence maladies rares partageant un lieu unique et des ressources communes, s'appuyant sur une feuille de route ambitieuse visant à attirer le meilleur de la science et de la médecine du domaine, accélérer et catalyser l'innovation, en diffuser la connaissance, s'ouvrir au-delà de son campus d'arrimage et déployer un esprit d'institut. Lieu du croisement de la recherche,

des soins, de l'innovation, de l'industrie, des patients et des sciences humaines et sociales, ses résultats ont été salués par le jury international des IHU qui a validé sa feuille de route stratégique 2019-2028 et permis la prolongation du soutien du Programme d'investissements d'avenir pour cinq années supplémentaires (2020-2024) : résultats en matière d'identification de gènes et de constitution de cohortes extrêmement bien qualifiées ; résultats en termes de premières mondiales thérapeutiques (drépanocytose, achondroplasie) ; résultats en matière d'acquisition et d'exploration de données génomiques, biologiques et phénotypiques ; résultats en matière d'attractivité (35% de chercheurs étrangers, huit équipes recrutées à l'international en 6 ans), de formation (programmes d'accueil de doctorants internationaux, de double cursus MD-PhD et temps protégés, et de bio-entrepreneuriat) et de réactivité (lieu d'ouverture et d'agilité que permet la Fondation de coopération scientifique avec un écosystème de premier plan de partenaires académiques, industriels, de sciences humaines et sociales, et associatifs).

Imagine s'est par ailleurs illustré dans la riposte face à la crise sanitaire par le déploiement de projets de recherche sur la Covid-19 : mobilisation sans attendre de cinq laboratoires et de cinq plateformes, ayant des résultats exceptionnels et ayant montré le rôle de l'interprétation des données sur laquelle a reposé, par le séquençage d'exomes et de génomes du monde entier, l'identification des prédispositions génétiques pour 15% des formes sévères de la Covid-19.

### Production scientifique et valorisation

#### Publications

De 2011 à 2021, l'institut a publié plus de 6700 articles, dont plus du tiers dans les domaines de la génétique, de l'immunologie et de la pédiatrie. Près de 60% d'entre elles font appel à des collaborations internationales.

#### Financements

L'Institut a été lauréat de l'appel à projets Domaines d'intérêt majeur de la région Île-de-France pour coordonner un réseau en thérapie génique. Il est également lauréat de plusieurs appels à projet de Recherche hospitalo-universitaire en tant que coordinateur : RHU3 C'IL-LICO sur les ciliopathies rénales en partenariat avec la société Medetia ; RHU4 ATRACTion en immunologie en partenariat avec Sanofi et Ariana Pharma ; RHU5 COVIFERON lié à la Covid-19, en partenariat avec Biomérieux, Cerba Healthcare et Quantarix.

En 2019, Imagine a été lauréat de l'appel à projets SESAME Filières PIA (région Île-de-France, SCPI, Bpifrance) pour le développement d'une plateforme d'analyse en cellule unique (*single-cell*) ouverte à la communauté académique et industrielle. En 2021, Imagine a obtenu un financement pour coordonner le projet Faces4Kids à l'appel Accélérer la recherche et l'innovation sur les maladies rares grâce aux bases de données. Imagine participe également à plusieurs projets européens, soit en tant que coordinateur (projet EDITSCD), ou en tant que partenaire (projet EJPRD, réseaux doctoraux...).

#### Valorisation

Imagine a créé un entrepôt translationnel de données biomédicales unique au monde qui regroupe différentes bases de données hospitalières. Cet entrepôt, appelé Dr Warehouse, dédié aux médecins et aux chercheurs spécialisés en maladies génétiques rares, permet d'accéder à la mémoire collective de l'hôpital en rassemblant des informations de 700 000 patients, soit plus de 7 millions de documents. L'Institut contribue au développement de plus de 90 solutions issues des activités de recherche de ses laboratoires,

25% d'entre elles mobilisant au moins un partenaire industriel. Plus de 300 autres solutions, non issues de ses laboratoires, sont testées en clinique au sein des unités cliniques et centres de référence constitutifs de son périmètre. En 2021, 15 nouvelles demandes de brevets ont été déposées, portant à 52 le nombre de familles de brevets actifs en copropriété. Ces brevets et le savoir-faire associé ont donné lieu à la signature de 17 accords de licence. Depuis 2012, l'Institut a participé à la création de sept start-ups, qui ont levé à ce jour plus de 60 millions d'euros.

#### Formation et dissémination

Imagine participe à la formation des étudiants, des chercheurs et des médecins. La formation Bio-entrepreneurs a été créée en 2016 pour répondre aux besoins de l'écosystème en matière de formation des étudiants, des chercheurs, et du personnel de start-ups ou grands groupes, à l'entrepreneuriat dans le domaine de la santé. Imagine participe à la dissémination de ses résultats auprès du grand public *via* l'ouverture de l'Institut lors de grands événements tels que la Fête de la Science ou le Forum des Associations de patients.

**Début du projet : juillet 2011 | Durée : 13,5 ans |**

**Financement France 2030 : 81 729 163 €**

#### Partenaires

AP-HP | Inserm | Association française contre les myopathies | Fondation des hôpitaux | Université Paris-Cité

#### Coordination

Stanislas Lyonnet – Institut Imagine

stanislas.lyonnet@institutimagine.org

<https://www.ihu-france.org/fr/imagine-institut-des-maladies-genetiques-paris/>

# RaDiCo

## Cohortes maladies rares

### Rappel des objectifs

#### Context

RDs are mainly of genetic origin. More than 4700 genes underlying more than 7200 disease phenotypes have been discovered, but the genes underlying a number of known Mendelian phenotypes are still unknown, and additional Mendelian conditions have yet to be recognized. Thus, there are needs for high quality, interoperable and sustainable RDs (inter)national cohorts.

#### Identifying the locks

RDs' clinical management and research in France and Europe have been hampered by a lack of resources at several levels: few scientists work on only one given disease; there are few patients per disease, scattered over large geographic areas, causing difficulties in gathering data; existing databases and biological collections, when existing, are usually local, not always quality-controlled, of heterogeneous formats and contents, and rarely accessible or standardized for allowing interoperability; phenomes are often complex and partially described along with time, with insufficient interdisciplinary cooperation.

#### Objectives

RaDiCo (Rare Disease Cohorts), selected by the Cohorts call from the Santé-Biotechnologie program of the PIA<sup>(1)</sup>, is coordinated by Inserm. Its main objective was to create a national operational platform dedicated to the development, within a research framework, of a large number of RD cohorts that meet strict criteria of excellence. The objective of the RaDiCo program was therefore twofold. On the one hand, the scientific objective was to set up several RD e-cohorts with aims adapted to the idiosyncrasy of each cohort: 1) Describe the natural history of the targeted RDs; 2) Identify the underlying disease-causing genes; 3) Establish genotype-phenotype correlations; 4) Decipher the underlying pathophysiological mechanisms; 5) Identify new therapeutic avenues; 6) Estimate their societal and medico-economic impact; 7) Identify patients eligible for new therapeutic approaches; 8) Define a methodological strategy of analysis for cohorts which recruit both prevalent and incident cases. On the other hand, to reach these scientific objectives, the other goal was to build a national operational platform, equivalent to an Infrastructure as a Service (IaaS), for implementing a potentially unlimited number of e-cohorts consisting of prevalent and incident cases.

### Résultats majeurs

**A platform, equivalent to an infrastructure, set up *ex nihilo*.** It pools all the resources needed for implementing within an industrialization framework a common RD database: Constructed on the "cloud computing" principle, it is oriented as an Infrastructure as a Service; Interoperable (interoperability is technological, semantic, syntactic, and institutional); Including the Exchange format and data security in compliance with the European directive on the General Data Protection Regulation (GDPR); Favouring the use of a secure, open-source, web application; Ensuring a continuous monitoring of data quality and consistency; In line with the French Health Data Hub. The RaDiCo team comprises 3 units: Clinical research, Information Technology/e-Health, and Biometry. The data of each cohort and associated services are compliant with the FAIR principles (Findable, Accessible, Interoperable and Reusable) in order to publish existing and new e-cohort datasets in semantically interoperable formats. Patients' recruitment is based on ~200 RD centers, members of the French RD networks.

**The launch of 13 RD e-cohorts.** The cohort projects were selected through a RaDiCo national call in 2014 (international evaluation; 16 selected cohorts; success rate: 25%). Thereafter, 13 cohorts were launched, which cover 67 rare diseases with ~7000 patients recruited so far: Congenital Eye Defects (ACOEIL); Still's Disease (ACOSTILL); Low-Phospholipid Associated Cholelithiasis Syndrome (COLPAC); Primary Ciliary Dyskinesia (DCP); Cystinosis (ECYSCO); Alport Syndrome (EURBIO-Alport); Rare Skin diseases Burden (FARD); Intellectual Deficiency and Autism Spectrum Disorders (GENIDA); Imprinting Disorders (IDMet); Mucopolysaccharidoses (MPS); Idiopathic Interstitial Pneumonia (PID); Periodic Paralysis (PP); and Vascular Ehlers-Danlos Syndrome (SEDVasc).

**Perspectives.** At the cohort level, we mutualized and industrialized our production processes, as well as tooling methods such as standardized operating procedures or on-line documents sharing. We implemented solutions to identify key data sets, prioritize fields to be completed related to the cohorts' main objectives, or develop key performance indicators for appropriate follow-up. The RaDiCo platform offers the cohorts a common core of services and specific procedures to ensure installation and follow-up of the RD e-cohorts. The RaDiCo Information System (IS) can drive a virtually unlimited number of RD e-cohorts. The flexibility of the RaDiCo platform also allows stopping the projects that do not meet the expected objectives, without impairing the proper functioning of the entire system (Cohort as a Service). The IS matrix of RaDiCo should allow setting up a large number of other e-cohorts (RDs or common disorders) in the framework of the UMS "France Cohortes" coordinated by Inserm. Currently, 13 RD e-cohorts are implemented, of which two are European. Other national, European and international cohorts are targeted.

### Production scientifique et valorisation

A selection of the results obtained in connection with the secondary objectives is provided below.

**Discovery of new disease genes.** Specific phenotypes were associated with mutations in new genes coding for different classes of proteins. For Primary Ciliary Dyskinesia (PCD), mutations have been identified in TTC12 (a co-chaperone involved in the cytoplasmic preassembly of dynein arms)<sup>(1)</sup> and DNAJB13 (a HSP40 family member involved in the proper building of the ciliary/flagellar axonemes<sup>(2)</sup>); the lack of GAS2L2 causes PCD by impairing cilia orientation and mucociliary clearance<sup>(3)</sup>, whereas DNAH9 encodes one of the axonemal dynein chains<sup>(4)</sup>. For ACOEIL, in patients with developmental eye defects, *de novo missense* variants have been identified in FBXW11, an F-box protein involved in ubiquitination and proteosomal degradation<sup>(5)</sup>.

**Assessing genotype-phenotype relationships.** Infertility has been assessed in adult patients with PCD<sup>(6)</sup>. For EURBIO-Alport, a unified classification of genetic disorders of collagen IV  $\alpha345$  has been proposed<sup>(7)</sup>.

**Assessing treatment management.** For SEDVasc, patients treated with celiprolol were shown to have a better survival than otherwise treated patients<sup>(8)</sup>. Management of cystinosis was reviewed<sup>(9)</sup>.

**Pathophysiology and diagnostic approaches.** For PID, phenotypic heterogeneity has been described in light of the functional assessment of SFTPA1 and SFTPA2 mutations<sup>(10)</sup>.

**Development and validation of burden questionnaires** for several genodermatoses followed by FARD.

**Methodological aspects.** Specific tools have been developed to harmonize our approaches at national and European levels.

**Valorisation.** Overall, 45 articles have been published in international journals, and several public-private partnerships have been established.

1) Thomas L., *et al.* (2020) TTC12 loss-of-function mutations cause primary ciliary dyskinesia and unveil distinct dynein assembly mechanisms in motile cilia versus flagella, *Am J Hum Genet*, 106(2), pp. 153-169.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.12.010>

2) El Khouri E., *et al.* (2016) Mutations in DNAJB13, encoding an HSP40 family member, cause primary ciliary dyskinesia and male infertility, *Am J Hum Genet*, 99(2), pp. 489-500.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.06.022>

3) Bustamante-Marin X. M., *et al.* (2019) Lack of GAS2L2 causes PCD by impairing cilia orientation and mucociliary clearance, *Am J Hum Genet*, 104(2), pp. 229-245.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.12.009>

4) Fassad M. R., *et al.* (2018) Mutations in outer dynein arm heavy chain DNAH9 cause motile cilia defects and situs inversus, *Am J Hum Genet*, 103(6), pp. 984-994.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.10.016>

5) Holt R. J., *et al.* (2019) De novo missense variants in FBXW11 cause diverse developmental phenotypes including brain, eye, and digit anomalies, *Am Hum Genet*, 105(3), pp. 640-657.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.07.005>

6) Vanaken G. J., *et al.* (2017) Infertility in an adult cohort with primary ciliary dyskinesia: phenotype-gene association, *Eur. Respir. J*, 50, p. 1700314.  
<https://doi.org/10.1183/13993003.00314-2017>

7) Kashtan C. E., *et al.* (2018) Alport syndrome: a unified classification of genetic disorders of collagen IV  $\alpha345$ : a position paper of the Alport syndrome classification working group, *Kidney Int*, 93, pp. 1045-1051.  
<https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.12.018>

8) Frank M., *et al.* (2019) Vascular Ehlers-Danlos syndrome: Long-term observational study, *J Am Coll Cardiol*, 73(15), pp. 1948-1957.  
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.01.058>

9) Emma F., *et al.* (2021) An international cohort study spanning five decades assessed outcomes of nephropathic cystinosis, *Kidney Int*, 100(5), pp. 1112-1123.  
<https://doi.org/10.1016/j.kint.2021.06.019>

10) Legendre M., *et al.* (2020) Functional assessment and phenotypic heterogeneity of SFTPA1 and SFTPA2 mutations in interstitial lung diseases and lung cancer, *Eur Respir J*, 56(6), p. 2002806.  
<https://doi.org/10.1183/13993003.02806-2020>

**Début du projet : février 2011 | Durée : 13,5 ans |**

**Financement France 2030 : 12 309 183 €**

**Partenaires**

Sorbonne Université | Université Paris-Cité | Université de Montpellier | Université Paris-Est Créteil | Université de Marseille | Alliance pour la recherche et l'innovation des industries de santé (ARIIS)

**Coordination**

Serge Amselem, Annick Clément, Paul Landais - Inserm - [serge.amselem@inserm.fr](mailto:serge.amselem@inserm.fr) |

Directrice scientifique et opérationnelle Sonia Gueguen - RaDiCo - [sonia.gueguen@radico.fr](mailto:sonia.gueguen@radico.fr)

## PHENOMIN

### Infrastructure nationale en PHÉNOGÉNOMIQUE : contribution à la recherche sur les mécanismes et le développement d'approches thérapeutiques visant à mettre au point des traitements dans le domaine des maladies rares

#### Rappel des objectifs

##### Contexte

Les modèles de rongeurs (75% des modèles animaux utilisés en Europe) sont essentiels pour la recherche fondamentale et pré-clinique, comme pour comprendre le fonctionnement du génome, pour générer des modèles précliniques de maladies humaines ou pour tester les thérapeutiques *in vivo*. Des approches intégratives sont souvent utilisées pour comprendre les processus biologiques et physiopathologiques des maladies rares et de leurs comorbidités au niveau de l'organisme.

PHENOMIN est l'infrastructure nationale pour l'utilisation des modèles souris et rat dans le respect de l'éthique et du principe des 3 R. Subventionnée en 2011 par le Programme d'investissements d'avenir, l'infrastructure s'est construite avec trois nœuds spécialisés : le Centre d'immunophénomique (CIPHE, Marseille), l'Institut clinique de la souris (ICS, Strasbourg) et l'unité Typage et archivage animaux modèles (TAAM, Orléans). En 2016, elle a intégré l'infrastructure CELPHEDIA inscrite sur la feuille de route nationale.

L'infrastructure PHENOMIN s'est attachée à servir la communauté scientifique, académique et privée, pour comprendre la physiopathologie des maladies rares et ouvrir de nouvelles opportunités pour l'innovation et le développement de thérapies et de médicaments.

Pour atteindre ces objectifs, PHENOMIN a développé un programme de recherche et développement et a mis en place une solide infrastructure certifiée ISO 9001/2015 et dotée d'un portail web unique pour les utilisateurs. PHENOMIN est également un acteur majeur dans l'analyse des gènes au travers des modèles souris et rat, à travers INFRAFRONTIER, l'infrastructure paneuropéenne identifiée par l'ESFRI, et l'International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC), l'infrastructure mondiale pour élaborer le premier catalogue complet et fonctionnel d'un génome de mammifère. Les usagers de PHENOMIN peuvent ainsi profiter des plus hauts standards pour la génétique de la souris et du rat, afin de conduire des analyses exhaustives des grandes fonctions physiologiques et cognitives pour déterminer les mécanismes des maladies, puis utiliser des approches pharmacologiques ou de thérapie génique pour réduire certains symptômes de la maladie. PHENOMIN simplifie également l'accès aux modèles créés dans le cadre de l'IMPC, de l'Europe ou générés avec le soutien de la Fondation maladies rares. PHENOMIN a ainsi constitué, au travers de plusieurs programmes, une collection scientifique unique de modèles de maladies rares.

Dans l'avenir, PHENOMIN continuera d'enrichir cette ressource de modèles souris et rat pour les variants pathologiques identifiés dans le génome des individus porteurs de maladies rares. Avec une meilleure compréhension du ou des mécanismes de la maladie, grâce aux explorations fonctionnelles et études précliniques sur ces modèles animaux, il sera alors possible d'envisager des approches thérapeutiques pour réduire les conséquences les plus sévères et les comorbidités associées aux maladies rares chez l'humain.

#### Résultats majeurs

PHENOMIN est fortement impliqué dans la recherche sur les maladies rares avec :

- 1) La création de 50 modèles souris et trois modèles rats pour des gènes impliqués dans des maladies rares (sur 145 applications) dans le cadre des appels d'offre entre 2013 et 2019** en relation avec l'International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC) et la Fondation maladies rares.
- 2) La création de modèles de maladies rares** pour des associations comme l'Association française du syndrome de Costello et

Cardio-Facio-Cutané avec la création de trois nouveaux modèles présentant une meilleure pertinence et utilisés pour des approches thérapeutiques avec une équipe de recherche clinique<sup>(1)</sup> ; ou encore l'association Cure-CLCN4, avec la création de modèles rat pour cette maladie.

**3) Des projets de recherche directement financés par l'ANR dont NACID** pour étudier la contribution neuronale et astrogliale aux handicaps intellectuels, et plus récemment le projet EJP RD-MECP2-3D pour développer une thérapie génique personnalisée du syndrome de Rett, en ciblant MECP2 à l'aide de la technologie CRISPR/Cas9 couplée à l'administration par AAV.

**4) L'implication dans des programmes européens et internationaux sur les maladies rares :** i) le projet GENCODYS qui s'intéressait aux réseaux génétiques et épigénétiques dans les dysfonctions cognitives dues à des maladies rares et qui a conduit à la création de **26 nouveaux modèles** analysés finement<sup>(2,3)</sup> ; ii) le réseau international de formation Pain-Net sur les maladies rares conduisant à des douleurs chroniques avec la création de quatre modèles (1KO et 3KI) dans ce domaine émergent<sup>(4)</sup> ; et iii) la contribution à l'IMPC pour dévoiler des informations fonctionnelles pour chaque gène en générant et en phénotypant systématiquement **20 000 lignées de souris portant des inactivations des gènes**<sup>(5-7)</sup>. La ressource créée conjointement par 26 centres répartis sur le globe est totalement ouverte avec l'accès aux données standardisées et aux modèles souris générés ([www.mousephenotype.org](http://www.mousephenotype.org)). Pour les chercheurs cliniques qui recherchent des liens entre le gène et la maladie, l'IMPC est une ressource de découverte de phénotypage génétique qui fournit un volume sans précédent de données de haute qualité. Les cliniciens peuvent utiliser les données IMPC pour trouver des modèles de souris pertinents pour la maladie humaine par gène orthologue ou par des caractéristiques phénotypiques partagées. Des collaborations existent avec des initiatives comme le Undiagnosed Disease Network, les Centers for Mendelian Genomics et le Gabriella Miller Kids First Pediatric Research Program aux États-Unis, le European Rare Disease Models & Mechanisms Network et la Fondation maladies rares.

**5) Le développement de traitement pour les maladies rares** dans GENCODYS pour deux maladies<sup>(8)</sup> puis, avec les ressources créées par PHENOMIN, pour le trouble du spectre autistique due à la délétion de la région 16p11.2<sup>(9)</sup> et la trisomie 21<sup>(10)</sup>.

#### Production scientifique et valorisation

- 1) Dard L., *et al.* (2022) HRAS germline mutations impair LKB1/AMPK signaling and mitochondrial homeostasis in Costello syndrome models, *The Journal of Clinical Investigation*, 132(8), e131053. <https://doi.org/10.1172/JCI131053>
- 2) Dubos A., *et al.* (2018) A new mouse model of ARX dup24 recapitulates the patients' behavioral and fine motor alterations, *Human Molecular Genetics*, 27(12), pp. 2138-2153. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy122>
- 3) Ivanova E. L., *et al.* (2019) TUBG1 missense variants underlying cortical malformations disrupt neuronal locomotion and microtubule dynamics but not neurogenesis, *Nature Communications*, 10(1), p. 2129. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10081-8>
- 4) Xue Y., *et al.* (2022) The Human SCN9A R185H Point Mutation Induces Pain Hypersensitivity and Spontaneous Pain in Mice, *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 15, p. 913990. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.913990>

5) Birling M. C., *et al.* (2021) A resource of targeted mutant mouse lines for 5,061 genes, *Nature Genetics*, 53(4), pp. 416-419.  
<https://doi.org/10.1038/s41588-021-00825-y>

6) Cacheiro P., *et al.* (2020) Human and mouse essentiality screens as a resource for disease gene discovery, *Nature Communications*, 11(1), p. 655.  
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-14284-2>

7) Dickinson M. E., *et al.* (2016) High-throughput discovery of novel developmental phenotypes, *Nature*, 537(7621), pp. 508-514.  
<https://doi.org/10.1038/nature19356>

8) Delepine C., *et al.* (2016) Altered microtubule dynamics and vesicular transport in mouse and human MeCP2-deficient astrocytes, *Human Molecular Genetics*, 25(1), p. 146.  
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddv464>

9) Martin Lorenzo S., *et al.* (2021) Targeting the RHOA pathway improves learning and memory in adult Kctd13 and 16p11.2 deletion mouse models, *Molecular Autism*, 12(1), p. 1.  
<https://doi.org/10.1186/s13229-020-00405-7>

10) Nguyen T. L., *et al.* (2018) Correction of cognitive deficits in mouse models of Down syndrome by a pharmacological inhibitor of DYRK1A, *Disease Models & Mechanisms*, 11(9), dmm035634.  
<https://doi.org/10.1242/dmm.035634>

**Début du projet : juillet 2011 | Durée : 13,5 ans |**

**Financement France 2030 : 33 700 000 €**

**Cofinancement projets nationaux et internationaux**

**ANR : NACID (499 400 €) et EJP RD-MECPeR-3D**

**(248 616 €)**

**Partenaires**

Fondation maladies rares | INFRAFRONTIER | International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC)

**Coordination**

Yann HERAULT – Institut clinique de la souris (IGBMC) –

herault@igbmc.fr

www.phenomin.fr



# Projets de recherche

## AMUSIA

### Déficits de perception et mémoire auditive dans l'amusie congénitale : vers une rééducation multisensorielle

#### Rappel des objectifs

Environ 1 à 2% de la population souffre d'« amusie congénitale », un déficit de la perception et de la production musicales. Ce déficit semble lié au traitement de la hauteur des sons, avec des répercussions principalement sur le traitement de la musique. Les seuils de discrimination de hauteurs sont anormalement élevés chez les amusiques, ce qui a été interprété comme la manifestation d'un déficit de perception de la hauteur. Plus récemment, des travaux ont suggéré que le déficit principal est lié à des anomalies dans la mémoire à court terme de la hauteur des sons, ces anomalies pouvant survenir sans trouble perceptif décelable. Notre projet étudiait les corrélats comportementaux et cérébraux de l'amusie. Le premier objectif était de caractériser les processus déficitaires et les processus préservés dans la perception et la mémoire de la hauteur, en combinant des mesures comportementales et d'imagerie cérébrale. Le second objectif était d'élaborer un programme de rééducation, en s'appuyant d'une part sur les connaissances que nous apportions quant à ses corrélats anatomofonctionnels, et d'autre part sur la facilitation perceptive produite par l'aide d'une seconde modalité sensorielle (la vision).

#### Résultats majeurs

Notre projet a visé à caractériser la spécificité anatomofonctionnelle de l'amusie en comparant des sujets amusiques et des contrôles appariés et en combinant trois types de mesures : comportement, imagerie anatomique, imagerie fonctionnelle. Nous avons utilisé non seulement des protocoles testant le traitement explicite, mais aussi des tâches de traitement implicite des sons. En s'appuyant sur les processus implicites préservés, nous avons combiné notre investigation du traitement auditif aux interactions multisensorielles. Les travaux récents sur l'intégration visuo-auditive soulignent l'intérêt potentiel d'exploiter la piste des interactions entre vision et audition pour améliorer le traitement de la hauteur tonale grâce à des informations visuelles simultanées.

AMUSIA a permis de montrer que les amusiques présentent un traitement altéré de l'information musicale dans deux régions cérébrales : le cortex auditif et le cortex préfrontal, surtout dans l'hémisphère droit. De plus, nous avons montré certains traitements implicites préservés pour la musique. La perception des sons chez les amusiques peut bénéficier d'un allongement du temps d'encodage, ainsi que des structures musicales et des informations visuelles présentées conjointement (même si celles-ci ne codent pas la hauteur des sons). Le projet inclut de nouvelles collaborations avec différents laboratoires au Canada (Montréal, Toronto, Hamilton) et aux États-Unis (Boston).

#### Production scientifique et valorisation

Albouy P., *et al.* (2013) Impaired pitch perception and memory in congenital amusia: The deficit starts in the auditory cortex, *Brain*, 136 (5), pp. 1639-1661.

<https://doi.org/10.1093/brain/awt082>

Albouy P., *et al.* (2015) Boosting pitch encoding with audiovisual interactions in congenital amusia, *Neuropsychologia*, 67, pp. 111-120.

<https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2014.12.006>

Lévêque Y., *et al.* (2016) Altered intrinsic connectivity of the auditory cortex in congenital amusia, *Journal of Neurophysiology*, 116, pp. 88-97.

<https://doi.org/10.1152/jn.00663.2015>

Norman-Haignere S., *et al.* (2016) Pitch-responsive cortical regions in congenital amusia, *Journal of Neurosciences*, 36, pp. 2986-2994.

<https://doi.org/10.1523/jneurosci.2705-15.2016>

**Début du projet : janvier 2012 | Durée : 42 mois |**

**Financement ANR : 263 195 €**

#### Partenaires

Institut des neurosciences cognitives et intégratives d'Aquitaine (INICIA), CHU de Bordeaux ICERMEP, Lyon I CRNL

#### Coordination

Barbara Tillmann, Anne Caclin – Centre de recherche en neurosciences de Lyon – [Barbara.Tillmann@cnrs.fr](mailto:Barbara.Tillmann@cnrs.fr) – [Anne.Caclin@inserm.fr](mailto:Anne.Caclin@inserm.fr)

<https://www.crnl.fr>

# ANI

## Caractérisation moléculaire de remaniements chromosomiques apparemment équilibrés par séquençage haut débit chez 55 patients atteints de déficience intellectuelle et ou de malformations congénitales

### Rappel des objectifs

Les remaniements chromosomiques apparemment équilibrés (RCAE) associés à un phénotype anormal, principalement une déficience intellectuelle et/ou des malformations congénitales (DI/MC), sont des événements rares, mais qui posent des difficultés pour le conseil génétique. Le phénotype peut être secondaire à une interruption de gène par le point de cassure. Cependant, l'étude des points de cassure par les méthodes conventionnelles est longue et coûteuse, et n'est pas réalisée en routine. Le séquençage haut débit (*Next Generation Sequencing*, NGS) est une nouvelle méthode rapide et efficace pour caractériser les points de cassure au niveau moléculaire. L'objectif principal est d'étudier 55 patients porteurs de RCAE par NGS afin d'identifier des gènes responsables d'anomalies du développement, expliquant leurs signes cliniques. Cette étude permettra de développer un protocole bio-informatique adapté à l'analyse de routine des RCAE par NGS, d'améliorer la prise en charge et le conseil génétique des patients, de mieux comprendre les mécanismes et les conséquences fonctionnelles des RCAE, et d'identifier de nouveaux gènes responsables de déficience intellectuelle.

### Résultats majeurs

L'approche NGS est efficace puisque nous avons détecté 89% des RCAE (49/55) parmi les patients inclus. Les signatures moléculaires aux points de cassure montrent que le NHEJ est le principal mécanisme de réparation (55% des RCAE). Les cassures surviennent au hasard et les séquences répétées n'ont pas d'influence. Un diagnostic a été posé pour 22 patients sur 49 (44,8%), 15 par interruption de gène (KANS1, FOXP1, SPRED1, MEIS2, MBD5(x2), DMD, MEF2C, NRXN1, NFIX, AUTS2, SYNGAP1, GHR, TLK2, ZMIZ1) et sept par effet de position (BCL11B(x2), MEF2C(x2), DLX5, SATB2, ZMIZ1). Parmi ces gènes, trois n'étaient pas encore impliqués en pathologie et ont été validés grâce à des collaborations internationales (BCL11B, ZMIZ1 et TLK2). Les études d'expression ont mis en évidence un impact fonctionnel des points de cassure sur les gènes interrompus, mais aussi certains gènes adjacents. Les remaniements sont souvent plus complexes qu'attendu. Nous avons ainsi identifié six *chromoanagenesis*, remaniements chromosomiques extrêmement complexes. Nous avons ensuite recueilli d'autres cas de *chromoanagenesis* afin de décrire leur complexité, et d'étudier leur mécanisme de survenue et leur mode de transmission méiotique. Concernant les six RCAE qui n'ont pas pu être identifiés par NGS, nous avons développé des stratégies alternatives, utilisant de nouveaux outils bio-informatiques, des techniques de séquençage *long-read* ou de cartographie optique afin de poursuivre leur caractérisation.

### Production scientifique et valorisation

Schluth-Bolard C., *et al.* (2019), Whole genome paired-end sequencing elucidates functional and phenotypic consequences of balanced chromosomal rearrangement in patients with developmental disorders, *J Med Genet*, 56(8), pp. 526-535. <https://jmg.bmj.com/content/56/8/526>

Lessel D., *et al.* (2018), BCL11B mutations in patients affected by a neurodevelopmental disorder with reduced type 2 innate lymphoid cells, *Brain*, 141(8), pp. 2299-2311. <https://doi.org/10.1093/brain/awy173>

Reijnders M. R. F., *et al.* (2018), De Novo and Inherited Loss-of-Function Variants in TLK2: Clinical and Genotype-Phenotype Evaluation of a Distinct Neurodevelopmental Disorder, *Am J Hum Genet.*, 102(6), pp. 1195-1203. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.04.014>

Carapito R., *et al.* (2020), ZMIZ1 Variants Cause a Syndromic Neurodevelopmental Disorder, *Am J Hum Genet.*, 106(1), pp. 137. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.11.014>

Mantere T., *et al.* (2021), Optical genome mapping enables constitutional chromosomal aberration detection, *Am J Hum Genet.*, 108(8), pp. 1409-1422. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2021.05.012>

Un programme d'annotation des variants structuraux : <https://gitlab.inria.fr/NGS/svagger>

Proposition de caractérisation des RCAE par NGS en diagnostic. Aide à l'élaboration de pipeline d'analyse bio-informatique pour l'étude des points de cassure des RCAE (projet DEFIDIAG) et du Plan France médecine génomique 2025.

**Début du projet : février 2014 | Durée : 48 mois | Financement ANR : 79 612 €**

#### Partenaires

Le projet ANI a associé une équipe de recherche, un centre de biotechnologie cellulaire et 24 centres de génétique hospitaliers et hopitalo-universitaires.

#### Coordination

Caroline Schluth-Bolard – Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Institut de génétique médicale d'Alsace, UMR\_S 1112 Inserm, Université de Strasbourg – [caroline.schluth-bolard@chru-strasbourg.fr](mailto:caroline.schluth-bolard@chru-strasbourg.fr)

## AUDINNOVE

### Thérapie des surdités congénitales neurosensorielles

#### Rappel des objectifs

Non-syndromic congenital deafness affects 1 in 1000 newborns. To date, there is no curative treatment for sensorineural deafness. Today, hearing can be improved with electronic devices, including hearing aids or cochlear implantation that are still far from perfect. Developing a targeted curative treatment to restore natural hearing is therefore an essential issue for deaf patients.

In this context, the AUDINNOVE project focused on DFNB9 deafness, an auditory synaptopathy representing 2 to 10% of congenital deafness and affecting the synaptic transmission between the inner hair cells (IHC) and the auditory nerves. DFNB9 results from mutations in the OTOF gene encoding otoferlin, the major calcium sensor that is essential for IHC synaptic exocytosis. This deafness is an ideal candidate for gene therapies because of the development of a well-characterized mouse model whose normal hearing was restored by gene therapy using an adeno-associated virus (AAV). Gene therapy aims to deliver to the deaf ear a functional copy of OTOF gene and to restore normal hearing in DFNB9 human patients.

The AUDINNOVE project involves a multidisciplinary approach to define and characterize a cohort of patients, to develop and to manufacture a therapeutic vector that will be evaluated in a phase 1/2 clinical trial.

#### Résultats majeurs

##### Definition and characterization of a patient cohort

The cohort aims at characterizing 25 patients with otoferlin mutations out of 150 recruited over 3 years and divided into 3 groups: i) Children (0-3 years-old) newly diagnosed with severe to profound deafness; ii) children (0-16 years-old) newly diagnosed with an auditory neuropathy; iii) patients under 25 years-old with a known OTOF mutation. After two and a half years, over 100 patients have been included in Audioferline, of which 27 carry an OTOF mutation.

##### Preclinical phase of the DFNB9 gene therapy

We demonstrated that, just like with murine otoferlin, our AAV therapeutic recombinant vectors driving the expression of human otoferlin led to a stable and long-term hearing restoration in the DFNB9 mouse model when delivered at a mature stage. We also showed that the vector/promoter combination displayed the same tropism and specificity (i.e. the inner ear cells) in non-human primates (NHP).

##### Gene Therapy in Human

Moving from animal models to humans, we have developed a surgical approach combining two procedures well controlled by ENT surgeons for cochlear implant and stapedotomy. A delivery injection system is under development to optimize the administration of the clinical candidate therapeutic vector.

#### Production scientifique et valorisation

Analytical and development process have been successfully completed, leading to the production of the toxicological batches. GMP manufacturing have been initiated.

The development plan has been discussed and well received by EMA and ANSM. Orphan Drug Designation was granted by EMA. Feedback from FDA is pending while Rare Pediatric Disease Designation has been granted. Program development is on track for a Clinical Trial Application submission in 1H 2023.

**Début du projet : janvier 2020 | Durée : 66 mois |**

**Financement France 2030 : 9 700 000 €**

#### Partenaires

Sensorion | Institut Pasteur | Fondation pour l'audition

#### Coordination

Natalie Loundon – Hôpital Necker-Enfants malades –  
natalie.loundon@aphp.fr

# BioGvHD

## Biomarqueurs de la maladie du greffon contre l'hôte et de la tolérance immunitaire chez l'humain

### Rappel des objectifs

La maladie du greffon contre l'hôte (GvHD : *graft-versus-host disease*) est la complication la plus fréquente de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH). Nos connaissances de sa physiopathologie proviennent presque exclusivement de modèles expérimentaux. L'évolution des connaissances et des outils de la biologie ouvrent la porte à l'identification des mécanismes de la GvHD chez l'humain. Le projet BioGvHD s'est appuyé sur deux cohortes successives de patients : la première issue de patients greffés à l'Hôpital Saint-Louis, la seconde, issue de la bio-banque financée par l'ANR dans le cadre des investissements d'avenir, CRYOSTEM (cryopréservation d'échantillons biologiques prospective chez les patients atteints de GvHD).

Les objectifs du projet étaient d'étudier : 1) le suivi séquentiel de l'immunophénotype et le métabolome des patients ainsi que les profils d'expression génique de sous-populations de lymphocytes T lors de la survenue de la GvHD ; 2) la tolérance immunitaire à l'aide de la cytométrie de masse, de la métabolomique plasmatique et du RNAseq des cellules mononucléées en comparant à long terme donneur et receveur HLA géno-identique.

### Résultats majeurs

Deux premières études ont été réalisées avec l'équipe du Dr Rogge à l'Institut Pasteur. La première, publiée dans *Nature Communications*, a étudié le métabolome des patients (avec ou sans GvHD) et de leurs donneurs et a montré que, lors de la survenue de la GvHD, en sus des métabolites issus du receveur, on retrouve des variations significatives de métabolites issus du microbiome intestinal. Dans une deuxième étude, le même profil de patient a été étudié en cytométrie spectrale et en profil d'expression génique par Nanostring et a montré que les lymphocytes CD4 et CD8 avec un phénotype de type TSCM (souche mémoire) sont étendus au moment de la survenue de la GvHD et que le profil moléculaire des lymphocytes T est caractérisé par une diminution du TGF-Beta et une augmentation de la voie de signalisation NF-kB.

Une troisième étude s'est intéressée à la tolérance opérationnelle. Elle a été réalisée en collaboration avec l'équipe du Pr Seyz de l'Université de Gand (Belgique). Dans cette étude multi-omics, l'intégration des données cliniques et biologiques a montré des altérations centrées sur la voie de l'adénosine avec une balance centrée sur le CD38 chez les patients non tolérants et le CD73 chez les tolérants. Ces derniers montrent, de plus, l'expansion de populations régulatrices et des altérations dans l'expression des gènes régulant le cycle cellulaire

### Production scientifique et valorisation

Michonneau D., et al. (2019) Metabolomics analysis of human acute graft versus-host disease reveals changes in host and microbiota-derived metabolites, *Nature Communications*, 10, art. 5695. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13498-3>

Latis E., et al. (2020) Cellular and molecular profiling of T-cell subsets at the onset of human acute GVHD, *Blood Advances*, 4(16), pp. 3927-3942. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019001032>

Dubouchet L., et al. (2022) Operational tolerance after hematopoietic stem cell transplantation is characterized by distinct transcriptional, phenotypic, and metabolic signatures, *Science Translational Medicine*, 14(633), eabg3083. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abg3083>

**Début du projet : décembre 2013 | Durée : 48 mois |  
Financement ANR : 142 433 €**

#### Partenaires

Immunoregulation Unit, Department of Immunology, Institut Pasteur, Paris | Laboratoire de biomathématiques plateau iB2EA 7537-BioSTM | Data Mining and Modeling for Biomedicine, VIB Center for Inflammation Research, Gand (Belgique)

#### Coordination

Gérard Socié – U 976 Inserm, Université Paris-Cité, Hôpital Saint-Louis, AP-HP – [gerard.socie@aphp.fr](mailto:gerard.socie@aphp.fr)

## CerID-Gene

### Mécanismes génétiques et physiopathologiques responsables de déficiences intellectuelles associées à une malformation cérébelleuse

Appel à projets générique | 2016

## SCD-Mec

### Mécanismes développementaux des anomalies structurelles cérébelleuses

#### Rappel des objectifs

Les troubles du neurodéveloppement (TND) représentent un groupe hétérogène de maladies multifactorielles caractérisées par des troubles cognitifs, de la communication, du comportement, ainsi que des défauts moteurs. Ils incluent notamment les déficiences intellectuelles, l'autisme, des troubles des apprentissages et de la coordination. Ces maladies concernent 2 à 3% des naissances et, malgré les progrès récents, près de la moitié des cas restent inexplicables. Parmi les structures cérébrales impliquées, le cervelet est suspecté de jouer un rôle non seulement dans des troubles de la coordination motrice, mais aussi dans des troubles cognitifs. Ainsi, pour une part importante d'enfants avec des TND, mais sans diagnostic étiologique, l'implication d'anomalies développementales du cervelet est suspectée et, pour au moins une naissance sur 10 000, des anomalies structurelles du cervelet sont visibles en imagerie.

Le projet SCD-Mec avait pour objectif de poursuivre, dans un premier temps, un travail initié dans le cadre du projet CerID-Gene, qui concerne l'identification de nouvelles causes génétiques des TND avec anomalie cérébelleuse. Le but étant d'améliorer le diagnostic et la prise en charge des malades. Pour cela, nous avons réalisé des analyses génétiques haut débit sur des cohortes de malades bien caractérisés. Ensuite, nous avons modélisé les défauts cellulaires et biochimiques impliqués dans ces anomalies pour mieux les comprendre et identifier des pistes thérapeutiques. Nous avons utilisé le modèle souris et des modèles cellulaires, dont les cellules souches pluripotentes induites (iPS). Ces cellules permettent notamment, à partir d'un prélèvement de cellules sanguines, ou de peau de patients, de créer des neurones et ainsi d'étudier l'anomalie génétique dans un contexte physiologique pertinent pour la pathologie.

Ce financement a permis de caractériser dix nouveaux gènes de pathologie et de nombreux autres candidats, améliorant ainsi le diagnostic des TND. Nous avons pu aussi étudier précisément le mécanisme physiopathologique dans le cadre de quatre de ces TND. La caractérisation de ces mécanismes a permis d'identifier des biomarqueurs de maladies métaboliques de la glycosylation pour de futures études thérapeutiques et d'identifier une cible thérapeutique claire, un canal calcique dérégulé, qui fait actuellement l'objet d'un projet collaboratif. L'étude d'un groupe de maladies neurodégénératives précoces a permis d'identifier un mécanisme complètement insoupçonné, l'accumulation d'un inositol polyphosphate spécifique, ouvrant de nouvelles perspectives sur la compréhension et le traitement de ces maladies. Par ailleurs, l'identification de défaut d'acquisition de l'identité cellulaire de neurones cérébelleux a souligné l'implication possible, dans ces pathologies, de facteurs de transcription clefs durant le neurodéveloppement précoce (Coolen *et al.*, 2022).

#### Résultats majeurs

Ce travail a permis l'identification et la validation de multiples nouveaux gènes de pathologies et ainsi de nombreux diagnostics génétiques. En complément de la collaboration étroite avec les généticiens, neuropédiatres et neuroradiologues de l'hôpital Necker, ce projet a permis la mise en place d'une nouvelle collaboration avec le Centre national de référence des maladies congénitales du cervelet, coordonné par le Dr Lydie Burglen. Cette collaboration, maintenant durable, a eu un rôle clef pour identifier de nouveaux gènes de pathologie et mieux définir le spectre clinique associé (Ucuncu *et al.*, 2020 ; Coolenu *et al.*, 2022).

À titre d'exemple, une de nos découvertes a été celle de variants *de novo*, identifiés dans le gène *CACNA1G* chez des enfants présentant une déficience intellectuelle syndromique avec une atrophie précoce du cervelet, et des symptômes apparaissant dès les premiers mois de vie. Ce gène code pour un canal calcique exprimé fortement dans le cervelet, particulièrement au niveau des cellules de Purkinje. Grâce à une collaboration avec le groupe de P. Lory (IGF, Montpellier), nous avons montré que les mutations identifiées sont de type gain de fonction, elles modifient sévèrement les propriétés physiologiques de ces canaux, entraînant une augmentation de l'entrée de calcium. L'intérêt de cette découverte, au-delà du diagnostic, est la possibilité de corriger pharmacologiquement ce courant calcique anormal avec des bloqueurs existants (Chemin *et al.*, 2018). Des modèles plus proches de la pathologie, notamment la souris, le poisson-zèbre et des cellules iPS, sont en développement pour préciser ce mécanisme et évaluer des perspectives thérapeutiques.

Par ailleurs, nous avons étudié une maladie rare appelée l'hypoplasie pontocérébelleuse (HPC), caractérisée par un développement incomplet du cervelet et du tronc cérébral. Nous avons identifié un groupe de patients présentant une HPC avec neurodégénérescence des ganglions de la base et des mutations dans *MINPP1*. Ce gène code pour une enzyme impliquée dans la voie métabolique des inositols phosphates. Nous avons généré et différencié des lignées iPS issues de patients et identifié un défaut spécifique lors de la différenciation neuronale, accompagné d'une augmentation de la mort cellulaire des neurones en différenciation. Ce défaut de différenciation est associé à des anomalies touchant les inositol phosphates intracellulaires dont une augmentation très significative du taux d'inositol hexakisphosphate (IP6), le substrat de l'enzyme MINPP1. Cet IP6 est un fort chélateur de cation, et nous avons identifié une diminution drastique des concentrations de  $Ca^{2+}$  et  $Fe^{3+}$  intracellulaire libre en absence de l'enzyme MINPP1, suggérant ainsi une piste mécanistique pour l'origine du défaut cellulaire. Ce travail a permis d'impliquer la voie des inositols polyphosphates dans une maladie mendélienne et d'identifier un rôle insoupçonné pour l'IP6 dans un processus neurodégénératif précoce (Ucuncu *et al.*, 2020).

### Production scientifique et valorisation

Ce financement a d'abord permis l'identification d'une dizaine de nouveaux gènes de pathologie. Les données générées pour l'ensemble des familles incluent aussi de nombreux autres gènes candidats. Nous avons précisé les mécanismes physiopathologiques impliqués dans le cadre de quatre de ces TND.

Ce travail a donc permis d'améliorer le diagnostic de ce groupe de pathologies. Il a aussi amené à une meilleure compréhension des mécanismes génétiques, biochimiques et cellulaires impliqués, ainsi qu'à l'identification d'une piste thérapeutique, à l'étude, pour un groupe de patients avec mutations dans le canal *CACNA1G*.

Cavallin M., *et al.* (2017) *WDR81 mutations cause extreme microcephaly and impair mitotic progression in human fibroblasts and Drosophila neural stem cells*, *Brain*, 140(10), pp. 2597-2609.

<https://doi.org/10.1093/brain/awx218>

Medina-Cano D., *et al.* (2018) *High N-glycan multiplicity is critical for neuronal adhesion and sensitizes the developing cerebellum to N-glycosylation defect*, *Elife*, 12, p. 7:e38309.

<https://doi.org/10.7554/elife.38309>

Chemin J., *et al.* (2018), *De novo mutation screening in childhood-onset cerebellar atrophy identifies gain-of-function mutations in the CACNA1G calcium channel gene*, *Brain*, 141(7), pp. 1998-2013.

<https://doi.org/10.1093/brain/awy145>

Ucuncu E., *et al.* (2020), *MINPP1 prevents intracellular accumulation of the chelator inositol hexakisphosphate and is mutated in Pontocerebellar Hypoplasia*, *Nat Commun.*, 11(1), p. 6087.

<https://doi.org/10.1038/s41467-020-19919-y>

Coolen M., *et al.* (2022), *Recessive PRDM13 mutations cause fatal perinatal brainstem dysfunction with cerebellar hypoplasia and disrupt Purkinje cell differentiation*, *Am J Hum Genet.*, 109(5), pp. 909-927.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2022.03>

#### CerID-Gene

Début du projet : février 2013 |

Durée : 36 mois |

Instrument : Retour Post-Doc |

Financement ANR : 529 137 €

#### SCD-Mec

Début du projet : janvier 2017 |

Durée : 42 mois |

Instrument : JCJC |

Financement ANR : 324 688 €

#### Coordination

Vincent Cantagrel – Institut Imagine,  
UMR 1163 Inserm | Université Paris-Cité –  
vincent.cantagrel@inserm.fr  
<https://www.institutimagine.org/fr/vincent-cantagrel-176>

## CILAXCAL

### Mécanismes moléculaires et cellulaires des anomalies du développement du corps calleux

#### Rappel des objectifs

Le corps calleux (CC) est la principale commissure cérébrale reliant les régions corticales homologues des deux hémisphères. Les malformations du CC (MCC) représentent la malformation cérébrale la plus fréquente (1/4 000 naissances) et leur diagnostic est désormais réalisé en anténatal. Le pronostic neurodéveloppemental est variable. Les patients peuvent en effet présenter une déficience intellectuelle modérée à sévère rendant délicat le conseil aux parents en anténatal.

Les MCC résultent d'une anomalie de l'une des étapes du développement du CC, depuis la spécification de la ligne médiane au guidage des axones calleux dans l'hémisphère controlatéral. Les modèles murins et les formes syndromiques de MCC ont largement contribué à la dissection des mécanismes physiopathologiques, mettant en lumière les processus de guidance axonale, d'adhésion cellulaire, ainsi que plus récemment le cil primaire, suite à nos travaux montrant l'implication du gène ciliaire *KIF7* dans le syndrome acrocalleux et du fait de l'association fréquente des MCC aux ciliopathies.

Les objectifs de ce projet étaient d'élucider les causes génétiques de MCC dans deux cohortes distinctes pré et post-natale, identifier des facteurs pronostiques du devenir neurodéveloppemental des patients en combinant génétique humaine, neuro-imagerie 3D, neuropathologie, et comprendre les mécanismes physiopathologiques qui sous-tendent les MCC dans les ciliopathies grâce aux modèles murins.

#### Résultats majeurs

Nous avons décrit les diagnostics cliniques et chromosomiques associés aux MCC en pré et post-natal. Nos travaux ont permis d'identifier la cause moléculaire chez environ 20% des patients/foetus et de caractériser de nouveaux gènes. Les mutations de gènes du complexe de remodelage chromatinien SWI/SNF, ainsi que les répresseurs transcriptionnels *ZBTB20* et *ZBTB18* expliquent 10% des MCC. Le syndrome oro-facio-digital I est à évoquer chez les foetus féminins avec MCC. Les MCC sont parfois associées à une microcéphalie avec des causes distinctes comme *RITN* ou *WDR81*. Nos travaux ont aussi permis d'identifier de nouveaux gènes causaux chez l'humain, dont *KIAA0586* responsable d'un spectre de ciliopathies secondaires à une ciliogenèse altérée avec anomalie de transduction de la voie SHH. Nous avons de plus montré que les mutations du gène *DCC*, aussi responsables de mouvements en miroir chez l'humain, pouvaient également causer une ACC isolée avec ou sans mouvements en miroir, de transmission autosomique dominante, avec pénétrance incomplète et expressivité variable.

Enfin, nos travaux sur les modèles murins de ciliopathies avec ACC indiquent que le facteur de transcription *GLI3* et la signalisation *FGF8* en aval sont responsables des MCC observées dans le syndrome acrocalleux et plus généralement dans les ciliopathies.

#### Production scientifique et valorisation

Les résultats de ce projet ont fait l'objet de 12 publications dans des revues scientifiques à comité de lecture. Nous citons ici les cinq les plus récentes.

Alby C., et al. (2016) Clinical, genetic and neuropathological findings in a series of 138 fetuses with a corpus callosum malformation, *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 106(1), pp. 36-46. <https://doi.org/10.1002/bdra.23472>

Mignot C., et al. (2016) ARID1B mutations are the major genetic cause of corpus callosum anomalies in patients with intellectual disability, *Brain*, 139(11), p. e64. <https://doi.org/10.1093/brain/aww181>

Marsh A. P., et al. (2017) Mutations in *DCC* cause isolated agenesis of the corpus callosum with incomplete penetrance, *Nat Genet*, 49(4), pp. 511-514. <https://doi.org/10.1038/ng.3794>

Alby C., et al. (2018) Novel de novo *ZBTB20* mutations in three cases with Primrose syndrome and constant corpus callosum anomalies, *American Journal of Medical Genetics, Part A*, 176(5), pp. 1091-1098. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.38684>

Putoux A., et al. (2019) Altered *GLI3* and *FGF8* signaling underlies acrocalleal syndrome phenotypes in *Kif7* depleted mice, *Human Molecular Genetics*, 28(6), pp. 877-887. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy392>

**Début du projet : juin 2013 | Durée : 52 mois |**

**Financement ANR : 475 000 €**

#### Partenaires

UMR 5534 CNRS, Lyon | Centre de recherche de l'Institut du cerveau et de la moelle épinière, Paris

#### Coordination

Tania Attié-Bitach – UMR 1163 Inserm, Institut Imagine – [tania.attie@inserm.fr](mailto:tania.attie@inserm.fr)

<https://www.institutimagine.org>



## C'IL-LICO

### Médecine du futur pour les ciliopathies avec atteinte rénale

#### Rappel des objectifs

##### Les ciliopathies, des maladies rares très hétérogènes

Les ciliopathies sont un groupe de maladies génétiques rares et graves causées par un dysfonctionnement du cil primaire. Le dysfonctionnement du cil peut entraîner des phénotypes très hétérogènes, notamment une maladie rénale kystique, une dégénérescence rétinienne, une obésité, des malformations squelettiques et des anomalies cérébrales. Malgré le large spectre clinique, les manifestations rénales conduisant à une insuffisance rénale terminale sont une cause fréquente de morbidité et de mortalité dans les ciliopathies, pour lesquelles la dialyse et la transplantation sont souvent la seule réponse. En raison de la grande variabilité phénotypique associée aux mutations d'un gène de ciliopathie donné, il est difficile de prédire la sévérité de la maladie, ainsi que le risque d'apparition et la vitesse de progression de l'insuffisance rénale. Par conséquent, le diagnostic précoce des patients avant le développement de lésions rénales irréversibles et la prédiction de l'évolution de l'insuffisance rénale sont nécessaires pour un traitement personnalisé et la prévention de la progression des signes dégénératifs associés au dysfonctionnement des cils.

##### Un consortium français pour lutter contre les ciliopathies rénales

Coordonné par Imagine et avec pour partenaires l'Inserm, l'AP-HP, les Hôpitaux universitaires de Strasbourg, l'École Polytechnique et la société Medetia, le projet C'IL-LICO vise à développer des approches thérapeutiques innovantes, diagnostiques, pronostiques et adaptées pour les patients atteints de ciliopathies conduisant à une insuffisance rénale. Le projet propose : 1) de construire une stratification des ciliopathies, en utilisant l'intelligence artificielle, de regrouper les ciliopathies suspectées et avérées dans une classification orientée vers le traitement ; 2) de construire des bio-kits prêts à l'emploi pour permettre le diagnostic, mais aussi le pronostic de l'évolution de l'insuffisance rénale chez les patients atteints de ciliopathie et ainsi ; 3) d'offrir la possibilité de développer des approches thérapeutiques.

##### Une première molécule identifiée et des résultats prometteurs

Le consortium a généré une base de données de patients atteints de ciliopathie. L'information génétique des patients a été mise en place et une biocollection d'urines, de cellules épithéliales tubulaires rénales récupérées urinaires humaines et d'iPSC a été établie. Pour modéliser les ciliopathies, le consortium a établi des modèles de poissons-zèbres et de souris ainsi que des approches d'organoïdes rénaux et cérébraux dérivés d'iPSC. Ils disposent désormais de modèles de développement rénal, cérébral et rétinien pour disséquer les mécanismes pathologiques sous-jacents aux anomalies associées à la mutation de gènes d'intérêt et d'outils pertinents aux études pré-cliniques. Enfin, les équipes travaillent sur un composé prometteur qui restaure le maintien du cil et les lésions rénales et rétinienne dans plusieurs modèles.

#### Résultats majeurs

##### Aider au diagnostic en utilisant une cohorte unique de patients et de nouveaux outils génétiques

Afin de soutenir le développement de systèmes d'aide au diagnostic et d'algorithmes de regroupement de patients, le consortium a amélioré l'extraction d'informations à partir de rapports cliniques sur la base de l'extraction des mentions de termes phénotypiques UMLS, suivie d'une prédiction d'apprentissage en profondeur des attributs contextuels. Une nouvelle méthode de similarité des patients a été développée en tenant compte des relations sémantiques entre les phénotypes. Cette méthode a surpassé les méthodes de base dans une étude préliminaire, ce qui est encourageant pour un ajustement

ultérieur et une application sur un ensemble de données plus large pour l'identification de patients candidats.

##### Caractériser les principales voies de signalisation défectueuses coordonnées par les cils à l'aide de modèles *in vitro* et *in vivo*

Le consortium a généré plusieurs outils bio-informatiques open source pour l'étude de la charge de mutation et élargi l'ensemble des gènes candidats de la ciliopathie grâce à un apprentissage supervisé sur des réseaux biologiques multiplex. Ainsi, 15 gènes avec un enrichissement significatif sur les variants rares ont été identifiés. *Via* des analyses GWAS des variants communs dans une cohorte de 103 patients NPHP1 présentant une variabilité phénotypique, deux allèles modificateurs candidats prometteurs, associés à l'apparition d'une maladie rénale, ont été identifiés. Une analyse comparative RNAseq des reins de souris et des UREC de patients atteints de néphronophtise (NPH), la ciliopathie rénale pédiatrique la plus fréquente, a mis en évidence une signature pro-inflammatoire spécifique. En parallèle, des analyses de coupes d'organoïdes cérébelleux 3D ont permis une acquisition à haute résolution et une analyse qualitative et quantitative détaillée de la biogenèse et de la fonction du cil primaire.

##### Identifier et valider de petites molécules pour de futurs traitements

Le consortium a identifié MDT-110 comme molécule d'intérêt pour une thérapie à base de petites molécules dans le contexte de la NPH. La caractérisation préclinique du MDT-110 a confirmé le profil de puissance (gamme nM), sa spécificité *in vitro* et son activité biologique *in vivo* avec une réduction partielle des lésions tubulaires dans les modèles de souris NPHP1. De plus, l'intérêt thérapeutique potentiel du MDT-110 dans d'autres ciliopathies a été observé dans les UREC et les fibroblastes de patients atteints d'amaurose de Leber.

##### Un consortium européen pour poursuivre les objectifs de C'IL-LICO

Grâce à un financement complémentaire de l'ANR (MRSEI), le consortium français a élargi sa collaboration à l'échelle européenne. Ainsi, un projet européen sur les ciliopathies rénales est en cours de dépôt, avec pour coordinateur l'Institut [Imagine](#).

#### Production scientifique et valorisation

Caron B., *et al.* (2019) NCBoost classifies pathogenic non-coding variants in Mendelian diseases through supervised learning on purifying selection signals in humans, *Genome Biology*, 20(1), p. 32. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1634-z>

Chen X., *et al.* (2019) Phenotypic similarity for rare disease: Ciliopathy diagnoses and subtyping, *Journal of Biomedical Informatics*, 100, p. 103308. <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2019.103308>

lorio P., *et al.* (2020) The "salt and pepper" pattern on renal ultrasound in a group of children with molecular-proven diagnosis of ciliopathy-related renal diseases, *Pediatric Nephrology*, 35(6), pp. 1033-1040. <https://doi.org/10.1007/s00467-020-04480-z>

Le T L., *et al.* (2020) Bi-allelic Variations of SMO in Humans Cause a Broad Spectrum of Developmental Anomalies Due to Abnormal Hedgehog Signaling, *American Journal of Human Genetics*, 106(6), pp. 779-792. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2020.04.010>

Quatredeniens M., *et al.* (2022) The renal inflammatory network of nephronophthisis, *Human Molecular Genetics*, 31(13), pp. 2121-2136. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddac014>

Dorval G., *et al.* (2021) Cystic kidney diseases associated with mutations in phosphomannomutase 2 promotor: A large spectrum of phenotypes, *Pediatric Nephrology*, 36(8), pp. 2361-2369. <https://doi.org/10.1007/s00467-021-04953-9>

Requena F., *et al.* (2021) CNVxplorer: A web tool to assist clinical interpretation of CNVs in rare disease patients, *Nucleic Acids Research*, 49(W1), W93-W103. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab347>

Chen X., *et al.* (2022) Patient-Patient Similarity-Based Screening of a Clinical Data Warehouse to Support Ciliopathy Diagnosis, *Frontiers in Pharmacology*, 13,p. 786710. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.786710>

Garcia H., *et al.* (2022) Agonists of prostaglandin E2 receptors as potential first in class treatment for nephronophthisis and related ciliopathies, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(18), e2115960119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2115960119>

#### Brevets

Saunier S., *et al.* Methods for Treating Diseases Associated with Ciliopathies.WO2019075369. 2019. <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2019075369>

#### Création d'entreprise

Medetia (2019)

#### Développement d'algorithmes open source

NCBoost (application/script) : nouvelle méthode d'identification des variants rares.

Tiresias : algorithme pour la prédiction de gènes par apprentissage supervisé sur des réseaux biologiques multiplex.

CNVxplorer : outil web pour assister à l'interprétation clinique des CNV chez les patients atteints de maladies rares.

**Début du projet : janvier 2018 | Durée : 6 ans |**

**Financement France 2030 : 5 976 352 €**

#### Partenaires

AP-HP | Inserm | École Polytechnique |  
CHU de Strasbourg | Medetia

#### Coordination

Stanislas Lyonnet – Institut Imagine –  
stanislas.lyonnet@institutimagine.org  
<https://www.ihu-france.org/fr/imagine-institut-des-maladies-genetiques-paris/>

## CM-WES

### Identification de nouveaux gènes impliqués dans les myopathies congénitales structurales par séquençage d'exomes

#### Rappel des objectifs

Les myopathies congénitales sont des maladies génétiques sévères avec un fort impact sur les patients, leurs familles et notre système de santé. Il y a trois obstacles majeurs dans ce domaine : 1) la moitié des patients n'ont pas de diagnostic génétique, ce qui exclut la possibilité de conseil génétique ; 2) les mécanismes pathologiques sont peu connus ; et 3) il n'existe pas de thérapie spécifique.

Le projet CM-WES vise à identifier de nouveaux gènes mutés dans les myopathies par séquençage d'exome de patients et apparentés, et validations fonctionnelles dans des modèles de laboratoire.

#### Résultats majeurs

Grâce au séquençage de l'exome de plusieurs dizaines de familles atteintes de différentes myopathies congénitales, nous avons résolu l'errance diagnostique d'une majorité de patients. L'identification de nouvelles mutations dans des gènes de myopathies déjà connus a permis d'affiner les corrélations génotype-phénotype, de préciser la sous-classification de ces myopathies, d'améliorer la prise en charge des patients, de proposer un conseil génétique et, dans certains cas, un diagnostic prénatal. Le projet a aussi identifié pour la première fois des mutations dans sept nouveaux gènes, qui représentent de nouvelles cibles thérapeutiques.

#### Production scientifique et valorisation

Böhm J., *et al.* (2012) Samaritan myopathy, an ultimately benign congenital myopathy, is caused by a RYR1 mutation, *Acta Neuropathol*, 124(4), pp. 575-581.

<https://doi.org/10.1007/s00401-012-1007-3>

Böhm J., *et al.* (2013) Constitutive activation of the calcium sensor STIM1 causes tubular aggregate myopathy, *Am J Hum Genet*, 92(2), pp. 271-278.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.12.007>

Böhm J., *et al.* (2013) Altered Splicing of the BIN1 Muscle-Specific Exon in Humans and Dogs with Highly progressive Centronuclear Myopathy, *PLoS Genet*, 9(6), e1003430.

<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003430>

Vasli N., *et al.* (2017) Recessive mutations in the kinase ZAK cause a congenital myopathy with fibre type disproportion, *Brain*, 140(1), pp. 37-48.

<https://doi.org/10.1093/brain/aww257>

Böhm J., *et al.* (2014) Adult-onset autosomal dominant centronuclear myopathy due to BIN1 mutations, *Brain*, 137(12), pp. 3160-3170.

<https://doi.org/10.1093/brain/awu272>

**Début du projet : décembre 2011 | Durée : 36 mois |**

**Instrument : JCJC | Financement ANR : 440 849 €**

#### Partenaires

Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire (IGBMC) | Institut de myologie, Hôpitaux universitaires Pitié Salpêtrière

#### Coordination

Jocelyn Laporte – IGBMC, U 1258, UMR 7104, Université de Strasbourg – [jocelyn@igbmc.fr](mailto:jocelyn@igbmc.fr)  
[www.igbmc.fr/laporte](http://www.igbmc.fr/laporte)

## COPDETOX

### Chélateurs du cuivre ciblant le foie : un traitement novateur des surcharges hépatiques en cuivre

#### Rappel des objectifs

L'excès de métal dans un organe est un facteur important dans de nombreuses maladies humaines telles que la maladie de Wilson, une maladie rare (environ 1000 cas diagnostiqués en France, 10 000 en Europe et 10 000 aux États-Unis) due au dysfonctionnement de la protéine responsable de l'excrétion de l'excès de cuivre hors du corps. Il en résulte une accumulation de cuivre fatale, si la maladie n'est pas diagnostiquée. Les traitements actuels sont peu efficaces et peu sélectifs du cuivre, et induisent de nombreux effets secondaires dont certains sont sévères. Il existe donc un besoin médical avéré de nouveaux médicaments plus sélectifs et plus efficaces pour traiter les patients pour lesquels il n'y a pas de solution thérapeutique actuellement, mais aussi pour apporter proposer un nouveau traitement avec moins d'effets secondaires pour la majorité des malades. L'enjeu du projet COPDETOX est donc de concevoir des chélateurs du cuivre plus efficaces et spécifiques et de valider leur efficacité sur la souris modèle de la maladie de Wilson. Ces nouvelles molécules sont 1) très sélectives du cuivre pour éviter de perturber d'autres métaux essentiels, par exemple le zinc, et 2) ciblent le foie, c'est-à-dire l'organe où s'accumule l'excès de cuivre, pour éviter de chélater le cuivre ailleurs dans le corps.

#### Résultats majeurs

La famille de chélateurs vectorisés vers le foie développée dans COPDETOX a permis de sélectionner une molécule tête de série dont l'architecture moléculaire est optimale pour la chélation du cuivre *in vivo*. Le mécanisme d'action de cette molécule a également été élucidé au niveau cellulaire à l'aide de méthodes complémentaires, permettant soit de visualiser le cuivre (microscopie de fluorescence X au synchrotron) ou le chélateur dans une version marquée par un groupement fluorescent par microscopie confocale. Il a ainsi été démontré que le chélateur vectorisé favorisait l'excrétion du cuivre par la voie naturelle d'excrétion de cet élément, à savoir les canalicules biliaires. Une première preuve de concept d'activité de ce composé a également été obtenue sur les souris malades, sans détection d'effets secondaires. COPDETOX a donc permis une avancée importante dans l'élaboration de chélateurs plus spécifiques pour traiter la maladie de Wilson, même s'il reste un long chemin jusqu'à l'utilisation de cette molécule comme médicament : toxicité réglementaire, relation dose-efficacité, formulation, confirmation sur des modèles animaux plus pertinents, tests cliniques.

Les résultats obtenus pendant ce projet ont ainsi favorisé les interactions avec un partenaire industriel pour avancer dans la compréhension des mécanismes d'action au niveau de l'animal et identifier la molécule la plus pertinente pour de futurs tests cliniques.

#### Production scientifique et valorisation

Pujol A. M., *et al.* (2012) A Sulfur Tripod Glycoconjugate that Releases a High-Affinity Copper Chelator in Hepatocytes, *Angewandte Chemie International Edition*, 51, pp. 7445-7448.  
<https://doi.org/10.1002/anie.201203255>

Gateau C. (dir.) *Rational design of Cu and Fe chelators to treat Wilson's disease and hemochromatosis*, in : Ligand Design in Medicinal Inorganic Chemistry, Editor T Storr, Wiley-Blackwell, 2014, chapter 11, pp. 287-319.

Jullien A. S., *et al.* (2013) X-Ray Absorption Spectroscopy Proves the Trigonal Planar Sulfur-Only Coordination of Cu(I) with High Affinity Tripodal Pseudopeptides, *Inorganic Chemistry*, 52, pp. 9954-9961.  
<https://doi.org/10.1021/ic401206u>

Delangle P., *et al.* (2012) Chelation therapy in Wilson's disease: from D-Penicillamine to the design of selective bioinspired intracellular Cu(I) chelators, *Dalton Transactions*, 41, pp. 6359-6370.  
<https://doi.org/10.1039/c2dt12188c>

Monestier M., *et al.* (2020) A liver-targeting Cu(I) chelator relocates Cu in hepatocytes and promotes Cu excretion in a murine model of Wilson's disease, *Metallomics*, 12, pp. 1000-1008.  
<https://doi.org/10.1039/d0mt00069h>

Licence de deux brevets antérieurs à COPDETOX à une société française.

**Début du projet : janvier 2012 | Durée : 31 mois |  
Financement ANR : 299 866 €**

#### Partenaires

CEA/DSM/INAC/SCIB | CEA/DSV/iRTSV/LCBM (Laboratoire de chimie et biologie des métaux) | CEA/DSV/iRTSV/BGE (Biologie à grande échelle) | CEA Valo

#### Coordination

Pascale Delangle – SyMMES (UMR 5819, Université Grenoble Alpes, CEA, CNRS, GRE-INP) –  
[pascale.delangle@cea.fr](mailto:pascale.delangle@cea.fr)  
<https://www.symmes.fr/>

## CYPHunt

### Rappel des objectifs

La maladie de Huntington (MH) est une maladie neurodégénérative rare, d'origine génétique, causée par une expansion anormale du nombre de triplets CAG dans l'exon 1 du gène codant la protéine huntingtine (HTT), dont la séquence d'acides aminés comporte alors un segment polyglutamine anormalement long (HTTm). La MH, maladie autosomale, dominante, entraîne des troubles moteurs, cognitifs et psychiatriques. La plupart des traitements actuels de la MH ciblent les symptômes, sans guérir la maladie.

La mutation de la protéine HTT entraîne, précocement, de multiples dysfonctionnements cellulaires et moléculaires, parmi lesquels des altérations de l'homéostasie du cholestérol cérébral, un composant essentiel au bon fonctionnement neuronal. Une diminution du métabolite du cholestérol, le 24S-OHC, avait notamment été décrite chez les patients et les souris modèles de la MH.

Nous avons émis l'hypothèse que l'enzyme de dégradation du cholestérol, CYP46A1, qui produit le 24S-OHC, était déficiente dans la MH, et que restaurer son expression par des approches ciblées de thérapie génique pouvait être neuroprotecteur. Grâce à cette stratégie, nous avons pour objectifs de réguler le métabolisme du cholestérol au sein du cerveau, et par voie de conséquences, de rétablir les fonctions neuronales et motrices chez les souris.

Les perspectives finales étaient de proposer une nouvelle approche thérapeutique dans la MH chez l'humain, par thérapie génique ciblant CYP46A1.

### Résultats majeurs

Nous avons montré que CYP46A1 était anormalement réduite dans des extraits post-mortem de patients atteints de MH et que la restauration de l'expression du gène *Cyp46a1*, réalisée par un vecteur de type adénovirus, permettait d'obtenir une amélioration des capacités motrices chez deux modèles murins de MH, avec une normalisation des taux de cholestérol et de certains de ses précurseurs, et une réduction de l'atrophie neuronale et de la quantité d'agrégats de HTTm.

Dans le cadre de ce projet, et par la suite, nous avons pu établir des collaborations qui nous ont permis de disséquer les mécanismes de neuroprotection de CYP46A1 avec des effets bénéfiques sur les fonctions synaptiques, le transport axonal du facteur neurotrophique BDNF, et sur les mécanismes cellulaires importants pour la dégradation des protéines toxiques : l'autophagie et le système ubiquitine-protéasome.

Les questionnements issus de ce travail étaient multiples. En premier lieu : quel est le lien moléculaire entre les effets neuroprotecteurs de CYP46A1 et le métabolisme du cholestérol ? Une piste que nous suivons actuellement est celle de la voie des LXRs, puisqu'en effet le 24S-OHC est un ligand de ces récepteurs nucléaires. La seconde question qui se posait était de savoir si cette stratégie thérapeutique était transposable à l'humain. Grâce à notre stratégie de valorisation des données, une création de start-up a été réalisée, dédiée au développement clinique des virus surexprimant CYP46A1 dans la MH.

### Production scientifique et valorisation

Kacher R., et al. (2022) Altered cholesterol homeostasis in Huntington's Disease, *Frontiers Aging Neurosci.*, 14, p. 797220.  
<https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.797220>

Kacher R., et al. (2019) CYP46A1 gene therapy deciphers the role of brain cholesterol metabolism in Huntington's disease. *Brain*, 142(8), pp. 2432-2450.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awz174>

Boussicault L., et al. (2018) CYP46A1 protects against NMDA-mediated excitotoxicity in Huntington's disease: analysis of lipid raft content, *Biochimie*, 153, pp. 70-79.  
<https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.07.019>

Boussicault L., et al. (2016) Cyp46-A1, the rate-limiting enzyme for cholesterol degradation, is neuroprotective in Huntington's Disease, *Brain*, 139, pp. 953-970.  
<https://doi.org/10.1093/brain/aww384>

### Brevet

Methods and pharmaceutical composition for the treatment of huntington's disease, EP10306128.9 (inventeurs : Drs Caboche J., Aubourg P., Betuing S., Cartier N.)

Ce brevet a été licencié à la société Brain Vectis, fondée en 2015, et rachetée en 2020 par la compagnie américaine AskBio, leader mondial de thérapie génique.

Les premiers essais cliniques devraient commencer, en phase I, chez les patients MH, en 2022.

**Début du projet : octobre 2013 | Durée : 36 mois |**  
**Financement ANR : 459 826 €**

#### Partenaires

Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM) | Grenoble  
Institut des Neurosciences (GIN) | CHU Sainte-Anne | Collège de France | Institut de biologie Paris-Seine (IBPS), Sorbonne Université | Association Huntington France | Brain Vectis

#### Coordination

Jocelyne Caboche – Neurosciences Paris Seine-IBPS –  
[jocelyne.caboche@upmc.fr](mailto:jocelyne.caboche@upmc.fr)  
<https://www.ibps.sorbonne-universite.fr/fr/Recherche/umr-8246/signalisation-neuronale-et-regulations-geniques>

## EuroDBA

2012 – European Diamond-Blackfan Anemia Consortium

2015 – Ontogeny as a critical determinant of DBA sensitivity in red blood cells

Appel à projets générique | 2015

### DBA Multigène

Identification et caractérisation de gènes candidats pour la découverte de nouveaux mécanismes physiopathologiques à l'origine de l'anémie de Blackfan-Diamond

#### Rappel des objectifs

**L'anémie de Blackfan-Diamond : une erythroblastopénie congénitale**

L'anémie de Blackfan-Diamond (ABD) est une érythroblastopénie congénitale généralement révélée par une anémie dans les premiers mois après la naissance (~1 cas sur 150 000 naissances en Europe). Cet état est la conséquence d'un déficit drastique en précurseurs érythroblastiques dans la moelle osseuse, faisant de l'ABD un défaut intrinsèque et quasi-spécifique de l'érythropoïèse. La moitié des patients présentent par ailleurs des malformations congénitales variées, en particulier des fentes labio-palatines, des anomalies des pouces, de certains organes (cœur, rein), un retard de croissance... Le risque d'hémopathies malignes ou de tumeurs solides est accru, mais reste faible en comparaison d'autres insuffisances médullaires.

**Des possibilités de traitements limitées**

Au cours de la première année de vie, les nourrissons sont transfusés pour maintenir leur taux d'hémoglobine. Les corticoïdes, qui stimulent l'érythropoïèse chez plus de 60% des patients, sont ensuite introduits pour un traitement au long cours à condition que les patients soient bons répondeurs et que la dose soit <0.3 mg/kg/J. Les patients corticorésistants continuent de recevoir des transfusions itératives, ce qui requiert une chélation du fer efficace. La greffe de moelle osseuse est, à l'heure actuelle, le seul traitement curatif. De nouvelles thérapies fondées sur des petites molécules ou sur la thérapie génique sont en cours d'étude sur la base de résultats de recherche fondamentale.

**Une « ribosomopathie » à la génétique complexe et encore incomplète**

De façon très inattendue, cette pathologie érythroïde a été associée à des mutations hétérozygotes dans 24 gènes de protéines ribosomiques (*RPS*, *RPL*). La perte de fonction d'un allèle entraîne une haplo-insuffisance en une protéine ribosomique, ce qui affecte la formation des ribosomes et leur taux de production. Récemment, des mutations dans des gènes codant des chaperons des protéines ont été également identifiées. L'étude de l'ABD a ainsi conduit à définir une nouvelle classe de maladies génétiques, les ribosomopathies, des pathologies liées à un défaut de production et/ou de fonctionnement des ribosomes. Malgré des avancées considérables, le diagnostic génétique reste infructueux pour 20 à 30% des patients.

**La nécessité d'une approche multidisciplinaire et transnationale**

L'association de l'ABD à un dysfonctionnement de la synthèse des ribosomes a rapproché deux champs disciplinaires relativement éloignés. Biologistes moléculaires spécialistes du ribosome, hématopédiatres et hématobiologistes et généticiens travaillent ensemble pour identifier les gènes responsables de la maladie pour améliorer le diagnostic et comprendre les mécanismes physiopathologiques de l'ADB, en particulier son tropisme érythroïde.

#### Résultats majeurs

**Identification de mutations causales et amélioration du diagnostic**

De nouveaux gènes de protéines ribosomiques ont été associés à la maladie, souvent chez un nombre limité de patients. Le caractère causal de ces mutations a pu être établi en démontrant leur impact sur la biogenèse des ribosomes. Cette signature moléculaire a également permis de distinguer des porteurs de mutation asymptomatiques sur le plan hématopoïétique. Nous avons également identifié des mutations causales dans le gène *HEATR3* qui code pour un chaperon de la protéine ribosomique RPL5, elle aussi associée à l'ABD. À l'inverse, nous avons pu reclassifier des patients initialement diagnostiqués comme ADB, mais portant des mutations n'impactant pas la synthèse des ribosomes, par exemple dans le gène *CECR1*. Ce travail a permis d'améliorer le diagnostic génétique des patients et de mettre en place un « pipe-line » pour caractériser de nouvelles mutations, *in vitro* ou *in vivo* chez le poisson-zèbre. Par ailleurs, l'ABD fait désormais partie d'une entité plus large ou syndrome ABD, lié à l'haplo-insuffisance en protéines ribosomiques, parfois même sans phénotype hématopoïétique. Une nouvelle définition de la maladie à l'échelle internationale a ainsi pu être établie.

**Mécanisme physiopathologique : quels liens entre dysfonctionnement des ribosomes et érythropoïèse ?**

L'énigme du tropisme quasi-exclusivement érythrocytaire de l'ADB a pu être en partie expliquée par les travaux effectués lors de ces programmes ANR qui ont montré que la synthèse et la stabilité de GATA1, le facteur de transcription majeur de l'érythropoïèse, étaient diminuées au cours de l'ABD du fait d'une dégradation de sa protéine chaperonne HSP70 par le protéasome. Des travaux indépendants ont montré que la synthèse de GATA1 était particulièrement sensible à une baisse de la quantité de ribosomes. Par ailleurs, le suppresseur de tumeur p53 est activé dans les précurseurs hématopoïétiques par le stress que constitue l'altération de la biogenèse des ribosomes (stress ribosomique), ce qui est de nature à empêcher la prolifération érythroïde, voire de déclencher leur mort par apoptose. D'autres signaux de réponse au stress ribosomique sont également susceptibles de rentrer en jeu et restent à identifier.

**Construction d'un réseau européen intégrant patients, médecins et scientifiques**

Les deux projets EuroDBA ont été des leviers puissants pour constituer un réseau européen autour de l'ABD. Sur le plan clinique et scientifique, un consortium européen s'est progressivement bâti autour du noyau initial réuni pour le projet EuroDBA. Des registres de patients ont été mis en place dans différents pays : Pologne, Turquie, Pays-Bas. Ce travail a ainsi pu s'étendre et continuer à travers un consortium dans le cadre d'EJP RD. Par ailleurs, EuroDBA a organisé en 2014 un congrès international visant à rassembler scientifiques, médecins et représentants des associations de patients d'Europe et au-delà.

## Production scientifique et valorisation

Ces travaux ont conduit à : une vingtaine d'articles scientifiques et cliniques ; une amélioration du diagnostic génétique de la maladie en France et en Europe ; et la mise en place de nouveaux registres.

Les projets EuroDBA ont également conduit à la mise en place d'une conférence internationale biannuelle sur la DBA fédérant scientifiques, médecins et patients, et à l'élaboration de nouvelles recommandations internationales pour le diagnostic et le soin des patients en collaboration avec des collègues de différents pays dans le monde (article de guidelines consensus actuellement soumis).

### Articles sélectionnés

O'Donohue M. F., *et al.* (2022) *HEATR3* variants impair nuclear import of uL18 (RPL5) and drive Diamond-Blackfan anemia, *Blood*, 139(21), pp. 3111-3126.

<https://doi.org/10.1182/blood.2021011846>

Lezzerini M., *et al.* (2020) Ribosomal protein gene RPL9 variants can differentially impair ribosome function and cellular metabolism, *Nucleic Acids Res.*, 48, pp. 770-787.

<https://doi.org/10.1093/nar/gkz1042>

Rio S., *et al.* (2019) Regulation of globin-heme balance in Diamond-Blackfan anemia by HSP70/GATA1, *Blood*, 133, pp. 1358-1370.

<https://doi.org/10.1182/blood-2018-09-875674>

Ulirsch J. C., *et al.* (2018) The Genetic Landscape of Diamond-Blackfan Anemia, *Am J Hum Genet*, 103, pp. 930-947.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.10.027>

Wlodarski M. W., *et al.* (2018) Recurring mutations in RPL15 are linked to hydrops fetalis and treatment independence in Diamond-Blackfan anemia, *Haematologica*, 103, pp. 949-958.

<https://doi.org/10.3324/haematol.2017.177980>

Paolini N. A., *et al.* (2017) A Ribosomopathy Reveals Decoding Defective Ribosomes Driving Human Dysmorphism, *Am J Hum Genet.*, 100, pp. 506-522.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.01.034>

Gastou M. *et al.* (2017) The severe phenotype of Diamond-Blackfan anemia is modulated by heat shock protein 70, *Blood Adv.*, 1, pp. 1959-1976.

<https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2017008078>

Da Costa L. *et al.* (2016) Molecular approaches to diagnose Diamond-Blackfan anemia: The EuroDBA experience, *Eur J Med Genet.*, 61, pp. 664-673.

<https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2017.10.017>

Antunes A. T. *et al.* (2015) Ribosomal Protein Mutations Result in Constitutive p53 Protein Degradation through Impairment of the AKT Pathway, *PLoS Genet.*, 11.

<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005326>

### EuroDBA

**Débuts des projets : janvier 2013 et juin 2016 | Durées : 48 et 51 mois | Financements ANR : 225 000 € et 437 094 €**

### Partenaires

**EuroDBA 2013 :** Amsterdam Medical Center (Pays-Bas) | University of Freiburg (Allemagne) | Sorbonne Université, Hôpital universitaire Robert Debré

**EuroDBA 2016 :** Amsterdam Medical Center (Pays-Bas) | University of Freiburg (Allemagne) | Sorbonne Université, Hôpital universitaire Robert Debré | Université de Toulouse |

Schneider Children's Medical Center (Israël) | Université d'Hacettepe (Turquie) | Université médicale de Varsovie (Pologne) | Université du Piémont Oriental (Italie)

### DBA Multigène

**Début du projet : octobre 2015 | Durée : 36 mois | Financement ANR : 494 312 €**

### Partenaires

**DBA Multigène :** Sorbonne Université, Hôpital universitaire Robert Debré | Université de Toulouse | Centre biologie intégrative, Toulouse

### Coordination

Lydie da Costa – Hematim, hématopoièse et immunologie, UR 4666, Sorbonne Université et Université de Picardie Jules Verne | [lydie.dacosta@aphp.fr](mailto:lydie.dacosta@aphp.fr) | Pierre-Emmanuel Gleizes – Centre de biologie intégrative, Université de Toulouse 3, CNRS – [pierre-emmanuel.gleizes@univ-tlse3.fr](mailto:pierre-emmanuel.gleizes@univ-tlse3.fr) | <https://cbi-toulouse.fr/fr/> | <https://www.u-picardie.fr/unites-de-recherche/hematim/hematim-524872.kjsp>

## DevMiCar

### Altérations génétiques, développementales et du micro-environnement dans les atteintes surrénaliennes et osseuses du complexe de Carney

#### Rappel des objectifs

Le complexe de Carney (CNC) est une maladie génétique rare responsable de lésions endocrines touchant notamment la glande cortico-surrénale, caractérisées par des nodules induisant un excès de cortisol sanguin (hormone glucocorticoïde) ou syndrome de Cushing, de prévalence majoritairement féminine. Le gène principalement muté est PRKARIA, dont la fonction est de freiner l'activité de la signalisation de la protéine kinase A (PKA) qui, en conséquence, est trop élevée chez ces patients et explique l'excès de cortisol. La corticosurrénale est organisée en trois zones concentriques spécialisées, de la périphérie vers le centre, dans la production d'hormones minéralo-corticoïde, glucocorticoïde et DHEA. En renouvellement constant, ces zones sont interdépendantes puisque les cellules formant la couche la plus externe sont les plus immatures et, se déplaçant vers le centre, se différencient en adoptant successivement les différentes capacités hormonales. Notre but est d'identifier les mécanismes reliant la signalisation PKA aux anomalies de zonation, de découvrir de nouvelles mutations causales et de rechercher les raisons de la prévalence féminine du syndrome de Cushing.

Nous avons développé des modèles de souris génétiquement modifiées comportant une inactivation du gène *Prkar1a* dans la corticosurrénale et dans certains organes dont la fonction est affectée dans le CNC. Par croisement avec différentes lignées de souris, nous avons combiné cette altération à d'autres ablations géniques connues pour moduler le renouvellement du cortex et suivi le devenir des cellules mutantes (*Prkar1a* inactif) différenciées au cours du développement post-natal grâce à un marquage fluorescent définitif des cellules immatures précurseurs. Les conséquences de ces combinaisons de modifications géniques ont été analysées en fonction du sexe ou de manipulations des contenus en hormones sexuelles. Enfin, nous avons séquencé l'ADN génomique d'une cohorte de patients CNC présentant une atteinte surrénalienne et un syndrome de Cushing sans mutation du gène PRKARIA pour identifier des mécanismes inédits.

#### Résultats majeurs

La zonation fonctionnelle de la corticosurrénale repose sur un antagonisme entre les signalisations PKA et b-caténine, la prépondérance de la première induisant un syndrome de Cushing, tandis que la seconde favorise la survenue de tumeurs. La découverte de nouvelles mutations touchant d'autres sous-unités de la PKA chez les patients CNC confirme son rôle central. La signalisation PKA est nécessaire à la différenciation des zones les plus internes et au renouvellement cellulaire de l'ensemble du cortex de manière sexe-dépendante. Les androgènes freinent le renouvellement cellulaire induit par la PKA en favorisant l'antagonisme sus-décrit et en réduisant le choix des cellules précurseurs. Ces mécanismes pourraient expliquer la prévalence féminine des maladies surrénaliennes, dont le syndrome de Cushing.

#### Production scientifique et valorisation

15 articles (dont neuf originaux, cinq revues et un chapitre d'ouvrage), 14 communications internationales et trois nationales. Organisation du deuxième colloque Recherche FIRENDO.

Vidal V., et al. (2016) The adrenal capsule is a signalling centre controlling cell renewal and zonation through Rspo3, *Genes & Dev*, 30(12), pp. 1389-94.  
<https://doi.org/10.1101/gad.277756.116>

Drelon C., et al. (2016) WNT signalling inhibition by PKA is involved in 1 adrenal zonation and restrains malignant tumour development, *Nat Commun.*, 7, art. 12751.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms12751>

Dumontet T., et al. (2018) PKA signalling drives reticularis differentiation and sexually dimorphic adrenal cortex renewal, *JCI Insight*, 3(2), p. 98394.  
<https://doi.org/10.1172/jci.insight.98394>

Espiard S., et al. (2018) Activating PRKACB somatic mutation in cortisol-producing adenomas, *JCI Insight*, 3(8), p. 98296.  
<https://doi.org/10.1172/jci.insight.98296>

Grabek A., et al. (2019) The adult adrenal cortex undergoes rapid tissue renewal in a sex-specific manner, *Cell Stem Cell*, 25(2) pp. 290-296.  
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.04.012>

**Début du projet : mars 2015 | Durée : 57 mois |  
Financement ANR : 580 000 €**

#### Partenaires

Institut Cochin, Paris | Institut de biologie Valrose (iBV), Nice | National Institute of Health (NIH), Bethesda (États-Unis)

#### Coordination

Antoine Martinez – Institut GRéD, UMR 6293 CNRS, U 1103 Inserm, Université Clermont-Auvergne –  
[antoine.martinez@uca.fr](mailto:antoine.martinez@uca.fr)  
<https://www.gred-clermont.fr/>



## Dynamuscle

### Rôle de la dynamine 2 dans le muscle normal et pathologique

#### Rappel des objectifs

Les myopathies congénitales sont des maladies génétiques sévères avec un fort impact sur les patients, leurs familles et notre système de santé. Il y a trois obstacles majeurs dans ce domaine : 1) la moitié des patients n'ont pas de diagnostic génétique, ce qui exclut la possibilité de conseil génétique ; 2) les mécanismes pathologiques sont peu connus ; et 3) il n'existe pas de thérapie spécifique.

Le projet Dynamuscle projette de mieux comprendre le rôle de la dynamine 2 (DNM2), une protéine mutée dans la myopathie centronucléaire dominante, dans le muscle squelettique normal ainsi que les conséquences de ses défauts chez les patients. Ce projet souhaite aussi apporter des premières preuves de principe d'approches thérapeutiques.

#### Résultats majeurs

L'analyse du rôle cellulaire de la dynamine 2 dans des systèmes de culture de cellules musculaires et dans plusieurs modèles murins révèle son importance pour l'organisation intracellulaire des myofibrilles et pour la structure et la fonction mitochondriales. Le projet a aussi validé plusieurs stratégies thérapeutiques innovantes qui ont grandement amélioré les déficits moteurs de souris modèles pour plusieurs formes génétiques de myopathies centronucléaires et myotubulaires. Notamment, nous montrons que la diminution du niveau général de dynamine 2 par transgénése, injection d'oligonucléotides antisens ou virus adeno-associés exprimant des ARN interférents (shRNA) prévient la progression de la myopathie myotubulaire liée à des mutations du gène MTM1, et de la myopathie centronucléaire liée à des mutations de BIN1. De plus, nous avons développé et validé l'inhibition spécifique de l'allèle muté dans la myopathie centronucléaire liée à des mutations dominantes de DNM2 dans un modèle murin et des cellules de patients.

#### Production scientifique et valorisation

Cowling B.S., *et al.* (2017) Amphiphysin (BIN1) negatively regulates dynamin 2 for normal muscle maturation, *J Clin Invest*, 127(12), pp. 4477-4487.

<https://doi.org/10.1172/JCI90542>

Tasfaout H., *et al.* (2018) Single Intramuscular Injection of AAV-shRNA Reduces DNM2 and Prevents Myotubular Myopathy in Mice, *Mol Ther*, 26(4), pp. 1082-1092.

<https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.02.008>

Trochet D., *et al.* (2018) Allele-specific silencing therapy for Dynamin 2-related dominant centronuclear myopathy, *EMBO Mol Me*, 10(2), pp. 239-253.

<https://doi.org/10.15252/emmm.201707988>

Deux brevets : Dynamin 2 inhibition et Allele-specific dynamin 2 downregulation, tous deux concernant le traitement des myopathies centronucléaires.

Création de la start-up Dynacure (localisée à Illkirch ; [www.dynacure.fr/](http://www.dynacure.fr/)) à la fin de l'année 2016.

Et un premier essai clinique lancé en 2020.

**Début du projet : septembre 2014 | Durée : 36 mois |**

**Financement ANR : 510 000 €**

#### Partenaires

Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire (IGBMC) | Inserm, Paris

#### Coordination

Jocelyn Laporte – IGBMC, U 1258, UMR 7104, Université de Strasbourg – [jocelyn@igbmc.fr](mailto:jocelyn@igbmc.fr)

[www.igbmc.fr/laporte](http://www.igbmc.fr/laporte)

## DYSther

### Dystrophines Dans Le Système Nerveux : de la Neurophysiologie à la Thérapie Moléculaire

#### Rappel des objectifs

La thérapie génique offre des perspectives sérieuses pour traiter la myopathie, mais peu de travaux ont évalué sa capacité à corriger les dysfonctionnements cérébraux responsables des troubles intellectuels et psychiatriques dans cette maladie. Deux défis majeurs ont été relevés : 1) mieux comprendre les causes de variabilité des symptômes, qui dépendent de la variété des mutations altérant différentes protéines dans les neurones et les cellules gliales et 2) concevoir des outils moléculaires capables de cibler ces cellules et identifier des mesures pour évaluer le bénéfice de ces traitements.

Pour atteindre ces objectifs, nous avons utilisé une analyse pluridisciplinaire combinant les expertises de quatre partenaires, afin d'identifier des mécanismes pathologiques, du gène au comportement, chez des souris porteuses de différentes mutations. De nouvelles souris modèles ont été conçues pour faciliter l'imagerie cellulaire ou activer des réseaux neuronaux par optogénétique. Nos approches thérapeutiques ont consisté à administrer des molécules conçues pour pénétrer facilement le cerveau à la suite d'une administration dans la circulation générale et capables de corriger le gène ou de réintroduire la protéine manquante.

Ce projet pluridisciplinaire était indispensable pour répondre aux questions émergentes de recherche fondamentale et aux défis technologiques nécessaires à l'amélioration des stratégies de thérapie génique pour les maladies génétiques affectant le système nerveux central.

#### Résultats majeurs

L'identification des mécanismes responsables de troubles sensoriels et cognitifs associés au syndrome de myopathie de Duchenne a constitué une contribution importante à notre compréhension du fonctionnement normal de la rétine et du cerveau, et des bases neurales des maladies neurodéveloppementales. Nous avons caractérisé les relations génotype-phénotype à différents niveaux (du moléculaire au comportement) et le rôle de la dystrophine neuronale dans le système GABAergique et celui d'une forme gliale dans l'homéostasie hydrique et potassique, identifiant ainsi des biomarqueurs pertinents pour évaluer l'efficacité des approches de thérapie génique.

Pour l'approche préclinique du projet, nous avons couplé nos outils moléculaires à des chimies particulières ou les avons véhiculés à l'aide de vecteurs spécifiques, sélectionnés de manière à ce que leurs effets thérapeutiques puissent cibler des types de cellules spécifiques. Ces techniques innovantes ont permis aux molécules thérapeutiques circulantes de pénétrer les tissus et diffuser dans l'ensemble des régions affectées par cette maladie (muscle, système nerveux).

La réversibilité d'une partie des déficits et la démonstration qu'il est possible d'optimiser des outils de thérapie génique ciblant plusieurs organes ont ouvert des perspectives de soin stratégiques pour le développement de médicaments pour la myopathie et d'autres maladies génétiques affectant la rétine et le cerveau.

#### Production scientifique et valorisation

Ce projet est associé à 18 publications dans des revues internationales à fort impact (*Ann Neurol, Nucleic Acids Research, Glia, IOVS, Mol Ther, Hum Mol Genet...*), dont six articles de synthèse sur les approches de thérapie moléculaire, sept articles de recherche multipartenaires, trois chapitres de livre, 24 communications orales dont 14 dans des congrès internationaux et trois de vulgarisation, et 21 communications sous forme de séminaires et affiches. Six autres publications sont encore en préparation (une en révision).

Les retombées du projet sont multiples, avec notamment une contribution à la mise en œuvre d'essais cliniques avec les molécules d'ADN tricycliques pour le saut d'exon thérapeutique, l'application de nos approches comportementales à d'autres souris modèles de déficience intellectuelle et d'autisme, l'organisation d'un symposium sur les altérations centrales dans la myopathie (Myology, 2019), le rattachement de deux partenaires (Vaillend, Goyenvalle) à un réseau européen qui ont ensuite pris en charge deux *working packages* d'un projet de recherche collaboratif européen (2019-2023 : Horizon 2020, Brain Involvement in Dystrophinopathies), le développement de nouvelles collaborations internationales et la mise en place d'un projet collaboratif préclinique Homme/Animal en collaboration avec des cliniciens français pour approfondir nos connaissances des altérations rétinienues et cérébrales dans la myopathie.

**Début du projet : octobre 2014 | Durée : 48 mois |  
Financement ANR : 540 532 €**

#### Partenaires

Institut des neurosciences Paris-Saclay, UMR 9197 CNRS I  
U 1179 UVSQ-Inserm, Montigny-le-Bretonneux I  
UMR\_S 968 UPMC-Inserm, Paris

#### Coordination

Cyrille Vaillend – Institut des neurosciences Paris-Saclay,  
UMR 9197 CNRS – [cyrille.vaillend@universite-paris-saclay.fr](mailto:cyrille.vaillend@universite-paris-saclay.fr)  
<https://neuropsi.cnrs.fr/departements/cnn/equipe-cyrille-vaillend/>

## EBThera

### Repurposing biomolecules for the treatment of epidermolysis bullosa

#### Rappel des objectifs

This proposal dealt with new therapeutic approaches for a rare, disabling genetic skin disease, dystrophic epidermolysis bullosa (DEB). The hallmark of DEB is skin blistering induced by minor friction, followed by chronic wounds and severe scarring that progresses into generalized soft tissue fibrosis. Among symptoms, joint contractures and mitten deformities of hands and feet cause severe disability, and the fibrosis of the dermis increases tissue stiffness and favours development of squamous cell carcinoma, a lethal complication of the disease. At the time of the proposal selection, little benefit in pilot clinical trials were shown. Therefore, alternative approaches to improve the health and quality of life of patients were needed. Here, we proposed to assess the potential of repurposing drugs and other biomolecules to prevent the progression of soft tissue fibrosis in DEB. The approach was based on findings that TGF- $\beta$  and JAK/STAT-mediated signalling is causally involved in DEB fibrosis. We have elucidated the molecular and cellular mechanisms of these signalling pathways in DEB and used FDA/EMA-approved TGF- $\beta$  and JAK/STAT-antagonists and other biomolecules, to interfere with signalling in murine and human DEB cells *in vitro* and to attenuate soft tissue fibrosis in DEB mouse models *in vivo*. Our data demonstrated that Ruxolitinib treatment of a RDEB mice model of skin blistering, reduced dermal skin fibrosis and inflammation, hallmarks of pre-cancerous lesions.

#### Résultats majeurs

We have assessed the therapeutic benefit of Ruxolitinib treatment on RDEB mice model. *In vitro*, we show that RDEB-fibroblasts deficient in coll VII expression display a phenotype similar to that of the dermal fibroblasts of healthy controls. Such observation suggests that coll VII deficiency *per se* is not directly responsible for the formation of the fibrotic skin lesions observed in patients. However, SCC-RDEB fibroblasts were phenotypically undistinguishable from that of carcinoma-associated fibroblasts isolated from sporadic non-RDEB SCCs. Our data show that Ruxolitinib treatment abrogates the excessive ECM remodeling linked to fibrosis. We hypothesized that blister-induced inflammation is responsible for tissue fibrosis in RDEB disease.

RDEB-mice were treated with Ruxolitinib to assess the anti-fibrotic role of the drug by immunohistochemical analysis of skin biopsies obtained from treated and untreated animals. In the treated mice, the skin-induced blisters, at the level of the dermis, displayed a significant decrease of collagen deposition, STAT3 activity and an accelerated healing.

In conclusion, the results collected so far support the idea that in RDEB skin blisters trigger inflammatory-dependent fibroblast activation and fibrosis. In an *in vitro* and *in vivo* context, inhibition of the JAK1/STAT3 pro-inflammatory signalling pathway using Ruxolitinib is consistent with absent detection of markers characteristic of the fibrotic lesions at the skin blister site.

#### Production scientifique et valorisation

Mittapalli V. R., *et al.* (2020) STAT3 targeting in dystrophic epidermolysis bullosa, *The British Journal of Dermatology*, 182(5), pp. 1279-1281. <https://doi.org/10.1111/bjd.18639>

Grasset E. M., *et al.* (2018) Matrix Stiffening and EGFR Cooperate to Promote the Collective Invasion of Cancer Cells, *Cancer Research*, 78(18), pp. 5229-5242. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-0601>

Bonan S., *et al.* (2017) Membrane-bound ICAM-1 contributes to the onset of proinvasive tumor stroma by controlling acto-myosin contractility in carcinoma-associated fibroblasts, *Oncotarget*, 8(1), pp. 1304-1320. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13610>

Kuzet S. E., *et al.* (2016) Fibroblast activation in cancer: when seed fertilizes soil, *Cell and Tissue Research*, 365(3), pp. 607-619. <https://doi.org/10.1007/s00441-016-2467-x>

Albregues J., *et al.* (2015) Epigenetic switch drives the conversion of fibroblasts into proinvasive cancer-associated fibroblasts, *Nature Communications*, 6, art. 10204. <https://doi.org/10.1038/ncomms10204>

**Début du projet : février 2015 | Durée : 36 mois |  
Financement ANR : 196 964 €**

#### Partenaires

Department of Dermatology, Medical Center, University of Freiburg (Allemagne) | Istituto Dermopatico dell'Immacolata, Laboratory of Molecular and Cell Biology, Rome (Italie) | Laboratory of Tissue Repair and Regeneration, University of Toronto (Canada)

#### Coordination

Cédric Gaggioli – IRCAN, U 1081 Inserm, UMR 7284 CNRS – [gaggioli@univ-cotedazur.fr](mailto:gaggioli@univ-cotedazur.fr)

## EMIR

### Mécanismes épigénétiques dans l'inflammation et le remodelage vasculaire de l'hypertension pulmonaire

#### Rappel des objectifs

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est caractérisée par une intolérance à l'effort qui évolue progressivement vers l'insuffisance cardiaque droite. L'HTAP est due à l'obstruction des petites artères qui apportent le sang désoxygéné vers les alvéoles des poumons pour y être oxygéné. Cette obstruction gêne l'écoulement du sang au travers des poumons. Le ventricule droit, la partie du cœur qui pousse le sang dans les poumons, se fatigue alors jusqu'à défaillir. Des traitements sont disponibles pour dilater en partie les artères bouchées, mais ne suffisent pas à enrayer l'évolution de la maladie qui reste fatale à moins d'une transplantation pulmonaire. En effet, il y a dans l'HTAP une multiplication anormale des cellules qui composent la paroi des artères qu'on appelle remodelage vasculaire, et qui est peu sensible à la vasodilatation. L'objectif général de ce projet était donc d'identifier des mécanismes responsables de ce remodelage afin de proposer de nouvelles cibles thérapeutiques, valorisables en traitements innovants et potentiellement curatifs de l'HTAP. Dans ce but, nous avons étudié des modifications apportées à l'ADN des cellules vasculaires pulmonaires et qui modulent l'expression de certains gènes sans altérer leur séquence ; c'est ce qu'on appelle des modifications épigénétiques. Déterminer les gènes qui sont la cible de ces modifications épigénétiques devait permettre d'identifier les gènes impliqués dans le remodelage artériel responsable de l'HTAP.

#### Résultats majeurs

Nous nous attendions à identifier des gènes principalement impliqués dans la balance multiplication/mort cellulaire et dans l'inflammation. Parmi les gènes différentiellement méthylés dans les cellules endothéliales pulmonaires issues de patients HTAP, une grande partie étaient cependant impliqués dans les maladies métaboliques (30%). L'un de ces gènes, *ABCA1*, code pour une protéine (*ABCA1*) intervenant dans le transport du cholestérol et jouant un rôle essentiel dans le maintien de l'intégrité vasculaire. Nous avons confirmé la diminution d'expression d'*ABCA1* que prédisait l'hyperméthylation d'*ABCA1*, au niveau des poumons et des artères pulmonaires des patients HTAP en comparaison avec les tissus témoins. Dans un modèle animal d'HTAP sévère, l'utilisation d'un activateur pharmacologique d'*ABCA1* a réduit la sévérité de la maladie, apportant la preuve de concept que la modulation d'*ABCA1* pourrait constituer une option thérapeutique chez l'humain. Suite à nos travaux, plusieurs équipes ont confirmé la perte d'*ABCA1* dans l'HTAP et son rôle dans la prolifération vasculaire pulmonaire. Ils ont également mis en évidence un autre mode de régulation épigénétique médié par des microARN ; l'inhibition de ces microARN fournissant également un moyen de réduire l'HTAP dans des modèles animaux de la maladie. Nos travaux et ces études confirment le potentiel thérapeutique de cibler les troubles métaboliques, et *ABCA1* en particulier, dans cette maladie rare et sévère.

#### Production scientifique et valorisation

21 articles mentionnent le support de l'ANR-13-JSV1-0011-01, dont la publication ci-après qui décrit la méthodologie et les résultats d'EMIR : Hautefort A., et al. (2017) Pulmonary endothelial cell DNA methylation signature in pulmonary arterial hypertension, *Oncotarget*, 8(32), pp. 52995-53016.  
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.18031>

**Début du projet : janvier 2014 | Durée : 48 mois | Instrument : JCJC | Financement ANR : 260 000 €**

#### Partenaires

Centre national de recherche en génomique humaine (CNRGH), CEA, Évry | Institut Max-Planck de recherche sur le cœur et les poumons, Bad Nauheim (Allemagne)

#### Coordination

Frédéric Perros – Hypertension pulmonaire : physiopathologie et nouvelles thérapies, UMR\_S 999 Inserm – frederic.perros@inserm.fr

## EndoMechano

### Rôle des protéines de l'endocytose dans la mécano-transduction des cellules musculaires

#### Rappel des objectifs

Les plaques de clathrine sont des structures de la membrane plasmique dont la fonction demeure mal comprise. Ces plaques sont situées au niveau des sites d'adhésion de la cellule avec le substrat, suggérant qu'elles pourraient jouer un rôle dans la transduction des forces mécaniques. Des résultats de notre équipe ont montré que, dans les cellules musculaires, la dynamine 2 (DNM2), dont les mutations causent la myopathie centronucléaire (CNM), était impliquée dans la formation de l'appareil contractile d'actine. Notre projet visait à analyser le rôle des plaques de clathrine et de la DNM2 en tant qu'organiseurs du cytosquelette et à rechercher des défauts de cette voie dans la physiopathologie de la CNM.

De par leur nature, les plaques de clathrine sont difficiles à visualiser, même par des techniques de microscopie électronique de pointe. Grâce au financement ANR, nous avons d'une part développé, pour la première fois en France, une technique de microscopie électronique à haute résolution (*platinum-replica electron microscopy*, PREM) qui consiste à déposer une fine couche de platine à la surface des cellules musculaires en culture préalablement décapées par des ultrasons. Cette technique nous a permis de visualiser directement l'interaction entre les plaques de clathrine et le cytosquelette à très haute résolution.

#### Résultats majeurs

Nous avons démontré que les plaques de clathrine et la DNM2 qui leur est associée sont capables d'organiser le cytosquelette d'actine et des filaments intermédiaires de desmine. Dans un second temps, nous avons montré que les filaments d'actine associés aux plaques de clathrine séquestrent deux facteurs de transcription clés, YAP et TAZ, à la surface des cellules musculaires et les libèrent suite à des contraintes mécaniques comme l'étirement. Nos résultats montrent que la déplétion de DNM2 induit un défaut majeur dans l'organisation du cytosquelette et la distribution de YAP et TAZ, induisant par conséquent une dérégulation de l'expression de leurs gènes cibles. L'association de DNM2 avec TAZ et la desmine nous a incités à analyser son implication dans la physiopathologie de la CNM. L'analyse des muscles de souris transgéniques et des cellules de patients a révélé des défauts majeurs dans l'organisation du cytosquelette ainsi que la voie de mécano-transduction YAP/TAZ.

De plus, nous avons montré que la clathrine peut former des structures tubulaires qui pincement les fibres de collagène et qui sont nécessaires pour l'adhésion cellulaire dans un environnement 3D (Elkhatib *et al.*, 2017). Nous avons établi des collaborations sur le rôle des cavéoles dans la mécano-transduction (Lamaze *et al.*, *Curr Opin Cell Biol.*, 2017 ; Torino *et al.*, *J Cell Biol.*, 2018) et notre expertise a permis de découvrir un mécanisme clé pour la fusion des cellules musculaires (Randrianarison-Huetz *et al.*, 2018).

#### Production scientifique et valorisation

Vassilopoulos S., (2020) Unconventional roles for membrane traffic proteins in response to muscle membrane stress, *Curr Opin Cell Biol.*, 65, pp. 42-49.

<https://doi.org/10.1016/j.ceb.2020.02.007>

Vassilopoulos S., *et al.* (2019) Ultrastructure of the axonal periodic scaffold reveals a braid-like organization of actin rings, *Nat Commun.*, 10(1), p. 5803.

<https://doi.org/10.1038/s41467-019-13835-6>

Franck A., *et al.* (2019) Clathrin plaques and associated actin anchor intermediate filaments in skeletal muscle, *Mol Biol Cell.*, 30(5), pp. 579-590.

<https://doi.org/10.1091/mbc.e18-11-0718>

Trochet D., *et al.* (2018) Allele-specific silencing therapy for Dynamin 2-related dominant centronuclear myopathy, *EMBO Mol Med.*, 10(2), pp. 239-253.

<https://doi.org/10.15252/emmm.201707988>

Elkhatib N., *et al.* (2017) Tubular clathrin/AP-2 lattices pinch collagen fibers to support 3D cell migration, *Science*, 16, p. 356.

<https://doi.org/10.1126/science.aal4713>

Nous avons pu mettre la technique de PREM à la disposition de la communauté de biologie cellulaire en la proposant aux utilisateurs de la plateforme de microscopie (<http://www.ibps.upmc.fr/fr/plateformes/imagerie/microscopie-electronique>).

**Début du projet : janvier 2015 | Durée : 36 mois |**

**Instrument : JCJC | Financement ANR : 196 560 €**

#### Partenaires

Association française contre les myopathies

#### Coordination

Stéphane Vassilopoulos – Centre de recherche en myologie, UMR\_S 974, Sorbonne Université, Inserm,

Association Institut de myologie –

[s.vassilopoulos@institut-myologie.org](mailto:s.vassilopoulos@institut-myologie.org)

<https://vassilopoulos.org/>

<https://recherche-myologie.fr/research/labs/bitoun-lab/?lang=en>

## EPINE

### Rôle du CD74 Endothélial dans l'Hypertension Pulmonaire : au carrefour entre Dysfonction endothéliale et Inflammation

#### Rappel des objectifs

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) se caractérise par une élévation progressive de la résistance vasculaire pulmonaire (RVP) à l'origine d'une symptomatologie invalidante à issue fatale. Cette augmentation de la RVP s'explique par un remodelage obstructif des artères pulmonaires de petit calibre associé à une infiltration péri-vasculaire de cellules inflammatoires. À ce jour, il n'existe pas de traitement curatif. Afin d'améliorer les stratégies existantes et de développer de nouvelles voies thérapeutiques, ce programme de recherche avait pour objectif de préciser le rôle de la surabondance du récepteur CD74 à la surface des cellules endothéliales (CE) pulmonaires dans l'HTAP humaine et expérimentale.

Le CD74 lie, avec une forte affinité, deux cytokines pro-inflammatoires : le facteur d'inhibition de migration des macrophages (MIF) et D-dopa-chrome tautomerase (DDT). Situées en amont de la cascade immuno-inflammatoire, MIF et DDT, en se liant au CD74, peuvent réguler des gènes cruciaux pour la prolifération, la survie cellulaire et la synthèse de diverses cytokines, chimiokines et molécules d'adhésion. Nous avons donc testé l'hypothèse que les voies MIF/CD74 et DDT/CD74 étaient anormalement activées dans l'HTAP et qu'elles pourraient constituer des cibles moléculaires intéressantes pour le développement de nouvelles voies thérapeutiques.

#### Résultats majeurs

Nos données EPINE ont révélé que les taux sériques de MIF étaient surabondants dans l'HTAP et que le CD74 était surexprimé par les CE pulmonaires HTAP. De plus, nous avons démontré, pour la première fois, que l'endothélium pulmonaire HTAP présentait un phénotype pro-inflammatoire marqué *in vivo* et *in vitro*, qui pouvait être corrigé par l'inhibition de l'axe MIF/CD74. Nous avons aussi pu démontrer que l'inhibition de la voie MIF/CD74 permettait de corriger le remodelage vasculaire et l'inflammation dans deux modèles précliniques d'étude de l'HTAP, ouvrant ainsi le champ à de nouvelles options thérapeutiques. En collaboration avec le Pr Anh-Tuan Dinh-Xuan du Laboratoire de physiologie respiratoire UPRES-EA 2511, les effets bénéfiques d'agents anti-MIF contre la progression du remodelage vasculaire pulmonaire ont également pu être validés dans un modèle murin de sclérodémie systémique.

Ce programme de recherche a donc permis non seulement une avancée majeure dans la compréhension de la pathologie de cette maladie, mais a aussi facilité le développement de stratégies innovantes anti-MIF. Avec la société française Mifcare, nous avons en effet utilisé les connaissances EPINE pour évaluer l'efficacité d'un candidat médicament « *first-in-class* » oralement biodisponible. Cette innovation de rupture est actuellement en route vers une preuve de concept chez l'humain grâce au soutien de la société biopharmaceutique wallonne Apaxen qui a acquis les droits mondiaux exclusifs sur la technologie anti-MIF de Mifcare.

#### Production scientifique et valorisation

Le Hiress M., *et al.* (2015) Proinflammatory Signature of the Dysfunctional Endothelium in Pulmonary Hypertension. Role of the MIF/CD74 Complex, *Am J Respir Crit Care Med*, 192(8), pp. 983-97. <https://doi.org/10.1164/rccm.201402-0322oc>

Le Hiress M., *et al.* (2018) Design, Synthesis, and Biological Activity of New N-(Phenylmethyl)-benzoxazol-2-thiones as MIF Antagonists: Efficacies in Experimental Pulmonary Hypertension, *J Med Chem*, 61(7), pp. 2725-2736. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01312>

Günther S., *et al.* (2018) MIF Inhibition in a Murine Model of Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis, *Int J Mol Sci*, 19(12), p. 4105. <https://doi.org/10.3390/ijms19124105>

Günther S., *et al.* (2019) Role of MIF and DDT in immune-inflammatory, autoimmune, and chronic respiratory diseases: from pathogenic factors to therapeutic targets, *Drug Discov Today*, 24(2), pp. 428-439. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.11.003>

Jalce G., *et al.* (2020) Multiple roles of macrophage migration inhibitory factor in pulmonary hypertension, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 318(1), pp. L1-L9. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00234.2019>

#### Brevets

Brevet européen EP 2 944 310 A1.  
Brevet international WO 2015/173433 A1.

#### Création de start-up

Aide à la création de la start-up Mifcare incubée à Paris Biotech Santé en 2013.  
Démarrage d'un essai clinique de phase 2 (Apaxen).

**Début du projet : janvier 2013 | Durée : 36 mois | Instrument : JCJC | Financement ANR : 291 023 €**

#### Coordination

Christophe Guignabert – UMR\_S 999 Inserm, Faculté de médecine Paris-Saclay – [christophe.guignabert@inserm.fr](mailto:christophe.guignabert@inserm.fr)  
<http://www.u999.universite-paris-saclay.fr/en/team-1/pah-physiology-topics.html>

## EURO-CDG-2

### A European research network directed towards improving diagnosis and treatment of inborn glycosylation disorders

Appel à projets générique | 2015

## SOLV\_CDG

### Décryptage des patients CDG (Congenital Disorders of Glycosylation) déficients en TMEM165 – de la compréhension des mécanismes moléculaires à une thérapie

#### Rappel des objectifs

Les CDG (*Congenital Disorders of Glycosylation*) sont un groupe de maladies génétiques rares affectant le métabolisme de la glycosylation, une modification post-traductionnelle consistant en la fixation covalente de structures glycaniques aux protéines et aux lipides. Cruciale pour de nombreux processus cellulaires, cette modification, lorsqu'elle est incomplète voire absente dans le cas des CDG, induit des phénotypes extrêmement variables et complexes avec notamment un retard de développement, une atteinte multiviscérale, des symptômes neurologiques et des traits dysmorphiques. À ce jour, les CDG représentent plus de 160 maladies génétiques rares du métabolisme, et leur liste ne cesse de croître. L'identification et la caractérisation des différents gènes associés aux CDG rendent la compréhension de la physiopathologie de ces maladies particulièrement difficile et limite les approches thérapeutiques. En effet, bien que les techniques de séquençage de nouvelle génération aient révolutionné le diagnostic des patients atteints de maladies métaboliques héréditaires, l'identification de variants génétiques dans des gènes de fonction inconnue apporte un niveau de complexité supplémentaire. Ces projets visaient à : 1) élucider la fonction de TMEM165, une protéine de fonction inconnue, déficiente chez des patients CDG présentant un phénotype très intrigant de dysplasie squelettique majeure (dysplasie spondylo-épimétaphysaire) avec courbure de la colonne vertébrale, laxité articulaire, ostéoporose et nanisme ; 2) explorer la pathogénicité de nouveaux défauts génétiques et des variants de signification inconnue dans les troubles de glycosylation ; et 3) explorer des pistes pour de nouveaux traitements.

#### Résultats majeurs

Dans le cadre d'un projet initié en 2012 avec l'identification de patients CDG déficients en TMEM165, nous avons cherché à établir la fonction cellulaire et le rôle de la protéine dans la glycosylation. Nous avons ainsi démontré que des déficiences en TMEM165 et Gdt1p, son orthologue de levure, sont associées à de fortes anomalies de la glycosylation golgienne. Tous les types de glycosylation (N-, O-, glycolipides et GAG) sont affectés, ce qui contribue largement au phénotype clinique unique des patients. Afin de faire le lien entre la déficience en TMEM165 et les anomalies squelettiques observées, des souris *knock-out* TMEM165 dans le cartilage ont été générées par le Dr Mohamed Ouzzine (Université de Nancy). L'analyse de la plaque de croissance présente une organisation et une morphologie des chondrocytes désordonnées pouvant expliquer le phénotype clinique des patients. Au niveau cellulaire, nous avons montré que TMEM165 est localisée dans l'appareil de Golgi. La compréhension du mécanisme moléculaire liant le défaut de glycosylation à la perte de TMEM165 est venue du résultat absolument fascinant que la supplémentation des cellules de patients en manganèse ( $Mn^{2+}$ ) (seulement  $1+ \mu M$ ) suffit à supprimer tous les défauts de glycosylation observés. De manière tout aussi inattendue, nous avons démontré que la supplémentation en

galactose (Gal) permet également de supprimer certains défauts de glycosylation. La nocivité du Gal étant moindre que celle du  $Mn^{2+}$ , nous avons entrepris, dans un premier temps et en collaboration avec nos collègues cliniciens, de traiter les patients TMEM165-CDG avec ce monosaccharide. Après quelques mois, des améliorations de leurs profils glycaniques sériques étaient visibles, démontrant ainsi que le Gal peut être proposé comme traitement ciblé pour les patients TMEM165-CDG. Néanmoins, nous venons récemment de démontrer que le Gal, contrairement au  $Mn^{2+}$ , ne restaure qu'un type particulier de glycosylation, la N-glycosylation, et ne peut ainsi se substituer complètement au traitement par l'ion métallique. Ce travail montre l'importance de la compréhension des mécanismes déficients dans la mise en place d'une stratégie de traitement pour les patients CDG. En effet, aucune autre stratégie n'aurait pu identifier le  $Mn^{2+}$  et le Gal comme traitements potentiels.

Nos travaux ont ensuite permis de révéler TMEM165 comme le transporteur principal de  $Mn^{2+}$  au niveau de l'appareil de Golgi, permettant une régulation fine de l'homéostasie de ce métal dans l'organelle, et de préciser les régions de la protéine impliquées dans son transport. Par ailleurs, les mécanismes moléculaires de régulation de l'homéostasie cellulaire du  $Mn^{2+}$  étant très peu connus, nous avons engagé une collaboration avec le Pr Charles Rice (prix Nobel de médecine 2020) visant à les élucider. Nous avons ainsi pu démontrer un lien fonctionnel et totalement inattendu entre TMEM165 et SPCA1, la pompe ATPase  $Ca^{2+}$  de l'appareil de Golgi. Nos résultats démontrent que l'abondance de TMEM165 est régulée par la fonctionnalité de SPCA1. En absence de SPCA1, TMEM165 est complètement déstabilisée et détruite au niveau des lysosomes par un mécanisme entièrement inconnu. Ce lien entre les deux protéines est totalement inédit et ouvre de nouvelles perspectives de recherche, en particulier dans la maladie de Hailey-Hailey résultant de mutations dans le gène ATP2C, codant la protéine SPCA1, et caractérisée par des éruptions cutanées. La pathogénèse de cette maladie n'est pas connue, mais semble due à une dérégulation de la concentration calcique cytosolique des kératinocytes conduisant à une perturbation dans la formation des desmosomes et un défaut dans leur différenciation. En collaboration avec le Dr Alain Hovnanian (Institut *Imagine*), qui est spécialiste de cette maladie pour l'avoir identifiée, nous avons étudié le profil d'expression et de localisation de TMEM165 dans les kératinocytes des patients Hailey-Hailey. Nos travaux montrent que l'expression de TMEM165 est altérée dans les kératinocytes de ces patients, ce qui pourrait contribuer à l'étiologie de la pathologie. Enfin, notre implication dans le réseau européen EURO-CDG nous a permis de contribuer à l'identification et la caractérisation de nouveaux CDG mettant en évidence de nouvelles voies métaboliques dans le processus de glycosylation.

### Production scientifique et valorisation

Les projets ont permis la publication de 17 articles dont les plus significatifs sont présentés ci-dessous. Les résultats ont été présentés dans de nombreux congrès nationaux et internationaux et ont fait l'objet de la soutenance de trois thèses de doctorat.

Khan S., *et al.* (2021) TMEM165 a new player in proteoglycan synthesis: loss of TMEM165 impairs elongation of chondroitin- and heparan-sulfate glycosaminoglycan chains of proteoglycans and triggers early chondrocyte differentiation and hypertrophy, *Cell Death & Disease*, 13(1), p. 11.  
<https://doi.org/10.1038/s41419-021-04458-1>

Foulquier F., *et al.* (2020) Biometals and glycosylation in humans: Congenital disorders of glycosylation shed lights into the crucial role of Golgi manganese homeostasis, *Biochimica et Biophysica Acta. General Subjects*, 1864(10), p. 129674.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2020.129674>

Roy A. S., *et al.* (2020) SPCA1 governs the stability of TMEM165 in Hailey-Hailey disease, *Biochimie*, 174, pp. 159-170.  
<https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.04.017>

Lebredonchel E., *et al.* (2019) Investigating the functional link between TMEM165 and SPCA1, *The Biochemical Journal*, 476(21), pp. 3281-3293.  
<https://doi.org/10.1042/BCJ20190488>

Vicogne D., *et al.* (2020) Fetal bovine serum impacts the observed N-glycosylation defects in TMEM165 KO HEK cells, *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 43(2), pp. 357-366.  
<https://doi.org/10.1002/jimd.12161>

Lebredonchel E., *et al.* (2019) Dissection of TMEM165 function in Golgi glycosylation and its Mn<sup>2+</sup> sensitivity, *Biochimie*, 165, pp. 123-130.  
<https://doi.org/10.1016/j.biochi.2019.07.016>

Houdou M., *et al.* (2019) Involvement of thapsigargin- and cyclopiazonic acid-sensitive pumps in the rescue of TMEM165-associated glycosylation defects by Mn<sup>2+</sup>, *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 33(2), pp. 2669-2679.  
<https://doi.org/10.1096/fj.201800387R>

Potelle S., *et al.* (2017) Manganese-induced turnover of TMEM165, *The Biochemical journal*, 474(9), pp. 1481-1493.  
<https://doi.org/10.1042/BCJ20160910>

Potelle S., *et al.* (2016). Glycosylation abnormalities in Gdt1p/TMEM165 deficient cells result from a defect in Golgi manganese homeostasis, *Human Molecular Genetics*, 25(8), pp. 1489-1500.  
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddw026>

#### EURO-CDG-2

**Début du projet : janvier 2016 |**

**Durée : 44 mois |**

**Financement ANR : 352 600 €**

#### Partenaires

CNRS-Université de Lille | Université de Louvain (Belgique) | Université catholique de Louvain (Belgique) | Hôpital Bichat-Claude Bernard, AP-HP | Université d'Heidelberg (Allemagne) | Université de médecine Charité, Berlin (Allemagne)

#### SOLV\_CDG

**Début du projet : septembre 2015 |**

**Durée : 48 mois |**

**Financement ANR : 542 568 €**

#### Partenaires

CNRS-Université de Lille | CNRS-Institut des Saint-Pères | Université de Lorraine

#### Coordination

François Foulquier – UMR 8576 CNRS, Unité de glycobiologie structurale et fonctionnelle (UGSF), Université de Lille – francois.foulquier@univ-lille.fr



## FSHDecipher

### Mécanismes moléculaires de la dystrophie Facio-Scapulo-Humérale : de l'apport de la génomique à l'exploration mécanistique de nouvelles voies de régulation du locus 4q35

#### Rappel des objectifs

La dystrophie facio-scapulo-humérale est une maladie complexe encore bien énigmatique. Cette myopathie génétique est caractérisée par une faiblesse musculaire progressive de muscles spécifiques. Elle est transmise de façon autosomique dominante. Il en existe deux formes. La FSHD1 (95% des cas) est caractérisée par une diminution du nombre de répétitions d'un élément répété en tandem de 3,3kb appelé D4Z4 au locus 4q35. Les individus non atteints portent 11 à 150 D4Z4, tandis que les patients FSHD1 en ont entre 1 et 10. La plupart des patients portent un haplotype de type qA en aval des répétitions D4Z4. La diminution du nombre de D4Z4 est associée à une hypométhylation de l'ADN. La seconde forme, appelée FSHD2 (5% des cas) n'implique pas de diminution du nombre de D4Z4. Ces patients présentent une hypométhylation des répétitions D4Z4. Une proportion de patients FSHD2 portent des mutations hétérozygotes du gène *SMCHD1*.

Nos objectifs étaient de développer des outils et approches à haut débit pour l'analyse du locus de la maladie et d'explorer les patients atypiques afin de décrypter les mécanismes moléculaires de la maladie. Un modèle impliquant la protéine DUX4 traduite à partir de la dernière répétition D4Z4 conduisant à la production d'une protéine toxique pour le muscle est proposé pour expliquer les mécanismes de la maladie. Toutefois, de nombreuses questions restent sans réponse, en particulier en raison de la forte variabilité clinique inter-individuelle et intra-familiale, de la pénétrance incomplète de cette maladie. Afin d'approfondir ces aspects, nous avons choisi d'explorer de grandes cohortes de patients, présentant des formes atypiques de la maladie afin de rechercher d'autres variants génétiques, d'approfondir le rôle de la méthylation de l'ADN en particulier dans la régulation de DUX4 et d'étudier les mécanismes moléculaires de régulation de la chromatine de la région contenant les D4Z4.

#### Résultats majeurs

Nous avons identifié de nouveaux gènes mutés chez certains patients et décrit des patients portant des réarrangements complexes du locus 4q35. Dans ces différentes catégories, nous avons montré que l'hypométhylation est plus marquée chez les individus atteints que chez les porteurs asymptomatiques. L'ensemble de ces travaux et l'exploration de larges cohortes de patients ont abouti à la mise en place de nouveaux tests génétiques de la maladie, à l'interface avec la clinique. De plus, nous avons dérivé une collection de cellules de patients atteints de FSHD et exploré les mécanismes de la maladie dans ces cellules. En particulier, nous avons produit une large collection de cellules souches pluripotentes induites, largement exploitées au-delà du projet FSHDecipher, en particulier grâce à l'établissement de collaborations nationales et internationales fructueuses.

Nos résultats soulignent la complexité de la maladie et le défi que représente l'interprétation des diverses caractéristiques moléculaires tels que les changements de méthylation, le nombre de répétitions D4Z4 ou les mutations de *SMCHD1*. L'ensemble de ces paramètres doit être évalué précisément pour une compréhension plus complète des défauts génomiques associés à la maladie. Dans la FSHD, il est donc essentiel de comprendre et d'évaluer les limites des tests moléculaires pour le diagnostic, mais aussi de comprendre la complexité des régions subtélomériques 4q et 10q et leur implication dans la pathogenèse de cette maladie génétique.

#### Production scientifique et valorisation

Nous avons identifié de nouveaux gènes candidats pour la maladie et développé une approche à haut débit pour l'analyse systématique de la méthylation chez les patients et leurs apparentés. Ce projet a donné lieu à la publication de plus de 10 articles scientifiques.

Les travaux ont été présentés lors de différents colloques scientifiques, dans le cadre de formations universitaires et lors de conférence auprès d'associations de patients.

Nous avons mis en place des outils de diagnostic moléculaire de la FSHD2, dans le cadre de travaux collaboratifs avec l'Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille.

**Début du projet : novembre 2013 | Durée : 42 mois |  
Financement ANR : 439 998 €**

#### Partenaires

Marseille Medical Genetics, UMR 1251 Inserm-Aix-Marseille Université | University College London (UCL) (Royaume-Uni) | IRCAN, Université Côte d'Azur, Hôpital de l'Archet, Nice

#### Coordination

Frédérique Magdinier – Marseille Medical Genetics, UMR 1251 Inserm-Aix-Marseille Université –  
frederique.magdinier@univ-amu.fr  
<https://www.marseille-medical-genetics.org/fr>

# Gene\_Transfer\_Tolerance

## Bases moléculaires de la tolérance immunitaire après transfert de gène

### Rappel des objectifs

L'administration *in vivo* de vecteurs recombinants issus des virus adéno-associé (AAV) permettent d'exprimer très efficacement des transgènes d'intérêt thérapeutique dans des tissus cibles définis. La maturité de ce nouvel outil thérapeutique est telle qu'un nombre croissant d'essais cliniques sont menés et que la FDA et l'EMA ont récemment approuvé deux médicaments à base d'AAV, le Luxturna et le Zolgensma.

Ce type d'approche se fonde sur l'expression *de novo* d'une protéine fonctionnelle qui est soit absente, soit déficiente chez le patient. Ainsi n'existe-t-il souvent pas de tolérance immunitaire préexistante contre le produit du transgène et une réponse immunitaire délétère peut se mettre en place, limitant l'efficacité du traitement. Ce projet avait pour objectif de caractériser les paramètres conduisant au rejet ou à l'acceptation des cellules génétiquement modifiées. Alors que la présentation directe de l'antigène par les cellules dendritiques est plutôt immunogène, la présentation croisée est tolérogène.

Afin d'étudier cela pour les AAV, nous avons utilisé des souris invalidées pour des gènes impliqués dans la présentation antigénique directe ou croisée, des nouveaux transgènes chimériques contenant des épitopes connus afin de pouvoir mesurer finement la réponse cellulaire anti-transgène et des vecteurs contenant des séquences cibles du miR142-3p dans la cassette d'expression pour réduire la présentation directe du produit du transgène.

### Résultats majeurs

Ce projet a débuté par la validation des nouveaux outils que nous avons générés : 1) faisant la preuve de principe pour un vecteur AAV de l'efficacité de l'addition de séquences miR142-3pT pour réduire la réponse immunitaire ; et 2) validant l'approche d'un transgène chimérique contenant divers épitopes CD4 et CD8. Cherchant ensuite à déterminer si la présentation croisée du transgène vectorisé *via* un vecteur AAV était capable d'induire un état de tolérance à l'encontre du transgène, nous avons caractérisé un certain nombre de paramètres liés au transgène et au site d'injection qui pouvaient moduler la décision entre réponse et tolérance immunitaire. Ainsi, une tolérance « croisée » ne pouvait être obtenue après administration intramusculaire qu'à l'encontre de la forme cytosolique du transgène, les formes membranaire ou sécrétée étant immunogènes. Ni les cellules CD4+Foxp3+, ni la molécule inhibitrice PD-1 ne semblaient impliquées dans cette tolérance. Contrairement à ce qui était attendu, la présentation croisée n'était pas bloquée dans les souris IRAP KO. Néanmoins, nous avons observé une réponse T altérée dans ces souris, ce qui a donné lieu à un travail collaboratif spécifique. Enfin, la voie intradermique s'est avérée être bien plus immunogène que la voie intramusculaire et la présentation croisée induisait dans ce contexte des cellules résidentes mémoires dans la peau.

### Production scientifique et valorisation

Evnouchidou I., *et al.* (2020) IRAP-dependent endosomal T cell receptor signalling is essential for T cell responses, *Nature Communications*, 11(1), p. 2779.

<https://doi.org/10.1038/s41467-020-16471-7>

Gross D. A., *et al.* (2019) Cross-Presentation of Skin-Targeted Recombinant Adeno-associated Virus 2/1 Transgene Induces Potent Resident Memory CD8+ T Cell Responses, *Journal of Virology*, 93(5), e01334-18.

<https://doi.org/10.1128/JVI.01334-18>

Ghenassia A., *et al.* (2017) Intradermal Immunization with rAAV1 Vector Induces Robust Memory CD8+ T Cell Responses Independently of Transgene Expression in DCs, *Molecular Therapy: the Journal of the American Society of Gene Therapy*, 25(10), pp. 2309-2322.

<https://doi.org/10.1016/j.jymthe.2017.06.019>

Carpentier M., *et al.* (2015) Intrinsic transgene immunogenicity gears CD8(+) T-cell priming after rAAV-mediated muscle gene transfer, *Molecular Therapy: the Journal of the American Society of Gene Therapy*, 23(4), pp. 697-706.

<https://doi.org/10.1038/mt.2014.235>

Boisgerault F., *et al.* (2013) Prolonged gene expression in muscle is achieved without active immune tolerance using microRNA 142.3p-regulated rAAV gene transfer, *Human Gene Therapy*, 24(4), pp. 393-405.

<https://doi.org/10.1089/hum.2012.208>

**Début du projet : décembre 2011 | Durée : 44 mois |**

**Instrument : JCJC | Financement ANR : 280 000 €**

#### Partenaires

UMR\_S 974 Inserm | UMR 1149 Inserm | Association française contre les myopathies

#### Coordination

David A Gross – UMR 951 Inserm, Généthron – david.gross@inserm.fr

<https://www.genethon.com/our-science/our-research-teams/immunology-and-liver-diseases/>

## GENOMIT

### Mitochondrial Disorders: from a genome-wide Registry to medical genomics, toward molecular mechanisms and new therapies

#### Rappel des objectifs

Mitochondrial disorders are a genetically heterogeneous group of rare and severe diseases with no effective treatment. GENOMIT is a network of eight partners in Germany, Austria, Italy, France, and USA acting with the International Mitochondrial Patient organization to improve the diagnosis and care of mitochondrial disease patients. The objectives of GENOMIT were to: 1) create the largest mitochondrial patient database worldwide, integrating four existing national registries from Europe and USA, including more than 4500 patients; 2) boost genome-wide diagnostics and optimize interpretation of genomic data by aggregating >1200 exome datasets; 3) extend functional studies on novel genes and pathways involved in the pathophysiology of mitochondrial pathologies; 4) test new therapeutic options by protein replacement therapy and bypassing respiratory chain complex I deficiency.

GENOMIT partners are established national hubs for the diagnosis and care of patients with mitochondrial pathologies. They represent the existing national patient registries and have access to the largest collection of mitochondrial pathology-related NGS data in Europe. Each of them has also developed a unique expertise that will be shared synergistically within the network. GENOMIT will thus create the critical mass to expand knowledge on the natural history, and genotype-phenotype correlation of mitochondrial disease, and gain insight into pathophysiological mechanisms and feasibility of novel therapeutic approaches.

#### Résultats majeurs

We have been involved in several WPs of the European GENOMIT project.

**WP1:** we have progressively established a database for French patients diagnosed in Necker-Enfants malades Hospital. This database has been integrated in 2016 in the Imagine *Plateforme de bases de données* and is continuously updated with the new patients.

**WP2:** we have performed next generation sequencing (NGS) in a total of 60 cases using in most cases DNA of the proband only. This has allowed us to identify the disease-causing gene in 30% of families. Some of these genes don't encode mitochondrial proteins suggesting a wrong clinical diagnosis of mitochondrial disease. In other cases, the identification of the disease gene allowed to expand the clinical phenotype associated with mutation of the corresponding gene. Finally, we also identified novel disease genes such as MIPEP or TAMM41.

**WP3:** a third part of our project focused on neurodegeneration with brain iron accumulation (NBIA) for which we ascribed iron overload to abnormal recycling of the transferrin receptor (TfR1) and a reduction of TfR1 palmitoylation. Moreover, we showed that palmitoylation represents a hitherto unreported level of TfR1 post-translational regulation, and that an antimalarial agent rescued abnormal TfR1 palmitoylation in cells from NBIA patients. These observations suggest new therapeutic possibilities aimed at targeting TfR1 recycling and palmitoylation in the devastating NBIA phenotype.

#### Production scientifique et valorisation

Drecourt A., *et al.* (2018) Impaired Transferrin Receptor Palmitoylation and Recycling in Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation, *American Journal of Human Genetics*, 102(2), pp. 266-277. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.01.003>

Gardeitchik T., *et al.* (2018). Bi-allelic Mutations in the Mitochondrial Ribosomal Protein MRPS2 Cause Sensorineural Hearing Loss, Hypoglycemia, and Multiple OXPHOS Complex Deficiencies, *American Journal of Human Genetics*, 102(4), pp. 685-695. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.02.012>

Paul A., *et al.* (2017) FDXR Mutations Cause Sensorial Neuropathies and Expand the Spectrum of Mitochondrial Fe-S-Synthesis Diseases, *American Journal of Human Genetics*, 101(4), pp. 630-637. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.09.007>

Metodiev M. D., *et al.* (2016) Recessive Mutations in TRMT10C Cause Defects in Mitochondrial RNA Processing and Multiple Respiratory Chain Deficiencies, *American Journal of Human Genetics*, 98(5), pp. 993-1000. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.03.010>

Sánchez-Caballero L., *et al.* (2016) Mutations in Complex I Assembly Factor TMEM126B Result in Muscle Weakness and Isolated Complex I Deficiency, *American Journal of Human Genetics*, 99(1), pp. 208-216. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.05.022>

**Début du projet : janvier 2016 | Durée : 36 mois |  
Financement ANR : 213 680 €**

#### Partenaires

Klinikum rechts der Isar der Technische Universität München, Munich (Allemagne) | Department of Paediatrics, Salzburg (Autriche) | Istituto Neurologico Carlo Besta, Milan (Italie) | UMR 1141 Inserm, Paris

#### Coordination

Agnes Rötig – UMR 1163 Inserm, Institut Imagine – [agnes.rotig@inserm.fr](mailto:agnes.rotig@inserm.fr)  
Pierre Rustin – UMR 1141 Inserm – [pierre.rustin@inserm.fr](mailto:pierre.rustin@inserm.fr)

## GenRED

### Étude des anomalies génétiques des érythrocytoses inexplicables

#### Rappel des objectifs

Le projet GenRED a pour objectif d'identifier les mutations germinales responsables des érythrocytoses héréditaires (EH) ou idiopathiques (EI), maladies hématologiques rares caractérisées par une production excessive d'hématies. Elles sont parfois associées à des complications thrombotiques des tumeurs. Au début du projet, huit gènes avaient été associés aux EH/EI mais, dans 80 % des cas, aucune anomalie génétique n'était retrouvée, n'autorisant aucun diagnostic ni prise en charge précise pour les patients et leurs familles.

L'étude GenRED s'est proposée de créer une base de données française regroupant les données clinico-biologiques des patients atteints de EH/EI. L'objectif était de mettre en place le diagnostic moléculaire par séquençage haut débit en utilisant un panel de gènes candidats puis, en absence de mutation identifiée, en réalisant le séquençage de l'exome entier. L'objectif suivant était de valider fonctionnellement *in cellulo*, *in vitro* et *in vivo* la pertinence clinique des variants génétiques identifiés. Ces études devaient permettre de déterminer leur rôle causal dans la pathologie, mais également d'identifier les mécanismes moléculaires impliqués dans la survenue des EH et de leurs éventuelles complications. De nouveaux outils diagnostiques (tests *in vitro*, utilisation de lignées cellulaires et de modèles de poissons-zèbres) devraient être développés en vue d'améliorer le diagnostic et le pronostic de ces maladies.

#### Résultats majeurs

Nous avons recruté plus de 400 patients et avons ainsi constitué la plus grande collection d'Europe de patients avec érythrocytose.

Nous avons réalisé un séquençage à l'aide d'un panel NGS (*Next Generation Sequencing*) et rendu un diagnostic pour ces patients. L'étude des variants génétiques identifiés ont permis d'en classer près de 70 dans la catégorie « mutation causale ». Pour ces patients, un suivi clinique approprié et une étude familiale ont été mis en place. Près de 300 variants de signification inconnue ont également été identifiés, notamment dans des régions non codantes des gènes. Nous avons ainsi découvert que de nombreux gènes impliqués dans les érythrocytoses avaient une structure et une régulation plus complexe que ce qui est décrit (notamment dans la maturation des ARNm (épissage)). Nous avons approfondi nos recherches sur trois gènes en particulier et avons notamment découvert la présence de séquences génétiques cachées qui jouent un rôle majeur dans les érythrocytoses.

Nous avons aussi découvert de nouveaux gènes impliqués dans cette pathologie.

Les voies biologiques identifiées jouent un rôle dans de nombreuses autres pathologies et les découvertes de ce projet auront un large impact.

#### Production scientifique et valorisation

Nos travaux ont donné lieu à la publication de 10 articles, quatre revues, 19 communications invitées et 12 posters.

Girodon F., *et al.* (2017) Gene panel sequencing in idiopathic erythrocytosis, *Haematologica*, 102(1), e30.

<https://doi.org/10.3324/haematol.2016.158337>

Lenglet M., *et al.* (2018) Identification of a new VHL exon and complex splicing alterations in familial erythrocytosis or von Hippel-Lindau disease, *Blood*, 132(5), pp. 469-483.

<https://doi.org/10.1182/blood-2018-03-838235>

Burlet B., *et al.* (2019) High HFE mutation incidence in idiopathic erythrocytosis, *British Journal of Haematology*, 185(4), pp. 794-795.

<https://doi.org/10.1111/bjh.15631>

Filser M., *et al.* (2021) Low incidence of EPOR mutations in idiopathic erythrocytosis, *Haematologica*, 106(1), pp. 299-301.

<https://doi.org/10.3324/haematol.2019.244160>

Filser M., *et al.* (2021) Increased incidence of germline PIEZO1 mutations in individuals with idiopathic erythrocytosis, *Blood*, 137(13), pp. 1828-1832.

<https://doi.org/10.1182/blood.2020008424>

**Début du projet : janvier 2016 | Durée : 48 mois |**

**Instrument : JCJC | Financement ANR : 583 000 €**

#### Partenaires

Inserm Grand Est | Inserm Grand Ouest | CHU de Nantes |  
École pratique des hautes études | CHU de Dijon

#### Coordination

François Girodon – CHU de Dijon –  
francois.girodon@chu-dijon.fr |

Betty Gardie – EPHE, Institut du thorax, Nantes –  
betty.gardie@inserm.fr

# GETH

## L'Édition Génomique comme outil Thérapeutique contre les $\beta$ -Hémoglobinopathies

### Rappel des objectifs

$\beta$ -hémoglobinopathies (Sickle cell disease and  $\beta$ -thalassemias) are genetic anemias caused by mutations affecting the adult hemoglobin expression and are currently treated by red blood cell (RBC) transfusion and iron chelation regimen. For patients affected by severe  $\beta$ -hémoglobinopathies, allogenic hematopoietic stem cell (HSC) transplantation is the only definitive therapy. Transplantation of autologous, genetically corrected HSC represents an alternative therapy for patients lacking a suitable bone marrow donor. The clinical course of  $\beta$ -thalassemias and Sickle cell disease (SCD) is ameliorated in the presence of elevated expression of the fetal  $\gamma$ -globin genes. Naturally occurring large deletions encompassing  $\beta$ - and  $\delta$ -globin genes in the globin gene cluster and point mutations in the  $\gamma$ A- and  $\gamma$ G-globin promoters, defined as Hereditary Persistence of Fetal Hemoglobin (HPFH) traits, result in increased fetal hemoglobin (HbF) expression ameliorating both thalassemic and SCD clinical phenotypes. The goal of the project is the development of novel therapeutic strategies based on nuclease-mediated genome-editing approaches finalized to re-activate fetal globin expression in the erythroid progeny of HSC. Mutational analyses of individuals carrying HPFH deletions and  $\beta$ -thalassemic patients revealed the presence of putative HbF silencers in the  $\beta$ -globin gene cluster. Sequence-specific nucleases were used to disrupt these cis-regulatory functional elements. Additionally, we introduced HPFH-like mutations in the  $\gamma$ A- and  $\gamma$ G-globin promoters to promote HbF expression. This approach will give insights into globin regulation and provide the molecular bases for the development of a novel therapeutic strategy for  $\beta$ -globin disorders.

### Résultats majeurs

#### Induction of fetal hemoglobin synthesis in human erythroblasts by CRISPR/Cas9-mediated editing of the $\beta$ -globin locus

We designed a clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) and CRISPR-associated protein 9 (Cas9) (CRISPR/Cas9) strategy to disrupt a 13.6-kb genomic region encompassing the adult  $\delta$ - and  $\beta$ -globin genes and a putative  $\gamma$ - $\delta$  intergenic fetal hemoglobin (HbF) silencer. Disruption of just the putative HbF silencer results in a mild increase in fetal  $\gamma$ -globin expression, whereas deletion or inversion of a 13.6-kb region causes a robust reactivation of HbF synthesis in adult erythroblasts. In primary SCD patient-derived hematopoietic stem/progenitor cells (HSPCs), targeting the 13.6-kb region results in a high proportion of  $\gamma$ -globin expression in erythroblasts, increased HbF synthesis, and amelioration of the sickling cell phenotype.

#### Editing a $\gamma$ -globin repressor binding site restores fetal hemoglobin synthesis and corrects the SCD phenotype

HPFH mutations in the *HBC*  $\gamma$ -globin promoters disrupt binding sites for the repressors BCL11A and LRF. We used CRISPR-Cas9 to mimic HPFH mutations in the *HBC* promoters by generating insertions and deletions, leading to disruption of known and putative repressor binding sites. Editing of the LRF-binding site in patient-derived HSPCs resulted in  $\gamma$ -globin derepression and correction of the sickling phenotype. Xenotransplantation of edited HSPCs showed a high editing efficiency in repopulating HSPCs.

### Production scientifique et valorisation

Weber L., et al. (2020) Editing a  $\gamma$ -globin repressor binding site restores fetal hemoglobin synthesis and corrects the sickle cell disease phenotype, *Science Advances*, 6(7), p. 9392. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aay9392>

Lattanzi A., et al. (2019) Optimization of CRISPR/Cas9 Delivery to Human Hematopoietic Stem and Progenitor Cells for Therapeutic Genomic Rearrangements, *Molecular Therapy: the Journal of the American Society of Gene Therapy*, 27(1), pp. 137-150. <https://doi.org/10.1016/j.jymthe.2018.10.008>

Antoniani C., et al. (2018) Induction of fetal hemoglobin synthesis by CRISPR/Cas9-mediated editing of the human  $\beta$ -globin locus, *Blood*, 131(17), pp. 1960-1973. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-10-811505>

Lagresle-Peyrou C., et al. (2018) Plerixafor enables safe, rapid, efficient mobilization of hematopoietic stem cells in sickle cell disease patients after exchange transfusion, *Haematologica*, 103(5), pp. 778-786. <https://doi.org/10.3324/haematol.2017.184788>

### Brevet

Miccio Annarita, Weber Leslie. Methods for increasing fetal hemoglobin content in eukaryotic cells and uses thereof for the treatment of hemoglobinopathies, WO/2020/053224/PCT/EP2019/074131. 19/03/2020

**Début du projet : octobre 2016 | Durée : 36 mois | Instrument : JCJC | Financement ANR : 343 616 €**

#### Coordination

Annarita Miccio – Laboratory of Chromatin and gene regulation during development, UMR 1163 Inserm, Institut Imagine, Université Paris-Cité – [annarita.miccio@institutimagine.org](mailto:annarita.miccio@institutimagine.org) <https://www.institutimagine.org/en/annarita-miccio-189>

## GOSAMPAC

### Genomics of cAMP signaling alterations in adrenal Cushing

Appel à projets générique | 2015

## GP-PMAH

### Génétique et physiopathologie de l'hyperplasie macronodulaire des surrénales

#### Rappel des objectifs

##### Contexte

La voie de signalisation AMPc/PKA stimulée par l'ACTH hypophysaire contrôle la sécrétion de cortisol et la trophicité du cortex surrénalien. Les lésions surrénaliennes bénignes, responsables d'un syndrome de Cushing (SC) (excès chronique de cortisol), sont soit des adénomes bénins (ACA) uniques, soit des nodules multiples bilatéraux (ou hyperplasie nodulaire (micronodulaire (PPNAD) ou macronodulaire (PBMAH)). Il s'agit de lésions bien différenciées et autonomes sur le plan sécrétoire, malgré l'absence d'ACTH. La PPNAD s'observe le plus souvent chez l'enfant et l'adulte jeune dans le cadre du complexe de Carney (association de lentiginose, myxome cardiaque et hyperactivité endocrine), maladie autosomique dominante liée à des variations germinales inactivatrices du gène *PRKARIA* (sous-régulatrice RIA de la PKA). Dans de rares ACA responsables d'un SC, des altérations somatiques inactivatrices de *PRKARIA* et activatrices *GNAS* ont été observées. Le caractère bilatéral des nodules dans les PPNAD et PBMAH suggère une prédisposition génétique. Si cette dernière est démontrée dans le complexe de Carney, elle ne l'était pas lors du démarrage du projet dans les PPNAD isolées sans autre atteinte du complexe de Carney, sauf chez les rares patients présentant des variations germinales inactivatrices de la phosphodiesterase *PDE11A*, et dans la PBMAH qui est diagnostiquée chez l'adulte entre 40 et 60 ans.

##### Hypothèse

L'hypothèse initiale était basée sur l'implication d'anomalies de la voie de signalisation AMPc/PKA dans les lésions surrénaliennes bénignes responsables d'un syndrome de Cushing.

##### Objectif

L'objectif du projet était d'identifier des anomalies génétiques ou épigénétiques altérant la voie de signalisation AMPc/PKA par différentes approches de génomique sur tissu surrénalien et ADN germinale de patients souffrant de SC surrénalien. Cette approche de génomique intégrée avait pour objectif d'établir une classification moléculaire de ces pathologies sans a priori clinique. Une fois cette classification établie, le retour aux corrélations phénotypique incluant les données hormonales et l'analyse histologique des tissus étudiés permettrait de valider cette approche pour identifier une hétérogénéité moléculaire. L'étude des sous-groupes moléculaires identifiés permettrait ensuite plus facilement d'identifier, dans ces maladies rares, les altérations causales. En parallèle, des études fonctionnelles sur des modèles cellulaires de lignées surrénaliennes établies ou sur culture primaire de lésions corticosurrénaliennes seraient développées pour étudier les conséquences des anomalies identifiées sur la voie de l'AMPc.

##### Les collaborations et réseaux

Ce projet a bénéficié et permis d'amplifier des collaborations nationales (réseau COMETE, FSMR Firendo) et internationales (ENSAT, ENDO-ERN) indispensables pour réunir, d'un côté, les échantillons biologiques sur des maladies rares et, de l'autre côté, les expertises multiples en génomique et études de voie de signalisation.

#### Résultats majeurs

##### Classification moléculaire des lésions bénignes de la surrénale

La génomique (transcriptome, méthylome, miRNome, snp, exome) a permis de démontrer des caractéristiques communes aux lésions nodulaires (ACA, PPNAD, PBMAH) responsables d'un SC, partagées avec les hyperplasies surrénaliennes liées à un excès d'ACTH (SC d'origine hypophysaire) et les différenciant des ACA non sécrétants ou sécrétants de l'aldostérone.

##### Identification de quatre nouveaux gènes du syndrome de Cushing surrénalien

La classification moléculaire identifiant un groupe spécifique d'ACA avec SC et le séquençage de l'exome somatique de ces lésions ont révélé des variations génétiques pathogènes récurrentes sur des « hot spots » limités du gène *PRKACA* (sous-unité catalytique de la PKA). L'étude d'une grande cohorte européenne démontre qu'il s'agit de l'anomalie moléculaire la plus fréquente, présente dans 40% des ACA avec SC. De façon intéressante, des duplications germinales du même gène *PRKACA* (mais pas d'anomalie ponctuelle) sont retrouvées chez des patients présentant une PPNAD. Par ailleurs, une mutation assez équivalente somatique du gène de la sous-unité Cb de la PKA (*PRKACB*) a été mise en évidence dans un ACA du même groupe.

La classification moléculaire des PBMAH avec SC a révélé trois groupes aux caractéristiques cliniques et histologiques spécifiques. L'étude des snp de l'ADN somatique et germinale identifie, dans l'un des groupes, des pertes d'allèle récurrentes en 16p. Le séquençage complet du génome identifie dans ce groupe des variants pathogènes inactivant le gène *ARMC5* localisé en 16p. Le deuxième groupe d'hyperplasies macronodulaires des surrénales présente des pertes d'allèle en 1p, et le RNAseq révèle que le gène le plus surexprimé est le récepteur du GIP (stimulant l'APc) et le plus sous-exprimé *KDM1A*. L'exome démontre, dans ce groupe, que les patients présentent des variations pathogènes inactivatrices du gène *KDM1A* localisé en 1p.

##### La compréhension des conséquences fonctionnelles des anomalies moléculaires des gènes identifiés

Les études fonctionnelles, par des approches multiples de biologie moléculaire et cellulaire et des techniques de BRET et FRET, ont permis de démontrer comment les variants de *PRKARIA*, *PRKACA* et *PRKACB*, dérégulent les interactions entre les sous-unités régulatrices et catalytiques de la PKA, conduisant à une activation anormale de cette enzyme. L'identification de partenaires d'*ARMC5* (*CUL3*, *NRF1*) ouvre des perspectives pour comprendre les mécanismes d'action de ce nouveau gène.

## Conclusion

Ces travaux ont permis d'identifier de nouveaux gènes du SC sur-rénalien et démontrent le caractère génétique d'une cause de SC de l'adulte, la PBMAH. L'application immédiate est la possibilité d'un dépistage familial pour un diagnostic précoce de cette maladie pour en limiter le retentissement important en cas de diagnostic tardif, qui est habituel. À plus long terme, la compréhension de ces anomalies permettra de développer des approches thérapeutiques médicales spécifiques.

## Production scientifique et valorisation

Calebiro D., *et al.* (2014) PKA catalytic subunit mutations in adrenocortical Cushing's adenoma impair association with the regulatory subunit, *Nature Communications*, 5, p. 5680.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms6680>

Cazabat L., *et al.* (2014) Inactivation of the Carney complex gene 1 (PRKARIA) alters spatiotemporal regulation of cAMP and cAMP-dependent protein kinase: a study using genetically encoded FRET-based reporters, *Human Molecular Genetics*, 23(5), pp. 1163-1174.  
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddt510>

Di Dalmazi G., *et al.* (2014) Novel somatic mutations in the catalytic subunit of the protein kinase A as a cause of adrenal Cushing's syndrome: a European multicentric study, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 99(10), pp. E2093-E2100.  
<https://doi.org/10.1210/jc.2014-2152>

Espiard S., *et al.* (2015) ARMC5 Mutations in a Large Cohort of Primary Macronodular Adrenal Hyperplasia: Clinical and Functional Consequences, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 100(6), pp. E926-E935.  
<https://doi.org/10.1210/jc.2014-4204>

Ronchi C. L., *et al.* (2016) Genetic Landscape of Sporadic Unilateral Adrenocortical Adenomas Without PRKACA p.Leu206Arg Mutation, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 101(9), pp. 3526-3538.  
<https://doi.org/10.1210/jc.2016-1586>

Weigand I., *et al.* (2017) Differential expression of the protein kinase A subunits in normal adrenal glands and adrenocortical adenomas, *Scientific Reports*, 7(1), p. 49.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-00125-8>

Espiard S., *et al.* (2018) Activating PRKACB somatic mutation in cortisol-producing adenomas, *JCI Insight*, 3(8), p e98296.  
<https://doi.org/10.1172/jci.insight.98296>

Cavalcante I. P., *et al.* (2020) Cullin 3 targets the tumor suppressor gene ARMC5 for ubiquitination and degradation, *Endocrine-Related Cancer*, 27(4), pp. 221-230.  
<https://doi.org/10.1530/ERC-19-0502>

Faillot S., *et al.* (2021) Genomic classification of benign adrenocortical lesions, *Endocrine-Related Cancer*, 28(1), pp. 79-95.  
<https://doi.org/10.1530/ERC-20-0128>

Vaczlavik A., *et al.* (2022) KDM1A inactivation causes hereditary food-dependent Cushing syndrome, *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 24(2), pp. 374-383.  
<https://doi.org/10.1016/j.gim.2021.09.018>

### GOSAMPAC

Début du projet : avril 2014 |

Durée : 45 mois |

Financement ANR : 172 000 €

#### Partenaires

Inserm | Université clinique de Hôpital universitaire, Munich (Allemagne) | University Hospital, Würzburg (Allemagne) | Fondazione IRCCS (Italie)

### GP-PMAH

Début du projet : janvier 2016 |

Durée : 36 mois |

Financement ANR : 250 000 €

#### Partenaires

Inserm | Université de Sao Paulo (Brésil)

### Coordination

Jérôme Bertherat – Institut Cochin, U 1016 Inserm, UMR 8104 CNRS, Université Paris-Cité – [jerome.bertherat@aphp.fr](mailto:jerome.bertherat@aphp.fr)  
[http://cochin.inserm.fr/la\\_recherche/departements/emc/equipe-bertherat](http://cochin.inserm.fr/la_recherche/departements/emc/equipe-bertherat)

## HEART DM

### Understanding the causes of heart defects in myotonic dystrophies

ERA-NET E-Rare-2 JC | 2012

## Cure-FXTAS

### Experimental approaches towards therapeutic intervention for Fragile X-associated Tremor Ataxia Syndrome

ERA-NET E-Rare-2 | 2014

## Drug\_FXSPreMut

### Preclinical approaches towards therapeutic intervention for Fragile X PreMutation carriers

#### Rappel des objectifs

Twenty years of human genome sequencing has now revealed that most of our genome is composed of repetitive DNA elements and non-coding sequences. Among these repetitive sequences, microsatellites, also known as DNA Short Tandem Repeats (STR), are short sequences of 3 to 6 nucleotides repeated so multiple times that they occupy as much as 3 to 5% of the human genome. Microsatellite variation occurs naturally and has important roles in genomes evolution and functions. However, expansion of a subset of these microsatellites over a threshold size can also be the leading cause of devastating human genetic disorders.

In these ANR/E-rare funded projects, we investigated the pathogenic mechanisms underlying two of these microsatellite diseases: myotonic dystrophies (DM) and Fragile X tremor ataxia syndrome (FXTAS).

1) With a worldwide incidence of 1 out of 8000, myotonic dystrophies (DM) are the most common forms of adult-onset muscle dystrophy. DM patients are characterized by multiple symptoms including muscle hyper-excitability (myotonia), progressive muscle wasting and multiple cardiac dysfunctions. Myotonic dystrophies are caused by two non-coding microsatellites: either an expansion of CTG repeats in the 3'UTR of the DMPK gene (DM of type 1), or an expansion of CCTG repeats in the first intron of the CNBP gene (DM of type 2). At the molecular level, these CTG and CCTG repeat expansions are transcribed in mutant CUG or CCUG-repeated RNAs, which bind and capture the muscleblind-like proteins (MBNL) RNA-binding proteins. MBNL are splicing factors that regulate alternative splicing of various pre-mRNAs, and thus titration of the MBNL proteins by expanded CUG/CCUG RNA repeats leads to specific alternative splicing changes that are associated with and/or responsible of DM symptoms. However, the cause and mechanisms underlying heart dysfunctions in DM were unknown.

2) Fragile X tremor ataxia syndrome (FXTAS) is a rare neurodegenerative disorder that affects adult males who are carriers of 55 to 200 CGG repeats located in the 5'UTR of the FMR1 gene, which is located on the X chromosome. Individuals with FXTAS develop progressive ataxia, dementia and parkinsonism. At the histopathological level, FXTAS is characterized by neuronal cell loss and the intriguing presence of large ubiquitin-positive intranuclear inclusions, which were of unknown origin. Moreover, the pathogenic mechanisms underlying FXTAS, and notably how an expansion of CGG repeats located in a genomic region predicted as non-coding is toxic and drives neuronal cell death were unknown.

#### Résultats majeurs

To explore how an expansion of tri-nucleotide repeats (CGG in FXTAS, CTG/ CCTG in DM) are toxic, we collaborated with European groups experts in these diseases and found that:

1) Cardiac conduction delay and arrhythmias are the second cause of death in myotonic dystrophies (DM). These disorders are caused by expanded CTG and CCTG repeats that are transcribed in mutant RNAs, which bind and capture the MBNL RNA-binding proteins, thus causing specific alternative splicing changes responsible of DM symptoms. However, the molecular mechanisms underlying heart defects in DM were unclear. Through massive RNA sequencing, the HEART-DM network uncovered novel splicing alterations in DM heart samples, among which a splicing change within the cardiac sodium channel SCN5A. Interestingly, genetic mutations in SCN5A cause cardiac conduction diseases with symptoms strikingly similar to myotonic dystrophies. The HEART-DM network found that MBNL regulates alternative splicing of SCN5A and that depletion of MBNL activities reproduces the mis-regulation of SCN5A splicing observed in DM. Moreover, the HEART-DM consortium reproduced the specific DM splicing alteration of Scn5a in mice and found that it was sufficient to promote heart arrhythmia and cardiac conduction delay. Thus, mis-regulation of the SCN5A alternative splicing may explain the electrical cardiac dysfunctions characteristic of myotonic dystrophies.

2) Concerning FXTAS, the Cure-FXTAS network, followed by the Drug-FXSPreMut consortium helped to uncover that despite being embedded in a genomic region initially described as "non-coding", the expanded CGG repeats responsible of FXTAS are translated into a novel polyglycine-containing protein, named FMRpolyG. Importantly, translation of these CGG repeats occurs in absence of any ATG start codon, but instead, translation initiation takes place at an ACG near-cognate codon located upstream of the CGG repeats. Near-cognate initiation codons are codons differing from the cognate AUG start codon by one nucleotide, but that can nonetheless initiate translation through mispairing with the initiator methionine-tRNA. Of clinical interest, expression of FMRpolyG in neuronal cells is sufficient to form ubiquitin-positive aggregates, and antibodies developed against this protein stain the FXTAS-typical intranuclear inclusions in patient's cells and tissue sections. Finally, the Cure-FXTAS and the Drug-FXSPreMut networks helped to develop mouse models expressing FMRpolyG, as well as human FXTAS-iPS cells that we differentiated into neurons.



These novel cell and animal models indicate that expression of FMR-polyG is toxic, resulting in neuronal cell loss, locomotor alterations, ataxia and neuroinflammation. These results are important as they clarify the origin of the neurodegeneration and presence of intranuclear inclusions in FXTAS. Moreover, these novel iPS cell and animal models will be instrumental to develop innovative therapeutic approaches for this disease.

### Production scientifique et valorisation

Freyermuth F., *et al.* (2016) Splicing mis-regulation of SCN5A contributes to cardiac conduction delay and heart arrhythmia in myotonic dystrophy, *Nature Communications*, 17, art. 11067.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms11067>

Buijsen R., *et al.* (2014) FMRpolyG-positive inclusions in CNS and non-CNS organs of a fragile X premutation carrier with FXTAS, *Acta Neuropathol Commun.*, 2(1), art. 162.  
<https://doi.org/10.1186/s40478-014-0162-2>

Sellier C., *et al.* (2017) Translation of expanded CGG repeats is pathogenic in Fragile X Tremor Ataxia Syndrome, *Neuron*, 93(2), pp. 331-347.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.12.016>

#### HEART DM

**Début du projet : janvier 2013 | Durée : 36 mois | Financement ANR : 237 120 €**

#### Partenaires

Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire (IGBMC) | University Medical Center Hamburg-Eppendorf (Allemagne) | Fundación investigación clínico de Valencia (Espagne) | Institut de myologie

#### Cure-FXTAS

**Début du projet : mars 2013 | Durée : 36 mois | Financement ANR : 221 520 €**

#### Partenaires

Erasmus Medical Centre Rotterdam (Pays-Bas) | Institut de génétique et de

biologie moléculaire et cellulaire (IGBMC) | Université Otto-von-Guericke, Magdeburg (Allemagne)

#### Drug\_FXSPreMut

**Début du projet : décembre 2014 |**

**Durée : 48 mois |**

**Financement ANR : 221 520 €**

#### Partenaires

Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire (IGBMC) | Erasmus University Medical Center, Rotterdam (Pays-Bas) | I-STEM, UMR 861 Inserm/UEVE, AFM Genopole | Université Otto-von-Guericke, Magdeburg (Allemagne) | Université Adam Mickiewicz, Poznan (Pologne) | TechnoPhage, SA

#### Coordination

Nicolas Charlet-Berguerand – IGBMC, UMR 7104 CNRS, U 1258 Inserm – ncharlet@igbmc.fr  
<https://www.igbmc.fr/equipes/maladies-a-gain-de-fonction-darn>

## Heart\_asymmetry

### Asymétrie précoce requise pour l'alignement des chambres cardiaques : développement et pathologie

#### Rappel des objectifs

1% des enfants naissent avec une malformation cardiaque, ce qui peut avoir des conséquences fonctionnelles graves. Le cœur fonctionne comme une double pompe : à droite, pour envoyer le sang pauvre en oxygène dans les poumons et, à gauche, pour distribuer le sang riche en oxygène aux autres organes. La structure du cœur, assurant la double circulation sanguine, dépend d'un processus asymétrique qui a lieu dans l'embryon à la quatrième semaine de grossesse. À ce moment-là, l'ébauche du cœur est un tube, qui s'enroule un peu comme une hélice de coquille d'escargot. Cette étape de courbure du tube cardiaque est fondamentale pour l'alignement des chambres cardiaques et le cloisonnement du cœur.

Alors que la cascade moléculaire qui initialise l'asymétrie droite/gauche a été bien caractérisée dans l'embryon précoce, on comprend encore mal comment elle est ressentie par les cellules du cœur. Le premier objectif du projet Heart\_asymmetry était de comprendre comment la signalisation droite/gauche contrôle le mécanisme de courbure du cœur. Le second objectif était de mieux caractériser une malformation cardiaque rare, la transposition congénitalement corrigée des gros vaisseaux (CCTGA), qui se manifeste par une inversion droite/gauche des ventricules, et à ce titre considérée comme une anomalie de courbure du cœur.

#### Résultats majeurs

Dans une publication parue dans *Developmental Cell*, le laboratoire de Sigolène Meilhac rapporte que l'action du gène Nodal, déterminant gauche majeur, est transitoire et précoce dans les cellules cardiaques, avant que le cœur ne commence à battre. En l'absence de Nodal, le tube cardiaque embryonnaire est toujours courbé, mais l'hélice est de travers, ce qui conduit à des malformations cardiaques à la naissance, caractéristiques du syndrome d'hétérotaxie. Si l'initiation de l'asymétrie du cœur est indépendante de Nodal, celui-ci joue toutefois un rôle important : il oriente et sculpte la courbure pour que le tube cardiaque embryonnaire prenne une forme d'hélice spécifique. Ces travaux montrent ainsi le rôle de Nodal dans la mise en place de la double pompe cardiaque et mettent au jour des mécanismes du syndrome d'hétérotaxie. Ils ouvrent en outre de nouvelles perspectives de recherche, en montrant que Nodal n'est pas le seul acteur de la courbure du cœur.

En combinant cardiopédiatrie, génétique humaine et biologie du développement, le projet Heart\_asymmetry a des répercussions, en recherche fondamentale, pour la compréhension des mécanismes d'asymétrie droite/gauche nécessaires à la formation d'autres organes viscéraux (l'organogenèse), ainsi que dans la pratique clinique pour la prise en charge des patients présentant des défauts d'alignement des chambres cardiaques, représentant près de 20% des malformations congénitales du cœur. En outre, cette collaboration interdisciplinaire a favorisé de nouveaux projets de recherche sur d'autres malformations cardiaques.

#### Production scientifique et valorisation

Desgrange A., *et al.* (2019) Standardised imaging pipeline for phenotyping mouse laterality defects and associated heart malformations, at multiple scales and multiple stages, *Disease Models & Mechanisms*, 12(7), dmm038356.

<https://doi.org/10.1242/dmm.038356>

Desgrange A., *et al.* (2020) Transient Nodal Signaling in Left Precursors Coordinates Opposed Asymmetries Shaping the Heart Loop, *Developmental Cell*, 55(4), pp. 413-431.e6.

<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2020.10.008>

Ainsi que deux articles de synthèse bibliographiques sur le thème de la courbure du cœur et des défauts de latéralité :

Desgrange A., *et al.* (2018) Left-right asymmetry in heart development and disease: forming the right loop, *Development (Cambridge, England)*, 145(22), dev162776.

<https://doi.org/10.1242/dev.162776>

Houyel L., *et al.* (2021) Heart Development and Congenital Structural Heart Defects, *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 22, pp. 257-284.

<https://doi.org/10.1146/annurev-genom-083118-015012>

Présentation dans 26 conférences scientifiques et 13 interventions grand public.

**Début du projet : novembre 2016 | Durée : 54 mois |  
Financement ANR : 567 240 €**

#### Partenaires

UMR 1163 Inserm, Institut Imagine | Institut Pasteur | Unité médico-chirurgicale de cardiologie pédiatrique et congénitale, Hôpital Necker-Enfants malades | Centre national de référence des malformations cardiaques congénitales complexes-M3C, Hôpital Necker-Enfants malades | UMR 1163 Inserm, Institut Imagine

#### Coordination

Sigolène Meilhac – UMR 1163 Inserm, Institut Imagine –  
sigolene.meilhac@pasteur.fr –  
<https://research.pasteur.fr/en/team/heart-morphogenesis/> –  
<https://www.institutimagine.org/en/sigolene-meilhac-64>

## HEART-IPS

### Étude du rôle des facteurs de transcription Iroquois dans les arythmies cardiaques à l'aide de cellules souches pluripotentes induites

#### Rappel des objectifs

Les arythmies cardiaques touchent plus de 3% de la population et sont liées à une forte morbidité et un sur-risque de mort subite cardiaque. Ainsi, la compréhension des mécanismes moléculaires et cellulaires qui contrôlent la génération et la propagation de l'influx électrique, et l'analyse de ses modifications dans les maladies cardiaques, sont d'intérêt majeur. Dans ce contexte, les facteurs de transcription, régulateurs du développement cardiaque et, bien que moins connus, impliqués dans le contrôle de l'activité électrique du cœur adulte, sont devenus une cible d'intérêt.

Les facteurs de transcription Iroquois (*Irx*) jouent des rôles importants dans le développement cardiaque fœtal et la physiologie post-natale chez l'animal. Cependant, leurs rôles dans le cœur humain n'avaient pas été identifiés. De manière intéressante, nous avons auparavant montré que, comme chez la souris, *IRX5* est présent dans le cœur humain, ce qui suggérait un rôle potentiellement important de ce facteur de transcription dans des conditions physiologiques et pathologiques chez l'humain.

Le problème abordé dans le projet HEART-IPS était de comprendre le rôle fonctionnel du facteur de transcription *IRX5* dans la physiologie cardiaque humaine. En utilisant une combinaison de cellules souches pluripotentes induites générées à partir de patients, nous avons également déchiffré son rôle dans le phénotype cardiaque anormal des syndromes arythmiques d'Hamamy et de Brugada.

#### Résultats majeurs

Avec le projet Heart-IPS, nous avons montré que certaines arythmies sévères, qui se manifestent généralement avec l'âge, s'initient au cours du développement structural et électrophysiologique du cœur.

Pour cela, nous avons d'une part tiré parti d'une maladie congénitale récessive humaine rare, le syndrome d'Hamamy, pour lequel les patients sont porteurs d'une mutation dans le gène *IRX5* et présentent à la fois des défauts structuraux et électrophysiologiques cardiaques. D'autre part, des études avaient également suggéré un rôle d'*IRX5* dans une autre maladie arythmique héréditaire, le syndrome de Brugada (BrS).

Notre travail a permis de caractériser l'impact des mutations d'*IRX5* sur le phénotype électrique des cardiomyocytes. Nous avons découvert que la régulation transcriptionnelle de plusieurs acteurs majeurs

de la conduction électrique cardiaque, tels que *SCN5A* et les connexines, est liée à *IRX5*. Ce travail a donc identifié un rôle clé d'*IRX5* dans la régulation de la dépolarisation ventriculaire humaine et de la conduction électrique cardiaque, apportant ainsi de nouvelles perspectives dans notre compréhension des maladies cardiaques. Par ailleurs, dans une étude en cours de publication, de nouveaux mécanismes de régulation ont été identifiés et validés biologiquement entre *IRX3*, *IRX5* et trois facteurs de transcription centraux du développement et de la fonction cardiaque, *GATA4*, *TBX5* et *NKX2-5*.

#### Production scientifique et valorisation

Trois thèses de doctorat (Zeina R. Al Sayed, Bastien Cimarosti et Robin Canac) sur les projets financés par cette ANR, ont été réalisées et soutenues à l'École doctorale Biologie Santé en 2018 et 2022.

Publications :

Canac R., et al. (2022) Deciphering Transcriptional Networks during Human Cardiac Development, *Cells*, 11(23), p. 3915. <https://doi.org/10.3390/cells11233915>

Al Sayed Z. R., et al. (2021) A consistent arrhythmogenic trait in Brugada syndrome cellular phenotype, *Clinical and Translational Medicine*, 11(6), e413. <https://doi.org/10.1002/ctm2.413>

Al Sayed Z. R., et al. (2021) Human model of *IRX5* mutations reveals key role for this transcription factor in ventricular conduction, *Cardiovascular Research*, 117(9), pp. 2092-2107. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa259>

Canac R., et al. (2022) Generation of three human induced pluripotent stem cell lines with *IRX5* knockout and knockin genetic editions using CRISPR-Cas9 system, *Stem Cell Research*, 58, p. 102627. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2021.102627>

Belbachir N., et al. (2019) RRAD mutation causes electrical and cytoskeletal defects in cardiomyocytes derived from a familial case of Brugada syndrome, *European Heart Journal*, 40(37), pp. 3081-3094. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz308>

**Début du projet : octobre 2015 | Durée : 48 mois | Instrument : JCJC | Financement ANR : 272 988 €**

#### Coordination

Nathalie Gaborit – Institut du thorax, U 1087 Inserm, U 6291 CNRS, Nantes – [nathalie.gaborit@univ-nantes.fr](mailto:nathalie.gaborit@univ-nantes.fr)  
<https://umr1087.univ-nantes.fr/>

# HGDIFD

## Déterminisme génétique des infections fongiques invasives chez l'humain

### Rappel des objectifs

Les infections fongiques invasives (IFI) sont des infections graves, souvent mortelles, qui surviennent habituellement chez des patients avec un déficit immunitaire (DI) acquis ou primaire (DIP). Elles représentent un problème majeur de santé publique. Comme elles frappent généralement des patients avec divers facteurs concomitants, leur pathogenèse reste mal comprise. Dans de rares cas, ces IFI surviennent chez des patients sans facteurs de risque connus. Ces IFI dites idiopathiques constituent une opportunité unique de comprendre les mécanismes physiopathologiques sous-jacents. Notre hypothèse est qu'un défaut héréditaire monogénique, qui touche spécifiquement la réponse immunitaire dirigée contre le champignon causal, est responsable de ces IFI ; défaut que nous chercherons à découvrir et à caractériser. Cette étude permettra de comprendre les mécanismes qui confèrent une immunité protectrice vis-à-vis des champignons responsables de l'infection et la pathogenèse sous-jacente. Ces résultats bénéficieront aux patients et à leurs familles en termes de diagnostic et de conseil génétique et devraient ouvrir la voie à de nouvelles interventions prophylactiques et thérapeutiques adaptées, basées sur une meilleure compréhension de la physiopathologie.

### Résultats majeurs

Au total, grâce aux collaborations nationales et internationales établies, nous avons recruté 407 patients avec une IFD idiopathique prouvée (par exemple : cryptococcose, aspergillose, dermatophytose, candidose) et 260 apparentés (au total 667 individus). Nous avons réalisé un séquençage à haut débit pour 428 individus. Pour 42 patients, enfants ou adultes, auparavant en bonne santé, avec une IFD sans aucun facteur de risque sous-jacent connu, nous avons identifié un défaut autosomique récessif en CARD9, une protéine impliquée dans la signalisation en aval de récepteurs capables de reconnaître des motifs exprimés à la surface de champignons. Ces patients présentaient essentiellement des infections du système nerveux central et/ou du tube digestif par *Candida albicans*, des dermatophytoses profondes, ou des phaeohyphomycoses invasives et le plus souvent fatales. Pour huit patients avec des cryptococcoses neuro-méningées, nous avons identifié la présence de titres élevés d'auto-anticorps neutralisants anti-GM-CSF (*Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor*). Enfin, pour 23 patients, nous avons identifié 13 défauts génétiques, connus ou nouveaux, caractérisés au cours de ces dernières années ou encore en cours de caractérisation. Ces résultats ont démontré que des IFI peuvent avoir une origine génétique, même chez l'adulte, et ont permis une meilleure définition de la physiopathologie des infections fongiques.

### Production scientifique et valorisation

Ce projet a donné lieu à plus de 20 publications (publications originales et revues), notamment sur des défauts monogéniques de l'immunité associés à des IFI ou la présence d'autoanticorps anti-cytokines associés à des IFI.

Neehus A. L., et al. (2021). Impaired respiratory burst contributes to infections in PKC $\delta$ -deficient patients, *The Journal of Experimental Medicine*, 218(9), e20210501. <https://doi.org/10.1084/jem.20210501>

Béziat V., et al. (2020) Dominant-negative mutations in human IL6ST underlie hyper-IgE syndrome, *The Journal of Experimental Medicine*, 217(6), e20191804. <https://doi.org/10.1084/jem.20191804>

Li J., et al. (2019) Chronic mucocutaneous candidiasis and connective tissue disorder in humans with impaired JNK1-dependent responses to IL-17A/F and TGF- $\beta$ , *Science Immunology*, 4(41), eaax7965. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aax7965>

Béziat V., et al. (2018) A recessive form of hyper-IgE syndrome by disruption of ZNF341-dependent STAT3 transcription and activity, *Science Immunology*, 3(24), eaat4956. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aat4956>

Toubiana J., et al. (2016) Heterozygous STAT1 gain-of-function mutations underlie an unexpectedly broad clinical phenotype, *Blood*, 127(25), pp. 3154-3164. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-11-679902>

**Début du projet : janvier 2015 | Durée : 48 mois |  
Financement ANR : 328 460 €**

#### Partenaires

Molecular Mycology Unit, Institut Pasteur | Service des Maladies infectieuses et tropicales adultes, hôpital Necker-Enfants malades

#### Coordination

Anne Puel – Laboratoire de génétique humaine des maladies infectieuses, Institut Imagine –  
[anne.puel@inserm.fr](mailto:anne.puel@inserm.fr)  
<https://www.institutimagine.org/fr/jean-laurent-casanova-177>

## ICM

### Institut de neurosciences translationnelles de Paris

#### Rappel des objectifs

ICM's goal is to better understand how the brain functions, both in health and disease, and to pave the way for disruptive therapies for neurological and psychiatric disorders such as Parkinson's, Alzheimer's, Multiple Sclerosis, Epilepsy and Depression, as well as rare diseases such as ALS and Huntington's disease. Since its establishment in 2012, the funds raised allowed ICM to scale up and structure innovative research initiatives, expand scientific and medical community resources, implement new technologies and develop innovative care and education initiatives. IHU-funded initiatives have had a significant scientific, clinical and economic impact. Today ICM ranks second in the neurology field, recruits top team leaders through international calls and hosts scientists from over 40 different countries. ICM has leveraged the IHU investment, increasing the number of key industrial partnerships, and has incubated numerous innovative start-ups which delivered several new products to the market. ICM is now poised to become a global leader in making breakthrough discoveries of brain function in health and disease, translating them into innovative applications and effective therapies, and creating a world-class center for the training of the leading scientists of the future.

#### Résultats majeurs

The ICM has a long-lasting interest in rare neurological diseases: today, 12 ICM research teams are investigating the causes of 13 rare diseases. Genetic studies led by ICM researchers have identified new genes in familial cases of ALS (TBK1 gene), frontotemporal dementia (SQSTM1 gene), spinocerebellar degeneration and epilepsy, as well as the functional impact of gene mutations in dystonia (ADCY5 and PRRT2 genes) and spastic paraplegia (SPG11). An important advance in the understanding of the progression of ALS is the identification of the role of immunity or metabolic dysfunctions. In Huntington's disease, our researchers have discovered the implication of neurodevelopmental components to the initiation of the disease. These scientific discoveries go hand in hand with strong clinical research, which is embedded in the clinical ecosystem of Pitié Salpêtrière and was reinforced in 2019 by the creation of ICM clinical research infrastructures (ICRINS) dedicated to neurological diseases (including ALS, and Neurogenetics). These teams benefit from the support of the Center for clinical Investigation, which includes every year, around 1500 new patients in research protocols and allows to implement clinical trials that will provide innovative therapeutic applications for these rare diseases (e.g. antisense oligonucleotides in Huntington's disease). To foster creative ideas for new disease solutions between researchers, clinicians, and innovation, the ICM has developed interdisciplinary training and immersive programmes. The strong links with the Neuroscience department of the Hospital, as well as international partnerships have catalysed excellency in clinical research. ICM researchers have obtained several prestigious grants (IMI, H2020, Horizon Europe, 18 ERC, JPND programs, RHU) and have been associated with the European network of excellence on neurodegenerative diseases.

#### Production scientifique et valorisation

Since 2012: more than 5500 publications (5 in Cell, 6 in Nature, 10 in Science), 182 ongoing clinical trials, 61 active patents, 25 start-ups supported at the ICM start-up incubator (iPEPS).

Barbier M., et al. (2021) SLITRK2, an X-linked modifier of the age at onset in C9orf72 frontotemporal lobar degeneration, *Brain: a Journal of Neurology*, 144(9), pp. 2798-2811. <https://doi.org/10.1093/brain/awab171>

Barnat M., et al. (2020) Huntington's disease alters human neurodevelopment, *Science*, 369(6505), pp. 787-793. <https://doi.org/10.1126/science.aax3338>

Brandt, J. P., et al. (2020) Variant Creutzfeldt-Jakob Disease Diagnosed 7.5 Years after Occupational Exposure, *The New England Journal of Medicine*, 383(1), pp. 83-85. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2000687>

Chiot A., et al. (2020) Modifying macrophages at the periphery has the capacity to change microglial reactivity and to extend ALS survival, *Nature Neuroscience*, 23(11), pp. 1339-1351. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-00718-z>

Coarelli G., et al. (2022) Safety and efficacy of riluzole in spinocerebellar ataxia type 2 in France (ATRIL): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial, *The Lancet. Neurology*, 21(3), pp. 225-233. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00457-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00457-9)

**Début du projet : 2011 | Durée : plus de 13 ans |  
Financement France 2030 : 72 M€**

#### Partenaires

Pasteur Institute | Neurospin-CEA IC-BRAINS | Cure-ND (UK-DRI, DZNE, Mission Lucidity) | Yale University (États-Unis) | Montreal Neurological Institute (Canada) | Columbia University (États-Unis) | Weizmann Institute (Israël) | Lukasiewicz PORT (Pologne)

#### Coordination

Alexis Brice – Institut du cerveau –  
[alexis.brice@icm-institute.org](mailto:alexis.brice@icm-institute.org)

<https://institutducerveau-icm.org/fr/presentation-de-ihu/>

## IEIHSEER

### L'encéphalite herpétique de l'enfant résulte de déficits héréditaires d'immunité contre l'HSV-1 : une exception ou une règle ?

#### Rappel des objectifs

The objective of this project is to test the hypothesis that childhood *Herpes simplex* encephalitis (HSE) is not only a viral disease, but also the more general consequence of a diverse collection of central nervous system (CNS)-intrinsic inborn errors of immunity to HSV-1 infection. We have previously described 13 patients, each carrying homozygous or heterozygous mutations of a TLR3 pathway gene (*UNC93B1*, *TLR3*, *TRIF*, *TRAF3* or *TBK1*). Children with HSE who do not carry mutations of those genes may carry inborn errors of other genes associated with a predisposition to HSE, due to the impairment of CNS-intrinsic immunity to HSV-1 infection, probably, but not necessarily, relating to the TLR3-IFN circuit.

#### Résultats majeurs

Thanks to this support from ANR, we have made important progress in our studies of human genetic and immunological basis of HSE pathogenesis, during the past years. More specifically, we have demonstrated: 1) TLR3 pathway deficiencies underlie forebrain HSE in a high proportion of affected children; 2) autosomal recessive DBRI deficiency underlies brainstem HSE through a new, TLR3-independent mechanism; 3) heterozygous mutations in *SNORA31* impair anti-HSV-1 immunity in CNS neurons and underlie HSV1 encephalitis through a TLR3-independent mechanism; 4) other new genetic etiologies of HSE have been identified, the characterization of which is currently ongoing in our laboratory.

#### Production scientifique et valorisation

Zhang S. Y., Casanova J. L., (2015) Inborn errors underlying herpes simplex encephalitis: From TLR3 to IRF3, *The Journal of Experimental Medicine*, 212(9), pp. 1342-1343.  
<https://doi.org/10.1084/jem.2129insight4>

Zhang S. Y., et al. (2018) Inborn Errors of RNA Lariat Metabolism in Humans with Brainstem Viral Infection, *Cell*, 172(5), pp. 952-965.e18.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.019>

Lafaille F. G., et al. (2019) Human *SNORA31* variations impair cortical neuron-intrinsic immunity to HSV-1 and underlie herpes simplex encephalitis, *Nature Medicine*, 25(12), pp. 1873-1884.  
<https://doi.org/10.1038/s41591-019-0672-3>

Gao D., et al. (2021) TLR3 controls constitutive IFN- $\beta$  antiviral immunity in human fibroblasts and cortical neurons, *The Journal of Clinical Investigation*, 131(1), e134529.  
<https://doi.org/10.1172/JCI134529>

Zhang P., et al. (2021) A computational approach for detecting physiological homogeneity in the midst of genetic heterogeneity, *American Journal of Human Genetics*, 108(6), pp. 1012-1025.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2021.04.023>

**Début du projet : janvier 2015 | Durée : 57 mois |  
Financement ANR : 468 000 €**

#### Partenaires

Human Evolutionary Genetics Laboratory (HEG),  
CNRS URA 3012, Institut Pasteur

#### Coordination

Shen-Ying Zhang – UMR 1163 Inserm, Institut Imagine –  
shenyang.zhang@inserm.fr

## Immune-Rep

### Conséquences des défauts de réparation de l'ADN et du maintien des télomères sur le fonctionnement du système immunitaire : application aux DICV et aux déficits immunitaires avec syndromes dysmorphiques

#### Rappel des objectifs

Le système immunitaire est un organe privilégié pour l'étude de la réponse aux dommages de l'ADN (DDR), car il est le siège d'une plasticité génétique importante dans le cadre de son programme de développement et de maturation. De nombreuses modifications de l'ADN sont en effet introduites dans le génome des lymphocytes B et T. Cette dynamique du génome s'accompagne de mécanismes de réparation de l'ADN très efficaces. Des mutations dans certains des facteurs de réparation de l'ADN sont connues pour avoir des conséquences dramatiques pour le système immunitaire, ce qui entraîne une immunodéficience combinée sévère (SCID) chez l'humain. Dans le projet ImmuneRep, nous avons souhaité élargir nos études sur les conséquences des défauts de réparation de l'ADN à diverses populations de patients : déficit immunitaire commun variable (CVID) ou déficit immunitaire combiné tardif (LOCID) ; syndromes malformatifs ; patients présentant une toxicité élevée aux traitements anticancéreux.

#### Résultats majeurs

On peut citer le développement du biomarqueur PROMIDISa qui, à partir de l'étude du répertoire des lymphocytes T périphériques, permet d'identifier des patients porteurs d'anomalies de développement du système immunitaire et/ou défaut de réparation de l'ADN. L'analyse, en immunofluorescence, des lymphocytes exprimant le TCR-Va7.2 est maintenant utilisée en routine au Centre d'étude des déficits immunitaires (CEDI, Hôpital Necker) et au Département d'immunologie clinique (hôpital Saint-Louis). Il s'est avéré que tous les patients avec niveau indétectable de Va7.2 sont porteurs de mutations dans les gènes *RAG1/RAG2/Artémis*. PROMIDISa est utilisé dans le cadre du diagnostic moléculaire de l'ataxie télangiectasie (AT, Institut Curie). Dans ce cas, l'existence d'une signature PROMIDISa particulière a permis de valider des variants de pathogénicité inconnue dans le gène *ATM*.

Le projet ImmuneRep a permis d'identifier des mutations dans des gènes connus (*CORO1A*, *RAG2*, *ERCC2*, *RAC2*, *DNA Ligase IV*, *SMAR-CAL1*, *STIM1*). Il a également permis l'identification d'un nouveau gène, *Hebo*, ainsi qu'une situation particulière de mutation *FANCG* dans l'anémie de Fanconi.

#### Production scientifique et valorisation

Fournier B., et al. (2022) Inborn errors of immunity caused by defects in the DNA damage response pathways: Importance of minimizing treatment-related genotoxicity, *Pediatric Allergy and Immunology: Official Publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*, 33(6), e13820. <https://doi.org/10.1111/pai.13820>

Fusaro M., et al. (2021) Improving the diagnostic efficiency of primary immunodeficiencies with targeted next-generation sequencing, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 147(2), pp. 734-737. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.05.046>

Berland A., et al. (2019) PROMIDISa: A T-cell receptor  $\alpha$  signature associated with immunodeficiencies caused by V(D)J recombination defects, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 143(1), pp. 325-334.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.05.028>

Lesport E., et al. (2018) Reduced recruitment of 53BP1 during interstrand crosslink repair is associated with genetically inherited attenuation of mitomycin C sensitivity in a family with Fanconi anemia, *Oncotarget*, 9(3), pp. 3779-3793. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23375>

Zhang S., et al. (2016) A nonsense mutation in the DNA repair factor Hebo causes mild bone marrow failure and microcephaly, *Journal of Experimental Medicine*, 213(6), pp. 1011-1028. <https://doi.org/10.1084/jem.20151183>

Le dosage des lymphocytes T exprimant le TCR-Va7 et le test PROMIDISa sont maintenant utilisés en routine au Centre d'étude des déficits immunitaires (Necker) et au Département d'immunologie clinique (Saint-Louis) dans l'immunophénotypage des patients. Ce test permet d'orienter vers un séquençage direct de gènes candidats, plutôt que l'utilisation du séquençage de l'exome ou de panel ciblés.

**Début du projet : janvier 2014 | Durée : 46 mois |  
Financement ANR : 257 629 €**

#### Partenaires

Laboratoire Dynamique du génome dans le système immunitaire, Institut Imagine | Service hématologie et rhumatologie pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants malades | Département d'immunologie clinique, Hôpital Saint-Louis

#### Coordination

Jean Pierre de Villartay – UMR 1161 Inserm, Institut Imagine – [Jean-Pierre.de-villartay@inserm.fr](mailto:Jean-Pierre.de-villartay@inserm.fr)  
<https://www.institutimagine.org/fr/DGSIMRH>

## IRIS

### La thérapie génique des maladies héréditaires monogéniques du système immunitaire

#### Rappel des objectifs

Ce projet vise à conforter la place de la thérapie génique (TG) dans l'arsenal thérapeutique des déficits immunitaires héréditaires (DIH) et à proposer un traitement curatif pour les patients qui ne peuvent pas avoir recours au traitement curatif de référence, la greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques, capables de générer l'ensemble des cellules sanguines indispensable au bon fonctionnement du système immunitaire. Les DIH sont dues à une mutation dans un gène spécifique, indispensable au bon fonctionnement de ce système immunitaire. Pour corriger ce défaut, la greffe de moelle osseuse peut être envisagée, mais elle nécessite la présence d'un donneur compatible, ce qui limite son utilisation.

L'approche proposée dans le cadre du projet IRIS est de développer des produits de TG basés sur l'autogreffe de cellules génétiquement modifiées. L'autogreffe consiste à prélever les cellules sanguines du patient portant la mutation, les modifier en laboratoire afin d'y introduire une copie fonctionnelle du gène défectueux, pour ensuite réinjecter les cellules chez le patient. Les deux DIH ciblés par cette approche sont : la lymphohistiocytose hémophagocytaire familiale de type 3 (FHL3), et le syndrome d'immunodérégulation, poly-endocrinopathie, entéropathie auto-immune liée au chromosome X (syndrome IPEX). Cette approche devrait permettre de pallier l'absence de donneur compatible et de répondre ainsi aux attentes des patients.

L'accessibilité de la TG est souvent remise en cause, du fait notamment du prix élevé des traitements pouvant atteindre plus de 1,5 million d'euros sur le marché. Un des enjeux du projet IRIS est aussi de réduire les coûts de la TG afin de faciliter une prise en charge par le système de santé. Les études médico-économiques qui seront menées dans ce projet permettront de définir un ratio coût/bénéfice/efficacité par rapport à l'ensemble des coûts sociétaux et économiques des traitements prodigués en l'absence de donneur compatible.

#### Résultats majeurs

FHL3 est un déficit immunitaire primaire causé par la mutation du gène UNCL3D et caractérisé par un syndrome d'activation macrophagique débutant généralement dans les premiers mois de vie. Une TG basée sur l'autogreffe de cellules médullaires génétiquement corrigées est en cours de développement. Des lots de vecteurs lentiviraux compatibles avec une utilisation clinique ont été produits par notre partenaire industriel. Le groupe de recherche translationnelle du CIC-BT a débuté les études précliniques en validant tout d'abord ces lots *in vitro* afin de vérifier que leur utilisation n'était pas toxique pour les cellules. Ensuite, nous avons étudié leur efficacité en mettant en place des tests fonctionnels quantitatifs et qualitatifs. Le développement et l'optimisation du protocole de transduction s'est également achevé en 2022. Les études de biodistribution/génotoxicité *in vivo* sont en cours et les résultats attendus pour 2023. L'ensemble de ce travail nous permettra de compléter le dossier réglementaire et de lancer un essai clinique en 2024.

Le syndrome IPEX est causé par des mutations du gène FOXP3 qui entraînent la perte de fonction des cellules T régulatrices (Tregs) et le développement de manifestations auto-immunes au début de la vie. L'induction sélective d'un programme Treg dans les cellules T CD4<sup>+</sup> autologues par transfert de gène FOXP3 est une approche prometteuse pour guérir les maladies auto-immunes. Nous avons mis en place un nouveau test *in vivo* de la fonctionnalité des Tregs, basé sur le transfert adoptif de ces cellules dans des souris scurfy (modèle animal de l'IPEX) et une combinaison de conditionnement au cyclophosphamide et de traitement à l'interleukine-2.

En utilisant ce modèle *in vivo* et un vecteur lentiviral optimisé exprimant Foxp3 humain et, comme rapporteur, une forme tronquée du récepteur de faible affinité du facteur de croissance des nerfs (DLNGFR), nous avons démontré que le transfert adoptif de cellules T CD4<sup>+</sup> de souris scurfy transduites par FOXP3 permettait la rémission à long terme de la maladie auto-immune dans ce modèle. L'efficacité était similaire à celle observée avec des Tregs de type sauvage. Après expansion *in vivo*, les cellules CD4<sup>+</sup>FOXP3 converties ont reproduit la signature transcriptomique fondamentale des Tregs. Ces résultats démontrent que l'expression de FOXP3 convertit les cellules T CD4<sup>+</sup> en Tregs fonctionnels capables de contrôler la maladie et donc la faisabilité d'une approche de thérapie génique basée sur les cellules lymphoïdes T chez les patients IPEX actuellement en cours de développement préclinique.

Ce projet a également permis de développer des tests analytiques standardisés dans le cas des tests d'insertion génomique des vecteurs. Nous avons mis ainsi au point un matériel cellulaire de référence pour l'étalonnage ou la qualification des méthodes analytiques quantifiant le nombre de copies de vecteurs dans les cellules ou les sites d'intégration génomique des vecteurs lentiviraux.

#### Production scientifique et valorisation

Delville M., et al. (2021) A combination of cyclophosphamide and interleukin-2 allows CD4<sup>+</sup> T cells converted to Tregs to control scurfy syndrome, *Blood*, 137(17), pp. 2326-2336.  
<https://doi.org/10.1182/blood.2020009187>

Corre G., et al. (2022) Lentiviral standards to determine the sensitivity of assays that quantify lentiviral vector copy numbers and genomic insertion sites in cells, *Gene Therapy*, 29(9), pp. 536-543.  
<https://doi.org/10.1038/s41434-022-00315-8>

**Début du projet : novembre 2019 | Durée : 72 mois |  
Financement France 2030 : 7 000 000 €**

#### Partenaires

Assistance Publique – Hôpitaux de Paris | Institut Imagine |  
Inserm | Flash Therapeutics | Institut clinique de la souris  
(ICS)

#### Coordination

Marina CAVAZZANA – Département de biothérapie,  
Hôpital Necker-Enfants malades ; CIC Biothérapie, Inserm,  
AP-HP – m.cavazzana@aphp.fr



## LIFESENCES

### Des sens pour la vie

RHU | 2015

## LIGHT4DEAF

### ÉCLAIRER LA SURDITÉ : UNE APPROCHE HOLISTIQUE DU SYNDROME D'USHER

IHU | 2018

## FOReSIGHT

### PRÉVISION – Permettre la Restauration de la VISION

#### Rappel des objectifs

Les déficits sensoriels en général, et la malvoyance en particulier, affectent plusieurs millions de personnes. Des progrès majeurs sont attendus dans les domaines du diagnostic, de la prévention, de la médecine régénérative et des prothèses. Atteindre ces objectifs implique la coopération de médecins, scientifiques, ingénieurs et industriels, pour définir et mettre en œuvre des stratégies innovantes, et promouvoir l'évaluation et la mise à disposition de tous des soins optimaux, au meilleur coût. Les projets LIFESENCES, LIGHT4DEAF et maintenant FOReSIGHT s'inscrivent dans un continuum (2011-2028) ayant permis un changement d'échelle pour entrer dans un cercle vertueux auto-entretenu de croissance et d'accélération, porteur d'innovations validées publiques et privées, diagnostiques, thérapeutiques et palliatives.

Le projet LabEx LIFESENCES (2011-2019) prolonge et amplifie l'effort conjoint considérable d'institutions de premier plan qui ont créé un environnement translationnel intégré pour franchir les principaux obstacles dans la lutte contre le déficit sensoriel.

La création de ce LabEx a représenté une opportunité unique de le positionner comme un leader mondial grâce 1) à l'efficacité de la gouvernance et des équipes et en facilitant leur coopération ; 2) à la fertilisation croisée des recherches en audition et vision ; 3) au développement de systèmes d'imagerie à haute résolution de micro-électronique et de microfluidique ; 4) au développement de nouveaux marqueurs et de schémas innovants d'essais cliniques ; 5) à l'évaluation de l'impact de la médecine fondée sur les preuves en pratique ; 6) à l'attraction de chercheurs reconnus internationalement ; et 7) à l'intensification des collaborations internationales avec les meilleures institutions.

LIGHT4DEAF (2015-2021), projet ambitieux, vise à lutter contre le syndrome d'Usher (USH), la forme la plus commune de surdi-cécité, souvent associée à un déficit vestibulaire. Cette initiative mobilise une équipe multidisciplinaire de scientifiques, cliniciens et experts en sciences humaines dans un effort commun visant à répondre aux besoins cliniques non satisfaits des patients USH.

Dans la suite logique du projet LIFESENCES, FOReSIGHT (2019-2028) a pour but de transformer deux structures connexes, le Centre hospitalier national d'ophtalmologie et l'Institut de la vision, en un pôle intégré de soins dont la stratégie, centrée sur le patient et intégrant une dimension socio-économique, devrait accélérer le transfert clinique des progrès de recherches précliniques et technologiques. Il s'agira d'étudier les mécanismes de perception visuelle de la rétine au cortex, et notamment la plasticité cérébrale dans le cadre de la restauration visuelle, de caractériser le vieillissement et les processus

pathologiques du système visuel pour prévenir la perte de vision, et enfin de développer et valider de nouvelles approches thérapeutiques en médecine régénérative et prothétique.

#### Résultats majeurs

##### LIFESENCES – FOReSIGHT

Il faut aborder ces deux projets comme faisant partie d'un continuum. Grâce à eux, plus de 60 projets scientifiques et cliniques translationnels multidisciplinaires ont été financés. Ils ont aussi permis d'établir et de conduire des projets structurants à long terme sur des études physiopathologiques de la surdité, la structuration et l'étude de cohortes de patients souffrant de dystrophies rétinienne héréditaires, et d'évaluer, entre autres, l'impact du handicap visuel sur la plasticité cérébrale. Ces projets ont permis d'attirer et de recruter de jeunes chefs d'équipes, ainsi que des chercheurs confirmés, dans des domaines non couverts encore dans la structure (photonique, mathématiques, psychophysique, etc.), permettant de renforcer la transdisciplinarité de la structure.

Il est à noter que les résultats obtenus dans le cadre de ces deux projets ont permis d'obtenir des premières mondiales et de lancer les premiers essais cliniques en thérapie génique (LUMEVOQ, pour la neuropathie optique de Leber), optogénétique (GS30, pour la rétinopathie pigmentaire) et cellulaire (conception d'un patch de cellules pigmentées de la rétine à partir de cellules souches pluripotentes pour le traitement de la rétinopathie pigmentaire).

##### LIGHT4DEAF

De nouveaux outils de diagnostic ont pu être développés : 1) un test moléculaire hautement résolutive et fiable ; 2) de nouveaux tests auditifs développés sur la souris et transposables chez l'humain ; et 3) un système d'imagerie multifonctionnel à haute résolution, contribuant à l'établissement d'un catalogue de phénotypes de la pathologie des photorécepteurs. Au travers de modèles cellulaires et chez l'animal, nous avons élucidé les mécanismes pathologiques à l'origine des atteintes sensorielles (audition, équilibre et vision) pour les trois formes du syndrome. Des approches thérapeutiques gène-dépendantes et gène-indépendantes ont été initiées pour évaluer et valider leur potentiel de prévention/correction des atteintes sensorielles avec plusieurs résultats concluants (facteur antioxydant, optogénétique). Nous avons caractérisé les rôles de plusieurs protéines USH dans le cerveau, en montrant notamment leurs implications dans le développement de neurones inhibiteurs du cortex auditif. Ces résultats devraient permettre le développement de réhabilitations auditives plus innovantes.

L'enquête sociologique a porté sur les parcours de vie, les constructions identitaires de personnes USH, leurs attentes en matière de soins et d'informations médicales, et les difficultés et solutions possibles qu'elles ont identifiées pour garantir leur autonomie et leurs droits. Des actions de communication ont été entreprises. L'objectif, au travers de ces différentes actions de communication, étant de permettre aux patients, aux professionnels et au grand public d'avoir accès à des informations vérifiées et à jour sur la maladie, la recherche, la vie au quotidien et la prise en charge médicale tout au long du projet.

### Production scientifique et valorisation

Depuis 2011 et jusqu'à aujourd'hui, plus de 1 400 articles scientifiques et cliniques ont été publiés dans le périmètre des projets LIFESENCES, LIGHT4DEAF et FOReSIGHT.

La collaboration avec Gensight Biologics a permis d'apporter l'optogénétique en clinique. L'essai clinique est en cours pour restaurer la vision sur des patients atteints de rétinite pigmentaire. Un premier article dans *Nature Medicine*, paru en 2021, rapporte cette première mondiale en décrivant les performances visuelles d'un patient aveugle.

Les innovations issues des équipes de recherche sont systématiquement protégées. Cette politique se traduit par une moyenne de huit dépôts de brevets par an. Actuellement, 90 familles de brevets sont actives.

Depuis le lancement du projet LIFESENCES, huit spin-offs ont été créées :

Pixium Vision (2012 – Euronext, PIX, FR0011950641) est spécialisé dans le développement d'implants rétinien électroniques. Les produits sont destinés aux personnes ayant perdu la vue suite à des troubles dégénératifs de l'œil, tels que la rétinite pigmentaire.

Gensight Biologics (2012 – Euronext, SIGHT, FR0013183985) développe des thérapies géniques pour des maladies de l'œil (neuropathie optique de Leber et rétinite pigmentaire).

Prophesee (2015) développe et commercialise une caméra neuro-morphique imitant l'œil et le cerveau humain.

Chronolife (2016) met à la disposition des professionnels de santé un suivi continu et multiparamétrique des patients et personnes à risque, afin de faciliter les interventions précoces et garantir un continuum de soins entre l'hôpital et le domicile.

Tilak Healthcare (2016) crée des jeux mobiles médicaux ludiques destinés au suivi des patients atteints de maladies chroniques.

GrAI Matter labs (2016) a créé le premier Edge processeur d'IA au monde qui exploite des architectures bio-inspirées pour atteindre des temps de latences ultra-faibles, tout en gardant une très faible consommation d'énergie pour des applications de vision industrielle et d'analyse de données venant de différents capteurs.

Sparing Vision (2016) exploite le potentiel de la thérapie génique et de la modification du génome pour apporter une innovation de pointe dans la découverte et le développement de médicaments contre les maladies oculaires.

Sharpeye (2020) développe un appareil d'imagerie optique de l'œil appelé Cell-OCT. L'objectif de cet instrument est d'offrir aux ophtalmologistes de multiples spécificités et fonctionnalités facilement accessible à partir d'un seul instrument : tomographie grand champ et basse résolution avec l'accès simultané à la haute résolution, tomographie de la rétine et de la cornée, quantification des écoulements sanguins, vitesse, etc.

Gamut Therapeutics (2020) vise à développer des thérapies de médecine régénérative (thérapie génique et/ou cellulaire) avec l'objectif de redonner une sensibilité à la lumière aux rétines de patients atteints de maladies cécitantes à des stades avancés.

#### LIFESENCES

**Début du projet : avril 2011 |**

**Durée : 8,5 ans | Financement France 2030 : 22 000 000 €**

#### Partenaires

Fondation Voir et Entendre | Centre hospitalier national d'ophtalmologie des Quinze-Vingts | Sorbonne Université | Institut Pasteur

#### LIGHT4DEAF

**Début du projet : novembre 2015 |**

**Durée : 6 ans | Financement France 2030 : 9 500 000 €**

#### Partenaires

Fondation Voir et Entendre | Centre hospitalier national d'ophtalmologie des Quinze-Vingts | Sorbonne Université | Institut Pasteur | GENLIGHT-BIOLOGICS | AP-HP | Fondation Maison des sciences de l'Homme | Fondation agir pour l'audition | Université de Clermont-Auvergne | Office National d'études et de recherches aérospatiales (ONERA) | Inserm | Université Paris-Cité

#### FOReSIGHT

**Début du projet : janvier 2019 |**

**Durée : 9,5 ans | Financement France 2030 : 50 000 000 €**

#### Partenaires

Fondation Voir et Entendre | Centre hospitalier national d'ophtalmologie des Quinze-Vingts | Sorbonne Université | AP-HP | Inserm | CEA Paris | Fondation ophtalmologique Adolphe de Rothschild

#### Coordination

José-Alain Sahel – Fondation Voir et Entendre – [j.sahel@gmail.com](mailto:j.sahel@gmail.com)  
<https://www.ihu-france.org/fr/ihu-foresight/>

## MECANO

### Mécanismes des encéphalites auto-immunes

RHU | 2018



## BETPSY

### Biomarqueurs des encéphalites auto-immunes et des syndromes neurologiques paranéoplasiques

#### Rappel des objectifs

Les encéphalites auto-immunes (EA) et les syndromes neurologiques paranéoplasiques (SNP) sont des maladies neuro-immunes rares pour lesquelles il existe un large panel de présentations cliniques, rendant le diagnostic particulièrement difficile.

Bien que rare, le diagnostic de ces maladies est essentiel car les patients peuvent être guéris par une immunothérapie appropriée. Sans traitement, les décès sont fréquents.

Ces syndromes sont caractérisés par la présence dans le sérum et le liquide céphalorachidien d'auto-anticorps spécifiques et qui peuvent servir de biomarqueurs de la maladie. Cependant, dans plusieurs cas hautement suspects d'EA ou de SNP, aucun auto-anticorps spécifique n'a, pour l'instant, été identifié, menant souvent à une prise en charge inappropriée. De plus, les mécanismes exacts de ces maladies restant inconnus, les traitements actuels ne sont pas optimaux, voire dans certains cas inefficaces. Dans certains cas, des processus immunitaires délétères sont déclenchés par la présence d'une tumeur. On parle alors de SNP.

Le projet MECANO réunissait une équipe clinique lyonnaise de neurologie labellisée Centre maladies rares et spécialisée dans la prise en charge des EA, et trois équipes de neurobiologie spécialisées dans l'étude des mécanismes moléculaires de la fonction neuronale et disposant d'outils de pointe pour étudier l'effet des auto-anticorps sur le neurone (Lyon, Paris, Bordeaux). Notre premier objectif était de caractériser leurs rôles pathologiques spécifiques et décrypter les effets aigus et chroniques du NMDAR-Abs sur les propriétés biophysiques et structurelles du récepteur NMDA, la plasticité synaptique, la morphologie neuronale et les performances cognitives. Ce projet devait fournir des informations clés sur les effets des auto-anticorps des patients sur la dynamique cellulaire et la régulation des protéines ou des récepteurs synaptiques et sur les cascades moléculaires activées au cours du dysfonctionnement de la synapse. Nous devions étudier comment la liaison des auto-anticorps était susceptible de modifier l'activité des récepteurs, modifier la mobilité des récepteurs de surface et réguler de manière dynamique la maturation des synapses et des circuits neuronaux. À cette fin, nous souhaitions utiliser une combinaison unique d'imagerie à haute résolution (suivi d'une seule nanoparticule), d'ingénierie des récepteurs, d'électrophysiologie cellulaire, d'approches informatiques (modélisation structurale) et de biologie cellulaire et moléculaire et, enfin, de tests de comportement.

Le projet BETPSY a pour objectif d'identifier de nouveaux biomarqueurs sériques et génétiques dans les EA et SNP afin de produire des outils de diagnostic et créer de nouvelles stratégies pour l'étude des mécanismes de ces maladies. BETPSY consiste également en la conception de modèles animaux, qui permettront d'identifier de nouvelles stratégies thérapeutiques et de comprendre les mécanismes pathophysiologiques de ces maladies neuro-immunes.

#### Résultats majeurs

Le projet MECANO a permis l'identification de trois nouveaux biomarqueurs des encéphalites auto-immunes et de préciser les caractères cliniques des patients. Un brevet est déjà accepté (TRIM 9, TRIM67) et est en cours de négociation avec un industriel et un autre brevet est en cours de rédaction. 18 articles scientifiques ont été publiés. Le projet nous a permis de mieux comprendre l'hétérogénéité des patients et le rôle différent que pouvaient avoir les auto-anticorps en fonction de la cible reconnue. Nous avons pu montrer l'effet des auto-anticorps anti-CASPR2 sur les interactions protéines/protéines.

Le projet BETPSY a permis de doubler le nombre total d'échantillons biologiques collectés par an au sein du centre de référence (185 en 2018 contre 358 en 2021) dont la base de données compte actuellement 4 050 patients.

Notre collaboration avec l'entreprise Euroimmun a permis d'améliorer la spécificité et la sensibilité de certains tests de diagnostic commerciaux en diminuant la proportion de faux positifs, permettant ainsi de meilleurs résultats diagnostiques (certains tests commerciaux avaient 93% de faux positifs). L'utilisation de nos cohortes a abouti à une meilleure caractérisation clinique de certains groupes de patients atteints d'EA ou de SNP associés à des auto-anticorps nouvellement décrits dont les résultats ont été publiés dans des journaux internationaux. Suite à nos travaux publiés sur la caractérisation des carcinomes ovariens associés à un SNP, nous avons étudié les altérations génétiques conduisant à la rupture de la tolérance immunitaire des tumeurs du sein et du poumon à petites cellules associées à un SNP. Ces travaux ont démontré que les mécanismes de dégradation immunitaire varient en fonction de la tumeur et des auto-anticorps associés.

L'utilisation de modèles animaux pour décrypter le rôle des cellules B et T et identifier les antigènes capables de dégrader le système immunitaire progresse malgré l'impact de la Covid-19.

La qualité de ce travail conduit à la multiplication des invitations pour des communications orales à des congrès internationaux et au développement de nouvelles collaborations internationales (Mayo-Clinic, UCSF, Stanford, Oxford University, etc.), ainsi que l'obtention récente d'une bourse européenne pour le projet SAPIENCE.

#### Production scientifique et valorisation

##### MECANO

Le projet MECANO a été un succès sur l'aspect clinique et translationnel avec la production de 18 articles scientifiques (la plupart dans des revues scientifiques d'*impact factor* supérieur à 10), quatre articles de revues et un commentaire d'article, un dépôt de brevet (PCT/EP2019/061280) et le démarrage des interactions avec des industriels qui ont conduit au succès à l'appel d'offre RHU4 pour le projet BETPSY.

L'impact est majeur car nous avons développé trois nouveaux biomarqueurs qui sont maintenant utilisés en clinique et un quatrième devrait voir le jour prochainement.

De plus, le projet MECANO nous a permis d'augmenter notre expertise et développer des modèles animaux et cellulaires qui sont maintenant parfaitement maîtrisés et qui nous ont permis d'obtenir le projet BETPSY.

### BETPSY

Les deux premières années du projet BETPSY ont été très productives avec une vingtaine d'articles scientifiques et une quinzaine de revues publiées dans des journaux internationaux de haut rang et un dépôt de brevet concernant la découverte d'un nouvel anticorps (PCT/EP2021/075239 : Anti-argonaute protein autoantibodies as biomarkers of autoimmune neurological diseases).

Nous avons élargi le réseau français de collecte d'échantillons biologiques et de données cliniques de patients atteints d'EA et de SNP, ce qui nous a permis de construire la plus grande collection mondiale d'échantillons dont la collection de blocs tumoraux (plus de 200 tumeurs fixées) et d'ADN.

Grâce au projet BETPSY, nous avons pu développer une première version de la nouvelle base de données en lien avec la base des Hospices civils de Lyon qui reprend les données des 4 050 patients. Nous avons décrit de nouveaux syndromes cliniques et nous comprenons mieux les facteurs génétiques associés à ces maladies.

### Publications

Muñiz-Castrillo S., *et al.* (2021) Distinctive clinical presentation and pathogenic specificities of anti-AK5 encephalitis, *Brain: a Journal of Neurology*, 144(9), pp. 2709-2721.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awab153>

Muñiz-Castrillo S., *et al.* (2020) Anti-CASPR2 clinical phenotypes correlate with HLA and immunological features, *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 91(10), pp. 1076-1084.  
<https://doi.org/10.1136/jnnp-2020-323226>

Vogrig A., *et al.* (2020). Central nervous system complications associated with immune checkpoint inhibitors, *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 91(7), pp. 772-778.  
<https://doi.org/10.1136/jnnp-2020-323055>

Saint-Martin M., *et al.* (2019) Impact of anti-CASPR2 autoantibodies from patients with autoimmune encephalitis on CASPR2/TAG-1 interaction and Kv1 expression, *Journal of Autoimmunity*, 103, p. 102284.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaut.2019.05.012>

Joubert B., *et al.* (2016) Characterization of a Subtype of Autoimmune Encephalitis With Anti-Contactin-Associated Protein-like 2 Antibodies in the Cerebrospinal Fluid, Prominent Limbic Symptoms, and Seizures, *JAMA Neurology*, 73(9), pp. 1115-1124.  
<https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.1585>

#### MECANO

Début du projet : décembre 2014 |

Durée : 60 mois |

Financement ANR : 561 138 €

#### Partenaires

Hospices civils de Lyon | Institut de biologie de l'École normale supérieure (IBENS) | Institut interdisciplinaire des neurosciences de Bordeaux

#### BETPSY

Début du projet : décembre 2019 |

Durée : 60 mois | Financement

France 2030 : 7 381 509 €

#### Partenaires

Hospices civils de Lyon | Université Claude Bernard Lyon | Euroimmun | Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM) | Inserm, Délégation régionale Occitanie-Pyrénées | Centre Léon Bérard, Lyon

#### Coordination

Jérôme Honnorat – CHU de Lyon –  
[jerome.honnorat@chu-lyon.fr](mailto:jerome.honnorat@chu-lyon.fr)

## MicroKin

### Deciphering the multifaceted pathways underlying MCPH pathogenesis in the mouse and human

#### Rappel des objectifs

Les microcéphalies, associées à une diminution de la taille du cerveau d'au moins trois déviations standard, entraînent des retards mentaux plus ou moins sévères et affectent 2% de la population globale. Elles partagent diverses origines : syndromique ou non syndromique, génétique ou environnementale (exposition à des virus, drogues ou alcool). Quelle que soit leur origine, les microcéphalies résultent principalement d'un déficit de production de neuroprogéniteurs et, par conséquent, de neurones dans le néocortex. Les mécanismes sous-jacents à ces déficits étant partiellement identifiés, le projet MicroKin visait à en élargir le spectre et à mieux comprendre l'étiologie de ces maladies du développement cérébral. Bénéficiant d'expertises complémentaires, notre projet a tiré parti de MCPH (microcéphalies génétiques congénitales non syndromiques) pour mettre au jour de nouveaux mécanismes qui régulent l'homéostasie des progéniteurs au cours de la néocortico-genèse, et comprendre comment leur altération peut conduire à des microcéphalies. La caractérisation d'interactions fonctionnelles entre certaines protéines MCPH recrutées au centrosome et des kinases régulatrices du cycle cellulaire, et l'identification de nouveaux facteurs moléculaires impliqués dans les déficits de production de progéniteurs, y compris en rapport avec le métabolisme cellulaire, ont effectivement ouvert de nouvelles voies vers la compréhension des réseaux fonctionnels influençant la croissance néocorticale.

#### Résultats majeurs

Nos analyses transcriptomiques et fonctionnelles ont identifié de nouveaux facteurs impliqués dans le contrôle de la prolifération des progéniteurs néocorticaux, en rapport avec la matrice extracellulaire, tel que *Plekha7*, ou bien exprimés spécifiquement chez l'humain, tels que *NOTCH2-NL* et *ARHGAP-11B*. De plus, nous avons montré que les protéines MCPH *CDK5RAP2/CEP135* et les kinases du cycle cellulaire *PLK1/AURORA A* favorisent respectivement des divisions cellulaires symétriques et asymétriques en contrôlant le mode de duplication du centrosome et influencent ainsi différemment l'homéostasie des neuroprogéniteurs. De manière inattendue, nous avons révélé que des voies du métabolisme cellulaire, en particulier la glutaminolyse, favorisent la prolifération et la survie des progéniteurs néocorticaux. Notamment, les protéines *ARHGAP11B* et *MCPH1* localisées à la mitochondrie activent l'activité mitochondriale en stimulant la glutaminolyse et en contrôlant l'homéostasie du calcium mitochondrial. Ces résultats ont ouvert de nouvelles perspectives d'études sur l'implication de déficits métaboliques ou de mutations de gènes du métabolisme sur l'incidence de microcéphalies. Dans ce sens, un nouveau projet ERA-NET Neuron, MEPIcephaly, a été financé à partir de 2022 pour étudier, dans des organoïdes humains orientés vers une différenciation néocorticale, comment le dysfonctionnement de voies métaboliques impacte la prolifération et les régulations épigénétiques au sein des neuroprogéniteurs.

#### Production scientifique et valorisation

Suzuki I K., *et al.* (2018) Human-Specific NOTCH2NL Genes Expand Cortical Neurogenesis through Delta/Notch Regulation, *Cell*, 173(6), pp. 13701384.e16.

<https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.067>

Tavano S., *et al.* (2018) *Insm1* Induces Neural Progenitor Delamination in Developing Neocortex via Downregulation of the Adherens Junction Belt-Specific Protein *Plekha7*, *Neuron*, 97(6), pp. 1299-1314.e8.

<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.01.052>

Namba T., *et al.* (2020) Human-Specific *ARHGAP11B* Acts in Mitochondria to Expand Neocortical Progenitors by Glutaminolysis, *Neuron*, 105(5), pp. 867-881.e9.

<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.11.027>

Journiac N., *et al.* (2020) Cell Metabolic Alterations due to *McpH1* Mutation in Microcephaly, *Cell Reports*, 31(2), p. 107506.

<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.03.070>

González-Martínez J., *et al.* (2022) Genetic interaction between *PLK1* and downstream MCPH proteins in the control of centrosome asymmetry and cell fate during neural progenitor division, *Cell Death & Differentiation*, 29(8), Art. 8.

<https://doi.org/10.1038/s41418-022-00937-w>

**Début du projet : avril 2016 | Durée : 36 mois |  
Financement ANR : 234 572 €**

#### Partenaires

Inserm | Université Paris-Cité | Université libre de Bruxelles (Belgique) | Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid (Espagne) | Max-Planck-Institut (MPI), Dresde (Allemagne)

#### Coordination

Pierre Gressens – U 1141 Inserm, Hôpital Robert Debré, Paris – [pierre.gressens@inserm.fr](mailto:pierre.gressens@inserm.fr) – <https://www.neurodiderot.com>

## MN Progress

### Dissection moléculaire des glomérulopathies extramembraneuses : vers un traitement et une surveillance personnalisés

#### Rappel des objectifs

L'objectif de ce projet était l'identification de nouveaux mécanismes génétiques et immunologiques associés à la maladie et à sa récurrence sur le greffon.

La glomérulopathie extramembraneuse (GEM) est la cause la plus fréquente de syndrome néphrotique (fuite massive d'albumine dans les urines) chez l'adulte. Elle résulte d'un conflit immunologique dans le glomérule rénal (le rein contient un à deux millions de ces structures filtrantes). Ce conflit induit l'activation d'une cascade de molécules qui forment le système du complément, principal effecteur de la protéinurie. Depuis l'identification récente de l'antigène PLA2R (récepteur de la phospholipase A2), cible du conflit immunologique présente sur le podocyte des glomérules, la GEM est considérée comme le prototype des maladies auto-immunes spécifiques d'organe. Bien qu'une rémission spontanée survienne dans environ 40% des cas, 30% des patients évolueront vers l'insuffisance rénale sévère malgré le traitement immunosuppresseur. Une récurrence sur le greffon est observée dans 40% des cas. Le traitement qui utilise des médicaments potentiellement toxiques ou coûteux reste controversé.

La clé d'une prise en charge personnalisée est l'identification des mécanismes pathogéniques et de biomarqueurs robustes, en plus des anticorps anti-PLA2R. Notre objectif est d'approfondir les mécanismes génétiques et immunologiques de la maladie afin de déterminer quels patients traiter, pendant combien de temps, à quel moment les retraiter, et quel est le meilleur donneur en cas de transplantation.

#### Résultats majeurs

La forme la plus fréquente étant liée à la production d'anticorps contre l'antigène PLA2R, nous avons séquencé le gène chez une centaine de patients. Nous n'avons pas trouvé de variants communs qui pourraient expliquer le développement d'une réponse auto-immune. Nos recherches génétiques se sont poursuivies dans une cohorte de malades ayant reçu un greffon rénal. Nous avons montré que la récurrence sur le greffon était associée à des variants génétiques du locus HLA-D du donneur, ce qui pourrait avoir un impact sur l'éviction des donneurs à risque. En collaboration avec l'équipe italienne de Giuseppe Remuzzi, nous avons montré la valeur pronostique péjorative d'un taux élevé d'anticorps anti-PLA2R au diagnostic et plus encore de leur persistance sous traitement immunosuppresseur, tandis que leur réapparition annonce le plus souvent une rechute. Enfin, nous avons réalisé le premier essai clinique randomisé utilisant un anti-CD20 dirigé contre les lymphocytes B, montrant l'efficacité de ce traitement comparé à un traitement symptomatique anti-protéinurique et confirmant que la rémission immunologique précède de plusieurs mois la rémission clinique. Ces résultats sont à l'origine d'un changement de paradigme dans la surveillance des patients et l'ajustement du traitement (revue dans *The Lancet*).

Nous avons également établi un nouvel algorithme pour le diagnostic des formes néonatales causées par une immunisation contre l'endopeptidase neutre.

#### Production scientifique et valorisation

Ces travaux ont été reconnus par des prix des Sociétés européenne et japonaise de néphrologie.

Dahan K., et al. (2017) Rituximab for Severe Membranous Nephropathy: A 6-Month Trial with Extended Follow-Up, *Journal of the American Society of Nephrology*, 28(1), pp. 348-358.

<https://doi.org/10.1681/ASN.2016040449>

Ruggenenti P., et al. (2015) Anti-Phospholipase A2 Receptor Antibody Titer Predicts Post-Rituximab Outcome of Membranous Nephropathy, *Journal of the American Society of Nephrology*, 26(10), pp. 2545-2558.

<https://doi.org/10.1681/ASN.2014070640>

Ronco P., et al. (2015) Pathophysiological advances in membranous nephropathy: Time for a shift in patient's care, *Lancet (London, England)*, 385(9981), pp. 1983-1992.

[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60731-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60731-0)

Debiec H., et al. (2014) Allo-immune membranous nephropathy and recombinant aryl sulfatase replacement therapy: A need for tolerance induction therapy, *Journal of the American Society of Nephrology*, 25(4), pp. 675-680.

<https://doi.org/10.1681/ASN.2013030290>

Coenen M. J. H., et al. (2013) Phospholipase A2 Receptor (PLA2R1) Sequence Variants in Idiopathic Membranous Nephropathy, *Journal of the American Society of Nephrology*, 24(4), pp. 677-683.

<https://doi.org/10.1681/ASN.2012070730>

**Début du projet : octobre 2012 | Durée : 36 mois |**

**Financement ANR : 327 600 €**

#### Partenaires

Division of Nephrology and Dialysis, Children's Hospital Bambino Gesù, Rome (Italie) | Mario Negri Institute, Bergamo (Italie) | Radboud UMC (Pays-Bas)

#### Coordination

Pierre Ronco et Hanna Debiec – UMR\_S 1155 Inserm, Sorbonne Université – pierreronco@yahoo.fr

## NeurATRIS

### Infrastructure de Recherche Translationnelle pour les Biothérapies en Neurosciences

#### Rappel des objectifs

Les maladies neurodégénératives (MND) représentent un enjeu médical et sociétal majeur. Faute de traitements curatifs et du fait du vieillissement de la population, la prévalence des troubles neurologiques ne cesse d'augmenter dans la population mondiale. C'est dans ce contexte que l'infrastructure de recherche nationale NeurATRIS a été créée en 2012, dans le but d'accélérer la transformation des découvertes issues de la recherche fondamentale en innovations médicales pour le traitement des maladies neurodégénératives et neurodéveloppementales.

Son objectif est de proposer un continuum d'expertises translationnelles allant des modèles cellulaires *in vitro* aux essais cliniques de phase 2 sur des patients atteints de pathologies cérébrales majeures, telles que les maladies d'Alzheimer et de Parkinson, la sclérose en plaques, certaines maladies neurodéveloppementales ou encore des pathologies neurologiques dites « rares », telles que la maladie de Huntington (MH) ou la sclérose latérale amyotrophique (SLA). Organisée en réseau à guichet unique, NeurATRIS coordonne les activités et le développement technologique au service des communautés scientifiques et industrielles, en simplifiant l'accès et l'utilisation d'installations de haut niveau. Elle favorise également la participation des acteurs français aux initiatives européennes grâce à son appartenance à l'infrastructure européenne de médecine translationnelle EATRIS-ERIC.

NeurATRIS est une infrastructure distribuée qui regroupe sept hôpitaux et instituts de recherche publics et dont l'expertise et les compétences en neuro-imagerie, pharmacologie et biothérapies sont complémentaires et reconnues au niveau international. Cette synergie, renforcée par une localisation essentiellement en Île-de-France à l'exception d'une composante nantaise, répond pleinement aux besoins de découverte, de caractérisation et de validation de nouvelles cibles thérapeutiques, ainsi qu'à celui de l'identification et de la validation de nouveaux biomarqueurs. Elle permet également d'établir des collaborations avec des partenaires universitaires et privés en mettant à disposition de ceux-ci des services de pointe reposant sur un ensemble d'expertises technologiques, scientifiques, méthodologiques et stratégiques indispensables dans la chaîne de valeur des activités de recherche translationnelle en neurosciences.

NeurATRIS œuvre ainsi à identifier les obstacles scientifiques et techniques rencontrés en recherche translationnelle et tente de développer les méthodes permettant de les surmonter. Un de ses principaux objectifs est de renforcer l'innovation en recherche translationnelle par la mise en œuvre de quatre axes de recherche ou *work packages* spécifiques décrits ci-dessous.

#### Résultats majeurs

**Thérapie cellulaire.** L'essai clinique MIG-HD a permis de démontrer la faisabilité et l'efficacité thérapeutique potentielle, mais aussi les limitations d'une transplantation intracérébrale de neurones fœtaux chez des patients atteints de MH (Bachoud-Lévi *et al.*, 2020). Afin de préparer le remplacement des neurones fœtaux humains par des cellules iPS humaines, une étude menée chez le singe modèle de la MH a, quant à elle, montré qu'une compatibilité immunologique parfaite (autogreffe ou allogreffe) ne permet pas de s'affranchir à long terme des traitements immunosuppresseurs permettant de garantir la survie des cellules greffées (Aron Badin *et al.*, 2019). Nous avons également contribué au développement d'une méthode de conversion des fibroblastes humains en oligodendrocytes myélinisants, une perspective thérapeutique intéressante pour la SLA (Chanoumidou *et al.*, 2021).

**Thérapie génique.** Grâce à un nouveau vecteur capable de cibler les oligodendrocytes, le nœud Bicêtre a fourni une preuve de concept robuste chez le primate permettant d'envisager des applications de thérapie génique contre l'adrénomyélonopathie (AMN), mais aussi d'autres maladies démyélinisantes (Ozgür-Gunes, 2022). Enfin, dans le cadre d'un essai clinique de phase 3 (Hoffmann-La Roche), les nœuds Mondor et ICM ont participé à l'évaluation chez des patients MH d'une thérapie génique de « silencing » utilisant un oligonucléotide anti-sens.

**Évaluation *in vivo* et efficacité thérapeutique.** Des travaux récents de NeurATRIS en neuro-imagerie ont montré que l'imagerie CEST du glutamate permet d'identifier à un stade précoce une atteinte des faisceaux de fibres myélinisées chez des animaux modèles de la MH (Pépin *et al.*, 2020 ; Pérot *et al.*, 2020). Cette observation préclinique originale a permis, depuis, de confirmer l'atteinte précoce du corps calleux chez les patients MH. Sur le plan clinique, des travaux du nœud Mondor ont également permis de valider de nouveaux tests cognitifs fondés sur l'identification de marqueurs vocaux et de nouvelles tâches cognitives. Ces tests, évalués chez les patients MH, ont démontré leur sensibilité pour un suivi quantitatif de l'évolution de la maladie. À l'instar de l'IRM, différents radiotraceurs TEP développés pour la détection précoce de la neuro-inflammation ont été évalués au stade préclinique (Van Camp *et al.*, 2020) et clinique.

**Thérapies médicamenteuses.** L'ICM a développé des inhibiteurs de la kalicrine 6 permettant de traiter les maladies à composantes démyélinisantes (Brevet et publication en collaboration avec Pr El Amri, IBPS). En utilisant une combinaison de deux modèles de (re)myélinisation chez la souris et chez le Xénope, le nœud ICM a également démontré qu'un inhibiteur de la Bruton's tyrosine kinase favorisait la remyélinisation. Le criblage d'une librairie de 274 molécules candidates a permis de sélectionner de nouveaux *leads* capables de promouvoir la différenciation des oligodendrocytes et la myélinisation.

#### Production scientifique et valorisation

Aron Badin R., *et al.* (2019) MHC matching fails to prevent long-term rejection of iPSC-derived neurons in non-human primates, *Nat Commun*, 10(1), art. 4357.  
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-12324-0>

Bachoud-Lévi A.-C., on behalf the Multicentric Intracerebral Grafting in Huntington's Disease Group (2020) Human Fetal Cell Therapy in Huntington's Disease: A Randomized, Multicenter, Phase II Trial, *MoV Dis*, 35(8), pp. 1323-35.  
<https://doi.org/10.1002/mds.28201>

Bougnères P., *et al.* (2021) Long-term follow-up of hematopoietic stem-cell gene therapy for cerebral adrenoleukodystrophy, *Hum Gene Therap*, 32(19-20), pp. 1260-1269.  
<https://doi.org/10.1089/hum.2021.053>

Chanoumidou K., *et al.* (2021) One-step Reprogramming of Human Fibroblasts into Oligodendrocyte-like Cells by SOX10, OLIG2, and NKX6.2, *Stem Cell Reports*, 16(4), pp. 771-783.  
<https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.03.001>

Mevel M., *et al.* (2020) Chemical Modification of the Adeno-Associated Virus Capsid to Improve Gene Delivery, *Chem Sci*, 11(4), pp. 1122-1131.  
<https://doi.org/10.1039/c9sc04189c>

Özgür-Günes Y., et al. (2022) Long-Term Disease Prevention with a Gene Therapy Targeting Oligodendrocytes in a Mouse Model of Adrenomyeloneuropathy, *Human Gene Therapy*, 33(17 18), pp. 936 949.  
<https://doi.org/10.1089/hum.2021.293>

Pépin J., et al. (2020) Complementarity of GluCEST and 1 H-MRS for the Study of Mouse Models of Huntington's Disease, *NMR Biom*, 33(7), e4301.  
<https://doi.org/10.1002/hbm.4301>

Pérot J.-B., et al. (2022) Longitudinal multimodal MRI characterization of a knock-in mouse model of Huntington's disease reveals early gray and white matter alterations, *Hum Mol Genet*, 31(21), pp. 3581-3596.  
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddac036>

Van Camp N., et al. (2020) Assessment of Simplified Methods for Quantification of [18F]-DPA-714 Using 3D Whole-Brain TSPO Immunohistochemistry in a Non-Human Primate, *J Cereb Blood Flow Metabol*, 40(5), pp. 1103 1116.  
<https://doi.org/10.1177/0271678X19859034>

**Début du projet : juillet 2012 | Durée : 12,5 ans |  
Financement France 2030 : 31 300 000 €**

**Partenaires**

CEA, Fontenay-aux-Roses | Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM) | Université Paris-Est-Créteil-Val-de-Marne | INRAE, Centre Pays-de-la-Loire | AP-HP | Inserm

**Coordination**

Philippe Hantraye – MIRcen, CEA Fontenay-aux-Roses –  
philippe.hantraye@cea.fr  
[www.neuratrix.com](http://www.neuratrix.com)



## NS-EuroNet

### European network on Noonan syndrome and related disorders

#### Rappel des objectifs

Les RASopathies sont parmi les plus fréquentes des maladies rares affectant le développement. Elles rassemblent le syndrome de Noonan (SN) et un nombre croissant de syndromes apparentés dont le mécanisme physiopathologique commun est l'activation anormale de cette voie majeure de signalisation. Outre des particularités faciales caractéristiques, les sujets atteints présentent, à des degrés variables, un retard de croissance, des cardiopathies, des défauts cognitifs, des désordres squelettiques et hématologiques, et une prédisposition à certains cancers et hémopathies malignes. Nos objectifs ont été d'explorer les bases moléculaires des RASopathies en identifiant de nouveaux gènes candidats, de comprendre la pathogenèse, de tester des drogues ciblées en utilisant des modèles complémentaires *in silico*, *in vitro* et *in vivo*, et de fournir des données d'épidémiologie moléculaire précises permettant de définir des corrélations génotype/phénotype afin d'aider les cliniciens à poser un diagnostic rapide.

#### Résultats majeurs

Une approche combinée gène candidat et WES a permis d'identifier de nouveaux gènes de RASopathie (par exemple RRAS2, GTPase de la superfamille RAS), ainsi que de nouveaux gènes candidats.

Les études fonctionnelles ont permis de mieux comprendre la physiopathologie et ont fourni des informations sur la variabilité clinique associée aux mutations, leur spectre moléculaire et leur impact. Le partage des cohortes nationales de patients a été fondamental pour établir de nouvelles corrélations génotypes/phénotypes concernant des conditions extrêmement rares (par exemple SOS2/anomalies lymphatiques, MRAS/cardiomyopathies).

Des modèles *in vitro* et *in vivo* ont été élaborés pour analyser certaines manifestations cliniques et tester des composés thérapeutiques.

Une lignée de poissons-zèbres exprimant une mutation de *Ptpr11* a permis de reproduire les symptômes du SN. Ces poissons présentaient des anomalies hématopoïétiques rappelant la leucémie observée chez certains patients. L'analyse des cellules souches et progénitrices hématopoïétiques mutées a révélé un profil inflammatoire similaire à celui des patients atteints de leucémie, ouvrant ainsi des pistes thérapeutiques nouvelles.

Un modèle de souris de SN a permis d'explorer les altérations métaboliques (par exemple : anomalies du tissu adipeux) et de montrer que les anomalies du métabolisme du glucose et la résistance à l'insuline associés au SN étaient la conséquence d'un état inflammatoire des tissus métaboliques lié à un dysfonctionnement des macrophages.

#### Production scientifique et valorisation

Solman M., *et al.* (2022) Inflammatory response in hematopoietic stem and progenitor cells triggered by activating SHP2 mutations evokes blood defects, *ELife*, 11, e73040. <https://doi.org/10.7554/eLife.73040>

Paccoud R., *et al.* (2021) SHP2 drives inflammation-triggered insulin resistance by reshaping tissue macrophage populations, *Science Translational Medicine*, 13(591), eabe2587. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abe2587>

Motta M., *et al.* (2020) Activating MRAS mutations cause Noonan syndrome associated with hypertrophic cardiomyopathy, *Human Molecular Genetics*, 29(11), pp. 1772-1783. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddz108>

Capri Y., *et al.* (2019) Activating Mutations of RRAS2 Are a Rare Cause of Noonan Syndrome, *The American Journal of Human Genetics*, 104(6), pp. 1223-1232. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.04.013>

Tajan M., *et al.* (2018) Noonan syndrome-causing SHP2 mutants impair ERK-dependent chondrocyte differentiation during endochondral bone growth, *Human Molecular Genetics*, 27(13), pp. 2276-2289. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy133>

#### Essais cliniques

Essai thérapeutique vs placebo de phase 3, randomisé, en double aveugle, visant à tester l'efficacité et la sécurité d'un traitement par simvastatine sur la croissance et les anomalies osseuses chez des enfants atteints du SN (PHRC N°15782601, NCT02713945). RAS-HEMATO – Étude des anomalies hématologiques des enfants porteurs de RASopathie (EudraCT 2019-A00845-52).

**Début du projet : janvier 2016 | Durée : 42 mois |**

**Financement ANR : 224 824 €**

#### Partenaires

Istituto Superiore di Sanità, Rome (Italie) | Institute of Human Genetics, Otto-von-Guericke University, Magdebourg (Allemagne) | Institute of Biochemistry & Molecular Biology II, Heinrich-Heine University, Düsseldorf (Allemagne) | Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen, Hubrecht Institute, Utrecht (Pays-Bas)

#### Coordination

Hélène Cavé – U 1131 Inserm (Institut de recherche Saint-Louis), Université Paris-Cité, Hôpital Robert Debré (APHP) – [helene.cave@aphp.fr](mailto:helene.cave@aphp.fr) |  
Armelle Yart – U 1301 Inserm, Toulouse – [Armelle.yart@inserm.fr](mailto:Armelle.yart@inserm.fr)

## OPTOREMODE

### Retinitis Pigmentosa diagnosis and therapy: retinal remodeling and optogenetic reactivation of degenerated retina

#### Rappel des objectifs

La cécité peut résulter de la perte de photorécepteurs dans des maladies comme la dégénérescence maculaire liée à l'âge ou des maladies rares comme la rétinite pigmentaire. Au début de ce projet, les prothèses rétiniennes avaient démontré la possibilité de restaurer la vision chez les patients aveugles atteints de rétinite pigmentaire par stimulation électrique de la rétine résiduelle. En parallèle, la thérapie optogénétique montrait qu'il était possible de restaurer certaines fonctions visuelles chez l'animal aveugle en exprimant soit la channelrhodopsine-2 dans les cellules ganglionnaires rétiniennes ou les cellules bipolaires ON, soit l'halorhodopsine dans les cônes ayant perdu leur photosensibilité naturelle. La perte des photorécepteurs étant suivie d'une dégénérescence secondaire des neurones de la rétine interne, il était difficile de définir si ce remodelage tissulaire affecterait la restauration visuelle par optogénétique suivant son ciblage cellulaire. Le projet OPTOREMODE visait à : 1) étudier la perte de vision dans deux modèles animaux classiques de dégénérescence rétinienne, la souris rd1 et le rat P23H ; 2) examiner comment l'activation optogénétique de la rétine dégénérée affecte le remodelage rétinien ; et 3) mesurer l'activité neuronale par électrorétinogramme au cours du processus dégénératif tardif. Les perspectives étaient de définir le ciblage cellulaire optimal pour restaurer la vision par thérapie optogénétique afin de porter cette nouvelle stratégie en clinique.

#### Résultats majeurs

Pour définir le ciblage cellulaire optimal en optogénétique, nous avons étudié l'évolution des performances visuelles de la souris rd1 au cours du processus neurodégénératif des photorécepteurs. La perte du comportement visuel a été mesurée progressivement du vingtième jusqu'au centième jour de vie, tant par le test optomoteur que par le test de la falaise. Dans ces deux tests, la réduction est progressive entre ces deux stades avec un niveau nul à la fin. Cette perte visuelle a été corrélée anatomiquement avec la perte des cellules photoréceptrices et de leurs contacts synaptiques en ruban. Les tests de comportement ont été adaptés pour la thérapie optogénétique car le niveau de luminance requis pour les opsines microbiennes est bien supérieur aux opsines de mammifères. Ils ont ainsi permis de démontrer une augmentation des performances visuelles à des âges supérieur à 100 jours sur des animaux traités en optogénétique pour la stimulation au niveau soit des photorécepteurs soit des cellules ganglionnaires. L'enregistrement de l'activation de la rétine en optogénétique peut être mise en évidence au niveau du cortex par la mesure d'un potentiel évoqué visuel de courte latence. Enfin, nous avons montré que l'électrorétinogramme mesuré sur les patients avec une dégénérescence des photorécepteurs peut être décomposé selon une transformée discrète en ondelettes pour détecter des signaux au-delà de ce que permettent les mesures et analyses classiques.

#### Production scientifique et valorisation

Le projet a permis de développer les approches technologiques pour évaluer l'efficacité de traitements par thérapie optogénétique sur les rongeurs, ouvrant ensuite la voie pour l'évaluation du traitement sur le primate non humain. Les résultats sur l'expression de l'opsine CatCh dans les cellules ganglionnaires de la souris et le primate sont par exemple décrits dans l'article ci-dessous dans lequel le projet OPTOREMODE est remercié :

Chaffiol A., *et al.* (2017). A New Promoter Allows Optogenetic Vision Restoration with Enhanced Sensitivity in Macaque Retina, *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 25(11), pp. 2546-2560.

<https://doi.org/10.1016/j.jymthe.2017.07.011>

Obtention d'un financement du projet SightAgain par la Banque publique d'investissement (18 M€).

Essai clinique en cours pour restaurer la vision par thérapie optogénétique sur des patients atteints de rétinopathie pigmentaire :

Sahel J. A., *et al.* (2021) Partial recovery of visual function in a blind patient after optogenetic therapy, *Nature Medicine*, 27(7), pp. 1223-1229.

<https://doi.org/10.1038/s41591-021-01351-4>

**Début du projet : mars 2014 | Durée : 48 mois |  
Financement ANR : 255 840 €**

#### Partenaires

Institut de la vision | Max-Planck Institute for Brain Research (Allemagne) | Université d'Alicante (Espagne) | Mac Gill University (Canada)

#### Coordination

Serge Picaud – Institut de la vision –  
serge.picaud@inserm.fr  
<https://www.institut-vision.org/fr/>

## PREV-DEMALS

### Prédire pour prévenir les démences frontotemporales (DFT) et la sclérose latérale amyotrophique (SLA)

#### Rappel des objectifs

Les démences frontotemporales (DFT) sont des maladies rares se manifestant par des troubles cognitivo-comportementaux liés à la neurodégénérescence du cortex frontal et temporal. Elles sont parfois associées à une sclérose latérale amyotrophique (SLA) entraînant une paralysie progressive, rapidement fatale. La principale cause de DFT/SLA est une expansion (GGGGCC)<sub>n</sub> du gène *C9orf72*. Des thérapeutiques sont en cours de développement, et seront idéalement administrées aux personnes porteuses de mutation, à la phase présymptomatique (cliniquement silencieuse) de la maladie. Ce projet vise à identifier les premières modifications cérébrales structurelles (IRM), métaboliques (TEP-FDG), et les étapes initiales de la cascade biologique conduisant à la mort neuronale dans les DFT/SLA chez des individus asymptomatiques porteurs d'expansion suivis pendant 36 mois. Cette étude multimodale a combiné des approches classiques d'imagerie (VBM, FLAIR) et des méthodes originales développées récemment pour mesurer la densité de neurites (imagerie NODDI) et détecter des lésions microstructurelles précoces au niveau spinal (DTI médullaire). Le séquençage des microARNs et le dosage des neurofilaments (NfL) dans le plasma ont pu être réalisés grâce à des développements technologiques récents. Les marqueurs biologiques, de neuro-imagerie et cognitifs, issus de ce projet translationnel constitueront des outils indispensables pour initier les thérapeutiques et en mesurer l'efficacité dès la phase présymptomatique.

#### Résultats majeurs

Des altérations microstructurelles et cognitives ont été détectées environ 20 ans avant les premiers symptômes. Des modifications du métabolisme cérébral sont encore plus précoces, constituant l'un des marqueurs les plus fiables du début du processus pathologique. Les analyses biologiques dans le plasma ont permis d'élaborer des outils de prédiction de la progression de la pathologie, basés sur le taux annualisé d'augmentation des NfL et une signature transcriptomique de quatre microARNs progressivement dérégulés au cours de la maladie. Ces résultats constituent une avancée importante permettant de modéliser la chronopathologie, et apportent des connaissances fondamentales et cliniques indispensables à l'initiation des essais thérapeutiques dans cette forme génétique. Ils s'intègrent dans un effort international considérable pour définir des marqueurs fiables de la maladie, et positionnent les partenaires de PREV-DEMALS comme leaders internationaux sur cette thématique de recherche, et la France comme l'un des partenaires mondiaux incontournables dans le développement des essais thérapeutiques dans cette forme génétique. Le rôle des partenaires, appelés à participer en tant qu'experts dans des groupes de travail et consortiums internationaux sur la phase présymptomatique, et dans les comités de mise en place des essais thérapeutiques, illustre le positionnement de la France au niveau international dans le développement de ces essais thérapeutiques.

#### Production scientifique et valorisation

Bertrand A., et al. (2018) Early Cognitive, Structural, and Microstructural Changes in Presymptomatic C9orf72 Carriers Younger Than 40 Years, *JAMA Neurology*, 75(2), pp. 236-245. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.4266>

Querin G., et al. (2019) Presymptomatic spinal cord pathology in c9orf72 mutation carriers: A longitudinal neuroimaging study, *Annals of Neurology*, 86(2), pp. 158-167. <https://doi.org/10.1002/ana.25520>

Montembeault M., et al. (2020) Cognitive inhibition impairments in presymptomatic C9orf72 carriers, *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 91(4), pp. 366-372. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2019-322242>

Kmetzsch V., et al. (2021) Plasma microRNA signature in presymptomatic and symptomatic subjects with C9orf72 -associated frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis, *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 92(5), pp. 485-493. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2020-324647>

Saracino D., et al. (2021) Plasma NfL levels and longitudinal change rates in C9orf72 and GRN -associated diseases : From tailored references to clinical applications, *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 92(12), pp. 1278-1288. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2021-326914>

**Début du projet : octobre 2015 | Durée : 48 mois |  
Financement ANR : 461 573 €**

#### Partenaires

Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM) |  
Laboratoire d'imagerie biomédicale (LIB), Sorbonne  
Université | CHU Lille | CHU Rouen | CHU Limoges | CIC  
Neurosciences et santé mentale | Unité de recherche  
clinique du Groupement hospitalier Pitié Salpêtrière

#### Coordination

Isabelle Le Ber – ICM, Groupement hospitalier Pitié  
Salpêtrière – [isabelle.leber@upmc.fr](mailto:isabelle.leber@upmc.fr)

## RARE-G

### The Epidermal Growth Factor System in Rare Glomerular Disease: From Molecular Mechanisms to Therapeutics

#### Rappel des objectifs

Rare diseases may affect the renal glomerulus, the filter units of the kidney. There are two major forms: crescentic glomerulonephritis (CGN) and primary focal and segmental glomerulosclerosis (FSGS). Both diseases often lead to chronic loss of renal function and, ultimately, to a life-long need for renal replacement therapy. Such a condition is associated with a significantly increased risk for cardiovascular morbidity and mortality.

In recent years, members of this consortium have contributed to our understanding of these rare glomerular diseases.

We could show that two major cell types, podocytes and parietal epithelial cells (PECs), are crucially involved in the pathogenesis of these diseases. Furthermore, we observed that the epidermal growth factor (EGF) system is probably involved in mediating signals in both types of diseases.

Our goal was then to investigate the functional significance of these cells, their cellular activation, and the role of EGF signaling in these rare severe diseases of the kidney.

#### Résultats majeurs

We demonstrated a critical link between podocyte metabolism and inflammation. This enabled us to file a patent and propose a clinical trial to treat CGN patients with a repurposed drug (PHRC-N 2021). The trial will start in January 2023.

Our consortium could also show that a so far unrecognized cell type (parietal cells, PECs) is indeed involved in all forms of FSGS and CGN. Furthermore, we observed that no regeneration of podocytes from these cells (PECs) may occur to replenish essential cells lost in the disease. We proved that *de novo* CD9 expression is crucial in PEC activation and glomerular diseases. We revealed the common pathogenic expression of CD9 implicated in the change of phenotype of PEC and directly drives glomerular injury in both CGN and FSGS. CD9 regulates HB-EGF/EGFR and PDGFR signaling in PECs and ITGB1-mediated PEC migration.

Additionally, these results suggest a novel concept of severe kidney diseases caused by pathogenic PEC recruitment to the glomerular tuft with destructive-oriented migration of these cells to the glomerular capillary.

We showed that these insights may improve diagnostic sensitivity and uncovered novel pathophysiological mechanisms, some being targetable.

At last, the RARE-G project was helpful in generating preliminary data that helped us obtain an ERC-Consolidator grant the following year, an ERC-Proof of Concept grant in 2018, and a national PHRC grant to fund a multicenter trial in 2021.

#### Production scientifique et valorisation

Lazareth H., *et al.* (2019) The tetraspanin CD9 controls migration and proliferation of parietal epithelial cells and glomerular disease progression, *Nature Communications*, 10(1), p. 3303.  
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-11013-2>

Henique C., *et al.* (2016) Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 Drives Podocyte-Specific Expression of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  Essential for Resistance to Crescentic GN, *Journal of the American Society of Nephrology*, 27(1), pp. 172-188.  
<https://doi.org/10.1681/ASN.2014111080>

Lenoir O., *et al.* (2014) Direct action of endothelin-1 on podocytes promotes diabetic glomerulosclerosis, *Journal of the American Society of Nephrology*, 25(5), pp. 1050-1062.  
<https://doi.org/10.1681/ASN.2013020195>

#### Brevets

Tharaux P.-L., *et al.* Use of cd9 as a biomarker and as a biotarget in glomerulonephritis or glomerulosclerosis. World Intellectual Property Organization Patent No WO2020245208A1. 2020.

Tharaux P.-L., *et al.* Methods for the prevention and the treatment of rapidly progressive glomerulonephritis. World Intellectual Property Organization Patent No WO2016071727A. 2016.

Tharaux P.-L., *et al.* Methods for the Prevention and the Treatment of Extracapillary Glomerulonephritis. Patent No 20160340673. 2016.

Multicenter randomised trial to evaluate the efficacy of pioglitazone to promote RENAI Tolerance in ANCA-associated vasculitis-2022-2025.

**Début du projet : mai 2012 | Durée : 36 mois |**

**Financement ANR : 157 560 €**

#### Partenaires

Uniklinik, University Hospital of the Aachen Technical University (Allemagne) | Ernst Moritz Arndt University (Allemagne) | Clinical Institute of Pathology of the Medical, University of Vienna, Vienna General Hospital (Autriche)

#### Coordination

Pierre-Louis Tharaux – Paris Cardiovascular Research Centre (PARCC), UMR 970 Inserm –

[pierre-louis.tharaux@inserm.fr](mailto:pierre-louis.tharaux@inserm.fr)

<http://parcc.inserm.fr/research-teams/team/tharaux-camerer/>

## SightREPAIR

### Validation pré-clinique d'un épithélium pigmentaire rétinien dérivé de cellules souches embryonnaires humaines pour le traitement des rétinopathies

#### Rappel des objectifs

Les maladies qui affectent l'épithélium pigmentaire rétinien (EPR), parmi lesquelles la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) et les rétinopathies pigmentaires (RP), entraînent des pertes sévères et rapides de la vision conduisant jusqu'à la cécité. Alors que la DMLA, qui représente la forme la plus commune de cécité dans les pays occidentaux, semble déclenchée par des causes environnementales et génétiques, les RP sont d'origine monogénique et affectent des populations plus jeunes. Aucun traitement curatif n'est disponible pour ces pathologies. La thérapie génique, qui peut rétablir certaines fonctions des cellules de l'EPR, est rendue difficile par l'hétérogénéité des mutations causales. Le but de notre programme est de développer un produit d'ingénierie tissulaire (PIT) constitué de cellules de l'EPR, dérivées de cellules souches embryonnaires humaines (CSEh), polarisées en monocouche sur un substrat biocompatible. Ce médicament de thérapie innovante (MTI) devrait permettre de restaurer la fonction des cellules EPR et prévenir la mort des photorécepteurs.

#### Résultats majeurs

Nous avons, d'une part, optimisé le procédé de fabrication du PIT afin de faciliter son industrialisation selon les Bonnes pratiques de fabrication (BPF). Le deuxième aspect était de valider la fonctionnalité et la tolérance de notre PIT dans des modèles animaux (rongeurs et primates non humains). Nos études préliminaires ayant déjà montré que la transplantation du PIT dans un modèle de RP affectant l'EPR chez le rat (rats RCS) permettait de restaurer la vision en protégeant les photorécepteurs de la mort. Le but était d'estimer les risques de formation de tumeurs associées à une contamination de notre PIT par des CSEh résiduelles, ainsi que la biodistribution et la toxicité de notre produit dans des rongeurs immunodéprimés. Cette étape représentait un prérequis réglementaire avant la première administration à l'humain de notre produit. Nous souhaitons également valider le geste chirurgical ainsi que l'absence d'effets secondaires chez le primate non-humain. Pour finir, le dernier objectif était de transférer l'ensemble des procédures de fabrication et de contrôle vers un établissement pharmaceutique pour la réalisation des banques de cellules de l'EPR et du PIT à usage clinique. L'ensemble des résultats obtenus a permis la rédaction du dossier permettant la soumission du programme devant l'Agence européenne du médicament (AEM) qui a été déposé en juillet 2018. L'essai clinique a été approuvé le 23 janvier 2019 et a démarré le 5 septembre 2019 avec la transplantation de sept patients à ce jour (MTIAECNAT-2018-07-00005, N°EudraCT 2018600457-53).

#### Production scientifique et valorisation

Nos études préliminaires ont montré que la transplantation du PIT dans un modèle de RP affectant l'EPR chez le rat (rats RCS), permettait de restaurer la vision en protégeant les photorécepteurs de la mort (Ben M'Barek K., et al. (2017) Human ESC-derived retinal epithelial cell sheets potentiate rescue of photoreceptor cell loss in rats with retinal degeneration, *Science Translational Medicine*, 9(421), eaai7471, <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aai7471>).

Une étude réalisée chez des primates non humains a permis de valider les conditions de préparation du PIT dans un établissement pharmaceutique, son transport et son implantation dans des conditions cliniques. Les résultats ont montré que le PIT est positionné correctement dans l'espace sous-rétinien et n'altère pas la structure et la fonction de la rétine (Ben M'Barek K., et al. (2020) Clinical-grade production and safe delivery of human ESC derived RPE sheets in primates and rodents, *Biomaterials*, 230, p. 119603, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119603>).

I-Stem (Partner 1), en collaboration avec la société MDE (Medical Device Engineering) a mis au point un système permettant l'enrobage du produit en gélatine, son transport et le découpage du patch par le chirurgien dans le bloc juste avant son administration (Brevet national N°18/52114 (12/03/2018)).

L'IDV (Partner 2) a mis au point un système d'injection compatible avec le PIT (en cours de brevetabilité).

**Début du projet : juin 2017 | Durée : 54 mois |  
Financement ANR : 690 205 €**

#### Partenaires

Institut de la vision (IDV) | Banque de tissus humain, AP-HP

#### Coordination

Christelle Montville – I-STEM, UMR 861 Inserm/UEVE –  
cmonville@istem.fr  
[www.istem.eu](http://www.istem.eu)

## SMART-HaemoCare

### Small Antibody Fragment as Alternative Tools in Haemophilia Care

#### Rappel des objectifs

The coagulation cascade is a strictly regulated process that ultimately results in the generation of thrombin, an enzyme that is responsible for the formation of a fibrin network at sites of injury. The absence of certain factors that contribute to this process is associated with a strongly reduced thrombin generation, and consequently severe bleeding complications. Among the different bleeding disorders, haemophilia A (caused by a deficiency of coagulation factor VIII) is probably known the most.

Haemophilia patients have commonly be treated by replacement-therapy, in which the missing coagulation factor was infused intravenously. Although effective, this approach is characterized by the need of frequent infusions (up to 3 per week) and the development of neutralizing antibodies. It is not surprising therefore that alternative treatment options have been developed over the last decade. As part of this search for alternative treatment options, the SMART-HaemoCare consortium set out to generate single-domain antibodies against antithrombin, an inhibitor of thrombin and some other coagulation factors.

The underlying hypothesis is that by blocking antithrombin, more thrombin can be generated, and bleeding can be reduced or even prevented. In addition, the use of single-domain antibodies (also known as nanobodies) can be produced relatively cheaply in micro-organisms (in contrast to complex proteins as classic IgG-antibodies) and are expressed efficiently in a gene-therapeutic setting.

#### Résultats majeurs

In a consortium consisting of experts in coagulation (Drs Lenting (Inserm, coordinator) and Lillicrap (Queen's University, Canada)) and gene therapy (Drs Mingozzi (Généthon, France) and Grimm (University of Heidelberg, Germany)), we indeed were able to generate a series of single-domain antibodies (sdAbs) targeting antithrombin. In *in vitro* experiments, these sdAbs markedly improved thrombin generation in the absence of factor VIII. *In vivo*, treatment of mice with a factor VIII-deficiency strongly reduced blood loss, underscoring the efficiency of these sdAbs. Also in a gene-therapeutic approach by using Adenovirus-associated virus (AAV)-mediated transgene expression, we observed that unusually high levels of sdAb production could be achieved (up to 2.5 mM). Moreover, the transgene sdAbs targeting antithrombin reduced blood loss, while no neutralizing antibody response against these sdAbs was observed.

As such, our study has provided evidence that anti-antithrombin antibodies can be used as a tool to reduce or prevent bleeding in haemophilia A, either *via* a protein-based approach or *via* gene therapy.

#### Production scientifique et valorisation

Barbon E., *et al.* (2020) Single-domain antibodies targeting antithrombin reduce bleeding in hemophilic mice with or without inhibitors, *EMBO Mol Med*, 12, :e11298.

<https://doi.org/10.15252/emmm.201911298>

A patent related to the anti-antithrombin nanobodies has been filed: Anti-antithrombin single-domain antibodies and polypeptides comprising thereof WO2017158176 (priority 2016-03-18).

**Début du projet : février 2016 | Durée : 36 mois |**

**Financement ANR : 317 326 €**

#### Partenaires

Dept. of Pathology and Molecular Medicine, Queen's University, Kingston (Canada) | Généthon, UMR\_S 951 Inserm | Dept. of Infectious Diseases, Heidelberg University Hospital, Heidelberg (Allemagne)

#### Coordination

Peter Lenting – U 1176 Inserm, Université Paris-Saclay – [peter.lenting@inserm.fr](mailto:peter.lenting@inserm.fr)

## SPATAX-QUEST

### Identification of new causative genes in spinocerebellar degenerations by combination of whole genome scan, next-generation sequencing and biological validation *in vitro* and *in vivo*

#### Rappel des objectifs

Les quatre partenaires du projet SPATAX-QUEST, associés aux membres du réseau international SPATAX, avaient pour but d'améliorer la prise en charge diagnostique des patients atteints d'ataxie cérébelleuse ou de paraplégie spastique, des pathologies rares du système nerveux souvent très invalidantes ou fatales. L'objectif principal était donc d'identifier de nouveaux gènes permettant de diminuer l'errance diagnostique chez près de 50 % des patients et de proposer des solutions diagnostiques plus efficaces. Le second objectif était d'identifier des pistes d'intérêt thérapeutiques.

#### Résultats majeurs

Les partenaires ont identifié des mutations dans des centaines de gènes connus chez plusieurs milliers de patients grâce à l'utilisation de la nouvelle génération de séquençage, ce qui a permis d'améliorer nos connaissances de leurs fréquences relatives et des spectres mutationnels et cliniques associés. En particulier, plusieurs gènes connus ont vu leur implication étendue à de nouveaux modes de transmission ou à de nouvelles indications cliniques, compliquant encore la nosologie de ces maladies. Un kit de détection de mutations dans les 70 gènes impliqués dans les paraplégies spastiques est désormais utilisé en pratique clinique courante. De plus, grâce à une stratégie d'analyse de l'exome, des mutations dans sept nouveaux gènes ont pu être trouvées et validées fonctionnellement grâce à l'utilisation de modèles cellulaires ou animaux. Enfin, les données fonctionnelles obtenues pour un de ces gènes, SPG11, et l'analyse de cerveaux de patients et de souris modèles ont permis d'identifier un stigmate neuropathologique ouvrant sur une étude préclinique ciblée chez l'animal en collaboration avec une start-up.

#### Production scientifique et valorisation

La collaboration entre les quatre partenaires a donné lieu à un brevet déposé et accepté à l'international concernant un ciblage thérapeutique potentiel dans la paraplégie spastique de type SPG11, au développement d'un panel diagnostique de 70 gènes proposé en diagnostic génétique des paraplégies spastiques par les centres de référence de neurogénétique, l'identification de sept nouveaux gènes causaux, plus de 50 communications et 23 publications originales dans des revues internationales à comité de lecture, dont trois en multipartenaires incluant :

Coutelier M., *et al.* (2015) A Recurrent Mutation in CACNA1G Alters Cav3.1 T-Type Calcium-Channel Conduction and Causes Autosomal-Dominant Cerebellar Ataxia, *American Journal of Human Genetics*, 97(5), pp. 726-737.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.09.007>

Coutelier M., *et al.* (2015) Alteration of ornithine metabolism leads to dominant and recessive hereditary spastic paraplegia, *Brain: A Journal of Neurology*, 138(8), pp. 2191-2205.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awv143>

Morais S., *et al.* (2017) Massive sequencing of 70 genes reveals a myriad of missing genes or mechanisms to be uncovered in hereditary spastic paraplegias, *European Journal of Human Genetics: EJHG*, 25(11), pp. 1217-1228.  
<https://doi.org/10.1038/ejhg.2017.124>

Boutry M., *et al.* (2018) Inhibition of Lysosome Membrane Recycling Causes Accumulation of Gangliosides that Contribute to Neurodegeneration, *Cell Reports*, 23(13), pp. 3813-3826.  
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.098>

Coutelier M., *et al.* (2022) NPTX1 mutations trigger endoplasmic reticulum stress and cause autosomal dominant cerebellar ataxia, *Brain: A Journal of Neurology*, 145(4), pp. 1519-1534.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awab407>

**Début du projet : mars 2014 | Durée : 40 mois |  
Financement ANR : 315 000 €**

#### Partenaires

Département génomique et physiopathologie des maladies cardiovasculaires, UMR\_S 1166 Inserm | Institut ICAN pour le cardiométabolisme et la nutrition, Campus Pitié Salpêtrière

Collaboration avec les laboratoires de David Tregouet et de Jamilé Hazan en France, celui d'Isabel Alonzo au Portugal, ainsi que les membres du réseau SPATAX

#### Coordination

Giovanni Stevanin – Institut des neurosciences cognitives et intégratives d'Aquitaine (INICIA), CHU de Bordeaux – [giovanni-b.stevanin@inserm.fr](mailto:giovanni-b.stevanin@inserm.fr)  
<https://spatax.wordpress.com/>

## SUMO-ID

### Conséquences fonctionnelles de la SUMOylation de la protéine FMRP (Fragile X Mental Retardation Protein)

#### Rappel des objectifs

Le syndrome de l'X fragile est la forme la plus fréquente de déficience intellectuelle héréditaire. Cette maladie résulte de mutations du gène *FMR1* (Fragile X Messenger RibonucleoProtein 1), localisé sur le chromosome X, et se caractérise par une augmentation du nombre de triplets CGG dans la région 5' non codante du gène, ce qui inhibe sa transcription. La protéine correspondante, FMRP, est absente chez les patients X fragile. Le modèle murin mimant la pathologie humaine n'exprime pas FMRP, ce qui induit des anomalies architecturales de la synapse qui sont à l'origine de défauts de connectivité et de troubles cognitifs. FMRP peut lier de nombreux ARNm, et les transporter en inhibant leur traduction jusqu'à la synapse où ils seront libérés en fonction des besoins, en réponse aux variations de l'activité neuronale. Les ARNs liés par FMRP codent pour des protéines impliquées dans la régulation de la morphologie synaptique et les fonctions cognitives. Pour accomplir son rôle, FMRP interagit avec de nombreux partenaires et ses interactions sont régulées par des modifications post-traductionnelles. Le projet SUMO-ID a fait appel à un panel d'approches de pointe allant de la biologie moléculaire à la biochimie synaptique, la pharmacologie ou la microscopie confocale en temps réel, avec pour finalité de comprendre les conséquences fonctionnelles de la modification de la FMRP par la petite protéine SUMO (*Small Ubiquitin like Modifier*).

#### Résultats majeurs

Nous avons tout d'abord montré que la protéine FMRP est un substrat d'une nouvelle modification post-traductionnelle appelée SUMOylation. Cette modification consiste en l'ajout covalent de la petite protéine SUMO sur des résidus lysines spécifiques que nous avons identifiés sur FMRP. Nous avons ensuite démontré que la protéine FMRP est SUMOylée *in vivo* de manière dépendante de l'activité neuronale et en particulier suite à l'activation des récepteurs métabotropiques du glutamate de type mGluR5. Nous montrons également que la diffusion synapto-dendritique de l'unique enzyme de conjugaison de la SUMOylation, Ubc9, est directement régulée par l'activation de ces récepteurs mGluR5 via l'activation de la PKC. Cette cascade d'événements se traduit par une augmentation rapide de la SUMOylation des protéines synaptiques et de FMRP. La SUMOylation de FMRP entraîne sa dissociation des granules de transport des ARNm à la base des épines dendritiques, ce qui permet la libération des ARNm liés à FMRP-SUMO directement à la synapse. Ces ARNs sont alors traduits localement en protéines essentielles au processus d'élimination et de maturation des épines dendritiques. Le projet SUMO-ID a non seulement permis d'ajouter un degré supplémentaire de compréhension de la régulation fonctionnelle de la protéine FMRP, mais met également en lumière un rôle important de la SUMOylation dans le contrôle de la maturation neuronale, un processus central du neurodéveloppement.

#### Production scientifique et valorisation

Loriol C., et al. (2013) Activity-dependent regulation of the sumoylation machinery in rat hippocampal neurons, *Biology of the Cell*, 105(1), pp. 30-45.

<https://doi.org/10.1111/boc.201200016>

Gwizdek C., et al. (2013) Protein Sumoylation in Brain Development, Neuronal Morphology and Spinogenesis, *NeuroMolecular Medicine*, 15(4), pp. 677-691.

<https://doi.org/10.1007/s12017-013-8252-z>

Loriol C., et al. (2014) mGlu5 receptors regulate synaptic sumoylation via a transient PKC-dependent diffusional trapping of Ubc9 into spines, *Nature Communications*, 5(1), p. 5113.

<https://doi.org/10.1038/ncomms6113>

Cassé F., et al. (2015) Tracking the activity-dependent diffusion of synaptic proteins using restricted photoconversion of Dendra2, *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9.

<https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00367>

Khayachi A., et al. (2018) Sumoylation regulates FMRP-mediated dendritic spine elimination and maturation, *Nature Communications*, 9(1), p. 757.

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-03222-y>

Effet levier pour l'obtention d'un projet ANR Collaboratif en tant que coordinateur, avec l'UMR 5397 CNRS comme partenaire.

**Début du projet : janvier 2012 | Durée : 48 mois |**

**Instrument : JCJC | Financement France 2030 : 338 578 €**

#### Coordination

Stéphane Martin – Institut de pharmacologie moléculaire et cellulaire (IPMC), UMR 7275 CNRS –

[martin@ipmc.cnrs.fr](mailto:martin@ipmc.cnrs.fr) –

<https://www.ipmc.cnrs.fr?page=martin>



## TRT-cSVD

### De l'identification de nouvelles cibles aux traitements de nouvelle génération pour les maladies des petits vaisseaux cérébraux

#### Rappel des objectifs

Les maladies des petits vaisseaux du cerveau (SVD) sont extrêmement fréquentes, elles sont responsables de 30 % des AVC et contribuent largement au déclin cognitif et au handicap au cours du vieillissement dans la population générale. En dehors de la prise en charge des facteurs de risque vasculaire comme l'hypertension artérielle, il n'existe aucun traitement spécifique de ces affections.

Le RHU TRT\_cSVD a pour ambition de développer des thérapies innovantes, en utilisant les formes génétiques de ces maladies, et plus particulièrement CADASIL, la plus fréquente d'entre elles, comme paradigme. Les quatre objectifs poursuivis sont : 1) d'identifier de nouveaux gènes de SVD et valider de nouvelles cibles thérapeutiques ; 2) de développer des biomarqueurs innovants des altérations de la microcirculation et du tissu cérébral et de nouveaux outils cliniques pour les essais thérapeutiques ; 3) d'élaborer des approches originales pour évaluer et rééduquer les troubles cognitifs et de l'équilibre des patients ; et 4) de valider les résultats obtenus dans des essais cliniques précoces et faciliter leur transfert dans la vie réelle.

Le projet réunit, dans un consortium transdisciplinaire, 25 partenaires dont six équipes de recherche expérimentale, 14 équipes de recherche clinique et en imagerie, une équipe de sociologues, et trois industriels : Imagine Eyes, développant la technologie de l'optique adaptative pour l'imagerie des vaisseaux rétiniens ; GENIOUS de MindMaze, un concepteur de thérapies numériques ; et MedPace, un développeur de nouvelles méthodes d'analyse en ligne d'images par résonance magnétique du cerveau.

Dans le cadre du RHU TRT\_cSVD, qui comprend une double coordination clinique et préclinique (Prs Hugues Chabriat et Anne Joutel), la mise en synergie de ressources et d'expertises uniques, et d'approches innovantes ont pour objectif de relever le défi à venir des thérapies des SVD.

#### Résultats majeurs

##### Objectif 1

En ce qui concerne les études génétiques chez l'humain, un nouveau pipeline d'analyse automatique des données de séquençage du génome intégrant des outils corrigeant des biais majeurs dans la sélection des variants rares utiles aux études d'association génétique a été développé. De nouvelles anomalies moléculaires responsables de SVD ont été identifiées dans les gènes LAMB1, COL4A1 et HTRA1. Les mutations du gène LAMB1 sont responsables d'une forme atypique de SVD associant une leuco-encéphalopathie vasculaire et des troubles de la mémoire de type hippocampique.

Dans les études précliniques, une nouvelle plateforme d'analyse de la réactivité des microvaisseaux cérébraux chez la souris à l'hypercapnie ou à une stimulation neurosensorielle, à l'échelle micro et mésoscopique, a été développée. L'étude des vaisseaux du cerveau et de la rétine de modèles souris CADASIL a permis de mieux comprendre où et comment s'accumule le récepteur Notch3, d'élucider les mécanismes de la dysfonction vasculaires et de décrypter la séquence des événements conduisant à la perte des cellules musculaires lisses artérielles. Deux nouvelles approches thérapeutiques (l'immunisation passive anti-Notch3 et le PIP2 ciblant des canaux potassiques) ont été validées *in vivo*.

##### Objectif 2

Des outils de segmentation automatique ont été développés pour mesurer de façon reproductible le diamètre des vaisseaux de la rétine en optique adaptative et leurs variations au cours de stimulations lumineuses.

En imagerie cérébrale, des modifications de la cinétique de la réponse hémodynamique ont été détectées en imagerie fonctionnelle chez les patients CADASIL. Un modèle hybride et multicompartimental de diffusion combiné à l'imagerie de relaxation a été développé pour suivre les modifications tissulaires au cours de l'évolution de la maladie.

Une plateforme web accessible à distance et permettant de crypter, d'anonymiser et de quantifier à distance les images IRM des lésions observées au cours des SVD a été élaborée. Des outils de segmentation automatique des hypersignaux de la substance blanche et des lacunes ont été mis au point.

Les données cliniques et IRM de la cohorte Française des patients CADASIL suivis depuis plus de 15 années ont été agrégées pour décrire la cinétique des performances cognitives au cours de la maladie et déterminer les prédicteurs du déclin cognitif précoce. Une méthode d'intégration de données d'origines diverses pour améliorer la prédiction des événements cliniques a été validée.

##### Objectif 3

Des outils et des jeux numériques pour l'évaluation et la rééducation cognitive et motrice des patients ont été mis au point et sont en cours de validation par des études cliniques.

##### Objectif 4

Des enquêtes sociologiques ciblées réalisées auprès de patients CADASIL et de leurs apparentés, avec l'aide de l'association CADASIL, permettent de mieux comprendre l'intérêt du diagnostic génétique chez les personnes à risque et les motivations des patients dans la perspective d'une participation à un essai thérapeutique.

#### Production scientifique et valorisation

Ghezali L., *et al.* (2018) Notch3ECD Immunotherapy Improves Cerebrovascular Responses in CADASIL Mice, *Ann Neurol*, 84(2), pp. 246-259.

<https://doi.org/10.1002/ana.25284>

Huneau C., *et al.* (2018) Altered dynamics of neurovascular coupling in CADASIL, *Ann Clin Transl Neurol*, 5(7), pp. 788-802.

<https://doi.org/10.1002/acn3.574>

Boido D., *et al.* (2019) Mesoscopic and microscopic imaging of sensory responses in the same animal, *Nat Commun*, 10, art. 1110.

<https://doi.org/10.1038/s41467-019-09082-4>

Rajani R. M., *et al.* (2019) Blood brain barrier leakage is not a consistent feature of white matter lesions in CADASIL, *Acta Neuropathol Commun*, 7(1), p. 187.

<https://doi.org/10.1186/s40478-019-0844-x>

Aydin A. K., *et al.* (2020) Transfer functions linking neural calcium to single voxel functional ultrasound signal, *Nat Commun*, 11(1), art. 2954.

<https://doi.org/10.1038/s41467-020-16774-9>

Brice S., *et al.* (2020) Modeling the Cognitive Trajectory in CADASIL, *Journal of Alzheimer's Disease*, 77, pp. 291-300.

<https://doi.org/10.3233/JAD-200310>

Dabertrand F., et al. (2021) PIP2 corrects cerebral blood flow deficits in small vessel disease by rescuing capillary Kir2.1 activity, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(17), :e2025998118.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.2025998118>

Aloui C., et al. (2021) End-truncated LAMB1 cause a hippocampal memory defect and a leukoencephalopathy, *Ann Neurol*, 90(6), pp. 962-975.  
<https://doi.org/10.1002/ana.26242>

Coste T., et al. (2022) Heterozygous HTRA1 nonsense or frameshift mutations are pathogenic, *Brain*, 144(9), pp. 2616-2624.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awab271>

Brice S., et al. (2022) Trajectory Pattern of Cognitive Decline in Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy With Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy, *Neurology*, 99(10), :e1019-31.  
<https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000200805>

#### Brevets

Joutel A., et al. *Immunological treatment of cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy*. No WO2016046053A1). 2016.  
<https://patents.google.com/patent/WO2016046053A1/en>.

#### Essais cliniques

BIOMRI-CADA : développement de nouveaux biomarqueurs en imagerie par résonance magnétique pour les études longitudinales dans l'angiopathie CADASIL (NCT 04036084).  
 ERCOM\_VIDEO : étude pilote de faisabilité et de validation de jeux vidéo destiné à l'Évaluation et la rééducation cognitive et motrice par jeux vidéo en pathologie vasculaire cérébrale.  
 SMACS : élaboration d'une échelle évaluant l'atteinte dans les maladies des petits vaisseaux cérébraux.  
 TELECOG-NORM : normalisation d'une évaluation cognitive informatisée en vue d'une utilisation à distance en pathologie microvasculaire cérébrale.

**Début du projet : février 2017 | Durée : 7 ans |  
 Financement France 2030 : 8 000 000 €**

#### Partenaires

AP-HP | Inserm | CEA | ISEP | ARMINES | CHU Montpellier | UPJV | Telecom-ParisTech | GENIOUS-MindMaze | Imagine Eyes | Medpace | Association CADASIL

#### Coordination

Hugues Chabriat – Centre neurovasculaire translationnel, Centre de référence CERVCO, DMU Neurosciences, Hôpital Lariboisière, GHU APHP-Nord, Université Paris-Cité, UMR 1141 Inserm, équipe GenMedStroke – [hugues.chabriat@aphp.fr](mailto:hugues.chabriat@aphp.fr)

Anne Joutel – Institut de psychiatrie et neurosciences de Paris, U 1266 Inserm, équipe Mécanismes pathogéniques des maladies des petits vaisseaux cérébraux, Université Paris-Cité

<https://treat-svd.fr/>

# FINANCEURS ÉTRANGERS

## Liste des cofinanceurs étrangers des projets internationaux présentés dans les fiches bilans

|   |         |  |
|---|---------|--|
|    | BMBF    | Bundesministerium für Bildung und Forschung                  |
|    | CE      | Commission européenne  |
|    | CIHR    | Canadian Institutes of Health Research                       |
|    | CSO-MOH | Chief Scientist Office of Israeli Ministry of Health         |
|  | DFG     | Deutsche Forschungsgemeinschaft                              |
|  | FCT     | Fundação para a Ciência e a Tecnologia                       |
|  | FNRS    | Fonds de la recherche scientifique belge                     |
|  | FWF     | Österreichischer Förderung der wissenschaftlichen Forschung  |
|  | FWO     | Fonds Wetenschappelijk Onderzoek – Flanders                  |
|  | ISCIII  | Instituto de Salud Carlos III                                |
|  | MOH-IT  | Ministero della Salute Italia                                |
|  | NCBR    | Narodowe Centrum Badań i Rozwoju                             |
|  | TÜBİTAK | Türkiye Bilimsel Ve Teknolojik Araştırma Kurumu              |
|  | ZonMw   | ZorgOnderzoek Nederland en het gebied Medische wetenschappen |

## Projets présentés dans les fiches, financés par l'ANR et cofinancés par des agences étrangères et la Commission européenne

|                                 |  |
|---------------------------------|--|
| <a href="#">Cure-FXTAS</a>      | BMBF/DFG   ZonMw                                 |
| <a href="#">Drug_FXSPreMut</a>  | ZonMw   BMBF/DFG   NCBR   FCT                    |
| <a href="#">EBThera</a>         | BMBF/DFG   MOH-IT   CIHR                         |
| <a href="#">EURO-CDG-2</a>      | FWO   FNRS   BMBF/DFG   ISCIII   CE              |
| <a href="#">EuroDBA 2012</a>    | ZonMw   BMBF/DFG                                 |
| <a href="#">EuroDBA 2015</a>    | ZonMw   BMBF/DFG   CSO-MOH   TUBITAK   NCBR   CE |
| <a href="#">GENOMIT</a>         | BMBF/DFG   FWF   MOH-IT   CE                     |
| <a href="#">GOSAMPAC</a>        | BMBF/DFG   MOH-IT                                |
| <a href="#">HEART_DM</a>        | BMBF/DFG   ISCIII   ZonMw                        |
| <a href="#">NS-EuroNet</a>      | MOH-IT   BMBF/DFG   ZonMw   CE                   |
| <a href="#">OPTOREMODE</a>      | BMBF/DFG   ISCIII   CIHR                         |
| <a href="#">RARE-G</a>          | BMBF/DFG   FWF                                   |
| <a href="#">SMART-HaemoCare</a> | CIHR   BMBF/DFG   CE                             |

# INDEX DES FICHES PROJETS

|       |                         |        |                 |
|-------|-------------------------|--------|-----------------|
| p. 56 | AMUSIA                  | p. 84  | GP-PMAH         |
| p. 57 | ANI                     | p. 86  | HEART DM        |
| p. 58 | AUDINNOVE               | p. 88  | Heart_asymmetry |
| p. 97 | BETPSY                  | p. 89  | HEART-iPS       |
| p. 59 | BioGvHD                 | p. 90  | HGDIFD          |
| p. 60 | CerID-Gene              | p. 91  | ICM             |
| p. 62 | CILAXCAL                | p. 92  | IEIHSEER        |
| p. 63 | C'IL-LICO               | p. 49  | Imagine         |
| p. 65 | CM-WES                  | p. 93  | Immune-Rep      |
| p. 66 | COPDETOX                | p. 94  | IRIS            |
| p. 86 | Cure-FXTAS              | p. 95  | LIFESENCES      |
| p. 67 | CYPHunt                 | p. 95  | LIGHT4DEAF      |
| p. 68 | DBA Multigène           | p. 97  | MECANO          |
| p. 70 | DevMiCar                | p. 99  | MicroKin        |
| p. 86 | Drug_FXSPreMut          | p. 100 | MN Progress     |
| p. 71 | Dynamuscle              | p. 101 | NeurATRIS       |
| p. 72 | DYSther                 | p. 103 | NS-EuroNet      |
| p. 73 | EBThera                 | p. 104 | OPTOREMODE      |
| p. 74 | EMIR                    | p. 53  | PHENOMIN        |
| p. 75 | EndoMechano             | p. 105 | PREV-DEMALS     |
| p. 76 | EPINE                   | p. 51  | RaDiCo          |
| p. 77 | EURO-CDG-2              | p. 106 | RARE-G          |
| p. 68 | EuroDBA                 | p. 60  | SCD-Mec         |
| p. 95 | FOReSIGHT               | p. 107 | SightREPAIR     |
| p. 79 | FSHDecipher             | p. 108 | SMART-HaemoCare |
| p. 80 | Gene_Transfer_Tolerance | p. 77  | SOLV_CDG        |
| p. 81 | GENOMIT                 | p. 109 | SPATAX-QUEST    |
| p. 82 | GenRED                  | p. 110 | SUMO-ID         |
| p. 83 | GETH                    | p. 111 | TRT-cSVD        |
| p. 84 | GOSAMPAC                |        |                 |









## **ANR**

**Direction de la publication :** Thierry Damerval, président-directeur général

**Coordination éditoriale :** Philippe Bouvet, responsable Département Biologie-Santé

Christiane Branlant, responsable scientifique, Département Biologie-Santé

Florence Guillot, chargée de projets scientifiques, Département Biologie-Santé

Virginie Joulin, responsable d'action Direction des Grands Programmes d'Investissements

**Rédacteurs et rédactrices :** Philippe Bouvet, responsable Département Biologie-Santé

Christiane Branlant, responsable scientifique, Département Biologie-Santé

Florence Guillot, chargée de projets scientifiques, Département Biologie-Santé

Virginie Joulin, responsable d'action Direction des Grands Programmes d'Investissements

Quentin Merel, chargé de projets scientifiques, Département Biologie-Santé

Julie Toubas, coordinatrice suivi bilan, Département Biologie-Santé

Et, pour leur contribution, les membres du Département Biologie-Santé

**Direction de la Stratégie Numérique et des Données :** Pôle Bilans, Études, Impact

**Direction de l'Information et de la Communication :** Fabrice Impériali, directeur de la communication

Nathalie Mamosa, cheffe de projet communication

**Secrétariat de rédaction, corrections et relectures :** Sandra Lumbroso

**Conception graphique :** Nadège Theil - **Réalisation :** Audrey Tumelin - **Impression :** Quarante-Six

**Photo de couverture :** © iStock

**anr**®

Agence nationale de la recherche  
86 rue Regnault – 75013 Paris  
[www.anr.fr](http://www.anr.fr)

Suivez notre actualité sur les réseaux sociaux :  @agencerecherche  ANR  ANR