

Livre des résumés

Communications orales - recherche fondamentale

**Lundi 23 novembre
Plénière 1 Place de l'école
15h00-18h30**

Reducing dynamin 2 rescues severe congenital myopathies in mice

Belinda Cowling¹, Ivana Prokic¹, Hichem Tassaout¹, Suzie Buono¹, Thierry Chevremont¹, Christine Kretz¹, Arnaud Ferry², Catherine Coirault², Vincent Laugel³, Norma B. Romero^{4,5}, Jocelyn Laporte¹.

¹ *Dpt Translational Medicine and Neurogenetics, IGBMC, Illkirch, France*

² *UMRS974, Université Pierre et Marie Curie-Paris, Paris, France*

³ *Department of Pediatrics, Strasbourg-Hautepierre University Hospital, Avenue Moliere, F-67098 Strasbourg, France*

⁴ *Université Paris 6 UR76, Inserm UMR 974, CNRS UMR 7215, Institut de Myologie, Unité de Morphologie Neuromusculaire,*

⁵ *Centre de référence de pathologie neuromusculaire Paris-Est, Groupe Hospitalier La Pitié-Salpêtrière, Paris, France*

Centronuclear myopathies (CNM) are congenital disorders associated with skeletal muscle weakness and abnormally located myonuclei. An autosomal dominant form of CNM results from mutations in the gene encoding dynamin 2 (DNM2), and loss-of-function mutations in the gene encoding myotubularin (MTM1) result in X-linked centronuclear myopathy (XLCNM), which promotes severe neonatal hypotonia and early death. Currently, no effective treatments exist for XLCNM.

The main goals of this study were to determine the genetic relationship between *MTM1* and *DNM2* and to validate a novel rescue approach for CNM. Recent data suggested some CNM-causing *DNM2* mutations increase the dynamin oligomer stability and GTPase activity. Also, overexpression of wildtype *DNM2* in skeletal muscle cause a CNM-like phenotype. We hypothesize *MTM1* and *DNM2* function in a common pathway, where either *MTM1* loss-of-function or *DNM2* gain-of-function lead to CNM. To test this we reduced *DNM2* expression in XLCNM mice (*Mtm1*^{-y}) that exhibit a progressive myopathy leading to death by 12 weeks. *Mtm1*^{-y}*Dnm2*^{+/-} mice survived up to 2 years. Classical CNM histological features including fiber atrophy and nuclei mispositioning were strongly reduced, and muscle strength was increased. Downregulation of *Dnm2* in skeletal muscle also rescued the muscle disease supporting a cell-autonomous relationship between *MTM1* and *DNM2*. Downregulation of *Dnm2* after disease onset could stop and potentially revert the progression of the phenotype. We are now developing a translated approach to downregulate *Dnm2* in XLCNM mice, which is an essential step in the preclinical development of this novel therapeutic target.

Based on the above results we used the same strategy to test the therapeutic potential of *DNM2* in a different disorder. Data will be presented sustaining we identify a second muscle disease that may be treated by reducing *DNM2*.

Based on these data we propose *MTM1* and *DNM2* are in the same genetic pathway important for muscle function. While *DNM2* is a key mechanoenzyme for important cellular processes, its reduction is beneficial for several muscle diseases and represents a novel potential therapeutic approach

Abnormal splicing switch of DMD's penultimate exon compromises muscle fiber maintenance in Myotonic Dystrophy

F. Rau¹, J. Lainé¹, L. Ramanoudjame¹, A. Ferry¹, L. Arandel¹, O. Delalande², A. Jollet¹, F. Dingli³, K-Y Lee⁴, C. Peccate¹, S. Lorain¹, E. Kabashi⁵, T. Athansopoulos⁸, T. Koo⁸, D. Loew³, M.S. Swanson⁴, E. Le Rumeur², G. Dickson⁸, V. Allamand¹, J. Marie¹ & D. Furling¹

¹ Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, INSERM, CNRS, Centre Recherche en Myologie, Institut de Myologie, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

² Université de Rennes 1, Institut de Génétique et Développement de Rennes, Rennes, France

³ Institut Curie, Centre de Recherche, Lab. Spectrométrie de Masse Protéomique, Paris, France

⁴ Department of Molecular Genetics and Microbiology, Center for NeuroGenetics and the Genetics Institute, University of Florida, College of Medicine, Gainesville, USA

⁵ Sorbonne Université, UPMC Univ Paris 06, UM 75, INSERM, CNRS, ICM, Paris, France

⁶ School of Biological Sciences, Royal Holloway – University of London, Egham, Surrey, UK

Myotonic Dystrophy type 1 (DM1) is characterized at the skeletal muscle level by progressive weakness, wasting and myotonia. DM1 is an autosomal dominant disorder caused by an expanded CTG repeat in the 3'UTR of the DMPK gene, in which expression of pathogenic RNA leads to muscular dysfunction. CUG-expanded RNAs are retained in nuclear aggregates that sequester MBNL RNA binding factors involved in the regulation of alternative splicing during development. Functional loss of MBNL1 results in abnormal splicing of a subset of pre-mRNAs in DM1. Among them, missplicing of CLCN1, and BIN1 pre-mRNAs have been associated with myotonia and muscle weakness, respectively. Additional missplicing events have been described in skeletal muscles of DM1 patients, however their consequences on muscle function remain largely unknown. In this study, we were interested to the aberrant splicing of DMD exon 78 that strongly correlates with muscle disease severity in DM1 patients. DMD gene is composed of 79 exons encoding a 427-kDa subsarcolemmal dystrophin protein in skeletal muscle. Alternative splicing of DMD exon 78 is regulated by MBNL1 during skeletal muscle development and modifies the dystrophin C-terminus structure leading to a β -sheet C-terminus in the adult isoform in place of an amphipathic α -helix C-terminus in the embryonic isoform. This developmental transition is required for muscle function since forced exclusion of dmd exon 78 using an exon-skipping approach in zebrafish severely impairs mobility and muscle architecture. Moreover, expression of micro-dystrophin constructs in dystrophin deficient mice demonstrates that the presence of the amphipathic α -helix C-terminus is sufficient not able to improve muscle function in contrast to the β -sheet C-terminus. Finally, we show that forced Dmd exon 78 skipping and subsequent embryonic dystrophin re-expression in wild type mice leads to muscle fiber remodeling and ultrastructural abnormalities. Similar changes have been described in affected muscles of DM1 patients suggesting that abnormal splicing of DMD exon 78 due to pathogenic CUGexp-RNA mediating MBNL1 functional loss in DM1 could contribute to the progressive dystrophic process in this disease.

Myotonic Dystrophy, dystrophin, alternative splicing

A transcription coactivator regulates skeletal myogenesis and its deficiency causes a novel form of congenital muscle disease

Laurianne Davignon (1, 2, 3), Claire Chauveau (2, 3), Cédric Julien (2, 3), Eva Cabet (1), Brigitte Buendia (1), Alain Lilienbaum (1), John Rendu (4, 5, 6), Isabelle Duband-Goulet (1), Marie Christine Minot (7), Agnès Guichet (8), Valérie Allamand (9), Nathalie Vadrot (1), Julien Fauré (4, 5, 6), Sylvie Odent (7), Leïla Lazaro (10), Jean Paul Leroy (11), Pascale Marcorelles (11, 12), Odile Dubourg (2, 3, 13), Ana Ferreiro (1, 2, 3, 14).

1. Pathophysiology of striated muscles laboratory, Unit of Functional and Adaptive Biology (BFA), University Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, BFA, UMR CNRS 8251, 75250, Paris Cedex 13, France
2. Inserm U787, Myology group, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 75013, Paris, France
3. UPMC, UMR787, 75013, Paris, France
4. Université Grenoble Alpes, Université Joseph Fourier, 38041, Grenoble, France
5. Biochimie Génétique et Moléculaire, CHRU de Grenoble, 38700, Grenoble, France
6. INSERM U386, Equipe Muscle et Pathologies, Grenoble Institut des Neurosciences, 38700, Grenoble, France
7. Service de génétique clinique UMR6290, CHU de Rennes – Université de Rennes 1, 35203, Rennes, France
8. CHU Angers, Service de génétique médicale, 49100, Angers, France
9. UPMC, Inserm UMRS974, CNRS FRE3617, Center for Research in Myology, 75013, Paris, France
10. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier de la côte Basque, 64109, Bayonne, France
11. Laboratoire d'Anatomo-Pathologie, CHU de Brest, 29609, Brest, France
12. EA 4685 Laboratoire de Neurosciences de Brest, Université Bretagne Occidentale, 29200, Brest, France
13. AP-HP, Laboratoire de Neuropathologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 75013, Paris, France
14. AP-HP, Centre de Référence Maladies Neuromusculaires Paris-Est, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 75013, Paris, France

Despite recent progress in the genetic characterization of congenital muscle diseases, the genes responsible for a significant proportion of cases remain unknown. We analyzed two branches of a large consanguineous family in which 4 patients presented with a severe new phenotype, clinically marked by neonatal onset of muscle weakness predominantly involving axial muscles, life-threatening respiratory failure, skin abnormalities and joint hyperlaxity without contractures. Muscle biopsies showed the unreported association of multi-minicores, caps and dystrophic lesions. Genome-wide linkage analysis and positional-candidate gene sequencing in patients identified a homozygous nonsense mutation in a gene encoding a poorly-characterized transcription coactivator, never associated with muscle or with human inherited disease so far. This mutation resulted in mRNA decay to around 10% of control levels and absence of detectable protein in patient cells. We found that the levels of this transcriptional coactivator are higher in axial than in limb muscles in mouse, and increase during differentiation in C2C12 myogenic cells. Depletion of the protein in cultured muscle cells from a patient and in knocked-down C2C12 led to a significant reduction in myotube diameter ex vivo and in vitro, without changes in fusion index or markers of initial myogenic differentiation. This work defines a novel form of congenital muscle disease, expanding their histological, clinical and molecular spectrum. We also report the first the first mutation in a transcription coactivator as a cause of muscle disease, establish the importance of this protein in human skeletal muscle, identify transcriptional co-regulation as novel pathophysiological pathway, define a novel regulator of late myogenic differentiation and suggest defects in myotube growth as a novel myopathic mechanism.

Myopathie congénitale, Nouveau gène, Myogénèse

Myofibrillar instability exacerbated by acute exercise in filaminopathy

Frédéric Chevessier (1), Julia Schuld (2), Zacharias Orfanos (2), Anne-C. Plank (3), Lucie Wolf (1), Alexandra Maerkens (4,5), Andreas Unger (6), Ursula Schlötzer-Schrehardt (7), Rudolf A. Kley (4), Stephan von Hörsten (3), Katrin Marcus (5), Wolfgang A. Linke (6), Matthias Vorgerd (4), Peter F. M.van der Ven (2), Dieter O. Fürst (2), Rolf Schröder (1).

1 Institute of Neuropathology, University Hospital Erlangen, Erlangen, Germany

2 Institute for Cell Biology, Department of Molecular Cell Biology, University of Bonn, Bonn, Germany

3 Department for Experimental Therapy, Preclinical Experimental Animal Center, University Hospital Erlangen, Erlangen, Germany

4 Department of Neurology, Neuromuscular Center Ruhrgebiet, University Hospital Bergmannsheil, Ruhr-University Bochum, Bochum, Germany

5 Department of Functional Proteomics, Medizinisches Proteom-Center, Ruhr-University Bochum, Bochum, Germany

6 Department of Cardiovascular Physiology, Ruhr University Bochum, Bochum, Germany

7 Department of Ophthalmology, University Hospital Erlangen, Erlangen, Germany

Filamin C (FLNC) mutations in humans cause myofibrillar myopathy (MFM) and cardiomyopathy, characterized by protein aggregation and myofibrillar degeneration. We generated the first patient-mimicking knock-in mouse harbouring the most common disease causing filamin C mutation (p.W2710X). These heterozygous mice developed muscle weakness and myofibrillar instability, with formation of filamin C- and Xin-positive lesions streaming between Z-discs. These lesions, which are distinct from the classical MFM protein aggregates by their morphology and filamentous appearance, were greatly increased in number upon acute physical exercise in the mice. This pathology suggests that mutant filamin influences the mechanical stability of myofibrillar Z-discs, explaining the muscle weakness in mice and humans. Re-evaluation of biopsies from MFM-filaminopathy patients with different FLNC mutations revealed a similar, previously unreported lesion pathology, in addition to the classical protein aggregates, and that structures previously interpreted as aggregates may be in part sarcomeric lesions. We postulate that these lesions define pre-clinical disease stages, preceding the formation of protein aggregates.

Myofibrillar Myopathies, Filamin C, Sarcomeric Lesions

The anti-apoptotic CED-9/Bcl-2 protein protects against muscle degeneration in Caenorhabditis elegans models for muscular dystrophies

Mathieu Baritaud (1), Marie-Christine Mariol (1), Edwige Martin (1) & Kathrin Gieseler (1)

(1) Center of Molecular and Cellular Genetics and Physiology (CGΦMC), CNRS UMR 5534, Claude Bernard University – Lyon 1 – FRANCE

Muscular dystrophies are characterized by muscle weakness and degeneration induced by genetic mutations affecting muscle structure or signaling components. The subcellular mechanisms of muscular dystrophies are poorly understood and the development of treatments is challenging, in part due to great variety of primary genetic defects.

Using different Caenorhabditis elegans models that mimic human muscular dystrophies such as Duchenne and Becker dystrophies, Limb-Girdle, Emery- Dreifuss or congenital muscular dystrophy, we found that a gain of function mutation of the anti-apoptotic protein CED-9, ortholog of mammalian B cell lymphoma 2 (Bcl-2), strongly reduced muscle degeneration.

To investigate the molecular pathways, we analyzed the impact of mutations affecting keys effectors of programmed cell death (PCD) mechanisms such as CED-3/caspase-3, CED-4/Apaf-1, CED-9/Bcl-2, CED-13 and EGL-1 (two orthologs of pro-apoptotic Bcl-2 protein family) on muscle degeneration in the Duchenne Muscular Dystrophy (DMD) C. elegans model. We evaluated different features of muscle cell death : destruction of actin filament network, nuclei loss, mitochondrial stress by measuring ROS production with Hyper transgene; and the state of mitochondrial network. Using CRISPR mediated genome engineering we currently determine domains of protein interactions between CED-9 and the different PCD effectors so as to reveal new PCD actors involved in muscle degeneration through the investigation of CED-9 partners.

Finally, by deciphering the role of the PCD machinery and the anti-apoptotic CED-9 protein in different C. elegans models for muscular dystrophies, we aim at identifying common molecular pathways to reduce, stop or reverse muscle degeneration in muscular dystrophies.

CED-9/Bcl-2, muscle degeneration, muscular dystrophies

Mechanosensing defects in nuclear envelope related disorders

Christine TECHNAU (1)*, Martina FISCHER (1)*, Kamel MAMCHAOU (1), Anne BIGOT (1), Theyy LOK (2), Claude VERDIER (2), Alain DUPERRAY (3), Thomas VOIT (1), S QUIJANO-ROY (4), G BONNE (1), Catherine COIRAULT (1)

From (1) Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, INSERM UMRS974, CNRS FRE3617, Center for Research in Myology, Paris, France; (2) LIPhy, CNRS-Univ. Grenoble, France; (3) INSERM U823, IAB-Univ. Grenoble, France and (4) APHP, GHU Paris Ile-de-France Ouest, Garches, France

Recent data indicate that mutations in nuclear envelope genes cause both defects in mechanotransduction signaling and force transmission across the nuclear envelop. A central role in this mechanosensory process has been attributed to A-type lamins, which together with the Linker of the Nucleoskeleton and Cytoskeleton (LINC)-complex enables force transmission across the nuclear envelop. Whereas a basic picture is that extracellular mechanical forces are transmitted from outside the cell to the nucleus, we hypothesize that mutations in A-type lamin (LMNA) or in nesprin can affect the mechanical transmission from the nuclear envelop to the extracellular matrix. Human myoblasts with either LMNA or nesprin-1 mutations were cultured on soft substrates (12 kPa) and compared to control (WT) myoblasts. On soft surface, LMNA and nesprin-1 mutated myoblasts exhibited enlarged and increased number of focal adhesions, increased stress fibers and enlarged cell spreading area compared with WT. Further, nesprin-1 mutant exerted significantly higher traction forces on the substrate compared with WT myoblasts. These abnormalities were greatly reduced after treatment with Y27632, or SU6656, which inhibit Rho-associated protein kinase or the Src family kinase respectively, suggesting an abnormal activation of Rho-dependent Src pathway in mutant cells. Treatment with the MLCK inhibitor ML7 also significantly reduced the spreading area in mutant cells but without modifying the number and distribution of perinuclear actin stress fibers. We concluded that the integrity of the LINC complex and the lamina is required for proper regulation of the cytoplasmic actin contractility in soft substrates, through an apparent Src-dependent ROCK pathway.

mechanotransduction, muscular dystrophy, LINC complex

The key role of CXCL12/SDF1 chemokine in the angiogenesis/myogenesis coupling during muscle regeneration

Hardy D ¹ , Besnard A ¹ , Gasse P ¹ , Arenzana-Seisdedos F ¹ , Thépenier C ¹ , Chrétien F ¹

1. Institut Pasteur, Paris France

CXCL12 (also known as SDF-1) is a critical chemokine in the homeostatic regulation of leukocyte trafficking and tissue regeneration. It regulates the egress of stem cells from the BM. Beyond the binding to its cognate receptor, CXCR4, the interaction of CXCL12 with the glycanic moiety of proteoglycans, in particular with heparan sulfates (HS), is believed to contribute to the biological activity of the chemokine by enabling the formation of CXCL12 gradients that determine the oriented migration and tissue recruitment of circulating cells. Nothing is known about the role of CXCL12 during muscle regeneration through muscle stem cells (satellite cells). The role of CXCL12 during muscle regeneration via the muscle stem cells (satellite cells) has never been described.

The purpose of this study is to identify the role of CXCL12 in satellite cells niche in normal and pathological condition using a transgenic mouse line recently developed where the gene encoding CXCL12 was selectively mutated at its binding site heparan sulphate thus preventing CXCL12-HS bond (Cxcl12gagtm/gagtm mice).

The first results show that in the mutant mice, the morphology of the adult muscle is normal. In contrast, the muscle regeneration is severely affected with severe muscle fibrosis and lipid accumulation. The same phenotype is observed in human myopathies. The satellite cell compartment doesn't show structure or behavior abnormalities, however, the endothelial cell compartment has a major vascularization defect with many anastomotic collateral and a large number of cells forming filopodia called "tip cells". After injury, vasculature is dramatically affected, this defect of angiogenesis leads to a misregulation of the angiogenesis/myogenesis coupling.

CXCL12, Myogenesis, Angiogenesis

Osteogenic and myogenic differentiation of human induced Pluripotent Stem cells from control and Andersen's Syndrome myoblasts

Jonathan PINI (1), Matthieu ROULEAU (1), Sabrina SACCONI (2, 3), Claude DESNUELLE (2, 3), Saïd BENDAHHOU

1. Laboratoire de PhysioMédecine Moléculaire, LP2M UMR CNRS 7370, Université Nice Sophia-Antipolis, Nice, France | 2. Centre de référence maladies neuromusculaires, CHU, Nice, France | 3. IRCAN, UMR 7248 CNRS - INSERM U1081, Faculté de Médecine, Nice, France

Andersen's syndrome is a rare disorder characterized by a triad of symptoms: periodic paralysis, cardiac arrhythmia and bone developmental defects such as craniofacial features, dental and skeletal anomalies. Most of the patients have mutations in the KCNJ2 gene that encodes for the inward rectifier potassium channel Kir2.1. These mutations in this channel lead to a complete loss of function with a dominant-negative effect.

To investigate Kir2.1 pathophysiology, we have generated and characterized iPS cells from healthy as well as Andersen's syndrome patient muscular biopsies (taken from Vastus lateralis).

The cells obtained after infection have the characteristics of embryonic stem cells. They express pluripotent, genetics, as well as surface markers. These cells could also differentiate into the three germ layers by forming embryoid bodies and express specific markers of ectoderm, endoderm and mesoderm. Interestingly, expression of osteogenic markers is lower in embryoid bodies differentiated AS-iPS compared to control iPS cells.

We have then investigated the myogenic differentiation properties of control iPS cells. We have made the first attempts to differentiate control iPS cells into myogenic cells. Preliminary results showed that myogenic differentiated iPS cells expressed myogenin, a typical myogenic marker. Moreover, myogenic differentiated iPS cells are able to fuse and express some typical myotubular ionic currents.

Altogether, our results showed that the Kir2.1 channel is not important for the reprogramming process, and the early step of the development in vitro. However, the osteogenic machinery appears to be hastened in AS-iPS cells, strongly indicating that the generated AS-iPS cells could be a good model to better understand the AS pathophysiology. Moreover, preliminary results indicated that myogenic differentiation without any genetic modification from iPS cells is possible, but further investigations are needed to improve the efficiency of the differentiation.

iPS cells, Osteogenesis, Myogenic differentiation

Genetic dissection of Transcriptional Regulatory Networks specifying muscle identity in *Drosophila*

Laurence Dubois, Jean-Louis Frendo, Hélène Chanut and Alain Vincent

Centre de Biologie du Développement

CNRS/Université Toulouse 3

France

The development of the complex architecture of the body wall musculature of the *Drosophila* larva – about 30 different muscles in hemi-segment - is a classical model to decrypt Transcription Regulatory Networks (TRNs) controlling muscle identity: orientation, shape, size, skeletal attachment sites, and innervation. Each *Drosophila* skeletal muscle is a single multinucleated fiber built by fusion of a Founder Cell (FC) with a given number of fusion competent myoblasts (FCMs). Muscle identity has been shown to reflect the expression by each FC of a specific combination of muscle identity Transcription Factors (iTFs). Historically, characterization of muscle iTFs was largely opportunistic, following their identification in other developmental processes. We therefore undertook an unbiased, systematic genetic screen to identify new muscle identity genes, concentrating on the formation of a small set of 6 dorso-lateral (DL) muscles. This led us to identify new iTFs, including *Drosophila* Tup (Islet1), Sine Oculis (Six1/2) and No Ocelli, a NET transcription factor as well as new functions of Eya. Combined analyses of primary transcripts and mutant phenotypes of these different TFs revealed the intertwining of regulations controlling the successive steps of muscle identity specification, providing a dynamic, integrated view of the transcriptional control of the body wall muscle pattern. They also provide an extended framework for studies of Eya, Six and Islet1 functions and transcriptional regulatory interactions in the diversification of muscle lineages in humans.

Myogenesis, Muscle identity, Transcription Regulatory Networks

Communications orales - recherche fondamentale

Colloque Myogénèse

**Mardi 24 novembre
Plénière 1 Place de l'école
08h30-10h30**

Acetylcholine receptor gene coregulation by long distance interactions

Francesca RATTI (1), David CLUET (2) and Alexandre MEJAT (1)

1. INMG – INSERM U1217, Lyon, France

2. LBMC – UMR 5239 – ENS Lyon / CNRS/ UCBL1, France

Eukaryotic genomes must accommodate two diametrically opposite requirements: the compaction of ~2 m of genomic DNA into a sphere with a diameter of ~10 μ m and, on the other hand, the accessibility of DNA to a wide variety of molecular machines involved in DNA replication, transcription, recombination and repair. Therefore three-dimensional nuclear organization is clearly critical for cellular functions.

The muscle fibre is an ideal model to probe how cellular function is linked to nuclear architecture. Muscle is a well-characterized model of cellular differentiation with mononucleated myoblasts switching into myocytes that fuse to form multinucleated terminally differentiated myotubes. However, little is known about how nuclear architecture and dynamics change during muscle differentiation and how nuclear architecture contributes to muscle function.

We chose nicotinic acetylcholine receptor (AChR) subunit genes as a model system to investigate how long-distance interactions between coregulated genes are established and, in a more general way, to elucidate the mechanism(s) controlling gene positioning in muscle nuclei.

Interestingly, although AChR subunit α , β , δ , γ , and ϵ are encoded by five independent genes located on different chromosomes, their expression is coregulated both spatially and temporally. We hypothesized that AChR concerted gene expression could be regulated via long-distance gene interactions.

Using Fluorescent In Situ Hybridization (FISH), we showed that AChR genes colocalize at the center of synaptic nuclei whereas they are positioned at the periphery of subsynaptic nuclei. Upon denervation, AChR genes are reexpressed in extrasynaptic nuclei and move from the periphery to the center of extrasynaptic nuclei, proving that muscle genes can be relocated in interphasic nuclei in response to physiological stimuli. Finally, we compared AChR gene location in muscle from WT and *Lmna*^{-/-} muscles but could not observe any difference, suggesting that lamins A/C do not regulate AChR gene positioning. Our model and results provide a unique overview of the way transcription and 3D genome organization are coregulated in an *in vivo* physiological model.

Acetylcholine receptor genes, FISH, 3D genome organization

Distinct branches of Wnt signaling control Neuromuscular Junction formation

Julien Messéant (1), Jérôme Ezan (2), Perrine Delers (1), Carmen Marchiol (3), Franck Lager (3), Gilles Renault (3), Fadel Tissir (4), Mireille Montcouquiol (2), Nathalie Sans (2), Claire Legay (1) and Laure Strohlic (1)

1. CNRS UMR 8119, CNRS UMR 8194, Université Paris Descartes, PRES Sorbonne Paris Cité, Paris, 75270 Cedex 06, France.
2. INSERM U862, Neurocentre Magendie, Bordeaux, 33077 Cedex, France.
3. INSERM U1016, Institut Cochin, Université Paris Descartes, PRES Sorbonne Paris Cité, Paris, 75014, France.
4. Developmental neurobiology, Institute of Neuroscience, Université Catholique de Louvain, Brussels, B1200, Belgium.

Understanding the developmental steps shaping the formation of the specialized peripheral synapse connecting motoneurons to skeletal muscle fibers, also called neuromuscular junction (NMJ) is critical. Recently, growing evidences suggest that Wnt morphogens act as key players in the formation of this synapse. Yet, the collaborative function of specific Wnts and downstream signaling at the NMJ remain poorly understood. We demonstrate that Wnt11 is required for the early nerve-independent muscle pre-patterning, a process characterized by acetylcholine receptors (AChR) clustering in discrete domains of the muscle surface. Moreover, both Wnt4 and Wnt11 cooperate to enhance AChR clustering in muscle cell line and in diaphragm in vivo, in part via activation of the canonical pathway. In addition, in utero injections of specific secreted Wnt signaling inhibitors lead to similar pre and postsynaptic defects suggesting that distinct Wnt signaling branches are required for NMJ formation.

We further show that Vangl2, a bona fide core Planar Cell Polarity (PCP) protein, is expressed in both developing NMJ counterparts. Interestingly, we found that both Wnt4 and Wnt11 co-immunoprecipitate with Vangl2 and that mice bearing the Vangl2 looptail mutation exhibit both AChR clustering and motor axon outgrowth defects. Taken together, our results provide genetic and biochemical evidence that the coordinated action of Wnt4 and Wnt11 controls NMJ formation via the activation of both the canonical and Vangl2-dependent core PCP signaling pathways.

Neuromuscular junction formation, Wnt signaling, Vangl2

Le Yin et le Yang des inhibiteurs de cholinestérases aux jonctions neuromusculaires

Eric Krejci (1), Jacqueline Leroy (1) et Konstantin Petrov (2)

1 COGnition ACtion Group, UMR CNRS, SSA, Université Paris Descartes, Paris France

2 Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, Kazan, Russia

Beaucoup des myasthénies sont traitées avec des inhibiteurs de d'acétylcholinestérase (AChE) pour améliorer la transmission synaptique dans les jonctions neuromusculaires. Les inhibiteurs utilisés actuellement ne sont pas spécifiques de l'AChE mais bloquent aussi la butyrylcholinestérase, une enzyme abondante dans le sérum, aussi présente dans de nombreux tissus. Alors que l'AChE est très abondante dans la lame basale qui coure entre le motoneurone et la fibre musculaire, la BChE y est très rare et ne contrôle pas directement la transmission synaptique. La BChE est cependant accumulée sur les cellules de Schwann terminales par une petite protéine PRiMA. L'inhibition ou l'absence de BChE réduit la libération d'ACh par le motoneurone, sans compromettre la transmission synaptique. Puisque BChE hydrolyse l'ACh, nous avons recherché et établi que le blocage ou l'absence des récepteurs nicotiniques (nAChR) $\alpha 7$ prévient la réduction de la libération après inhibition de la BChE. Dans des conditions normales, quand l'AChE est active, la quantité d'ACh qui s'échappe de la JNM est limitée et donc l'inhibition de la BChE est sans conséquence sur la contraction musculaire. Par contre lorsque l'AChE est partiellement inhibée, comme pendant le traitement des myasthénies, deux processus antagonistes entrent en compétition si la BChE est inhibée. D'une part l'augmentation transitoire d'ACh active plus de nAChR musculaires et permet de soutenir la contraction musculaire, d'autre part si la BChE est inhibée, l'ACh active des $\alpha 7$ nAChR et réduit la libération. Nous présenterons différents niveaux de cette analyse ex vivo et in vivo. Ces observations devraient être prises en compte dans le choix d'inhibiteur dans les traitements des myasthénies ou dans le développement de nouveaux inhibiteurs d'AChE.

physiologie, acetylcholine, myasthénie

Non myogenic cells and muscle fibrosis: chicken or egg?

Elisa Negroni¹, Mona Bensalah¹, Victorine Albert¹, Teresa Gidaro¹, Gonzalo Cordova¹, William Duddy¹, Svetlana Ghimbovschi², Jessy Etienne¹, Sophie Perié^{1,3}, Jean Lacau St-Guily^{1,3}, Françoise Chapon⁴, Jean-Thomas Vilquin¹, Gillian Butler-Browne¹, Vincent Mouly¹, Anne Bigot¹, Capucine Trollet¹

In skeletal muscle, the extracellular matrix (ECM) provides a structural and biochemical scaffold for contractile muscle fibres. Fibrotic muscular substitution is a complex and not yet fully understood process characterized by excessive accumulation of collagens and ECM. Fibrosis can be considered as a dysregulated tissue repair response - involving several cellular and soluble effectors - with severe consequences in neuromuscular disorders and ageing. Among these cellular effectors, fibroblasts have an increasingly appreciated role as an autocrine/paracrine source of profibrotic stimuli associated with tissue scar formation and fibrosis, but their causal implication in dystrophic muscle progression and the underlying mechanisms remain unclear.

OPMD is an autosomal dominant inherited late-onset degenerative muscle disorder where a small group of specific muscles (pharyngeal and eyelid) are primarily affected. We recently demonstrated that cricopharyngeal muscle shows atypical features, such as hypotrophic muscle fibers surrounded by connective tissue that are usually considered to be pathological in other skeletal muscles (limb muscles). In particular, OPMD cricopharyngeal muscle is characterized by an exacerbated fibrosis without any sign of inflammation together with fiber atrophy and absence of regeneration. This peculiar phenotype led us to characterize the non-myogenic cells (CD56neg) isolated from cricopharyngeal muscle of control and OPMD patients compared to control limb muscle; this includes proliferation rate and lifespan studies, transcriptomic and FACS analysis as well as xenotransplantation to decipher their exact role during muscle regeneration. We demonstrate that human CD56neg cells from fibrotic pharyngeal muscle are very different from that of limb muscle with a strikingly high proliferative capacity, an inhibitory effect on muscle regeneration and an exacerbated secretion of pro-fibrotic factors. The question remains whether this peculiar behavior is 'only' the consequence of the fibrotic environment where they come from or one of the cause of this fibrotic and degenerated environment: like chicken and egg, who came first?

fibrosis, non-myogenic cells, muscle regeneration

Cyclosporine A treatment increases muscle strength and prolongs life in mice with lethal mitochondrial myopathy

Charlotte GINESTE (1), Andres HERNANDEZ (1), Niklas IVARSSON (1), Arthur J. CHENG (1), Karin NAESS (2), Rolf WIBOM (3), Nicole LESKO (3), Helene BRUHN (3), Anna WEDELL (3,4), Christoph FREYER (2,3), Shi-Jin ZHANG (1), Mattias CARLSTROM (1), Johanna T. LANNER (1), Daniel C. ANDERSSON (1), Joseph D. BRUTON (1), Anna WREDENBERG (2,3), Håkan WESTERBLAD (1)

1. Karolinska Institutet, Department of Physiology and Pharmacology, Von Eulersväg 8, 17177 Stockholm, Sweden | 2. Karolinska Institutet, Department of Laboratory Medicine, Retzius väg 8, 171 77 Stockholm, Sweden | 3. Karolinska University Hospital, Center for Inherited Metabolic Disease, Stockholm, Sweden | 4. Karolinska Institutet, Department of Molecular Medicine and Surgery, Science for Life Laboratory, Stockholm, Sweden

Introduction: Mitochondrial myopathies are genetically heterogeneous metabolic disorders, originating from the dysfunction of one or more mitochondrial metabolic pathways¹. Muscle weakness and exercise intolerance are hallmark symptoms in mitochondrial disorders. To date, no effective treatment exists. We previously reported that an excessive mitochondrial Ca²⁺ uptake in isolated muscle fibers, that could be inhibited by the cyclophilin D (CypD) inhibitor, cyclosporine A (CsA), may play a central role in the disease process². In this study, we report the effects of a chronic administration of CsA in a mouse model of mitochondrial myopathy.

Methods: The muscle-specific Tfam knock-out (KO) mice were treated with CsA (120 µg/jour) for 4 weeks (from 12 to 16 weeks of age). Maximal force production was assessed on whole EDL muscles and single FBD fibers. Cytosolic [Ca²⁺] was also measured with the fluorescent Ca²⁺ indicator indo-1. RT-PCR and western blot were used to assess the expression of genes and proteins related to mitochondrial and cytosolic Ca²⁺ handling. Muscles biopsies were obtained from control individuals and subjects presenting mitochondrial disease.

Results: CypD protein levels were increased in both mice and patients with mitochondrial myopathy (+60% and +200%, respectively). CsA treatment: extended lifespan of Tfam KO mice by 4 weeks; restored the free cytosolic Ca²⁺; prevented skeletal muscle weakness and the decrease in CASQ1 protein expression. COX1 protein expression was still lower in Tfam KO mice after treatment as compared to untreated mice.

Conclusion: CsA treatment improved Tfam KO skeletal muscle function by improving muscle fiber Ca²⁺ handling. The dominating problem in this model of mitochondrial myopathy may be the progressive muscle weakness rather than the energy deficiency. Overall, our results indicate that CsA treatment can be an effective therapeutic strategy to prevent muscle weakness in mitochondrial myopathies.

skeletal muscle weakness, mitochondria, therapy

Posters Flash

Mardi 24 novembre

Amphi Mérieux

11h15-12h15

Adaptations nerveuses cortico-spinales suite à un entraînement de 8 semaines par vibrations localisées du muscle tibial antérieur

Robin SOURON¹, Adrien FARABET¹, Alain BELLI¹, Léonard FEASSON^{1 2}, Guillaume Y MILLET³, Thomas LAPOLE¹

1 Laboratoire de Physiologie de l'Exercice, Université de Lyon, 42000 Saint-Etienne, France

2 Unité de Myologie, Centre Référent Maladies Neuromusculaires Rares Rhône-Alpes, CHU

3 Human Performance Laboratory, Faculty of Kinesiology, University of Calgary, Canada

L'application de stimuli vibratoires comme technique de reconditionnement neuromusculaire a été récemment proposée. De précédents travaux (Lapole et Pérot, 2010 ; Lapole et al., 2013) ont montré des gains de force maximale volontaire (MVC) suite à un entraînement de 14 jours par vibrations du tendon d'Achille. Un des mécanismes potentiellement impliqué est l'amélioration de la commande motrice descendante issue de l'étage cortical. L'objectif de cette étude était de quantifier le niveau d'activation cortical évalué par stimulation magnétique transcrânienne (VATMS) sur les fléchisseurs dorsaux de la cheville, avant et après un programme d'entraînement par vibration localisée de 8 semaines (24 séances de 1 h chacune).

Quarante-quatre sujets adultes sains et sportifs (20 hommes et 24 femmes) ont participé à cette étude. Les mesures de force étaient réalisées lors de contractions isométriques, avec un angle fixe de genou à 120° et de cheville à 90°. Durant les MVCs, l'utilisation de la TMS permettait d'évaluer VATMS comme suit : $VATMS = (1 - [SS/SER]) \times 100$ où SS est la secousse surimposée lors des contraction maximales, et SER la secousse estimée au repos (ordonnée à l'origine de la régression linéaire entre l'amplitude de la secousse surimposée et la force développée lors de contractions à 100, 75 et 50% MVC). Les mesures ont été effectuées de façon bilatérale avant et après 8 semaines d'entraînement unilatéral.

Les capacités de production de force étaient augmentées à la suite des 8 semaines d'entraînement, du côté entraîné et non entraîné (respectivement +10,2% et +9,1%), pouvant s'expliquer au moins partiellement par une augmentation significative de VATMS (respectivement +4,8% et +5,9%).

La vibration apparaît comme une méthode efficace pour induire des adaptations cortico-spinales et peut donc être envisagée comme une méthode intéressante dans un cadre préventif et/ou rééducatif.

Human primary myoblasts: a two-step process.

Julie Perroud (1), Fabrice Antigny (1), Laurent Bernheim (1), Stéphane König (1)

1. Department des Neurosciences Fondamentales, Faculté de Médecine, Université de Genève, 1 Rue Michel Servet, 1205 GENEVE, SUISSE

Human postnatal skeletal muscle possesses the capacity to regenerate thanks to the presence of satellite cells. Once activated these muscle stem cells proliferate as myoblasts, differentiate and fuse into myotubes. To decipher the molecular events of myoblast differentiation, we use a well-established in vitro model of human primary myoblast cell culture. Single isolated satellite cells, obtained from human muscle biopsies, give rise to clonal populations of myoblasts. Previous studies have demonstrated that calcium modulations play a key role during myoblast differentiation. Indeed, the very first event in the differentiation process described so far is a Ca²⁺ influx caused by the activation of Store Operated Calcium Entry (SOCE). We also demonstrated that Kir 2.1-dependent hyperpolarization occurring during myoblast differentiation enhances Calcineurin transduction pathways.

Here we propose a two steps model for myoblast differentiation process. A first SOCE leads to a low Calcineurin activity. This first step leads to induction of the early marker of differentiation (Myogenin, MEF2A) and the Kir2.1-dependent hyperpolarization. Then, a second hyperpolarization-amplified SOCE takes place, increasing the activity of Calcineurin, leading to expression of later differentiation markers (Myosin HC, STIM1L).

STIM proteins (Stromal Interaction Molecule) and Orai channels have been demonstrated to be the main actors of SOCE in myoblasts. STIM1L (for Long) is a new isoform of STIM1 discovered in our laboratory. STIM1L expression increases during differentiation whereas STIM1S (for Short) is stable. Preliminary experiences show that down-regulation of STIM1S impedes the myoblast differentiation, both early and late phases, whereas down-regulation of STIM1L did not affect early differentiation but clearly reduced the fusion process. The two STIM1 isoforms seem to have distinct roles supporting our two-steps hypothesis.

Our goal is to strengthen our two-steps model by understanding the role of STIM1L isoforms and the Calcineurin downstream pathway during myoblast differentiation.

Human Primary Myoblasts, Differentiation, Calcineurin

Diversité des gènes et des mutations à l'origine des pathologies génétiques de la jonction neuromusculaire en France, et apport du séquençage nouvelle génération à leur diagnostic

D. Sternberg (1,2), P. Richard (1), A. Le Bail (1), P. Blondy (1), K. Gaudon (1), S. Bauché (2), A. de Becdelièvre (1), S. Whalen (3), E. Fournier (2,4), L. Schaeffer (5), J. Melki (6), D. Hantai (2), S. Nicole (2), B. Eymard (2,7) et le Réseau français SMC

1 : Unité Fonctionnelle de Cardiogénétique et Myogénétique Moléculaire, Service de Biochimie Métabolique et Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique (<http://www.cgmc-psl.fr>), Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris

2 : Equipe GENE-PHYS (Neurogénétique et physiologie) , Inserm U 1127, CNRS UMR 7225, Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06 UMR S 1127, ICM, Paris

3 : Service de Génétique, Hôpital Armand Trousseau, APHP, Paris

4 : Département de neurophysiologie clinique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris

5 : UMR 5239 CNRS / ENS, Lyon

6 : UMR-1169, Inserm et Université Paris-Sud, Le Kremlin Bicêtre

7 : Centre de référence des affections neuromusculaires Paris- Est, service de Neurologie 2, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris

Objectifs. Rapporter la diversité génétique et mutationnelle des pathologies génétiques de la jonction neuromusculaire caractérisées génétiquement dans notre laboratoire depuis 2002 jusqu'à aujourd'hui. Montrer l'apport du séquençage nouvelle génération au diagnostic de ces pathologies.

Méthodes. Une demande de diagnostic génétique a été adressée au laboratoire pour 851 cas suspectés, en grande majorité français, depuis 2002. Le séquençage Sanger des différents gènes impliqués dans les pathologies génétiques de la JNM a été développé au laboratoire, à mesure que les différents gènes ont été décrits. Plus récemment, le séquençage NGS d'un panel comportant l'ensemble des gènes connus a été développé.

Résultats. A ce jour, nous avons caractérisé le défaut génétique dans 234 cas avérés. 14 gènes sont en cause. 4 gènes sont fréquents et à l'origine de plus de 10 % des cas génétiquement positifs : CHRNE (35% des cas), DOK7 (17%), RAPSN (14%) et COLQ (11%). Les 10 autres gènes sont plus rares et contribuent chacun pour 1 à 5 % des cas génétiquement caractérisés. Le mode récessif est prédominant (92 %), le mode dominant (canal lent) représente 8 % des cas. Une importante diversité des mutations est observée (faux-sens affectant la fonction de la protéine, décalage du cadre de lecture, épissage, stop, grand réarrangement...) et sous-tend une grande variété de mécanismes moléculaires pathogènes. L'utilisation du NGS nous a permis de réaliser plus rapidement des diagnostics impliquant des gènes rares ou récemment décrits.

Discussion. La diversité des gènes et des mutations est comparable à ce qui est rapporté dans la littérature. Quelques gènes rares ou récemment décrits n'ont pas encore été diagnostiqués en France. L'utilisation du NGS représente un progrès dans le diagnostic moléculaire de ces pathologies hétérogènes génétiquement. Ce nouvel outil diagnostique est complémentaire du développement des techniques d'électrophysiologie clinique et des outils cellulaires et moléculaires d'étude des mutations.

Syndromes myasthéniques congénitaux, Diagnostic génétique, Séquençage de nouvelle génération

Caractéristiques cliniques, radiologiques, histologiques et génétiques de 14 patients porteurs d'une calpainopathie (LGMD2A) suivis au centre de Compétences Breton de Pathologie Neuromusculaire

Jean-Baptiste NOURY (1), Marie-Christine Minot-Myhie (2), Pascale MARCORELLES (3), Fabien ZAGNOLI (4)

1. Service de Neurologie, CHU, Brest, France
2. Neurologue, Rennes, France
3. Laboratoire d'anatomopathologie, CHU, Brest, France
4. Service de Neurologie, HIA-CT, Brest, France

Introduction : Les calpainopathies représentent les plus fréquentes dystrophies musculaires des ceintures. Ses caractéristiques cliniques sont connues mais le diagnostic moléculaire reste difficile et l'analyse du western blot parfois mise en défaut.

Patients et Méthodes : Nous avons étudié les patients porteurs d'une calpainopathie suivis au centre de Compétences Breton de Pathologie Neuromusculaire, dont le diagnostic fut posé sur l'analyse du western blot et du gène CAPN3. Leurs caractéristiques cliniques, radiologiques, histologiques et génétiques ont été recueillies.

Résultats : Notre série comportait 14 patients issus de 12 familles. Les symptômes débutèrent en moyenne à 22.4 ans, par des troubles de la marche le plus souvent (57.1%). 3 patients n'avaient qu'une élévation isolée des CPK. Le déficit moteur était symétrique chez 75% des patients déficitaires, prédominant en loge postérieure de cuisse et de hanche, touchant les 2 ceintures, sans déficit axial ni facial. Aucune atteinte cardiaque n'était notée. 2 patients présentaient un syndrome restrictif modéré. Une imagerie fut réalisée chez 13 patients : les ischiojambiers étaient constamment atteints, même chez les asymptomatiques ; les gastrocnémiens médiaux (76.9%) et les paravertébraux étaient fréquemment touchés, contrastant avec l'absence d'atteinte clinique. La biopsie était dystrophique chez 69.2% des patients. Un infiltrat inflammatoire était retrouvé chez un patient. Le western blot était anormal chez 75% des patients, avec une absence complète des bandes de calpaïne dans 25% des cas. 2 mutations étaient retrouvées chez 76.9% des patients, dont 3 homozygotes et 7 hétérozygotes composites. 2 patients n'avaient qu'une seule mutation mise en évidence et 1 aucune mutation mais un phénotype évocateur cliniquement et au western blot. Il n'a pas été mis en évidence de corrélations génotype-phénotype.

Conclusion : Les calpainopathies constituent un groupe hétérogène partageant certaines caractéristiques typiques. Leur diagnostic peut être difficile et la sensibilité du western blot et de l'analyse génétique reste incomplète.

Calpaïne, LGMD2A, dystrophie

Myasthénie anti-MUSK toujours oculaire pure après 10 ans d'évolution

Pauline ROCHE, Françoise BOUHOURL, Christophe VIAL

Service d'ENMG et Pathologies neuromusculaires, Hôpital Neurologique, GHE, Lyon-Bron

La myasthénie auto-immune anti-MUSK représente 40 % des formes séronégatives (anticorps anti-RACH négatifs) de myasthénie généralisée et est d'évolution habituellement sévère. Les formes oculaires pures sont rares.

Notre observation est celle d'un jeune patient de 16 ans, d'origine ivoirienne, présentant depuis l'âge de 15 ans, un ptosis bilatéral associé à une diplopie binoculaire, permanente, à recrudescence vespérale, et sans atteinte axiale, bulbaire ou respiratoire. Le score d'Osserman est à 90/100.

Les stimulations répétitives ne mettent pas en évidence de décrétement pathologique et seul, l'examen de fibre unique confirme l'atteinte de la jonction neuromusculaire.

Les anticorps anti-RACH sont négatifs. Les anti-MUSK sont positifs en 2004 et contrôlés positifs en 2012. Le scanner thoracique est normal.

Le traitement par Mestinon a permis la disparition des symptômes oculaires pendant 6 mois. La réapparition d'une diplopie sous Mestinon conduit à la mise sous corticoïdes, maintenus pendant 2 ans.

Depuis 2010, notre patient est asymptomatique mais l'ENMG de fibre unique reste pathologique.

Dans l'étude de 2 cohortes parues en 2011, 36% des patients myasthéniques anti-MUSK ont un début oculaire mais la plupart évoluent vers une forme généralisée en 2 à 3 semaines. Certains patients gardent des symptômes oculaires fluctuants jusqu'à 48 mois, avant de « se généraliser ». Six cas de myasthénie anti-MUSK oculaire pure ont été publiés dans la littérature dont certaines, avec un long recul clinique (15 ans).

Conclusion : notre observation confirme l'existence de myasthénies anti-MUSK peu sévères, peu évolutives et présentant des rémissions spontanées.

Myasthénie auto-immune, anticorps anti-MUSK

Identification of novel myopathy genes by exome sequencing

Vanessa SCHARTNER (1), Johann BÖHM (1), Chrystel CHÉRAUD (1), Raphael SCHNEIDER (1,2), Edoardo MALFATTI (3), Julie THOMPSON (2), Norma B. ROMERO (3), Valérie BIANCALANA (1,4), Jocelyn LAPORTE (1)

1. Department of Translational Medicine and Neurogenetics, IGBMC, Illkirch, France
2. LBGI, Computer Science Department, Strasbourg, France
3. Centre de Référence de Pathologie Neuromusculaire Paris–Est, Institut de Myologie, Paris, France
4. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Nouvel Hôpital civil, Strasbourg, France

Congenital myopathies are severe inherited neuromuscular diseases. There are several forms of congenital myopathies that can be distinguished by particular histological abnormalities in muscle biopsies. The diagnosis is made from the results of the clinical and histopathological features and at the molecular level. Knowing the mutated gene is important for a better caring of the patient, genetic counseling and new therapeutic perspectives but also for studying pathological mechanisms. Unfortunately, about 40 % of the patients do not have a molecular diagnostic, suggesting new genes implicated in the disease. The main goal of this project is to identify new genes implicated in congenital myopathies. The strategy used in this project is exome sequencing of patients excluded for mutations in known genes and family members. The patients have been examined and biopsied in order to classify them by their histopathological features. Then, a specific bioinformatic pipeline has been created in order to filter and then to rank the variants in each family. The first results show 1/3 of resolved cases. Among them, we can highlight known genes that have not been tested during the diagnostic process but also genes that are implicated in other muscle diseases and are thus now linked to a “new” phenotype. During this project, we could also indentify potential new genes implicated in congenital myopathies that are under functional validation.

Etude descriptive rétrospective d'un groupe de 35 patients atteints de myasthénie séronégative

Oana CATAR (1), Anne-Catherine AUBE (1), Thomas SIMONET (2), Laurent SCHAEFFER (2), Aleksandra NADAJ-PAKLEZA (1)

1 : Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires Nantes-Angers, Service de Neurologie, CHU d'Angers

2 : Laboratoire de Biologie Moléculaire de la Cellule -UMR 5239, ENS de Lyon

La myasthénie est une maladie auto-immune avec dans 80 % des cas des anticorps anti-RACH positifs et deux formes cliniques distinctes, oculaire et généralisée. Les formes séronégatives (sans anticorps anti-RACH et anti-MuSK) restent relativement rares et cliniquement hétérogènes.

L'objectif de l'étude est de mieux caractériser cette population sur le plan clinique et de présenter les résultats sérologiques préliminaires.

Parmi les 145 patients myasthéniques suivis au Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires d'Angers, 35 patients séronégatifs ont été évalués sur le plan clinique (localisation de l'atteinte, score MGFA). Des examens diagnostiques ont également été réalisés (EMG, test à l'Enlon, scanner thoracique). Il a été recherché par transfection cellulaire, chez 17 patients des anticorps anti-RACH de faible affinité et chez 5 patients des anticorps anti-LRP4 et anti-agrine.

Une séroconversion en anti-RACH a été observée chez 6 des 35 patients séronégatifs (1 forme oculaire et 5 généralisées). 58% des 29 patients séronégatifs présentaient une forme oculaire et 41% une forme généralisée ; 69 % des patients séronégatifs avaient un score MGFA de I ou II. La sensibilité diagnostique de l'EMG et du test à l'Enlon pour le groupe séronégatif restait faible (respectivement 28% et 55,5 %). La pathologie thymique associée était rare (1 thymome et 2 résidus thymiques). 46% des patients avec une forme généralisée et 27.7 % des patients avec une forme oculaire ont nécessité un traitement par immunosuppresseurs et/ou corticoïdes.

L'analyse des sérums de 17 patients séronégatifs n'a pas mis en évidence d'anticorps anti-RACH de faible affinité. En revanche, des anticorps anti-agrine positifs ont été retrouvés chez 2 patients et des anticorps anti-LRP4 faiblement positif chez 4 patients.

En conclusion, les formes séronégatives sont cliniquement moins graves et nécessitent un traitement moins lourd. Cette étude laisse entrevoir des perspectives intéressantes pour affiner le diagnostic sérologique.

Myasthénie, séronégative

Mitochondrial impairment induced by postnatal ActRIIB blockade does not alter function and energy status in contracting mouse gastrocnemius muscle in vivo

Nelly BECHIR, Emilie PECCHI, Christophe VILMEN, Yann LE FUR, Monique BERNARD, David BENDAHAN, Benoît GIANNESINI

Aix-Marseille Université, CNRS, CRMBM UMR 7339, 13385, Marseille, France

Because it leads to a rapid and massive muscle hypertrophy, postnatal blockade of the myostatin/activin type IIB receptor (ActRIIB) is considered as a promising therapeutic strategy for counteracting muscle wasting commonly associated to ageing, neuromuscular disorders and various catabolic diseases. However, the functional consequences of this blockade remain very poorly documented under physiological condition in vivo. The purpose of this study was to investigate totally noninvasively the impact of 8-week pharmaceutical ActRIIB blockade with soluble receptor (sActRIIB-Fc, also called RAP-031, Acceleron Pharma, Cambridge, MA, USA; 10 mg/kg body weight) on gastrocnemius muscle anatomy, bioenergetics and force-generating capacity in wild-type C57BL/6 3-month old mice using in vivo magnetic resonance (MR) imaging and dynamic 31-phosphorus MR spectroscopy (31P-MRS). Compared to vehicle (PBS) control, sActRIIB-Fc treatment resulted in a dramatic increase in body weight (+29%) and muscle volume (+58%) calculated from hindlimb MR imaging, but did not alter fiber-type distribution determined via myosin heavy chain isoforms analysis. In resting muscle, sActRIIB-Fc treatment induced acidosis and PCr depletion, thereby suggesting reduced tissue oxygenation. During an in vivo fatiguing exercise (6 minutes of repeated maximal isometric contraction electrically induced at a frequency of 1.7 Hz), maximal and total absolute forces were larger in sActRIIB-Fc treated animals (+26% and +12%, respectively) whereas specific force and fatigue resistance were lower (-30% and -37%, respectively). Treatment with sActRIIB-Fc further decreased the oxidative flux (-44%) and the intrinsic mitochondrial capacity for generating ATP (-34%), but did not alter the bioenergetics status in contracting muscle. Our findings demonstrate under physiological condition in vivo that sActRIIB-Fc administration increases absolute force-generating capacity but impairs mitochondrial function possibly via limitation of oxygen supply. Nevertheless, this impairment does not compromise the bioenergetics status during sustained muscle activity. Overall, these data support the clinical interest of postnatal ActRIIB blockade.

Skeletal muscle hypertrophy, Myostatin/activin type IIB receptor, Muscle weakness

Diagnostic des myopathies inflammatoires au CHU de Bordeaux de 2012 à 2014 : application des nouvelles classifications

Fanny DUVAL (1), Guilhem SOLE (1), Xavier FERRER (1), Cecile DULAU (1), Estibaliz LAZARO (2), Pierre DUFFAU (3), Marie BEYLOT-BARRY (4), Marie-Laure MARTIN-NEGRIER (5)

1. Service de neurologie, centre de référence des maladies neuromusculaires, hôpital Pellegrin, CHU, Bordeaux, France
2. Service de médecine interne, hôpital Haut-Lévêque, CHU, Bordeaux, France
3. Service de médecine interne et maladies tropicales, hôpital Saint-André, CHU, Bordeaux, France
4. Service de Dermatologie, hôpital Saint-André, CHU, Bordeaux, France
5. Département de Neuropathologie, hôpital Pellegrin, CHU, Bordeaux, France

Le cadre nosologique des myopathies inflammatoires connaît d'importantes évolutions : individualisation de nouvelles entités, d'auto-anticorps et nouvelles classifications. L'objectif de ce travail était d'appliquer ces dernières à une série de patients ayant eu un diagnostic de myopathie inflammatoire et suivis sur le CHU de Bordeaux. Les myosites à inclusions étaient exclues. Les dossiers des patients biopsiés du 01/01/2012 au 31/12/2014 et ayant eu un diagnostic anatomopathologique de myopathie inflammatoire primitive ont été réétudiés avec recueil des données cliniques, biologiques (CK, bilans d'auto-immunité), histologiques, des traitements et de l'évolution. Le critère principal était l'évolution entre le diagnostic initial et celui retenu après relecture. Etaient exclus les cas pédiatriques, les suivis hors centre et ceux pour lesquels était finalement retenu un autre diagnostic (myosites à inclusion...).

Sur 83 dossiers, seulement 28 ont été retenus pour l'analyse (22 non suivis au CHU, 3 par manque de données, 30 autre diagnostic). 39% des patients avaient un diagnostic initial de polymyosite (PM), 32% de dermatomyosite (DM), 18% de myosite de chevauchement (MC) et 11% de myopathie nécrosante auto-immune (MNAI) contre 39% de MC, 25% de DM, 18% de PM et 18% de MNAI (dont 2 anti-HMG-CoA reductase) après relecture. L'application des nouvelles classifications a généré une augmentation de la proportion des MC. Cet élément est concordant avec les séries de la littérature de même que les données démographiques et cliniques. Seulement 35 % des patients présentaient un antigène nucléaire soluble positif et 18% avaient un auto-anticorps spécifique (dont 3 anti-synthétases et 2 anti-Mi2). Tous ont été traités par corticoïdes, associés à un immunosuppresseur pour 79%. Sous réserve des limites d'un travail rétrospectif, les données concordent donc avec celles de la littérature : haute prévalence des MC, probable sous-estimation des MNAI, intérêt des marqueurs biologiques dans l'individualisation de groupes de patients de moins bon pronostic.

myopathies inflammatoires

Deleterious effects of Amyloid beta peptide in the Neuromuscular junction: consequences in ALS disease.

Maud COMBES, Philippe POINDRON, Noelle CALLIZOT

Department of Research and Development, Neuro-Sys SAS, Gardanne, France

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a devastating and fatal neurodegenerative disease of adults which preferentially attacks the neuromotor system. It has been shown that Amyloid-beta (Ab) levels are elevated in spinal cords of late-stage superoxide dismutase 1 (SOD1) G93A mice (model of familial amyotrophic lateral sclerosis [ALS]) and that Ab peptide(s) were localized predominantly within affected motor neurons (MN) and surrounding glial cells. Moreover, neuromuscular junction (NMJ) loss and MN degeneration were reduced in SOD1 mice when APP was genetically ablated, suggesting that endogenous APP actively contributes to the pathophysiology of this form of ALS. Additionally, Ab and glutamate have been physiologically found in NMJs. Previous work done in our lab, showed the tight relationship between glutamate and Ab in the NMJ. We showed that an interconnection between glutamate and Ab peptide, as demonstrated in cortical and hippocampal neurons, is also operating in nerve–muscle cocultures (Combes et al., 2014).

Here, using a nerve–muscle coculture system, we studied the toxicity of Ab and the mechanisms involved in the process of NMJ death. We demonstrated that Ab was highly toxic for the NMJs, that toxicity was dependent on the dose and time of exposure, that toxicity involved a large glutamate release and finally that a large increase of caspase-3 preceded the NMJ loss. We desiccated the pathways involved in this toxic process using different inhibitors. We showed that the deleterious effect was affected by N-methyl-D-aspartate receptor (NMDA) antagonists such as MK801 (a noncompetitive NMDAR antagonist), Ifenprodil (NMDA receptor receptors containing NR2B subunits) and Memantine proving the important role of NMDAR in the Ab toxicity. Additionally, we showed that Riluzole (the only approved treatment for ALS) partially protected NMJs from the Ab injury. Altogether these results suggest that targeting Ab may be helpful in the design of new treatments of ALS.

Amyloid–beta, glutamate

Adult-onset autosomal dominant centronuclear myopathy due to BIN1 mutations

Catherine KOCH (1,2,3,4,5), Johann BOHM (1,2,3,4,5), Valérie BIANCALANA (1,2,3,4,5,6), Edoardo MALFATTI (7,8,9), Nicolas DONDAINE (6), Nasim VASLI (1,2,3,4,5), Wolfram KRESS (10), Matthias STRITTMATTER (11), Ana Lia TARATUTO (12), Hernan GONORAZKY (13), Pascal LAFORET (8), Thierry MAISONOBE (14), Montse OLIVE (15), Laura GONZALES-MERA (15), Michel FARDEAU (7,8), Nathalie CARRIERE (16,17,18), Pierre CLAVELOU (16,17,18), Bruno EYMARD (8), Marc BITOUN (7), John RENDU (19), Julien FAURE (19), Joachim WEIS (20), Jean-Louis MANDEL (1,2,3,4,5,6), Norma B. ROMERO (7,8) and Jocelyn LAPORTE (1,2,3,4,5)

1. IGBMC (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire), Illkirch, France | 2. Inserm, U964, Illkirch, France | 3. CNRS, UMR7104, Illkirch, France | 4. Université de Strasbourg, Illkirch, France | 5. Collège de France, Chaire de Génétique Humaine, Illkirch, France | 6. Faculté de Médecine, Laboratoire de Diagnostic Génétique, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France | 7. Université Paris 6 UM76, Inserm UMR 974, CNRS UMR 7215, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier La Pitié-Salpêtrière, Paris, France | 8. Centre de référence de pathologie neuromusculaire Paris-Est, Groupe Hospitalier La Pitié-Salpêtrière, Paris, France | 9. Department of Neurological, Neurosurgical, and Behavioural Sciences, University of Siena, Siena, Italy | 10. Department of Human Genetics, Julius-Maximilian University, Würzburg, Germany | 11. Neurology, SHG Klinikum, Merzig, Germany | 12. Institute of Neurological Research, FLENI, Buenos Aires, Argentina | 13. Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina | 14. Laboratoire de Neuropathologie, Groupe Hospitalier La Pitié-Salpêtrière, Paris, France | 15. Institut de Neuropatologia, IDIBELL-Hospital Universitari de Bellvitge, Barcelona, Spain | 16. Inserm, U929, Clermont-Ferrand, France | 17. Université Clermont 1, Clermont-Ferrand, France | 18. CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France | 19. Département de Biochimie, Biochimie et Génétique Moléculaire, Toxicologie et Pharmacologie, CHU Grenoble, La Tronche, France | 20. Institute of Neuropathology and JARA Brain Translational Medicine, RWTH Aachen University, Aachen, Germany

Centronuclear myopathies (CNM) are a group of congenital muscle disorders characterized by type I myofiber predominance and an increased number of muscle fibers with central nuclei. The severe neonatal X-linked form is due to mutations in MTM1 (myotubularin 1), autosomal recessive CNM with neonatal or childhood onset results from mutations in BIN1 (amphiphysin 2), and dominant cases were previously associated to mutations in DNM2 (dynamin 2). Our aim was to determine the genetic basis and physiopathology of patients with mild dominant CNM without mutations in DNM2. We identified heterozygous BIN1 mutations in a cohort of nine patients from five families, and complemented the molecular diagnosis by functional analyses.

Two heterozygous mutations were found in the N-terminal BAR domain: a missense mutation c.70C>T (p.R24C) and an in-frame deletion c.61_63delAAG (p.K21del). In cultured cells, exogenously expressed BIN1 promotes membrane tubulation. The introduction of recessive or dominant mutations strongly decreased amphiphysin 2 membrane-tubulating properties. The recruitment to the membrane tubules induced by the wild-type amphiphysin 2 was impaired by the dominant mutations but was not affected by the recessive mutations. These data suggest that BIN1 dominant mutations interfere with membrane binding and/or with dimerization.

Three stop-loss mutations were found: c.1778delC (p.P593HfsX54), c.1780delT (p.X594AfsX53) and c.1779delA (p.X594AfsX53). These mutations were predicted to shift the reading frame of the regular stop codon and to generate an extended amphiphysin 2 protein containing 52 supernumerary amino acids. We confirmed the presence of a higher molecular weight protein by western blot of protein extracts from muscle biopsies or lymphoblasts. We conclude that the stop-loss mutations do not affect mRNA or protein stability.

In conclusion, we identified BIN1 as the second gene for dominant CNM. Our data provide the evidence that specific BIN1 mutations can cause either recessive or dominant CNM and that both disorders involve different pathomechanisms.

FUNCTIONAL ALTERATION OF SATELLITE CELLS IN MYASTHENIA GRAVIS: KEY ROLE OF MYOD AND MYOG

Mohamed Attia, Marie Maurer, Jacky Bismuth, Sylvain Bougoin, Gillian Butler-Browne and Sonia Berrih-Aknin

Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, INSERM UMRS_974, CNRS FRE 3617, Center of Research in Myology, F-75013, Paris, France

Myasthenia gravis (MG) is a neuromuscular disease caused by autoantibodies against Acetylcholine Receptor. MG is characterized by fatigability and fluctuating muscle weakness. Muscle homeostasis and regeneration is carried out by local stem cells called satellite cells (SCs). However, molecular and cellular mechanisms of myogenesis in MG are still unknown.

Muscle biopsies from MG and healthy age-matched controls were collected. SCs were isolated using explants culture and positive selection of CD56+ cells. Proliferation and differentiation of myoblasts in vitro were assessed by cell counting and muscle myosin immunolabeling (from day 0 to day 4). Localization of myogenic markers in muscle biopsies of MG patients and healthy controls was determined using immunolabeling. mRNA expression was analysed by real-time qPCR.

We show that SCs from MG muscle proliferated and differentiated more actively than SCs from healthy muscles. During these processes, MyoD and MyoG were expressed at a higher level in MG SCs. Additionally, MyoD and MyoG also expressed at a higher level in MG muscle biopsies. These results suggest that MyoD and MyoG could be responsible for the functional differences observed in SCs from MG compared to healthy muscles. We also show that SCs from healthy muscles and treated with MG sera or monoclonal AChR antibodies differentiated more and expressed more MyoG mRNA than those treated with Ctrl sera or isotype antibodies. These results suggest that increased differentiation and MyoG expression could be due to the anti-AChR antibodies present in the MG sera. Therefore, AChR antibodies could play a key role in the SCs differentiation via the modulation of MyoG expression.

Altogether, these findings demonstrate that the autoimmune attack in MG might lead to important changes in the function of SCs that could represent a mechanism of compensation to regenerate muscle fibres that have been damaged by the autoantibodies or maintain muscle mass.

Satellite cells, Myasthenia Gravis, ACh-R autoantibodies

Refining myotonic dystrophy type 1 clinical classification : contribution of DM-Scope nationwide registry

Celine Dogan(1), Marie De Antonio (1,2), Dalil Hamroun(3), Pascale Chevalier(1), Malya Mati(1), Bruno Eymard(4), Guillaume Bassez(1).and French myotonic dystrophy clinical research network.

1 Centre de Référence Maladies Neuromusculaires, CHU Henri Mondor, Créteil, France.

2Inserm UMRS 1138, Centre de recherche des Cordeliers, Paris, France.

3Institut Universitaire de Recherche Clinique, CHU de Montpellier, France.

4 Centre de Référence Maladies Neuromusculaires Paris-Est, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Background: Myotonic dystrophy (DM) is considered as one of the most variable genetic diseases. Since innovative therapeutic strategies are approaching for DM it is becoming of crucial importance to reach harmonization for disease classification. Despite several experts groups are working on classification, no consensus is yet available. Databases provide powerful tools to remove the uncertainty.

Objective: We assessed the robustness of a DM1 classification model divided into five clinical forms based on age of onset.

Methods: The study has been performed on a large collection of standardized data obtained in 1962 French DM1 patients (>18yrs) from the nationwide DM-Scope registry. The five clinical forms were first compared for distribution of CTG expansion size, frequency and age of onset of the main symptoms. Then, using a particular two-dimensional method combining time and frequency as parameters, we determined the clinical profile of DM1 manifestations for each clinical form.

Results: Analyses validate the DM1 classification model divided into five clinical forms with regard to the triplet repeats expansion size, frequency, age of onset and clinical profiles of the main symptoms. Patients were classified as follow: congenital (3.7%), infantile (17.8%), juvenile (25.9%), adult (39.4%) and late onset forms (13.1%). We show that the continuum assumption from congenital form to late onset form is a reality. Furthermore, our data allow us to highlight clinical manifestations specific for some clinical forms.

Conclusion: This study provides strong evidence supporting a five-grade DM1 clinical classification model. In addition we observed specificities in clinical profiles related to particular DM1 forms. Together these results may refine the DM1 classification and optimize enrolment of homogenous cohort of patients in clinical studies.

Myotonic Dystrophy, Registry, Disease classification

Proteostasis analysis in immortalized myoblasts from Duchenne Muscular Dystrophy patients

Wattin Marion, Chazaud Bénédicte, Gieseler Kathrin, Kretz-Remy Carole

Université de Lyon; Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne; Centre de Génétique et de Physiologie Moléculaire et Cellulaire (CNRS, UMR5534)

Recent studies have highlighted the importance of protein quality control (PQC) in different types of inherited muscle disorders. The major actors of PQC are chaperones that help in the refolding of misfolded/aggregated proteins, the unfolded proteins response (UPR) that responds to an ER overload and helps to restore normal function in the cells (halting of protein translation, refolding or degradation of proteins), the ubiquitin-proteasome system (UPS) involved in the degradation of multi-ubiquitinated proteins and the autophagy lysosome system, which allows the clearance of defective organelles or aggregated proteins. However the actors of PQC, which have been described to be modulated in some specific muscular dystrophies, are interconnected and so far, no comprehensive analysis of those PQC mechanisms has been performed in the same model.

Our project focuses on a comprehensive analysis of PQC actors during muscle degeneration in a same model.

We observed an increase of protein aggregation in immortalized myoblasts from DMD patients in comparison to control-immortalized myoblasts from healthy donors. We therefore quantified the levels of major heat shock proteins (Hsp) and could detect an increase of some Hsp members such as HspB5, a chaperone involved in the maintenance of desmin or myosin correct folding. Analysis of autophagic activity in DMD myoblasts revealed a modulated level of autophagy adaptors and of Atg proteins but also an increased level of LC3-II protein, which is associated with autophagosome membranes. Moreover, we observed that autophagosome maturation is not altered in DMD myoblasts, suggesting that autophagic activity may be increased in myoblasts from DMD patients.

Further in-depth characterization of PQC actors will provide the first comprehensive description of shared proteostasis alterations occurring in DMD myoblasts. Furthermore, it will give hints to which manipulation of PQC could delay or stop muscle degeneration and thus unravel therapeutic strategies toward muscle dystrophies.

Acetylcholine Receptor (AChR) antibodies cause alterations of glucose homeostasis in Myasthenia Gravis (MG) models

Marie Maurer, Mohamed Attia, Marieke Robinet, Gillian Butler-Browne, Sonia Berrih-Aknin

Research unit CNRS FRE3617/INSERM U974/ Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, UM76/AIM – Institute of Myology – Therapies of the disorders of striated muscle Pitié-Salpêtrière, Paris, France.

Myasthenia Gravis (MG) is an autoimmune disease in which most patients have antibodies targeting post-synaptic proteins. Clinical features comprise muscle weakness and fatigability, which are attributed to neuromuscular junction defects. However, little is known about muscle physiology in MG, although it is now accepted that muscle is not a passive target.

Muscle is a major insulin-dependent organ that uses and stocks large amounts of glucose and thus participates in glucose homeostasis. We previously described a decrease of Akt phosphorylation by insulin in the presence of AChR antibodies in muscle cells. Akt pathway is involved in insulin-mediated glucose uptake, so we investigated this aspect in MG models.

In mouse experimentally induced autoimmune myasthenia gravis (EAMG), we performed a glucose tolerance test, evaluating glycaemia at regular intervals after an injection of glucose in overnight fasted mice. In EAMG mice, the glycaemia peaked higher than in control mice at 30min post-injection, then decreased faster, so that in the next intervals, the glycaemia of both groups were the same. We also measured insulin in the serum during this test at 0 and 75min. Insulin levels were the same in fasted mice, but were higher in EAMG at 75min ($p < 0,02$). These results evoke an insulin resistance. Preliminary results also suggest that anti-AChR antibodies would be sufficient to decrease glucose capture of muscle cells in vitro, so that this metabolic phenotype could be generated from a muscle insulin resistance.

Insulin resistance is the main feature of the metabolic syndrome, also known as pre-diabetes. It has also been described as inversely correlated to muscle force. Thus, insulin resistance could participate in the pathogenesis in MG and therapies aiming at improving glucose capture could complement existing treatments.

AChR, glycemia, myasthenia gravis

Human Neuromuscular Integrative System for drug discovery

Roquevière Sylvain¹, Come Julien¹, Lesueur Lea¹, Kordeli Ekaterini², Delers Perrine², Streichenberger Nathalie³, Simonet Thomas³, Girard Emmanuelle³, Puciarelli Amelie⁴, Fernandes Mathieu⁴, Schaeffer Laurent^{5*}, Margaron Yoran^{4*}, Martinat Cécile^{1*}, Legay Claire^{2*}

1 : INSERM UEVE UMR861, I-STEM, Evry, 2 : CNRS UMR 8119, University Paris Descartes, Paris, 3 : Ecole Normale Supérieure de Lyon, UMR5239, 4 : CYTOO, Grenoble, 5 : Institut NeuroMyogène, U1217 Lyon, *co-last authors

Neuromuscular diseases (NMD) correspond to a vast group of diseases that perturbs or even progressively blocks the control and the force of muscle voluntary movement by affecting motoneurons and NMJs. To date, no efficient curative treatments have been identified for NMD. Progresses towards identification of new treatments have been hampered by the incomplete understanding of the molecular mechanisms that control synapse formation and maintenance as well as the availability of relevant screening tools. Indeed, research in NMD field are facing several challenges: (1) difficulty in examining the NMJs of patients with NMD, and absence of reliable biomarkers revealing disease status and evolution, (2) lack of reliable in vitro models recapitulating functional human NMJ, (3) animal models that poorly phenocopy the human diseases because of genetic and physiological discrepancies between the neuromuscular systems of mouse and man, (4) in vivo models that are complex to analyze and do not allow the study of each partner cell at the synapse. Altogether, these bottlenecks largely block the deployment of drug discovery campaigns and therefore abrogate the development of new medicines curing NMD early on in the drug development process. The aims of this project is to establish mature human neuromuscular junction (NMJ) in vitro models representative of different neuromuscular diseases (NMD) and to develop new screening tools for drug discovery approaches. We propose to take advantage of the recent improvement of established human pluripotent stem cells-MN system combined with micropattern cultures of human primary myotubes to implement a new robust system of human NMJ which will permit the study of the normal and pathological NMJ formation and maintenance. Preliminary experiments indicate the presence of numerous clustering of acetylcholine receptors in close proximity of MNs in a reproducible way through micropatterned. The alignment of motor neuron projections to the postsynaptic acetylcholine receptor (AChR) endplates was observed by visualizing the apposition of presynaptic nerves with synaptophysin antibodies and AChR clusters with α -BTX.

Posters Flash

Mardi 24 novembre

Amphi Mérieux

17h30-18h30

Caractérisation de l'atteinte musculaire dans le déficit en phosphoglucomutase de type 1

Sarah SOUVANNANORATH

La phosphoglucomutase de type 1 (PGM1) est une enzyme clef intervenant à la fois dans la glycogénolyse et la glycosylation des protéines sériques. Nous rapportons quatre patients adultes présentant un déficit en PGM1 et donnons les éléments clefs pour orienter le diagnostic.

Les patients ont subi un examen clinique, un bilan biologique, un électromyogramme (EMG), une biopsie musculaire avec dosage de l'activité PGM1, un grip test, une recherche des anomalies congénitales de la glycosylation (CDG) et une analyse moléculaire du gène PGM1.

Les quatre patients souffraient d'intolérance à l'effort et de rhabdomyolyse ; trois présentait une faiblesse proximale et un avait une fatigabilité musculaire. Trois patients avaient une dysmorphie. Un patient présentait des hypoglycémies, un autre une hépatomégalie. Les CPK étaient normales ou légèrement élevées (jusqu'à 8 fois la normale) au repos et pouvait s'élever jusqu'à 67 100 UI/l, en moyenne, lors des rhabdomyolyses. L'EMG objectivait le plus souvent un pattern myogène. L'examen histologique musculaire montrait une augmentation minime du glycogène à la coloration PAS et le dosage de l'activité musculaire PGM1 était de 1% en moyenne (0,3 – 1,2%). Le Grip test objectivait un pic d'ammoniémie et une augmentation des lactates normale ou sous la norme. Les études de la glycosylation montrait une combinaison de CDG de type 1 et de type 2 chez au moins 3 patients. Chaque patient avait deux mutations dans le gène PGM1 confirmant le diagnostic.

Le déficit en PGM1 a un large spectre clinique s'étendant de l'intolérance à l'effort à une atteinte multisystémique. L'association intolérance à l'effort et dysmorphie est un bon élément d'orientation vers le déficit en PGM1. De plus, la carence en PGM1 peut être évoquée devant un Grip Test suggestif et une analyse biochimique de la glycosylation anormale qui semble être plus appropriés que la biopsie musculaire pour orienter le diagnostic.

Involvement of the CXCL12/CXCR7 axis in connective tissue-mediated limb muscle morphogenesis

Sonya NASSARI (1,2,3,4), Cédrine BLAVET (1,2,3), Sigmar STRICKER (4), Delphine DUPREZ (1,2,3) and Claire FOURNIER-THIBAUT (1,2,3)

1 – CNRS UMR 7622, IBPS-Developmental Biology Laboratory, F-75005, Paris, France.

2 – Inserm U1156, F-75005 Paris, France.

3 – Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, IBPS, F-75005 Paris, France.

4 – Institute for Chemistry and Biochemistry, Freie Universitaet Berlin, Berlin, Germany

During development, the connective tissue provides important cues for muscle morphogenesis. Transcription factors specifically expressed in muscle connective tissue such as Tcf4, Tbx5 and Osr1 are important regulators of muscle development. However, no secreted molecule expressed in the connective tissue has been yet identified to influence muscle patterning.

The CXCL12 chemokine is expressed in limb connective tissue, in mouse and chick embryos. Previous studies highlighted the CXCL12 involvement in the migration of muscle progenitors into limb buds. Moreover Cxcl12 was recently identified as a putative target of the transcription factor Osr1 in mouse limb development. During chick limb development, we observed that CXCL12 was expressed in connective tissue, while one of its receptor CXCR7 was expressed in myogenic cells. We first evaluated the effect of the CXCL12/CXCR7 axis in primary chick foetal muscle cells in differentiation conditions. We observed that CXCL12 negatively regulates the expression of muscle markers during in vitro myogenesis. In addition, CXCL12 positively regulates the expression of collagens and connective tissue markers in chick fibroblasts. In order to assess the involvement of the CXCL12/CXCR7 axis in vivo during limb development, we used the avian RCAS retrovirus system. RCAS constructs expressing either a chick CXCL12 sequence or a dominant-negative form of the CXCR7 receptor were used to infect limbs of chick embryos. We observed that both CXCL12 gain-of function and CXCR7 loss-of-function experiments led to altered muscle morphogenesis. These results indicate that CXCL12 secreted from the connective tissue signals to myogenic cells expressing CXCR7 to regulate muscle morphogenesis.

muscle development, connective tissue

La « myopathie » des chats Sphynx et Rex Devon, un modèle de myasthénie congénitale due à une mutation dans COLQ

Marie Abitbol (1,2,3,4), Christophe Hitte (5), Philippe Bossé (1,2,3,4), Nicolas Blanchard-Gutton (1,2,3,4), Inès Barthélémy (1,2,3,4), Pablo Aguilar (1,2,3,4), Xavier Cauchois (1,2,3,4), Anne Thomas (6), Lionel Martignat (7), Stéphane Blot (1,2,3,4), Laurent Tiret (1,2,3,4)

1 Inserm, IMRB U955-E10, 94000, Créteil, France

2 Université Paris Est, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 94700, Maisons-Alfort et Faculté de médecine, 94000, Créteil, France

3 Etablissement Français du Sang, 94017, Créteil, France

4 APHP, Hôpitaux Universitaires Henri Mondor, DHU Pepsy & Centre de référence des maladies neuromusculaires GNMH, 94000 Créteil, France

5 Institut de Génétique et Développement de Rennes IGDR, UMR6290 CNRS—Université de Rennes 1, Rennes, France

6 Antagene, La Tour de Salvagny, France

Chez les chats de race Rex Devon et Sphynx, une affection neuromusculaire autosomique récessive a été décrite en 1993. Elle se caractérise par une faiblesse musculaire généralisée, une flexion excessive de la nuque, une protrusion des omoplates, visibles dès les premiers mois de vie et un tableau lésionnel évocateur d'une dystrophie musculaire. A l'aide d'une famille de sept chats, incluant deux atteints, et d'une analyse d'homozygotie pan-génomique, nous avons cartographié le locus causal sur le chromosome C2 félin, dans une région contenant le gène COLQ (collagen-like tail subunit of asymmetric acetylcholinesterase), connu pour son implication dans les myasthénies congénitales humaines (CMS). Chez les deux chats atteints, nous avons mis en évidence une mutation faux sens c.1190G>A dans l'exon 15 de COLQ, conduisant à une substitution C397Y dans la protéine. La cystéine C397 est conservée chez les vertébrés. Elle fait partie des 10 cystéines essentielles du domaine C-terminal de COLQ.

La ségrégation du variant c.1190G>A était compatible avec le mode de transmission de l'affection et un chat Rex Devon atteint, non apparenté à la famille, a été génotypé homozygote A/A pour le variant. Une cohorte de 333 chats de différentes races a permis de confirmer la stricte restriction du génotype A/A aux trois chats atteints.

L'analyse histologique de coupes de muscle d'un chat atteint a permis de mettre en évidence une délocalisation de l'activité acétylcholinestérase à la jonction neuromusculaire, alors que l'agrégation des récepteurs à l'acétylcholine était conservée.

Nous avons ainsi identifié un modèle de CMS chez le chat, dû à une mutation faux sens de COLQ, qui pourrait permettre d'améliorer la compréhension des mécanismes physiopathologiques des CMS liées à COLQ et de tester de nouvelles approches thérapeutiques.

Myasthénie congénitale, COLQ, Modèle animal

Recessively-inherited skeletal muscle sodium channel mutations are associated with congenital myasthenic syndrome

Karima HABBOUT (1), Hugo POULIN(2), François RIVIER (3,4,5), Serena GIULIANO (1), Damien STERNBERG (6,7,8,9,10), Bertrand FONTAINE (6,7,8,9,10), Bruno EYMARD (6,7,8,9,10), Raoul JUNTAS MORALES (3), Bernard ECHENNE (3,4), Louise KING (11), Michael G HANNA (11), Roope MÄNNIKKÖ (11), Mohamed CHAHINE (2), Sophie NICOLE (6,7,8,9), and Saïd BENDAHHOU (1)

1 UMR7370 CNRS, LP2M, Labex ICST, University Nice Sophia-Antipolis, Faculté de Médecine, Nice, France

2 Centre de recherche, Institut Universitaire en Santé Mentale de Québec, Québec City, QC, Canada G1J 2G3 and Department of Medicine, Université Laval, Québec City, QC, Canada G1K 7P4

3 CHRU Montpellier, Neuropédiatrie & Centre de Référence Maladies Neuromusculaires, Montpellier, France.

4 Université de Montpellier, Montpellier, France.

5 INSERM, U1046 ; CNRS, UMR9214; Montpellier, France

6 INSERM, U1127, Paris, France

7 Sorbonne universités, UPMC University Paris 6, UMR S1127, Paris, France

8 CNRS, UMR 7225, Paris, France

9 Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, Paris, France

10 AP-HP, Centres de référence des canalopathies musculaires et des maladies neuro-musculaires Paris-Est, Service de biochimie métabolique, Hôpital de la Pitié Salpêtrière, Paris, France

11 MRC Centre for Neuromuscular Diseases, UCL Institute of Neurology, London, WC1N 3BG, UK

Mutations of the SCN4A gene, that encodes the pore-forming α -subunit of Nav1.4, classically cause dominantly-inherited myotonia, and periodic paralyses (PP). Congenital myasthenic syndromes (CMS) form a clinically and genetically heterogeneous group of rare diseases characterized by fatigable muscle weakness with decremental muscle responses to repetitive nerve stimulation recorded by electroneuromyography. CMS are due to impairment of neuromuscular transmission and result from mutations in genes encoding for proteins critical for the neuromuscular junction. We report here a novel homozygous SCN4A mutation (p.R1454W) in a patient suffering from a recessively-inherited disease that mainly fulfills the criteria for clinical diagnosis of CMS with severe episodes of muscle weakness reminiscent of PP attacks. Heterologous expression of p.R1454W mutant Nav1.4 induced an important impairment of fast and slow inactivation compared to the wild type channel. Our data confirm that this CMS-like phenotype belongs to the group of sodium channel disorders and question the clinical overlapping between PP and CMS. We suggest that while Nav1.4 mutations exerting a dominant effect cause PP, a clinical phenotype combining CMS with PP signs may result from recessively-inherited mutations that decrease the Nav1.4 availability for muscle action potential genesis at the neuromuscular junction and its propagation along the sarcolemma.

Congenital myasthenic syndrome, Periodic paralysis, Nav1.4

Segregation between a frameshift SMCHD1 mutation, D4Z4 hypomethylation and Facio-Scapulo-Humeral Dystrophy

Marie-Cécile Gaillard^{1*}, Francesca Puppo^{1*}, Stéphane Roche^{1*}, Camille Dion¹, Emmanuelle Salort Campana^{1,2}, Charlene Chaix³, Catherine Vovan³, Killian Mazaleyrat¹, Rafaele Bernard³, Shahram Attarian^{1,2}, Karine Nguyen^{1,3}, Frédérique Magdinier¹, and Marc Bartoli^{1,3}

1. Aix Marseille Université, INSERM GMGF UMR S_910, 13385 Marseille, France.
2. APHM, Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires et de la SLA, Hôpital de la Timone, Marseille, 13385, France.
3. APHM, Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone, Marseille, 13385, France.

*. Equal contribution.

Facio-Scapulo-Humeral muscular Dystrophy (FSHD) is linked to a copy number reduction ($n < 10$) of the 4q D4Z4 subtelomeric macrosatellite, in association with a DUX4-permissive haplotype. This main form of the disease is indicated as FSHD1. FSHD-like phenotypes may also appear, in 5% of cases, in the absence of D4Z4 copy number reduction (FSHD2). In 70-80% of these FSHD2 patients, variants of the SMCHD1 gene have been reported to segregate with DUX4-compatible haplotypes and associate with D4Z4 hypomethylation.

Here, we describe a family presenting neuromuscular symptoms reminiscent of FSHD but without D4Z4 copy number reduction. Bisulfite sequencing showed significant hypomethylation in a proximal region within D4Z4 in symptomatic cases of the family.

Exome sequencing revealed a heterozygous insertion of 7 bp in exon 37 of the SMCHD1 gene (c.4614_4615 insTATAATA) segregating with clinical signs and producing a frameshift in the protein with a premature stop codon 4 amino acids after the insertion (p.A1539Yfs*4), potentially leading to a truncated protein with a putative dominant negative effect. At the transcript level both wild-type and mutated alleles were detected although the mutated allele was weakly expressed in all patients' tissues analyzed. In western blot full length protein was expressed at the same level than controls and truncated protein was not detected, excluding haploinsufficiency as pathological mechanism. Ongoing analysis of nonsense mediated degradation of the mutated transcript and quantification of relative allele expression will allow elucidating the cause of truncated protein absence. By this work, we aim to shed light on SMCHD1 mutated protein complex contribution to FSHD pathogenesis.

Facio-Scapulo-Humeral Dystrophy, SMCHD1, D4Z4 hypomethylation

Impact of an antioxidant treatment on recombinant adeno-associated vector-mediated gene transfer in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy

Jean-Baptiste DUPONT (1), Benoît TOURNAIRE (1), Romain DURAND (1), Béatrice MAROLLEAU (2), Émilie BERTIL (2), Christophe GEORGER (2), Émilie LECOMTE (1), Benjamin COGNÉ (1), Bernard GJATA (2), Laetitia van WITTENBERGHE (2), Alban VIGNAUD (2), Richard SNYDER (1, 3, 4), Philippe MOULLIER (1, 2, 3) and Adrien LÉGER (1)

Recombinant adeno-associated virus (rAAV)-based vectors are promising tools for the gene therapy of Duchenne muscular dystrophy (DMD). Several studies in murine and canine models of DMD reported significant phenotype improvements without any notable toxicity following the injection of substantial amounts of vector. While this has raised hope for future translations in DMD patients, long term maintenance of the therapeutic benefits is an important, and yet unresolved issue. In previous studies conducted in DMD mice, we and others have demonstrated that rAAV-mediated transgene expression is progressively reduced, even after injection of clinically relevant vector doses. This could be explained, at least in part, by the loss of vector genomes resulting from muscle cell necrosis but also by the oxidative damage affecting transgene mRNA molecules. These elements support the fact that the tissue context in which rAAV vectors are delivered is of critical importance and can significantly affect their efficiency. But they also open new avenues for improvement, since we can now consider counteracting these “restriction” phenotypes prior to rAAV injection. In the case of DMD, oxidative stress seems to occupy a central position in both muscle cell pathophysiology and rAAV transgene mRNA degradation. Therefore, we designed an innovative strategy using a relevant antioxidant agent routinely used in human medicine. DMD mice, pre-treated or not with this compound, were subsequently injected with an rAAV vector carrying a reporter transgene. The transduction efficiency, together with the expression and activity of the transgene, were monitored and compared two months later. The outcome of this innovative approach will certainly pave the way for future combinatorial protocols using pharmacological agents and rAAV vectors in DMD muscles.

Duchenne muscular dystrophy, rAAV gene transfer, oxidative stress

Single muscle immobilization decreases single-fibre myosin heavy chain polymorphism

Frédéric Derbré, 1 Mickaël Droguet, 2 Karelle Léon, 2 Samuel Troadec, 2 Jean-Pierre Penneç, 2 Marie-Agnès Giroux-Metges, 2 Fabrice Rannou, 2

1. Laboratory "Movement Sport and health Sciences"(M2S) –EA1274, University Rennes 2–ENS Rennes, Rennes, F–35000 France

2. Physiology Department–EA1274 M2S, School of Medicine, Brest, F–29609 France

Introduction:

Muscle contractile phenotype is affected during immobilization. Myosin heavy chain (MHC) isoforms are the major determinant of the muscle contractile phenotype. We therefore sought to evaluate the effects of muscle immobilization on both the MHC composition at single-fibre level and the mitogen-activated protein kinases (MAPK), a family of intracellular signalling pathways involved in the stress-induced muscle plasticity.

Methods:

The distal tendon of Wistar rat left Peroneus Longus (PL) was cut and fixed to the adjacent bone at neutral muscle length. Four weeks after the surgery, immobilized and contralateral PL were dissociated using enzymatic method (collagenase 0.3%) and the isolated fibres were sampled. MHC composition of single fibres was assessed using the sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) method. p38, Jun-c phosphorylation (JNK), and ERK1/2 were measured in 6- and 15-days immobilized PL and compared with contralateral muscle.

Results: MHC distribution in immobilized PL was as follows: I = 0%, IIa = $11.8 \pm 2.8\%$, IIx = $53.0 \pm 6.1\%$, IIb = $35.3 \pm 7.3\%$ and I = $6.1 \pm 3.9\%$, IIa = $22.1 \pm 3.4\%$, IIx = $46.6 \pm 4.5\%$, IIb = $25.2 \pm 6.6\%$ in contralateral muscle. The MHC composition in immobilized muscle is consistent with a faster contractile phenotype according to the Hill's model of the force-velocity relationship compared with contralateral muscle. Immobilized and contralateral muscles displayed a polymorphism index of 31.1 ± 5.7 and $39.3 \pm 2.5\%$, respectively. Unlike ERK, significant increases in p38 and JNK phosphorylation were observed following 6 and 15 days of immobilization.

Conclusions: Despite the preservation of neural influences, single muscle immobilization at neutral length induces a shift of MHC composition toward a faster phenotype. The decrease in the proportion of hybrid fibres may result from the restriction in the length variations of immobilized muscle.

Muscle immobilization, Myosin Heavy Chain, Single-fibre polymorphism

Development of the first human striated muscle in vitro human muscular model for drug discovery applications

J. Michaud, Y. Margaron, M. Fernandes, P. Poydenot and S. Degot

CYTOO, France

Muscle wasting can result from a large panel of dysregulations in muscle physiology. It is present systemically in the elderly (sarcopenia); it can result from acute or chronic illness (cachexia), or appears in various muscular diseases such as dystrophies. To date, the muscle is the last undrugged organ. This is mostly due to the fact that animal models poorly phenocopy the human diseases because of genetic and physiological differences but most importantly because muscle is also the last organ for which no relevant in vitro model has been established.

In this context, we have developed and characterized the first in vitro human myotube model. It relies on a tight control of the microenvironment that guides the differentiation of human primary myoblasts. Myotubes formed on micropatterns present a high level of maturation (striation, clustering of AchR, peripheral nuclear alignment) together with a highly standardized morphology. We showed that this model responds to standard drugs inducing both atrophy and hypertrophy. To further establish a model for muscle wasting correction, we assessed whether atrophy can be rescued by different molecules. To do so, atrophy is first induced by using reference compounds known to lead to muscle loss or to impair its renewal through molecular mechanisms involved in muscle wasting. We screened hypertrophic candidates and inhibitors of muscle specific catabolism pathways. Interestingly, IGF-1 and TrichostatinA were capable of rescuing the induced atrophy to the level of control or higher depending on the dose.

Altogether, our results showed that we have developed the first powerful in vitro human striated muscle model that can be applied for the automated detection of hypertrophic compounds as well as for molecules that rescue induced atrophy. Such model offers therefore new avenues for large scale screening campaigns to discover novel cures for several muscle wasting disorders.

Muscle screening model, Cachexia & sarcopenia modeling, Micropatterning

Myasthénie anti-MuSK et grossesse

Aude Marie Grapperon (1), Annie Verschueren (1), Armelle Finet-Monnier (1), Pascale Poullin (2), Frédérik Sanderson (2), Brigitte Chabrol (3), Jean Pouget (1), Shahram Attarian (1), Emmanuelle Salort-Campana (1).

(1) : Centre de référence des maladies neuromusculaires et de la SLA, Hopital La timone, Aix-Marseille Université, Marseille, France.

(2) Service des hémaphérèses, Hopital de la conception, Aix-Marseille Université, Marseille, France.

(3) Service de neuropédiatrie, Hopital La timone, Aix-Marseille Université, Marseille, France.

La myasthénie associée à des anticorps dirigés contre le récepteur tyrosine kinase (anti-MuSK+) constitue une forme clinique caractérisée par une nette prédominance féminine, une sévérité plus marquée avec une atrophie musculaire, une atteinte des muscles faciaux, bulbaire et respiratoires plus fréquente et une moins bonne réponse au traitement. Sa physiopathologie diffère clairement de la myasthénie associée à des anticorps anti récepteurs de l'acétylcholine. Il existe une altération des composants pré et post synaptiques de la jonction neuromusculaire. Les anti MuSK appartiennent à la sous classe des IgG4 qui ne se lie pas au complément. Nous rapportons ici la grossesse de trois patientes myasthéniques anti MuSK+. Le diagnostic a été porté pendant la grossesse de l'une des patientes. Les deux autres patientes étaient diagnostiquées depuis respectivement 6 et 13 ans et traitées par Azathioprine, poursuivi pendant la grossesse. Pendant les deuxième et troisième trimestres de la grossesse, deux patientes ont nécessité des cures d'immunoglobulines polyvalentes (IgIV) et des échanges plasmatiques. Une patiente primipare a présenté une pré-éclampsie avec un accouchement prématuré à 31 semaines d'aménorrhée. Les 3 patientes ont accouché par césarienne et se sont aggravées en post-partum. Deux d'entre elles ont nécessité un traitement par Rituximab suivi d'une amélioration notable. Les anti-MuSK étaient présents chez les 3 nouveau-nés. Seul l'un d'entre eux a présenté des signes en faveur d'une myasthénie néonatale nécessitant l'instauration d'anticholinestérasiques et d'une cure d'IgIV avec une évolution favorable. Ces observations soulignent le risque important de décompensation sévère pendant la grossesse et en post partum chez les patientes myasthéniques anti-MuSK+ rendant indispensable un suivi rapproché pluridisciplinaire pendant cette période. Les échanges plasmatiques sont très efficaces et bien tolérés pendant la grossesse chez ces patientes mais posent le problème de l'accessibilité des voies veineuses. Les anti-MuSK passent la barrière placentaire avec la possibilité de myasthénie néonatale sévère.

Myasthénie réfractaire et rituximab : étude rétrospective monocentrique sur 28 patients

Vadim AFANASIEV (1), Pascal LAFORET (2), Sophie DEMERET (3), Francis Bolgert (3), Bruno EYMARD (2), Olivier BENVENISTE (1)

1. Service de Médecine interne 1, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Service de Neurologie 1, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Introduction

Le rituximab est utilisé dans de nombreuses maladies auto-immunes et notamment les myasthénies résistantes aux immunosuppresseurs.

Patients et méthodes

Cette étude rétrospective monocentrique (Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris) a inclus entre 2004 et 2015 les patients présentant une myasthénie réfractaire à ≥ 2 immunosuppresseurs et traités par rituximab. L'efficacité du rituximab a été évaluée tous les 6 mois par le Myasthenic Muscle Score (MMS), la MGFA-CC (Myasthenia Gravis Foundation of America clinical classification), le MGFA Therapy Status (nombre de traitements anti-myasthéniques). La tolérance du rituximab a été évaluée.

Résultats

Ving-huit patients ont été inclus, aux statuts sérologiques suivants: anticorps anti-récepteurs à l'acétylcholine (anti-RACH) n=21 (75%), anti-MuSK n=3 (11%) et séronégatifs n=4 (14%). L'âge moyen à l'initiation du rituximab était de $49,3 \pm 12,0$ ans. Chaque patient avait reçu entre 2 et 6 traitements immunosuppresseurs (médiane 3). La durée moyenne de suivi était de 27 mois à partir de la première perfusion de rituximab. La dose moyenne de rituximab était de $4,4 \pm 2,8$ g. Le MMS médian avant traitement était de 59.5 points (25;90). Après la première perfusion de rituximab, le MMS à 6 mois était de 77.5 points en médiane (32;100). L'amélioration s'est maintenue tout au long du suivi (MMS médian à 70 points à 36 mois chez 12 patients). Avant rituximab, 16 patients (57 %) présentaient des symptômes sévères (classe ≥ 4 MGFA-CC). En fin de suivi, parmi ces 16 patients, seuls 2 restaient en classe ≥ 4 . Le MGFA Therapy Status médian était initialement de 3 médicaments par patient (2;6). Le nombre de traitements anti-myasthéniques a été diminué chez 10 patients (36 %). Le rituximab a été globalement bien toléré

Conclusion

Sous réserve des limites d'une étude rétrospective non contrôlée, le rituximab semble une option thérapeutique efficace et bien tolérée dans la myasthénie réfractaire.

Myasthénie réfractaire, Rituximab, Score myasthénique

Myasthenia gravis associated with brachiocervical inflammatory myopathy

Jessie AOUIZERATE (1,2), Hayet SALHI (3), Jean-Pascal LEFAUCHEUR (4),
Violaine PLANTE-BORDENEUVE (3), François Jérôme AUTHIER (1,2)

1. Reference Centre for Neuromuscular Diseases, Henri Mondor University Hospitals, Créteil, FRANCE

2. UMR INSERM-UPEC U955-Team 10, School of Medicine, Créteil, FRANCE

3. Neurology Department, Henri Mondor University Hospitals, Créteil, FRANCE

4. Neurophysiology Department, Henri Mondor University Hospitals, Créteil, FRANCE

Brachiocervical inflammatory myopathy (BCIM) is a rare condition usually observed in patients with autoimmune disorders and characterized by (i) progressive weakness in the proximal regions of arms and neck; and (ii) inflammation at muscle biopsy (Pestronk et al, Arthritis Rheum 2006 ; 54 : 1687-96).

We report here the case of 62 yrs-old woman who developed dropped head and painful muscle weakness over 6 months in parallel with anorexia and weight loss. Physical examination disclosed muscle deficit prominently affecting upper limbs and cervical paraspinal muscles, diffuse amyotrophy, dysphonia and dysphagia. EMG showed myopathic features and a decrement at 3 Hz stimulation. Biological tests showed increased CK levels (2xN), positive detection of antinuclear (1/1280; nucleolar), anti-PM/Scl, and anti AChR (0.51mM) autoantibodies. Thorax scan showed mediastinal adenopathy but no thymoma. Muscle biopsy showed active myopathy with predominantly perimysial and perivascular inflammation, nodular B-cell lymphocytic infiltrates and sarcolemmal and endomysial C5b-9 deposition. Outcome was favorable under pyridostigmine, prednisone, azathioprine and polyvalent immunoglobulins.

Myasthenia gravis (MG) was reported in 40% of patients with BCIM. Clinical features of MG may be masked by muscular impairment. The presence of posterior neck weakness or oculomotor signs must prompt the search of MG. Myopathological features, especially the presence of B-cell infiltrates and the pattern of C5b-9 deposition, are suggestive and contribute to the diagnosis. Identifying BCIM is of importance because of clinical and therapeutical implications.

inflammatory myopathy, myasthenia gravis, complement

Diagnostic algorithm for metabolic myopathies based on exercise testing parameters: a prospective study

Fabrice Rannou, 1 Virginie Scotet, 2 Pascale Marcorelles, 3 Cédric Le Maréchal, 2 Odile Rigal, 4 Eric Gobin, 5 Jean-Luc Carré, 6 Fabien Zagnoli, 7 Marie-Agnès Giroux-Metges, 1

1. Physiology Department–EA 1274, CHRU Cavale Blanche, Brest, France
2. INSERM, UMR 1078, Brest, France
3. Pathology Department–EA 4685 LNB, CHRU Morvan, Brest, France
4. Biochemistry Department, Robert Debré Hospital–APHP, Paris, France
5. Pathology Department, CHRU Morvan, Brest, France
6. Biochemistry Department, CHRU Cavale Blanche, Brest, France
7. Neurology Department–EA 4685 LNB, Clermont-Tonnerre Armed Forces Hospital, Brest, France

Introduction:

The definitive diagnosis of metabolic myopathies requires an invasive muscle biopsy and subsequent highly specialised techniques for analysis. Our aim was to evaluate the accuracy of aerobic exercise testing as a non-invasive first line test to help the diagnostic approach.

Methods:

From December 2008 to September 2013, all the consecutive patients that both underwent a metabolic exercise testing and a muscle biopsy were prospectively enrolled, according to the Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy (STARD recommendations). Subjects performed an incremental and maximal exercise testing on a cycle ergometer. Lactate, pyruvate, and ammonia concentrations were determined from venous blood samples drawn at rest, during exercise (50% predicted maximal power output, peak exercise), and recovery (2, 5, 10, and 15 min). Myoadenylate deaminase (MAD) activity was determined using p-nitro blue tetrazolium staining in muscle cryostat sections. Glycogen storage was assessed using PAS staining. The sensitivities and specificities of plasma ammonia, lactate, lactate/pyruvate and pyruvate/ammonia ratios to identify glycolysis defects, absent and decreased MAD activity were assessed using Receiver Operating Characteristic (ROC) curves analysis. Using a stepwise approach, a decision tree was generated.

Results:

70 patients were included. Omitting patients with glycolysis defects (n = 5), MAD staining was absent in 6, decreased in 9, and normal in 50 subjects. Lactate/rest at the 10th minute of recovery provided the greatest area under the ROC curves (AUC, 0.981 ± 0.034) to differentiate Absent from Present MAD activity. The pyruvate/ammonium ratio at the 5th minute of recovery from exercise displayed the best AUC (0.875 ± 0.076) to discriminate between Decreased and Normal MAD activity. The resulting decision tree achieved a diagnostic accuracy of 93.4%.

Conclusion:

The present algorithm provides a non-invasive test to accurately predict glycolysis defects, absent and decreased MAD activity, contributing to select patients for muscle biopsy and target appropriate histochemical analysis.

Metabolic Myopathies, Exercise Testing, Diagnostic Algorithm

Serum immunological markers in a cohort of 101 patients with Inclusion Body Myositis.

L Gallay(1), B. Hervier (1), K. Mariampillai (1) , J-L Charuel (2), Y Allenbach (1), L. Musset (2), O. Benveniste (1)

Introduction:

Inclusion Body Myositis (IBM) is the most frequent myositis among the population over 50 years of age. Its pathogenesis conjugates inflammation, immunity and neuro-degeneration processes. The objective of the work was to evaluate the serum immune anomalies in a large cohort of IBM patients.

Methods:

Starting from the French database “Idiopathic inflammatory myopathies”, (960 patients), all the eligible IBM patients (n=228), considering Benveniste et al IBM criteria (1) were sorted out. From this cohort, patients who had immunological investigations were selected (n=101).

Results: The cohort consisted of 51 men, 50 women, with an average age of 71.2 years old. Fifty nine patients (58%) had at least once positive anti nuclear antibody (ANA). ANA titers distribution was: 1/80 = 42%, 1/160 =26%, 1/320 =19%, 1/640 3%, and \geq 1/1280 = 20%. ANA Immunofluorescence pattern was mainly speckled (N=52, 88%), or sometimes nucleolar (n=7, 12%). other nuclear staining patterns were rarely found : granular, filamentous, golgi pattern, centromeric, or type NOR90. Among all the Extractable Nuclear Antigens antibody tested, only anti SSA-SSB antibodies were found in numerous patients (n=21, 21%). To a lesser extent, different other auto-antibodies were described, notably antiganglioside antibody (n=10, 10%), and anti-thyroid auto-antibodies (n=11, 11%). Furthermore, Anti-cN1A antibody was tested in 46 IBM patients, and appears positive in 26 patients (57%). Moreover, 87% of the patients (n=59/68) presented an abnormal plasma protein electrophoresis. Gammopathy was apportioning as follows: monoclonal gammopathy (n=16, 24 % of the tested patients) with no major prevalence of any light chain sub-type, hypogammaglobulinemia (n=4, 6%), and polyclonal hypergammaglobulinemia (n=38, 56%).

Conclusions: Serum autoimmune stigmata were found in approximately 2/3 of this cohort. This proportion is more important than expected in the general population over 70 years old (19,2%) (2). As previously reported, Anti-cN1A positivity was found in more than half of the patients. In particular, we observed a higher frequency of monoclonal gammopathy in IBM patient compare to the general population of the same age group (24% vs 4%). This study thus suggests an immunological involvement in IBM pathogenesis, and outlines the need to investigate consistently immune status in this particular disease.

Inclusion Body Myositis, immunological markers, gammopathy

Le Yin et le Yang des inhibiteurs de cholinestérases aux jonctions neuromusculaires

Eric Krejci (1), Jacqueline Leroy (1) et Konstantin Petrov (2)

1 COGnition ACtion Group, UMR CNRS, SSA, Université Paris Descartes, Paris France

2 Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, Kazan, Russia

Beaucoup des myasthénies sont traitées avec des inhibiteurs de d'acétylcholinestérase (AChE) pour améliorer la transmission synaptique dans les jonctions neuromusculaires. Les inhibiteurs utilisés actuellement ne sont pas spécifiques de l'AChE mais bloquent aussi la butyrylcholinestérase, une enzyme abondante dans le sérum, aussi présente dans de nombreux tissus. Alors que l'AChE est très abondante dans la lame basale qui coure entre le motoneurone et la fibre musculaire, la BChE y est très rare et ne contrôle pas directement la transmission synaptique. La BChE est cependant accumulée sur les cellules de Schwann terminales par une petite protéine PRiMA. L'inhibition ou l'absence de BChE réduit la libération d'ACh par le motoneurone, sans compromettre la transmission synaptique. Puisque BChE hydrolyse l'ACh, nous avons recherché et établi que le blocage ou l'absence des récepteurs nicotiniques (nAChR) $\alpha 7$ prévient la réduction de la libération après inhibition de la BChE. Dans des conditions normales, quand l'AChE est active, la quantité d'ACh qui s'échappe de la JNM est limitée et donc l'inhibition de la BChE est sans conséquence sur la contraction musculaire. Par contre lorsque l'AChE est partiellement inhibée, comme pendant le traitement des myasthénies, deux processus antagonistes entrent en compétition si la BChE est inhibée. D'une part l'augmentation transitoire d'ACh active plus de nAChR musculaires et permet de soutenir la contraction musculaire, d'autre part si la BChE est inhibée, l'ACh active des $\alpha 7$ nAChR et réduit la libération. Nous présenterons différents niveaux de cette analyse ex vivo et in vivo. Ces observations devraient être prises en compte dans le choix d'inhibiteur dans les traitements des myasthénies ou dans le développement de nouveaux inhibiteurs d'AChE.

physiologie, acetylcholine, myasthénie

Rspo1 regulates the Wnt signaling pathways during muscle regeneration

Floriane Lacour, Fabien Le Grand

Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, Inserm, CNRS, Centre de Recherche en Myologie (CRM), GH Pitié Salpêtrière, 105 bld de l'hôpital, Paris 13, France

Adult mammalian skeletal muscles have the remarkable ability to repair after injury. Muscle regeneration depends on various cellular and molecular responses, such as activation of Wnt signaling pathways in muscle stem cells (satellite cells). R-spondin (Rspo) proteins are able to potentiate Wnt signaling pathways in vivo in many stem cells and play important role for regeneration of different tissues. Given that Pax7, the muscle stem cell-specific transcription factor, controls R-spondin1 gene expression we explored the hypothesis that Rspo1 plays a role during skeletal muscle regeneration.

We first isolated primary myoblasts from Rspo1-null mice and observed that Rspo1 depletion did not alter cell cycle of these cells. However, Rspo1^{-/-} primary muscle cells showed an alteration in their differentiation kinetics. Using both in vitro and in vivo approaches, we found that Rspo1 controls muscle cell fusion. Transcriptome analysis further demonstrated that Rspo1 regulates Wnt/ β -Catenin signaling in muscle stem cells and interacts with multiple signaling pathways involved in muscle cell differentiation.

Our studies suggest that Rspo1 plays a important role during skeletal muscle regeneration and controls tissue hyperplasia following unjury. We are now investigating the precise molecular mechanisms that account for Rspo1 roles in muscle cell fusion.

muscle stem cell, wnt signaling, regeneration

Mutations in GFPT1 and DPAGT1 identified in a French Cohort of Patient with congenital myasthenia cause glycosylation defects and neuromuscular junction abnormalities on muscle biopsies

Stéphanie BAUCHE(1), Marie-Joséphine FONTENILLE(1), Élodie DE BRUCKYERES(1), Claire Sophie DAVOINE(1), Damien STERNBERGS(2), Guy BROCHIER(4), Lucie WOLF(5), Emmanuelle LACENE(4), Norma ROMERO(4), Bruno EYMARD(3), Sophie NICOLE(1)*, Tanya STOJKOVIC(3)*, Frederic CHEVESSIER(5)*.

1 ICM, Inserm, UMRS 1127, UPMC, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

2 APHP, UF Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

3 PHP, Centre de Référence en Pathologie Neuromusculaire Paris-Est, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

4 Unité de Morphologie Neuromusculaire, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

5 Institute of Neuropathologie, University-Hospital Erlangen, Schwabachanlage 6, Erlangen, Germany

Limb-girdle congenital myasthenic syndrome (LG-CMS) forms a distinct group of CMS mainly characterized by prominent muscle weakness in proximal skeletal associated with sarcoplasmic reticulum reorganization (called tubular aggregates) visible in patient muscle biopsies. Mutations in GFPT1 (glutamine-fructose-6-phosphate transaminase 1) and DPAGT1 (dolichyl-phosphate N-acetylglucosamine transferase 1), two key enzymes involved in the fine tuning of glycosylation, are the main cause of this particular syndrome (Senderek et al., 2011; Belaya et al., 2012). However the consequences of a deficit in the ubiquitous N-glycosylation process of proteins at the neuromuscular junction (NMJ) remain largely unknown. In this study, we report on recessively inherited mutations in GFPT1 and DPAGT1 in a French cohort affected with LG-CMS with tubular aggregates. We collected clinical data of 6 patients from 5 families and identified 4 new undescribed mutations in GFPT1 and 2 new undescribed mutations in DPAGT1. We carefully analyzed the NMJ in all patients both by whole-mount immunocytochemistry and at the ultrastructural level. We demonstrated that defects in GFPT1 and DPAGT1 induced a profound remodeling of endplates characterized by a progressive loss of junctional folds, abnormal nerve endings, as well as impaired glycosylation process associated with increased Peanut agglutinin (PNA) lectin suggesting a deficit in muscle protein glycosylation. This study shed light onto the etiopathology of this rare neuromuscular disorder which may be considered as a “Tubular aggregate myopathy with synaptopathy”.

Congenital myasthenic syndromes, GFPT1- DPAGT1, neuromuscular junction

Communications orales - recherche fondamentale

Colloque Myogénèse

**Mercredi 25 novembre
Plénière 1 Place de l'école
09h00-10h30**

Identification of a transcription factor as determinant of muscle aging in *Caenorahbditis elegans*

Adeline Mergoud dit Lamarche (1), Laurent Molin (1), Kathrin Gieseler (1), Jean-Louis Bessereau (1) & Florence Solari (1)

1. Center of Molecular and Cellular Genetics and Physiology, CNRS/UCB-Lyon1 UMR 5534, Villeurbanne, 69100, France

Aging is accompanied by a progressive loss of muscle mass and function termed sarcopenia. In human, sarcopenia is responsible for a decrease in mobility, leading to a reduction in the quality of life. Epidemiological studies further suggest that skeletal muscle aging is also a risk factor for the development of several age-related diseases such as diabetes, cancer, Alzheimer’s disease, and Parkinson’s disease.

Several cell autonomous mechanisms have been proposed to be involved in muscle aging including mitochondria default [1], apoptosis [2] and alteration of muscle protein turnover [3]. However, those data have been essentially obtained in models of experimentally induced muscle atrophy. Thus the question of their importance and kinetic in the context of physiological aging remains unanswered.

We are using *C. elegans* to identify genetic pathways involved in muscle aging. For this purpose, we first aimed to characterize biomarkers of muscle aging. Next, we have defined a time course of events that takes place during muscle aging. We have shown that muscle aging is firstly characterized by a decrease in the expression of some but not all muscle genes, followed by a change in mitochondria morphology and an impairment of muscular proteostasis. As the decrease of muscle genes expression is the earliest event, we hypothesized that it may play a causal role in sarcopenia. Further genetic, cellular and molecular investigations allowed us to identify a transcription factor, which plays a role in muscle aging, by impacting different biomarkers of muscle aging and which function may be conserved in mammals.

1. Romanello et al. *EMBO J.* 2010;29: 1774–1785. doi:10.1038/emboj.2010.60
2. Marzetti E et al. *Gerontology.* 2012;58: 99–106. doi:10.1159/000330064
3. Masiero E, et al. *Autophagy.* 2010;6: 307–309.

C. elegans, muscle aging

Characterization of the trafficking and functional properties of the muscle specific long STIM1 isoform

Sophie Saüc 1&2, Monica Bulla2, Lelio Orci2, Anna Marchetti2, Fabrice Antigony1, Laurent Bernheim1, Pierre Cosson2, Nicolas Demaurex2 and Maud Frieden1&2

From the Departments of 1Basic Neurosciences and 2Cell Physiology and Metabolism, Geneva Medical Center, 1, rue Michel Servet, 1211 Geneva 4, Switzerland

Store-Operated Ca²⁺ entry (SOCE) is a ubiquitous Ca²⁺ influx mechanism of particular importance for skeletal muscle as patients harboring mutations in SOCE genes suffer from muscular weakness and myopathies. SOCE is triggered by the Ca²⁺ depletion of the endoplasmic reticulum (ER) which initiates the oligomerization of the ER Ca²⁺ sensor STIM1 and its translocation to the plasma membrane (PM). At the PM, STIM1 aggregates into punctate structures in order to trap and gate plasma membrane Ca²⁺-permeable channels of the Orai or TRP families. Whereas in non-excitabile cells SOCE takes 1-2 min to develop, in muscle cells influx occurs within 15-20 sec. The mechanism explaining the rapid Ca²⁺ influx of muscle remained unknown until our discovery of a longer STIM1L splice variant. STIM1L interacts with actin filaments to form permanent clusters close to the PM that colocalize with Orai1 channels before ER depletion. To investigate whether the specific properties of STIM1L are muscle dependent or are intrinsic characteristics of the molecule, we used a MEF cell line knocked-out for STIM1 where we re-expressed either YFP-STIM1 or YFP-STIM1L to compare their properties. Using total internal reflection fluorescence (TIRF) microscopy we observed that before Ca²⁺ depletion STIM1L was only partially pre-recruited in MEFs and Orai1-RFP channels were diffusely distributed at the PM. Ca²⁺ depletion induced additional STIM1L translocation to the PM and Orai1-RFP clustered even more slowly in STIM1L expressing cells than in STIM1 expressers. Consistently Ca²⁺ imaging revealed that STIM1L restored robust Ca²⁺ entry but did not accelerate SOCE in MEFs suggesting that, in skeletal muscle. Hence we propose that even if STIM1L is necessary for the fast SOCE in muscle it is not sufficient. Presumably, scaffolding proteins maintain STIM1L-Orai1 clusters preassembled at the PM to enable rapid SOCE activation upon store depletion.

SOCE, STIM1L, Calcium

Hacd1-knockout mice are protected against high-fat-diet-induced obesity and insulin resistance

Alexandre PROLA (1), Jordan BLONDELLE (1), Jérôme PIQUEREAU (2), Laurent GUILLAUD (1), Stéphanie GADIN (1), Mélanie GRESSETTE (2), Vladimir VEKSLER (2), Laurent TIRET (1), Fanny PILOT-STORCK (1)

1. ENVA-INSERM, Institut Mondor, UMR 955 Team 10, Biology of the Neuromuscular System, Créteil, France

2. INSERM U1180, LabEx LERMIT, Faculté de Pharmacie, Châtenay-Malabry, Université Paris-Sud 11, Paris, France

Mutation in HADC1/PTPLA gene causes a myopathy characterized by muscle weakness and exercise intolerance in Labrador retrievers. HADC1 participates to the elongation of very long chain fatty acids (C \geq 18) within the endoplasmic reticulum and we recently proved that HADC1 is dynamically regulated in differentiating myoblasts, where it regulates cell membrane composition and fluidity. As a consequence, HADC1 deficiency in mouse and dog impairs myoblast fusion during development, leading to the observed reduction in muscle mass in adulthood. We decided to explore the metabolic capacities of Hacd1-knockout (KO) mice as we hypothesized that their reduced muscle mass and spontaneous locomotion would lead to an altered sensitivity to insulin, given that skeletal muscles constitute the main glucose sink. Counter intuitively, Hacd1-KO mice exhibited higher glucose tolerance and insulin sensitivity, both in normal and high fat diet. Moreover, during high fat diet, despite eating the same quantity of food, Hacd1-KO mice exhibited a resistance to obesity, with reduced weight gain and fat accumulation. Analysis of skinned muscle fibers revealed that mitochondrial beta oxidation and uncoupled respiration were markedly elevated in Hacd1-KO mice, suggesting that this increased catabolic activity consumed increased levels of lipids and glucose and partially compensated the over ingested fat during high fat diet. Lipidomic analyses revealed altered levels of mitochondria-specific lipid species that could impair inner membrane organization and thus respiratory complex function. Taken together, our results demonstrate that HADC1 plays a major role in muscle metabolism and suggest that HADC1 loss-of-function could be linked to the nosological group of mitochondrial myopathies in which energy deficit contributes to exercise intolerance. In parallel, the protective effect of HADC1 deficiency towards diet-induced obesity and insulin resistance may provide grounds for the management of metabolic syndrome.

Myopathy, Mitochondria, Metabolism

Communications orales – Clinique

**Mercredi 25 novembre
Amphi Mérieux
10h30-12h15**

Mise en place du séquençage massif en parallèle de gènes de myopathie et de dystrophie musculaire dans le Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires du Grand Sud-Ouest: une stratégie diagnostique efficace, de nouvelles pistes de recherche

Reda ZENAGUI (1), Elodie COSSET (2), Alicia QUILLEVERE (2), François RIVIER (3), Raul MORALES (4), Claude CANCES (5), Guilhem SOLE (6), Dimitri RENARD (7), Ulrike WALTHER-LOUVIER (3), Xavier FERRER-MONASTERIO (6), Caroline ESPIL (9), Marie HUSSON (9), Marie-Christine ARNÉ-BES (10), Pascal CINTAS (10), Emmanuelle URO-COSTE (11), Marie-Laure MARTIN NEGRIER (12), Dr Valérie RIGAU (13), Delphine THOREL (1), Eric BIETH (14), Cyril GOIZET (8), Dominique FIGARELLA-BRANGER (15), Sylvian LEHMANN (16), Constance DELABY (16), Nicolas LÉBOUCQ (17), Mireille CLAUSTRÉS (2), Michel KOENIG (1) (2), Mireille COSSÉE (1) (2)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Montpellier, France
2. Laboratoire de Génétique de maladies rares, Université Montpellier, Montpellier, France
3. Département de Neurologie Pédiatrique, CHU, Montpellier, France
4. Département de Neurologie, CHU, Montpellier, France
5. Département de Neurologie Pédiatrique, CHU, Toulouse, France
6. Service de Neurologie, CHU, Bordeaux, France
7. Département de Neurologie, CHU, Nîmes, France
8. Département de Génétique, Bordeaux, France
9. Département de Neurologie Pédiatrique, CHU, Bordeaux, France
10. Département de Neurologie, CHU, Toulouse, France
11. Département d'anatomie et cytologie pathologiques, CHU Toulouse, France
12. Service de Pathologie, CHU, Bordeaux, France
13. Département de Biopathologie cellulaire et tissulaire des tumeurs, CHU, Montpellier, France
14. Département de Génétique, CHU, Toulouse, France
15. Service d'anatomie pathologique-neuropathologique, CHU, Marseille, France
16. Service de Biochimie-protéomique clinique, CHU, Université Montpellier, Montpellier, France
17. Département de Neuroradiologie, CHU, Montpellier, France

Le séquençage massif en parallèle (MPS) a révolutionné la caractérisation moléculaire des myopathies et dystrophies musculaires (M-DM). Nous avons développé un protocole de MPS ciblé de 76 gènes de M-DM. Après optimisation de la technologie de capture et de séquençage et des analyses bioinformatiques, nous avons analysé une cohorte de 40 patients pédiatriques et adultes atteints de M-DM non étiquetée, la plupart sporadiques. 47 variants ont été identifiés dans 19 gènes: 66% n'étaient pas reportés dans la littérature, 19% étaient rapportés comme pathogènes et 15% comme variants de signification inconnue. Nous avons identifié le gène en cause ou très probablement en cause (études de ségrégation familiale en cours) dans près de 50% des cas. Dans certains cas de phénotype atypique, le MPS a permis de porter un diagnostic génétique qui n'aurait pas été fait par l'approche classique d'analyse gène par gène. Ce rendement diagnostique élevé est probablement dû aux indications larges du MPS, à une couverture importante des régions cibles, à l'utilisation de deux logiciels d'alignement et d'annotations de variants, aux études de transcrits (notamment pour les variants d'épissage du gène TTN) et aux interactions étroites avec les cliniciens et les anatomopathologistes. Ces interactions ont permis d'entreprendre des études complémentaires de validation de variants et/ou de corrélations phénotype-génotype. Notre étude a permis d'élargir le spectre mutationnel de plusieurs gènes, notamment les gènes NEB et TTN incomplètement étudiés auparavant, qui paraissent être fréquemment impliqués et sont associés à des phénotypes très variés. La caractérisation de mutations affectant des gènes récemment identifiés comme GMPPB et/ou rarement associés à des phénotypes musculaires comme PLEC devrait permettre de participer à l'effort international pour une meilleure compréhension de l'implication de ces gènes dans les M-DM. Les données de variation du gène TTN pourront constituer la base pour des études fonctionnelles ultérieures.

Séquençage massif en parallèle, Panel de gènes de myopathie et de dystrophie musculaire, Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires du Grand Sud-Ouest

Mechanotransduction underlying tendon cell differentiation

Ludovic Gaut (1,2,3,4,5), Marie-Ange Bonnin (1,2,3), Nicolas Robert (1,2,3), Mathias Mericskay (3,4,5) and Delphine Duprez (1,2,3)

1 CNRS UMR 7622, IBPS-Developmental Biology Laboratory, F-75005, Paris, France.

2 Inserm U1156, F-75005 Paris, France.

3 Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, IBPS, F-75005 Paris, France.

4 CNRS UMR 8256, IBPS-Biological Adaptation and Ageing Laboratory, F-75005, Paris, France.

5 Inserm U1164, F-75005 Paris, France.

Tendons are unique forms of connective tissue of the musculoskeletal system. They are composed of a dense extracellular matrix of type I collagen fibrils that are hierarchically organized to withstand tensile forces transmitted from muscle to bone. Tendon development, homeostasis and repair rely on specific combinations of mechanical parameters, transcription factors and growth factors that regulate production and assembly of collagen fibers. Our objective is to decipher the mechanotransduction pathways underlying tendon cell differentiation. Tendon mechanobiology was studied in vitro using a murine cell line of mesenchymal stem cells (MSCs) in 2-dimensional (2D) or 3-dimensional (3D) cell culture systems. MSCs were cultured in a 3D environment within fibrin gel under tension that mimics in vitro tendon formation. The expression of tendon genes and the activity of signalling and mechanotransduction pathways were increased in 3D cultures compared to 2D cultures. Tension release in 3D constructs induced a drop of the expression of tendon genes and the mechanosensitive gene *Egr1*. Forced-expression of *Egr1* was able to rescue tendon gene expression in de-tensioned 3D constructs. The effect of mechanical signals on MSC tenogenic potential was assessed by applying different strains to MSCs cultured in 2D. Substrate stiffness and cell confluence also differentially affected tendon, bone and cartilage gene expression. Mechanobiology was also studied in vivo during development. Movement inhibition in chick embryos led to a decrease of the expression of the tendon markers and mechanosensitive genes, while cartilage marker expression was increased in limbs. All together, these results highlight the importance of the mechanical forces in tendon cell differentiation. However, the precise relationship between mechanical and molecular signals remains to be further explored.

Tendon, Mechanotransduction, Cell differentiation

Single cell based analysis of functional populations in aged and dystrophic muscle

Lorenzo Giordani, Fabien Le Grand

Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, Inserm, CNRS, Centre de Recherche en Myologie (CRM), GH Pitié Salpêtrière, 105 bld de l'hôpital, Paris 13, France

Skeletal muscle is a complex structure endowed with extreme regenerative capability; this ability relies on the orchestrated interplay between different muscle populations that reside within the tissue. Functional changes occurring at the microenvironmental level during aging or pathological conditions however, interfere with this ability leading to fibrosis and fat infiltration.

Despite a large body of work still we are far from completely understanding these changes; even when genetic cause is known (e.g. Duchenne muscular Dystrophy) we are still unable to pin-point the steps that lead from the molecular cause to the outcome of the disease.

The main reason for this bottleneck is that our knowledge has been limited so far by the lack of technical tools to dissect the heterogeneity of these populations. The use of bulk-scale methods able only to provide averaged information has frustrated our effort to characterize those pathological changes leaving those dysfunctional, disease-specific subpopulation to remain hidden within the bulk.

Here we present a novel approach based on single cell mass spectrometry to study the populations that reside in the muscle. Using CyToF technology we will profile at single cell resolution the muscle resident populations during aging and in diseased state. This will allow us to identify dysfunctional subsets involved in the regeneration defect. This study will not only shed light on the mechanisms underpinning muscle regeneration but would provide a solid ground for the future identification of diagnostic biomarkers through the study of disease specific subpopulations.

mass cytometry, dystrophic muscle, single cell

Secretion of toxic exosomes by muscle cells of ALS patients: role in ALS pathogenesis

Laura Le Gall¹, Gisèle Ouandaogo¹, William J Duddy¹, Sylvain Roquevière², Laura Robelin³, Jeanne Lainé¹, Anne Cécile Durieux⁴, Francesca Ratti⁵, Alexandre Méjat⁵, Maria Del Mar Adamor⁶, Jean Philippe Loeffler³, Lucette Lacomblez⁶, Gillian Butler Brown¹, Vincent Mouly¹, José Luis Gonzales³, Cécile Martinat², Pierre François Pradat^{6*}, Stéphanie Duguez^{1*}

The causes of ALS remain unknown. For sporadic and familial cases, several studies show an abnormal accumulation of lysosomally-directed protein aggregates in the cytosol of patient cells. Mutations in genes involved in the autophagy pathways and multivesicular body biogenesis are now known to occur among familial cases. These data suggest a potential disruption of the endosome and lysosome pathways, thus affecting exosome genesis. Work in our lab and others has shown that the skeletal muscle has a functional secretory activity. The muscle secretome contains exosomes - vesicles that carry out intercellular transport of functional proteins, mRNA, and miRNA. We hypothesize that exosome secretion is disrupted in ALS muscle cells, and that this affects the intercellular communication between muscles and motor neurons.

We showed by transcriptomic analysis and RT-qPCR that exosome biogenesis is up-regulated in cultured ALS muscle stem cells. The ALS myotubes accumulated intracellular exosomes, as shown by immunostaining and electron microscopy, and they over-secreted exosomes. The accumulation and over-secretion of exosomes are consistently observed in the muscle stem cells of all 18 patients analysed in the present study. Since this is in tissue culture, these cells are naïve of denervation. Thus our data suggest that (1) the muscle is affected independently to denervation, and (2) all sporadic cases have a common signature. Furthermore, we found that the secreted ALS exosomes are toxic, as when they are added to the culture medium of healthy myotubes or motor neurons, they induce cellular stress, cell death and myotube atrophy. This altered exosome secretion may influence the intercellular communication between the muscle and its environment, including motor neurons. This phenomenon occurs independently of muscle denervation and could be a key element in the disease progression.

Amyotrophy Lateral Sclerosis, muscle exosomes, Intercellular communication

Dynein dysfunction results in impaired muscle specific tyrosine kinase (MuSK) trafficking and clustering at the neuromuscular junction

Vilmont Valérie, Cadot Bruno, Edgar Gomes

1. Myology Research Center, UM76-INSERM U974-CNRS FRE 361 Sorbonne Universités, UPMC Université Paris 06, Paris France. | 2. Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

Loss of NMJ integrity occurs in motor neuron diseases such as amyotrophic lateral sclerosis (ALS). Molecular pathways leading to this pathology, which encompasses massive neuronal death and muscle atrophy, have not been fully elucidated. Cytoplasmic dynein, together with its activator dynactin, is responsible for the majority of microtubule-mediated minus-end transport of organelles. Studies on mouse models expressing mutations in dynein motor have shown mild neurodegeneration linked to defective retrograde transport in neurons and NMJ defects. Many pieces of evidence have (re)placed the muscle as one of the initiating centers of ALS. Because dynein complex has been described as important protagonist of muscle development, a key question is whether the motor protein complex can play a role in muscle-derived pathobiology in ALS. We used a model of in vitro formation and differentiation of muscle fibers to investigate the role of the dynein in the formation and maintenance of the post-synaptic apparatus and the underlying stabilizing mechanisms.

We found that absence or inhibition of Dynein decrease the number and length of AchRs and Rapsyn clusters in myofibers. Myofibers also showed the presence of MuSK and activated MuSK (phosphorylated MuSK) at AchRs clusters. Absence of Dynein affected MuSK localization at the cell periphery whereas inhibition induced aggregation of MuSK and loss at AchRs clusters. Similar differences were observed in isolated fibers from SOD1 mice compare to WT mice. Because MuSK trafficking is important for the post-synaptic specialization, we checked the localization of MuSK in different endosomal pathways (early, late, recycling). Dynein inhibition displaced Musk from early and recycling endosomes to late endosomal compartments. This effect was completely reversible. Our results suggest that dynein plays a role in the stabilization of the post-synapse via the regulation of MuSK trafficking and recycling at the NMJ.

Neuromuscular Junction, Dynein, Musk

Dynamics of Triad organization

Muriel Sébastien (1), Eric Denarier (2), Julie Brocard (1), Oriana Sarrault (1), Didier Grunwald (1), Isabelle Marty (1), Julien Fauré (1,3)

1. Muscle and Pathologies, Grenoble Institute of Neurosciences, Inserm U836, Grenoble, France. 2. Physiopathology of the Cytoskeleton, Grenoble Institute of Neurosciences, Inserm U836, Grenoble, France. 3. CHU Grenoble, Biochemistry and Molecular Genetics, Grenoble, France.

Excitation-contraction coupling relies on spatial organization of triad membranes and on the precise localization of proteins of the Calcium Release Complex (CRC) in these membranes. Sarcoplasmic Reticulum (SR) proteins of the CRC are exclusively found in terminal cisternae (TC) of the reticulum, but the mechanisms responsible for their traffic and retention in this compartment are poorly defined. Among CRC proteins, triadin was proposed to act as an anchor for the other reticulum proteins at triads. To investigate the mechanisms leading to protein targeting to triads and to the organization of triad membranes in muscle cells, we have expressed fluorescent chimeras of triadin in differentiating primary myotubes from triadin KO mice.

The mobility of GFP-triadin was recorded during cell differentiation. Although fixed at late differentiation stages, SR membranes labeled with GFP-Triadin can undergo short and long distance movements at earlier stages. These movements of SR membranes require intact microtubule cytoskeleton, and may be necessary for triad organization at the A-I junctions. A photoactivatable version of Triadin (PAGFP-Triadin) was used to study the dynamics of limited pools of activated molecules. At both early and late myotube differentiation stages a continuous diffusion of triadin molecules in the SR was revealed. Triadin accumulation in the TC of SR was shown to depend on its C-terminal luminal domain. Overall, our experiments reveal that clusters of triadin move along microtubules during early differentiation stage. These movements could reflect TC formation and organization along the sarcomeres during myotube differentiation. During this process, and also at later differentiation stages when TC have a fixed localization, a continuous diffusion of triadin allows its traffic to the TC. We show that the exclusive localization of Triadin in TC rely, at least in part, on a retention-based mechanism mediated by its C-terminal part.

Propriétés des courants calciques et des courants de fuite de repos de fibres musculaires squelettiques de souris surexprimant une forme mutée du canal calcique de type L responsable de paralysie périodique hypokaliémique

Centre de Génétique et de Physiologie Moléculaire et Cellulaire, UMR 5534 CNRS/Université Lyon 1, 43 bd du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne cedex

Clarisse FUSTER, Jimmy PERROT, Christine BERTHIER, Vincent JACQUEMOND et Bruno ALLARD

Des mutations faux-sens dans le gène codant la sous-unité pore du canal calcique de type L (Cav1.1) induisent des paralysies périodiques hypokaliémiques de type 1 (HypoPP1). Ces mutations consistent principalement en des substitutions d'arginine dans le 4^{ème} segment transmembranaire des domaines voltage-sensors du canal. Peu d'études décrivent les effets de ces mutations sur les propriétés fonctionnelles du canal et les propriétés électriques des cellules étant donné la difficulté à faire exprimer Cav1.1 dans des systèmes d'expression hétérologue. Dans cette étude, nous avons réussi à transférer par électroporation dans les muscles interosseux des pattes arrière de souris les gènes codant respectivement les formes de Cav1.1 sauvages (WT) et mutées R1239H HypoPP1 étiquetées à la turboGFP. Les profils des patrons d'expression des deux canaux ont révélé des stries transversales régulières et en doublets témoignant de la localisation des canaux dans la membrane tubulaire transverse. La mesure des courants calciques en potentiel imposé a montré que la conductance maximale de Cav1.1 était significativement réduite et sa voltage-dépendance glissée vers les potentiels négatifs dans les fibres exprimant R1239H Cav1.1. L'application de rampes d'hyperpolarisation de 0, -20, -40 ou -60 mV à -120 mV en présence d'une solution externe dépourvue de Na⁺, K⁺ et pauvre en Cl⁻ a révélé une conductance de fuite significativement plus élevée entre -80 et -120 mV dans les fibres exprimant R1239H Cav1.1. Une acidification externe a significativement augmenté le courant et la conductance de fuite au potentiel de repos, ainsi que la fluorescence émise par un indicateur sensible au pH dans les fibres exprimant R1239H Cav1.1. Ces résultats suggèrent qu'un courant de fuite exacerbé, vraisemblablement porté par des protons, s'écoule au potentiel de repos dans les fibres exprimant R1239H Cav1.1 et que l'acidification musculaire pourrait jouer un rôle important dans le déclenchement des crises de paralysie dans l'HypoPP1.

An Atlas based Automatic Segmentation of the Human Thigh Muscles : A promising approach for Fat infiltration and muscle volume quantification in longitudinal studies.

Arnaud Le Troter (1), Alexandre Fouré (1), Maxime Guye (1), Sylviane Confort-Gouny (1), Jean-Pierre Mattei (1) , (2), Julien Gondin (1), Emmanuelle Salort-Campana (3), David Bendahan (1)

(1) CRMBM/CEMEREM, Aix-Marseille University, Marseille, FRANCE; (2) Department of Rheumatology, Aix-Marseille University, Marseille, FRANCE; (3) Neuromuscular and ALS centre of Marseille, Aix-Marseille University, Marseille, FRANCE

Background : Atlas segmentation is a powerful method for automatic structural segmentation of several sub-structures in many organs. However, no study has used this method so far for skeletal muscle segmentation. In this study, we present an atlas segmentation pipeline we have developed for segmentation of quadriceps muscles from magnetic resonance images obtained in twenty five young healthy males . We also show a few examples for the follow-up of patients.

Materials and Methods: A non-linear registration process based on ANTs algorithm was applied to thigh images initially automatically segmented for bone, muscle and fat tissues. Optimized fusion parameters of STEPS multi-atlas segmentation were determined in order to obtain the highest DICE index as compared to the manual segmentation of quadriceps muscles, considered as the gold standard. Validation and reproducibility of the pipeline was assessed in two other databases of seven healthy male subjects. In a group of dystrophic patients, a single-atlas version of the pipeline was used without the fusion process and a similar validation was performed.

Results: In control subjects, the results for each quadriceps muscle show a mean DICE similarity coefficient higher than 0.85. While the multi-atlas pipeline did not provide satisfactory results in patients due to a massive fat infiltration, the single-atlas version allowed to perform a follow-up for each muscle considering the initial MRI as an atlas.

Conclusion: In the present study we reported two segmentation pipelines based on atlases. The examples provided in a control population and in a few patients demonstrated a robust method which could be useful for muscle quantification and fat infiltration in the fields of neuromuscular disorders, sports medicine and rehabilitation.

MRI, quantitative MRI, muscle infiltration

Communications Orales - Recherche Fondamentale & Posters Flash - Prix Masters

**Mercredi 25 novembre
Amphi Mérieux
15h45-16h30**

Les anomalies musculaires engendrées par l'ischémie/reperfusion peuvent-elles être corrigées par l'entraînement en endurance : une exploration non invasive sur un modèle de souris drépanocytaires

Benjamin CHATEL (1), Laurent MESSONNIER (2), Yann LE FUR (1), Christophe VILMEN (1), Monique BERNARD (1), David BENDAHAN (1)

1. Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médicale, UMR CNRS 7339, Aix-Marseille Université,

2. Laboratoire de Physiologie de l'Exercice, EA 4338, Université Savoie Mont Blanc

ischémie/reperfusion, drépanocytose, métabolisme

La drépanocytose est une hémoglobinopathie qui se traduit par la synthèse d'une hémoglobine anormale (HbS) responsable de la falciformation et de la rigidification des globules rouges (GR). Ces GR falciformes ont tendance à obstruer la microcirculation induisant des crises vaso-occlusives (CVO) particulièrement douloureuses. Si les CVO peuvent survenir au niveau du muscle strié squelettique et pourraient avoir des effets délétères, leur impact sur le tissu musculaire est encore largement méconnu. Compte tenu des effets reconnus de l'entraînement en endurance sur les désordres hémorhéologiques, l'inflammation et le stress oxydatif, il pourrait limiter d'éventuels effets néfastes liés à l'ischémie/reperfusion. Les objectifs de ce travail étaient donc i) d'identifier d'éventuelles anomalies métaboliques musculaires associées à l'ischémie-reperfusion sur un modèle de souris drépanocytaires et ii) d'évaluer les effets d'un entraînement en endurance sur les paramètres mesurés. Pour cela, nous avons mis au point un dispositif permettant l'étude strictement non invasive du métabolisme énergétique musculaire par résonance magnétique nucléaire au cours d'un cycle d'ischémie/reperfusion. 10 souris contrôles (HbAA), 13 souris hétérozygotes (HbAS), 9 souris drépanocytaires (HbSS-SED) et 9 souris drépanocytaires entraînées en endurance (8 semaines sur tapis roulant, HbSS-ENT) ont été soumises à un protocole standardisé de repos (5min) - ischémie (30min) - reperfusion (25min). Pendant l'ischémie, l'amplitude et la vitesse de diminution de la concentration en phosphocréatine (PCr) étaient similaires entre les groupes, alors que les souris HbSS (-SED et -ENT) présentaient des diminutions de pH plus importantes que les souris HbAA ($p < 0.01$) et HbAS ($p < 0.05$ pour HbSS-ENT et $p < 0.1$ pour HbSS-SED). Pendant la reperfusion, la vitesse initiale de resynthèse de PCr était diminuée chez les souris HbSS (-SED et -ENT) par rapport aux souris HbAS ($p < 0.01$) et HbAA ($p < 0.05$). Ces résultats témoignent i) d'une réponse métabolique musculaire exacerbée à l'ischémie/reperfusion chez les souris drépanocytaires et ii) d'une absence d'effet de l'entraînement en endurance sur ces paramètres.

Inactivation of Myostatin: a potential therapeutic tool against Autosomal Dominant Centronuclear Myopathy

ARNOULD D¹, **CASTELLS J**¹, **FREYSSENET D**¹, **DURIEUX AC**¹,

1 - Laboratoire de Physiologie de l'Exercice EA 4338, Université de Lyon, Université Jean Monnet, Saint-Etienne, France

Context: The unique mouse model for autosomal dominant centronuclear myopathy (KI-*Dnm2*^{R465W/+}), associated to mutations of dynamin 2 gene (*Dnm2*) reproduce some of the clinical features reported in human, notably muscle atrophy and weakness. Myostatin (Mstn), a member of TGF β family, is a master negative regulator of skeletal muscle mass. We hypothesized that inactivation of Mstn could limit muscle atrophy and weakness reported in the KI mouse model. To test this hypothesis, we intercrossed KI mice with mice inactivated for Mstn (KO-Mstn) to generate a double mutated lineage (KIKO mice).

Results: Animals were followed over a 12 months period. Muscle force (grip strength test) and motricity (rotator test) were significantly reduced in 1-month old KI mice. A significant loss of muscle mass and volume (microRMI) were observed in KI from 2 months of age. The analysis of *tibialis anterior* muscle mass was correlated with the decrease of muscle volume determined by microMRI ($r=0.9$). From 2 to 12 months, all these parameters remained below control values.

When compared to KI mice, KIKO mice presented a 30% and 50% increase of muscle grip strength at 1 and 12 months. Furthermore, the time spent on Rotarod was increased by 20% and 50% at 1 and 12 months. In agreement with these data, muscle mass was increased by 45% at 1 and 12 months and the volume by 32% to 42% at 1 and 12 months.

Molecular analyzes showed that inactivation of Mstn allowed for an increase of total and phosphorylated forms of several proteins involved in the IGF1/Akt/mTOR pathway, together with a down regulation of several factors involved in ubiquitin-proteasome and autophagy-lysosome proteolytic pathways. Overall, we demonstrated that inactivation of Mstn improves muscle mass and function of KI mice. An activation of muscle protein synthesis and a reduction in muscle proteolysis probably account for this beneficial effect.

Conclusion: These results are very promising since genetic inactivation of Mstn showed a real benefit for AD-CNM mice by restoring the strength, the motricity and by blocking the loss of muscle mass. The perspective to this work is to evaluate the efficiency of an anti-Mstn based pharmacological approach to restore muscle function after the establishment of the disease.

Key words: Centronuclear myopathy; Dynamin ; Myostatin ; Animals models ; Therapy

Rev-erb- α exacerbe la réponse aux protéines mal-conformées, les dysfonctions mitochondriales et l'apoptose dans le muscle squelettique

Alexis Boulinguez, Christian Duhem, Alicia Mayeuf-Louchart, Yasmine Sebti, Quentin Thorel, Stephane Delhaye, Benoit Pourcet, Mathilde Zecchin, Lise Ferri, Flore Delsart, Bart Staels, Hélène Duez, Steve Lancel.

Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1011, EGID, F-59000 Lille, France

Introduction

Le récepteur nucléaire Rev-erb- α est une protéine de l'horloge circadienne qui régule le métabolisme énergétique musculaire. Les perturbations de l'horloge biologique participent à l'apparition de pathologies métaboliques comme l'obésité. Les patients ob es présentent un stress chronique du réticulum endoplasmique dans le muscle squelettique associé à une perte de masse de ces derniers. Un stress réticulaire est à l'origine de la réponse aux protéines mal-conform es (Unfolded Protein Response, UPR). Irr esolu ou chronique, le stress réticulaire via l'UPR provoque des dysfonctions mitochondriales et conduit à l'induction de l'apoptose, cause possible de la perte de masse du muscle squelettique de l'ob es. Rev-erb- α est connu pour moduler la fonction mitochondriale mais aucune donnée ne le relie encore à l'UPR, ni à l'apoptose, ni à la perte de masse du muscle squelettique de l'ob es.

Objectifs

Nous cherchons à montrer que dans des conditions de stress réticulaire, Rev-erb- α module l'UPR, les dysfonctions mitochondriales et l'apoptose résultante et qu'à ce titre, Rev-erb- α régule la masse du muscle squelettique.

Méthodologies

Nous travaillons avec des cellules diff erenci es de la lignée myoblastique C2C12 qui surexpriment la protéine Rev-erb- α humaine et trait es à la tunicamycine, un inducteur de stress réticulaire. Par ailleurs, des souris invalid es pour Rev-erb- α sont soumises à un régime riche en graisses ou à une injection de tunicamycine dans le muscle gastrocnémien. Les techniques de western-blot, RTqPCR, cytométrie en flux, immunohistofluorescence, dosage d'activité enzymatique des caspases et oxygraphie haute résolution sont employ es pour étudier les réponses UPR, apoptotiques et les dysfonctions mitochondriales.

Résultats

Les cellules diff erenci es de la lignée myoblastique C2C12 qui surexpriment Rev-erb- α sont plus sensibles au stress réticulaire. En effet, nous montrons que l'UPR, l'apoptose et les dysfonctions mitochondriales associ es sont exacerb es après traitement à la tunicamycine par rapport aux cellules contrôles. *A contrario*, suite à l'induction d'un stress réticulaire dans le muscle squelettique gastrocnémien, les souris invalid es pour Rev-erb- α présentent une moindre activation de l'UPR et des voies apoptotiques associ e à une résistance à la perte de masse du muscle squelettique occasionn e par le régime riche en graisses.

Conclusions

Nous mettons en évidence une fonction inédite de Rev-erb- α en la régulation de la masse du muscle squelettique dans un contexte de stress réticulaire laissant entrevoir à long terme la possibilité de cibler spécifiquement ce récepteur nucléaire pour prévenir ou traiter la perte de masse et de fonction du muscle squelettique li e à l'obésité.

Altérations globales et sub-cellulaires des signaux calciques dans les fibres musculaires déficientes en myotubularine et effet d'inhibiteurs de la phosphatidylinositol 3-kinase

Candice KUTCHUKIAN (1), Yves TOURNEUR (2), Karine POULARD (3), Christine BERTHIER (1), Bruno ALLARD (1), Ana BUJ-BELLO (3), Vincent JACQUEMOND (1)

1. Institut NeuroMyoGène, CNRS, INSERM U1217, Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne, France

2. INSERM U1060, Lyon, France / UFPE Dept Nutrição, Recife, Brasil

3. Department of Research and Development, Génomique, INSERM, Evry, France

La myopathie myotubulaire est due à des mutations dans le gène codant pour MTM1, une phosphoinositide (PtdInsP) 3-phosphatase. Les fibres musculaires de souris déficientes en MTM1 (MTM1-KO) présentent des défauts de structure et de fonction du couplage excitation-contraction (CEC), incluant une réduction d'activité des canaux calciques qui sont le détecteur de potentiel CAV1.1 dans la membrane du tubule-t et le récepteur à la ryanodine dans la membrane du réticulum sarcoplasmique (RS) (Al Qusairi et al., 2009, PNAS 106). Le déficit du CEC est suspecté jouer un rôle majeur dans la faiblesse musculaire. Dans ce travail, nous avons caractérisé de nouvelles propriétés de la signalisation calcique dans les fibres musculaires isolées de souris contrôles et MTM1-KO à l'aide d'une combinaison de potentiel imposé et de microscopie confocale. Nous montrons que la libération de Ca²⁺ du RS dans les fibres MTM1-KO présente une amplitude réduite et un temps au pic prolongé sur toute la gamme de sensibilité au potentiel du CEC. Un pré-traitement avec deux pan-inhibiteurs de PtdIns-3-kinase est sans effet sur les fibres contrôles alors qu'il augmente l'amplitude du flux calcique de 60 à 80 % dans les fibres MTM1-KO sans restaurer l'activité de canal calcique de CAV1.1. L'effet bénéfique n'est pas reproduit par un inhibiteur spécifique de PtdIns-3-kinase de classe III. L'analyse subcellulaire des signaux calciques révèle des altérations spatialement hétérogènes dans les fibres MTM1-KO. L'expression de la sonde ML1N*2-mCherry, spécifique du substrat de MTM1 PtdIns(3,5)P₂ ne montre cependant aucune accumulation localisée de celui-ci dans les fibres MTM1-KO. Dans l'ensemble, nos résultats montrent que l'absence de MTM1 est responsable d'une accumulation d'altérations spatialement localisées de la signalisation calcique, probablement liées en partie à des défauts de structure. Par ailleurs, l'accumulation des produits des classes I et/ou II de PtdIns-3-kinase semble contribuer de manière aiguë aux défauts de signalisation calcique.

Couplage excitation-contraction, Phosphoinositide, Myopathie myotubulaire

Reversal of the cellular phenotype of Tubular Aggregate Myopathies (TAM) using calcium-modulating drugs

Aymen RABAI, Johann BOHM, Jocelyn LAPORTE

Physiopathologie des maladies neuromusculaires, département de Médecine translationnelle et neurogénétique, IGBMC, Strasbourg, France

Tubular-Aggregate Myopathies (TAM) are muscle disorders characterized by abnormal accumulation of densely packed tubules in muscle fibres. Our team identified gain-of-function mutations in STIM1 as a genetic cause of the disease. STIM1 is the main Ca²⁺ sensor in the endoplasmic/sarcoplasmic reticulum in skeletal muscle and controls store-operated calcium entry (SOCE), a mechanism regulating calcium storage and release. We demonstrated that the STIM1 mutations induce clustering and lead to constitutive activation of the Ca²⁺ entry channel ORAI1. My Master project aims to test the efficiency of selected drugs to modulate calcium balance in a cell model for TAM, and to set the parameters for an automated high-throughput screen.

We selected five compounds acting at different levels of the SOCE pathway: Trans-resveratrol (RES) and ML-9 were shown to respectively inhibit STIM1 phosphorylation and clustering, while the NAGly was reported to affect the STIM1-ORAI1 interaction. Finally, 4-CEP and 2-APB were described as ion channel inhibitors. Currently, I am establishing three parameters to measure the efficiency of the selected drugs to attenuate the cellular phenotypes of TAM: STIM1 clustering, calcium influx, and NFAT translocation. Following transfection of C2C12 myoblasts with mutant STIM1-YFP-constructs, STIM1 clusters can be detected by fluorescence microscopy, and the intracellular Ca²⁺ concentration can be measured by ratiometric imaging using a fluorescent Indo-1 probe. Finally, I will quantify the nuclear localization of fluorescent NFAT in myoblasts in order to assess a secondary effect of calcium influx. NFAT acts as a transcription factor and its translocation into the nucleus correlates with the cytoplasmic calcium load. Primary results show that RES and ML-9 inhibit STIM1 clustering and NFAT nuclear translocation.

Importantly, I aim to set up all three parameters for a cell-based high-throughput screen to test different libraries. I expect to identify and potentially re-profile approved drugs for a fast-track treatment for TAM patients.

SOCE, Tubular Aggregate Myopathies

Etude de variants potentiellement pathogènes dans des myopathies rétractiles

F. Roth (1), I. Nelson (1), R. Ben Yaou (1), A. Barois (2,3), L. Viollet (2), S. Quijano-Roy (2-4), V. Allamand (1), G. Bonne (1)

1. Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, Inserm, CNRS, Centre de Recherche en Myologie (CRM), GH Pitié Salpêtrière, 47 bld de l'hôpital, Paris 13, France.
2. Assistance Publique des Hôpitaux de Paris (AP-HP), Service de Pédiatrie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, Hôpitaux Universitaires, Paris-Ile-de-France Ouest, France.
3. Centre de Référence de Maladies Neuromusculaires Garches-Necker-Mondor-Hendaye (GNMH), Réseau National Français de la Filière Neuromusculaire (FILNEMUS)
4. Université de Versailles-St Quentin, U1179 UVSQ – INSERM, Montigny, France.

Les myopathies rétractiles forment un spectre très hétérogène de maladies tant sur le plan moléculaire que clinique. Malgré les progrès de la recherche, il reste un nombre non négligeable de patients présentant ce type d'affections pour lesquels aucun diagnostic moléculaire n'a pu être établi.

Dans le cadre du projet Myocapture, nous avons étudié dans un premier temps par séquençage d'exome les ADNs de 101 familles présentant ce type de maladies (349 exomes séquencés au total dont 145 sujets atteints). A l'issue de cette étude, trois variants potentiellement pathogènes ont été identifiés dans deux gènes dont la fonction dans les muscles semble importante :

-Le premier gène code une enzyme dont la fonction est essentielle pour le dépôt de composants de la matrice extracellulaire.

-Le second gène joue un rôle dans le métabolisme énergétique de la cellule.

Dans un second temps, le séquençage direct de ces deux gènes dans une cohorte de 13 patients atteints de myopathies rétractiles a permis d'identifier de nouveaux variants potentiellement pathogènes pour l'un des deux gènes. Ces variants semblent impacter l'expression transcriptionnelle du gène sans altérer la localisation de la protéine. Ces résultats suggèrent qu'au moins l'un des deux gènes étudié peut effectivement être considéré comme candidat dans les myopathies rétractiles. Il reste cependant nécessaire d'élucider l'impact de ces variants sur la fonction enzymatique de la protéine afin de confirmer l'implication du gène dans la physiopathologie de la maladie.

Myopathies retractiles, Sequençage, Variants génétiques

Communications affichées

Reproductibilité intra- et intersession des mesures neuromusculaires des muscles fléchisseurs plantaires selon l'angle du genou

Angèle Merlet (1) (2), Thomas Cattagni (1), Christophe Cornu (1), & Marc Jubeau (1)

(1) Laboratoire Motricité, Interactions, Performance (EA 4334), Université de Nantes, Nantes, France.

(2) Laboratoire de Physiologie de l'Exercice (EA 4338), Université Jean Monnet, Saint-Etienne, France ; Unité de Myologie – Centre Référent Maladies Neuromusculaires Rares Rhône – Alpes – CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France.

Introduction : La force produite par les muscles fléchisseurs plantaires, lors de contractions maximales volontaires (CMV), est altérée par la diminution de l'angle du genou. De même, l'efficacité de la boucle spinale, estimée en calculant le rapport (Hmax/Mmax) entre les réponses électrophysiologiques maximales réflexe (réflexe H) et directe (onde M), est affectée par la flexion du genou (Ushiyama et coll. 2010). L'effet d'une modification de l'angle du genou sur la variabilité de ces deux mesures reste cependant encore à étudier. Ainsi, l'objectif de ce travail était de déterminer l'influence de l'angle du genou sur la reproductibilité des mesures neuromusculaires au niveau des fléchisseurs plantaires au cours d'une même session expérimentale (intra-session) et à une semaine d'intervalle (intersession).

Méthode : Pour chaque angle de genou testé (90°, 150° et 180° ; 180°=extension complète la jambe), la force maximale des fléchisseurs plantaires et le rapport Hmax/Mmax de 12 sujets sains (7 hommes et 5 femmes, 22,5 ± 1,2 ans) ont été mesurés trois fois. Les deux premières mesures étaient espacées d'une heure (intra-session) tandis qu'une semaine séparait la troisième mesure de la première (intersession). Le coefficient de corrélation intra-classe (CCI) de chaque paramètre a été calculé.

Résultats : La reproductibilité des CMV est excellente en intra-session (CCI90°=0,97 ; CCI150°=0,93 ; CCI180°=0,96) et satisfaisante en intersession (CCI90°=0,88 ; CCI150°=0,82 ; CCI180°=0,77) quel que soit l'angle du genou alors que la reproductibilité du rapport Hmax/Mmax est meilleure à un angle de genou de 90° en intra- et intersessions (e.g. en intersession pour le muscle soléaire : CCI90°=0,94 ; CCI150°=0,71 ; CCI180°=0,88).

Conclusion : Notre étude a montré que les CMV sont hautement reproductibles quel que soit l'angle du genou testé. Il est par contre préférable d'utiliser un angle de genou de 90° pour une meilleure reproductibilité du rapport Hmax/Mmax.

Réflexe de Hoffmann, Contraction maximale volontaire, Fiabilité

Chirurgie du ptosis dans la myasthénie auto-immune : revue de la littérature et applications cliniques potentielles

Tuy Nga BRIGNOL (1) – J Andoni URTIZBEREA (2)

1. AFM–Téléthon, Evry, France
2. Centre de Référence GNMH, Hôpital Marin APHP, Hendaye, France

Introduction

La myasthénie (myasthenia gravis ou MG) est due à des auto-anticorps spécifiques au niveau de la jonction neuromusculaire. Les manifestations varient de la myasthénie oculaire à la myasthénie généralisée. Les symptômes oculaires comportent essentiellement ptosis et/ou diplopie.

Objectif

Le traitement médical est efficace pour traiter le ptosis. Cependant, le ptosis peut persister malgré un traitement bien suivi. Une revue de la littérature est réalisée pour évaluer l'apport de la chirurgie.

Méthode

Une recherche dans PubMed avec trois mots-clés : surgical treatment, blepharoptosis, myasthenia gravis a identifié environ 60 références. Une dizaine de publications rapportant des cas, de séries de cas ou d'études rétrospectives ont été retenues.

Résultats

L'analyse porte sur une soixantaine de patients (dont 4 enfants) atteints de MG. La première publication date de 1968. L'âge moyen d'intervention chez l'enfant est de 45 mois et de 62 ans chez l'adulte. Les complications post-opératoires, bien que de faible fréquence, ont été la diplopie, une mauvaise occlusion des paupières. D'après une récente étude japonaise (2014), la chirurgie du ptosis devrait figurer parmi les options à proposer aux patients atteints de MG, plus particulièrement à ceux qui présentent un ptosis résiduel malgré de multiples traitements médicaux. La chirurgie du ptosis n'est pas une intervention complexe pour des ophtalmologistes entraînés en chirurgie oculo-palpébrale. Les auteurs préconisent une concertation plus systématique entre neurologues et chirurgiens pour envisager un traitement global afin d'augmenter la qualité de vie des patients.

Conclusion

Les paupières sont souvent touchées dans la MG. Une collaboration étroite entre neurologues et ophtalmologistes est utile, à la fois pour diagnostiquer tôt un patient dont les premiers signes de la maladie sont ophtalmologiques, ou alors ultérieurement au cours de la maladie, dans un but de prise en charge optimale pour améliorer la qualité de vie des patients.

myasthénie auto-immune, ptosis, oculoplastie

Diagnostic des myopathies à Cotonou au Bénin

Maroufou Jules ALAO

Service de Pédiatrie et de Génétique Médicale, CNHU, Cotonou, Bénin

Introduction

Les maladies neuromusculaires sont présentes partout dans le monde. Peu de cas sont rapportés des pays en Afrique au sud du Sahara. Une consultation de myologie a été développée à Cotonou au Bénin. Nous faisons ici le point des différentes maladies diagnostiquées lors de cette consultation depuis 2009.

Méthodes

Chaque patient reçu pour suspicion de myopathie bénéficiait d'un examen clinique complet. Les cas compatibles avec une myopathie (récurrence familiale, amyotrophie, hypertrophie des mollets, fasciculations linguales) étaient prélevés pour le dosage des CPK, une extraction d'ADN sur place à Cotonou et une recherche mutationnelle dans le Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire de l'Hôpital Cochin à Paris en France.

Résultats

Sur les 35 malades reçus en consultation de myologie, 14 cas ont pu être confirmés. Les maladies neuromusculaires rencontrées étaient la myopathie de Duchenne (n=10), l'amyotrophie spinale infantile (n=2), la dysferlinopathie (n=1) et la myotonie de Becker (n=1).

Conclusion

Il faudra à l'avenir aller vers un diagnostic biochimique en amont du diagnostic moléculaire. Ce qui passerait par la maîtrise de la technique de biopsie musculaire et la réalisation de western blot à Cotonou.

Myopathie, Duchenne, amyotrophie spinale

Aspects électroneuromyographiques de la maladie de Charcot-Marie-Tooth liée aux mutations du gène SH3TC2. Aspects pseudo « inflammatoires » à propos de trois cas pédiatriques

Arnaud ISAPOF (1), Eric Leguern (2), Raphael Vialle (3), Michèle Mayer (1)

1. Service de Neuropédiatrie et Neurophysiologie Clinique, Hôpital Trousseau, Paris.
2. UF de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris.
3. Service d'orthopédie, Hôpital Trousseau, Paris.

Les maladies de Charcot-Marie-Tooth (CMT) regroupent un ensemble de neuropathies sensitivomotrices ou motrices longueur-dépendantes héréditaires. Leur prévalence est de 1 cas pour 2500 habitants. La classification tient compte de la vitesse de conduction nerveuse et de la transmission génétique.

L'objectif de ce travail est d'étudier les aspects cliniques et ENMG de trois patients présentant une neuropathie de type CMT liée à des mutations du gène SH3TC2.

Les résultats des ENMG démontraient chez nos patients une polyneuropathie myélinique sensitivomotrice, longueur dépendante, compliquée d'une perte axonale secondaire. Un aspect de dispersion temporelle des réponses motrices et de blocs de conceptions étaient associés.

Nos trois patients présentaient un phénotype CMT classique. Pour l'un d'eux une amélioration clinique spontanée et l'aspect désynchronisé des réponses en ENG amènent à évoquer une origine inflammatoire et à instituer un traitement par Tégélines de mai à novembre 2013. Le contrôle de son ENMG entre 2010 et 2012 révélait une dégradation de la conduction entre les deux examens, puis une amélioration partielle en 2013, à l'issue du traitement. L'étude du gène SH3TC2 permet alors de redresser le diagnostic. Les deux autres patientes sont restées très stable cliniquement, avec pour l'une d'entre elles une scoliose thoracique précoce.

Ce pattern « inflammatoire » de l'ENG associant bloc de conduction et dispersion temporelle des réponses motrices est habituellement, caractéristique des polyradiculonévrites sensitivomotrices démyélinisantes aiguës, et constitue l'un des critères diagnostiques des polyradiculonévrites inflammatoires chroniques (PIDC). Mais cet aspect, déjà été décrit chez des patients porteurs de mutation SH3TC2 se révèle en fait être caractéristique de la neuropathie CMT liée à cette mutation.

Un aspect « inflammatoire » de polyneuropathie démyélinisante sensitivomotrice associant bloc de conduction et désynchronisation des réponses chez un patient présentant un phénotype CMT est un élément d'emblée vers la recherche de mutation du gène SH3TC2.

Aspects inflammatoires, ENMG, CMT4C

Traduction, adaptation culturelle et validation de la version française de l'échelle MG-QOL 15 (15 item Myasthenia Gravis Quality of Life scale)

Simone BIRNBAUM (1,2), Idir GHOUT (3), Pierre PORTERO (2,4), Anthony BEHIN (1), Bruno EYMARD (1), Sophie DEMERET (5), Francis BOLGERT (5), Tarek SHARSHAR (6), Jean-Yves HOGREL (1)

1) Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris

2) Bio-ingénierie, Tissus et Neuroplasticité (BIOTN) EA 7377, Université Paris-Est, UPEC, Créteil

3) Unité de Recherche Clinique Paris Ouest (URCPO), Hôpital Ambroise Paré (APHP), Boulogne

4) Service de Rééducation Neuro-Orthopédique, Hôpital Rothschild (APHP), Paris

5) Réanimation Neurologique, Neurologie du Pr Baulac, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris

6) Service de réanimation médicale, hôpital APHP Raymond-Poincaré, Garches et l'Université de Versailles Saint-Quentin en Yvelines

Introduction:

Les questionnaires de qualité de vie (QDV) cherchent à établir une mesure objective de la perception de bien-être. Actuellement, aucune échelle de QDV validée et spécifique n'existe en français pour la myasthénie.

Objectif: L'objectif de cette étude était de traduire la version anglaise en français de l'échelle MG-QOL 15 et d'évaluer ses propriétés psychométriques.

Design: Étude prospective de validation.

Méthodes: Le MG-QOL 15 est un auto-questionnaire comprenant 15 items dont la validité et la fiabilité ont été démontrées. Sa traduction et son adaptation culturelle ont été effectuées selon les recommandations internationales. La fiabilité test-retest a été évaluée avec un intervalle de 2 jours en utilisant un coefficient de corrélation intra-classe (ICC). Des corrélations de Spearman ont été estimées entre la MGQOL-15-F et le Score Myasthénique Musculaire (SMM), le Score d'Activité Quotidienne (SAQ) et la WHOQOL-BREF.

Résultats:

Cent vingt-cinq patients (dont 74 femmes) d'âge moyen de $52,9 \pm 18,5$ ans ont été inclus. La fiabilité test-retest ($n = 90$) était excellente ($ICC = 0,92$, $IC\ 95\% : 0,86, 0,96$), ainsi que la cohérence interne (α de Cronbach = $0,92$, $IC\ 95\% : 0,89, 0,94$). La validité concurrente est bonne (SMM : $n = 91$, $\rho = -0,519$, $p < 0,001$; SAQ : $n = 47$, $\rho = 0,623$, $p < 0,001$). Les corrélations les plus élevées avec la WHOQOL-BREF apparaissent pour la catégorie « la QDV globale et santé générale » ($\rho = 0,622$, $p < 0,001$) et pour le domaine « santé physique » ($\rho = 0,667$, $p < 0,001$).

Conclusion: La MGQOL-15-F est valide et fiable. La sensibilité au changement reste à évaluer dans des études futures.

myasthénie, qualité de vie, auto-évaluation

MGEX : La myasthénie auto-immune et l'exercice physique, une étude randomisée et contrôlée (actuellement en cours)

Simone BIRNBAUM (1, 2), Pierre PORTERO (2,3), MGEX Study Group (1,2,3,4,5,6), Tarek SHARSHAR (5,6), Jean-Yves HOGREL (1)

1) Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris

2) Bio-ingénierie, Tissus et Neuroplasticité (BIOTN) EA 7377, Université Paris-Est, UPEC, Créteil

3) Service de Rééducation Neuro-Orthopédique, Hôpital Rothschild (APHP), Paris

4) Réanimation Neurologique, Neurologie du Pr Baulac, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris

5) Centre de Recherche Épidémiologie et Statistique Sorbonne Paris Cité (CRESS-UMR1153) Inserm / Université Paris Descartes, Hôpital Hôtel-Dieu, Paris

6) Unité de Recherche Clinique Paris Ile de France Ouest (URCPO) Hôpital Raymond Poincaré, Garches

7) Laboratoire de Psychologie Clinique, Psychopathologie, Psychanalyse (EA 4056), Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut de Psychologie, Paris

8) Service de réanimation médicale, hôpital APHP Raymond-Poincaré, Garches

9) Université de Versailles Saint-Quentin en Yvelines

Introduction:

L'exercice physique (EP) a montré des résultats prometteurs dans diverses maladies neuromusculaires. À ce jour, il existe peu de recherches explorant les effets de l'EP dans la myasthénie auto-immune (MG). Nous faisons l'hypothèse que L'EP pourrait apporter des bénéfices physiques et psychologiques ainsi que des effets immunomodulateurs et pourrait donc être un complément utile à l'arsenal thérapeutique actuel dans la MG. Le but de cette étude est d'évaluer la faisabilité et les bénéfices d'un programme d'EP sur la perception de la qualité de vie des patients atteints d'une MG auto-immune généralisée et stabilisée.

Méthodes :

MGEX est une étude multicentrique, randomisée en simple aveugle. Quarante-deux patients (âgé de $\geq 18 \leq 70$ ans) seront recrutés (MGFA II à IV). Le critère de jugement principal est la variation du score MGQOL-15-F entre 3 et 6 mois. D'autres évaluations comprennent la mesure de l'activité physique quotidienne (accélérométrie), l'endurance, la force et la fatigue musculaires, des tests respiratoires ainsi que psychologiques. Après une période d'observation de 3 mois, les patients seront randomisés dans 2 groupes. Le groupe expérimental participera à un programme d'EP sur rameur pendant 3 mois à domicile. Tous les patients seront ensuite suivis pendant 3 mois supplémentaires. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02066519

Résultats:

Cette étude est en cours. Quatorze patients ont été recrutés depuis octobre 2014. Les difficultés de recrutement comprennent des limitations géographiques (Ile de France), des limites d'âge, la disponibilité de temps pour les patients ainsi que l'absence de symptômes pour une grande majorité des patients stabilisés. A ce jour les patients du groupe expérimental n'ont rapporté aucun effet indésirable significatif en rapport avec l'exercice.

Conclusion:

Cette étude vise à améliorer les connaissances actuelles concernant la possibilité et l'efficacité de l'EP dans la myasthénie auto-immune.

Myasthénie auto-immune, Exercice physique, Qualité de vie

Atteintes rétiniennes dans la DM1 : à propos d'une observation et revue de la littérature

Tuy Nga BRIGNOL (1), Nicolas LEVEZIEL (2), Alain GEILLE (3), Guillaume BASSEZ (4)

1. Myoinfo, Direction des Actions médicales, AFM-Téléthon, Evry, France
2. Ophtalmologie, CHU Poitiers, INSERM 1084, Poitiers, France
3. Groupe d'Intérêt Steinert, AFM-Téléthon, Evry, France
4. Neurologie, CHU Henri Mondor, UMRS UPEC/Inserm 955, Créteil, France

Des atteintes oculaires très diverses peuvent se manifester dans la dystrophie myotonique de type 1 (DM1). Indépendamment de la cataracte, dont les aspects diagnostique et thérapeutique sont bien connus, peuvent survenir un ptosis, une faiblesse des muscles oculaires, une hypotonie oculaire et des lésions rétiniennes. Les atteintes rétiniennes, bien que décrites pour la première fois en 1952, ont fait l'objet d'un nombre limité de publications et leur étude fut souvent limitée par les méthodes d'investigation ou la cataracte. Ainsi, la fréquence de complications rétiniennes, leur physiopathologie et retentissement sur la fonction visuelle sont encore imparfaitement compris. Elles pourraient être en cause dans certains cas de récupération visuelle incomplète après chirurgie de cataracte. Parmi les nouveaux outils d'exploration en ophtalmologie, la tomographie par cohérence optique (OCT) constitue l'avancée la plus marquante pour la visualisation non invasive de la rétine. Nous rapportons l'observation d'une patiente atteinte de DM1, âgée de 55 ans, suivie en ophtalmologie depuis 2008 pour une baisse d'acuité visuelle non liée à la cataracte. L'analyse des différents examens OCT- réalisés en 2008, 2011 et 2015 - a révélé une membrane épirétinienne (MER) bilatérale. Une recherche bibliographique utilisant les mots-clés "retina" et "myotonic dystrophy" a été réalisée. Nous avons pu identifier cinq publications sur la période 2011-2015. Dans une étude récente, 56,7% des patients DM1 présentaient une membrane épirétinienne (MER) dans au moins un œil (Kernsten et al, 2014). Ces données semblent concordantes avec de fréquents problèmes rétiniens signalés par le groupe d'intérêt Steinert de l'AFM-Téléthon et justifient la poursuite d'études complémentaires. Nous envisageons une étude collaborative avec l'Observatoire des dystrophies myotoniques, DM-scope, dans le but de caractériser les atteintes rétiniennes de la DM1. Une meilleure collaboration entre ophtalmologistes et neurologues des centres de référence/compétence neuromusculaires permettrait d'optimiser la prise en charge ophtalmologique des patients atteints de DM1.

tomographie par cohérence optique, rétine, dystrophie myotonique

Etude des agrégats nucléaires (CUG)_n et (CCUG)_n dans la dystrophie de type 1 et de type 2.

L Revillod (1), C Dogan (2), M De Antonio (2), V Legendre (3), G Bassez (1,2), Réseau Clinique Français des Dystrophies Myotoniques

1. Mondor de Recherche Biomédicale, Inserm U955, Institut, Créteil, France
2. Centre de référence des maladies neuro-musculaires, Hôpital H. Mondor, Créteil, France
3. Département de pathologie, APHP, Hôpital H. Mondor, Créteil, France

INTRODUCTION

Les dystrophies myotoniques (DM1 et DM2) sont des pathologies neuromusculaires invalidantes souvent associées à une morbidité importante (complications cardiaques, respiratoires,...). Bien que caractérisées par un tableau clinique proche, elles diffèrent dans leur expression phénotypique et sévérité. Certains mécanismes moléculaires sont communs : les répétitions instables des gènes, respectivement DMPK et ZNF9, sont transcrites en expansions CUG et CCUG qui s'accumulent dans le noyau. Un des effets pathogènes de ces agrégats ou « foci », est la séquestration de protéines, telles que muscleblind (MBNL), essentielles pour l'épissage.

OBJECTIFS

Cette étude a deux objectifs : (1) caractériser la formation des agrégats nucléaires dans le muscle de patients DM1 et DM2 ; (2) Tester la pertinence des foci comme biomarqueur pour l'évaluation de l'efficacité de nouvelles thérapies chez l'homme.

METHODE

L'hybridation in situ fluorescente (FISH) est la méthode optimale pour détecter ces inclusions nucléaires pathogènes. Nous avons mis au point une technique automatisée et développé une méthode d'analyse d'images, permettant de détecter, dénombrer et quantifier la surface des foci nucléaires. Les analyses ont été réalisées sur les biopsies musculaires de patients atteints de DM1 (n=7) et DM2 (n=22).

RESULTATS

La méthode de FISH automatisée se révèle fiable et reproductible pour l'évaluation quantifiée de plusieurs paramètres des inclusions nucléaires (fréquence de noyaux positifs, nombre de foci et surface nucléaire occupée par les agrégats). Nos résultats indiquent des différences notables observées chez les patients atteints de DM1 ou DM2 pour les paramètres étudiés, et ceci en fonction de la taille de la mutation et de l'âge des patients.

CONCLUSION

La méthode de FISH automatisée conforte l'utilisation des foci comme biomarqueur dans le muscle squelettique et son utilisation en tant que critère d'évaluation des thérapies moléculaires ciblant les répétitions pathogènes dans la DM1 et DM2.

Biothérapies, Biomarqueur, Dystrophies myotoniques

A novel histopathological phenotype associated with TPM2-related congenital myopathy

Edoardo MALFATTI 1,2,3, Guy BROCHIER³, Osorio Abath Neto⁴, Michel FARDEAU 2, Jocelyn LAPORTE⁴, and Norma B ROMERO 1,2,3

1 Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, INSERM UMRS974, CNRS FRE3617, Center for Research in Myology, GH Pitié-Salpêtrière, 47 Boulevard de l'hôpital, 75013 Paris, France

2 Unité de Morphologie Neuromusculaire, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Universitaire La Pitié-Salpêtrière; Paris, France.

3 Centre de référence de Pathologie Neuromusculaire Paris-Est, Institut de Myologie, GHU Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris; Paris, France

4 Department of Translational Medicine, IGBMC, Illkirch, France

Tropomyosions (TPMs) are components of the muscle sarcomeric thin filaments, which is essential for the calcium-dependent regulation of muscle contraction. TPM2 gene mutations have been associated to clinically and morphologically different phenotypes such as cap disease, nemaline myopathy, congenital fibers disproportion, or combined morphological phenotypes.

Here we report on a patient presenting novel histopathological findings.

Patient 1 is a 37 yrs old man who presented hypotonia, motor delay, and diffuse muscle weakness progressed to gait loss at 18 years. His deltoid muscle biopsy performed at 3.5 years showed the presence of clusters of centrally located nemaline bodies associated with type 1 predominance. A de novo heterozygous TPM2 mutation (c.5A>G; p.Asp2Gly) was found by exome sequencing analysis.

The presence of 'central rods' in TPM2-related myopathies is unreported to date.

With our study we enlarge the histopathological spectrum of TPM2 related disorders.

Congenital myopathies, Nemaline myopathy, TPM2 gene

Behcet disease and focal myositis association, case reports and literature review.

Laure GALLAY(1), Philippe PETIOT(2), Laurent PERARD(1), Perrine DEVIC(2),
Chafika MORATI-HAFSAOUI(3), Arnaud HOT(1), Nathalie
STREICHENBERGER(4).

(1) Service de Médecine Interne, Pavillon O, Hôpital Edouard Heriot, HCL.

(2) Service de Neurologie, Hôpital de la Croix Rousse, HCL.

(3) Service de Médecine Interne, Centre Hospitalier Annecy-Genevois.

(4) Service d'Anatomopathologie, Groupement Hospitalier Est, HCL.

Focal Myositis (FM) is characterized by inflammation localized in a skeletal muscle. Morphological investigation underscore hyperintense focal image in FAT SAT T2 MRI sequences. Muscle biopsy shows inflammatory infiltrates, predominantly composed of T cells (mainly CD4+), diffuse and faint membranous expression of HLA-I, fibers diameters irregularity, necrotic and regenerative fibers and fibrosis. Pertaining nosology and pathogenesis are still unclear. Systemic disease and FM association are rarely reported. Behcet's Disease is a vasculitis involving vessels of variable sizes (Variable Vessel Vasculitis), with a clinical pattern affecting multiple organs, most notably skin or mucosal condition, joint, neurological or vascular involvement. We report 3 cases of Behcet Disease who presented secondarily FM. In this specific association, FM seems to differ from the usual FM pattern regarding some features. In particular, in our cases, as in literature's data, the average age of onset is younger, the clinical picture seems to be more severe, including systemic symptoms (fever, asthenia, focal intense pain), and relapses appear to be more frequently observed. Interestingly, other differences are identified regarding the histological pattern, notably, presence of leucocytoclastic and necrotizing vasculitis in the muscular biopsy.

Focal Myositis, Behcet disease, necrotizing vasculitis

improving the diagnostic sensitivity of repetitive nerve stimulation in myasthenia gravis

Hanna Bou Ali (1), Emmanuelle Salort-Campana (1), Annie Verschueren (1), Julien Gallard (1), Jerome Franques (1), Aude Marie Grapperon(1), Jean Pouget (1), Shahram Attarian (1)

Centre de référence des maladies neuromusculaires et de la SLA, La Timone hospital, Aix marseille university, Marseille, France

Objective: To determine the diagnostic sensitivity and specificity of repetitive nerve stimulation (RNS) of 12 muscles in patients with myasthenia gravis (MG).

Methods: Forty five patients suspected for MG were enrolled consecutively. Twenty-two patients had clinical signs and laboratory test results consistent with MG (MG group). The others served as a pathological control group. Six nerve-muscle couples were studied on both sides of all subjects using RNS. The MG group patients were divided into three subgroups according to the prominent symptoms: group O (ocular), group OB (bulbar or oculo-bulbar), and group G (generalized).

Results: In the MG group, 33% of the decrements were unilateral. The global sensitivity of RNS was 82% and specificity was 100%. The sensitivity in the MG subgroups was as follows: group O = 67%, group OB = 86%, and group G = 89%. The most sensitive muscles were the anconeus in group O (50%), the orbicularis oculi or nasalis in group OB (71%), and the trapezius in group G (78%).

Conclusions: The diagnostic sensitivity of RNS in myasthenia clearly improved by increasing the number of tested muscles. We recommend the systematic bilateral exploration of at least three muscles: a facial muscle, the trapezius, and the anconeus.

Myasthenia gravis, repetitive nerve stimulation, sensitivity

Clinical features and functional brain imaging in patients with persisting macrophagic myofasciitis (MMF)

VAND DER GUCHT Axel (1), AOUN-SEBAITI Medhi (2), AOUIZERATE Jessie (3,4), YARA Sabrina (3,4), GHERARDI Romain K (3,4), BACHOUD-LEVI Anne Catherine (2), ITTI Emmanuel (1), AUTHIER François-Jérôme (3,4)

1. Nuclear Medicine Department, Henri Mondor University Hospitals, Créteil, FRANCE
2. Neurology Department, Henri Mondor University Hospitals, Créteil, FRANCE
3. Reference Centre for Neuromuscular Diseases, Henri Mondor University Hospitals, Créteil, FRANCE
4. UMR INSERM-UPEC U955-Team 10, School of Medicine, Créteil, FRANCE

Macrophagic myofasciitis (MMF) is characterized by specific muscle lesions assessing abnormal long-term persistence of aluminum hydroxide within macrophages at the site of previous immunization. Affected patients mainly present with diffuse arthromyalgias, chronic fatigue, and cognitive dysfunction. Neuropsychological evaluation of 64 patients disclosed cognitive impairment in 83% including subcortico-frontal profile with dysexecutive features in 49%, verbal or visuo-spatial memory impairment in 28%, and interhemispheric dysconnexion in 6%. A retrospective analysis of brain perfusion SPECT was performed in 76 patients (aged 49 ± 10 y). All patients also underwent neuropsychological testing, within 1.3 ± 5.5 mo from SPECT. Statistical parametric maps (SPM12) were obtained for each test using a correlation design between performance scores and brain perfusion, with adjustment for age, sex, handedness and socio-cultural level. Multivariate regression analyses revealed positive correlation between neuropsychological scores (mostly exploring executive functions) and brain perfusion in the posterior associative cortex, including cuneus/precuneus/occipital lingual areas, the periventricular white matter/corpus callosum, and the cerebellum, while negative correlation was found with amygdalo-hippocampal/entorhinal complexes. A positive correlation was also observed between brain perfusion and the posterior associative cortex when the time elapsed since last vaccine injection was investigated. In conclusion, SPECT brain functional imaging showed a pattern of cortical and subcortical abnormalities in accordance with the MMF-associated cognitive disorder previously described. These results provide a neurobiological substrate for brain dysfunction in aluminum hydroxide adjuvant-induced MMF patients.

myofasciitis, muscle pain, SPECT

Notre expérience dans la prise en charge des patients atteints de maladies neuromusculaires

Svetlana N. MEDVEDEVA (1), Anastacia N. Tretiakova (1)

1. Laboratoire de pathologie de squelette axial et de neurochirurgie, Centre ILIZAROV, Kurgan, Russie

A partir du mois de janvier 2012 nous avons traité au service de vertébrologie les 25 patients atteints de maladies neuromusculaires. Chez tous les patient une correction chirurgicale de déformation du rachis a été réalisé. Il s'agit d'une déformation scoliootique grave. Le volume de l'intervention c'est une fixation transpédiculaire du rachis en distance du niveau cervical à cel lombaire, nous avons fixé aussi le bassin. Les indications pour traitement chirurgical était une déformation de la colonne vertébrale responsable à la déformation de la cage thoracique, de troubles fonctionnelles de respiration externe au fond d'une faiblesse musculaire. La position assise sans appuyer sur les main n'était pas possible. Parmi des particularités de prise en charge des maladies neuromusculaires en Russie il faut citer l'absence d'un registre national des maladies neuromusculaires, l'absence de soins consécutives et interdisciplinaires que les patients reçoivent aux établissements médicaux. Pour 95 pour cent de cas les malades s'adressent chez un vertébrologistes pour la première fois ayant une déformation du rachis de 4ème degré et une décompensation des systèmes de la respiration externe et cardio-vasculaire.

Une correction uniquement scoliootique ne peut pas améliorer, mais en plus part de cas, aggraver l'état de patient ayant une maladie neuromusculaire. Ainsi, l'interaction multidisciplinaire est nécessaire, une étape préopératoire est très importante aussi que la rééducation post opératoire. Actuellement, un contact transdisciplinaire existe : nos patients passent l'examen au service de psychoneurologie d'un hôpital à Moscou. Les patients visitent les spécialistes (cardiologue, pneumologue, rééducateur) et suivent leur recommandations. Selon les indications ils peuvent recevoir une correction de la respiration externe (ventilation non-invasive à l'aide d'une masque).

Les malades traités sont repartis en groupes suivants: maladie de Duchenne (n 12), atrophie musculaire spinale (n24), myopathie tubulaire congénitale (n1), myotonie (n1), myopathie Landouzy-Déjerine (n1). Chez les 12 patients une ventilation non-invasive pulmonaire a été réalisé pour corriger la fonction de respiration externe. Le système d'anesthésie en étape opératoire était tenant compte des particularites d'une maladie principale. Dans tous les cas nous avons obtenu la correction de la deformation du rachis de 80 pour cent. Une balance stato-dynamique de patients a été amélioré.

maladie neuromusculaire, scoliose, fixation transpédiculaire

Intérêt du rapport diamètre thoracique / périmètre crânien chez les enfants atteints d'une amyotrophie spinale de type 1.

Juliette ROPARS (1), Isabelle Desguerre (2), Christine Barnerias (2)

(1) service de Pédiatrie, CHU Brest, France

(2) service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Necker enfants malades, Paris, France

L'amyotrophie spinale de type 1 (ASI 1) est une maladie neuromusculaire le plus souvent létale avant l'âge d'1 an, principalement en lien avec l'atteinte respiratoire sévère. A l'heure du développement de thérapies nouvelles, l'identification de marqueurs évolutifs de la maladie est essentielle.

L'objectif de l'étude était de comparer les paramètres anthropométriques d'un groupe d'enfants atteints d'une ASI 1 par rapport à des enfants contrôles du même âge, dans le but d'identifier des marqueurs évolutifs de la maladie.

Les paramètres anthropométriques de 17 enfants ASI 1 (poids, taille, diamètre thoracique (DT), périmètre crânien (PC)) ont été comparés à 124 enfants contrôles du même âge.

Les enfants ASI 1 avaient un DT, un IMC et un rapport DT/PC significativement diminués par rapport aux enfants contrôles. Le rapport DT/PC était de 1 (± 0.04) chez les enfants contrôles ; il était significativement diminué chez les enfants ASI 1 quelque soit l'âge. Les enfants ASI 1 dont le rapport DT/PC était inférieur à 0.85 sont tous décédés dans les 3 mois suivants la mesure. Le rapport DT/PC diminuait avec l'âge pour un même enfant ASI 1, même si il n'y avait pas d'association statistiquement significative entre le délai de décès et la valeur de DT/PC.

Le DT est le reflet d'une croissance thoracique anormale chez les enfants ASI 1 en lien avec l'atteinte sévère des muscles intercostaux. Ces données suggèrent que le rapport DT/PC permet de s'affranchir de l'influence de l'âge sur le DT et reflèterait, chez l'enfant ASI 1, l'évolution de la maladie. DT/PC pourrait être une mesure objective, sensible, simple et non invasive de suivi de la maladie. La pertinence clinique et pronostique de ce rapport nécessite la réalisation d'une étude à plus grande échelle.

amyotrophie spinale infantile, outcome mesure / marqueur évolutif, diamètre thoracique

Paralysie bulbaire et atteinte neurosensorielle : quand une vitaminothérapie peut changer la donne

Pierre MEYER (1), François RIVIER (1, 2), Ulrike WALTHER-LOUVIER (1, 2), Anne ROLLAND (1), Alice VEAUVILLE MERLIE (3), Christine VIANEY-SABAN (3), Christian HAMEL (4, 5), Cécile ACQUAVIVA (3), Agathe ROUBERTIE (1,5)

1. Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital, Gui de Chauliac, Montpellier
2. Centre de référence des Maladies Neuromusculaires du Grand Sud-Ouest, CHU Montpellier
3. Service Maladies Héritaires du Métabolisme et Dépistage Néonatal, Centre de Biologie Est, CHU de Lyon
4. Centre de Référence Maladies Sensorielles Génétiques, Montpellier
5. INSERM U1051, Institut des Neurosciences de Montpellier

Les neuropathies héréditaires sensori-motrices représentent un groupe hétérogène de maladies, qui peuvent être associées à une atteinte sensorielle. Le syndrome de Brown-Vialetto-Van Laere (BVVL) en est une forme rare et évolutive. Nous rapportons l'observation d'une patiente qui présentait un déficit auditif sensoriel depuis l'enfance; vers l'âge de 12 ans des troubles de l'équilibration sont apparus; elle a été opérée d'une scoliose à 14 ans, puis un déficit visuel s'est installé progressivement à partir de 16 ans. Adressé à l'âge de 17 ans, la patiente présente alors une ataxie proprioceptive avec une neuropathie axonale, une atteinte bulbaire, un déficit moteur prédominant aux membres supérieurs, une neuropathie optique sévère, sans détérioration cognitive. En moins de 6 mois, son état neurologique se détériore dramatiquement, associant un handicap sensoriel sévère et un handicap moteur majeur limitant l'autonomie et nécessitant une ventilation sur trachéotomie et une alimentation par gastrostomie.

Huit mois après la mise en place de la supplémentation en Riboflavine (vitamine B2), la patiente est sevrée de la ventilation invasive, elle s'alimente par voie orale, elle est autonome pour les gestes usuels, tient assise seule, effectue ses transferts. Son acuité visuelle est nettement améliorée, et elle peut reprendre sa scolarité. L'étude génétique a montré l'existence de deux nouvelles mutations hétérozygotes du gène SLC52A2. Le tableau clinique associé au syndrome de BVVL est caractérisé par une neuropathie auditive, une ataxie proprioceptive, une paralysie bulbaire, et une neuropathie optique. Certains patients peuvent présenter un profil des acylcarnitines évocateur de déficit multiple en acyl-CoA déshydrogénases. Les troubles du transport et du métabolisme de la riboflavine constituent un groupe de pathologies dont les bases moléculaires sont en cours de démembrement, qui se caractérisent par une polyneuropathie avec atteinte sensorielle, et qui représentent une des rares formes de pathologies neuromusculaires traitables.

paralysie bulbaire, neuropathie optique, riboflavine

Canonical Wnt signalling controls skeletal muscle regeneration in adults by relocalisation of H3K9 methyltransferase Setdb1

Elija Schirwis, Anja Rudolf, Sophie Beyer, Slimane Ait-Si-Ali, Fabien Le Grand

Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, Inserm, CNRS, Centre de Recherche en Myologie (CRM), GH Pitié Salpêtrière, 47 bld de l'hôpital, Paris 13, France

Multiple signaling pathways tightly regulate muscle development and regeneration upon injury. In our study, we investigated how the canonical Wnt/ β -Catenin signaling regulates muscle stem cells (MuSC) in their ability to generate a functional muscle tissue in adults. Using both in vivo and in vitro approaches, we observed that the disruption of Wnt-signaling cascade prevents MuSC to differentiate, however its constitutive activation drives MuSC to precocious differentiation. To shed light on molecular mechanism, we used both ex vivo and in vitro approaches and found that canonical Wnt signaling orchestrate the cytoplasmic relocalisation of the histone 3 lysine 9 methyltransferase Setdb1 during myogenic differentiation. Genomic binding analyses showed the release of Setdb1 from the promoter and enhancer of selected target genes upon myoblast differentiation. We concluded that Setdb1 is required for MuSCs expansion and suppresses terminal differentiation. All together, our findings revealed an overlap between Setdb1 and Wnt3a genetic programs as a novel mechanism regulating MuSC functions in adults.

Muscle stem cell, Setdb1 methyltransferase, Canonical Wnt signaling

Presence of anti SSA-SSB antibody in Inclusion Body Myositis: a case-control study on 42 patients.

L Gallay(1), B. Hervier (1), K. Mariampillai (1) , J-L Charuel (2), Y Allenbach (1), L. Musset (2), O. Benveniste (1)

(1) Département de Médecine Interne et Immunologie Clinique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

(2) Service d'Immunobiochimie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

Introduction

Inclusion Body Myositis (IBM) is the most frequent myositis among the population over 50. Its pathogenesis conjugates immuno-inflammation and neuro-degeneration processes. Our objective was to investigate IBM and anti SSA-SSB antibody association to compare epidemiologic, clinic, morphologic, and immunologic data of this association.

Methods

Among 228 eligible IBM patients (1), 101 had immunological investigations. Anti SSA-SSB seropositive patients were compared with an appropriate age and gender matched set of 1/1 seronegative IBM. Demographic, clinical, immuno-biological and radiological data were compared using appropriate tests.

Results: Twenty-one IBM patients (21%) were anti-SSA/SSB antibody seropositive. Twenty patients had anti-SSA52 (95%) apportioned as follows: anti-SSA52 isolated (28%), associated with SSA60 (67%), SSA60 isolated (5%). Anti-SSB were found in 11 patients (52%). Xerophthalmia was reported for 13/16 patients (81%). Salivary gland biopsy was positive (Chisholm grade III-IV) in 7/10 cases (70%). All together and according to the International classification criteria, 10 (50%) patients were diagnosed as primary/secondary Sjögren Syndrome (SS).

Comparison of anti-SSA/SSB+ with control-seronegative groups revealed no significant differences for lymphopenia (50% vs 38%) nor Creatine Kinase levels (645 vs 608 UI/L). Plasma protein electrophoresis abnormalities prevalence was high: 84% vs 50%, p=0.08), with gammopathy in 15 SSA/SSB+ patients.

Furthermore, 86% of the SSA/SSB+ patients had anti-nuclear antibody levels $\geq 1/320$, compared with 12% of the seronegative IBM (p<0.001). Anti-cN1A antibodies were detected in both groups with no significant difference (83,3% vs 100%, respectively, which is higher than the average of 57% in the whole cohort). Independently from the groups, numerous IBM patients presented anomalies consistent with SS: dysthyroidia (38 versus 29%) and mild lung abnormalities on the thoracic CT-scan, with no specific pattern.

Conclusion

While prevalence of antibodies anti-SSA/SSB was 4,9 % in the general population, 21% of our IBM cohort presented such autoantibodies and 10 patients were diagnosed as SS. For this sub-group, anti-nuclear antibody were more commonly found. Though no major differences were found between SSA/SSB+ and the control groups, this work highlights the necessity to explore autoimmunity in IBM. Further longitudinal studies are needed to show any impact for the treatment response.

Inclusion Body Myositis, Anti SSA-SSB antibody, Sjögren Syndrome