

**Vingt-cinquième rapport annuel
du projet de recherche collaborative
sur la Fibrodysplasie Ossifiante
Progressive (FOP)**

**Frederick S. Kaplan, MD
Robert J. Pignolo, MD, PhD
Eileen M. Shore, PhD**

Juin 2016

Table des matières

PARTIE I: Introduction

Le Centre	5
-----------------	---

PARTIE II: Percées de la recherche

A. Allumer le feu: Acte 1 pour l'Acte A.....	15
B: Éteindre les flammes: la désactivation du signal d'alarme de l'hypoxie cellulaire étouffe les poussées de FOP	20

PARTIE III: Horizons thérapeutiques

27

PARTIE IV: Mise à jour – Infrastructure pour une cure

1. Infrastructure de l'histoire naturelle	36
2. Infrastructure des biomarqueurs	38
3. Infrastructure des modèles de souris	39
4. Infrastructure des communications	40
5. Infrastructure du Registre général.....	41

PARTIE V: Programmes en cours au Centre

Le Tooth Ferry Program au laboratoire de la FOP: Éclairage sur la FOP	44
Le Programme Cali de subventions au développement	45
Aimez vos exceptions	46

Le choix de la Rédaction : quelques extraits de la littérature consacrée à ce sujet	50
Un profil dans la recherche sur la FOP: Brève déclaration de Haitao Wang.....	54
FOP: La parole parlée – 2015.....	56
FOP: La parole écrite – 2015.....	57
FOP: Que pouvons-nous faire pour nous rendre utiles?	58
Remerciements	60
Le dernier mot	62

PARTIE VI: De temps en temps

I. Contexte historique	64
II. Bibliographie commentée	66

Partie I:

Introduction

Une publicité publiée récemment disait ceci: « Le meilleur moyen de prédire l'avenir c'est de le créer. » Pour la FOP, l'avenir a été créé par deux rencontres inattendues qui se sont produites il y a quelques années de cela et ont gravité l'une autour de l'autre, comme des étoiles binaires recevant la lumière l'une de l'autre. La première « rencontre prédisant l'avenir » a eu lieu en septembre 1987 au National Institutes of Health – lorsque Jeannie Peeper et Michael Zasloff échangèrent des informations concernant 20 patients atteints de FOP. Ce moment heureux conduisit à la mise en place de l'IFOPA par Jeannie, le 8 juin 1988 – pour mettre en relation les personnes atteintes de la FOP, pour mettre fin à leur isolement et pour faire la différence pour les générations futures.

La deuxième « rencontre prédisant l'avenir » eut lieu une année plus tard, le mercredi 28 septembre 1988 dans une pièce sans fenêtre de la Genetics Clinic à l'hôpital pédiatrique de Philadelphie, où Michael Zasloff et Fred Kaplan, deux médecins qui visitaient des patients ce matin-là (et qui ne s'étaient jamais rencontrés) se sont littéralement heurtés alors qu'ils allaient déjeuner. Une conversation de plus de deux heures sur la profonde ignorance concernant une pathologie étrange et rare appelée FOP conduisit à un échange d'idées qui allait tout changer en ce mercredi matin ordinaire.

C'est de cet échange que naquit le Projet de Recherche collaborative sur la FOP en septembre 1989; le premier Symposium international sur la FOP, le premier Rapport annuel sur le Projet de Recherche collaborative sur la FOP, et la venue du Dr. Eileen Shore pour créer un laboratoire consacré à la recherche sur la FOP en septembre 1991; l'inauguration officielle du FOP Laboratory à l'Université de Pennsylvanie en mai 1992; le soutien constant et généreux de l'IFOPA; la mise en place du Fonds de dotations Cali et Weldon en 1995 (grâce à la grande générosité des familles Cali et Weldon); la mise en place de la Chaire Isaac & Rose Nassau de médecine moléculaire orthopédique pour la recherche sur la FOP en 1997 (grâce à la philanthropie généreuse et visionnaire de Mme Diane Weiss); la création du **The Center for Research in FOP and Related Disorders** à l'Université de Pennsylvanie

en 1997 (grâce à la générosité incroyable de la famille Cali et à la perspicacité de William N. Kelley, M.D., recteur de l'École de médecine de l'Université de Pennsylvanie) ; et enfin la mise en place de la Chaire Cali-Weldon pour la recherche sur la FOP en 2012 (grâce à la générosité des familles Cali et Weldon).

Il aura fallu 28 ans, des bienfaiteurs généreux, d'innombrables bénévoles, des centaines de patients, de nombreux médecins et scientifiques, d'innombrables études médicales et scientifiques, une myriade de symposiums, réunions, conférences, l'intérêt grandissant de l'industrie pharmaceutique et biotechnologique ainsi que le développement solide d'une communauté internationale engagée. La situation actuelle n'a rien à voir avec celle d'il y a 25 ans, quand le premier Rapport annuel fut publié en 1991.

Ce rapport commençait comme suit : « L'effort de recherche collaborative sur la FOP à l'Université de Pennsylvanie a commencé en septembre 1989...Cet effort est né d'un désir commun d'établir les causes et de trouver un remède pour cette maladie handicapante ».

Il fut un temps, pas si lointain, où le monde ignorait la FOP, la mettait simplement de côté comme une curiosité étrange, et passait outre. Il n'en est plus ainsi. « Le meilleur moyen de prédire l'avenir, c'est de le créer ».

Le Centre

Dès sa mise en place en 1989, le Projet de Recherche collaborative sur la FOP a eu une mission singulière: déterminer la cause de la FOP et utiliser ces connaissances pour trouver des traitements et une cure pour la FOP. Au cours de ces vingt-cinq dernières années, nous sommes passés des terrains vagues d'une maladie rare au tournant des essais cliniques. Nous avons identifié la cause génétique de la FOP et avons utilisé cette découverte pour mener des recherches au niveau mondial en vue de développer des thérapies à même de transformer les soins des individus atteints de FOP.

En partenariat avec nos bienfaiteurs, nous avons élargi les frontières de la découverte et du développement de médicaments pour cette maladie rare et terriblement handicapante, nous avons abattu les barrières physiques et mentales qui freinaient le progrès et inspiré la recherche générale de petites molécules, d'anticorps et de thérapie génétique pour la FOP .

Ici, au **Center for Research in FOP & Related Disorders**, nous accomplissons un travail étendu et approfondi axé sur sept domaines d'activité:

1. Soins cliniques et consultations au niveau mondial
2. Recherches cliniques et développement des infrastructures
3. Recherche fondamentale (identification des cibles thérapeutiques)
4. Recherche translationnelle (Tests précliniques de médicaments et Programme de découverte de biomarqueurs)
5. Programme de subventions au développement
6. Développement de tests cliniques et Investigation de preuve de principe chez les patients
7. Éducation

Le Center for Research in FOP & Related Disorders est unique en son genre. C'est le premier et le seul programme approfondi dans le domaine de la FOP. Nous avons eu une année bien remplie. Au cours de cette dernière année, nous avons atteint les objectifs suivants de notre programme :

Soins cliniques et consultations au niveau mondial

Nous avons guidé les patients, les familles et les médecins dans le monde entier dans leur lutte quotidienne contre la FOP.

Nous avons dirigé le plus grand centre clinique du monde consacré à la FOP, qui s'est installé dans ses nouveaux quartiers à Penn Medicine - University City, Philadelphie, Pennsylvanie.

Nous avons coordonné la gestion des soins médicaux et dentaires pour les patients FOP dans le monde entier.

Nous avons conduit des séminaires pour les patients FOP et leurs familles au niveau international, à Rome, Italie ; Valbert, Allemagne ; Eskilstuna, Suède ; et Moscou, Russie.

Recherche clinique et développement des infrastructures

(Études d'histoire naturelle présentées ici)

Nous avons publié les résultats d'une enquête mondiale sur les poussées de FOP qui seront pris en compte pour la conception et l'évaluation des essais cliniques en cours et futurs.

Nous avons rédigé un rapport sur la première Étude longitudinale de l'histoire naturelle des patients FOP.

Nous avons rédigé un rapport sur l'échelle cumulative analogique de mobilité articulaire pour la FOP (*Cumulative Analogue Joint Involvement Scale – CAJIS*) qui valide une évaluation générale rapide et cliniquement utile de la FOP.

Nous avons mené des consultations sur la mise en place et le développement de mesures de fonctions physiques rapportées par les patients, pour adultes et enfants atteints de FOP.

Nous avons mené des consultations sur la mise en place et le développement de l'Étude longitudinale de l'histoire naturelle effectuée par Clementia.

Nous avons préconisé l'introduction éventuelle de données de l'Étude longitudinale de l'histoire naturelle de Clementia dans le Registre de données de l'IFOPA.

Nous avons encouragé le développement d'un registre international pour la FOP mis en place par l'IFOPA, dont la communauté FOP serait propriétaire.

La Recherche fondamentale

(Identification de cibles thérapeutiques)

Nous avons fait des investigations sur les mécanismes moléculaires et les déclencheurs biochimiques et immunologiques des poussées de FOP chez des modèles avancés de souris knock-in de la FOP classique.

Nous avons étudié le cas d'un patient adulte atteint de la FOP, présentant la mutation FOP classique avec une ossification hétérotopique minimale et avons commencé à effectuer des études biochimiques, immunologiques et génétiques pour en déterminer la cause.

Nous avons fait des investigations sur le dialogue moléculaire entre la voie de signalisation de la protéine morphogénique de l'os (BMP) et les voies de signalisation d'origine immunitaire dans les cellules progénitrices du tissu conjonctif (substitués dans le développement de l'ossification hétérotopique) dans la FOP.

Nous avons fait des investigations sur les déclencheurs inflammatoires cellulaires des lésions précoces de la FOP en utilisant de nouveaux triples modèles de souris knock-in de la FOP afin d'identifier des cibles immunologiques clés pour la thérapie.

Nous avons identifié la réponse cellulaire à l'hypoxie et à l'inflammation tissulaires comme étant une force motrice majeure dans l'induction et l'amplification des poussées de FOP, nous avons déterminé le mécanisme moléculaire qui en est la cause, et découvert qu'un médicament actuellement disponible est à même de bloquer partiellement la réponse chez une souris modèle FOP. D'autres tests plus avancés sur des modèles de souris knock-in conditionnelles de mutation de la FOP classique permettront de déterminer si ce composé, dont l'innocuité pour les êtres humains a déjà été établie, peut faire avancer les essais cliniques pour la FOP

Nous avons poursuivi un programme de recherche extrêmement novateur pour faire des investigations sur l'interaction du système immunitaire naturel avec les cellules progénitrices de tissu dans l'amplification de la signalisation BMP conduisant aux poussées et à l'ossification hétérotopique de la FOP.

Nous avons fait des investigations sur le rôle des cellules du système immunitaire naturel dans l'induction de l'ossification hétérotopique chez les souris knock-in conditionnelles FOP.

Nous avons étendu des investigations collaboratives avec des neurobiologistes développementaux et des oncologues pédiatriques sur les mécanismes de la maladie dans les gliomes malins du tronc cérébral et dans la FOP, deux maladies infantiles terribles associées aux mutations courantes de l'ACVR1.

Nous avons commencé à effectuer des études sur les cellules progénitrices primaires humaines de FOP HO pour vérifier la véracité et la puissance de la découverte d'activine A rapportée par Regeneron Pharmaceuticals.

Nous avons engagé des études pour investiguer sur le rôle potentiel de l'activine A dans les cellules immunitaires en utilisant un modèle de souris FOP.

Nous avons examiné la réaction de la voie de signalisation ACVR1 dérégulée dans la FOP en des signaux physiques du microenvironnement lésionnel précoce de la FOP.

Nous avons développé une stratégie *in vivo* sur un modèle de souris conditionnelle knock-in de la FOP pour exprimer la mutation de la FOP dans le développement précoce afin d'induire une ossification hétérotopique spontanée et de vérifier l'efficacité du médicament.

Nous avons appliqué ce modèle de souris de l'expression de la mutation précoce de la FOP pour examiner les effets de la mutation sur la croissance du squelette et de l'ossification endochondrale dans les cartilages de croissance.

Nous avons démontré sur des modèles de souris à la mutation classique de la FOP que le palovarotène empêche l'ossification hétérotopique spontanée (HO) ainsi que l'HO provoquée par une lésion.

Nous avons démontré que le palovarotène redonne une structure et une fonction normales aux cartilages de croissance FOP, suggérant la possibilité d'intervenir rapidement et sûrement dans l'HO chez les enfants, conclusion de la plus haute importance pour les essais cliniques.

Nous avons caractérisé le phénotype cellulaire et moléculaire de la chondrogenèse (formation du cartilage) dans les cartilages de croissance et dans l'ossification endochondrale hétérotopique en réponse au palovarotène administré à un modèle de souris conditionnelle knock-in de la FOP classique.

Nous avons fait des recherches sur les mécanismes génétiques et moléculaires de la formation anormale des articulations et la survie fonctionnelle des articulations dans la FOP, connaissance fondamentale pour désigner de nouvelles cibles thérapeutiques et pour prévenir l'arthrite dégénérative handicapante provoquée par la FOP.

Nous avons fait des investigations sur les mécanismes moléculaires par lesquels des variantes extrêmement rares de la FOP déclenchent des signalisations BMP proches conduisant à des poussées de FOP.

Nous avons continué d'étendre et de développer le FOP SHED Cell Tooth Ferry Program. Cette bibliothèque essentielle de cellules progénitrices du tissu conjonctif

est cruciale pour les études en cours et futures dans le domaine de l'identification de cibles thérapeutiques et de la découverte médicamenteuse pour la FOP.

Nous avons établi des fibroblastes embryonnaires de souris (MEF) dans des essais cellulaires *in vitro* pour le dépistage de médicaments.

Nous avons établi que le mutant ACVR1 (mACVR1) modifie la réponse des cellules à leur environnement mécanique, laissant supposer que les cellules mutantes sont prédisposées à mal interpréter les signaux venant de leur environnement tissulaire comme instructions pour former le cartilage et les os.

Nous avons entamé des recherches pour identifier les gènes/facteurs modificateurs mACVR1 chez un individu atteint de la mutation FOP et des malformations caractéristiques de l'orteil, mais qui est asymptomatique de l'ossification hétérotopique. Un séquençage de l'exome a été effectué sur des échantillons d'ADN prélevés sur le patient, sur son frère non affecté, et sur ses deux parents non affectés. Les données ont été examinées en utilisant diverses approches et filtres de données, identifiant ainsi les gènes candidats et les processus cellulaires associés. Pour étayer cette analyse, des échantillons d'ADN de trois autres patients atteints d'une FOP légère ont été préparés et vont être soumis à un séquençage de l'exome.

La recherche translationnelle

(Essai préclinique de médicaments et programme de découverte de biomarqueurs)

Nous avons terminé la troisième année d'essais précliniques approfondis d'un médicament et du programme de découverte de biomarqueurs sur les modèles de souris FOP.

Nous avons testé de nouvelles catégories de composés pour mesurer leur efficacité dans la prévention de l'HO sur des modèles avancés de souris FOP.

Nous avons approfondi notre recherche sur un biomarqueur clé de la formation du cartilage hétérotopique de la FOP chez les souris et les êtres humains, nous avons continué à étudier ce biomarqueur dans un essai clinique en cours, et soumis les résultats des études précliniques et des premières études du biomarqueur en vue d'une publication.

Programme de subventions au développement

Nous avons octroyé deux nouvelles subventions au développement de la recherche, une pour un modèle de poisson zèbre pour la FOP et une autre pour une nouvelle approche allostérique visant à inhiber le mACVR1 dans la FOP.

Développement des essais cliniques et investigations concernant l'efficacité sur les patients

Nous avons continué les essais cliniques de la Phase 2 et des investigations d'efficacité avec le palovarotène, inhibiteur de la formation endochondrale des os chez des patients atteints de FOP. (On peut trouver le fondement et les modalités de ces essais cliniques sur chacun ou tous les sites web suivants):

- www.ifopa.org
- www.clinicaltrials.gov
- www.clementiapharma.com

Nous avons admis des patients FOP dans trois importants essais cliniques interventionnels avec le palovarotène.

Nous avons donné des conseils à 30 sociétés pharmaceutiques et biotechnologiques sur le développement de nouveaux médicaments pour des essais cliniques sur des enfants et des adultes atteints de FOP.

Nous avons avancé dans la compréhension de petits inhibiteurs moléculaires dans la chondrogenèse physiologique et pathologique, connaissances et approches vitales pour les futurs essais cliniques concernant des enfants.

Éducation

Nous avons soutenu la prochaine génération de médecins et de scientifiques qui travaillent sur la FOP en classe, à l'hôpital et au laboratoire.

Nous avons soutenu les étudiants du lycée, de l'université, les étudiants de la faculté de médecine dans des projets de recherche en vue d'élargir les connaissances fondamentales ainsi que la sensibilisation des scientifiques et du public au sujet de la FOP.

Nous avons informé des médecins, des scientifiques, des chercheurs et des régulateurs lors de forums médicaux et scientifiques, de rencontres et de conférences dans le monde entier.

Notre travail au **Center** est en évolution constante car nous traversons chaque jour le pont entre la clinique et le laboratoire et vice-versa, dans un processus qui nous permet d'acquérir les connaissances et la compréhension nécessaires pour accomplir notre mission

Le but de la recherche au Laboratoire FOP couvre une gamme d'investigations centrées sur des découvertes scientifiques fondamentales conduisant à une analyse préclinique de stratégies de traitement potentielles pour la FOP et sur la compréhension des bases moléculaires et cellulaires de la maladie et de son évolution.

L'activité collaborative et les aboutissements de la recherche fondamentale au Laboratoire FOP sont des principes cibles du **Center** et se concentrent sur six domaines majeurs de la recherche :

Les mécanismes immunologiques et microenvironnementaux qui induisent et amplifient les poussées de HO et de FOP sont analysés par les étudiants diplômés Michael Convente, Niambi Brewer et Alexandra Stanley, et par les spécialistes en recherche Haitao Wang et Vitali Lounev. Leurs projets étudient la réponse cellulaire aux microenvironnements immunologique, biochimique, physique et biomécanique des lésions précoces (pré-cartilage/os) de la FOP. De nouvelles cibles thérapeutiques étonnantes ressortent de leur travail, et il est possible qu'une ou plusieurs de ces cibles deviennent la base d'essais cliniques avec des médicaments réadaptés.

Le développement des modèles FOP *in vitro* et *in vivo* est mené par des boursiers postdoctoraux et par Salin Chakkalakal et Girish Ramaswamy, par les étudiants diplômés Michael Convente, Robyn Allen et Alexandra Stanley et par les spécialistes en recherche Vitali Lounev, Deyu Zhang, Meiqui Xu et Ruth McCarrick Walmsley. Leurs projets sont centrés sur les nouvelles ressources en développement de la recherche sur la FOP qui seront utilisées dans beaucoup d'autres projets ainsi que pour le dépistage *in vivo* de candidats au traitement. Ce travail est une partie vitale de l'infrastructure pour la découverte et le développement de médicaments, de l'infrastructure pour une cure.

Les études sur les cellules progénitrices de la FOP sont menées par Vitali Lounev, Michael Convente, Salin Chakkalakal, Haitao Wang, Will Towler, Alexandra Stanley, Andrew Chang, Ruth McCarrick-Walmsley et Robert Caron. Ces études

identifient les cellules et les mécanismes spécifiques pouvant être ciblés pour bloquer l'ossification hétérotopique.

Les études sur la biologie du développement de la FOP sont menées par Will Towler, Salin Chakkalakal, et par notre collaborateur Adam Resnick et son équipe. Ces projets concernent deux domaines de recherche :

1. Les effets de la mutation de la FOP sur le développement du squelette, sur la formation des articulations et la dégénérescence.
2. Les mécanismes pathologiques partagés du mACVR1 dans les tumeurs cérébrales DIPG et la FOP.

Les études sur les voies moléculaires dans la signalisation ACVR1 de la FOP sont menées par Meiqi Xu, Salin Chakkalakal, Michael Convente, Haitao Wang, Alexandra Stanley, Robyn Allen, Will Towler et Niambi Brewer. Cette recherche cruciale permet de développer des médicaments ciblant ces voies.

Les tests précliniques de médicaments sur des modèles de souris FOP sont menés par Haitao Wang, Vitali Lounev, Deyu Zhang et Salin Chakkalakal.

Bien que des progrès considérables aient été faits ces dernières années dans la recherche sur la FOP, nous sommes encore loin de comprendre certains mystères fondamentaux de cette maladie:

Qu'est-ce qui provoque les poussées de FOP ?

Comment la FOP progresse-t-elle en l'absence de poussées ?

Dans quelle mesure le système immunitaire et le microenvironnement lésionnel influencent-ils la progression de la FOP ?

Quel est le lien entre le système immunitaire naturel et les cellules progénitrices du squelette qui provoquent les poussées de FOP ?

Que nous apprennent les variantes génétiques rarissimes de la FOP (qui n'affectent que 2 ou 3% des patients atteints de FOP dans le monde entier) sur la fonction de l'interrupteur génétique qui conduit l'ossification hétérotopique dans la FOP ?

Ces questions ainsi que d'autres font l'objet d'une recherche intense au FOP Laboratory, et les réponses à ces questions contribueront à identifier de nouvelles cibles pour la découverte et le développement de médicaments

PARTIE II:

Les percées de la recherche

Deux découvertes majeures faites au cours de cette année – l'une par l'industrie pharmaceutique et l'autre par le FOP Center – sont susceptibles de changer les connaissances fondamentales et le paysage thérapeutique de la FOP. En un mot, ces découvertes ont démontré que: 1) l'activité pathologique du récepteur mutant de la FOP (mACVR1) est sensible à une protéine extracellulaire insoupçonnée, analogue à une hormone, et au médiateur immunologique, l'activine A (Act A). En bloquant l'activité de l'Act A on bloque l'ossification hétérotopique (HO) chez un modèle de souris FOP; et 2) les lésions précoces de la FOP sont profondément hypoxiques (privées d'oxygène). La protéine « alarme » intracellulaire, HIF1- α qui régule la réponse cellulaire à l'hypoxie, maintient le mACVR1 dans une capacité de signalisation alors qu'il devrait être détruit, amplifiant ainsi considérablement la voie de signalisation du mutant BMP et stimulant l'ossification hétérotopique. Le fait de bloquer l'activité du HIF1- α diminue sensiblement l'ossification hétérotopique sur un modèle de souris FOP.

Tout au long de l'histoire de la recherche récente sur la FOP, des idées novatrices ont permis de faire des progrès approfondissant nos connaissances sur cette maladie. L'identification du gène de la FOP en 2006 a permis d'établir une première cible pour la thérapie, cœur d'une intense activité de l'industrie pharmaceutique et biotechnologique au niveau mondial. Comme l'a si bien expliqué Albert Einstein, « La formulation du problème est souvent plus essentielle que sa solution, qui peut être simplement une question de compétence mathématique ou expérimentale. Soulever de nouvelles questions, considérer de vieux problèmes d'un nouvel angle exige de l'imagination créatrice et marque de réelles avancées dans la science. » L'année qui vient de s'écouler a marqué de réelles avancées dans la connaissance de la FOP.

Les idées qui sont derrière ces points de vue innovants ont l'étrange qualité d'un tableau d'Escher : on peut y voir quelque chose, puis quelque chose d'autre. Les coups de pinceau plus larges suggèrent une image où l'inflammation et les molécules BMP extracellulaires analogues à une hormone et l'Act A jouent un rôle clé dans le

déclenchement des poussées, tandis que l'alarme HIF1- α d'hypoxie intracellulaire joue un rôle en amplifiant et alimentant les poussées. La première réaction requiert un ligand; la deuxième réaction est entièrement indépendante du ligand. Elles sont cependant toutes les deux réelles, de même qu'une allumette est nécessaire pour allumer un feu mais ne l'est pas pour l'entretenir.

Par conséquent, dans la complexité de la lésion FOP, les deux processus, celui sensible au ligand et celui indépendant du ligand sont essentiels dans l'amplification de la signalisation BMP venant du récepteur mutant de la FOP (ACVR1). Cela signifie que non seulement le récepteur ACVR1, mais aussi l'Act A « fusionnent » et que l'« amplificateur » HIF1- α (tous deux habitants de la réponse inflammatoire) sont, conjointement avec le mACVR1, des cibles solides pour la thérapie de la FOP.

Ces découvertes sous-tendent une connaissance plus profonde de la FOP. L'élucidation de ces idées étranges et complémentaires ont captivé le monde de la recherche au cours de cette dernière année et sont au cœur de la deuxième partie du 25^e Rapport annuel.

A. Allumer le feu: l'Acte 1 pour l'Act A

Dans un article important publié en septembre 2015 dans *Science Translational Medicine*, des chercheurs de Regeneron Pharmaceuticals, Inc. à Tarrytown, New York ont annoncé que l'ossification hétérotopique dans le cas de la FOP est provoquée par l'activine A (Act A), facteur analogue à une hormone qui n'était jusqu'alors pas censée jouer un rôle dans cette maladie. Grâce à une série d'analyses *in vitro* et d'études *in vivo* sur des modèles animaux génétiques de la FOP classique, les scientifiques ont démontré que l'Activine A stimule la voie de signalisation BMP quand le récepteur ACVR1 (R206H) (récepteur de l'activine A, type I (R206H)) de la protéine morphogénétique osseuse (BMP) est présent, mais ne stimule pas les cellules uniquement avec le récepteur originel manquant dans la mutation de la FOP. Par conséquent, des cellules présentant la mutation FOP de l'ACVR1 sont sensibilisées de façon similaire à une hormone (Act A) qui ne stimule normalement pas la voie de signalisation BMP. L'ACVR1 a été tout d'abord évoquée il y a de nombreuses années parce que l'on pensait qu'elle répondait à l'Act A. Cependant, de nouvelles études ont démontré que le récepteur originel ne répondait pas à l'Act A, mais répondait à des facteurs associés analogues à des hormones, appelés protéines morphogénétiques osseuses (BMP), indice qui a mené à la découverte des mutations dans l'ACVR1 causant la FOP.

La FOP est provoquée par des mutations dans le domaine intracellulaire du récepteur BMP, l'ACVR1, et est à l'origine d'une formation osseuse inappropriée due à une hyperactivité endogène du récepteur mutant (pédale de l'accélérateur partiellement enfoncée) ainsi que d'une sensibilité accrue du récepteur aux BMP (pédale de l'accélérateur très sensible).

L'équipe de Regeneron, conduite par le Dr Aris Economides, Ph.D., a découvert de manière inattendue que la mutation génétique *ACVR1* qui provoque la FOP fait que les cellules contenant la protéine mutante ACVR1 répondent à un ensemble de ligands « non classiques » (inhabituels et inattendus, des facteurs analogues à des hormones qui agissent localement), y compris l'Act A, qui sont tout à fait incapables d'activer des cellules avec le récepteur ACVR1 originel (non endommagé) qui existe chez la plupart des êtres humains. Dans cet article, les scientifiques faisaient des hypothèses mais n'étaient pas certains des causes de cette forte différence dans la sensibilité des cellules avec l'ACVR1 normal et mutant vers l'Act A.

Pour vérifier les implications de cette découverte sur des animaux vivants, les scientifiques ont utilisé des souris conditionnelles « knock-in » avec la mutation FOP classique (*Acvr1 R206H*) qu'ils avaient auparavant développées en consultation avec les scientifiques du **Center for Research in FOP and Related Disorders**. Quand l'expression *Acvr1 R206H* a été induite (active), les souris, comme c'était prévu, ont développé une ossification hétérotopique semblable à celle de la FOP, découverte établie à l'origine par les scientifiques du **Center for Research in FOP and Related Disorders** en utilisant un modèle de souris génétique de la FOP classique.

Dans cette étude récente, les chercheurs de Regeneron ont démontré que le processus d'ossification hétérotopique chez le modèle de souris FOP pouvait être inhibé par un anticorps très spécifique (monoclonal) qui bloque l'Act A, étayant ainsi des études précédentes établissant que le processus d'ossification dans la FOP était stimulé par un ligand (facteur analogue à une hormone). Les auteurs ont démontré que l'ossification hétérotopique Act A induit l'ossification hétérotopique chez les souris exprimant le récepteur mutant (*Acvr1 R206H*), mais pas chez les souris exprimant seulement le récepteur non endommagé normal. Chose étonnante, l'inhibition de l'Act A par un anticorps entièrement humanisé que les chercheurs de Regeneron avaient développé pour un autre programme sans relation avec celui-ci, bloquait complètement la formation de l'ossification hétérotopique chez le modèle de souris de la FOP classique. Ces découvertes étonnantes indiquent que les cellules contenant l'ACVR1 mutant (mais pas l'ACVR1 normal) sont sensibles à un facteur analogue à

une hormone (Act A), et que l'Act A peut stimuler l'ossification hétérotopique chez les modèles d'animaux de la FOP classique.

Les chercheurs pensent que l'anticorps pleinement humanisé à l'Act A peut potentiellement représenter une option thérapeutique à court terme pour les patients atteints de FOP. De nouvelles recherches en laboratoire, des études étendues sur la toxicité animale et des études sur la sécurité pour les êtres humains sont nécessaires avant que cette découverte inattendue en laboratoire puisse être traduite en essais cliniques sur des individus atteints de FOP. Cependant, cette découverte identifie clairement une cible thérapeutique affinée pour la FOP dans le vaste contexte de la voie mutante ACVR1 et jette les bases pour un développement clinique futur.

Dans leur article, les auteurs soutiennent qu'il n'y a pas suffisamment de données impliquant l'Act A comme étant le déclencheur de l'ossification hétérotopique chez les patients atteints de FOP, notamment parce qu'il est impossible d'acquérir en toute sécurité des tissus humains importants et des cellules pour faire des tests.

Néanmoins, vu le degré élevé de la conservation évolutive dans ce système de signalisation, et vu la haute fidélité du modèle de souris génétiquement humanisée, les scientifiques affichent un optimisme prudent sur la possibilité de faire des recherches sur le blocage thérapeutique de l'Act A chez des patients atteints de FOP. Les scientifiques du Center for Research in FOP and Related Disorders essaient actuellement de vérifier les découvertes d'Economides et de ses collègues en utilisant des cellules souches humaines ostéoprogénitrices (cellules SHED; voir The Tooth Ferry Program at the FOP Lab: SHEDding Light on FOP – dans le Vingt-quatrième rapport annuel du projet de recherche collaborative sur la Fibrodysplasie Ossifiante Progressive) qui ont été directement obtenues des patients et des contrôles. La vérification des découvertes de cette étude récente effectuée sur les cellules souches obtenues directement des patients atteints de FOP sera primordiale pour justifier cette nouvelle approche concernant les anticorps.

Contrairement aux petits inhibiteurs moléculaires qui peuvent être pris par voie orale et être absorbés par le tractus gastro-intestinal (GI), les anticorps (qui sont des protéines et sont largement connus comme biologiques) doivent être administrés par une voie différente du tractus gastro-intestinal (par exemple par voie intraveineuse ou sous-cutanée) afin de ne pas être détruits par des enzymes dégradant les protéines dans l'estomac et les intestins.

Cette récente découverte des chercheurs de Regeneron Pharmaceuticals souligne un riche contexte historique englobant toute la communauté de la recherche sur la FOP. Par exemple, l'affiliation Penn-Regeneron remonte à 1996, au Programme thérapeutique préclinique du gène *Noggin* préclinique avant la découverte du gène de la FOP.

Le 21 août 1996, le laboratoire FOP de la Penn a publié un article fondamental dans ***The New England Journal of Medicine*** décrivant l'expression excessive de BMP4 chez des patients atteints de FOP et établissant la dérégulation de la signalisation BMP comme étant une pierre angulaire dans la pathophysiologie de la FOP. Le jour suivant, Richard Harland et ses collègues de l'Université de California-Berkeley, aidés en partie par des réactifs venant de Regeneron Pharmaceuticals, ont publié un article dans le journal ***Cell***, déclarant que la *Noggin* (protéine encodée par le gène *Nog*) lie et inhibe le BMP4. La semaine suivante, le Dr Roy Vagelos, Président du Conseil de l'Université de Pennsylvanie, et Regeneron Pharmaceuticals, ont établi un lien entre le travail sur la BMP4-FOP réalisé à Penn et le travail sur la *Noggin*-BMP4 réalisé aux laboratoires de Harland et Regeneron, et ont réuni les deux groupes de recherche, collaboration qui a abouti à la publication d'un autre article fondamental, « *In vivo* somatic cell gene transfer of an engineered noggin mutein prevents BMP4-induced heterotopic ossification » (le transfert génique *in vivo* de cellules somatiques d'une mutéine de la *Noggin* prévient l'ossification hétérotopique induite par la BMP4) en 2003 dans ***Journal of Bone and Joint Surgery***. Après la découverte historique du gène de la FOP en 2006, la collaboration de scientifiques du **Center for Research in FOP and Related Disorders** et de Regeneron Pharmaceuticals a permis de développer un modèle de souris conditionnelle knock-in pour la FOP utilisé dans la découverte de l'Act A décrite ici.

Kyosuke Hino et ses collègues de l'Université de Kyoto au Japon, dans un rapport publié dans ***Proceedings of the National Academy of Sciences***, ont utilisé des cellules IPS de patients (cellules souches pluripotentes induites) pour montrer que le mACVR1 stimule de manière anormale la signalisation BMP en réponse à l'activine A, ligand qui stimule normalement la voie de signalisation TGF-beta (mais pas la voie de signalisation BMP). L'activine A renforçait la chondrogenèse des cellules mésenchymateuses stromales dérivées des cellules iPS de la FOP et induisait l'ossification endochondrale des cellules souches mésenchymateuses de la FOP induites *in vivo*. Leurs résultats étayent les découvertes de Hatsell sur le rôle de l'activine A dans l'induction sélective de l'mACVR1.

La découverte de l'Act A par les chercheurs de Regeneron Pharmaceuticals et de l'Université de Kyoto démontrent que même si l'ACVR1 est normalement stimulé par les signaux des ligands BMP pour activer la voie de la BMP, découverte qui a conduit à son identification définitive comme « gène de la FOP », les cellules peuvent aussi être déclenchées pour activer la voie BMP par l'Act A, mais uniquement dans le contexte de la FOP. L'ACVR1 a-t-il été mal nommé au début? Comme l'a clairement démontré Alfred Hitchcock, le meilleur moyen de masquer la réalité c'est de cacher les indices importants à la lumière du jour. L'ironie du sort dans cette saga, c'est que, bien que les cellules ACVR1 de type sauvage ne répondent pas à l'Act A, les cellules avec l'ACVR1 mutant entendent son appel et provoquent l'ossification hétérotopique handicapante. Comment ? Nous ne le savons pas encore. L'intrigue pourrait-elle être plus compliquée? Peut-être. Il faut continuer à chercher pour éclaircir cette découverte étonnante et déterminer sa signification concernant des individus atteints de FOP. Cependant, les implications sont on ne peut plus claires. C'est seulement l'Acte 1 de l'Act A.

Dans ses commentaires sur cette découverte, Carl Zimmer (auteur de **Mystery of the Second Skeleton; Atlantic Monthly**, June 2013) a écrit sur son blog: « Les scientifiques vont devoir relever de nombreux défis avant que l'activine A puisse devenir un médicament efficace pour la FOP. Les chercheurs doivent voir si elle marche aussi bien sur des humains que sur des souris. Mais comme les personnes atteintes de la FOP sont si sensibles aux lésions (même une piqûre intramusculaire peut déclencher un nouvel os), les essais humains réguliers ne marchent pas. Heureusement, Kaplan et ses collègues ont découvert qu'ils peuvent recueillir des cellules souches générant de l'os dans les dents de lait des enfants atteints de FOP. Ils essaient maintenant de répéter les études sur l'activine A avec ces cellules. Indépendamment du potentiel médical éventuel de cette recherche, elle nous montre à quel point les maladies rares peuvent être mystérieuses. La FOP pourrait paraître une simple maladie à soigner. Après tout, elle est simplement provoquée par une seule mutation dans un seul gène. Mais elle est en fait extrêmement complexe, car elle déränge un réseau compliqué de réactions chimiques que nos corps utilisent pour faire croître les muscles et les os. Cela fait maintenant plus d'un quart de siècle .que l'on fait des recherches pour trouver une cure pour la FOP, et pourtant personne n'a jamais pensé à prendre en compte l'Act A. Une version normale de l'ACVR1 ne transmet pas les messages de l'activine A. Partant, personne n'a jamais pensé qu'une version mutante pouvait le faire. »

B: Éteindre les flammes: la désactivation du signal d'alarme de l'hypoxie cellulaire étouffe les poussées de la FOP

Lorsque l'ecclésiastique anglais Joseph Priestly, le chimiste français Antoine Lavoisier et le pharmacien suédois Carl Scheele découvrirent l'oxygène en 1774 environ, ils prouvèrent que l'air n'était pas inerte et abordèrent la question intemporelle de savoir pourquoi et comment les choses brûlent. Mais dans le désordre génétique rare et handicapant de la fibrodysplasie ossifiante progressive (FOP), c'est, ironie du sort, le manque d'oxygène - ou plus précisément la réponse cellulaire au manque d'oxygène – qui attise les flammes des poussées de FOP. Qu'est-ce qui alimente ces feux léSIONNELS et les fait brûler ?

Après une ample recherche engagée en 2009, presque 280 ans après que John Freke eut décrit la FOP pour la première fois, les scientifiques du **Center for Research in FOP and Related Disorders** de l'Université de Pennsylvanie ont récemment apporté les premières réponses à ces questions non élucidées. Dans le ***The Journal of Bone and Mineral Research***, le chercheur de l'Université de Pennsylvanie Haitao Wang et ses collègues ont annoncé une percée majeure dans la compréhension de la FOP et indiqué de nouvelles cibles pour un traitement éventuel. Dans leur article, **Cellular Hypoxia Promotes Heterotopic Ossification by Amplifying BMP Signaling**, les auteurs examinent le rôle crucial de l'hypoxie tissulaire (manque d'oxygène) et la réponse cellulaire à l'hypoxie tissulaire dans l'induction et l'amplification des lésions de la FOP, que l'on appelle aussi « poussées ».

L'équipe de chercheurs, conduite par les Dr Robert Pignolo et Frederick Kaplan, a démontré que les cellules des lésions de FOP chez les humains et le modèle génétique de souris FOP sont visiblement hypoxiques (manquent d'oxygène), que l'hypoxie déclenche une alarme moléculaire appelée HIF-1 α (prononcer "hif un alpha"), que le HIF-1 α amplifie la signalisation de la protéine morphogénique osseuse (BMP) dans les cellules privées d'oxygène et stimule l'ossification hétérotopique. En désactivant l'HIF-1 α par des moyens génétiques ou pharmacologiques, la signalisation BMP est rétablie à des niveaux normoxiques dans les cellules progénitrices humaines de l'os et réduit profondément l'ossification hétérotopique et l'invalidité qui en découle chez un modèle de souris FOP.

En 2006, les chercheurs du **Center** ont annoncé la découverte du gène de la FOP et la mutation récurrente du récepteur BMP de type I appelé récepteur activine A type I (ACVR1) qui se produit chez les individus atteints de FOP classique. La mutation classique de l'ACVR1 (mACVR1) amène la protéine ACVR1, récepteur de surface cellulaire, à être légèrement hyperactive, stimulant ainsi continuellement la voie BMP, comme un robinet qui coule alors qu'il devrait être fermé. Néanmoins, malgré la présence du mACVR1 chez tous les patients FOP, les individus atteints de FOP ne forment pas des os continuellement, mais plutôt épisodiquement au cours des poussées, indice important qui amène à croire que « quelque chose d'autre » pourrait bien alimenter le processus de formation de la lésion. Une piste importante est ressortie des études effectuées sur les lésions mêmes de la FOP. Toutes les poussées de FOP, spontanées ou déclenchées par un traumatisme, sont associées à l'inflammation, cause bien connue du manque d'oxygène (hypoxie) des cellules et des tissus. L'oxygène – ou son manque – pourrait-il jouer un rôle ?

Chaque cellule a besoin d'oxygène pour générer de l'énergie et conserver la viabilité. Quand on est en bonne santé, le sang transporte l'oxygène aux cellules et aux tissus du corps. Chaque cellule génère de l'énergie à partir des nutriments et de l'oxygène qu'elle reçoit, et utilise cette énergie pour maintenir la membrane cellulaire, produire de nouvelles protéines et maintenir la viabilité.

Au fil des âges, les cellules ont développé un système d'alarme sophistiqué pour répondre aux conditions hypoxiques. La réponse cellulaire à l'hypoxie est contrôlée par le facteur inductible par l'hypoxie (HIF) de la famille des protéines, en particulier l'HIF1- α – alarme moléculaire qui permet à une cellule de répondre immédiatement au danger imminent de manque d'oxygène. Chaque cellule produit constamment l'HIF1- α mais le détruit rapidement dès que la cellule a un apport d'oxygène adéquat. Lorsqu'une cellule manque d'oxygène, les enzymes qui inactivent l'HIF1- α cessent instantanément de fonctionner, permettent à l'HIF1- α d'échapper à la destruction, entrent dans le noyau cellulaire et déclenchent une alarme qui incite les gènes à s'adapter à un microenvironnement de faible teneur en oxygène et, par conséquent, à survivre.

L'hypoxie peut être causée pour de nombreuses raisons, mais dans les poussées précoces de FOP, nous pensons que l'hypoxie pourrait être le résultat d'un microenvironnement présentant un œdème ou une inflammation où l'apport d'oxygène au tissu endommagé est affaibli et où le besoin d'oxygène des cellules endommagées dépasse largement son apport. Pour commencer, nous avons examiné les biopsies lésionnelles des poussées de FOP qui ont été obtenues par

erreur de patients avant un diagnostic correct de FOP. En plus, nous avons examiné des lésions de FOP de souris génétiquement préparées pour former un os hétérotopique de type FOP. Chez les humains comme chez les souris, nous avons découvert que les cellules des lésions inflammatoires précoces de la FOP étaient profondément hypoxiques (manquant d'oxygène).

Pour comprendre les implications du manque d'oxygène dans les lésions de la FOP, nous avons examiné les effets de l'hypoxie sur les cellules ostéoprogénitrices humaines (cellules SHED; voir **The Tooth Ferry Program at the FOP Lab: SHEDding Light on FOP** – in Vingt-quatrième rapport annuel du Projet de Recherche collaborative sur la fibrodysplasie ossifiante progressive) directement de patients FOP et de contrôles. Ces cellules progénitrices similaires aux cellules souches peuvent être amenées à se différencier en d'autres cellules fibreuses *in vitro*, en cellules cartilagineuses ou cellules osseuses, types de cellules qui alimentent progressivement les lésions de la FOP dans leur processus de formation osseuse.

Quand les cellules SHED de patients FOP présentaient un manque d'oxygène, elles formaient du cartilage, passage obligé avant la formation de l'os dans la FOP. Mais les cellules SHED de la FOP montraient aussi une augmentation importante tant de l'intensité que de la durée de la signalisation BMP dans des conditions hypoxiques. Même si les BMP étaient empêchées d'atteindre les cellules de la FOP, le mACVR1 restait extrêmement actif dans des conditions hypoxiques, bien au-dessus de son niveau de base dans des conditions normoxiques (microenvironnement avec un apport en oxygène normal). Cela portait à croire que la signalisation BMP accrue observée dans des conditions hypoxiques est le résultat d'un changement produit à l'intérieur des cellules qui affecte la circulation et le transit du récepteur, plutôt que d'un changement produit à l'extérieur des cellules par les BMP ou autres ligands agissant sur le récepteur. Mais pourquoi l'apport d'oxygène à une cellule FOP devrait-il être lié à la circulation et au transit du récepteur ou au niveau de la signalisation BMP ? Et, si un lien existe, lequel ? Nous avons commencé à faire des recherches.

Un indice inattendu nous a été fourni par la recherche sur le cancer effectuée par des scientifiques qui venaient de découvrir que l'hypoxie prolonge l'activité des récepteurs de cellules de surface en retardant leur arrivée dans le dispositif d'élimination des déchets où elles sont généralement détruites après usage. Si une cellule n'a pas assez d'oxygène pour générer de l'énergie en vue de fabriquer de nouvelles protéines, elle s'adapte en gardant ses vieilles protéines – comme si l'on gardait une vieille voiture en temps de grandes difficultés économiques plutôt que de l'envoyer à la casse et d'en acheter une neuve. Une vieille voiture ne roule peut-être pas aussi

bien qu'une neuve, mais elle vous emmène là où vous voulez, et vous ne feriez pas faillite si vous tombiez en panne ! Les chercheurs sur le cancer ont découvert que cette réponse adaptative aide les cellules normales à s'adapter aux conditions d'hypoxie mais, ironie du sort, stimulent les cellules cancéreuses en conservant les récepteurs mutants qui conduisent le processus du cancer. Quelque chose de semblable pourrait-il se produire dans le cas de la FOP?

En effet, l'ACVR1 est un récepteur de surface cellulaire. Nous avons pensé que, par conséquent, l'hypoxie, qui est une condition du microenvironnement que nous avons documentée dans les lésions précoces de la FOP, pourrait causer une rétention importante de mACVR1 dans les cellules lésionnelles de la FOP, similaire à la manière dont l'hypoxie amène les cellules cancéreuses à retenir leurs récepteurs mutants et donc à alimenter le processus du cancer.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons examiné l'effet de l'hypoxie sur l'activité de l'ACVR1 dans les cellules SHED de patients atteints de FOP et des témoins. Nous avons fait une découverte étonnante. Dans des conditions de normoxie (microenvironnement normalement oxygéné) chez les témoins et les cellules SHED de la FOP, l'ACVR1 était recyclé, après usage, au dispositif de déchets des cellules. Cependant, dans des conditions d'hypoxie, le mACVR1 (dans les cellules SHED de la FOP) était retenues dans des endosomes (vésicules cellulaires), où il continuait d'envoyer des signalisations pendant plus longtemps et à un niveau élevé. Mais pourquoi en est-il ainsi ? Nous étions déterminés à creuser davantage pour comprendre le mécanisme de ce sabotage.

Nous sommes retournés à la recherche sur le cancer pour y trouver d'autres indices. Nous avons pensé que tant le cancer (presque tous les types) que le cartilage (le tissu pré-osseux qui se forme dans lésions de la FOP), prospèrent dans des conditions hypoxiques (où une grande partie des tissus étouffent sous hypoxie). Les chercheurs sur le cancer ont découvert que l'HIF1- α , l'alarme moléculaire qui signale le danger aux gènes cellulaires dans un microenvironnement hypoxique, arrête brusquement la production de Rabaptine-5, une protéine importante qui accompagne les récepteurs jusqu'au dispositif de déchets des cellules. Par conséquent, les récepteurs mutants s'attardent et continuent d'alimenter le cancer. Quand nous avons soumis les cellules SHED de la FOP aux mêmes conditions hypoxiques que celles du cancer (et que nous avons démontrées dans les lésions de la FOP), nous avons découvert exactement la même chose que les chercheurs sur le cancer : l'HIF1- α désactive la Rabaptine-5. Par conséquent, le mACVR1 était retenu dans les endosomes cellulaires, permettant aux cellules hypoxiques de transmettre des

signaux BMP dangereux venant de l'mACVR1 des niveaux plus élevés et pendant plus longtemps, amplifiant ainsi fortement un signal déjà hyperactif de la mutation même. Quand nous avons ramené les niveaux de Rabaptine-5 dans les cellules à la normalité, les cellules ont poussé un soupir de soulagement car la signalisation BMP élevée est revenue à des niveaux normoxiques, indiquant que la Rabaptine-5 effectuait la médiation.

Qui plus est, lorsque l'alarme HIF1- α était désactivée, génétiquement ou à l'aide de médicaments, les niveaux de Rabaptine-5 redevenaient normaux, le mACVR1 était accompagné au dispositif de déchets des cellules, et les signaux BMP redescendaient aux niveaux de références existant dans des conditions de normoxie, indiquant ainsi que l'HIF1- α menait tout le processus. Alors que la FOP n'est pas un cancer, les deux conditions ont quelque chose de fondamental en commun. Tant la FOP que le cancer exploitent le système d'alarme HIF1- α de l'hypoxie cellulaire à leur avantage, en prolongeant l'activité des récepteurs mutants qui amplifient de manière importante des voies de signalisation déjà hyperactives et mènent leur processus à leur conclusion inexorable. Les cellules hypoxiques des lésions de la FOP déclenchent une alarme (HIF1- α) uniquement pour découvrir que la voiture de pompiers appelée pour éteindre le feu, jette de l'essence sur lui ! Donc, non seulement le mACVR1 altère le seuil de base pour la formation d'os hétérotopique, mais aussi le microenvironnement tissulaire qu'il aide à créer déclenche une réponse cellulaire qui augmente les dégâts.

Bien que de nombreux composés chimiques inhibent l'HIF-1 α dans les cellules, seule une petite quantité d'entre eux ont prouvé leur efficacité pour inhiber l'HIF-1 α *in vivo*. Ces inhibiteurs pharmacologiques qui ont bloqué l'HIF1- α dans des cellules FOP *in vitro* pourraient-ils faire de même dans des lésions FOP *in vivo*, ramenant des signaux BMP amplifiés à des niveaux normoxiques, et empêchant l'ossification hétérotopique et l'invalidité conséquente chez les souris FOP? Pour le vérifier, nous avons prétraité des souris FOP par placebo ou par l'un des trois inhibiteurs pharmacologiques qui bloquent l'activité de l'HIF1- α , et ensuite induit les poussées de FOP par injection intramusculaire. Nous avons découvert que l'ossification hétérotopique était considérablement réduite et que le mouvement était préservé chez les souris FOP recevant l'un des trois inhibiteurs de l'HIF1- α en comparaison avec les souris témoins qui avaient reçu un placebo.

Les inhibiteurs de l'HIF-1 α examinés dans les cellules SHED et chez les modèles d'animaux étaient l'apigénine, l'imatinib et le PX-478. L'apigénine est un inhibiteur naturel de l'HIF-1 α que l'on trouve dans le persil et autres aliments. L'imatinib,

inhibiteur utilisé pour traiter plusieurs cancers, est un inhibiteur puissant de l'HIF-1 α . Bien que l'imatinib ait des effets secondaires, il a été choisi en raison de sa disponibilité et de sa faible toxicité. Le PX-478 est un inhibiteur expérimental puissant de l'HIF-1 α .

Notre étude a montré que l'imatinib, l'apigénine et le PX-478 inhibent fortement la signalisation BMP dérégulée induite par l'HIF-1 α *in vitro*, ainsi que l'ossification hétérotopique due à une lésion tissulaire chez un modèle de souris FOP. Dans tous les cas, il est possible que ces composés affectent également l'ossification hétérotopique par des mécanismes autres que le couplage des voies HIF-1 α -BMP. Les conséquences pour les essais cliniques ciblés et pour l'utilisation clinique mieux maîtrisée des inhibiteurs de l'HIF-1 α sont prometteuses, mais nous avons peu de données sur le dosage, la durée, le timing, le rebond, la résistance et la sécurité à long terme de ces inhibiteurs de l'HIF-1 α . Il faut donc faire preuve de prudence à l'heure qu'il est.

Dans une étude publiée dans ***The Proceedings of the National Academy of Medicine***, Agarwal et ses collègues de l'Université du Michigan montrent que l'inhibition de l'HIF1- α prévient l'ossification hétérotopique génétique et celle induite après un trauma. Avec une approche différente, cette étude confirme la véracité de l'HIF1- α comme cible dans l'HEO.

Les études novatrices citées ici étayaient l'idée que les lésions de la FOP prospèrent dans un microenvironnement hypoxique, pas seulement à cause du manque d'oxygène, mais aussi à cause d'une réponse inappropriée à l'hypoxie de la part de l'alarme moléculaire HIF1- α , de manière analogue à ce qui se produit dans le cancer. En désactivant l'HIF1- α , la quantité d'ossification hétérotopique et l'invalidité fonctionnelle qui en découle sont fortement réduites chez un modèle de souris FOP.

La génération d'un microenvironnement hypoxique dans un muscle squelettique blessé semble être une étape cruciale dans la formation de l'os hétérotopique. Nos études prouvent que la signalisation BMP dans les lésions de la FOP est indépendante du ligand BMP dans des conditions hypoxiques tant en ce qui concerne une lésion induite chez un modèle animal FOP que des lésions spontanées chez un patient atteint de FOP. Cependant, l'inflammation induite par blessure est une réponse physiologique complexe au dommage tissulaire impliquant les cellules immunitaires, les cellules progénitrices et les facteurs analogues aux hormones sécrétées. Ainsi, tandis que l'hypoxie conduit la signalisation BMP indépendamment du ligand, d'autres réponses dans le microenvironnement pourraient dépendre du

ligand et déboucher sur une régulation plus complexe de l'ossification hétérotopique dans la FOP.

Même si cette étude s'est focalisée sur la réponse cellulaire à l'hypoxie dans le développement des poussées de FOP, elle a également vérifié l'existence d'une hypoxie cellulaire dans les formes non génétiques de FOP, ouvrant ainsi la porte à la modulation de la réponse cellulaire à l'hypoxie dans des formes plus communes d'ossification hétérotopique.

Notre étude a évalué le rôle de l'hypoxie cellulaire dans l'induction et l'amplification épisodiques des poussées de FOP et a établi que l'oxygène cellulaire détecté dans l'HIF1- α est un régulateur crucial de la voie de signalisation BMP et de l'ossification hétérotopique dans la FOP. En ce qui concerne les personnes atteintes de la FOP, notre étude identifie l'HIF1- α comme une cible thérapeutique importante pour la FOP; cette connaissance nouvelle va probablement contribuer au développement de traitements plus efficaces pour la FOP et pour des troubles communs d'ossification hétérotopique. En général, quand le niveau d'oxygène est bas, le feu s'éteint. Pour les lésions de la FOP comme pour le cancer, quand l'oxygène est éteint, le feu se développe. La désactivation de l'alarme d'hypoxie cellulaire étouffe les poussées de la FOP.

Partie III:

Horizons thérapeutiques

L'intérêt démontré au niveau mondial au sujet de la recherche sur la FOP est monté en flèche après la découverte historique du gène de la FOP en 2006. La recherche sur la FOP est maintenant une entreprise mondiale.

Le concept de médicaments orphelins pour traiter des maladies orphelines a été largement adopté au cours de ces dernières années, concept qui a amené l'industrie à faire de gros investissements sur la recherche. Des sociétés pharmaceutiques et biotechnologiques ont exprimé leur profond intérêt envers la FOP et sont engagés dans une véritable course aux armements pour créer de meilleurs traitements et une cure pour la FOP. L'écrivain scientifique Carl Zimmer a écrit : « Les sociétés pharmaceutiques se sont de plus en plus intéressées aux maladies rares au cours de ces dernières années, parce que, paradoxalement, le marché des maladies rares pourrait devenir très profitable. »

Au moins huit sociétés pharmaceutiques ou biotechnologiques travaillent actuellement sur le développement d'inhibiteurs kinases pour la FOP; six au moins travaillent sur le développement de pièges à ligands ou anticorps; quatre au moins travaillent sur le développement d'une technologie des petits inhibiteurs ARN et deux au moins travaillent sur des approches cellulaires et microenvironnementales alternatives, tous stimulés par la découverte du gène de la FOP et par l'identification de sa solide cible thérapeutique, le kinase récepteur et ses molécules et voies qui interagissent.

La découverte du gène de la FOP en 2006 a transformé l'histoire de la FOP et a immédiatement révélé au moins quatre approches pour le traitement et/ou la prévention de la FOP. Ces quatre approches ont été examinées dans le détail dans le 24^e Rapport annuel de l'année dernière.

Ces approches sont:

1. Bloquer l'activité du récepteur mutant (ACVR1/ALK2) qui provoque un signal de la voie BMP accrue (à travers quatre stratégies possibles qui comprennent : anticorps monoclonaux, inhibiteurs de la transduction du signal (STI), ARN inhibiteur et antagonistes sécrétés).
2. Inhiber les déclencheurs inflammatoires des poussées de FOP.
3. Diriger les cellules souches de la FOP vers un tissu alternatif autre que le cartilage ou l'os.
4. Bloquer la réponse du corps aux signaux microenvironnementaux qui provoquent la formation et/ou l'amplification des lésions de la FOP.

Une vision contemporaine des possibilités thérapeutiques pour la FOP place le récepteur muté au centre de l'horizon thérapeutique et est résumée dans le tableau ci-dessous (schéma hypothétique pour le développement de médicaments pour la FOP).

Dans le présent rapport annuel, nous nous concentrons sur de nouvelles découvertes majeures décrites dans une étude publiée du **Center for Research in FOP & Related Disorders**.

Les découvertes de cette étude préclinique revêtent une grande importance pour la Phase II des essais actuellement menés avec le palovarotène dans le cadre de la FOP.

Les scientifiques du **Center for Research in FOP and Related Disorders** de l'Université de Pennsylvanie, dans un article paru récemment dans ***The Journal of Bone and Mineral Research***, ont annoncé une percée majeure dans l'évaluation du rôle du palovarotène dans la FOP. Dans leur article « **Palovarotene inhibits heterotopic ossification and maintains limb mobility and growth in mice with the human ACVR1R206H FOP fibrodysplasia ossificans progressive (FOP) mutation** », (Le palovarotène inhibe l'ossification hétérotopique et maintient la mobilité et la croissance des membres chez les souris présentant la mutation FOP avec l'ACVR1R206H humain), les auteurs, le Dr. Salin Chakkalakal, le Dr. Eileen Shore et leurs collègues Masahiro Iwamoto, Maurizio Pacifici et Fred Kaplan expliquent que le palovarotène prévient l'ossification hétérotopique spontanée chez

des modèles de souris conditionnelles knock-in présentant la mutation classique de la FOP. En outre, le palovarotène restaure la croissance des os longs, maintient la fonction du cartilage de croissance et protège les souris nouveau-nées FOP lorsqu'il est administré aux mères allaitantes. Et, chose très importante, le palovarotène conserve la mobilité des articulations, des membres et du corps, prouvant son potentiel thérapeutique pour un traitement de la FOP.

Dans un éditorial intitulé « Learning more about Palovarotene » (En savoir plus sur le palovarotène), les auteurs écrivent ceci:

L'ossification hétérotopique (HO) dans la fibrodysplasie ossifiante progressive (FOP) est un processus qui se déroule en plusieurs étapes, qui comprend une étape intermédiaire de formation du cartilage et se termine par la formation d'os minéralisé mature dans des tissus mous comme les tissus squelettiques. Ce processus allant du cartilage à l'os est connu sous le nom d'ossification endochondrale. Le but premier de la recherche sur la FOP est d'identifier des traitements efficaces pour empêcher la formation d'os endochondral en dehors du squelette, qui commence tôt pendant l'enfance et évolue toute la vie durant. Une étape clé a été atteinte en juillet 2014 avec la mise en place de la phase 2 d'un essai clinique multicentrique pour la FOP. Le médicament évalué dans la phase 2 des essais est le palovarotène, agoniste rétinoloïde qui active un composant spécifique de la voie de signalisation de l'acide rétinoloïque (RAR γ) dans les cellules et les tissus.

L'essai clinique pour la FOP a été mis en place sur la base de la solidité d'études effectuées par les Dr Iwamoto et Pacifici et leurs collaborateurs, démontrant que les agonistes RAR γ sont particulièrement puissants pour prévenir l'ossification hétérotopique à l'étape du cartilage et pouvaient la bloquer chez des modèles de souris dans le cas de lésions ou de causes génétiques. Le palovarotène est un médicament préalablement testé pour l'emphysème. Même si ce médicament n'a pas été développé pour traiter l'emphysème, il ne provoque que peu d'effets secondaires dans la phase 2 des essais cliniques sur des adultes.

Cependant, de nombreuses questions sont restées sans réponse en ce qui concerne le palovarotène et son utilisation pour traiter la FOP, y compris celle de savoir s'il pouvait être efficace pour prévenir l'ossification hétérotopique déclenchée par la mutation humaine commune *ACVR1^{R206H}* de la FOP, s'il pouvait améliorer la fonction squelettique et la mobilité des articulations, et s'il pouvait effectivement freiner le processus normal d'ossification endochondrale requise pour la croissance du squelette et l'élongation pendant l'enfance.

Ces questions et d'autres qui s'y rattachent ont fait l'objet d'une étude publiée récemment dans le *Journal of Bone and Mineral Research*: **Palovarotene inhibits heterotopic ossification and maintains limb mobility and growth in mice with the human *ACVR1*^{R206H} Fibrodysplasia Ossificans Progressiva (FOP) mutation** (Le palovarotène inhibe l'ossification hétérotopique et maintient la mobilité et la croissance des membres chez les souris présentant la mutation humaine *ACVR1*^{R206H} de la fibrodysplasie ossifiante progressive – FOP). Cette étude est le fruit d'un effort conjoint et le résultat d'une collaboration très fructueuse entre les chercheurs de l'Hôpital pédiatrique de Philadelphie (Kenta Uchibe, Maurizio Pacifici, Masahiro Iwamoto) et du Center for Research in FOP and Related Disorders de l'École de médecine de l'Université de Pennsylvanie (Salin Chakkalakkal, Michael Convente, Deyu Zhang, Frederick Kaplan, Eileen Shore).

Les résultats de cette étude apportent un soutien solide au palovarotène comme traitement efficace potentiel non seulement pour prévenir l'ossification hétérotopique dans le cas de la FOP, mais aussi pour protéger et soutenir la croissance du squelette et la fonction des articulations..

Les auteurs avaient au préalable créé et décrit des souris transgéniques dans lesquelles ils avaient inséré la mutation R206H dans le gène *ACVR1*. Les souris reproduisaient la FOP humaine et développaient l'ossification hétérotopique et ses malformations caractéristiques de l'orteil, mais le modèle ne permettait pas le lancement du processus d'ossification hétérotopique à des moments spécifiques, comme c'est souvent le cas chez les patients atteints de FOP à la suite d'une poussée. Dans l'étude actuelle, nous avons utilisé un nouveau modèle de souris « conditionnelle » permettant l'activation de la mutation à notre gré, et permettant l'ajustement du timing et de la localisation, ainsi que les types de cellules exprimant la mutation selon la question à laquelle il fallait répondre. Le modèle de souris FOP conditionnelle a été créé par Aris Economides et ses collègues de Regeneron Pharmaceuticals en collaboration avec les chercheurs de Penn. Le Dr. Economides est également le co-auteur de l'étude actuelle.

Dans une première série d'expériences, la mutation de la FOP a été activée dans toutes les cellules de jeunes souris et on a constaté qu'une blessure des muscles du squelette induit la formation locale d'ossification hétérotopique, comme c'est le cas chez les enfants atteints de FOP. Cependant, lorsque ces souris étaient traitées avec le palovarotène, l'ossification hétérotopique était faible et son processus s'est interrompu au stade de la formation du cartilage, comme on s'y attendait. En outre, le

palovarotène a suscité des effets bénéfiques au premier stade de la formation d'ossification hétérotopique, à savoir une réponse immunitaire cellulaire réduite.

Une conséquence fonctionnelle grave de l'ossification hétérotopique pendant la FOP est qu'elle peut gêner, voire bloquer complètement la mobilité du squelette et la fonction articulaire. Les souris traitées au palovarotène ont gardé une bonne fonction du squelette et une bonne mobilité, ce qui est très prometteur.

La mutation *ACVR1^{R206H}* est susceptible d'affecter les cellules pendant le développement embryonnaire car la plupart des patients atteints de FOP présentent une malformation du gros orteil dès la naissance. En vue de déterminer si le nouveau modèle de souris conditionnelle pouvait reproduire ce trait caractéristique de la FOP, la mutation *ACVR1^{R206H}* a été activée dans les cellules des membres embryonnaires en développement à l'aide d'une approche génétique (*Prrx1+* cellules). Il faut remarquer que la mutation a dû être limitée à ces cellules parce que nous avons appris de nos études précédentes que l'activation générale de la mutation dans tout le corps dans les embryons de souris était trop agressive et provoquait une mort prématurée.

Lorsque les souris *Prrx1-ACVR1^{R206H}* (souris *Prrx1-R206H*) ont été examinées à leur naissance, les premiers doigts des pattes arrière (l'équivalent chez les souris des gros orteils chez les humains) étaient effectivement malformés. De manière analogue aux enfants atteints de FOP, les souris nouveau-nées ne présentaient pas d'ossification hétérotopique, mais ont commencé à développer spontanément l'ossification hétérotopique à l'âge de 2 à 4 semaines environ. L'os s'est formé de manière consistante en dehors du squelette et en l'absence de blessure. Comme la mutation était active uniquement dans les cellules des membres, les souris ne développaient pas d'ossification hétérotopique dans d'autres parties du corps qui sont souvent affectées chez les patients atteints de FOP, telles que le dos et le cou.

Les souris *Prrx1-R206H* étaient légèrement plus petites que leurs frères et sœurs sans mutation. La mesure de la longueur de plusieurs os des membres a montré que les os étaient généralement plus courts chez les souris FOP. Des os tels que le fémur dans la jambe et l'humérus dans le bras grandissent généralement en longueur à travers l'expansion et le développement de cellules dans les « cartilages de croissance » placés à chaque bout près des articulations. Cette expansion, comme l'ossification hétérotopique dans la FOP, se produit à travers le processus de l'ossification endochondrale. Lorsque nous avons examiné les cartilages de croissance des souris *Prrx1-R206H*, nous avons découvert une réduction significative

dans la région du cartilage de croissance qui contient les cellules cartilagineuses plus matures et est responsable de l'élongation des os longs.

L'ossification hétérotopique chez les souris *Prrx1-R206H* se forme en l'absence de blessure, et cet élément nous a permis de vérifier l'efficacité du palovarotène dans le cas d'ossification hétérotopique spontanée. Comme celle-ci ne commence qu'après la naissance chez les souris, nous avons commencé le traitement avec le palovarotène à la naissance. Le palovarotène a été administré à des mères souris qui allaitaient pendant les deux premières semaines, nous attendant à ce que le médicament soit transmis aux petits par l'allaitement. Il a ensuite été administré directement aux souris âgées de deux semaines, et ce pendant deux autres semaines jusqu'à ce qu'elles aient un mois. A la fin de cette période, les souris *Prrx1-R206H* qui n'avaient pas été traitées avec le palovarotène avaient une ossification hétérotopique importante, tandis que celles qui avaient reçu le traitement en avaient une très réduite.

Nous avons aussi examiné les effets du palovarotène sur l'élongation des os et les cartilages de croissance. Quant les souris sans mutation FOP étaient traitées avec le palovarotène, la croissance du squelette était légèrement réduite et la fonction du cartilage de croissance était un peu diminuée, conformément aux effets connus d'autres agonistes rétinoides sur la croissance du squelette. Cependant, lorsque les souris *Prrx1-R206H* étaient traitées au palovarotène, la croissance et l'élongation des os longs étaient sensiblement améliorées et similaires à celles des souris non traitées sans mutation FOP. En outre, et c'est très important, les cartilages de croissance des souris *Prrx1-R206H* traitées au palovarotène avaient retrouvé une apparence quasiment normale, et les souris gardaient leur mobilité et leur fonctionnalité dans le temps.

Individuellement, tant le traitement avec le palovarotène que l'activité de signalisation BMP fondamentale accrue par la mutation *ACVR1^{R206H}* peuvent compromettre une croissance osseuse normale du squelette. Comme le traitement au palovarotène bloque l'ossification hétérotopique et corrige les anomalies squelettiques chez les souris *Prrx1-R206H*, nos données indiquent qu'il y a un bon équilibre entre la signalisation BMP et les rétinoides – et tout particulièrement entre l'*ACVR1* et les *RAR γ* – qui est crucial pour la fonction du cartilage de croissance et la croissance du squelette. Une caractérisation des interactions entre l'*ACVR1* et les *RAR γ* pourra non seulement nous aider à mieux comprendre l'action et les mécanismes de ces régulateurs clés, mais aussi nous aider à trouver de nouvelles cibles thérapeutiques et d'éventuels traitements plus efficaces.

En résumé, les buts de cette étude étaient de déterminer si le palovarotène peut bloquer l'ossification hétérotopique provoquée par la mutation ACVR1^{R206H} humaine et si le médicament pouvait aussi corriger d'autres anomalies squelettiques causées par la mutation. Les résultats obtenus démontrent clairement que le palovarotène peut le faire et, ce qui est important, semble à même d'agir sur des nouveau-nés par l'intermédiaire du lait de leur mère. Tandis que les mécanismes à travers lesquels le palovarotène et l'ACVR1^{R206H} interagissent restent à éclaircir, nos découvertes représentent une étape importante dans la question de savoir si le palovarotène est un traitement préventif efficace pour la FOP, en l'administrant éventuellement dès l'enfance.

L'ossification hétérotopique altère terriblement le bien-être des patients atteints de FOP parce qu'elle interfère et limite progressivement diverses fonctions du corps, notamment la marche, la flexion, la respiration, la mastication et la déglutition. Comme le palovarotène inhibe le stade cartilagineux de l'ossification endochondrale hétérotopique, il devrait être administré à chaque poussée pour réduire ou si possible prévenir un nouveau cycle d'ossification hétérotopique, si possible dès le plus jeune âge. Une fois formée, l'ossification hétérotopique est permanente chez les patients atteints de FOP ; l'os ectopique ne peut pas être enlevé par la chirurgie parce que le dommage tissulaire qui en résulte enclenche de nouveaux épisodes d'ossification hétérotopique. Vu le pouvoir du palovarotène à prévenir une ossification hétérotopique spontanée ou induite par blessure, il peut potentiellement supprimer le départ d'ossification hétérotopique suivant un acte chirurgical chez les patients atteints de FOP, un succès thérapeutique est effectivement possible. Le rétablissement presque complet de la structure et de la fonction du cartilage de croissance que nous avons observé chez les souris FOP traitées au palovarotène laisse espérer qu'un traitement médicamenteux des patients au squelette immature pourra supprimer l'ossification hétérotopique pendant l'enfance en rétablissant la croissance du squelette, objectif qui semblait autrefois inatteignable avec un agoniste rétinoloïde.

Pour la première fois nous avons démontré que le palovarotène:

Prévient l'ossification hétérotopique provoquée par une mutation qui se produit chez les patients humains. La mutation ACVR1 (R206H) examinée dans notre étude est la mutation la plus commune constatée chez les patients atteints de FOP.

Corrige les anomalies de la croissance osseuse mutante et préserve la fonction articulaire.

Peut être administré aux mères qui allaitent pour inhiber l'ossification hétérotopique chez les nourrissons, ouvrant la possibilité d'une intervention sûre et précoce, voire prénatale, pour l'ossification hétérotopique chez les enfants.

Rétablit la fonction du cartilage de croissance chez les mutants, contrastant les effets préjudiciables prédits sur des cartilages de croissance de type sauvage, effet secondaire bien connu des rétinoïdes. Cette observation indique que les cellules et les tissus mutants et de type sauvage répondent différemment à ce médicament, observation extrêmement importante pour les essais cliniques et les tests de médicaments, ainsi que pour l'innocuité et l'usage de médicaments.

Les données résultant de cette étude étayent fortement la capacité du palovarotène non seulement de prévenir l'ossification hétérotopique, mais aussi de rétablir la croissance des os longs et de conserver la fonction et la mobilité des articulations. Nos données prouvent que non seulement le palovarotène est extrêmement efficace, mais qu'il pourrait être administré en toute sécurité aux enfants atteints de FOP, offrant ainsi la première possibilité d'un traitement préventif chronique pour la FOP.

Partie IV:

Mise à jour

Infrastructure pour une cure

Tandis que les essais cliniques en cours ont été une étape clé l'année dernière, un engagement pour l'**infrastructure** des essais cliniques, nécessaire pour toute avancée clinique dans le cadre de la FOP, a continué à faire l'objet de notre attention.

Pour que la communauté de la FOP puisse tenir la promesse de traitements meilleurs et éventuellement d'une cure, nous avons besoin d'une **infrastructure pour une cure** – au concept semblable à celui des réseaux d'autoroutes, des systèmes de transports de masse, des réseaux électriques et des réseaux de communication permettant aux sociétés de fonctionner.

Les grandes entreprises scientifiques et médicales, comme les grandes nations, ont besoin d'une **infrastructure** solide et robuste. L'**infrastructure pour une cure** est une priorité vitale du **Center**, et elle facilitera la découverte et le développement de médicaments et l'organisation d'essais clinique qui permettront à la communauté FOP tout entière de piloter de meilleurs traitements et une cure. De même qu'un grand projet de travaux publics, elle nécessitera les efforts de toute la communauté FOP internationale pour atteindre ce but et nous avons adopté pleinement ce concept.

L'infrastructure pour une cure est composée de cinq éléments essentiels :

1. Infrastructure de l'histoire naturelle
2. Infrastructure des biomarqueurs
3. Infrastructure des modèles de souris
4. Infrastructure des communications

5. Infrastructure du Registre général.

Dans cette section du rapport annuel, nous allons développer notre vision d'une **infrastructure de cure** et expliquer ce que nous avons fait au **Center for Research in FOP & Related Disorders** au cours de l'année dernière pour faciliter son développement.

1. Infrastructure de l'histoire naturelle

L'histoire naturelle des poussées de fibrodysplasie ossifiante progressive (FOP):

Analyse globale complète

Des études globales sur l'histoire naturelle de la FOP sont nécessaires pour déterminer les mesures des résultats pour le concept d'essais cliniques informatifs d'agents pouvant modifier la maladie. Ces mesures devraient être des étapes clés du point de vue clinique et devraient permettre de prévoir les résultats, comme l'apparition d'ossification hétérotopique ou le changement fonctionnel dû à l'ossification hétérotopique. Des différences cliniquement importantes comme la préservation de la fonction articulaire doivent être comprises dans le contexte d'une évaluation globale.

Les études faites précédemment sur l'histoire naturelle de la FOP datent de plus de vingt ans, évaluant un nombre limité de sujets (environ 40), et ont été effectuées avant l'ère du traitement symptomatique des exacerbations (poussées) par des corticostéroïdes. En outre, ces études n'avaient pas un caractère global car la communauté FOP était petite et régionale. Au cours de ces vingt dernières années, la communauté organisée de la FOP a considérablement grandi, notamment grâce à l'effort des patients, des médecins et des familles intéressés et à l'évolution rapide de l'Internet et des réseaux sociaux.

Nous sommes fiers d'exposer les résultats d'une enquête prospective et transversale au niveau mondial sur les poussées – exacerbations épisodiques qui débouchent dans le temps sur une ossification hétérotopique handicapante - chez les patients atteints de FOP. Cette étude réalisée par Pignolo et ses confrères du **Center for Research in FOP & Related Disorders** a été publiée récemment dans ***The Journal of Bone and Mineral Research***. Vous pouvez trouver l'article dans son intégralité sur le site de l'IFOPA. Nous en donnons un résumé ci-dessous :

Une enquête contenant 78 questions sur les poussées de FOP, traduite en 15 langues, a été envoyée à 685 patients atteints d'une FOP classique dans 45 pays (six continents). Cinq cents patients ou informateurs compétents ont répondu (73%; 44% hommes, 56% femmes; âge: 1 à 71 ans ; moyenne : 23 ans). Les symptômes les plus répandus de poussées étaient: enflure (93%), douleur (86%) ou mobilité réduite (79%). Parmi ces personnes 71% avaient eu une poussée dans les 12 mois précédents (52% spontanée; 48% à la suite d'un traumatisme). Parmi elles, 25% ayant eu une injection intramusculaire ont eu une poussée immédiate à l'endroit de l'injection, dont 84% avaient eu une ossification hétérotopique. Les poussées axiales touchaient surtout le dos (41.6%), le cou (26.4%) ou la mâchoire (19.4%). Les poussées touchaient surtout les membres supérieurs avant l'âge de 8 ans, mais surtout les membres inférieurs après cet âge. Les poussées appendiculaires se produisaient plus souvent au niveau proximal qu'au niveau distal, indépendamment du côté.

Soixante-dix pour cent des patients avaient une perte de fonctionnalité après une poussée. Trente-deux pour cent ont eu une résolution complète après au moins une poussée et 12% n'ont eu aucune perte de fonctionnalité (généralement au niveau de la tête ou du dos). Les poussées les plus handicapantes se sont produites au niveau des épaules ou des hanches. Ce qui est surprenant, c'est que 47% des patients ont eu une progression de FOP sans poussées apparentes. Au niveau mondial, 198 traitements ont été appliqués, pour la plupart au moyen d'agents anti-inflammatoires. Soixante-quinze pour cent ont utilisé des glucocorticoïdes à court terme pour traiter les poussées au niveau appendiculaire. Cinquante-cinq pour cent ont déclaré que les glucocorticoïdes ont amélioré occasionnellement les symptômes, tandis que 31% ont déclaré qu'ils le faisaient toujours. Seuls 12% ont eu une résolution complète des poussées grâce aux glucocorticoïdes. Quarante-trois pour cent ont eu des symptômes de rebond 1 à 7 jours après avoir terminé le traitement à base de glucocorticoïdes. Cette étude est la première évaluation globale des poussées de FOP et représente une base cruciale pour le concept et l'évaluation d'essais cliniques futurs.

En résumé, les résultats de cette première enquête mondiale sur les poussées de FOP offrent une perspective globale sur la présentation, les facteurs déclencheurs, les localisations anatomiques et la résolution des poussées. Ces résultats serviront de base pour le concept d'essais cliniques futurs de médicaments pour le traitement épisodique et chronique des poussées de FOP.

2. Infrastructure des biomarqueurs

La découverte et l'évaluation des biomarqueurs est une composante essentielle de l'infrastructure de cure. Les biomarqueurs sont objectivement les indicateurs mesurés des processus biologiques ou des réponses pharmacologiques à une intervention. Par exemple, le niveau de cholestérol, la pression artérielle et la dimension de la tumeur sont des biomarqueurs respectivement pour les maladies cardiaques, l'hypertension et le cancer. Dans le cas de la FOP, les biomarqueurs utiles seront ceux qui indiquent si un individu a une poussée (et même avant que la poussée ne soit cliniquement visible), et quel est le stade lésionnel d'une poussée chez cet individu. Les biomarqueurs peuvent aussi être utiles pour évaluer la progression de la FOP en l'absence de poussée, et les biomarqueurs seront également utilisés pour évaluer les effets du traitement. Et, chose très importante, les biomarqueurs vont permettre la mise en place d'un monitoring plus rapide et efficace des essais cliniques.

Trois raisons essentielles rendent les biomarqueurs nécessaires pour une mise en place et une évaluation fructueuses des essais cliniques dans le cadre de la FOP:

1. Mesurer et contrôler la variabilité et la progression de la FOP chez chaque individu et entre individus.
2. Mesurer et contrôler les stades de l'activité de la maladie pendant et entre les poussées ainsi que l'absence de poussées.
3. Mesurer et contrôler la réponse de chaque individu au médicament à l'étude.

Contrairement au cancer, pour lequel les biomarqueurs peuvent être les mêmes ou être similaires pendant le cours de la maladie, les biomarqueurs peuvent subir des variations dans le cas de la FOP, basés sur le stade de la maladie et la phase de la poussée. Par exemple, dans la phase inflammatoire précoce de la poussée de FOP, les biomarqueurs peuvent être très différents de ceux des phases ultérieures de formation d'os et de cartilage de la poussée.

Il serait extrêmement important de savoir quand une poussée est imminente pour gérer l'administration de médicaments préventifs. Par exemple, un médicament pourrait être efficace mais peu apparent parce que la dose, la durée du traitement ou l'usage spécifique du médicament selon les différents stades n'étaient pas corrects. Le fait de contrôler les biomarqueurs pendant une poussée pourrait fournir ce genre

d'informations cruciales. Sans biomarqueurs, il serait impossible de savoir si un médicament à l'étude peut être utile, sans toutefois atteindre un timing, un dosage ou une puissance optimaux. C'est pourquoi les biomarqueurs propres à la maladie, au stade de la maladie et au médicament seront essentiels pour évaluer les résultats de tout essai clinique.

En 2014, nous avons recueilli une collection d'échantillons d'urine sur une durée de trois mois chez 24 patients FOP volontaires pour une évaluation approfondie des biomarqueurs de l'activité de la maladie. Cette étude était sponsorisée par le Novartis Institute for Biomedical Research (NIBR) afin d'identifier les biomarqueurs propres au stade associé aux poussées de FOP. Ce travail est essentiel pour la mise en place et l'application d'essais cliniques futurs.

Le **Center for Research in FOP & Related Disorders** possède une ample et précieuse biobanque d'échantillons de plasma de patients FOP à divers stades des poussées. En 2015, nous avons procédé à une annotation et à une analyse approfondies des biomarqueurs sur ces échantillons, sur la base d'un accord de recherche subventionné. Les résultats de cette étude seront publiés et accessibles aux chercheurs du monde entier. **L'infrastructure des biomarqueurs** est un élément capital de **l'infrastructure de cure**.

3. L'infrastructure des modèles de souris

Le développement, la caractérisation et l'accès au modèle de souris sont une partie essentielle de **l'infrastructure de cure**. Les modèles de souris FOP sont nécessaires pour les tests précliniques de médicaments pour la FOP. On utilise actuellement cinq sortes de modèles de souris : implantation de BMP recombinant le BMP dans les muscles du squelette, régulation transgénique de l'expression BMP sous le contrôle de divers promoteurs génétiques, mutation ACVR1 constitutivement active (qui n'existe chez aucun patient FOP recensé mais peut conduire à la formation d'os hétérotopique), modèle animal knock-in chimérique de FOP authentique et modèle knock-in conditionnellement actif de la mutation classique de la FOP.

Sur ces cinq modèles de souris d'ossification hétérotopique, le modèle animal le plus important pour la recherche sur la FOP est le modèle de souris knock-in conditionnellement actif. On connaît actuellement l'existence de deux modèles

animaux de ce genre et les deux sont actuellement pleinement caractérisés alors que des modèles informatifs plus avancés sont en cours de développement.

Les modèles les plus récents de souris FOP seront importants pour répondre à une grande quantité de questions d'importance clinique : le médicament à l'étude est-il efficace en cas de poussée ? L'administration du médicament peut-elle être interrompue sans avoir un effet de rebond ? Une résistance au médicament peut-elle se produire avec le temps ? Quel est le créneau adéquat pour traiter une poussée de FOP ? Quels sont le dosage et la durée corrects du médicament pour traiter une poussée de FOP ? Le médicament est-il efficace pour une poussée spontanée ou induite ?

Quels sont les effets secondaires à court et à long terme du médicament dans le cadre de la mutation classique ? Comment les poussées spontanées diffèrent-elles fondamentalement des poussées provoquées par un traumatisme ? Quel est le mécanisme qui fait progresser l'invalidité dans la FOP en l'absence de poussées ?

Le projet de modèles alternatifs de souris pour la FOP classique a été élaboré au **Center for Research in FOP & Related Disorders** en 2014. Le progrès obtenu sur un modèle en utilisant une nouvelle approche de manipulation du gène est très prometteur et nous envisageons de développer une colonie en 2016. Les modèles de souris knock-in conditionnels doivent être perfectionnés, caractérisés et partagés. C'est ce que nous allons faire. Nous espérons que d'autres laboratoires en feront autant. Les modèles de souris FOP sont un élément nécessaire de **l'infrastructure de cure**.

4. Infrastructure des communications

Les canaux ouverts de communication entre les patients FOP, les médecins et les chercheurs sont de première importance pour faire des progrès ; ils sont une longue tradition dans la communauté de la FOP, et font partie intégrante de **l'infrastructure de cure**. La tradition de communications ouvertes dans la communauté de la FOP remonte au début de la recherche moderne sur la FOP avec la mise en place du Projet de Recherche collaborative en 1989. Avant même l'ouverture officielle du **Center for Research in FOP & Related Disorders** au milieu des années 1990, des symposiums scientifiques, médicaux et de patients de toute première importance s'étaient tenus à l'Université de Pennsylvanie afin de rassembler les patients, les médecins et les scientifiques pour aborder ensemble des questions importantes concernant la recherche clinique et fondamentale, et pour stimuler la collaboration

dans la recherche clinique et fondamentale. Les symposiums internationaux et les ateliers scientifiques tenus à l'Université de Pennsylvanie en 1991, 1995 et 2000 ont jeté les bases d'une recherche scientifique moderne sur la FOP et annoncé la découverte du gène de la FOP en 2006. Ces symposiums internationaux ainsi qu'un atelier scientifique tenu à Penn en 2011, soutenus en partie par l'IFOPA, ont établi les normes pour le développement de rencontres régionales et internationales entre les patients et les scientifiques au niveau mondial, élargissant le but et la profondeur de la recherche internationale sur la FOP.

En faisant avancer cette longue tradition de canaux ouverts de communication entre les patients, les médecins et les chercheurs, l'IFOPA a organisé le premier **FOP Drug Development Forum (DDF)** en novembre 2014. Comme l'a expliqué l'IFOPA « Ce forum était un événement très important qui a rassemblé des chercheurs venant d'universités et de sociétés pharmaceutiques du monde entier pour discuter des défis lancés par le développement d'un traitement pour la FOP. Le but de cette rencontre était de poser des questions et de combler les lacunes de connaissances existant dans le développement d'un médicament pour la FOP; de lancer de nouvelles idées pour faire avancer le développement de thérapies potentielles le plus rapidement et le plus efficacement possible; et enfin de faciliter le dialogue, d'encourager la collaboration et de nouer des liens entre les chercheurs intéressés. »

Le **DDF** était une étape importante dans l'histoire de la communauté FOP et une partie importante de l'infrastructure des communications pour une cure. Le **Center for Research in FOP & Related Disorders** a eu la fierté d'apporter ses conseils à l'IFOPA dans l'organisation de cet événement important, et travaillera de nouveau avec l'IFOPA à l'occasion du prochain DDF, prévu pour l'automne 2016.

5. Infrastructure du Registre mondial de la FOP

Un registre mondial de la FOP, détenu et géré par les patients FOP, est un élément fondamental d'une **infrastructure de cure**.

Ms. Betsy Bogard, directrice à l'IFOPA pour la recherche au niveau mondial a fait remarquer ce qui suit: « Les registres jouent un rôle capital dans le développement de thérapies pour maladies rares. Un des plus grands défis à relever dans les maladies rares consiste dans le manque de données concernant les patients et la maladie. La mise en place d'un registre international nous aide à relever ce défi et à faire des

progrès importants dans le développement d'une thérapie. Avec le temps, et avec la participation de la communauté FOP tout entière, nous pensons que ce registre pourra nous fournir une très bonne idée de la prévalence, du diagnostic, des symptômes, de l'impact et du traitement de la FOP. »

En décembre 2014, l'IFOPA a annoncé qu'elle allait sponsoriser le développement d'un registre mondial intitulé **The FOP Connection Registry**. « Le registre sera établi en deux parties: le portail des patients, où ils pourront partager leur propre expérience de la FOP, et le portail médical, où les médecins pourront introduire des données sur les patients FOP qu'ils soignent. Le registre sera accessible à la communauté internationale de la FOP et aux chercheurs, ainsi qu'aux développeurs et régulateurs de médicaments, et il contribuera à identifier les tendances et à apporter de nouvelles informations concernant la FOP. »

Les buts du registre mondial sont, selon l'IFOPA:

- de donner voix au chapitre aux patients ;
- d'améliorer la connaissance générale de la FOP ;
- d'organiser la communauté en vue d'essais cliniques ;
- de faire avancer le développement de traitements.

Le portail pour les patients du registre mondial de la FOP a été mis en place en 2015. Le **Center for Research in FOP & Related Disorders** est fier d'avoir pu aider l'IFOPA à développer ce registre FOP international. « La communauté internationale de la FOP est restreinte mais puissante, et elle parle d'une seule voix en usant d'un langage accessible à tout le monde : nous voulons une cure et nous avons besoin d'un registre international des patients FOP, détenu et géré par les patients eux-mêmes, pour contribuer à sa réalisation. C'est un but crucial que nous pouvons atteindre ensemble et un moyen essentiel pour changer notre monde » a déclaré le Dr Fred Kaplan.

Partie V:

Programmes en cours au Center

Le Tooth Ferry Program

au laboratoire de la FOP:

éclairage sur la FOP

La participation de nombreux patients et de leurs familles qui ont donné des échantillons de sang/ADN pour faire avancer la recherche sur la FOP a une valeur inestimable et est très appréciée. Ces échantillons ont revêtu une importance capitale pour la découverte du gène de la FOP et pour l'identification des changements de séquence spécifiques de l'ADN qui se produisent dans les formes classiques et variables de la FOP. Bien qu'une grande partie de la recherche sur la FOP puisse être effectuée en utilisant des souris modèles FOP, les cellules et les tissus des patients seront toujours essentiels pour confirmer que les informations que nous tirons des souris sont vraies en ce qui concerne les êtres humains.

Nous nous sommes appuyés sur des échantillons de sang des patients pendant de nombreuses années car on peut obtenir le sang de manière sûre sans courir le risque de déclencher une poussée de FOP. Cependant, les cellules sanguines fournissent des informations limitées sur la formation de la lésion de la FOP. Heureusement, les progrès faits récemment ont identifié de nouveaux types d'échantillons de cellules et de tissus humains pouvant être obtenus en toute sécurité et qui revêtent une importance vitale pour notre travail. Un de ces types de cellules est le « SHED cells ».

SHED signifie **S**tem cells from **H**uman **E**xfoliated **D**eciduous teeth (cellules souches des dents primaires humaines exfoliées), un nom très long qui décrit les cellules progénitrices qui se trouvent dans les dents primaires ou de lait. Lorsque la dent de lait d'un enfant tombe naturellement, nous pouvons recueillir les cellules qui se trouvent à l'intérieur de la dent. Nous avons utilisé des dents de lait de patients

atteints de FOP pour prouver que ces cellules peuvent être cultivées dans notre laboratoire et traitées de manière spéciale pour former des cellules de cartilage et d'os, nous fournissant ainsi un système d'information permettant d'examiner la manière dont la mutation de la FOP affecte le potentiel de différenciation des cellules concernées dans une lésion provoquée par la FOP.

Il y a quelques années, le **FOP Center** a mis en place un programme « Tooth Ferry » pour encourager les familles à nous envoyer les dents de lait afin que les cellules de ces dents puissent être utilisées dans la recherche sur la FOP. Ces cellules nous ont déjà donné des informations abondantes concernant les effets de la mutation de la FOP sur la formation des cellules du cartilage et des os. Ces cellules ont été utilisées dans nos études récentes pour réguler vers le bas la copie mutante (endommagée) du gène de la FOP par siRNA et sont actuellement utilisées dans nos études sur les effets des facteurs microenvironnementaux sur les poussées de la FOP et sur la formation de la lésion. Les cellules SHED sont donc toujours essentielles pour de nombreuses expériences de laboratoire. Comme les cellules ont une durée de vie limitée et comme plusieurs échantillons d'un individu sont une source d'informations importante, nous avons continuellement besoin de nouvelles « donations » pour continuer nos recherches à l'aide des cellules SHED.

Toutes les personnes dont un enfant perd ses dents peuvent participer à « The Tooth Ferry Program ». Lorsque votre enfant perd une dent ou doit la faire extraire dans un cabinet dentaire, vous pouvez nous l'envoyer dans un kit pré-assemblé que nous vous fournirons. Les dents des fratries et des personnes ne faisant pas partie de la famille sont également les bienvenues pour faire des comparaisons. En plus des dents de lait, nous acceptons les dents de sagesse et autres dents permanentes de personnes atteintes de la FOP. Les dents permanentes contiennent également des cellules souches et nous étudions actuellement la manière de les utiliser et de les appliquer à la recherche sur la FOP.

Ruth McCarrick-Walmsley dirige nos efforts visant à recueillir les dents et à étudier les cellules SHED. Le laps de temps est court pour recevoir les dents avec des cellules encore saines, c'est pourquoi nous avons établi des instructions spécifiques pour leur manipulation et leur expédition. Si vous décidez de participer à ce programme, nous vous enverrons un kit contenant l'emballage pour l'expédition (pour plusieurs dents), les étiquettes FedEx, les coordonnées de Ruth, un diagramme dentaire à remplir et renvoyer, ainsi qu'une notice d'instructions. Nous donnons également des informations sur ce programme sur le site web de l'IFOPA, mais il est très important que vous nous contactiez avant d'expédier une dent, parce que si les dents arrivent

sans prévenir au laboratoire, nous pourrions ne pas être prêts à les examiner de manière optimale.

Le kit « Tooth Ferry » est très facile à utiliser. C'est un programme soutenu par l'IFOPA qui ne vous coûtera rien. Si vous avez des enfants dont les dents ne sont pas encore tombées ou doivent être extraites, veuillez contacter Ruth par téléphone ([610-513-4470](tel:610-513-4470)) ou par email (rwalmsle@mail.med.upenn.edu) et un « Tooth Ferry Kit » vous sera envoyé dans les plus brefs délais !

Le Programme Cali de subventions au développement

En 1997, la famille Cali, en consultation avec le Dr William N. Kelley, M.D., recteur de l'École de médecine de l'Université de Pennsylvanie, créa le **Center for Research in FOP & Related Disorders** à l'Université de Pennsylvanie. C'était et cela reste l'unique Centre de ce genre dans le monde. Dans le même temps, la famille Cali a inauguré un Programme extra-muros d'avant-garde de subventions au développement, qui est administré par le **Center**. La mission de ce Programme consiste à favoriser la recherche collaborative entre le **Center** et d'autres laboratoires de recherche d'excellence à Penn et autres universités des États-Unis et du monde. Cela fait 19 ans que ce programme est en place et a remporté de grands succès en remplissant sa mission d'abattre les barrières physiques et conceptuelles qui empêchent de faire des progrès dans ce domaine important des besoins humains.

Au cours de ces 19 dernières années, le Programme Cali de subventions au développement a octroyé 20 subventions de 100.000 dollars chacune pour un total de 2 millions de dollars. Ce programme novateur a élargi l'horizon de la recherche sur la FOP bien au-delà des frontières du laboratoire FOP à Penn, en instituant un véritable co-laboratoire mondial.

Les partenaires de la recherche comprennent d'autres laboratoires de l'Université de Pennsylvanie ainsi que d'autres universités et institutions, y compris Baylor, Brown, Harvard, Northwestern, Texas A&M, Vanderbilt, l'Université de Californie-San Francisco, l'Hôpital pédiatrique de Philadelphie et l'Institut Max Planck de Biologie moléculaire en Allemagne.

Le Fonds et le Programme de subventions au développement de la Famille Cali ont financé le travail qui a conduit à la découverte de nouvelles cibles thérapeutiques pour la FOP et au développement d'inhibiteurs kinases, d'anticorps, de pièges extracellulaires, d'inhibiteurs de la voie cellulaire et d'ARN inhibiteur pour d'importantes études de preuve de principe concernant la FOP.

Plus de 80% des scientifiques et des chercheurs qui ont participé ou étaient représentés au récent **Drug Development Forum** de l'IFOPA tenu à Boston en 2014 ont été les bénéficiaires directs ou indirects de subventions Cali du **Center for Research in FOP & Related Disorders**.

L'année dernière, le Cali Developmental Grants Program a financé une recherche sur de nouveaux inhibiteurs ACVR1, effectuée dans les laboratoires du Dr Charles Hong à la Vanderbilt University et du Dr Jay Groppe à la Texas A&M University, ainsi qu'une recherche sur les modèles de cellules souches pluripotentes induites pour la FOP au laboratoire du Dr Ed Hsiao à l'Université de Californie – San Francisco, ainsi que sur des modèles de poissons zèbres pour la FOP au laboratoire du Dr. Mary Mullins à l'Université de Pennsylvanie.

Vous pouvez demander des informations supplémentaires sur le Programme Cali au Dr Kaplan: Frederick.kaplan@uphs.upenn.edu, ou au Dr Eileen Shore: shore@mail.med.upenn.edu.

Aimez vos exceptions

Un des programmes cruciaux en cours au Center vise à étudier, déchiffrer et interpréter la manière dont les variations des mutations ACVR1 provoquent des variations phénotypiques dans les manifestations cliniques et l'évolution de la FOP. En 2015, nous avons publié un rapport sur l'atteinte de plusieurs organes chez deux enfants présentant une variante nouvelle et grave de la FOP dans un important article sur la recherche dans ***The Journal of Medical Genetics***.

Les individus classés dans la catégorie des variantes de la FOP sont largement répartis en deux groupes : 1) ceux qui ont des malformations minimales ou non évidentes des gros orteils et/ou une ossification hétérotopique progressive de type adulte (<2% de tous les patients atteints de FOP), et 2) ceux qui ont des malformations graves des gros orteils et/ou de gros déficits articulaires aux doigts des

pieds et des mains (<2%). De même que les individus atteints de FOP classique, ceux qui sont classés dans les variantes de la FOP présentent des mutations activatrices germinales hétérozygotes de l'ACVR1/ALK2. Cependant, au lieu de porter la mutation ACVR1 R206H, les variantes de la FOP présentent des mutations qui se regroupent dans d'autres endroits du gène, ou dans le domaine GS ou bien dans le domaine kinase en aval du récepteur.

Nous avons examiné deux enfants n'ayant aucun lien de parenté qui présentaient de graves déficits articulaires aux mains et aux pieds, avec l'absence d'ongles, une ossification hétérotopique progressive, un sous-développement du tronc cérébral, un retard dans le développement moteur et cognitif, une dysmorphie faciale, de petites dents malformées et un développement anormal de la chevelure. Un de ces enfants présentait une hydrocéphalie, une surdité de perception, une anémie grave, et une moelle épinière soudée; l'autre présentait une malformation cardiaque congénitale et une dysgénésie gonadique avec l'inversion des sexes (caryotype 46, XY féminin). Les deux enfants avaient la même mutation dans la mutation ACVR1 à c.772A>G; p.Arg258Gly (R258G), non décrite jusque là dans la FOP.

La relation clinique et génétique hautement fidèle chez ces deux enfants gravement atteints et n'ayant aucun lien de parenté amène à penser que les phénotypes partagés sont dus à l'activité dérégulée du récepteur mutant de la FOP pendant le développement et après la naissance, permettent de comprendre la biologie structurelle et la fonction de l'ACVR1 et sont utiles pour le concept de petits inhibiteurs moléculaires.

Les variantes rarissimes de la FOP telles que la mutation R258G nous donnent la possibilité unique de prouver les relations phénotype-génotype (clinique-moléculaire) qui peuvent être révélatrices dans notre tentative de comprendre le rôle joué par la voie de signalisation dans la physiologie normale et de comprendre comment une simple substitution d'acide aminé dans des protéines comme l'ACVR1 altère la fonction d'un récepteur BMP bien conservé. Les études réalisées sur les variantes de la FOP ont montré que des variations apparemment peu importantes dans le gène de la FOP peuvent provoquer des variations importantes dans des observations cliniques qui permettent d'approfondir les connaissances des mécanismes moléculaires de la FOP et de la signalisation BMP. En outre, le fait de comprendre les effets d'une mutation spécifique sur la fonction de l'ACVR1 pourrait nous aider à concevoir des agents pharmacologiques à même de modifier ou de prévenir les conséquences postnatales de cette maladie.

Les deux enfants n'ayant aucun lien de parenté que nous avons examinés présentaient les variantes de la FOP les plus graves jamais constatées. Ces deux enfants avaient les mêmes caractéristiques de déficits articulaires des mains et des pieds, avec l'absence d'ongles, l'ossification hétérotopique progressive, le sous-développement du tronc cérébral, un retard dans le développement moteur et cognitif, une dysmorphie du visage, de petites dents mal formées et un développement capillaire anormal. Tous les tissus touchés étaient impliqués par la dérégulation de la voie BMP.

Les mutations du codon 258 ne sont pas les seules à provoquer la parallaxe sur les caractéristiques cliniques et génétiques de la FOP. Des phénotypes graves ont été décrits dans les variantes de la FOP avec des mutations du 328 qui sont différentes des mutations moins graves qui se produisent sur le même codon dans l'ACVR1. Il apparaît donc que l'ACVR1 est particulièrement sensible aux mutations des codons 328 et 358, montrant leur importance dans la fonction du récepteur régulateur et la signalisation BMP pendant le développement embryonnaire de nombreux tissus, y compris le système nerveux central, et plus particulièrement le tronc cérébral. Bien que les mutations la lignée germinale R258S et R258G causent la FOP, seul ce dernier, associé au phénotype le plus grave, a été identifié comme une mutation somatique au niveau du résidu 258 dans les gliomes infiltrants du tronc cérébral (DIPG), tumeur cérébrale infantile rare. Les mutations somatiques activatrices dans l'ACVR1 fonctionnent probablement comme les oncogènes dans les DIPG, conformément aux différents résultats de la signalisation BMP pendant le développement du cerveau. Ce résultat implique probablement un seuil de fonction plus élevé pour les DIPG, ce qui requiert aussi une mutation sur un deuxième site dans un gène histone contribuant aux effets épigénétiques.

Les données dont nous disposons ainsi que celles d'autres chercheurs étayent l'idée que toutes les mutations faux-sens de l'ACVR1 sur la lignée germinale que nous avons identifiées ont un effet sur l'induction postnatale du cartilage et la différenciation des cellules osseuses. L'ossification hétérotopique postnatale progressive est une caractéristique commune à tous les patients atteints de FOP. Bien que le taux de progression et de gravité de l'ossification hétérotopique varie selon les individus atteints de la FOP classique, il semble y avoir une corrélation entre la gravité de l'ossification hétérotopique et les mutations spécifiques parmi les mutations ACVR1 identifiées chez les patients présentant des variantes de la FOP.

L'expression accrue des cibles de transcription de la voie BMP est observée dans les cellules de la FOP. Une signalisation hyperactive BMP dans les cellules de la FOP

peut paradoxalement mener à l'ankylose orthotopique des articulations et à une maladie dégénérative précoce des articulations comme on a pu le constater chez des patients atteints de FOP et des modèles d'animaux avec un signal BMP comparable. Une signalisation erronée de l'ACVR1 peut aussi avoir un effet sur la pathogenèse d'une maladie dégénérative des articulations, comme on peut le constater dans un changement dégénératif orthotopique précoce du gros orteil, du pouce, de la colonne cervicale et dans les articulations costo-vertébrales avant l'apparition de poussées de FOP et l'ossification hétérotopique qui en découle. Toutes les caractéristiques classiques et variables de la FOP ainsi que de nombreuses, sinon toutes, caractéristiques atypiques examinées dans notre étude pourraient être plausiblement attribuées à la dérégulation de la voie de signalisation BMP.

De nouvelles études sur la signalisation BMP chez les animaux modèles de la FOP classique et de ses variantes seront essentielles pour trouver une réponse à ces questions. Les modèles de souris contenant la mutation R206H de l'ACVR1 reproduisent avec succès le phénotype de la FOP classique et une souris knock-in contenant la mutation R258G de l'ACVR1 permettra certainement d'apporter de nouvelles connaissances sur les conséquences de cette mutation ; ce modèle est à l'étude.

L'identification des mutations de l'ACVR1 causant la maladie a des implications diagnostiques et thérapeutiques importantes. Il n'existe actuellement pas de traitement définitif pour les patients atteints de FOP ou de ses variantes et l'identification des mutations faux-sens hétérozygotes de l'ACVR1 permet d'établir des cibles pour le développement d'inhibiteurs de transduction de signal (STI) et autres stratégies thérapeutiques.

Cependant, outre le traitement de la FOP, l'inhibition postnatale de l'ACVR1 pourrait jouer un rôle important dans le traitement de troubles fréquents de l'ossification orthotopique et hétérotopique et, inversement, la/les mutation/s de la FOP et de ses variantes pourraient être exploitées pour l'ingénierie tissulaire en vue de former un nouvel os pour les applications thérapeutiques. Les corrélations cliniques et génétiques des mutations de l'ACVR1 dans la FOP pourront être utiles pour comprendre les mécanismes de signalisation de l'ACVR1 et les fonctions *in vivo* pour viser ces buts.

Le choix de la Rédaction: quelques extraits de la littérature consacrée à ce sujet

Deux technologies transformatrices ont récemment fait leur apparition dans la recherche sur la FOP et méritent notre attention : les cellules souches pluripotentes induites et la manipulation du génome CRISPR-Cas9. La première permet de produire des cellules souches spécifiques du patient à partir de n'importe quel type de cellule du corps, et la seconde permet de développer rapidement des modèles animaux et de corriger de manière permanente des mutations génétiques.

1. L'ingénierie de cellules souches

Jie Cai et ses collègues de Centre médical de l'Université de Leiden aux Pays-Bas ont publié un article dans ***Stem Cell Reports***, « Les cellules souches pluripotentes dans un modèle FOP ». Les chercheurs ont créé des cellules souches humaines induites (iPS) à partir de cellules somatiques de patients FOP présentant la mutation classique ACVR1 (R206H). Le mutant ACVR1 a modifié l'efficacité des cellules iPS pour se transformer en types de cellules progénitrices dans la formation osseuse de la FOP : cellules endothéliales et péricytes. Les cellules endothéliales dérivées des cellules iPS de la FOP mettaient en évidence une expression réduite du récepteur 2 du facteur de croissance vasculaire endothélial et pouvaient se transformer en cellules mésenchymales à travers une transition endothéliale mésenchymale. La minéralisation accrue de péricytes des cellules iPS de la FOP pourrait être partiellement inhibée par un inhibiteur de transduction du signal ACVR1. Les cellules iPS humaines de la FOP transformées récapitulent ainsi certains aspects du phénotype *in vitro* de la FOP, et pourraient contribuer à faire de nouvelles recherches sur les mécanismes sous-jacents de la FOP et sur le développement de nouveaux médicaments thérapeutiques.

Dans un article publié dans ***Stem Cells***, Yoshihisa Matsumoto et ses collègues de l'Université de Kyoto au Japon décrit une « récapitulation de la maladie » FOP *in vitro* réussie en utilisant des cellules spécifiques iPS de patients. Cependant, la technique *in vitro* a nécessité deux ajustements techniques: des cellules de contrôle appropriées et des protocoles rigoureux de transformation. En utilisant leur méthode d'induction de cellules souches pluripotentes, les scientifiques ont identifié deux gènes responsables de l'accélération de la chondrogenèse (formation du cartilage). Les résultats suggèrent que la méthode consistant à induire des cellules stromales

mésenchymales à partir de cellules iPS pourrait être utile à la recherche sur les mécanismes moléculaires de la FOP et à la découverte de médicaments.

Dans un article de fond publié dans *Methods in Molecular Biology*, Emily Barrouet et Ed Hsiao de l'Université de Californie-San Francisco disent avoir « utilisé des cellules souches humaines pluripotentes induites pour modéliser les maladies du squelette ». Dans cet article fondamental, Barrouet et Hsiao déclarent que « l'arrivée récente de cellules iPS humaines offre une occasion unique de créer des modèles humains spécifiques de maladies squelettiques humaines. Les cellules iPS ont la capacité de s'auto-renouveler, nous permettant ainsi de disposer d'une grande quantité de matière première, et elles peuvent se transformer en n'importe quel type de cellule dans le corps. En outre, elles peuvent porter une ou plusieurs mutations responsables de la maladie étudiée ou être génétiquement corrigées pour créer des contrôles isogéniques. Notre travail s'est focalisé sur la modélisation de troubles musculosquelettiques rares, y compris la FOP. » Dans leur article, Barrouet et Hsiao discutent de leurs expériences et de leurs protocoles concernant les cellules iPS humaines transformées en lignée ostéogénique et leur application aux maladies du squelette. Plusieurs défis cruciaux et de nouvelles approches prometteuses sont à l'étude, qui vont permettre au domaine de la biologie du squelette, en particulier au domaine de la FOP, d'exploiter le potentiel des cellules iPS humaines comme un système modèle déterminant pour comprendre la formation anormale du squelette et la régénération osseuse.

2. Ingénierie du génome

Quelques découvertes peuvent changer une discipline du jour au lendemain. De récents succès dans la manipulation des gènes dans plusieurs disciplines biologiques ont été si importants l'année dernière que la méthode appelée « clustered regularly interspaced short palindromic repeats » (CRISPR-Cas9) a été considérée comme la découverte scientifique de l'année 2015 par le journal *Science*. Et elle le devrait, car elle peut changer notre monde.

Il y a moins d'une génération de cela, nous avons appris à lire le génome humain. Avec les CRISPR-Cas9, nous disposons de l'outil nécessaire pour le modifier de manière permanente. Nous n'avons pas seulement la possibilité de développer des médicaments pour désactiver le gène rebelle ACVR1, mais nous pouvons aussi corriger de manière permanente la mauvaise lettre dans toute cellule pouvant provoquer la FOP. La technologie des CRISPR-Cas9 n'a pas encore remporté le Prix Nobel, mais elle pourrait l'avoir dans un avenir proche. Le rêve de Manuel Robert, un

jeune homme de Buenos Aires en Argentine, atteint de FOP, pourrait se réaliser un jour: une véritable cure pour la FOP. Quelque temps après la découverte du gène de la FOP en 2006, Manuel, alors âgé de 10 ans avait demandé: « Pourquoi ne pas tout simplement corriger la lettre génétique mal orthographiée dans la FOP et soigner la maladie ? » Eh bien, avec les CRISPR-Cas9, cela peut se faire pour certaines maladies, et sans doute un jour pour la FOP.

Dans un article publié récemment dans *Nature*, on peut lire ceci: « Trois équipes de chercheurs ont utilisé la manipulation du gène CRISPR-Cas9 pour traiter des souris présentant la forme la plus courante et la plus sévère de dystrophie musculaire. La myopathie de Duchenne (DMD) est une maladie mortelle causée par des mutations qui désactivent l'encodage du gène de la dystrophine, protéine musculaire vitale. Ces équipes conduites par Charles Gersbach de la Duke University, Amy Wagers de la Harvard University et Eric Olson de l'Université du Texas Southwestern Medical Center à Dallas ont utilisé la technique de modification du gène CRISPR-Cas9 pour réparer le gène de la dystrophine chez des souris atteintes de DMD. Les trois équipes ont utilisé des virus pour transporter les composantes du système CRISPR-Cas9 dans les cellules musculaires de souris nouveau-nées et adultes. Les souris traitées ont produit de la dystrophine fonctionnelle et montré des améliorations dans la fonction musculaire cardiaque et squelettique. »

Actuellement, il y a trois obstacles techniques à l'application des CRISPR-Cas9 dans le cas de la FOP: 1) identifier clairement les codes à barres moléculaires sur les cellules cibles de la FOP; 2) élaborer une méthode sûre et non virale (les virus peuvent déclencher la FOP) pour transporter les CRISPR-Cas9 vers les cellules ciblées ; 3) identifier des outils de modification moléculaire CRISPR-Cas9 haute-fidélité, n'ayant pas d'effets secondaires pangénomiques observables. Une fois ces problèmes résolus, deux approches viables consisteraient à corriger la mutation du gène qui provoque la FOP ou tout simplement à désactiver l'allèle mutant. Ces deux méthodes, appliquées dans un nombre suffisant de cellules pour réaliser la correction du gène de manière suffisamment efficace, pourraient abaisser le seuil de l'ossification hétérotopique inductible à un niveau cliniquement insignifiant.

Comment en est-on arrivé aux CRISPR-Cas9? Les scientifiques ont cherché pendant longtemps de meilleurs moyens de modifier le code génétique dans des cellules cultivées et des organismes de laboratoire pour désactiver, activer ou transformer les gènes ciblés afin de mieux comprendre le rôle qu'ils jouent.

Cette technologie CRISPR-Cas9 a été élaborée en 2007 après qu'un fabricant de yaourts a identifié un mécanisme inattendu de défense que ses bactéries utilisaient pour combattre les virus. La technique CRISPR-Cas9 est devenue un bijou moléculaire et cette méthode de modification du génome commence à être connue dans le monde entier. Il n'est pratiquement pas exagéré de dire que si les scientifiques rêvaient d'une manipulation génétique, elle sera maintenant possible grâce au CRISPR.

Jennifer Doudna, l'une des scientifiques à avoir découvert cette nouvelle technologie à l'Université de Californie-Berkeley, a écrit dans un article publié dans ***Molecular Cell***: « La rapidité remarquable avec laquelle la technologie CRISPR-Cas9 s'est répandue dans la communauté biologique atteste de son impact important sur notre capacité à manipuler les cellules. Grâce au CRISPR-Cas9 l'ingénierie génomique est devenue une routine, si bien que dans un bref délai la méthode CRISPR-Cas9 pour modifier les sites chromosomiques dans des organismes modèles n'attirera pas plus d'attention dans les articles consacrés à la recherche que celle que l'on accorde au PCR et au clonage moléculaire. En effet, la facilité avec laquelle cette technologie peut être appliquée et sa très grande utilité laissent à croire que le CRISPR-Cas9 deviendra de plus en plus un outil de choix pour la prochaine génération de biologistes. »

Dans sa demande d'un **Cali Developmental Grant** qui lui a été accordé, Mary Mullins, Ph.D. Professeur de biologie cellulaire et développementale à l'Université de Pennsylvanie, a écrit ceci: « Une nouvelle avancée qui permet de modifier les gènes dans leur localisation normale sur un chromosome va nous permettre d'élaborer un modèle de pointe de FOP chez le poisson zèbre. Cette nouvelle technologie s'appelle CRISPR-Cas9 et elle fonctionne de manière très efficace chez le poisson zèbre pour modifier les gènes. Nous avons déjà utilisé cette technologie pour effectuer des mutations spécifiques dans les récepteurs BMP de type II. Nous allons utiliser cette méthode de manière plus sophistiquée pour insérer le segment génique de la mutation FOP humaine dans le gène ACVR1 du poisson zèbre afin de créer un modèle rigoureux de FOP. Cela va ensuite nous permettre de vérifier rapidement les composés en ce qui concerne leur capacité de bloquer l'activité du récepteur de la FOP en utilisant des essais embryonnaires efficaces. »

La technologie CRISPR-Cas9 est actuellement utilisée à notre **FOP Center** pour créer de nouveaux modèles de souris FOP conditionnelles.

Un profil dans la recherche sur la FOP: brève déclaration de Haitao Wang, premier auteur de l'étude décisive sur l'hypoxie et l'ossification hétérotopique dans la FOP

« Les gens ne s'intéressent pas à ce que vous savez à partir du moment où ils savent que vous vous intéressez à eux. » – Anonyme

En 1996, guidé par l'idée de contribuer à améliorer la vie des gens et à découvrir le mystère des maladies, je me suis inscrit à un cours de doctorat à l'École de médecine de l'Université de Pékin. En 2002, je suis venu aux États-Unis pour continuer mes études postdoctorales sur l'immunité naturelle et la régénération du foie. Dans le cadre de ma bourse, j'ai résolu plusieurs questions inhérentes au mécanisme de base et publié divers articles dans d'importants journaux consacrés à la recherche. J'ai été bien formé dans la recherche biomédicale et ai acquis de nouvelles connaissances et des techniques de banc d'essai. Je désire maintenant compléter mes connaissances scientifiques pour déchiffrer les mécanismes de la maladie et améliorer la santé des êtres humains.

Je crois que j'ai trouvé le laboratoire idéal pour découvrir des cibles de traitement et améliorer la santé des patients quand je suis entré au laboratoire prestigieux de la FOP. C'est vraiment un endroit privilégié pour faire des études translationnelles. Des chercheurs dévoués, soutenus par l'Association internationale de la FOP, ont fait de grandes avancées en découvrant la mutation du gène et en identifiant la cause de la FOP. Toutes nos recherches visent à trouver de meilleures réponses pour les patients atteints de FOP. Toutes nos conditions de recherche essayent de reproduire les expositions réelles des patients dans leur vie quotidienne. C'était la première fois que je travaillais dans de si bonnes conditions selon le concept « du laboratoire au chevet des patients ». Vu l'étroite interaction entre les médecins, les scientifiques et les patients, j'ai la possibilité d'interagir directement avec les patients, d'assister à des événements de collecte de fonds, de parler aux familles FOP lors de leurs visites au laboratoire, d'expliquer comment la mutation du gène provoque la FOP, et de chercher des stratégies visant à développer des traitements. Dans le même temps, ces interactions entre patients et scientifiques motivent fortement nos recherches fondamentales.

Pendant mon stage postdoctoral au laboratoire de la FOP, j'ai reçu une excellente formation et j'ai pu faire des progrès importants dans la recherche sur cette maladie. Le Dr Kaplan, le Dr Pignolo et le Dr Shore ont toujours examiné mes projets avec perspicacité et intelligence. Je profite énormément de cette interaction et j'ai pris confiance en moi, poursuivant un projet novateur à partir d'observations cliniques, concevant des hypothèses, projetant des expériences, analysant des résultats et écrivant des articles. En outre, j'ai contribué à mettre en place un environnement basé sur la collaboration et la créativité au laboratoire de la FOP.

Au cours de mes travaux, j'ai découvert que la réponse cellulaire à l'hypoxie à travers l'HIF-1 α peut contribuer à l'ossification hétérotopique, et j'ai compris le mécanisme moléculaire à travers lequel cette adaptation pathologique se produit. J'ai aussi démontré que les inhibiteurs HIF-1 α pouvaient bloquer l'ossification hétérotopique chez un modèle de souris de la FOP, ce qui fait qu'ils pourraient être développés en médicaments pour les patients.

En tant que scientifique chevronné travaillant sur la FOP, j'ai été bien formé par trois professeurs éminents. J'ai acquis de solides connaissances et toutes les techniques nécessaires pour continuer mes recherches sur la FOP, et je peux contribuer encore davantage à la communauté de la FOP. Je vais continuer à chercher pour comprendre comment des facteurs microenvironnementaux tels que l'hypoxie, la température et l'inflammation influent sur le déclenchement et l'évolution des poussées de FOP. Le renversement des facteurs qui déclenchent les poussées de FOP pourrait mener à des traitements cliniques.

Je me demande parfois: « A quoi sert ma vie? Comment faire pour donner plus de sens à ma vie ? » En tant que père de deux enfants, j'ai eu la réponse à ces questions après avoir entrevu la possibilité d'un avenir meilleur pour les enfants atteints de FOP et leurs familles face à la perspective de la mise en place d'un traitement, voire d'une cure. Tous posent la même question: « Comment les études de laboratoire peuvent-elles mener à une thérapie ou à une cure pour la FOP? » Ce que je fais en essayant de trouver des réponses est important pour les patients, et c'est devenu le véritable sens de ma vie ».

FOP: La parole parlée – 2015

Au cours de l'année 2015, des conférences importantes sur la FOP ont été données à:

- Biocryst Pharmaceuticals; Birmingham, Alabama
- Children's Hospital of Philadelphia; Philadelphie, Pennsylvanie
- Dapping Hospital and Third Military Medical University; Chongqing, Chine
- FOPev Annual Meeting; Valbert, Allemagne
- FOP Italia Annual Meeting; Rome, Italie
- FOP Netherlands; Amsterdam, Pays-Bas
- FOP Russia; Moscou, Russie
- FOP Scandinavia; Eskilstuna, Suède
- International Musculoskeletal Research Conference; Changsha, Chine
- Lorentz Center Program in FOP; Leiden, Pays-Bas
- Northwestern Polytechnical University; Xi'an, Chine
- Regeneron Pharmaceuticals; Tarreytown, New York
- Sanofi-Penn Center for Innovation - Penn Orphan Disease Center Conference; Philadelphie, Pennsylvanie
- Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, Chine
- The University of Hong Kong; Hong Kong, Chine

Nous tenons à mentionner les importantes rencontres médicales, scientifiques et de patients auxquelles nous avons eu l'honneur de participer en 2015 à Amsterdam, Pays-Bas; Eskilstuna, Suède; Rome, Italie; Moscou, Russie et Valbert, Allemagne. Ces rencontres nous ont permis de nous entretenir avec des scientifiques, des chercheurs, des médecins, des étudiants et des patients venus du monde entier.

En 2015, des points saillants de la recherche sur la FOP ont été présentés lors de rencontres des familles FOP tenues aux niveaux local, régional, national et international

- Allentown, Pennsylvanie
- Amsterdam, Pays-Bas
- Eskilstuna, Suède

- Moscou, Russie
- Mountainside, New Jersey
- Philadelphie, Pennsylvanie
- Rome, Italie
- Valbert, Allemagne

FOP: La parole écrite – 2015

En 2015, des publications de nombreux groupes sur la FOP et les questions connexes ont paru dans des revues spécialisées :

- American Journal of Medical Genetics
- Annals of Human Genetics
- Clinical Gynecology and Obstetrics
- Current Biology
- Current Osteoporosis Research
- Cytokine Growth Factor Reviews
- European Journal of Human Genetics
- Journal of Bone & Mineral Research
- Methods in Molecular Biology
- Proceedings of the National Academy of Sciences
- Rheumatology International

- Science Translational Medicine
- Seminars in Cell and Developmental Biology
- Stem Cells
- Stem Cell Reports
- Trends in Biochemical Science

A partir du 1^{er} janvier 2016, l'article paru dans *Nature Genetics* (avril 2006) décrivant la découverte du gène de la FOP a été cité dans 546 revues scientifiques majeures du monde entier.

FOP: Que pouvons-nous faire pour nous rendre utiles?

Les patients, les familles, les amis et même des visiteurs occasionnels au **Center for Research in FOP & Related Disorders** demandent souvent : « Que pouvons-nous faire pour nous rendre utiles ? » La réponse est simple : « Tout ce que vous pouvez. »

Comme Kate Griffo et John Glick de l'École de médecine Perelman de l'Université de Pennsylvanie l'ont dit: « En philanthropie comme en médecine, l'inaction, même brève, peut faire du mal. Un hiatus dans la collecte de fonds peut interrompre un traitement prometteur ou une nouvelle piste de recherche de manière intempestive et désastreuse. Un arrêt dans les efforts peut freiner le progrès dans la recherche d'un médicament qui pourrait alléger des souffrances ou sauver des vies. »

La recherche est laborieuse, longue, souvent frustrante et coûteuse; elle est pleine de faux départs, d'impasses, de lueurs d'espoir et de brouillards de frustration, mais la FOP que nous essayons de soigner est aussi comme cela. Des ennemis redoutables exigent des adversaires redoutables, et le travail d'équipe nécessite des ressources. Lorsque l'on fait des découvertes fondamentales et que l'ignorance est surmontée, le brouillard se lève et l'on peut voir nettement les sommets et les chemins qui y conduisent. Lorsque la connaissance avance, elle éclaire l'horizon. C'est un phare puissant qui change le monde comme rien d'autre ne pourrait le faire. Le sentiment d'accomplissement que ressentent tous ceux qui contribuent à cette

entreprise leur apporte un sens d'accomplissement personnel et leur fait prendre conscience qu'ils ont fait quelque chose d'important et de durable pour d'autres êtres humains pour les générations à venir. Quand la recherche moderne sur la FOP a commencé il y a 24 ans dans un petit laboratoire de l'Université de Pennsylvanie, les connaissances sur cette terrible maladie étaient très limitées et il y avait très peu d'espoir, à l'exception d'un très petit cercle de personnes qui y croyaient et savaient au fond de leur cœur qu'on pouvait faire quelque chose pour apporter des changements. L'espoir a eu le dessus, espoir nourri par la foi et l'engagement de quelques personnes dévouées et persévérantes qui, année après année, ont financé des études pour mettre en place et soutenir une équipe décidée à faire la différence. Au fil des ans, cette équipe s'est agrandie et a maintenant une portée mondiale.

Grace à un effort constant du **Center for Research in FOP & Related Disorders**, la recherche éradique l'ignorance étouffante qui régnait il y a tout juste deux décennies. Les barrières sont tombées les unes après les autres et des objectifs réalisables sont à notre portée. La recherche sur la FOP offre une vraie promesse de prévention, de traitement et de cure de la maladie. Ce n'est plus un rêve imaginaire. Nous avons plus que jamais besoin de votre aide pour que ce rêve se réalise.

Le commentaire souvent entendu « Appelez-nous quand vous aurez un traitement ou une cure » est une option, mais ce n'est pas elle qui va nous aider à trouver une cure. Tout le monde a son propre intérêt dans ces efforts. Nous avons besoin de votre aide pour y arriver : ventes de pâtisseries, épreuves de natation, Burns' Suppers, bals champêtres et bingo; barbecues de poulets et diners spaghettis, vide-greniers et enchères silencieuses; foires rurales et concerts de bienfaisance au Metropolitan Opera; tombolas et rodéos, vente de cartes de vœux et de couvertures brodées, courses de 5K et compétitions de pêche sur la glace ; concerts de bienfaisance de musique de chambre et de Hard Rock ; concours de chevaux de labour et compétitions de natation ; tournois de golf et parties de quilles ; dégustation de vin et kiosques à limonade aux coins des rues.

Aucune idée, aucun effort, aucune entreprise n'est trop petite ou trop farfelue pour apporter de l'aide. Chaque seconde compte. S'il vous plaît, aidez-nous à soigner la FOP !

Remerciements

Les membres du **Center for Research in FOP and Related Disorders** de l'Université de Pennsylvanie et des laboratoires qui collaborent dans le monde entier sont extrêmement fiers d'être partie prenante de cette mission, et sont profondément reconnaissants à tous ceux qui soutiennent cet effort de recherche vitale en vue de trouver de meilleurs traitements et une cure.

Beaucoup a été accompli, largement grâce aux nombreux bienfaiteurs et partenaires qui ont soutenu notre travail. Le **Center for Research in FOP & Related Disorders** a identifié la cause génétique de la FOP en 2006 et a utilisé cette découverte pour mener des recherches au niveau mondial en vue de développer des thérapies qui vont transformer la manière de soigner les personnes atteintes de FOP. Les essais cliniques concernant la FOP ont été mis en place en 2014, marquant ainsi une étape importante. En tant que centre d'excellence, nous dirigeons et coordonnons les soins pour les patients atteints de FOP, non seulement à Penn, mais au niveau mondial, et sommes aussi engagés dans des recherches cliniques et scientifiques vitales, ainsi que dans la recherche translationnelle, qui peuvent changer le cours de cette maladie rare et handicapante. Nous sommes engagés dans l'éducation, nous voulons nous assurer que la prochaine génération de médecins et de scientifiques sera aussi passionnée que nous dans la recherche sur la FOP.

Malgré les progrès que nous avons accomplis, beaucoup de questions restent encore sans réponses et nous devons faire de nouvelles découvertes importantes en vue d'améliorer le traitement et de nous approcher de notre objectif final qui consiste à trouver une cure. Notre travail est vaste et se focalise sur plusieurs domaines : les soins cliniques et les consultations au niveau mondial, la recherche clinique et le développement d'infrastructures; la recherche fondamentale pour identifier des cibles thérapeutiques; la recherche translationnelle pour des essais précliniques de médicaments et la découverte de biomarqueurs ; le développement des essais cliniques et l'éducation.

Le soutien généreux de nos bienfaiteurs nous a permis de fixer de nouvelles cibles thérapeutiques pour la FOP, de nouvelles découvertes de médicaments et un réseau solide de recherche avec diverses approches du traitement de la FOP. Le but de notre vie est de stimuler le développement de thérapies, visant à trouver une cure pour les enfants et les adultes atteints de FOP. En 2015, de nouveaux essais cliniques ont été mis en place (l'étude sur l'histoire naturelle de Clementia et l'essai de

la phase 2 du palovarotène pour les enfants) et nous prévoyons d'en engager d'autres au cours de l'année à venir.

Nous envisageons déjà le jour où les patients atteints de FOP n'entendront plus dire ces mots: « pas de traitement, pas de cure ».

Nous tenons à mentionner le soutien généreux de :

- The International FOP Association
- The National Institutes of Health (The People of the United States of America)
- The Cali Family Endowment for FOP Research
- The Weldon Family Endowment for FOP Research
- The Isaac and Rose Nassau Professorship of Orthopaedic Molecular Medicine
- The Cali-Weldon Professorship of FOP Research
- The Ian Cali Distinguished Clinician-Scientist Scholarship
- The Roemex Fellowship in FOP Research
- The Jesse David Hendley Foundation
- The Ashley Martucci Fund for FOP Research
- The Gary Whyte FOP Research Fund
- The Brinkman Family
- The McGuire Fund for FOP Research
- The Canadian FOP Families & Friends Network
- FOP France
- FOP Allemagne (FOPeV)

- FOP Italia

Un généreux donateur anonyme de Caldwell, New Jersey

Et les nombreuses personnes, familles, les amis et les communautés du monde entier qui contribuent généreusement et infatigablement à l'effort FOP.

Le dernier mot

« Ce que nous appelons commencement est souvent la fin. En mon commencement est ma fin. La fin, c'est l'endroit d'où nous partons. » -T.S. Eliot

Pendant vingt-trois ans, nous avons conclu notre Rapport annuel en mentionnant l'incroyable générosité de nos donateurs et bienfaiteurs, sans lesquels il n'y aurait ni recherche ni avancée ni espoir pour l'avenir. Cette année, enfin, ces mentions sont l'avant-dernier mot. Cette année, le dernier mot appartient non pas aux donateurs et aux bienfaiteurs, non pas aux médecins, scientifiques, chercheurs, journalistes ou historiens, mais à la fondatrice et créatrice de toute cette entreprise, Jeannie Peeper, dont la lutte personnelle acharnée contre la FOP a inspiré des générations de personnes désireuses de chercher un avenir meilleur.

« Depuis la création de l'IFOPA en 1988 et l'intérêt du Dr Kaplan envers la FOP, le lancement d'une recherche spécialisée à l'Université de Pennsylvanie était comparable à la sensation ressentie lorsque le premier homme a marché sur la lune. L'euphorie ! !

Avec le soutien de l'équipe FOP à l'Université de Pennsylvanie, les 27 dernières années ont vu d'énormes progrès dans le paysage de la FOP. La découverte du gène de la FOP en 2006 a jeté les bases pour le travail des chercheurs, des scientifiques et des sociétés pharmaceutiques qui ont déployé tous leurs efforts pour découvrir les mystères de cette maladie et trouver rapidement des traitements éventuels et une cure.

Aujourd'hui le travail sur la FOP est vaste, au niveau mondial, dû en grande partie à l'atmosphère interdisciplinaire encouragée par le Dr Fred Kaplan et le D. Eileen Shore. La communauté de la FOP continue de se rassembler, car il est clair que la possibilité de trouver rapidement un traitement pour la FOP est proche. »

Partie VI:

De temps en temps

« La nature n'utilise que les plus longs fils pour tisser ses motifs, de sorte que la plus petite pièce révèle la structure de la tapisserie tout entière. »

– Richard Feynman, Prix Nobel de physique.

« C'est en septembre 1989 que la recherche collaborative sur la FOP a été lancée à l'Université de Pennsylvanie. Cette entreprise est née du désir d'établir les causes et de trouver une cure pour cette maladie handicapante. »

C'est ainsi que commençait le premier Rapport annuel du projet de recherche collaborative sur la fibrodysplasie ossifiante progressive (FOP) en août 1991, il y a un quart de siècle.

En 1991, après deux années très fructueuses dans la recherche de pistes cliniques et de laboratoire concernant la FOP et pour la croissance de la communauté des patients FOP, nous avons organisé et tenu le premier Symposium international sur la FOP à l'Université de Pennsylvanie, grâce aux fonds recueillis par une famille FOP. Nous avons pensé que le meilleur usage de ces fonds était de rassembler les esprits scientifiques les plus brillants dans les domaines de la biologie du squelette et de la génétique, conjointement avec les patients et les familles FOP, de sorte que les scientifiques puissent toucher du doigt l'ampleur des problèmes à résoudre. Comme l'a fait remarquer un scientifique éminent au terme de la rencontre : « Je pense que nous venons de déclarer la guerre à la FOP. » Mais la bataille ne faisait que commencer.

Quelques semaines avant le symposium, le Dr Eileen Shore, PhD s'est joint à la mission pour établir le laboratoire de la FOP consacré à cet effort. La seule mission, très complexe, était de comprendre la FOP aux niveaux cellulaire, moléculaire et génétique, et d'utiliser ces connaissances pour développer des traitements efficaces, voire une cure, pour la FOP. Ce travail est toujours en cours.

Au cours de ces 25 dernières années, nous avons travaillé pour éclaircir ce mystère à un niveau fondamental et pour stimuler les recherches cliniques et de laboratoire sur la FOP et les troubles qui y sont liés, à l'Université de Pennsylvanie et autres Universités, instituts de recherche, petites sociétés biotechniques et groupes pharmaceutiques dans le monde entier. Avec le généreux soutien des patients et des familles FOP et le support de l'administration universitaire, nous avons mis en place le **Center for Research in FOP and Related Disorders** à l'Université de Pennsylvanie ainsi qu'une structure de financement souple pour repousser les frontières géographiques de notre travail en vue d'atteindre notre but. Nous avons travaillé assidument avec des étudiants, des médecins, des scientifiques et des collègues au niveau international pour établir une collaboration internationale à même de susciter l'espoir et d'améliorer des vies.

Les réalisations remarquables dans la recherche sur la FOP faites au **Center for Research in FOP & Related Disorders** ont déterminé les bases cliniques et biologiques des troubles génétiques de l'ossification hétérotopique, la découverte du gène de la FOP, la découverte de la pathophysiologie moléculaire et cellulaire de la FOP, le développement d'animaux modèles de la FOP, l'encouragement du développement de médicaments pour la FOP, et la mise en place d'essais cliniques pour la FOP basés en partie sur ces découvertes. En outre, nous avons instauré et organisé la communauté médicale, scientifique et des patients atteints de FOP en vue d'améliorer la vie de ces patients partout dans le monde.

Nous allons parler brièvement du contexte historique de la recherche sur la FOP et donner une bibliographie commentée sur la FOP, sélectionnant un groupe de réalisations et de découvertes majeures dans le cadre de cette mission, de la part de notre groupe et autres au cours de ces 25 dernières années.

I. Contexte historique

En 1740, **John Freke**, chirurgien londonien, a publié un article relatant le premier cas de FOP (Philos. Trans. Royal Soc. London) et décrivant l'ossification hétérotopique invalidante de cette maladie rare. Une description des malformations diffuses des gros orteils vint plus de 130 années plus tard (Frankel B. Ein Fall von Erblicher Deformität, Berlin Klin. Wschr. 8:418, 1871). Pendant plus de deux siècles on n'a guère progressé dans la compréhension de la FOP.

Après la Seconde Guerre mondiale, le génie de l'informatique et cryptographe **Alan Turing** (qui déchiffra l'Énigme allemande et la règle Lorenz, et dont Winston Churchill

dit qu'il avait apporté « la plus grande contribution à la victoire des Alliés ») focalisa son attention sur des modèles mathématiques de développement. Dans son article ***The chemical basis of morphogenesis*** (Philos. Trans. Royal Soc. London. 237:37-72, 1952), Turing inventait le terme « morphogène » et proposait un mécanisme chimique diffusible pour la formation de motifs dans les organismes vivants.

Au début des années 1960, **Marshall Urist**, chirurgien orthopédique à l'UCLA (Université de Los Angeles), en travaillant avec la US Atomic Energy Commission pour faire des recherches sur le dépôt de radio-isotopes sur le squelette suite à des tests atmosphériques d'armes nucléaires, a découvert qu'une fraction de matrice osseuse déminéralisée pouvait induire de nouveaux éléments squelettiques lorsqu'elle était placée sur des sites hors du squelette (**Bone formation by autoinduction**. Science 150: 893-899, 1965). Urist a appelé cette fraction « bone morphogenetic protein (BMP) » – protéine morphogénétique osseuse - et a démontré que la BMP agissait comme une substance semblable au morphogène pendant la formation et la régénération du squelette.

En 1988, **John Wozney, Vicki Rosen** et leur collègues ont cloné les gènes humains pour la BMP1-7 et ont démontré que les BMP recombinantes induisaient l'ossification hétérotopique à travers un processus endochondral (**Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities**. Science 242: 1528-1534). D'autres scientifiques ont rapidement démontré que les BMP agissaient comme des morphogènes gradients pendant le développement des vertébrés.

En 1988, **William Gelbart**, Professeur de biologie moléculaire et cellulaire à l'Université de Harvard, a identifié la protéine drosophile décapentaplégique (Dpp) comme étant un morphogène dans le développement de l'exosquelette de la mouche des fruits. Gelbart a rapidement reconnu que la Dpp était l'homologue chez le diptère de la BMP2/4 chez l'homme, et que les BMP avaient été bien conservées pendant plus d'un demi-milliard d'années d'évolution (**The decapentaplegic gene: a TGF-beta homologue controlling pattern formation in Drosophila**. Development 107 (S):65-74, 1989).

Ces étapes fondamentales forment le contexte historique pour les études à venir.

II. Bibliographie commentée

1. Kaplan FS, Tabas JA, Zasloff MA. Fibrodysplasia ossificans progressiva: A clue from the fly? **Calcif Tiss Int** 47: 117-125, 1990

Dans une première tentative de trouver un sens à cette maladie infantile mystérieuse, nous avons évalué les données publiées sur l'histoire naturelle de la FOP et avons découvert que les modèles caractéristiques de l'évolution de la maladie chez les patients atteints de FOP étaient similaires aux anomalies du développement de l'exosquelette induites par des mutations du site décapentaplégique (dpp) chez la mouche des fruits, la *Drosophila melanogaster*. Mais les mouches n'ont pas d'os et les êtres humains n'ont pas d'ailes. Sur quoi pouvait donc se baser cette similitude ? Nous avons été stupéfiés de découvrir que le site du dpp chez la mouche encode une protéine presque identique à la BMP2 et à la BMP4. Ainsi, les mêmes schémas utilisés pour construire l'exosquelette de la mouche sont utilisés pour construire le squelette interne de l'homme. Cette découverte stupéfiante laissait à croire que la FOP pouvait non seulement être une maladie osseuse, mais plutôt une maladie du squelette et que les voies moléculaires responsables pouvaient être similaires chez les humains et la drosophile, indépendamment du fait que les mutations encodent un endosquelette ou un exosquelette. Nous en avons donc déduit que la FOP était une maladie du squelette (et non des os) caractérisée par une expression dérangée du développement de la voie de signalisation de la BMP, entraînant une augmentation de la fonction. Les similitudes de développement entre les anomalies décapentaplégiques chez la mouche et la FOP chez l'homme fournissaient un modèle utile pour la recherche sur la FOP, tous deux liés aux schémas ancestraux de la voie BMP. Un tel modèle pourrait être très fructueux en suggérant une base moléculaire pour la FOP. Encouragé par les observations effectuées sur la mouche du fruit, ce premier article affrontait la pathogenèse mystérieuse de la FOP et soulevait l'hypothèse qu'une anomalie de la voie de la protéine morphogénétique osseuse (BMP) était la cause de la FOP. Bien que mal compris et hautement controversé, cet article a servi de pierre angulaire dans la création du Projet de recherche collaborative sur la FOP, du **Center for Research in FOP and Related Disorders**, dans l'expansion rapide de la nouvelle Fibrodysplasia Ossificans Progressiva Association (IFOPA) et de toutes les études qui ont suivi pendant les 25 années suivantes. Enfin, la mutation cause de la maladie découverte chez des patients atteints de FOP ont prouvé être dans un récepteur de type I de la BMP, fondement de la voie de signalisation de la BMP (Nat Gen 38:525-527, 2006) et un récepteur pour la Dpp.

L'introduction de la mutation ponctuelle de la FOP dans le génome de drosophile (par Kristi Wharton et ses collègues) a produit une mouche porteuse de la FOP (Dev Dynamics 241:200-214, 2012).

2. Tabas JA, Zasloff M, Wasmuth JJ, Emanuel BS, Altherr MR, McPherson JD, Wozney JM, Kaplan FS. Bone morphogenetic protein: Chromosomal localization of human genes for BMP1, BMP2A and BMP3. **Genomics** 9: 283-289, 1991

3. Hahn GV, Cohen RB, Wozney JM, Levitz CL, Shore EM, Zasloff MA, Kaplan FS. A bone morphogenetic protein subfamily: chromosomal localization of human genes for BMP5, BMP6, and BMP7. **Genomics** 14: 759-762, 1992

4. Tabas JA, Hahn GV, Cohen RB, Seaunez HN, Modi WS, Wozney JM, Zasloff M, Kaplan FS. Chromosomal assignment of the human gene for bone morphogenetic protein 4. **Clin Orthop Rel Res** 293: 310-316, 1993

Ces trois études (2-4) ont dressé une carte des localisations chromosomiques des gènes humains qui encodent les BMP 1, 2, 3, 4, 5, 6 et 7 et on jeté les bases scientifiques pour des études futures sur les liens ou l'exclusion de liens concernant les gènes BMP dans la FOP.

5. Cohen RB, Hahn GV, Tabas J, Peeper J, Levitz CL, Sando A, Sando N, Zasloff M, Kaplan FS. The natural history of heterotopic ossification in patients who have fibrodysplasia ossificans progressiva. **J Bone Joint Surg** 75-A: 215-219, 1993

Cette étude a identifié les schémas temporels et spatiaux de l'ossification hétérotopique progressive dans la FOP et, avec les articles suivants sur l'histopathologie de la FOP, a changé la vision sur la pathogenèse de la FOP, passant d'une dérégulation de la formation osseuse à une dérégulation de la formation du squelette (formation d'éléments normaux du squelette dans des sites ectopiques).

6. Kaplan FS, Tabas J, Gannon FH, Finkel G, Hahn GV, Zasloff MA. The histopathology of fibrodysplasia ossificans progressiva: an endochondral process. **J Bone Joint Surg** 75-A: 220-230, 1993

Cette étude importante a démontré que l'histopathologie de la formation osseuse en dehors du squelette dans la FOP était due à l'ossification endochondrale hétérotopique (HEO) dans des sites ectopiques, laissant ainsi à croire que la dérégulation des gènes associés à la genèse du squelette était étroitement liée à la pathophysiologie de la maladie.

7. Kaplan FS, McCluskey W, Hahn G, Tabas J, Muenke M, Zasloff MA. Genetic transmission of fibrodysplasia ossificans progressiva. **J Bone Joint Surg** 75-A: 1214-1220, 1993

Ce rapport fondamental établissait que la FOP était effectivement une maladie génétique. La transmission génétique de la FOP d'un père atteint à ses trois enfants (deux filles et un garçon) établissait la base mendélienne dominante autosomique de l'hérédité génétique dans la FOP et excluait une hérédité liée au chromosome X. Avant la publication de ce rapport, on pensait que la FOP était une maladie génétique, mais que le niveau de reproduction était bas, vu le manque d'hérédité documentée et l'existence de cas sporadiques. L'identification de cette petite famille multigénérationnelle a lancé une recherche au niveau mondial sur les familles multigénérationnelles. Pendant les 15 années suivantes, avec l'aide d'un réseau de médecins spécialistes de la FOP que nous avons mis en place dans le monde, nous avons pu identifier sept petites familles multigénérationnelles (en Géorgie rurale, au Michigan suburbain, à Londres, Paris, en Bavière rurale, à Séoul et en Amazonie) qui ont servi de pierre angulaire pour une ample analyse pangénomique qui a permis d'identifier définitivement la localisation chromosomique du gène de la FOP.

8. Rocke DM, Zasloff M, Peeper J, Cohen RB, Kaplan FS. Age and joint-specific risk of initial heterotopic ossification in patients who have fibrodysplasia ossificans progressiva. **Clin Orthop Rel Res** 301: 243-248, 1994

Cette étude décrivait les courbes de survie Kaplan-Meier de la fonction articulaire pour tous les sites axiaux et appendiculaires majeurs intéressés par la FOP et établissait « le modèle standard » de toutes les études de l'histoire naturelle et les essais cliniques concernant la FOP.

9. Kaplan FS, Strear CM, Zasloff MA. Radiographic and scintigraphic features of modeling and remodeling in the heterotopic skeleton of patients who have fibrodysplasia ossificans progressiva. **Clin Orthop Rel Res** 304: 238-247, 1994

C'était le premier rapport exhaustif concernant les caractéristiques radiographiques congénitales et postnatales de la FOP, qui établissait que le remodelage de l'os normal se produisait dans le squelette hétérotopique des personnes atteintes de FOP, et laissait à croire que l'os hétérotopique dans le cas de la FOP était un os parfaitement normal mais situé à un endroit ectopique.

10. Shah PB, Zasloff MA, Drummond D, Kaplan FS. Spinal deformity in patients who have fibrodysplasia ossificans progressiva. **J Bone Joint Surg** 76-A: 1442-1450, 1994

Cette étude clinique établissait les dangers de la chirurgie scoliotique dans le cas de la FOP et fixait de nouvelles lignes directrices pour l'encadrement de la déformation rachidienne dans le cadre de la maladie.

11. Einhorn TA, Kaplan FS. Traumatic fractures of heterotopic bone in patients who have fibrodysplasia ossificans progressiva. **Clin Orthop Rel Res** 308: 173-177, 1994

Ce bref rapport documentait la guérison rapide de fractures de l'os hétérotopique chez les patients atteints de FOP.

12. Janoff HB, Tabas JA, Shore EM, Muenke M, Dalinka MK, Schlesinger S, Zasloff MA, Kaplan FS. Mild expression of fibrodysplasia ossificans progressiva. **J Rheumatology** 22: 976-978, 1995

Ce bref rapport documentait la progression variable de la FOP et a amélioré nos connaissances sur l'aspect génétique de cette maladie.

13. Lanchoney TF, Cohen RB, Rocke DM, Zasloff MA, Kaplan FS. Permanent heterotopic ossification at the injection site after diphtheria-tetanus-pertussis immunizations in children who have fibrodysplasia ossificans progressiva. **J Pediatrics** 126: 762-764, 1995

Cette étude fondamentale établissait que les immunisations intramusculaires causaient une ossification hétérotopique permanente et invalidante dans le cas de la FOP, changeait les soins courants apportés aux enfants atteints de FOP, et constituait le fondement pour des études scientifiques futures sur le rôle du système immunitaire naturel et les inflammations dans la pathophysiologie de la FOP.

14. Luchetti W, Cohen RB, Hahn GV, Rocke DM, Helpin M, Zasloff M, Kaplan FS. Severe restriction in jaw movement after routine injection of local anesthetic in patients who have fibrodysplasia ossificans progressiva. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 81: 21-25, 1996

Cette étude clinique importante établissait que le blocage mandibulaire dans les soins dentaires déclenchait une ossification hétérotopique permanente et invalidante dans

le cas de la FOP, modifiait les recommandations médico-dentaires pour les soins dentaires courants de patients atteints de FOP, et jetait les bases des études cliniques futures sur la réponse à donner aux blessures des tissus mous dans le cadre de la FOP.

15. Janoff HB, Muenke M, Johnson LO, Rosenberg A, Shore EM, Okereke E, Zasloff M, Kaplan FS. Fibrodysplasia ossificans progressiva in two half-sisters: evidence for maternal mosaicism. **Am J Med Genetics** 61: 320-324, 1996

Ce rapport a établi l'existence du mosaïcisme gonadal dans la FOP et modifié la base de la consultation génétique dans le cadre de la maladie.

16. Janoff HB, Zasloff MA, Kaplan FS. Submandibular swelling in patients with fibrodysplasia ossificans progressiva. **Otolaryngol Head Neck Surg** 114: 599-604, 1996

Cette étude clinique importante présentait, avec force documentation, les poussées sous-mandibulaires comme étant des complications fatales de la FOP, et fixait des lignes directrices pour la prévention et le traitement de cette poussée locale problématique.

17. Shafritz AB, Shore EM, Gannon FH, Zasloff MA, Taub R, Muenke M, Kaplan FS. Over-expression of an osteogenic morphogen in fibrodysplasia ossificans progressiva. **N Engl J Med** 335: 555-561, 1996

Cet article fondamental présentait la première preuve qu'une signalisation BMP anormale était associée à la FOP et que le système immunitaire était concerné dans la pathogenèse de la maladie.

18. Moriatis JM, Gannon FH, Shore EM, Bilker W, Zasloff MA, Kaplan FS. Limb swelling in patients who have fibrodysplasia ossificans progressiva. **Clin Orthop Rel Res** 336: 247-253, 1997

Cette étude documentait la pathophysiologie des membres enflés chez les patients atteints de FOP et fixait des lignes directrices pour la prévention et le traitement de cette complication.

19. Gannon FH, Kaplan FS, Olmsted E, Finkel G, Zasloff MA, Shore EM. Bone morphogenetic protein 2/4 in early fibromatous lesions of fibrodysplasia ossificans progressiva. **Hum Pathol** 28: 339-343, 1997

Cette étude de laboratoire démontrait la présence de BMP4 dans les lésions préosseuses précoces dans la FOP. Précédemment, les pathologistes ne pouvaient pas faire de distinction entre une fibromatose juvénile agressive et des lésions fibroprolifératives préosseuses de la FOP. Cette étude prouvait que les cellules lésionnelles produisaient une forte quantité de BMP4 qui alimente la croissance explosive des lésions de la FOP.

20. Gannon FH, Valentine BA, Shore EM, Zasloff MA, Kaplan FS. Acute lymphocytic infiltration in an extremely early lesion of fibrodysplasia ossificans progressiva. **Clin Orthop Rel Res** 346: 19-25,1998

Cette étude cruciale établissait la présence d'une infiltration lymphocytaire au premier stade de la formation de lésions FOP. Elle a permis d'élucider l'histopathologie de la FOP en définissant la métamorphose du squelette en deux phases : une phase inflammatoire et catabolique précoce (destruction des tissus) et puis une phase anabolique et endochondrale (formation des tissus).

21. Kaplan FS, Sawyer J, Connors S, Keough K, Shore E, Gannon F, Glaser D, Rocke D, Zasloff M, Folkman J. Urinary basic fibroblast growth factor: a biochemical marker for preosseous fibroproliferative lesions in patients with FOP. **Clin Orthop Rel Res** 346: 59-65, 1998

Cette recherche collaborative a identifié le biomarqueur spécifique du premier stade de la FOP (dans la lésion fibroproliférative préosseuse hautement angiogénique) et a servi de référence pour les études futures sur la maladie et les biomarqueurs spécifiques de la FOP.

22. Kussmaul, WG, Esmail AN, Sagar Y, Ross J, Gregory S, Kaplan FS. Pulmonary and cardiac function in advanced fibrodysplasia ossificans progressiva. **Clin Orthop Rel Res** 346: 104-109, 1998

Cette étude importante sur la fonction cardio-pulmonaire chez les patients atteints de FOP a établi le rôle de la maladie restrictive de la cage thoracique dans l'évolution de l'insuffisance cardiaque droite et de l'hypertension pulmonaire dans la FOP avancée.

23. Glaser DL, Rocke DM, Kaplan FS. Catastrophic falls in patients who have fibrodysplasia ossificans progressiva. **Clin Orthop Rel Res** 346: 110-116, 1998

Cette étude épidémiologique importante documentait la causalité des chutes dans les poussées de la FOP et l'ossification hétérotopique mortelle qui en découle, et fixait

des lignes directrices internationales pour la prévention des chutes et des traumatismes crâniens. .

24. Zasloff MA, Rocke DM, Crofford LJ, Hahn GV, Kaplan FS. Treatment of patients who have fibrodysplasia ossificans progressiva with isotretinoin. **Clin Orthop Rel Res** 346: 121-129, 1998

Cette étude clinique ouverte proposait d'utiliser un rétinoïde disponible pour prévenir la formation osseuse endochondrale hétérotopique dans la FOP et était basée sur les effets tératogènes connus des rétinoïdes sur l'ossification endochondrale embryonnaire. Cette étude réorientait l'attention sur les rétinoïdes en tant que classe de molécules pouvant inhiber la formation osseuse endochondrale hétérotopique postnatale invalidante dans le cas de la FOP.

25. Shore EM, Xu M-q, Shah PB, Janoff HB, Hahn GV, Deardorff MA, Sovinsky L, Spinner NB, Zasloff MA, Wozney MA, Kaplan FS. The human bone morphogenetic protein (BMP4) gene: molecular structure and transcriptional regulation. **Calcif Tissue Int** 63: 221-229, 1998

Cette étude de laboratoire déterminait la structure moléculaire et la régulation transcriptionnelle du gène humain BMP4, gène très important dans la pathogenèse de la FOP.

26. Levy CE, Lash AT, Janoff HB, Kaplan FS. Conductive hearing loss in individuals with fibrodysplasia ossificans progressive. **Am J Audiol** 8: 29-33, 1999

Cette étude définissait la prévalence et la pathogenèse de la perte auditive dans la FOP et fixait des lignes directrices pour la détection et le traitement.

27. Mahboubi S, Glaser DL, Shore EM, Kaplan FS. Fibrodysplasia ossificans progressiva. **Pediatr Radiol** 31: 307-314, 2001

Ce rapport donnait une description complète des caractéristiques radiographiques classiques de la FOP.

28. Kaplan FS, Glaser DL, Shore EM, Mitchell D, Emerson S, and the International Clinical Consortium of the Third International Symposium on Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. The medical management of fibrodysplasia ossificans progressiva: current treatment considerations. **Clin Proc Third Intl Symp FOP** 1: 1-52, 2001

Des médecins et des scientifiques du monde entier se sont réunis au Troisième symposium international sur la FOP à Philadelphie en l'an 2000 pour établir les premières lignes directrices fondées pour le traitement de la FOP. Ce symposium, comme cela s'était produit pour les précédents tenus en 1991 et 1995, était organisé à l'intention des médecins, des scientifiques, des patients et de leurs familles pour en apprendre davantage sur la FOP, pour mettre en place un forum pour la consultation clinique et la recherche clinique, et pour catalyser les collaborations de recherche futures.

29. Gannon FH, Glaser D, Caron R, Thompson LD, Shore EM, Kaplan FS. Mast cell involvement in fibrodysplasia ossificans progressiva. **Hum Pathol** 32: 842-848, 2001

Des lymphocytes et des macrophages ont été identifiés dans les lésions précoces de la FOP, mais l'œdème intense qui apparaît rapidement dans chaque poussée de la FOP laisse à croire que d'autres cellules et facteurs sont également impliqués. Cet article documentait la présence surprenante, méconnue auparavant, d'une infiltration cellulaire intense à tous les stades de la formation de la lésion de la FOP, encourageant des expériences supplémentaires sur le rôle de ces cellules dans la pathophysiologie de la maladie.

30. Ahn J, Serrano de la Peña L, Shore EM, Kaplan FS. Paresis of a bone morphogenetic protein-antagonist response in a genetic disorder of heterotopic skeletogenesis. **J Bone Joint Surg** 85-A: 667-674, 2003

Après la découverte d'une expression excessive de la BMP4 dans les cellules des patients atteints de FOP, des études menées dans notre laboratoire ont exclu que la BMP4 puisse être le gène responsable de la FOP. Nous avons donc exploré la myriade d'interrupteurs de la voie de signalisation BMP pouvant être dérégulés dans la maladie. Notre raison était la suivante : si l'expression BMP4 était élevée dans les cellules de la FOP, mais que le gène BMP4 n'avait pas muté, des inhibiteurs BMP sécrétés étaient sous-exprimés, et dans ce cas, c'était peut-être la cause de la FOP. Dans cette étude importante, nous avons découvert que l'expression de multiples antagonistes BMP (Noggin, Gremlin, etc) était réduite dans les cellules de la FOP et que les gènes encodant ces antagonistes n'avaient pas muté chez les patients atteints de FOP. Cette curieuse découverte nous a amenés à découvrir ensuite que les cellules de la FOP (contrairement aux cellules de personnes non atteintes de la maladie) n'étaient pas en mesure de réguler la concentration de BMP4 dans leur environnement. Mises ensemble, ces découvertes nous ont amené à penser que si

les cellules de la FOP sur-exprimaient la BMP4, sous-exprimaient les divers antagonistes de la BMP et ne pouvaient pas réguler la concentration de BMP4 dans leur environnement, il y avait donc forcément une première anomalie dans les récepteurs de la surface cellulaire de la BMP4. A ce moment-là, on connaissait deux récepteurs de cette sorte : BMPRIA et BMPRII. Nous avons examiné les deux récepteurs, mais n'y avons trouvé aucune mutation. Grâce à de nombreuses études comme celle-ci, nous avons acquis beaucoup de connaissances sur la dérégulation de la voie de signalisation BMP dans les cellules de la FOP. Ces connaissances ont conduit à l'identification définitive du gène de la FOP.

31. Hegyi L, Gannon FH, Glaser DL, Shore EM, Kaplan FS, Shanahan CM. Stromal cells of fibrodysplasia ossificans progressiva lesions express smooth muscle lineage markers and the osteogenic transcription factor Runx2/Cbfa-1: clues to a vascular origin of heterotopic ossification. **J Pathol** 201; 141-148, 2003

Cette étude scientifique fondamentale a prouvé l'origine vasculaire de l'ossification endochondrale hétérotopique de la FOP et encouragé de nouvelles recherches sur l'origine cellulaire du squelette hétérotopique de la FOP.

32. Glaser DL, Economides AN, Wang L, Liu X, Kimble RD, Fandl JP, Wilson JM, Stahl N, Kaplan FS, Shore EM. In vivo somatic cell gene transfer of an engineered noggin mutein prevents BMP4-induced heterotopic ossification. **J Bone Joint Surg** 85-A: 2332-2342, 2003

Cette étude fondamentale a démontré qu'il était possible de modifier chimiquement un puissant antagoniste BMP (Noggin) agissant localement et de le transformer en une hormone circulante pour la dispersion générale. Après quoi, le facteur circulant inhibait l'ossification hétérotopique induite par la BMP chez un modèle de souris FOP.

33. Scarlett RF, Rocke DM, Kantanie S, Patel JB, Shore EM, Kaplan FS. Influenza-like viral illnesses and flare-ups of fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP). **Clin Orthop Rel Res** 423: 275-279, 2004

Nous avons démontré ici que les infections virales, en particulier la grippe, pouvaient déclencher des poussées de FOP et mener à l'ossification hétérotopique. Cette étude a permis d'établir des lignes directrices internationales sur l'immunisation contre la grippe des patients atteints de FOP, des mesures pour prévenir et atténuer les infections grippales chez ces patients, et, plus récemment, a mené à des recherches

de laboratoire sur le rôle du système immunitaire naturel et des récepteurs de type Toll dans le déclenchement de poussées de FOP dues à des causes virales.

34. Serrano de la Peña L, Billings PC, Fiori JL, Ahn J, Shore EM, Kaplan FS. Fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP), a disorder of ectopic osteogenesis, misregulates cell surface expression and trafficking of BMPRIA. **J Bone Miner Res** 20: 1168-1176, 2005

Cette étude de laboratoire a fortement étayé l'idée qu'un récepteur BMP dérégulé était la cause directe de la FOP.

35. Schaffer AA, Kaplan FS, Tracy MR, O'Brien ML, Dormans JP, Shore EM, Harland RM, Kusumi K. Developmental anomalies of the cervical spine in patients with fibrodysplasia ossificans progressiva are distinctly different from those in patients with Klippel-Feil syndrome. **Spine** 30: 1379-1385, 2005

L'examen clinique d'enfants atteints de FOP a révélé une déficience des mouvements cervicaux pendant la première et la petite enfance, même avant l'apparition sur le site de l'ossification hétérotopique. Cette recherche a révélé des fusions des vertèbres cervicales identiques, quant à leur étendue et à leur distribution, à celles constatées chez les souris knockout Noggin (*Science* 280: 1455-1457, 1998). Bien que le Noggin ne soit pas un gène responsable de la FOP, cette étude étayait sans équivoque l'hypothèse selon laquelle la pathologie moléculaire sous-jacente de la FOP active la voie de signalisation BMP avant et après la naissance.

36. Hebel N, Shore EM, Kaplan FS. Three pairs of monozygotic twins with fibrodysplasia ossificans progressiva: the role of environment in the progression of heterotopic ossification. **Clin Rev Bone & Miner Metab** 3: 205-208, 2005

Des facteurs génétiques et environnementaux affectent le phénotype de la FOP, mais leurs effets relatifs étaient inconnus. Nous avons étudié trois paires de jumeaux monozygotes atteints de FOP et avons constaté que, chez chaque paire, les malformations des orteils étaient identiques. Cependant, l'ossification hétérotopique postnatale était tout à fait différente chez chaque jumeau selon l'histoire de leur vie et leur environnement. Cette étude a démontré que les facteurs génétiques influencent fortement les caractéristiques de la maladie pendant le développement prénatal et que les facteurs environnementaux influencent fortement la progression postnatale de la maladie.

37. Kitterman JA, Kantanie S, Rocke DM, Kaplan FS. Iatrogenic harm caused by diagnostic errors in fibrodysplasia ossificans progressiva. **Pediatrics** 116: 654-661, 2005

En vue de documenter la fréquence d'erreurs de diagnostic dans le cas de la FOP et les complications résultant de ces erreurs, nous avons mené une enquête auprès de patients atteints de FOP au niveau mondial. Les diagnostics erronés concernaient 87% des personnes atteintes de FOP. Ce taux surprenant d'erreurs de diagnostic a été constaté au niveau mondial, indépendamment de l'appartenance ethnique, du contexte géographique ou de la spécialité médicale. Le diagnostic erroné le plus fréquent était le cancer (32%). La durée moyenne allant de l'apparition des symptômes à un diagnostic correct était de quatre ans, et six médecins en moyenne étaient consultés avant d'arriver au bon diagnostic. Chez 67% des patients, des interventions invasives inutiles (biopsies) étaient effectuées; 68% étaient soumis à des thérapies inappropriées. Quarante-neuf pour cent des patients ont dit avoir eu une perte de mobilité permanente à la suite de ces interventions médicales invasives qui ont provoqué une ossification hétérotopique post-traumatique. Cette étude a prouvé que des erreurs de diagnostic et des interventions médicales inappropriées provoquent des dommages permanents et altèrent l'histoire naturelle de la FOP.

38. Shore EM, Xu M, Feldman GJ, Fenstermacher DA, Cho T-J, Choi IH, Connor JM, Delai P, Glaser DL, Le Merrer M, Morhart R, Rogers JG, Smith R, Triffitt JT, Urtizberea JA, Zasloff M, Brown MA, Kaplan FS. A recurrent mutation in the BMP type I receptor ACVR1 causes inherited and sporadic fibrodysplasia ossificans progressiva. **Nature Genetics** 38: 525-527, 2006

C'est l'étude qui a tout changé: elle a identifié le gène de la FOP, défini la mutation génétique chez tous les individus atteints de FOP classique et identifié la cible moléculaire centrale pour des interventions thérapeutiques et une cure possible de la maladie.

Associated Press: Des chercheurs découvrent le gène qui est à l'origine du deuxième squelette

L'identification de la cause de la fibrodysplasie ossifiante progressive (FOP) va accélérer le développement de traitements pour la FOP et les troubles osseux courants.

(Philadelphie, PA) – Des chercheurs de l'University of Pennsylvania School of Medicine ont trouvé la “*clé du squelette*”, un gène qui, lorsqu'il est endommagé, fait en sorte que les muscles squelettiques et les tissus conjonctifs mous du corps subissent une métamorphose dans l'os, bloquant progressivement les articulations et rendant le mouvement impossible. L'identification du gène qui est à l'origine de la fibrodysplasie ossifiante progressive (FOP), une des maladies génétiques les plus rares et handicapantes connues, qui emprisonne les enfants qui en sont victimes dans un « deuxième squelette », a été l'objectif principal du Center for Research in FOP and Related Disorders à l'Université de Pennsylvanie pendant ces 15 dernières années. Cette découverte importante est cruciale non seulement pour les patients atteints de FOP, mais aussi pour ceux atteints de maladies du squelette plus courantes.

Les auteurs, Eileen M. Shore, PhD et Frederick S. Kaplan, MD, tous deux du Penn Department of Orthopaedic Surgery, ainsi que leurs collègues au niveau international ont publié leurs découvertes le 23 avril dans l'édition en ligne de *Nature Genetics*. « La découverte du gène de la FOP est importante pour toute maladie altérant la formation des os et toute maladie altérant la formation du squelette. » a déclaré Kaplan.

La découverte du gène de la FOP était le résultat du travail acharné effectué par les scientifiques de Penn et leurs collègues du groupe international de recherche de la FOP pendant de longues années. Il comportait l'identification et l'examen clinique de familles multigénérationnelles, souvent dans des régions lointaines du monde ; l'analyse du lien pangénomique ; l'identification de gènes candidats ; et enfin, le séquençage de l'ADN et l'analyse de ces gènes candidats. L'équipe a découvert que la FOP est provoquée par la mutation d'un gène associé à un récepteur appelé ACVR1 dans la voie de signalisation de la protéine morphogénétique osseuse.

Kaplan décrit la FOP comme le « Mont Everest » des troubles génétiques du squelette. Le but de toute sa vie, dit-il, est de « conquérir le sommet de cette

imposante chaîne de montagne et de transformer les nouvelles connaissances en de nouvelles thérapies pouvant améliorer fortement la vie de ces enfants. Ce n'est rien de moins qu'une campagne pour l'indépendance physique et la liberté personnelle de ces enfants. Si ces connaissances nous aident à aider d'autres personnes, ce sera magnifique, mais ce travail est effectué pour les enfants. »

L'équipe de Penn supposait à l'origine que la FOP était provoquée par la mutation d'un gène dans la voie de signalisation de la protéine morphogénétique osseuse (BMP), une des voies de signalisation les mieux conservées dans la nature. Les BMP sont des protéines régulatrices impliquées dans la formation embryonnaire et dans la réparation postnatale du squelette.

En effet, le gène de la FOP encode un récepteur BMP appelé Récepteur Activine de type IA, ou ACVR1, un des trois récepteurs BMP de Type I connus. Les récepteurs BMP sont des interrupteurs de protéines qui contribuent à déterminer le sort des cellules souches dans lesquelles ils sont exprimés. La protéine ACVR1 a une longueur d'au moins 509 acides aminés, et dans la FOP l'histidine de l'acide aminé se substitue à l'arginine de l'acide aminé à la position 206 de l'acide aminé chez tous les individus atteints.

La FOP est la première maladie génétique humaine attribuée à l'ACVR1. « Notre identification de l'ACVR1 comme régulateur crucial de la formation osseuse endochondrale pendant l'embryogenèse des tissus postnatals va certainement réorienter la recherche et dans de nouvelles directions » a déclaré Shore. « Cette découverte va produire un impact important sur l'étude de la biologie du squelette et la médecine régénérative. »

« Cette substitution de l'acide aminé va changer la sensibilité et l'activité du récepteur », ajoute Shore. « Comme c'est le cas de la plupart des gènes, chaque cellule a deux copies du gène *ACVR1*. Chez les patients atteints de FOP, une des deux copies du gène abrite une mutation amenant à une mauvaise formation de la protéine ACVR1. »

Dans la FOP, le gène *ACVR1* est endommagé par la substitution d'une seule lettre génétique dans une localisation spécifique du gène. Cette substitution du nucléotide change le sens du message génétique encodé par le gène *ACVR1*. « Par conséquent, la substitution d'une seule lettre génétique sur les six milliards de lettres génétiques présentes dans le génome humain – le changement le plus infime et le plus précis que l'on puisse imaginer – est comme un terroriste moléculaire qui court-

circuite un ensemble de muscles et de tissus conjonctifs et les transforme en un deuxième squelette - en substance, il transforme une ampoule électrique en bombe atomique », a dit Kaplan.

Les chercheurs ont découvert que toute personne atteinte de FOP classique présente une mutation identique du gène *ACVR1*. « Nous connaissons maintenant la cause de la FOP au niveau génétique, et nous espérons pouvoir comprendre bientôt le mécanisme au niveau moléculaire », dit Kaplan. « Un jour cette connaissance pourrait être utilisée non seulement pour comprendre et traiter la FOP, mais aussi pour traiter de nombreuses maladies courantes concernant le squelette – des maladies telles que des formes non génétiques de croissance excessive du tissu osseux pouvant se produire après l'arthroplastie totale de la hanche, des traumatismes crâniens, des blessures de la moelle épinière, des blessures provoquées par le sport, des blessures de guerre provoquées par des explosions, et même l'arthrose et les valves cardiaques endommagées.

Il est possible que nous arrivions un jour à maîtriser la mutation du gène qui provoque la formation osseuse rebelle de la FOP et à contrôler la formation osseuse – pour des patients qui souffrent d'ostéoporose sévère, pour ceux qui ont subi une perte osseuse importante après un traumatisme, pour ceux qui ont des fractures qui ne guérissent pas ou des fusions des vertèbres qui guérissent lentement, ou pour ceux qui ont des malformations congénitales de la colonne vertébrale et des membres. Nous avons atteint un sommet dans notre voyage épique visant à comprendre la FOP – compréhension dont nous avons désespérément besoin pour aider les enfants et probablement bien d'autres personnes. Nous avons encore un long chemin à parcourir, mais nous apercevons enfin un horizon thérapeutique au-dessus des nuages, et cette vue est prometteuse. »

39. Kaplan FS, Glaser DL, Shore EM, Pignolo RJ, Xu M, Zhang Y, Senitzer D, Forman SJ, Emerson SG. Hematopoietic stem-cell contribution to ectopic skeletogenesis. **J Bone Joint Surg Am** 89: 347-357, 2007

Cette étude remarquable a établi que la greffe de la moelle osseuse ne soigne pas la FOP, que le système immunitaire joue un rôle essentiel dans le déclenchement des poussées de FOP, que l'immunosuppression inhibe les poussées de FOP, et que même un système immunitaire normal peut déclencher la FOP chez une personne génétiquement prédisposée. Cette étude a démontré que la régulation thérapeutique des populations de cellules des tissus immunes et conjonctifs impliqués dans les

lésions de la FOP est prometteuse en vue d'un traitement de la FOP et éventuellement d'autres troubles de l'ossification hétérotopique.

40. Kaplan FS, Glaser DL, Pignolo RJ, Shore EM. A new era of fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP): a druggable target for the second skeleton. **Expert Opinion on Biological Therapy** 7: 705-712, 2007

La découverte du gène de la FOP a marqué une étape importante dans la compréhension de la FOP, a révélé une cible thérapeutique hautement conservée dans la voie de signalisation TGF β /BMP, et a stimulé des approches thérapeutiques pour le développement d'inhibiteurs de la transduction du signal de petites molécules pour l'ACVR1. Des thérapies efficaces pour la FOP, et éventuellement pour une ample gamme de maladies plus courantes de l'ossification hétérotopique, seront basées sur le blocage de l'ACVR1, nœud important dans la voie de signalisation des BMP.

41. Groppe JC, Shore EM, Kaplan FS. Functional modeling of the ACVR1 (R206H) mutation in FOP. **Clin Orthop Rel Res** 462: 87-92, 2007

La modélisation des protéines laisse à penser que la substitution par l'histidine, et seulement l'histidine, au codon 206 de l'ACVR1 (la mutation de la FOP classique constatée chez 97% des individus atteints de FOP) crée un interrupteur sensible au pH dans le domaine de l'activation du récepteur qui mène à l'activation indépendante des ligands de l'ACVR1 dans la FOP. Cette étude a des implications importantes dans le développement d'inhibiteurs de la kinase de l'ACVR1 mutant dans la FOP.

42. Kaplan FS, Groppe J, Pignolo RJ, Shore EM. Morphogen receptor genes and metamorphoses: skeleton keys to metamorphosis. **Ann NY Acad Sci** 1116: 113-133, 2007

La métamorphose, la transformation postnatale d'un tissu normal ou d'un système organique en un autre, est un processus biologique rarement constaté chez les vertébrés supérieurs ou les mammifères, mais il est pathologiquement exemplifié par la FOP. La mutation faux-sens récurrente dans l'ACVR1, un récepteur morphogène, est une des mutations les plus spécifiques causant une maladie dans le génome humain et est le premier gène humain de la métamorphose à avoir été identifié. L'étude de la métamorphose du squelette dans la FOP permet de mieux comprendre les mécanismes moléculaires qui garantissent une stabilité phénotypique suivant la morphogénèse et qui sont généralement profondément cachés dans les voies de

signalisation hautement conservées qui régulent le destin cellulaire. Cette compréhension peut être appliquée à une ample gamme de maladies humaines.

43. O'Connell MP, Billings PC, Fiori JL, Deirmengian G, Roach HI, Shore EM, Kaplan FS. HSPG modulation of BMP signaling in fibrodysplasia ossificans progressiva cells. **J Cellular Biochem** 102: 1493-1503, 2007

Les protéoglycanes sulfates d'héparane de la surface cellulaire (HSPGs) jouent un rôle important dans la formation du gradient morphogène et de la signalisation BMP. Cette étude soutient que la modulation HSPG de la signalisation BMP est altérée dans les cellules de patients atteints de FOP et que cette signalisation BMP altérée par les HSPG peut jouer un rôle dans la pathogenèse de la maladie.

44. Deirmengian GK, Hebela NM, O'Connell M, Glaser DL, Shore EM, Kaplan FS. Proximal tibial osteochondromas in patients with fibrodysplasia ossificans progressiva. **J Bone Joint Surg Am** 90: 366-374, 2008

Les ostéochondromes du tibia proximal sont une caractéristique phénotypique courante de la FOP, découverte qui élargit les conséquences reconnues des mutations activatrices récurrentes de l'ACVR1 qui incluent non seulement les malformations congénitales du squelette et l'ossification hétérotopique, mais aussi les néoplasmes ostéochondraux bénins ou les lésions orthotopiques de la modélisation du squelette. Cette étude permet de comprendre la base génétique de la formation d'ostéochondromes chez les patients atteints de FOP et d'autres maladies courantes où ces lésions se produisent.

45. Billings PC, Fiori JL, Bentwood JL, O'Connell MP, Jiao X, Nussbaum B, Caron RJ, Shore EM, Kaplan FS. Dysregulated BMP signaling and enhanced osteogenic differentiation of connective tissue progenitor cells from patients with fibrodysplasia ossificans progressiva. **J Bone Miner Res** 23: 305-313, 2008

L'étude de la FOP est entravée par le manque de cellules progénitrices de tissu conjonctif primaire. Nous avons isolé ces cellules dans les dents de lait des patients et dans les contrôles et nous avons découvert une dérégulation de la signalisation BMP et une différenciation rapide des ostéoblastes dans les cellules progénitrices de la FOP en comparaison avec les cellules de contrôle. C'est la première étude sur la signalisation BMP et la différenciation ostéogénique dans les cellules progénitrices du tissu conjonctif primaire réalisée sur des patients atteints de FOP. Nos données étayaient fortement la dérégulation tant basale que stimulée par les ligands de la

signalisation BMP à partir de l'ACVR1 mutant dans la FOP. Cette étude a révolutionné nos connaissances sur la signalisation BMP dérégulée dans la FOP, a largement élargi le répertoire des études *in vitro* pouvant être effectuées sur un type de cellule primaire lié à la pathophysiologie de la FOP et a fourni une base cellulaire pour le criblage de médicaments pour la FOP.

46. Kaplan FS, Xu M, Glaser DL, Collins F, Connor M, Kitterman J, Sillence D, Zackai E, Ravitsky V, Zasloff M, Ganguly A, Shore EM. Early diagnosis of fibrodysplasia ossificans progressiva. **Pediatrics** 121: e1295-e1300, 2008

La plupart des patients atteints de FOP subissent une erreur de diagnostic très tôt dans leur vie, avant l'apparition de l'ossification hétérotopique et sont soumis à des procédures de diagnostic qui peuvent provoquer un handicap pour toute la vie. Maintenant que la cause génétique de la FOP a été découverte, il est désormais possible de faire des tests génétiques même avant l'apparition de l'ossification hétérotopique. Nous avons examiné sept enfants pour établir un diagnostic de FOP avant l'apparition de l'ossification hétérotopique. Ces sept enfants présentaient des malformations congénitales des gros orteils, mais aucun d'entre eux ne présentait, à la radio, la preuve d'ossification hétérotopique au moment de l'examen. L'analyse des séquences de l'ADN a découvert que les sept enfants présentaient la mutation classique de la FOP. La suspicion clinique de la FOP en bas âge sur la base de la malformation des gros orteils peut conduire à un diagnostic clinique précoce, à des tests génétiques pour confirmer le diagnostic, et à éviter un diagnostic et des traitements préjudiciables. C'était le premier rapport sur la confirmation génétique de la FOP avant l'apparition de l'ossification hétérotopique. Les pédiatres devraient connaître les caractéristiques du diagnostic précoce de la FOP même avant l'apparition de l'ossification hétérotopique. Cette connaissance devrait amener à une consultation et à des tests génétiques précoces et à prendre toutes les précautions pour prévenir un préjudice iatrogène.

47. Yu PB, Deng DY, Lai CS, Hong CC, Cuny GD, Buxsein ML, Hong DW, McManus PM, Katagiri T, Sachidanandan C, Kamiya N, Fukuda T, Mishina Y, Peterson RT, Bloch KD. BMP type I receptor inhibition reduces heterotopic ossification. **Nat Med**14:1363-1369, 2008

Cette étude préclinique sur un modèle de souris de substitution pour la FOP était le rôle joué par l'activité dérégulée de l'ACVR1 dans la pathogenèse de la FOP, suggérant qu'un inhibiteur à petites molécules de l'activité du récepteur BMP de type I pourrait être utile pour traiter la FOP.

48. Kaplan, FS, Xu M, Seemann P, Connor JM, Glaser DL, Carroll L, Delai P, Fastnacht-Urban E, Forman SJ, Gillessen-Kaesbach G, Hoover-Fong J, Köster B, Pauli RM, Reardon W, Zaidi S-A, Zasloff M, Morhart R, Mundlos S, Groppe J, and Shore EM. Classic and atypical fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP) phenotypes are caused by mutations in the bone morphogenetic protein (BMP) type I receptor ACVR1. **Hum Mutat** 30 (3): 379-390, 2009

Cette étude classique a identifié les spectres clinique et génétique de la FOP et défini le spectre des variantes de la FOP.

49. Fukuda T, Kohda M, Kanomata K, Nojima J, Nakamura A, Kamizono J, Noguchi Y, Iwakiri K, Kondo T, Kurose J, Endo KI, Awakura T, Fukushi J, Nakashima Y, Chiyonobu T, Kawara A, Nishida Y, Wada I, Akita M, Komori T, Nakayama K, Nanba A, Yoda T, Tomoda H, Yu PB, Shore EM, Kaplan FS, Miyazono K, Matsuoka M, Ikebuchi K, Ohtake A, Oda H, Jimi E, Owan I, Okazaki Y, Katagiri T. Constitutively activated ALK2 and increased SMAD 1/5 cooperatively induce bone morphogenetic protein signaling in fibrodysplasia ossificans progressiva. **J Biol Chem** 284: 7149-7156, 2009

Cette étude a identifié 19 patients japonais sporadiques atteints de la FOP classique, a examiné les événements pathologiques en aval qui ont stimulé la signalisation BMP en présence du récepteur mutant et démontré que l'inhibition sélective des kinases pouvait représenter une stratégie concrète pour bloquer l'activité du mutant ACVR1 dans le cas de la FOP.

50. Lounev V, Ramachandran R, Wosczyzna MN, Yamamoto M, Maidment ADA, Shore EM, Glaser DL, Goldhamer DJ, Kaplan FS. Identification of progenitor cells that contribute to heterotopic skeletogenesis. **J Bone Joint Surg Am** 91: 652-663, 2009

Cette étude a identifié une population importante de cellules progénitrices qui contribue aux stades spécifiques de l'ossification hétérotopique induite par la BMP. Les données recueillies suggèrent fortement que la dérégulation des voies de signalisation de la BMP ainsi qu'un microenvironnement inflammatoire sont tous deux nécessaires à la formation de lésions similaires à la FOP. La compréhension de la base cellulaire de l'ossification hétérotopique sera utile pour développer des thérapies cellulaires spécifiques ciblées pour traiter et prévenir l'ossification hétérotopique.

51. Shen Q, Little SC, Xu M, Haupt J, Ast C, Katagiri T, Mundlos S, Seemann P, Kaplan FS, Mullins MC, Shore EM. The fibrodysplasia ossificans progressiva R206H ACVR1 mutation activates BMP-independent chondrogenesis and zebrafish embryo ventralization.

J Clin Invest 119(11): 3462-3472, 2009

Cette étude a prouvé que l'ACVR1 mutant active la signalisation BMP en l'absence de ligands BMP et sert de médiateur à la chondrogenèse indépendante de la BMP (formation du cartilage) qui est stimulée par la BMP. Cette étude a aussi démontré que la mutation classique de la FOP dans l'ACVR1 altère la liaison d'une protéine inhibitrice appelée KBP1A/FKBP12, expliquant ainsi en partie l'activité de base élevée du récepteur mutant. Conformément à ces découvertes, des analyses *in vivo* d'embryons du poisson zèbre ont mis au jour une hyperactivation indépendante de la BMP de la signalisation BMP en réponse au récepteur mutant, provoquant une ventralisation embryonnaire accrue. Ainsi, le récepteur mutant ACVR1 chez les patients atteints de FOP est une mutation activatrice qui amène la signalisation BMP, d'une manière indépendante de la BMP ou réactive à la BMP, à promouvoir la chondrogenèse, conformément à la formation osseuse endochondrale ectopique dans le cas de la FOP.

52. Kaplan FS, Pignolo RJ, Shore EM. The FOP metamorphogene encodes a novel type I receptor that dysregulates BMP signaling. **Cytokine Growth Factor Reviews** 20:399-407, 2009.

La capacité d'organismes matures de stabiliser des modèles différents de tissus a un avantage sélectif énorme sur tous les embranchements, mais les mécanismes n'ont pas été explorés de manière approfondie. Les personnes atteintes de FOP subissent une métamorphose pathologique dans laquelle un tissu normal est transformé en un autre tissu à travers un processus très régulé de destruction de tissu et de réaffectation du phénotype. Cette métamorphose invalidante passe par le métamorphogène de la FOP, qui encode un récepteur mutant de la protéine osseuse morphogénétique (BMP) de type I qui présente une faible activité constitutive pendant le développement et une dérégulation sévère, épisodique, liée au ligand et induite par l'inflammation après la naissance. La découverte du métamorphogène de la FOP révèle une cible bien conservée pour le développement de médicaments et identifie une déficience fondamentale de la voie de signalisation de la BMP qui, lorsqu'elle est déclenchée par une blessure et une inflammation, transforme un tissu en un autre tissu.

53. Kaplan FS, Zasloff MA, Kitterman JA, Shore EM, Hong CC, Rocke DM. Early mortality and cardiorespiratory failure in patients with fibrodysplasia ossificans progressiva. **J Bone Joint Surg Am** 92: 686-691, 2010

Cet article important a jeté les bases pour les soins cardiorespiratoires des patients atteints d'une FOP avancée. On ne sait pas grand-chose en ce qui concerne la durée de vie et les causes de mortalité des patients atteints de FOP. Soixante personnes sont mortes (trente hommes et trente femmes) de la FOP sur une période de trente-trois ans. L'âge moyen au moment de la mort était de quarante ans (de trois à soixante-dix-sept ans). Les causes les plus communes du décès des personnes atteintes de FOP étaient l'insuffisance cardiorespiratoire due à un syndrome d'insuffisance thoracique (54%; âge moyen, quarante-deux ans) et la pneumonie (15%; âge moyen, quarante ans). La FOP n'est donc pas seulement une maladie extrêmement invalidante, mais elle cause aussi une mortalité précoce. La cause la plus commune du décès des patients atteints de FOP était l'insuffisance cardiorespiratoire due à un syndrome d'insuffisance thoracique.

54. Shore EM, Kaplan FS. Inherited human diseases of heterotopic bone formation. **Nat Rev Rheumatol** 6: 518-527, 2010

Dans les troubles humains d'ossification hétérotopique héréditaire et non héréditaire, la formation osseuse en dehors du squelette est normale. L'aberration réside dans les mécanismes qui régulent la détermination du sort des cellules, dirigeant la formation inappropriée de cartilage ou d'os, ou tous les deux, vers des tissus tels que le muscle du squelette (FOP) et le tissu adipeux (POH). Dans la FOP, les mutations activatrices dans l'ACVR1, un récepteur BMP de type I, induisent l'ossification enchondrale hétérotopique, qui aboutit au développement d'un système organique hétérotopique qui inclut l'os et la moelle osseuse. Dans la POH, l'ossification hétérotopique mène à la formation d'un tissu osseux à travers un intramembranaire en réponse aux mutations inactivantes dans le gène GNAS. Les patients atteints de ces maladies présentent de façon variable des malformations des éléments normaux du squelette, dont les gènes et leurs voies de signalisation sont les principaux médiateurs du développement du squelette, en plus de réguler les décisions concernant le sort des cellules par les cellules souches adultes.

55. Kaplan FS, Seemann P, Haupt J, Xu M, Mullins M, Shore EM. Investigations of activated ACVR1/ALK2, a bone morphogenetic protein type I receptor that causes fibrodysplasia ossificans progressiva. **Methods Enzymol** 484: 357-373, 2010

Les récepteurs de la protéine osseuse morphogénétique (BMP) de type I sont des protéines de transduction de la signalisation transmembranaire de la serine/thréonine kinase qui régulent un large éventail de décisions du sort des cellules dépendant des ligands, avec une fidélité temporelle et spatiale pendant le développement et après la naissance. La mutation d'un seul nucléotide dans l'ACVR1 qui provoque la FOP est l'une des mutations les plus communes à la base de la maladie dans le génome humain et à ce jour la seule mutation activatrice connue d'un récepteur BMP causant une maladie humaine. La recherche sur la FOP jette donc les bases pour arriver à cerner les effets cliniquement importants des mutations activatrices dans la voie de signalisation BMP.

56. Medici D, Shore EM, Lounev VY, Kaplan FS, Kalluri R, Olsen BJ. Conversion of vascular endothelial cells into multipotent stem-like cells. **Nat Med** 16: 1400-1406, 2010

Les cellules souches mésenchymales peuvent donner naissance à plusieurs types de cellules. Cette étude a démontré que les cellules vasculaires endothéliales peuvent se transformer en des cellules semblables aux cellules souches multipotentes par un mécanisme dépendant de l'ACVR1. Dans des lésions de personnes ou de souris transgéniques porteuses de la FOP exprimant un ACVR1 constitutivement actif, les chondrocytes et les ostéoblastes expriment des marqueurs endothéliaux. L'expression d'un ACVR1 constitutivement actif dans les cellules endothéliales provoque une transition d'endothéliale à mésenchymale et l'acquisition d'un phénotype semblable à une cellule. Ces cellules semblables aux cellules souches peuvent être déclenchées pour se différencier en ostéoblastes, chondrocytes ou adipocytes. Ce rapport met l'accent sur la conversion des cellules endothéliales en cellules semblables aux cellules souches sous l'influence de l'ACVR1 mutant et peut offrir une nouvelle approche de l'ingénierie tissulaire et de thérapeutiques pour la FOP.

57. Kaplan FS, Shore EM, Pignolo RJ. (eds), and The International Clinical Consortium on FOP. The medical management of fibrodysplasia ossificans progressiva: current treatment considerations. **Clin Proc Intl Clin Consort FOP** 4:1-100, 2011.

Ces lignes directrices médicales basées sur des preuves offrent une norme internationale en matière de traitement concernant la consultation clinique et la gestion clinique de la FOP, et sont prometteuses pour la recherche fondamentale et clinique.

58. Groppe JC, Wu J, Shore EM, Kaplan FS. *In vitro* analysis of dysregulated R206H ALK2 kinase-FKBP12 interaction associated with heterotopic ossification in FOP. **Cells Tissues Organs** 194 (2-4): 291-295, 2011

Une seule mutation récurrente dans le sous-domaine de la régulation de l'ACVR1 est la cause de la FOP classique. La substitution de l'arginine par l'histidine a conduit à l'hypothèse d'un déclencheur sensible au pH aberrant pour l'activation indépendante du ligand de la signalisation BMP à travers le récepteur mutant. Pour tester le mécanisme présumé dépendant du pH, des analyses interactives *in vitro* avec l'ACVR1 purifié de type sauvage et mutant et la protéine inhibitrice FKBP12 ont été effectuées. La recherche a découvert que la substitution par l'histidine a conduit à une perte partielle de l'inhibition de l'ACVR1 à travers une liaison diminuée de la FKBP12.

59. Kan L, Lounev VY, Pignolo RJ, Duan L, Liu Y, Stock SR, McGuire TL, Lu B, Gerard NP, Shore EM, Kaplan FS, Kessler JA. Substance P signaling mediates BMP-dependent heterotopic ossification. **J Cell Biochem** 112: 2759-2772, 2011.

Cette étude collaborative a démontré que les nerfs sensoriels régulent le système immunitaire naturel et amplifient l'ossification hétérotopique (HO) chez les animaux modèles de la FOP. Cette étude a en outre découvert que l'expression du facteur neuroinflammatoire substance P (SP) est fortement augmentée dans les tissus précocement lésionnels chez des patients atteints de FOP ou d'ossification hétérotopique, ainsi que chez trois modèles de souris indépendants de l'HO. Ces observations ont établi une puissante induction neuroinflammatoire et un circuit d'amplification pour la formation de lésions semblables à la FOP dépendante de la BMP, et a identifié de nouvelles cibles moléculaires pour la prévention de l'ossification hétérotopique dans la FOP et de troubles qui y sont liés.

60. Kaplan FS, Lounev VY, Wang H, Pignolo RJ, Shore EM. Fibrodysplasia ossificans progressiva: a blueprint for the metamorphosis. **Ann NY Acad Sci** 1237: 5-10, 2011

L'étape la plus importante dans la connaissance d'une maladie génétique est l'identification de la mutation qui en est la cause. Cependant, cette connaissance est souvent insuffisante pour déchiffrer la pathophysiologie de la maladie ou traiter les patients de manière efficace. Même si les mutations activatrices du récepteur ACVR1/ALK2 sont nécessaires pour la FOP, elles ne sont pas suffisantes. L'activité et l'évolution de la maladie dépendent également des cellules altérées et de la physiologie des tissus. Des découvertes récentes identifient des facteurs

inflammatoires et immunologiques, des cellules souches mésenchymales réceptives, ainsi qu'un microenvironnement hypoxique lésionnel qui déclenche, promeut et permet une progression épisodique de la FOP dans la fixation de l'ACVR1 mutant. Des thérapies efficaces pour la FOP devront prendre en compte ces interactions pathophysiologiques cruciales.

61. Shimono K, Tung WE, Macolino C, Chi AH, Didizian JH, Mundy C, Chandraratna RA, Mishina Y, Enomoto-Iwamoto M, Pacifici M, Iwamoto M. Potent inhibition of heterotopic ossification by nuclear retinoic acid receptor- γ agonists. **Nat Med** 17:454-460, 2011

Cette étude réalisée par l'Hôpital pédiatrique de Philadelphie et l'Université de Pennsylvanie indique que les agonistes RAR- γ sont de puissants inhibiteurs de l'ossification hétérotopique endochondrale chez les modèles de souris et peuvent donc être efficaces pour lutter contre l'ossification hétérotopique induite par blessure ou congénitale chez des êtres humains.

62. Kaplan FS, Shore EM. Derailing heterotopic ossification and RARing to go. **Nat Med** 17:420-421, 2011

Les récepteurs de l'acide rétinoïque inhibent la chondrogenèse, mais leur capacité de bloquer l'échafaudage cartilagineux de l'ossification hétérotopique endochondrale n'a pas fait l'objet de recherches. Une étude effectuée sur des souris montre que les agonistes RAR- γ inhibent fortement l'ossification hétérotopique endochondrale, et on peut y voir un potentiel thérapeutique pour les patients atteints de FOP.

63. Kaplan J, Kaplan FS, Shore EM. Restoration of normal BMP signaling levels and osteogenic differentiation in FOP mesenchymal progenitor cells by mutant allele-specific targeting. **Gene Therapy** 19: 786-790, 2012

Cette étude a établi la preuve de principe que le petit inhibiteur spécifique de l'allèle RNA (ASP-siRNA) a une efficacité thérapeutique potentielle pour le traitement de la FOP. Cette étude en a conclu qu'ensemble, l'ASP et le siRNA étaient en mesure de supprimer l'expression de l'allèle de l'ACVR1 mutant dans les cellules progénitrices mésenchymales des patients atteints de FOP et que cette approche ASP-RNAi a permis de diminuer la signalisation élevée de BMP des cellules des patients à des niveaux de contrôle et de restaurer la différenciation ostéogénique dans les cellules de la FOP à des niveaux de contrôle.

64. Chakkalakal SA, Zhang D, Culbert AL, Convente MR, Caron RJ, Wright AC, Maidment AD, Kaplan FS, Shore EM. An *Acvr1* Knock-in mouse has fibrodysplasia ossificans progressiva. **J Bone Miner Res** 27: 1746-1756, 2012

Le ciblage de gènes a été utilisé pour développer un modèle knock-in unique d'*Acvr1* pour la FOP. Ce modèle de souris chimérique de la FOP a fourni la première preuve directe *in vivo* que la mutation du R206H dans l'*ACVR1* cause la FOP. L'analyse histologique des lésions de la FOP chez la souris a démontré l'infiltration inflammatoire et la mort du muscle du squelette, suivis d'une forte formation d'os hétérotopique à travers une voie endochondrale, identique à celle constatée chez les patients. Chose importante, les cellules mutantes et de type sauvage étaient toutes les deux présentes dans le tissu osseux ectopique chez ce modèle de souris chimérique de la FOP, découverte inattendue indiquant que si la mutation est nécessaire pour induire le processus de formation osseuse, elle n'est pas nécessaire pour la contribution des cellules progénitrices aux os et aux cartilages.

65. Hammond P, Suttie M, Hennekam RC, Allanson J, Shore EM, Kaplan FS, The face signature of fibrodysplasia ossificans progressiva. **Am J Med Genet** 158A: 1368-1380, 2012

Des observations anecdotiques de similarités faciales chez des patients atteints de FOP ont été faites par des médecins et des parents, mais aucune analyse quantitative objective des visages de ces patients n'a été faite. Cette étude a démontré que la mutation de la FOP classique affecte la morphogenèse du squelette crânien dans la partie supérieure du visage et la mandibule et peut avoir des implications diagnostiques et cliniques importantes pour les soins dentaires et l'anesthésie des patients atteints de FOP.

66. Kitterman JA, Strober JB, Kan L, Rocke DM, Cali A, Peeper J, Snow J, Delai PLR, Morhart R, Pignolo RJ, Shore EM, Kaplan FS. Neurological symptoms in individuals with fibrodysplasia ossificans progressiva. **J Neurol** 259: 2636-2643, 2012

Les problèmes neurologiques n'ont pas été associés à la FOP, mais des symptômes neurologiques sont fréquemment évoqués par les patients. Il ressort de cette enquête mondiale que des symptômes neurologiques sont fréquents dans la FOP et que ces symptômes sont probablement liés aux effets de la signalisation BMP dérégulée sur le système nerveux central et/ou périphérique.

67. Kan L, Kitterman JA, Procissi D, Chakkalakal S, Peng C-Y, McGuire TL, Goldsby RE, Pignolo RJ, Shore EM, Kaplan FS, Kessler JA. CNS demyelination in fibrodysplasia ossificans progressiva. **J Neurol** 259: 2644-2655, 2012

Différents symptômes neurologiques atypiques sont évoqués par les patients atteints de FOP. Cette étude a démontré que la signalisation BMP dérégulée déränge la régulation normale des tissus cibles, y compris le système nerveux central (CNS) où une démyélinisation focale peut se manifester en tant que symptôme neurologique fréquemment observé dans le cas de la FOP. Ces découvertes viennent étayer les études précédentes, qui avaient montré que la signalisation BMP dérégulée stimule les astrocytes et inhibe les oligodendrocytes, et ont des implications importantes pour le diagnostic et l'approche des problèmes neurologiques des patients atteints de FOP.

68. Kaplan FS, Chakkalakal SA, Shore EM. Fibrodysplasia ossificans progressiva: mechanisms and models of skeletal metamorphosis. **Dis Model Mech** 5: 756-762, 2012

La souris knock-in FOP et autres modèles de drosophiles, poissons zèbres, poulets et souris nous fournisse un arsenal d'outils pour acquérir des connaissances concernant la signalisation BMP et affronter des questions importantes sur les mécanismes de la maladie, qui sont importantes non seulement pour la FOP, mais aussi pour une ample gamme de troubles liés à la médecine régénérative et à la métamorphose tissulaire.

69. Chaikuad A, Alfano I, Kerr G, Sanvitale CE, Boergermann JH, Triffitt JT, von Delft F, Knapp S, Knaus P, Bullock AN. Structure of the bone morphogenetic protein receptor ALK2 and implications for fibrodysplasia ossificans progressiva. **J Biol Chem** 287:36990-36998, 2012

Cette étude détermine la structure cristalline du domaine cytoplasmique de l'ACVR1 et offre un modèle précieux pour la conception future d'inhibiteurs spécifiques de la signalisation BMP.

70. Le VQ, Wharton KA. Hyperactive BMP signaling induced by ALK2(R206H) requires type II receptor function in a *Drosophila* model for classic fibrodysplasia ossificans progressiva. **Dev Dyn** 241:200-214, 2012

Chez la *drosophile*, l'ACVR1/ALK2 (R206H) humain induit une signalisation BMP hyperactive. Cette étude a découvert que la clé déterminante pour l'hyperactivité de l'ACVR1 est un récepteur fonctionnel de type II, et comme son orthologue *drosophile*, saxophone (Sax), l'ACVR1 de type sauvage peut aussi bien contrarier que

promouvoir la signalisation BMP. La double fonction de l'ACVR1 est extrêmement intéressante vu la nature hétérozygote de la FOP. Cette étude étonnante offre une raison convaincante d'utiliser la *drosophile* comme un organisme modèle pour étudier la base moléculaire de la FOP.

71. Kaplan FS. The skeleton in the closet. **Gene** 528: 7-11, 2013

Les origines de la fibrodysplasie ossifiante progressive (FOP) dans l'histoire humaine sont inconnues, mais cette maladie a été fort bien décrite dès le rapport de Freke en 1740. Des contributions importantes de médecins et de scientifiques au cours de ces 250 dernières années ont convergé sur le squelette remarquable d'Harry Eastlack au Mutter Museum du College of Physicians de Philadelphie.

72. Zhang W, Zhang K, Song L, Pang J, Ma H, Shore EM, Kaplan FS, Wang P. The phenotype and genotype of fibrodysplasia ossificans progressiva in China: A report of 72 cases. **Bone** 57: 386-391, 2013

Cette étude a identifié 72 patients atteints de FOP en Chine; il s'agit de la plus grande population ethniquement homogène atteinte de FOP. L'étude a découvert que le profil clinique et génétique de ces patients chinois, de nationalité Han, est similaire à celui que l'on trouve ailleurs, et étaye la fidélité de cette maladie rarissime parmi la population la plus élevée du monde et dans de larges distributions raciale, ethnique, de genre et géographique.

73. Kaplan FS, Pignolo RJ, Shore EM. From mysteries to medicines: drug development for fibrodysplasia ossificans progressiva. **Expert Opinion on Orphan Drugs** 1: 637-649, 2013

Malgré les mutations germinales de l'ACVR1 dans FOP, l'activation épisodique de la maladie est induite par des blessures des tissus mous et les déclencheurs inflammatoires qui en résultent, qui dépendent de la réponse des cellules progénitrices et du microenvironnement tissulaire qui soutient l'ossification hétérotopique. Cet article souligne les possibilités et les défis pour le développement de thérapies efficaces pour la FOP. Le traitement à long terme de la FOP est susceptible d'impliquer non pas une, mais plusieurs approches concomitantes qui reconnaissent les mécanismes moléculaires engagés dans l'induction et l'évolution de la maladie. Des modèles animaux de haute-fidélité de la FOP ont été développés et des tests précliniques et cliniques sont en cours.

74. Culbert AL,, Chakkalakal SA, Theosmy EG, Brennan TA, Kaplan FS, Shore EM. Alk2 regulates early chondrogenic fate in fibrodysplasia ossificans progressiva heterotopic endochondral ossification. **Stem Cells** 32: 1289-1300, 2014.

Cette étude établit que l'ACVR1 est un régulateur direct de la formation du cartilage et fait office de médiateur dans l'engagement chondrogénique des cellules progénitrices. Au moins un effet des mutations de l'ACVR1 améliorant la fonction chez les patients atteints de FOP est une différenciation chondrogénique (cartilage) renforcée qui soutient la formation osseuse endochondrale. Cette étude établit que l'ACVR1 est une cible thérapeutique pour prévenir la formation osseuse hétérotopique dans le cas de la FOP aux stades chondrogéniques précoces de la formation de la lésion. Des essais cliniques sur les humains sont actuellement en cours avec le composé palovarotène.

75. Haupt J, Deichsel A, Stange K, Ast C, Bocciardi R, Ravazzolo R, Di Rocco M, Ferrari P, Landi A, Kaplan FS, Shore EM, Reissner C, Seemann P. ACVR1 p.Q207E causes classic fibrodysplasia ossificans progressiva and is functionally distinct from the engineered constitutively active ACVR1 p.Q207D variant. **Hum Mol Genet.** 23: 5364-5377, 2014

Cette étude explore les pour et les contre des divers modèles de souris génétiques pour la FOP dans le cadre des diverses mutations classiques et extrêmement rares de l'ACVR1 constatées chez des humains atteints de FOP. Cette étude démontre que la variante de la mutation Q207E FOP, bien qu'elle ait probablement une fonction similaire à la mutation active constitutive Q207D, a en fait une faible activité pouvant améliorer la fonction, de manière similaire au R206H.

76. Kaplan FS, Kobori JA, Orellana C, Calvo I, Rosello M, Martinez F, Lopez B, Xu M, Pignolo RJ, Shore EM, Groppe JC. Multi-system involvement in a severe variant of fibrodysplasia ossificans progressiva (ACVR1 c.772G>A; R258G): A report of two patients. **Am J Med Genet A.** 167A: 2265-2271, 2015

Des variantes graves de la fibrodysplasie ossifiante progressive (FOP) affectent <2% de tous les patients dans le monde, mais offrent une occasion sans précédent de comprendre les relations clinico-génétiques qui propulsent la pathologie de cette maladie invalidante. La relation clinico-génétique de haute-fidélité chez deux enfants n'ayant au lien de parenté et présentant le phénotype le plus grave de la FOP laisse à croire que les caractéristiques communes de leur phénotype particulier sont dues à l'activité dérégulée de l'ACVR1 mutant pendant le développement et après la

naissance, donne un aperçu essentiel de la biologie structurale et de la fonction de l'ACVR1, et va permettre de mettre au point des inhibiteurs de petites molécules.

77. Convente MR, Wang H, Pignolo RJ, Kaplan FS, Shore EM. The immunological contribution to heterotopic ossification disorders. **Curr Osteoporos Res.** 13: 116-124, 2015

L'ossification hétérotopique (HO) est un événement clinique important, cause d'immobilité et d'une mauvaise qualité de vie, qui peut apparaître chez les patients à la suite d'une opération chirurgicale invasive et de traumatismes, et qui peut aussi se manifester progressivement dans le cadre de maladies congénitales telles que la FOP. Une caractéristique commune des formes tant génétiques que non génétiques de l'ossification hétérotopique est le rôle du système immunitaire aux stades précoces de la maladie. L'activation du système immunitaire jette les bases pour les événements anabolisants en aval qui aboutissent finalement sur une ossification hétérotopique, faisant du système immunitaire un site attrayant pour une intervention thérapeutique précoce en vue d'une gestion optimale de la maladie. Cet article souligne les contributions immunologiques à l'ossification hétérotopique, en tenant compte en particulier des types de cellules concernées, des voies de signalisation, des modèles animaux importants et des cibles thérapeutiques possibles.

78. Hatsell SJ, Idone V, Wolken DM, Huang L, Kim HJ, Wang L, Wen X, Nannuru KC, Jimenez J, Xie L, Das N, Makhoul G, Chernomorsky R, D'Ambrosio D, Corpina RA, Schoenherr CJ, Feeley K, Yu PB, Yancopoulos GD, Murphy AJ, Economides AN. ACVR1(R206H) receptor mutation causes fibrodysplasia ossificans progressiva by imparting responsiveness to activin A. **Sci Transl Med** September 2, 2015

Cette étude menée par les scientifiques de Regeneron Pharmaceuticals suggère que l'ACVR1(R206H) cause la FOP en obtenant la réactivité au ligand normalement antagoniste, l'activine A, démontrant que ce ligand est nécessaire et suffisant pour amener l'ossification hétérotopique chez un modèle de souris de la FOP classique, et qu'un anticorps pouvant bloquer l'activine A représente une approche thérapeutique potentielle concernant la FOP.

79. Kaplan FS, Pignolo RJ, Shore EM. Granting immunity to FOP and catching heterotopic ossification in the Act. **Semin Cell Dev Biol.** 49: 30-36, 2016

La transformation progressive d'un système organique en un autre est une signature fondamentale de la FOP. La perte d'auto-inhibition du récepteur mutant (mACVR1)

aboutit à une voie de signalisation BMP dérégulée, et est nécessaire pour les nombreuses caractéristiques de développement de la FOP, mais ne paraît pas suffisante pour induire les poussées épisodiques qui conduisent à l'ossification hétérotopique endochondrale (HEO) postnatale et invalidante et qui sont une marque de la maladie. Les poussées postnatales de la FOP impliquent fortement un déclencheur immunologique sous-jacent concernant l'inflammation et le système immunitaire naturel. Des études récentes impliquent les ligands classiques et non classique de la famille des TGF β /BMP dans l'amplification de la signalisation mACVR1 conduisant à la formation de lésions de la FOP et à l'ossification hétérotopique endochondrale qui en résulte. Les ligands BMP et Activine qui stimulent la signalisation mACVR1 jouent aussi un rôle régulateur important dans le système immunitaire. Le dialogue entre les voies morphogénétiques et immunologiques qui régulent la conservation tissulaire et la cicatrisation identifie des cibles thérapeutiques valables potentielles pour la FOP. Cet article souligne une hypothèse nouvelle concernant un déclencheur immunologique des poussées et de l'ossification hétérotopique endochondrale dans la FOP, propose un plan de travail pour la pathophysiologie des phénomènes observés, et met en évidence des questions en suspens qui font l'objet de recherches.

80. Chakkalakal SA, Uchibe K, Convente MR, Zhang D, Economides AN, Kaplan FS, Pacifici M, Iwamoto M, Shore EM. Palovarotene inhibits heterotopic ossification and maintains limb mobility and growth in mice with the human ACVR1 (R206H) fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP) mutation. **J Bone Miner Res.** 2016.

Le palovarotène, agoniste du récepteur rétinoïque acide γ (RAR γ) a prouvé pouvoir effectivement inhiber l'ossification hétérotopique dans des modèles de souris de la maladie, génétique ou induite par blessure. En outre, ce médicament prévient l'ossification hétérotopique spontanée, en utilisant un nouveau modèle de souris conditionnelle knock-in porteuse de la mutation humaine ACVR1^{R206H} de la FOP classique. En outre, le palovarotène rétablit la croissance des os longs, conserve la fonction du cartilage de croissance et protège les nouveau-nés mutants lorsqu'il est administré aux mères qui allaitent. Le palovarotène conserve la mobilité des articulations, des membres et du corps, prouvant ainsi clairement qu'il détient un fort potentiel thérapeutique pour traiter la FOP.

81. Pignolo RJ, Bedford-Gay C, Liljestrom M, Durbin-Johnson BP, Shore EM, Rocke DM, Kaplan FS. The natural history of flare-ups in fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP): A comprehensive global assessment. **J Bone Miner Res** 31: 650-656, 2016.

Cette étude est la première analyse globale complète des poussées de FOP et jette les bases pour la conception et l'évaluation de futurs essais cliniques.

82. Wang H, Lindborg C, Kim J-H, McCarrick-Walmsley R, Mangiavini L, Groppe J, Shore EM, Schipani E, Kaplan FS, Pignolo RJ. Cellular hypoxia promotes heterotopic ossification by amplifying BMP signaling. **J Bone Miner Res**, 2016.

Malgré l'apparition de mutations germinales activatrices de l'ALK2 chez tous les patients atteints de FOP, certaines personnes ne présentent pas de formation osseuse de manière continue, mais plutôt épisodique, et souvent à la suite d'une blessure tissulaire. Les poussées de FOP sont probablement liées à une inflammation, cause bien connue d'hypoxie tissulaire. L'hypoxie et l'inflammation sont impliquées dans l'induction de l'ossification hétérotopique endochondrale (HEO); cependant, les mécanismes moléculaires ne sont pas connus. Cette étude examine la base moléculaire du captage d'oxygène dans les lésions précoces de FOP, soutient que les lésions de la FOP sont induites par une mauvaise réponse moléculaire à l'hypoxie tissulaire locale qui amplifie et prolonge la signalisation BMP. Cette étude a identifié une nouvelle cible thérapeutique pour la FOP et a des conséquences importantes pour le développement de thérapies transformatrices.