HAL
open science

Molecular mechanisms of cardiopathies and hormone resistance in Noonan and related syndromes

Rapport Hcéres

To cite this version:

Rapport d'évaluation d'une entité de recherche. Molecular mechanisms of cardiopathies and hormone resistance in Noonan and related syndromes. 2010, Université Toulouse 3 - Paul Sabatier - UPS, Institut national de la santé et de la recherche médicale - INSERM. hceres-02032461

HAL Id: hceres-02032461

https://hal-hceres.archives-ouvertes.fr/hceres-02032461

Submitted on 20 Feb 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

agence d'évaluation de la recherche
et de l'enseignement supérieur

Section des Unités de recherche

Rapport de l'AERES sur l'unité :

Mécanismes Moléculaires des cardiopathies et résistances hormonales dans le syndrome de Noonan et les syndromes apparentés

sous tutelle des établissements et organismes :

Université Toulouse 3

INSERM

Mai 2010

agence d'évaluation de la recherche
et de l'enseignement supérieur

Section des Unités de recherche

Rapport de l'AERES sur l'unité :

Mécanismes Moléculaires des cardiopathies et résistances hormonales dans le syndrome de Noonan et les syndromes apparentés

Sous tutelle des établissements et organismes

Université Toulouse 3

INSERM

Le Président de l'AERES	Section des unités de recherche
	Le Directeur
Jean-François Dhainaut	**Pierre Glorieux**

Mai 2010

Unité

Nom de l'unité : Mécanismes Moléculaires des cardiopathies et résistances hormonales dans le syndrome de Noonan et les syndromes apparentés

Label demandé : UMR_S INSERM

N° si renouvellement :

Nom du directeur : M. Patrick RAYNAL

Membres du comité d'experts

Président :

Mme Anne-Françoise BURNOL, Institut Cochin

Experts :

M. Pierre-Louis THARAUX, Université Paris 6

M. Stéphane HATEM, Université Paris 6

Expert(s) proposés par des comités d'évaluation des personnels (CNU, CoNRS, CSS INSERM, représentant INRA, INRIA, IRD.....) :

Mme Michèle GUERRE-MILLO, membre des CSS de l'INSERM

Représentants présents lors de la visite

Délégué scientifique représentant de l'AERES :

M. Pascal FERRE

Représentant(s) des établissements et organismes tutelles de l'unité :

M. Raymond BAZIN, INSERM

Rapport

1 • Introduction

Le dossier de demande d'unité monoéquipe ayant été déposé tard à l'AERES, ce qui n'a pas permis l'évaluation lors de la vague toulousaine, l'évaluation a été organisée à Paris, au siège de l'AERES rue Vivienne. Elle s'est déroulée le 8 mars 2010, de 14h à 17h, le porteur de projet étant venu de Toulouse.

Cette unité s'intéresse aux voies de signalisation impliquées dans deux maladies génétiques, le syndrome de Noonan et le syndrome LEOPARD, qui sont associées à des mutations d'un même gène codant pour la protéine tyrosine phosphatase SHP2. Cette unité existe actuellement comme équipe du Centre de Physiopathologie de Toulouse-Purpan (CPTP1, Inserm U583), et souhaite être rattachée comme équipe soit dans le centre CPTP2 soit dans le centre "Institut des maladies métaboliques et cardiovasculaires" (Unité Inserm 858, Toulouse Rangueil) qui sont tous deux en (re)création.

- Equipe de Direction :

Le directeur de cette unité est M. Patrick Raynal.

- Effectifs de l'unité :

	Dans le bilan	Dans le projet
N1 : Nombre d'enseignants-chercheurs (cf. Formulaire 2.1 du dossier de l'unité)	3	1
N2 : Nombre de chercheurs des EPST ou EPIC (cf. Formulaire 2.3 du dossier de l'unité)	5	2
N3 : Nombre d'autres enseignants-chercheurs et chercheurs (cf. Formulaire 2.2 et 2.4 du dossier de l'unité)	1	0
N4 : Nombre d'ingénieurs, techniciens et de personnels administratifs titulaires (cf. Formulaire 2.5 du dossier de l'unité)	4	0
N5 : Nombre d'ingénieurs, techniciens et de personnels administratifs non titulaires (cf. Formulaire 2.6 du dossier de l'unité)	4	0
N6 : Nombre de doctorants (cf. Formulaire 2.7 du dossier de l'unité)	6	1
N7 : Nombre de personnes habilitées à diriger des recherches ou assimilées	5	2

2 • Appréciation sur l'unité

- Avis global :

L'activité de l'unité est centrée sur l'analyse de la régulation des voies de signalisation PI3K et MAPK par la tyrosine phosphatase SHP2 et l'adaptateur moléculaire Gab1. Des données très originales ont été obtenues montrant des effets opposés de SHP2 sur les voies PI3K et MAPK. Elles sont à la base du projet qui vise à expliquer comment des mutations qui sont soit activatrices soit inhibitrices de l'activité de SHP2, et associées respectivement aux syndromes de Noonan et LEOPARD, conduisent à des phénotypes proches. L'identification des mécanismes moléculaires impliqués, pour laquelle cette unité est extrêmement performante, apportera une avancée conceptuelle particulièrement intéressante qui sera traduite dans la physiopathologie grâce aux modèles murins et aux lignées dérivées des patients Noonan et LEOPARD. En résumé, il s'agit d'une bonne équipe, avec un projet parfaitement défini comportant des aspects originaux comme le nouveau modèle murin du syndrome LEOPARD, l'approche de phosphoprotéomique et le modèle des cellules iPS.

- Points forts et opportunités:

Cette unité a démontré son expertise dans l'analyse moléculaire et mécanistique de la signalisation par les récepteurs aux facteurs de croissance. Elle a développé des outils (lenti-adénovirus, phosphoprotéomique) et des approches innovantes (1er modèle murin du syndrome LEOPARD) pour explorer une thématique de recherche originale. L'activité de publication est bonne avec une production régulière dans des journaux de la spécialité. La capacité à financer les projets par des contrats publics ou associatifs est excellente. L'attractivité de l'équipe est très bonne, ayant permis le recrutement récent d'un jeune chercheur à l'INSERM.

En résumé, les points forts de l'équipe sont l'originalité et la pertinence de la thématique de recherche, ainsi que son expertise dans les aspects mécanistiques et moléculaires. C'est une équipe attractive et dynamique, ayant une bonne activité de publication et une très bonne capacité de financement.

- Points à améliorer et risques :

L' appréhension des aspects physiopathologiques des patients, des modèles de souris et des modèles cellulaires comme les cellules iPS est encore modeste. Une définition plus précise de la gestion des différents aspects du projet au sein de l'équipe, notamment pour les approches nouvelles (iPS, phosphoprotéomiques, description phénotypique des modèles murins) est nécessaire.

- Recommandations au directeur de l'unité :

Le comité recommande de développer l'aspect translationnel et de se rapprocher des cliniciens afin de parfaire la caractérisation physio-pathologique des patients parallèlement aux approches plus moléculaires et mécanistiques. Afin d'améliorer l'impact international de ce projet, une dimension de physiopathologie intégrative sera également à développer pour tirer partie du modèle murin de syndrome de Noonan acquis par collaboration, ainsi que du modèle de syndrome Leopard en développement. Dans cette perspective, la proximité avec des équipes travaillant sur la physiopathologie cardiaque et le métabolisme serait un atout important pour le développement de différents aspects du projet. Le rattachement et l'implantation de cette unité dans un des deux centres pressentis devra prendre en considération cet aspect afin de permettre de le développer de façon optimale en relation avec d'autres équipes.

- Données de production :

A1 : Nombre de produisants parmi les chercheurs et enseignants chercheurs référencés en N1 et N2 dans la colonne projet	3
A2 : Nombre de produisants parmi les autres personnels référencés en N3, N4 et N5 dans la colonne projet	3
A3 : Taux de produisants de l'unité [A1/(N1+N2)]	100%
A4 : Nombre d'HDR soutenues	0
A5 : Nombre de thèses soutenues	5

3 • Appréciations détaillées :

- Appréciation sur la qualité scientifique et la production :

L'activité de l'équipe est centrée sur l'identification des défauts de signalisation impliqués dans les syndromes de NOONAN et LEOPARD dont les patients présentent des traits phénotypiques communs notamment la petite taille et le dysmorphisme, alors qu'ils sont associés à des mutations soit activatrices (NOONAN) soit inhibitrices (LEOPARD) de SHP2. Cette équipe a acquis une grande expertise dans l'analyse des aspects moléculaires et mécanistiques du rôle de SHP2 dans les voies de signalisation, domaine auquel elle a apporté des contributions importantes et originales. L'impact et les conséquences physiopathologiques des mécanismes moléculaires identifiés restent toutefois à être démontrés et constituent les objectifs du projet.

L'activité de publication est de bon, voire de très bon niveau, comme en attestent les publications régulières, signées en dernier auteur par le porteur de projet, dans des revues internationales telles que J. Biol Chem (facteur d'impact 6, en 2005, 2006), Mol. Cell. Biol (facteur d'impact 6, en 2008, 2009), ainsi que dans Blood (facteur d'impact 10, en 2006, 2007) par le chercheur qui rejoint l'équipe dans le nouveau projet. Cinq thèses ont été encadrées par les chercheurs et enseignant-chercheurs impliqués dans le projet dans les 4 dernières années, avec des articles signés en 1er auteur par les doctorants.

- Appréciation sur le rayonnement, l'attractivité, et l'intégration de l'unité de recherche dans son environnement :

Compte tenu de la faible taille de l'unité, ces éléments se confondent avec l'évaluation du porteur de projet, son rayonnement international reste encore limité (2 invitations), mais l'attractivité de l'équipe est correcte ainsi que le montre le recrutement d'une jeune chercheuse CR2 à l'INSERM en 2007 et d'une MCU présente au profil de l'équipe pour 2011.

L'activité de l'équipe est assurée par l'obtention très régulière de financements avec des associations (ARC, Ligue), avec l'ANR et l'INCa (le porteur de projet étant le responsable des contrats), ainsi qu'avec l'Europe (participation au réseau européen sur le syndrome de Noonan). L'enseignant-chercheur rejoignant l'équipe est également soutenue par des contrats de recherche obtenus auprès de l'ARC et de l'INCa. Le porteur de projet bénéficie d'un contrat d'interface INSERM/Hôpital.

- Appréciation sur la stratégie, la gouvernance et la vie de l'unité:

Les contours de l'unité ont subi de forts changements qui compensent partiellement l'érosion des effectifs. L'implantation de l'unité dans un des centres de recherche CPTP2 ou l'I2CM devrait apporter un environnement scientifique important pour la réalisation du projet.

- Appréciation sur le projet :

Le projet repose sur l'hypothèse qu'une dérégulation de la balance entre deux voies de signalisation (PI3kinase et MAPkinase) expliquerait comment des mutations opposées du gène SHP2 conduisent à un phénotype anormal. Il s'inscrit comme une transition entre les travaux de signalisation cellulaire déjà menés par l'équipe et des travaux plus orientés sur la physiopathologie de ces voies de signalisation dans le contexte des syndromes de Noonan et LEOPARD. Des approches originales sont développées (modèles murins de KI, cultures de fibroblastes de patients ou de cellules souches pluripotentes iPS). Ce projet apparaît donc adapté, original, avec une prise de risques pour certains aspects (ex. iPS). Nous notons qu'une part significative des financements provient de contrats ou subventions sur la thématique du cancer que le projet n'aborde pas.

Certains volets seront développés en collaboration, comme les cellules iPS, mais il n'est pas clairement apparu au comité comment seront maîtrisés au sein de l'équipe d'autres volets de ce projet, comme la caractérisation phénotypique des modèles murins ou l'analyse phosphoprotéomique. De plus, on peut regretter l'absence notable de caractérisation bioclinique des patients et de prise en compte des relations génotype/phénotype dans ces syndromes.

Note de l'unité	Qualité scientifique et production	Rayonnement et attractivité, intégration dans l'environnement	Stratégie, gouvernance et vie du laboratoire	Appréciation du projet
A	A	A	A	A

Université
Paul Sabatier
TOULOUSE III

Direction de la Recherche

Toulouse, le 10 mai 2010

Affaire suivie par
Ghislaine MACONE-FOURIO
téléphone
05 61 55 66 05
télécopie
05 61 55 69 53
courriel
seccs@adm.ups-tlse.fr
GF/GMF/FW

Le Président

au

Président du comité d'experts de l'AERES

Objet : Observations de portée générale sur le rapport d'évaluation
de l'unité **« Mécanismes moléculaires des cardiopathies et résistances hormonales dans le syndrome de Noonan »**
portée par **Patrick RAYNAL**

Chers (ères) Collègues,

Nous remercions le comité AERES pour son rapport détaillé et très constructif, dans la mesure où il nous encourage à nous focaliser sur nos objectifs primordiaux.

Il nous paraît utile d'apporter les précisions suivantes sur certains points abordés dans le rapport :

Effectivement notre montée en puissance sur les modèles physiopathologiques est récente, mais l'équipe vient d'investir considérablement pour nous doter d'une dimension de physiopathologie intégrative, ce qui constitue aujourd'hui la priorité de nos projets (cellules de patients, modèles murins). Concernant la description phénotypique des modèles murins, il s'agit de notre objectif central, et la caractérisation d'une cardiomyopathie hypertrophique sera effectuée avec les outils d'exploration disponibles sur Toulouse (echocardiographie, histologie...) en lien étroit avec les équipes de physiologie cardiaque de F. LEZOUALC'H (avec qui nous venons de collaborer) et de A. PARINI.

Bien entendu, nous regrettons l'absence physique de cliniciens dans l'équipe car leur présence favoriserait davantage l'aspect translationnel de nos travaux. Cette carence est dû essentiellement au fait que T. EDOUARD, principal clinicien en charge des patients Noonan sur Toulouse, vient de soutenir une thèse de sciences (dirigée par P. RAYNAL) et est actuellement en stage post-doctoral au Canada. Il a un bon espoir de retour en tant que clinicien statutaire, projet que nous soutenons dans le but de reprendre nos travaux en commun (retour prévu en sept. 2011). De plus nous conservons des liens étroits et tangibles avec d'autres cliniciens/généticiens, notamment S. LYONNET et B. PARFAIT (CHU Necker/Paris V), liens pouvant être diversifiés auprès d'autres cliniciens nous ayant déjà fourni des cellules de patients (P. BOUGNERES, St Vincent de Paul) ou avec qui nous entretenons de bonnes relations (Y. LE BOUC, Trousseau).

.../...

Concernant le rapprochement avec des physiologistes, notre souhait, en tout premier choix, est de rejoindre le Centre INSERM du CHU Rangueil, axé sur Cardiologie et Métabolisme (I2MC) car nous y trouverons des expertises complémentaires aux nôtres, notamment en physiologie cardiaque. Nous avons donc entrepris les démarches nécessaires pour rejoindre l'I2MC, démarche soutenue par son Directeur (A. PARINI) qui a présenté notre candidature auprès du Conseil Scientifique de ce Centre. A ce stade, le principal obstacle à ce rattachement semble être un manque de locaux à l'I2MC, dans la mesure où ce Centre continuera d'héberger au-delà de 2011 plusieurs équipes du Cancéropôle toulousain.

Points annexes concernant d'autres remarques du rapport :

Absence de caractérisation bioclinique des patients : Nous possédons l'ensemble des données biocliniques relatives à la pathologie de tous les patients pour lesquels des fibroblastes cutanés ont été isolés (>10 patients): examen clinique, génotypage, ECG, échocardiograhie, courbe de croissance, taux sériques de GH et IGF1... Ces données pourraient être mises en relation avec les analyses physiopathologiques que nous menons sur les cellules de ces patients (ECG et échocardiographie pour les cardiopathies, courbes de croissance, taux de GH et IGF1 pour le retard statural). Toutefois, compte tenu du faible nombre de patients analysés, nous doutons de la valeur statistique d'une telle étude. Ceci pourra certainement être abordé dans le cadre plus large du nouveau réseau NS-EuroNet.

A noter également que nous essayons avec T. EDOUARD de collecter au plan national et européen des données relatives à la croissance des patients Leopard, afin de mieux cerner les paramètres biocliniques du retard statural associé à ce syndrome.

Non prise en compte des relations génotype/phénotype : Etant donné le grand nombre de mutations de SHP2 existantes et le faible nombre de patients porteurs d'une même mutation, ces relations sont complexes à établir au sein d'un même syndrome, comme l'atteste les données de la littérature qui n'ont pu, jusqu'à présent, dresser de relation génotype/phénotype pour les différentes mutations Noonan ou les différentes mutations Leopard. Cependant, notre objectif étant de caractériser phénotypiquement et mécanistiquement la cardiomyopathie hypertrophique du syndrome Leopard, nous pensons que cela permettra d'établir la relation génotype/phénotype existant entre mutations activatrices (Noonan) ou inactivatrices (Leopard) de SHP2 et les différentes cardiopathies associées. En effet, alors que les syndromes de Noonan et Leopard sont difficilement distinguables par certains aspects cliniques, ce projet devrait permettre de comprendre pourquoi les mutations inactivatrices de SHP2, responsables du syndrome Leopard, provoquent des cardiomyopathies hypertrophiques (HCM), alors que les mutations activatrices de SHP2, provoquant le syndrome de Noonan, sont plutôt à l'origine de cardiopathies de type sténose pulmonaire.

Projet bénéficiant d'un soutien financier de la thématique Cancer sans aborder ce domaine : Ces subventions s'expliquent par le fait que SHP2 est aussi un proto-oncogène, et que les patients Noonan sont atteints d'une prédisposition tumorale, dont les mécanismes sont encore mal compris. De plus, nos travaux antérieurs ont porté sur les mécanismes de régulation, notamment via Shp2, des voies Ras/MAPK et PI3K, acteurs majeurs de l'oncogenèse, en réponse à la stimulation cellulaire *via* des récepteurs impliqués dans le développement tumoral (EGF-R, VEGF-R2...). Donc, les aspects de nos projets visant à comprendre comment SHP2 mutée dérégule ces voies de signalisation ont aussi un intérêt cognitif dans l'oncogenèse.

Gestion du projet phosphoprotéomique : Cette analyse est réalisée en collaboration avec une plateforme locale performante en spectrométrie de masse/protéomique (Dir: B. MONSARRAT, IPBS) et l'équipe de S. ROCHE (CRBM, Montpellier) qui possède une expertise reconnue dans le domaine. Ce projet s'appuie sur un financement en cours de 200 kEuros attribué par l'INCa à ces trois équipes, coordonné par P. RAYNAL, et nous permettant de recruter un chercheur post-doctoral sur ce projet. A noter que ce projet a déjà donné des résultats préliminaires très encourageants sur la compréhension des mécanismes physiopathologiques induits par SHP2 mutée en lien avec l'hyperactivation de PI3K observée dans le syndrome Leopard. Le protocole sommaire de l'analyse phosphoprotéomique est le suivant: notre équipe prend en charge le marquage des cellules de patients avec les isotopes nécessaires à une quantification des phosphorylations sur tyrosine ainsi que l'extraction et la purification par affinité des différents phosphopeptides. Ensuite, B. MONSARRAT prend en charge l'analyse des échantillons en spectrométrie de masse et le traitement informatique des données. Puis S. ROCHE et nous réalisons l'interprétation de ces données et la validation des résultats au moyen d'autres techniques permettant de confirmer des phosphorylations différentielles de substrats de Shp2.

.../...

Gestion du projet IPSC : L'obtention de cardiomyocytes dérivés d'IPSC à partir de fibroblastes de patients est prise en charge par deux laboratoires avec qui des collaborations sur ce projet sont effectives (B. GELB, New-York) ou en cours d'implantation (S. VIVILLE, Strasbourg). Notre rôle dans ce projet se limite donc à fournir les fibroblastes (déjà disponibles au laboratoire puisque faisant l'objet d'une publication sous presse) à ces équipes qui prennent en charge leur reprogrammation en IPSC et leur différenciation en cardiomyocytes. Ensuite nous déterminerons si les cardiomyocytes qu'ils auront ainsi obtenus présentent un phénotype hypertrophique, par rapport à des cardiomyocytes dérivés de sujets sains. Si cela est avéré, nous y rechercherons ensuite les défauts de signalisation impliqués. Pour cela nous nous appuierons sur les stratégies expérimentales et les nouveaux concepts que nous avons récemment développés avec succès, ainsi que sur nos collaborations en cours avec F. LEZOUALC'H et A. PARINI.

Future localisation géographique de l'équipe : Le bâtiment qui nous héberge actuellement sera rasé fin 2010. Donc, étant donné que l'I2MC ne peut pas nous accueillir avant cette date, nous avons été contraints de demander également un rattachement au Centre INSERM du CHU Purpan (CPTP2), afin de ne pas nous retrouver dépourvus de locaux fin 2010. Mais, afin que nos intentions soient totalement claires aux yeux du comité, nous réaffirmons que nos nouvelles orientations scientifiques nous portent à avoir une forte préférence pour l'I2MC. Toutefois il est évident que, dans la mesure où le batiment qui nous héberge va prochainement disparaître, la mise à disposition de locaux est primordiale pour notre activité de recherche.

Correction du nombre de thèses encadrées par les chercheurs/enseignants-chercheurs impliqués dans le projet dans les 4 dernières années : En page 5 du rapport, il est fait mention de trois thèses, alors qu'il s'agit de cinq thèses: A. Montagner 2006, M. Dance 2007, JF. Honorat 2008, C. Sampaio 2008, T. Edouard 2009.

Mise à jour de la liste des publications de l'équipe:

Edouard, T., JP. Combier, A. Nédelec, S. Bel-Vialar, M. Metrich, F. Conte-Auriol, S. Lyonnet, B. Parfait, M. Tauber, JP. Salles, F. Lezoualc'h, A. Yart, and P. Raynal (2010) Functional effects of PTPN11 (Shp2) mutations causing LEOPARD syndrome on EGF-induced PI3K/Akt/GSK-3β signaling. **Mol. Cell. Biol., sous presse**.

Bien cordialement,

Patrick Raynal
Directeur de recherches, Responsable d'équipe
INSERM U563, Centre de Physiopathologie de Toulouse-Purpan.
Hopital Purpan, B.P. 3028
31024 Toulouse Cedex 3, France
Tel: +33 (0)5 62 74 86 71 Fax: +33 (0)5 62 74 86 66
E-Mail: patrick.raynal@inserm.fr

UNIVERSITE PAUL SABATIER

Gilles FOURTANIER