

The involvement of skeletal muscle stem cells in the pathology of muscular dystrophies

Date: 25 – 27 January 2019

Workshop number: 240

City: Hoofddorp, The Netherlands

Organizers: Professors Gillian Butler-Browne, Jennifer Morgan, Francesco Muntoni and Ketan Patel

Background and aims of the workshop

Muscular dystrophies are a group of inherited disorders, in which muscle bulk and strength declines. They are caused by defects in genes that either affect proteins at the membrane of the muscle fibre that hold the fibre together, or factors that are expressed inside the muscle fibre, or in the connective tissue surrounding the muscle fibres. As a result of the genetic defect, the muscle fibres break down. This activates muscle stem cells (satellite cells) that reside in a niche between the muscle fibre and the connective tissue surrounding the muscle fibre. Satellite cells proliferate and their progeny regenerate new muscle fibres. But this muscle regenerative process becomes less efficient with time and, in dystrophic muscle, fibres may be replaced by fat and scar tissue. Satellite cells in muscular dystrophies were thought to be normal, but their ability to regenerate muscle is eventually impeded by the fat and scar tissue. However there is evidence that in some muscular dystrophies, the genetic defect may directly affect the satellite cells. Our aims were to understand:

1. The involvement of satellite cells in muscular dystrophies
2. The fate and biology of satellite cells during ageing and in diseased muscle
3. The role of satellite cells in the development of muscle pathology in different muscular dystrophies
4. The evidence that defective satellite cells or muscle precursors are a primary cause of some muscular dystrophies
5. The efficacy of therapeutic strategies to correct satellite cell dysfunction in muscular dystrophies

Attendees

Helge Amthor (Paris, France), Carmen Birchmeier-Kohler (Berlin, Germany), Paolo Bonaldo (Padova, Italy), Carsten Bönnemann (Bethesda, USA), Gillian Butler Browne (Paris, France), Dhananjay Chaturvedi (Bangalore, India), Richard Davenport (Portsmouth, UK), Ana Ferreiro (Paris, France), Denis Furling (Paris, France), Lorenzo Giordani (Paris, France), Miranda Grounds (Perth, Australia), Heinz Jungbluth (London, UK), Pura Manoz Canoves (Barcelona and Madrid, Spain), Prasant Mishra (Dallas, USA), Jennifer Morgan (London, UK), Francesco Muntoni (London, UK), George Padberg (Nijmegen, The Netherlands), Carmen Paradas (Seville, Spain), Terry Partridge (Washington, USA), Ketan Patel (Reading, UK), Frederic Relaix (Paris, France), Markus Rüegg (Basel, Switzerland), Alison Stevenson (London, UK), Maaïke Van Putten (Leiden, The Netherlands), Alasdair Wood (Monash, Australia), Peter Zammit (London, UK).

What was discussed

The development of effective therapies for the muscular dystrophies will rely on targeting the correct tissues. It was generally believed that since muscle fibres are often damaged in some diseases they must be the sole affected cells. However, recent research has made a case that the primary lesion for example in DMD may lie in the satellite cells. To understand involvement of satellite cells in different muscular dystrophies, presentations were given by experts in particular pathologies and these were discussed in detail. We considered different models to investigate the function of satellite cells in muscular dystrophies, including mouse, drosophila and zebrafish and how they can contribute to our understanding of muscular dystrophies. We also heard how the effect of the environment, including changes in components of the connective tissue surrounding muscle fibres and the metabolism of satellite cells, can affect muscle regeneration. How satellite cell function is regulated and how this may go wrong in muscular dystrophies was discussed. We

considered possible reasons for why, in some muscular dystrophies, some muscles are affected and others are not. We considered whether it might be possible and useful to directly target satellite cells rather than muscle fibres to treat muscular dystrophies. We also heard the views of one patient organization and of a young man living with muscular dystrophy. The latter two evidenced the importance of support systems as well as medical care to patients in dealing with their illness but also the role needed to be played by clinicians and scientists in communicating research advances to all stakeholders to allay fears and manage expectations.

What were the outcomes and how will they benefit patients

Definitions to end possible confusion in terms of what the community understands by stem cells (a cell that can self-renew to give more stem cells and also generate a more specialised cell type), progenitors (the descendants of stem cells that cannot return to form stem cells) and differentiated muscle cells (long cells that form from muscle progenitor cells and are specialised for muscle contraction. They cannot go back to become either progenitor or stem cells).

Identification of forms of muscular dystrophies which, as a consequences of discussions held in the workshop, may have their origin in satellite cells.

We arrived at some conclusions as to why muscles in different types of muscular dystrophy have different pathological features.

Standard operating procedures for analysing zebrafish models of muscular dystrophies should be set up.

Plan to develop the fruitfly as a model system in which to investigate the contribution of the satellite cells and the muscle fibre in the pathological process of muscular dystrophies.

These will not benefit patients in the short term, though our improved understanding of the role of satellite cells and their changed environment in muscular dystrophies may lead to new ways to treat muscular dystrophies, by either targeting the satellite cells themselves, or altering their environment.

The following key deliverables were achieved:

- We developed a consensus for the role of satellite cells in the pathology in some forms of muscular dystrophies
- Key properties of satellite cells that could contribute to muscle pathology in different muscular dystrophies were highlighted
- Collaborative projects to address unanswered questions on satellite cells in different muscular dystrophies were discussed and will be set up to conduct research on forms of muscular dystrophies

What are the future activity plans?

- We will examine materials that we already have (muscle biopsies of patients with different muscular dystrophies) with new tools and antibodies, to gain insight into satellite cell involvement in the different conditions
- We will provide a new consensus for assessing the involvement of satellite cells in a particular muscular dystrophy and for determining if the primary defect in a particular muscular dystrophy is in the satellite cell
- We will use zebrafish and drosophila models to investigate the role of satellite cells in different muscular dystrophies

Timelines for future plans and who is taking the lead

Three major research platforms will be developed:

- 1) Developing a community to investigate the role of satellite cells in the development of pathology of a spectrum of muscular dystrophies. **Leads:** Gillian Bulter-Brown, Ana Ferreira, Francesco Muntoni, Jenny Morgan. **Timelines:** 2 years

- 2) Develop a research programme to evaluate systematically the role of satellite cells and muscle fibres for a spectrum of disease in zebrafish. **Leads:** Alasdair Wood. **Timelines:** 2 years
- 3) Develop a research programme to evaluate systematically the role of satellite cells and muscle fibres for a spectrum of disease in fruitflies. **Leads:** Dhananjay Chaturvedi. **Timelines:** 2 years

*The group of participants of the 240th ENMC workshop on “**The involvement of skeletal muscle stem cells in the pathology of muscular dystrophies**” taking place in Hoofddorp from 25-27 January 2019*

We acknowledge MDUK for their co-sponsorship of this workshop.

Implication des cellules souches du muscle squelettique dans la pathologie de la dystrophie musculaire

Date : 25 - 27 janvier 2019

Numéro d'atelier : 240

Ville : Hoofddorp, Pays-Bas

Organisateurs : Les professeurs Gillian Butler-Browne, Jennifer Morgan, Francesco Muntoni et Ketan Patel.

Contexte et objectifs de l'atelier

Les dystrophies musculaires représentent un groupe de maladies héréditaires dans lesquelles la masse et la force musculaires sont progressivement diminuées et altérées. Elles sont causées par des défauts dans les gènes qui affectent soit des protéines à la membrane des fibres musculaires permettant leur cohésion les unes aux autres, soit des facteurs qui sont exprimés à l'intérieur de la fibre musculaire, ou dans le tissu conjonctif entourant les fibres musculaires. En raison du défaut génétique, les fibres musculaires se voient avec une fragilité accrue au stress mécanique et cassent facilement. Ces dommages entraînent l'activation des cellules souches musculaires (les cellules satellites) qui résident dans une niche entre la fibre musculaire et le tissu conjonctif entourant la fibre musculaire. Les cellules satellites prolifèrent et les précurseurs musculaires dérivés réparent les fibres musculaires lésées et en génèrent de nouvelles. Mais ce processus de régénération musculaire devient moins efficace avec le temps et, dans le muscle dystrophique, les fibres peuvent être remplacées par de la graisse et du tissu cicatriciel. Les cellules satellites dans les dystrophies musculaires sont considérées comme normales, mais leur capacité à régénérer les muscles est finalement entravée par la graisse et le tissu cicatriciel. Cependant, il est maintenant de plus en plus évident que dans certaines dystrophies musculaires, le défaut génétique peut affecter directement les cellules satellites. Notre but est donc de comprendre :

1. L'implication des cellules satellites dans les dystrophies musculaires
2. Le devenir et la biologie des cellules satellites au cours du vieillissement et dans les muscles malades
3. Le rôle des cellules satellites dans le développement de la pathologie musculaire dans différentes dystrophies musculaires
4. La preuve que des cellules satellites défectueuses ou des précurseurs musculaires sont la cause première de certaines dystrophies musculaires.
5. L'efficacité des stratégies thérapeutiques pour corriger le dysfonctionnement des cellules satellites dans les dystrophies musculaires

Participants

Helge Amthor (Paris, France), Carmen Birchmeier-Kohler (Berlin, Germany), Paolo Bonaldo (Padova, Italy), Carsten Bönnemann (Bethesda, USA), Gillian Butler Browne (Paris, France), Dhananjay Chaturvedi (Bangalore, India), Richard Davenport (Portsmouth, UK), Ana Ferreira (Paris, France), Denis Furling (Paris, France), Lorenzo Giordani (Paris, France), Miranda Grounds (Perth, Australia), Heinz Jungbluth (London, UK), Pura Manoz Canoves (Barcelona and Madrid, Spain), Prasant Mishra (Dallas, USA), Jennifer Morgan (London, UK), Francesco Muntoni (London, UK), George Padberg (Nijmegen, The Netherlands), Carmen Paradas (Seville, Spain), Terry Partridge (Washington, USA), Ketan Patel (Reading, UK), Frederic Relaix (Paris, France), Markus Rüegg (Basel, Switzerland), Alison Stevenson (London, UK), Maaïke Van Putten (Leiden, The Netherlands), Alasdair Wood (Monash, Australia), Peter Zammit (London, UK).

Ce qui a été discuté

Le développement de thérapies efficaces pour les dystrophies musculaires reposera sur le ciblage des bons tissus. Il a été longtemps pensé que puisque les fibres musculaires sont souvent endommagées dans certaines maladies, elles devaient être les seules cellules affectées par la maladie. Cependant, des recherches récentes ont démontré que la lésion primaire, par exemple dans la DMD, peut se trouver aussi dans les cellules satellites. Pour

comprendre l'implication des cellules satellites dans différentes dystrophies musculaires, des présentations ont été faites par des experts dans des pathologies particulières et celles-ci ont été discutées en détail. Nous avons examiné différents modèles pour étudier la fonction des cellules satellites dans les dystrophies musculaires, y compris la souris, la drosophile et le poisson zèbre, et comment ces modèles peuvent contribuer à notre compréhension des dystrophies musculaires. Nous avons également vu comment les effets de l'environnement, y compris les changements dans les constituants du tissu conjonctif entourant les fibres musculaires et le métabolisme des cellules satellites, peuvent affecter la régénération musculaire. Il a été discuté de la régulation du fonctionnement des cellules satellites et de ses perturbations dans les dystrophies musculaires. Nous avons considéré les raisons possibles pour lesquelles, dans certaines dystrophies musculaires, certains muscles sont affectés et d'autres ne le sont pas. Nous nous sommes demandé s'il serait possible et utile de cibler directement les cellules satellites plutôt que les fibres musculaires pour traiter les dystrophies musculaires. Nous avons également entendu le point de vue d'un organisme de patients et d'un jeune homme atteint de dystrophie musculaire. Ces derniers ont mis en évidence l'importance des systèmes de soutien et des soins médicaux pour les patients dans le traitement de leur maladie, mais aussi le rôle que doivent jouer les cliniciens et les scientifiques dans la communication des progrès de la recherche à tous les intervenants pour dissiper les craintes et gérer les attentes.

Résultats et bénéfices pour les patients

Quelques définitions pour mettre fin à la confusion possible en termes de ce que la communauté entend par cellules souches (une cellule qui peut s'auto-renouveler pour donner plus de cellules souches et générer un type de cellule plus spécialisé), progéniteurs (les descendants de cellules souches qui ne peuvent pas reformer des cellules souches) et cellules musculaires différenciées (cellules longues qui forment des cellules progéniteurs musculaires et sont spécialisées dans la contraction des muscles. Ils ne peuvent pas revenir en arrière pour devenir des progéniteurs ou des cellules souches).

Identification des formes de dystrophies musculaires qui, à la suite des discussions de l'atelier, peuvent avoir leur origine dans les cellules satellites.

Nous sommes parvenus à certaines conclusions quant à la raison pour laquelle les muscles de différents types de dystrophie musculaire présentent des caractéristiques pathologiques différentes.

Des modes opératoires normalisés pour l'analyse des modèles de dystrophies musculaires chez les poissons zèbres devraient être mis en place.

Planifier le développement de l'utilisation de la mouche du fruit comme système modèle pour étudier la contribution des cellules satellites et de la fibre musculaire dans le processus pathologique des dystrophies musculaires.

Ils ne profiteront pas aux patients à court terme, bien que notre meilleure compréhension du rôle des cellules satellites et de leur environnement modifié dans les dystrophies musculaires puisse conduire à de nouvelles façons de traiter les dystrophies musculaires, soit en ciblant les cellules satellites elles-mêmes, soit en modifiant leur environnement.

Les principales clés livrables suivantes ont été atteintes :

- Nous avons développé un consensus sur le rôle des cellules satellites dans la pathologie de certaines formes de dystrophies musculaires.
- Nous avons mis en évidence les principales propriétés des cellules satellites qui pourraient contribuer à la pathologie musculaire dans différentes dystrophies musculaires.
- Nous avons discuté de la mise en place de projets de collaboration visant à répondre à des questions restées sans réponse sur les cellules satellites dans différentes dystrophies musculaires.

Plans des activités futures

- Nous examinerons les matériaux dont nous disposons déjà (biopsies musculaires de patients atteints de différentes dystrophies musculaires) avec de nouveaux outils et anticorps, pour mieux comprendre l'implication des cellules satellites dans les différentes conditions.
- Nous fournirons un nouveau consensus pour évaluer l'implication des cellules satellites dans une dystrophie musculaire particulière et pour déterminer si le défaut primaire d'une dystrophie musculaire particulière réside dans la cellule satellite.
- Nous utiliserons les modèles du poisson zèbre et de la drosophile pour étudier le rôle des cellules satellites dans différentes dystrophies musculaires

Calendrier des plans futurs et repartition des responsabilités

Trois grandes plateformes de recherche seront développées :

- 1) Développer une communauté pour étudier le rôle des cellules satellites dans le développement de la pathologie d'un spectre de dystrophies musculaires. **Responsables** : Gillian Bulter-Brown, Ana Ferreiro, Francesco Muntoni, Jenny Morgan. **Échéanciers** : 2 ans
- 2) Développer un programme de recherche pour évaluer systématiquement le rôle des cellules satellites et des fibres musculaires dans un spectre de maladies chez le poisson zèbre. **Responsables** : Bois d'Alasdair. **Échéanciers** : 2 ans
- 3) Développer un programme de recherche pour évaluer systématiquement le rôle des cellules satellites et des fibres musculaires dans un spectre de maladies chez la mouche du fruit. **Responsables** : Dhananjay Chaturvedi. **Échéanciers** : 2 ans

Le groupe de participants du 240ème atelier de l'ENMC sur "L'implication des cellules souches des muscles squelettiques dans la pathologie des dystrophies musculaires" qui se tenait à Hoofddorp du 25 au 27 janvier 2019.

Nous remercions le MDUK pour avoir coparrainé cet atelier.