

Établissement d'une carte d'identité immunitaire individuelle pour les patients atteints de sclérodermie

Un premier pas essentiel vers un traitement personnalisé



JEAN-LUC SENÉCAL,
MD, FRCPC, MCRA

Chaire de recherche en sclérodermie
Professeur titulaire de médecine
Université de Montréal

À la demande de plusieurs associations provinciales de sclérodermie (Scl), j'ai le plaisir de vous présenter un aperçu des recherches récentes menées dans le cadre de la Chaire de recherche en sclérodermie de l'Université de Montréal.

Depuis plusieurs années, un programme avancé de recherche translationnelle sur la Scl est en cours à Montréal au Centre de recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM). Ce programme résulte d'une étroite collaboration entre le Laboratoire d'immunorégulation, dirigé par Marika Sarfati, MD, PhD, immunologue et spécialiste en sciences fondamentales, et le Laboratoire de recherche en auto-immunité, dirigé par le soussigné, rhumatologue et chercheur clinicien spécialisé dans le diagnostic et la prise en charge des personnes atteintes de Scl.

LA RAISON D'ÊTRE D'UNE APPROCHE PERSONNALISÉE DU TRAITEMENT

Ces chercheurs collaborent étroitement à un ambitieux et novateur projet de recherche d'avant-garde sur la Scl visant à transformer l'approche uniforme actuelle relativement peu efficace du traitement de la maladie en **médecine personnalisée**, qui vise à prévoir l'évolution de la Scl pour chaque patient et ainsi prédire la réponse individuelle aux traitements pharmacologiques. L'objectif ultime de la médecine personnalisée est d'offrir des traitements individualisés qui soient spécifiquement développés pour cibler les mécanismes de la maladie propres à chaque personne atteinte de Scl. Nous pensons, comme d'autres, que cette approche est beaucoup plus prometteuse, car elle est basée sur l'identification des mécanismes de la Scl présents chez les patients atteints très tôt au début de la maladie, ce qui permettra de prédire l'évolution de la maladie, et ainsi de choisir les traitements en fonction de chaque patient.

Jusqu'à tout récemment, l'exploration de ces mécanismes n'était possible qu'à très petite échelle, mais de nouvelles (et coûteuses) technologies de pointe sont désormais disponibles à très grande échelle, à la mesure de la grande complexité cellulaire et moléculaire de la Scl.

DE LA NÉCESSITÉ DE TRAITEMENTS PRÉCOCES POUR LA SCL

Mais avant d'expliquer plus en détail notre projet et son utilité potentielle pour les personnes atteintes de Scl, permettez-moi d'abord de vous fournir quelques informations essentielles. La Scl est une maladie potentiellement mortelle et incurable. Bien que les médecins n'aient pas l'admettre, **la plupart des traitements de la Scl (comme c'est aussi le cas dans de nombreuses autres maladies) sont souvent administrés « après coup »**, c.-à-d. après l'atteinte d'un ou de plusieurs organes. Par exemple, si une fibrose pulmonaire modérée ou grave se développe, on tente de la traiter avec des médicaments immunosuppresseurs et/ou anti-fibrotiques, en espérant au mieux stabiliser l'état du patient. Parfois, ce n'est pas possible et la fibrose pulmonaire s'aggrave tellement qu'une transplantation pulmonaire devient nécessaire, ce qui montre bien les limites des traitements médicaux actuels. Il y a un **besoin pressant de mettre au point des traitements précoces et préventifs pour la Scl**, c.-à-d. des traitements administrés avant le développement de manifestations graves chez les patients à risque. >>

Chaire de recherche en sclérodermie de l'Université de Montréal

LE RÔLE PRIMORDIAL DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

Ce manque d'efficacité n'est pas surprenant à la lumière de la pathogénèse extrêmement complexe de la Scl marquée par le dérèglement de quatre mécanismes fondamentaux qui, à terme, conduisent aux manifestations de la Scl par l'atteinte de la peau et des organes internes. Ainsi, *l'auto-immunité* (l'attaque par l'organisme des propres tissus de la personne, entraînant par exemple la production d'auto-anticorps dans le sang qui sont hautement spécifiques à la Scl) et *l'inflammation* se conjuguent à une *atteinte étendue des petits vaisseaux sanguins* (provoquant le phénomène de Raynaud, c.-à-d. le blanchiment des doigts à l'exposition au froid) et finalement à *la fibrose* (production excessive de collagène conduisant au durcissement de la peau et des organes internes). Les scientifiques ont pris conscience que de nombreuses cellules (phagocytes mononucléés, fibroblastes, myofibroblastes, cellules endothéliales, cellules musculaires lisses vasculaires, pour n'en citer que quelques-unes), des centaines de gènes et des centaines de molécules (cytokines et bien d'autres) participent à la pathogénèse de la Scl. **Puisque l'inflammation précède la fibrose, le système immunitaire est au cœur du processus pathologique et son étude est donc essentielle.** Mais comment déchiffrer une telle complexité immunitaire ?

LE NOUVEAU CONCEPT DE PRÉSCLÉRODERMIE

Deux découvertes majeures faites par notre équipe de recherche ont permis d'apporter un début de réponse à cette question épineuse et ont fourni d'importants indices sur la meilleure façon de l'aborder. Premièrement, en 2008, nous avons rapporté dans la meilleure revue de rhumatologie au monde que, chez presque *tous les patients atteints de Scl, une signature immunitaire de la maladie (c.-à-d. la présence dans le sang d'auto-anticorps hautement spécifiques à la Scl) est présente de nombreux mois, voire souvent des années, avant que les manifestations caractéristiques de la Scl* soient observées par le patient et son médecin (comme l'épaississement de la peau ou l'atteinte pulmonaire)⁽¹⁾. Cette découverte a concentré l'attention sur une période très importante et jusqu'alors négligée dans le cours de l'évolution de la Scl, qu'il est désormais universellement convenu d'appeler la *pré-sclérodermie (pré-Scl)*. Notre découverte a soulevé trois questions fondamentales:

- 1° Puisque les patients atteints de pré-Scl développent éventuellement une Scl caractérisée, quels sont les mécanismes pathogéniques actifs dans la phase pré-Scl ?
- 2° Ces mécanismes peuvent-ils prédire l'évolution future de la maladie et l'atteinte d'organes spécifiques ?
- 3° Ces mécanismes peuvent-ils être ciblés précocement par des thérapies nouvelles ou existantes afin de modifier l'évolution future de la Scl ?

Cependant, au moment de notre découverte, il n'existait pas encore de technologie avancée permettant d'explorer en profondeur les mécanismes cellulaires et moléculaires de la Scl précoce. Nous avons donc décidé d'aborder ces questions en développant un modèle expérimental (animal) de la Scl, pour

lequel la Dre Sarfati est une experte reconnue. Un modèle animal est utile, car il permet une analyse à un plus haut degré de complexité biologique, c.-à-d. plus proche de l'humain, que ce qui est possible dans une éprouvette au laboratoire. En outre, il permet des manipulations thérapeutiques qui seraient contraires à l'éthique chez l'humain.

COPIER LA SCL HUMAINE CHEZ LA SOURIS

Le développement réussi de ce modèle a constitué notre *deuxième percée*. En bref, nous avons réussi à *copier la Scl humaine chez la souris*. Non seulement notre modèle a reproduit les quatre mécanismes fondamentaux de la Scl, mais il a également reproduit le phénotype de la Scl, c.-à-d. les manifestations cliniques telles que l'épaississement de la peau et l'atteinte pulmonaire. De plus, ayant déjà identifié la pré-Scl comme une période critique potentielle pour une intervention thérapeutique précoce, comme nous l'avons vu précédemment, nous avons procédé à des manipulations thérapeutiques (antibiothérapie pour modifier les microbes intestinaux) pendant la période pré-Scl dans le modèle de souris. Les résultats ont été spectaculaires, *indiquant un profond effet sur la gravité de la maladie lorsque la manipulation thérapeutique était appliquée spécifiquement pendant la période pré-Scl*. Cette découverte a été publiée en 2017 dans une revue internationale de dermatologie de premier plan, accompagnée d'un éditorial⁽²⁾.

SOUTIEN NATIONAL

Je tiens à souligner que le développement du modèle expérimental, initialement soutenu par Sclérodermie Québec, a également été généreusement soutenu par les dons de Maureen Sauvé, de Sclérodermie Canada, de Scleroderma Association of Ontario et de la Chaire de recherche en sclérodermie, ce qui nous a permis de générer de solides résultats préliminaires et d'obtenir une subvention de recherche des Instituts de recherche en santé du Canada (IRSC). En somme, nous avons utilisé ces dons privés comme levier pour ensuite obtenir par concours très compétitif le financement public des IRSC (575 740 \$, 2015-2019; taux de réussite: 9 %). Actuellement, nous sommes soutenus par Sclérodermie Québec, la Chaire de recherche et par des dons des Associations de sclérodermie de la Saskatchewan, du Manitoba et de la Colombie-Britannique, attestant de l'envergure nationale de notre programme.

PRÉ-SCL : UNE NOUVELLE FENÊTRE THÉRAPEUTIQUE

Dans l'ensemble, nos découvertes de 2008 et 2017, tant chez les patients atteints de pré-Scl que dans le modèle expérimental, *ont identifié la pré-Scl comme une nouvelle fenêtre thérapeutique potentiellement très importante* pour les patients atteints de Scl. Il est donc devenu impératif d'étudier en profondeur, aux niveaux cellulaire, moléculaire et génétique, les personnes atteintes de pré-Scl afin d'en préciser les mécanismes immunitaires précoces, de les comparer aux mécanismes de la maladie actifs dans la Scl établie et d'identifier de nouvelles voies thérapeutiques et cibles moléculaires potentielles. Au cours des

Chaire de recherche en sclérodermie de l'Université de Montréal

dernières années, des avancées technologiques remarquables ont été réalisées, permettant désormais d'analyser les mécanismes de la Scl à un niveau inégalé et extraordinaire de complexité cellulaire, moléculaire et génétique.

LE FACSYPHONY

Ainsi, en octobre 2018, le Centre de recherche du CHUM, avec le soutien de Sclérodermie Québec et de la Fondation canadienne pour l'innovation, a fait l'acquisition d'un instrument de pointe de Becton-Dickinson (BD) appelé le **FACSymphony, un cytomètre en flux multiparamétrique qui permet des analyses moléculaires complexes à l'échelle unicellulaire (d'une seule cellule)**, ce qui n'était pas possible auparavant. Ainsi, nous pouvons désormais identifier jusqu'à 30 (et dans un avenir rapproché jusqu'à 50) caractéristiques moléculaires d'une seule cellule Scl en utilisant seulement des quantités limitées de sang et de petites biopsies de peau (3 mm) provenant de patients atteints de Scl, ce qui permet d'étudier de manière exhaustive leur profil immunitaire dans le sang et au niveau des tissus barrières. Au cours des derniers mois, la Dre Sarfati et Heena Mehta, PhD, associée de recherche, sont devenues expertes dans l'utilisation du FACSymphony et de ses résultats complexes constitués de mégadonnées dont l'interprétation nécessite des logiciels basés sur l'intelligence artificielle et la bio-informatique. Cette nouvelle technologie extraordinairement puissante va conduire à l'identification de sous-populations cellulaires pathogènes insoupçonnées et de nouveaux mécanismes pathologiques.

UN PROTOCOLE DE RECHERCHE NOVATEUR

Après avoir maîtrisé le FACSymphony, notre équipe d'experts composée notamment des docteurs Sarfati et Mehta, de Sabrina Hoa, MD (rhumatologue et chercheuse-clinicienne ayant effectué un stage postdoctoral de 3 ans en Scl et une maîtrise en épidémiologie à l'Université McGill), de Martial Koenig, MD (interniste spécialisé en Scl et premier principal de notre manuscrit de 2008) et du soussigné, a entrepris et est en voie de compléter, malgré le confinement dû à la COVID-19, **un nouveau protocole de recherche visant à caractériser le paysage immunitaire global de la Scl et de la pré-Scl et à établir de façon précise « la carte d'identité immunitaire aux niveaux moléculaire et cellulaire » chez des malades sclérodermiques individuels.**

Le devis de l'étude s'appuie sur notre découverte de la pré-Scl et sur notre maîtrise de la puissance analytique inégalée du FACSymphony. **Les résultats fourniront de nouvelles cibles thérapeutiques importantes, dont l'inactivation pourrait empêcher la progression de la Scl. Nous anticipons la découverte potentielle d'un profil immunitaire « protecteur », laissant entrevoir de nouvelles cibles et stratégies thérapeutiques qui pourraient protéger les patients d'une progression vers une Scl pleinement établie.**

LE RHAPSODY

Cependant, il manque un appareil clé pour maximiser l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles. **Une technologie de pointe supplémentaire est nécessaire pour fournir les transcriptomes (toutes les molécules d'ARN messager) des cibles identifiées par la cytométrie en flux. Cet équipement, également de BD, est le Rhapsody, un système d'analyse à l'échelle unicellulaire qui identifie l'expression de centaines de gènes sur des dizaines de milliers de cellules individuelles étudiées en parallèle.** Comme le FACSymphony, avec lequel il fonctionne en tandem, le Rhapsody est coûteux et nécessite l'accès à de précieux échantillons biologiques provenant des malades. Nous souhaitons donc optimiser au maximum le nombre d'analyses sur un même échantillon et c'est ce qui justifie l'acquisition rapide du Rhapsody, car les mêmes précieux échantillons de patients utilisés par le FACSymphony peuvent être réutilisés par le Rhapsody. Qui plus est, nous avons eu l'occasion de tester dernièrement le potentiel du Rhapsody grâce à un prêt d'équipement par BD. **Pour dire les choses simplement, ne pas disposer du Rhapsody priverait notre projet de recherche de ses applications thérapeutiques potentielles.**

UN EFFORT NATIONAL RÉUSSI

Étant donné que le Centre de recherche du CHUM ne possède pas de Rhapsody et que notre équipe ne dispose pas des ressources financières nécessaires à son acquisition, Sclérodermie Québec a lancé une campagne de collecte de fonds à l'échelle nationale. Nous sommes extrêmement heureux que 88 000 \$ aient été recueillis en mars et avril 2021, ce qui va permettre l'acquisition du Rhapsody. Nous remercions Sclérodermie Canada, Scleroderma Association of B.C., Scleroderma Association of Saskatchewan, Scleroderma Manitoba, Scleroderma Society of Ontario, Sclérodermie Québec et Sclérodermie Atlantique de leur grande générosité.

CONCLUSION

Les progrès technologiques fournissent aujourd'hui des outils extraordinairement puissants pour établir la carte d'identité immunitaire individuelle des personnes atteintes de Scl. Alors que nous faisons nos premiers pas vers une thérapie personnalisée, ces outils suscitent l'espoir de tous les patients atteints de Scl. Les partenariats entre les patients, les chercheurs en sciences fondamentales et les chercheurs cliniciens, ainsi que le soutien généreux d'organismes nationaux et provinciaux, sont essentiels pour améliorer l'espérance de vie des personnes atteintes de Scl et, ultimement, pour apporter une guérison à la maladie. Notre équipe est fière du soutien national dont bénéficient ses projets. Nous sommes responsables et nous tenons nos engagements. <<

JEAN-LUC SENÉCAL, MD, FRCPC, MCRA

Chaire de recherche en sclérodermie
Professeur titulaire de médecine
Université de Montréal

1. Koenig et al. Arthritis Rheum (2008) 58: 3902-3912. doi: 10.1002/art.24038.

2. Mehta et al. J Invest Derm (2017) 137:2316-2325. doi: 10.1016/j.jid.2017.06.019.