

Nouvelles voies pour soigner la LAM. État de la recherche

Dr Debbie Clements, Juin 2023

Vidéoconférence donnée dans le cadre de la Journée de rencontre annuelle de l'association anglaise LAM Action, le 10 juin 2023.

<https://lamaction.org/meetings/watch-lam-actions-4th-virtual-meeting/>

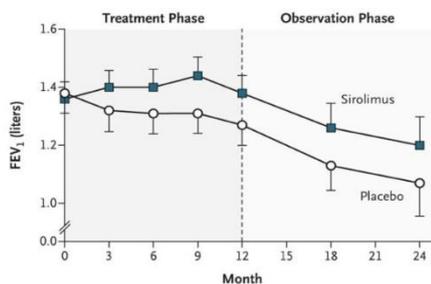
Traduction Paul Bissegger, avec l'aimable autorisation de Dre Debbie Clements et de LAM Action.

Dr Debbie Clements est une biologiste anglaise de la faculté de médecine de Nottingham et très engagée dans les recherches sur la lymphangioliomyomatose (LAM). On lui doit déjà plusieurs articles scientifiques sur ce sujet. Rappelons que l'université de Nottingham abrite le centre national anglais de référence pour la LAM, dirigé par le prof. Simon Johnson, dont on connaît les nombreux travaux et le dévouement exemplaire à la cause Lamiste.

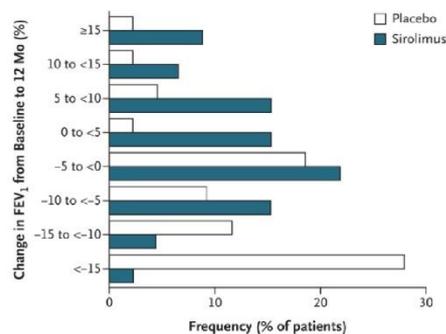
Depuis quelques années, comme on sait, le traitement de la LAM a fait d'immenses progrès grâce à la rapamycine (sirolimus, everolimus), puisque la fonction respiratoire décline moins rapidement sous sirolimus qu'en l'absence de ce médicament. Rappelons qu'un certain déclin est naturel, même sous sirolimus, puisque, à partir de 30 ans, chez tout le monde (bien-portants compris) le VEMS1 (volume expiratoire maximal expiré en une seconde) diminue naturellement d'environ 30 ml par an. La diminution de capacité s'accroît en outre avec l'âge.

Efficacy and safety of sirolimus in lymphangioliomyomatosis.

McCormack FX, Inoue Y, Moss J, Singer LG, Strange C, Nakata K, Barker AF, Chapman JT, Brantly ML, Stocks JM, Brown KK, Lynch JP 3rd, Goldberg HJ, Young LR, Kinder BW, Downey GP, Sullivan EJ, Colby TV, McKay RT, Cohen MM, Korbee L, Taveira-DaSilva AM, Lee HS, Krischer JP, Trapnell BC; National Institutes of Health Rare Lung Diseases Consortium; MILES Trial Group. N Engl J Med. 2011 Apr 28;364(17):1595-606. doi: 10.1056/NEJMoa1100391. Epub 2011 Mar 16. PMID: 21410393; PMCID: PMC3118601.



Continued benefit requires continuous use

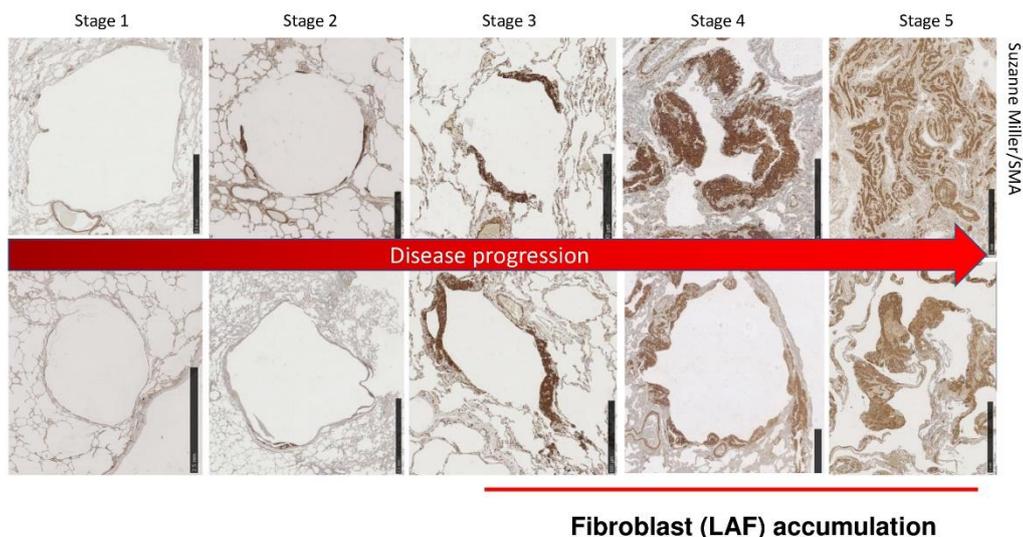


Not all patients respond well

Malheureusement, ce médicament n'est pas aussi efficace chez toutes les patientes LAM. Certaines ne le tolèrent pas et doivent l'abandonner, tandis que d'autres y répondent mal, leur état de santé

continuant à se dégrader. La recherche porte par conséquent sur de nouvelles manières de soigner la maladie.

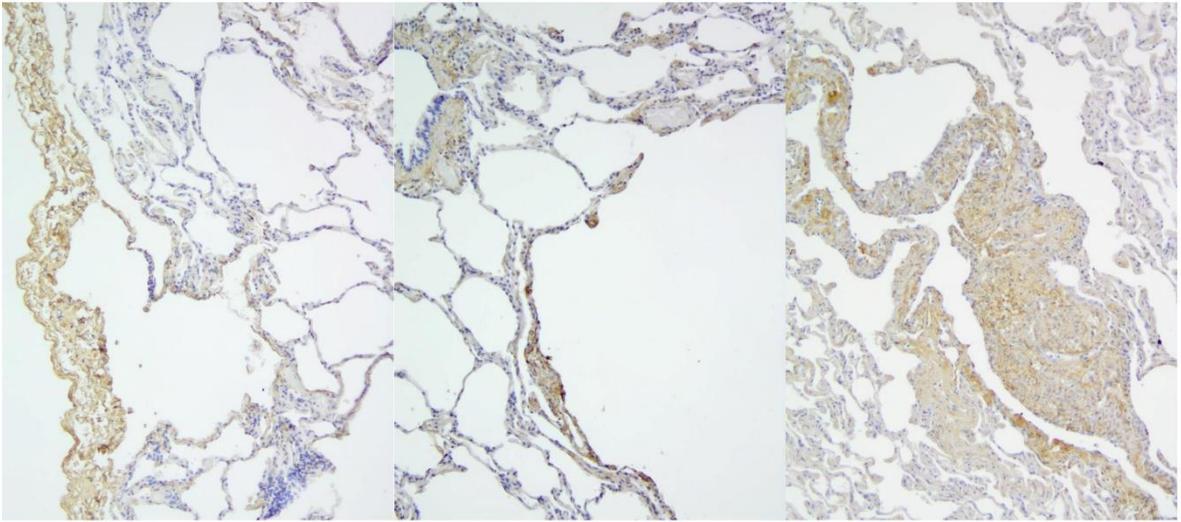
Il semble en effet que la LAM, en évoluant, devient plus complexe. En phase initiale, elle produit surtout des cellules LAM qui vont se disperser dans le corps. Ce processus est freiné, voire stoppé par la rapamycine. Mais lorsque la maladie est plus avancée, d'autres éléments problématiques se développent en marge des cellules LAM. Ce sont notamment des fibroblastes. L'auteur appelle « LAFs » les fibroblastes particuliers associés à la LAM, qui s'accumulent en nodules dans les poumons, comme le montre (en brun) le tableau ci-dessous.



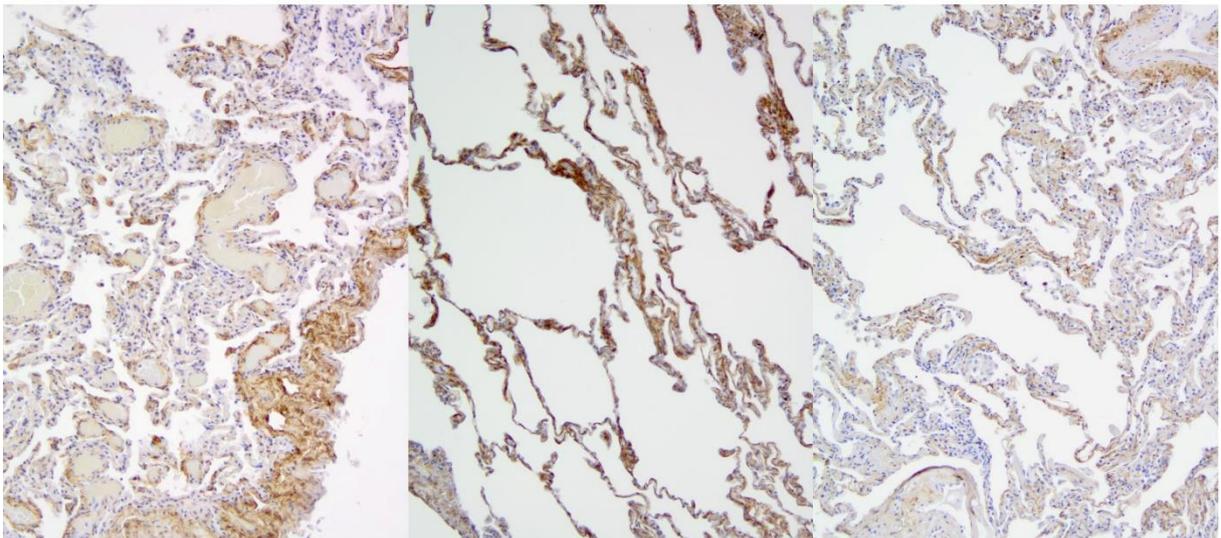
Ce mécanisme n'est pas bloqué par la rapamycine. Donc, plus la maladie est avancée, plus les LAFs sont nombreux. En outre, ces fibroblastes LAFs produisent des protéines extracellulaires. Une certaine production de protéines extracellulaires est une résultante normale des fibroblastes, mais ce mécanisme se trouve exacerbé en cas de maladie. Ces protéines extracellulaires sont du collagène type 1 et type 6 et elles constituent une sorte de tapis nourricier, que la chercheuse nomme « matrix ». Par un phénomène qui reste à expliquer, ces protéines, en contact avec les cellules LAM, favorisent la survie et la prolifération de ces dernières. En effet, on a remarqué que lorsque l'on cultive des cellules LAM en laboratoire, ces LAFs aident ces dernières à se multiplier plus rapidement, même en présence de rapamycine. On se demande donc quel est le mécanisme, qui favorise ce développement ?

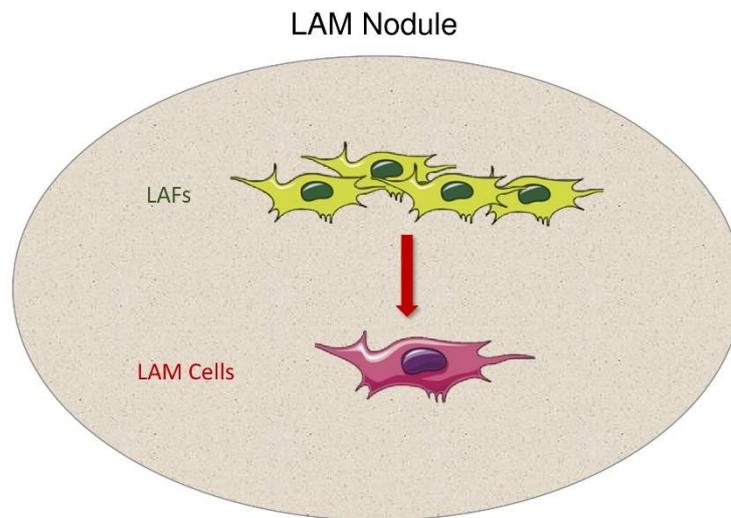
Dans leur sang, les patientes LAM ont d'ailleurs plus de fragments de collagène 6 que les personnes en bonne santé, ce qui suggère bien que ce collagène vient d'une augmentation de production dans les poumons. Si l'on compare des échantillons provenant de plusieurs patientes différentes, on observe que les personnes qui sont atteintes depuis le plus longtemps, sont aussi celles dont la fonction pulmonaire est la plus détériorée et celles qui présentent le plus de collagène. Puisque ce collagène favorise la progression de la maladie, on peut en déduire que, mécaniquement, plus la maladie est ancienne, plus la réponse à la rapamycine est atténuée.

Collagen I (1A1) IHC in LAM



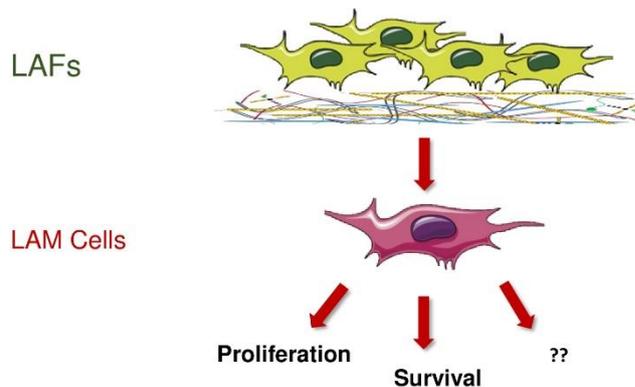
Collagen 6 (6A1) IHC in LAM





Le rôle de ces fibroblastes mérite donc d'être analysé de manière plus approfondie, afin de mieux comprendre leurs échanges avec les cellules LAM.

Hypothesis: LAF deposited matrix supports LAM cells

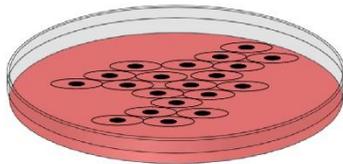


Comment fonctionne donc leur interaction, et surtout peut-on empêcher cette dernière ? Une publication de Debbie Clements, en 2022, porte le titre : *Transcriptional response of LAM cells to LAF extracellular matrix*, ce qui signifie, en traduction libre : «1) Peut-on trouver des gènes qui sont « exprimés » (« allumés », en quelque sorte) lorsque des cellules LAM sont cultivées sur matrix ? 2) Certains de ces gènes sont-ils impliqués dans la croissance cellulaire ? 3) Existe-t-il déjà des médicaments qui bloquent leur action ? 4) Pourrait utiliser ces médicaments pour traiter la LAM ? »

Les scientifiques ont commencé par cultiver des cellules LAM dans des boîtes de Petri, puis ont enlevé ces cellules LAM pour ne garder que les protéines extracellulaires (matrix) produites par les LAM. Sur ce substrat, on a alors cultivé de nouvelles cellules LAM, en les comparant avec une culture identique sur un gel standard (plastic). Il est avéré que les cellules LAM prolifèrent mieux sur matrix.

Assaying LAF matrix *in vitro*

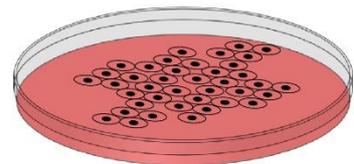
How might LAF-derived matrix contribute to disease progression?



1. Grow LAFs in tissue culture dishes



2. Remove the cells, leaving the deposited matrix behind



3. Plate 621-101 LAM cells onto the deposited matrix

Puis en utilisant une technique de séquençage d'env. 21000 gènes contenus dans chacune de ces cellules, on a trouvé qu'env. 450 gènes ont augmenté leur « expression » sur matrix, alors qu'environ 150 gènes l'ont diminuée dans les mêmes conditions.

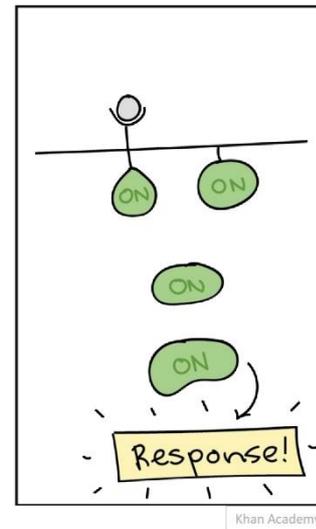
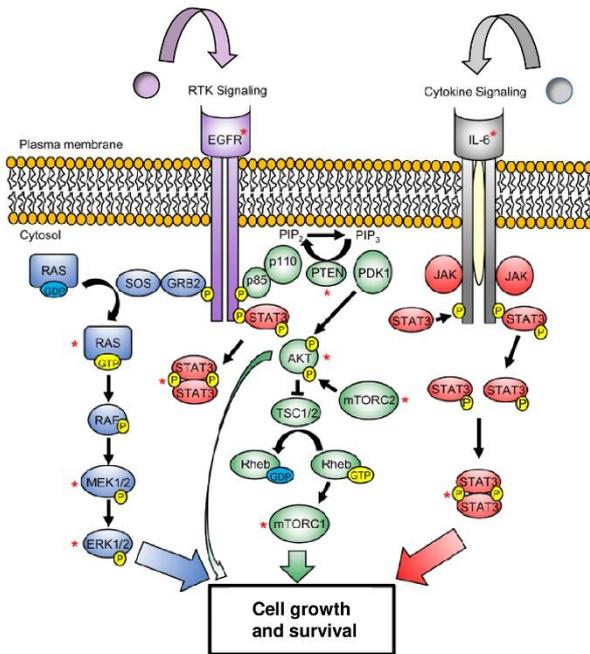
L'un ou l'autre de ces gènes pourrait-il être responsable de la croissance accélérée que l'on observe ?

On recherche donc particulièrement :

- 1 les gènes qui sont plus exprimés sur matrix que sur plastic ;
- 2 ceux qui encodent des protéines connues pour favoriser la prolifération ;
- 3 ceux qui répondent à un médicament déjà approuvé ou en développement clinique (procédé bien moins coûteux que la mise au point d'un nouveau médicament).

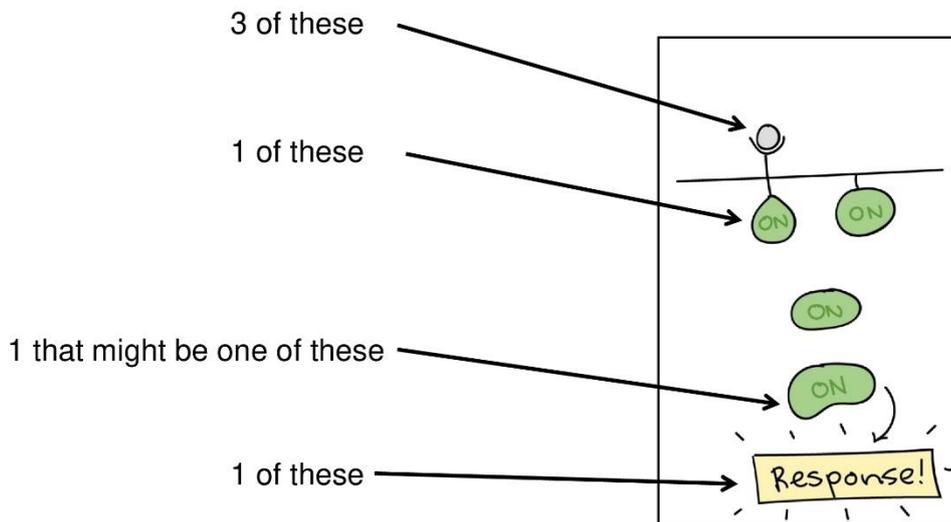
Quelles sortes de gènes cherche-t-on ?

L'investigation est relativement complexe, fondée sur les « pathways » ou « voies », c'est-à-dire une succession de phénomènes biologiques qui aboutissent ici à une croissance et survie accrues. Il faut imaginer qu'il y a un signal de départ qui, passant de relais en relais, « allume » à chaque fois un interrupteur qui lui permet d'aller plus loin, jusqu'au résultat final, qui aboutit à la multiplication cellulaire. Un peu comme les pièces d'un domino, qui doivent toutes chuter pour faire tomber la dernière. Pour la LAM, on connaît la voie mTOR (en vert ci-dessous), qui, lorsqu'elle est dérégulée, provoque finalement la prolifération incontrôlée de cellules. La rapamycine bloque ce « pathway », interrompant ainsi le processus. Mais il y a d'autres voies qui encouragent elles aussi la multiplication, par exemple les cytokines. C'est sur ces autres options que l'on cherche à agir.

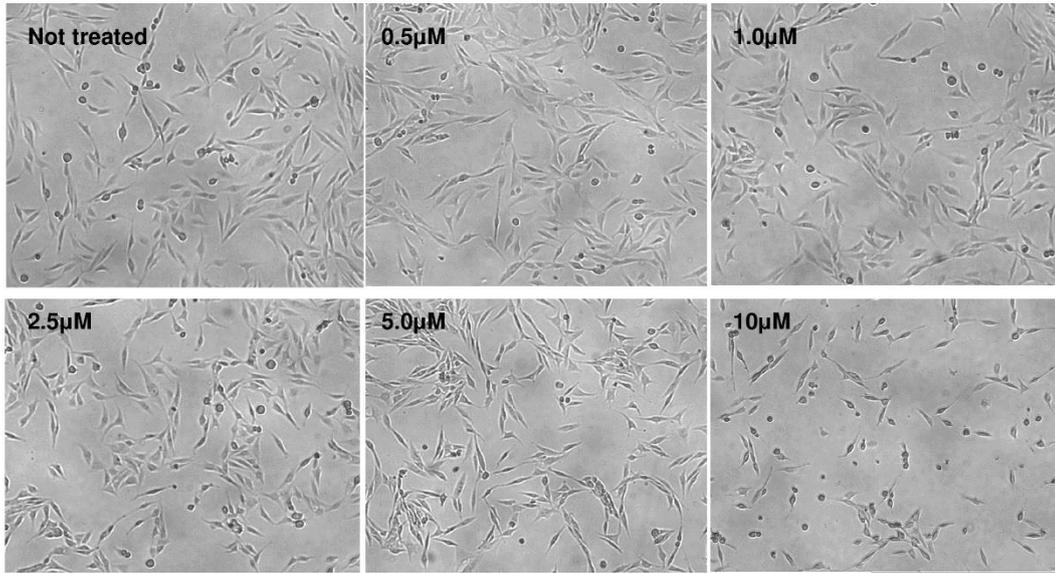


Les investigations récentes de l'équipe du Dr Clements ont notamment identifié trois molécules qui peuvent déclencher le processus de multiplication et survie : un récepteur qui ouvre la « voie » (pathway), et deux molécules qui pourraient être responsables d'une prolifération. Le résultat détaillé de ces recherches est encore inédit et donc confidentiel.

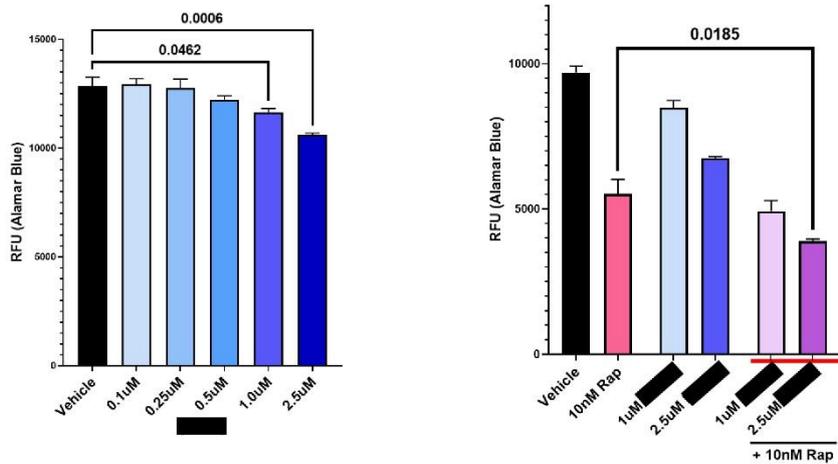
From our screen, from 458 genes we have identified...



L'idée est bien entendu de trouver un inhibiteur qui bloque cette voie, afin de stopper là aussi l'incitation à la croissance des cellules LAM. Un médicament encore confidentiel (noirci sur les tableaux ci-dessous) semble avoir fait ses preuves, on le teste actuellement à des concentrations différentes. Utilisé en combinaison avec la rapamycine, il améliore l'effet de celle-ci. On le teste actuellement à différentes concentrations. Son efficacité est particulièrement visible dans une solution micromoléculaire (molécules de petite taille) à 10 μM : il y a, de façon marquée, moins de cellules LAM.



Effect of rapamycin/ [redacted] on LAM cell proliferation



Combiné à la rapamycine, ce médicament améliore donc l'efficacité du sirolimus et peut se révéler particulièrement précieux pour des patientes qui réagissent mal à la rapamycine. Cette recherche n'est pas encore terminée, et il reste bien sûr encore beaucoup à faire, afin de mieux comprendre le fonctionnement de ces mécanismes. Il s'agit notamment de tester tous les inhibiteurs connus, pour savoir s'ils inhibent ou s'ils tuent les cellules LAM. C'est ainsi que l'on espère découvrir de nouvelles manières de traiter la LAM.