



CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE NICE

Pôle Clinique Universitaire des Spécialités Médicales

SERVICE DE DERMATOLOGIE



**Epidermolyses Bulleuses Héréditaires**

CHU de Nice Centre de Référence Maladies Rares

## RAPPORT SUR L'ACTIVITE DE RECHERCHE DU CENTRE DE REFERENCE DES EPIDERMOLYSES BULLEUSES HEREDITAIRES DU CHU DE NICE ANNEE 2012

L'organisation de la recherche du Centre de Référence des Epidermolyses Bulleuses Héréditaires (EBH) du CHU de Nice (CREBHN) se fait autour d'une collaboration officialisée entre le CREBHN et l'Institute for Research on Cancer and Aging (IRCAN).

- L'équipe du CREBHN (Pr JP Lacour, coordonnateur, Dr C Chiaverini, médecin, C. Lagueny, infirmière coordonnatrice et S. Serre, secrétaire) assure la prise en charge clinique, thérapeutique et éducationnelle des patients atteints d'EBH. Le Pr JP Lacour et le Dr C Chiaverini sont également les initiateurs des **projets de recherche épidémiologiques, physiopathologiques et thérapeutiques**.

- Le laboratoire assure quant à lui son **activité diagnostique** immunohistologique et moléculaire et est le siège de l'**activité de recherche physiopathologique préclinique et fondamentale**.

### Financement DEBRA-France

La subvention de DEBRA-France (60.000 €) est **exclusivement dévolue à l'activité de laboratoire** : elle est utilisée au financement du salaire de notre ingénieur de recherche Alexandra Charlesworth (51.080 € annuels) et à l'achat de consommables pour le séquenceur, appareil indispensable à l'activité d'identification des mutations dont le coût ne peut être assuré par le CREBHN ou l'IRCAN lui-même. L'activité d'Alexandra Charlesworth est mixte, diagnostique et de recherche, l'une et l'autre étant indissociables. Qu'il s'agisse de recherche épidémiologique, génétique, thérapeutique médicamenteuse ou génique, rien ne serait possible sans l'activité diagnostique de typage immunohistologique ou génétique qu'elle assure. Le salaire de l'ingénieur n'est pas la seule charge financière de l'activité de recherche : l'achat des réactifs et du matériel, les frais de maintenance et tous les frais propres des projets de recherche doivent être couverts. Les frais de fonctionnement usuels se montent à environ 30.000 € annuels. Le reste de la subvention de DEBRA (8.920 €) y participe. Le reste des coûts est couvert par des revenus universitaires assurés par une activité d'enseignement et de formation. A ces frais s'ajoutent le coût propre des projets de recherche qui sont couverts par la réponse à différents appels d'offre (SFD, CHU, PHRC, etc...).

### Activité diagnostique du laboratoire

Alexandra Charlesworth assure l'activité diagnostique immunohistologique des EBH et l'activité d'identification des mutations chez les patients et leur famille. Les demandes pour diagnostic immunohistologique et/ou moléculaire sont quantitativement très importantes. En 2012, le laboratoire a assuré le diagnostic immunohistologique de 40 nouveaux patients (11 EBD, 12 EBJ, 4 EBS, 1 Kindler, 12 autres), 25 résidant en France, 15 à l'étranger étranger (4 Algérie, 1 Maroc, 2 Tunisie, 4 Portugal, 2 Turquie, 2 autres). En l'absence d'antécédents familiaux d'EBH ou de diagnostic déjà documenté dans la famille une première étape de diagnostic immunohistochimique (immunolocalisation) est réalisée, permettant de déterminer le niveau de clivage dans la membrane basale et de déceler l'expression anormale des composants de la jonction dermo-épidermique liée à une possible altération de l'expression du gène correspondant. Grâce à un délai rendu diagnostique habituellement rapide, nous sommes à même de fournir en période néonatale des

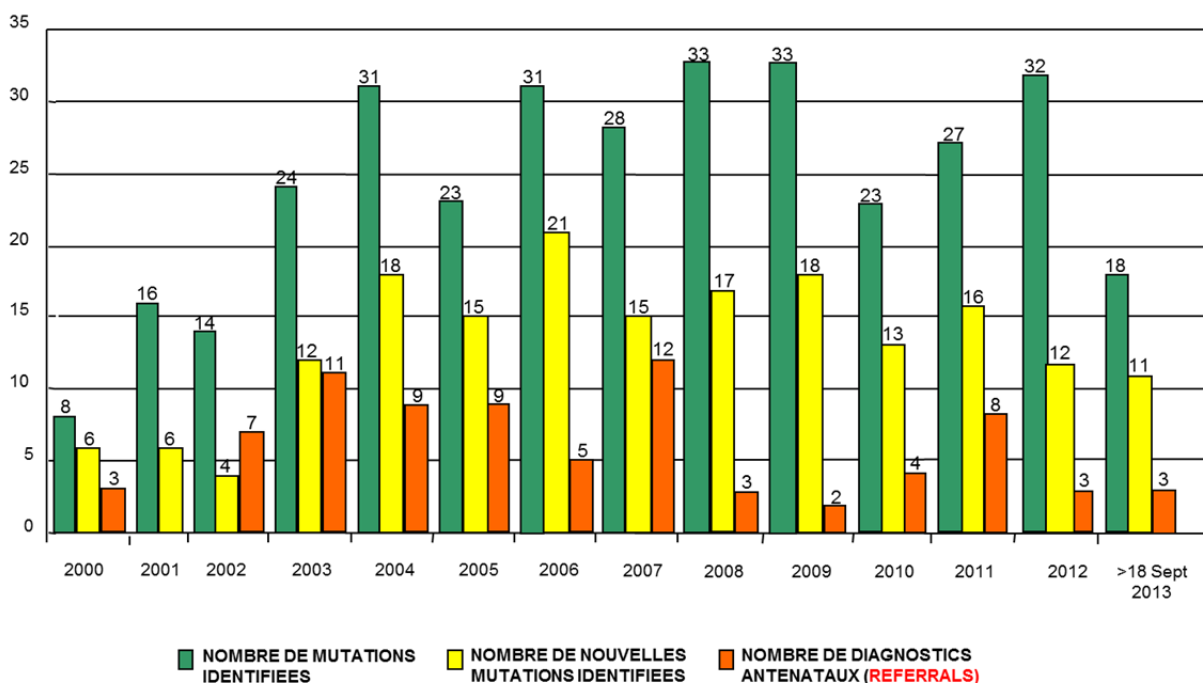
éléments pronostiques à court ou long terme des nouveau-nés, notamment pour ceux atteints de certaines formes graves (EB jonctionnelles léthales, EB avec atrésie pylorique, EB dystrophiques récessives). Cette activité est un élément indispensable à l'annonce du diagnostic par l'équipe médicale en charge du patient en période néonatale.

### Diagnostic moléculaire post-natal

Une fois le gène "candidat" identifié, et lorsqu'il existe des arguments médicaux justifiant cette analyse, l'identification des mutations est réalisée chez les patients et leur famille. Nous avons pu identifier, sur la totalité des malades ainsi étudiés, la protéine impliquée dans la maladie et le gène candidat correspondant. Cette étude est réalisée dans notre laboratoire par Alexandra Charlesworth pour toutes les formes d'EBH (EBJ, AP-EBJ, GABEB, MD-EBS, EBD). Nous ne pratiquons pas l'analyse génétique des malades souffrant d'EBS. En 2010, 32 mutations ont été identifiées. Douze mutations sont de nouvelles mutations non encore publiées.

### Diagnostic anténatal

Grâce à l'étude de DNA génomique isolée à partir de villosités choriales, nous avons génotypé 3 foetus en 2012 dans le cas de grossesses à risque. Notre laboratoire de recherche ne pouvant disposer de l'agrément pour l'activité de diagnostic prénatal, cette activité est confiée à un laboratoire agréé, notre ingénieur de recherche fournissant mutations, technique et matériel génétique nécessaire au laboratoire correspondant.



Evolution de l'activité de diagnostic moléculaire au cours des 12 dernières années

## Activité de recherche

Plusieurs projets de recherche ont été initiés ou poursuivis au cours de l'année 2012.

### Recherche clinique thérapeutique

#### Traitement de l'épidermolyse bulleuse dystrophique par l'épigallicatéchine 3-gallate

L'objectif principal de cette étude multicentrique est d'évaluer l'efficacité de l'épigallicatéchine 3 gallate (Polyphénon E®), dérivé du thé vert, pour diminuer le nombre de bulles cutanées chez les patients atteints d'EBD à phénotype modéré à sévère n'ayant pas une double mutation codon stop prématuré, après 4 mois de traitement. Il s'agit d'un essai thérapeutique croisé, multicentrique, contrôlé contre placebo, randomisé, en double aveugle.

Déroulement de l'étude : Après présélection sur dossier, les patients sont vus en consultation de sélection puis en cas d'acceptation de l'étude en visite d'inclusion. Si le patient est inclus il est randomisé dans un groupe

puis vu en visite initiale. En fonction de son groupe il reçoit 1 dose de Polyphénol E® en une prise orale ou son placebo pendant 4 mois. Une période sans traitement de 2 mois est ensuite respectée puis les patients prennent pendant 4 mois l'autre produit. Une visite de suivi est prévue à 1, 4, 6, 7 et 10 mois de traitement avec examens biologiques et évaluation des critères de jugement. Les patients et leur famille sont revus à 12 mois pour une visite de fin d'étude.

Niveau d'avancement de l'étude : Fin des inclusions : août 2012, suivi des patients jusqu'en août 2013.

Soutien : PHRC 2009 (Dr C Chiaverini). DEBRA-France (financement de l'ingénieur de recherche permettant la caractérisation moléculaire des patients inclus dans l'étude)

ClinicalTrials.gov Identifiant : NCT00951964

### **Traitement de l'épidermolyse bulleuse simple type Dowling Meara par érythromycine orale**

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'efficacité de l'érythromycine pour diminuer le nombre de bulles cutanées chez les patients de 6 mois à 8 ans atteints d'EBS-DM à phénotype sévère après 3 mois de traitement. Les objectifs secondaires sont d'évaluer l'efficacité de l'érythromycine sur la surface cutanée atteinte, le prurit, la fragilité cutanée et évaluer son impact sur la colonisation bactérienne de la peau à la fin du traitement et 2 mois après son arrêt. Il s'agit d'un essai thérapeutique pilote ouvert et multicentrique. Le critère principal de jugement est le taux de patient présentant une diminution du nombre moyen de bulles cutanées par jour d'au moins 20% (amélioration) après 3 mois de traitement par érythromycine. Les critères secondaires sont la surface cutanée atteinte, la durée moyenne de cicatrisation d'une lésion en jours, la perception par le patient et /ou sa famille de la fragilité cutanée et du prurit et la tolérance globale du traitement. Le maintien ou non d'un effet après 2 mois d'arrêt sera évalué.

Déroulement de l'étude : Après présélection sur dossier, les patients sont vus en visite d'inclusion puis en cas d'acceptation de l'étude en visite d'inclusion. Si le patient est inclus il reçoit de l'érythromycine en 2 prises orales pendant 3 mois. Une visite de suivi est prévue à 1, 3, et 5 mois avec examens biologiques et évaluation des critères de jugement. Les patients et leur famille sont contactés par téléphone à 12 mois pour une visite de fin d'étude.

Etat d'avancement de l'étude : Seuls 6 patients sur les 8 prévus ont été inclus dont 5 ont fini l'étude. Un patient a arrêté le traitement au bout de quelques jours pour une « impression d'aggravation ». A 3 mois, 3 patients étaient en succès avec une diminution moyenne de 40,6% des bulles. Aucun patient n'était aggravé, la diminution globale étant de 14,3%. Sur le plan bactériologique tous les patients étaient colonisés par le Staphylocoque doré (nez ou plaie) sensible à l'érythromycine puis résistant à la fin du traitement et variable à 2 mois d'arrêt. La tolérance était bonne dans 5 cas sur 6. Nous n'avons pas noté d'efficacité sur les autres paramètres étudiés. Cette étude ne permet pas sur le plan statistique de prouver que l'érythromycine orale en traitement prolongé soit efficace dans les EBS, mais ses résultats sont encourageants. Le mode d'action de cet antibiotique reste à bien comprendre, probablement pas ses activités anti-bactériennes et anti-inflammatoires. Publication en cours.

Soutien : Société Française de Dermatologie et laboratoires Expansciences. DEBRA-France (financement de l'ingénieur de recherche permettant la caractérisation immunohistochimique des patients inclus dans l'étude). ClinicalTrials.gov Identifiant: NCT01340235

## **Recherche clinique thérapeutique**

### **Thérapie génique des épidermolyses bulleuses jonctionnelles (EBJ-NH)**

Les EBJ-NH sont des EBH liées à des mutations des gènes codant pour une des trois sous-unités de la laminine 332. Les formes de type non-Herlitz occasionnent une fragilité cutanée et des plaies chroniques plus ou moins étendues dont le retentissement sur la qualité de vie peut être majeur. Suite aux travaux précliniques menés dans notre laboratoire *in vitro* et chez l'animal et à la première expérimentation clinique conduite en Italie, notre groupe a pour projet d'évaluer, dans le cadre d'un essai clinique de phase I/II, les effets d'une thérapie génique par des feuillets épidermiques transduits *ex vivo*, chez des patients ayant une forme d'EBJ-NH causée par des mutations du gène de la chaîne beta 3 de la laminine 332. Cet essai sera réalisé par une collaboration entre notre centre et le Généthon. L'Unité de Thérapie Cellulaire et Génique (UTCG) du CHU de Nice pourrait participer à ce projet.

Objectif principal : montrer la faisabilité de la greffe de feuillets épidermiques transduits *ex vivo*.

Patients : patients ayant une forme d'EBJ-NH causée par des mutations du gène de la chaîne beta 3 de la laminine 332.

Niveau d'avancement de l'étude : étapes précliniques en cours. Phase clinique non initiée. Le retard de ce projet est lié à la nécessité de mise en conformité des locaux de l'UTCG avec les textes réglementaires actuels qui imposent des locaux de classe B pour pouvoir accueillir une activité de thérapie génique (médicament de thérapie innovante). Un audit est prévu en 2013 pour évaluer le coût et les modalités optimales de mise à niveau de l'UTCG du CHU de Nice.

Soutien : DEBRA-France (financement de l'audit).

### **Epidermolyse bulleuse dystrophique et cancer cutané : prévention par photothérapie dynamique.**

Etude pilote, ouverte, bicentrique, d'évaluation de l'efficacité et de la tolérance de la photothérapie dynamique (PDT) dans le traitement des dysplasies épidermiques des patients atteints d'epidermolyse bulleuse dystrophique héréditaire

L'objectif principal de cette étude est de déterminer l'efficacité de la photothérapie dynamique dans le traitement des dysplasies épidermiques des patients atteints d'EBD. Les objectifs secondaires sont d'évaluer la tolérance de ce traitement sur le plan de la douleur et de la cicatrisation et d'évaluer l'apport de la microscopie confocale (MC) dans le diagnostic des dysplasies épidermiques chez les patients EDBR. Le critère d'évaluation principal est la biopsie cutanée avant et après (M2) une séance de PDT d'une zone de dysplasie épidermique. Les critères secondaires sont l'évaluation de la douleur pendant la séance de photothérapie dynamique et la cicatrisation de la lésion cutanée à M0, 2 et 4 (surface de la lésion et durée de cicatrisation) et la corrélation histologie / MC. Il s'agit d'une étude pilote, ouverte, bicentrique, portant sur 5 patients de plus de 18 ans atteints d'epidermolyse bulleuse dystrophique héréditaire avec dysplasie épidermique. Les carcinomes in situ sont exclus de cette étude. Chaque patient ayant une lésion suspecte sera biopsié. En cas d'accord pour ce protocole, il aura 1 séance de PDT suivie d'une consultation de contrôle à 2 et 4 mois après la fin du traitement.

Durée totale de l'étude : 18 mois (inclusion 12 mois, étude 4 mois, analyse des données 2 mois)

Niveau d'avancement de l'étude : financement obtenu (2013). Phase clinique non initiée.

Soutien : CHU de Nice (appel d'offre interne) et DEBRA-France (financement de l'ingénieur de recherche permettant la caractérisation moléculaire des patients inclus dans l'étude)

## **Recherche physiopathologique et fondamentale**

### **Epidermolyse bulleuse simple de type Dowling Meara (EBS-DM) et inflammation cutanée**

Chez les patients atteints d'EBS-DM, la survenue spontanée de poussées bulleuses, leur caractère très inflammatoire, leur amélioration sous antibiothérapie en dehors de toute surinfection clinique ou sous corticothérapie orale ou locale suggère une participation inflammatoire à la survenue des bulles. Ces résultats cliniques sont renforcés par des études dans des modèles murins qui montrent chez des souris K5-/- une augmentation de l'expression de cytokines inflammatoires dépendantes de la voie NF-KB à l'origine d'une augmentation du nombre de cellules de Langerhans dans l'épiderme.

L'objectif principal de cette étude multicentrique est la mise en évidence et la caractérisation des mécanismes inflammatoires cutanés au cours de l'EBS-DM.

Déroulement de l'étude : Les patients sont présélectionnés sur dossier dans l'un des centres de référence/compétence des EBH impliqués dans l'étude puis après signature du consentement répondent à un questionnaire standardisé sur les facteurs déclenchant des poussées. Au cours du pansement, le liquide des bulles est recueilli pour analyse. Une prise de sang et un prélèvement bactériologique de la peau sont faits. Il n'y a pas de visite de suivi. Les échantillons sont analysés dans le laboratoire d'immunologie du Pr JF Nicolas et le laboratoire d'anatomopathologie de l'Hôpital Edouard Herriot à Lyon. Une analyse des principaux marqueurs de l'inflammation est réalisée sur le liquide de ponction des bulles pour chaque patient. Enfin si la quantité le permet une analyse de la répartition des différentes cellules inflammatoires dans le liquide de ponction est réalisée par FACS. Une analyse des paramètres inflammatoires sériques sera également faite avec une partie standardisée et une partie orientée par les résultats sur les bulles. Les résultats seront analysés par rapport au génotype.

Niveau d'avancement de l'étude : Inclusions terminées. Analyse en cours (2013). Présentation du travail

programmée lors de la session génétique des communications orales scientifiques des Journées Dermatologiques de Paris 2013. Publication en cours

Soutien : Société Française de Dermatologie. DEBRA-France (financement de l'ingénieur de recherche permettant la caractérisation immunohistochimique des patients inclus dans l'étude)

ClinicalTrials.gov Identifiant : NCT01556308

Perspectives : Ce travail pourrait conduire à l'identification de cytokines inflammatoires cibles sur lesquelles des thérapies ciblées pourraient agir. Réflexion en cours.

### **Epidermolyse bulleuse dystrophique et cancer cutané**

Du fait d'une réorganisation de l'IFR 50 site Pasteur, l'Unité INSERM 634, fondue au sein de l'IRCAN (Institute for Research on Cancer and Aging, directeur Dr E. Gilson, vice-directeur Dr G. Meneguzzi, [www.ircan.org](http://www.ircan.org)) a donné naissance à l'équipe 6 dirigée par les Dr T. Magnaldo (CNRS) et G. Meneguzzi (INSERM) dont le thème de recherche est « Genetics and physiopathology of epithelial cancers ». Au sein de cette équipe, le groupe du Dr C. Gaggioli a initié un projet de recherche sur le rôle du stroma dans l'invasion des carcinomes épidermoïdes cutanés. L'altération de la synthèse du collagène dans les EBDR et le caractère invasif des carcinomes cutanés que développent ces patients représentent un modèle d'étude particulièrement adapté. Un projet de recherche commun a été initié avec le CREBHN. L'objectif principal de cette étude est de confirmer le rôle des fibroblastes déficients en collagène VII dans le développement et la dissémination des carcinomes épidermoïdes cutanés chez les patients atteints d'EBDR.

Perspectives : Ce travail pourrait conduire à l'identification de thérapies ciblées susceptibles d'agir sur la progression des carcinomes épidermoïdes cutanés et/ou sur le processus de cicatrisation anormale et synéchiante des doigts au cours des EBDR. Une réflexion est en cours pour développer un projet de recherche clinique thérapeutique.

## **Recherche épidémiologique**

### **Epidermolyses bulleuses et cancers cutanés : revue systématique de la littérature.**

Ce projet a été initié en 2012 pour répondre à l'appel d'offre de l'Association Recommandations en Dermatologie (aRED) de la Société Française de Dermatologie. Il sera réalisé par le Dr Henri Montaudié, interne dans le service de dermatologie du CHU de Nice, sous la direction du Pr JP Lacour. Il s'agit d'un projet dont le but est de réaliser une revue systématique de la littérature pour faire l'état des lieux le plus exhaustif possible sur l'association entre EBH et carcinomes cutanés épidermoïdes. Les objectifs de cette étude sont de préciser quel(s) type(s) d'EBH développe(nt) ces carcinomes ; leur terrain de survenue (âge, sexe, ethnie, consanguinité...) ; leurs caractéristiques (type histologique, présentation clinique, évolutivité...) ; les bilans d'évaluations (imagerie, ganglion sentinelle...) et les traitements (chirurgie, radiothérapie, chimiothérapie...) proposés.

Les résultats de cette étude seront présentés lors de l'AG DEBRA de juin 2013, seront soumis au congrès des Journées Dermatologiques de Paris 2013 et seront soumis à publication sous forme d'article scientifique dans la littérature internationale.

Son intérêt est d'établir éventuellement des recommandations dans ce domaine. Ce projet servira également de base au PNDS sur les EBH.

Soutien : Association Recommandations en Dermatologie (aRED) de la Société Française de Dermatologie.

### **Epidermolyse bulleuse dystrophique et cancer cutané : projet REBeCCA**

L'objectif de ce projet est de déterminer la prévalence des cancers diagnostiqués dans une population des patients avec EB et suivis dans des centres de références, déterminer cette prévalence par type de cancer et type d'EB (incluant le génotype), identifier des facteurs de risque de développement des cancers cutanés et non cutanés, rechercher des facteurs de risque de diagnostic retardé et définir des populations particulières nécessitant l'instauration d'un suivi préventif particulier ou le renforcement de ce suivi.

Sont impliqués dans ce travail, les trois centres de références prenant en charge les épidermolyses bulleuses (Nice, Toulouse-Bordeaux, Necker).

Soutien : Association DEBRA-France.

## Publications

### Communications orales

Séance de la Société Française de Dermatologie conjointe avec la Société Française de Dermatologie Pédiatrique. Paris, 10 janvier 2013

Programme d'éducation thérapeutique dans les epidermolyses bulleuses héréditaires. C Chiaverini, E Bourdon-Lanoy, E Bourrat, I Dreyfus, C Labreze, J Mazereeuw-Hautier, S Barbarot, P Vabres, G Verdot, JP Lacour

### Articles

1. Vanotti S, Chiaverini C, Charlesworth A, Bonnet N, Berbis P, Meneguzzi G, Lacour JP. Late-onset skin fragility in childhood: a case of junctional epidermolysis bullosa of late onset caused by a missense mutation in COL17A1. Br J Dermatol. 2013 Sep;169(3):714-5.
2. Charlesworth A, Chiaverini C, Chevrant-Breton J, DelRio M, Diociaiuti A, Dupuis RP, El Hachem M, Le Fiblec B, Sankari-Ho AM, Valhquist A, Wierzbicka E, Lacour JP, Meneguzzi G. Epidermolysis bullosa simplex with PLEC mutations: new phenotypes and new mutations. Br J Dermatol. 2013 Apr;168(4):808-14.