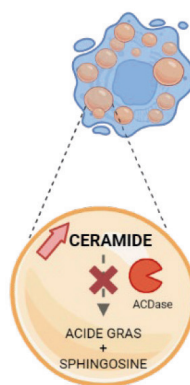


► La maladie de Farber et l'amyotrophie spinale avec épilepsie myoclonique progressive sont deux maladies de surcharge lysosomale ultra-rares, liées à des mutations du gène *ASAH1* codant la céramidase acide (ACDase). Le déficit en ACDase conduit à une accumulation intracellulaire de céramides associée à une réponse inflammatoire tissulaire. Ces deux maladies se manifestent de manière différente, mais font partie d'un continuum clinique de sévérité variable touchant le système nerveux et/ou les tissus périphériques, y compris le système neuromusculaire. À ce jour, il n'y a pas de traitement spécifique ou curatif disponible pour les patients atteints du déficit en ACDase. Ici, nous résumons les caractéristiques cliniques, la fonction de l'enzyme, les modèles murins et les perspectives thérapeutiques pour ces maladies. ◀

## Perspectives thérapeutiques pour les maladies lysosomales dues au déficit en céramidase acide

Marion Derome<sup>1,2</sup>, Jérôme Denard<sup>1,2</sup>,  
Martina Marinello<sup>1,2</sup>, Thierry Levade<sup>3,4</sup>,  
Odile Boespflug-Tanguy<sup>5</sup>, Ana Buj-Bello<sup>1,2</sup>



© M. Derome

<sup>1</sup>Généthon, Évry, France  
<sup>2</sup>Université Paris-Saclay, Univ Évry, Inserm, Généthon, Integrare research unit UMR\_S951, Évry, France  
<sup>3</sup>Unité mixte de recherche Inserm 1037, CNRS 5071, Université Toulouse III-Paul Sabatier, Centre de recherches en cancérologie de Toulouse (CRCT), Toulouse, France  
<sup>4</sup>Laboratoire de biochimie, Institut fédératif de biologie, CHU Purpan, Toulouse, France  
<sup>5</sup>Université Paris Cité, Inserm, UMR 1141 NeuroDiderot, Paris, France ; AP-HP, Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Robert Debré et Hôpital Trousseau, Paris, France  
[mderome@genethon.fr](mailto:mderome@genethon.fr)

### Introduction

La maladie de Farber (FD pour *Farber disease*), appelée aussi lipogranulomatose de Farber [1], et l'amyotrophie spinale avec épilepsie myoclonique progressive (SMA-PME pour *Spinal muscular atrophy with progressive myoclonic epilepsy*) [2, 3] sont des maladies génétiques de transmission autosomique récessive, liées à des mutations dans le gène *ASAH1* localisé sur le chromosome 8 (8p21.3-22), avec une prévalence de moins de 1/1 000 000 d'individus [4]. Plus de 70 variations pathogènes ont été identifiées à ce jour dans le gène *ASAH1* codant pour une enzyme lysosomale, la N-acylsphingosine amidohydrolase 1 ou céramidase acide (ACDase) [5]. Cette enzyme clive les céramides, des lipides bioactifs de la famille des sphingolipides, libérant une sphingosine et un acide gras par molécule. La protéine est un hétérodimère de 53 kDa avec une sous-unité  $\alpha$  (13 kDa) et une sous-unité  $\beta$  (40 kDa). La sous-unité  $\beta$  présente six sites de glycosylation tandis que la sous-unité  $\alpha$  n'en possède aucun. L'enzyme est active

sous forme d'un hétérodimère [6, 7]. Chez les patients, les mutations sont bi-alléliques et peuvent être localisées dans la région du gène codant pour les sous-unités  $\alpha$  et/ou  $\beta$ , sans qu'il y ait une corrélation génotype-phénotype, même si une légère tendance à l'association de variants de la sous-unité  $\alpha$ -SMA-PME et de variants  $\beta$ -FD ait été décrite [4]. Les variations sont généralement des faux-sens et entraînent une forte diminution ou une perte de la fonction enzymatique, conduisant à une accumulation de céramides dans les lysosomes. L'augmentation des taux de céramides s'accompagne d'une inflammation tissulaire.

### Un large spectre de manifestations cliniques liées à des mutations dans un seul gène

Ces 70 dernières années, un peu plus de 200 patients ont été décrits comme étant atteints d'un déficit en ACDase, la majorité d'entre eux présentant le phénotype « classique » de la maladie de Farber [4]. Les trois signes pathognomoniques de cette dernière sont la présence de nodules sous-cutanés, d'une arthrite (articulation douloureuse) et d'une voix rauque (nodules sur le larynx), très inflammatoires du fait de l'accumulation des céramides. Cinq types ou formes cliniques de

FD liés à un déficit en ACDase ont été décrits avec des manifestations et pronostiques variables selon l'atteinte des tissus. Le type 1 est la forme classique et la plus fréquente de la maladie. Outre la triade citée précédemment, l'existence d'une surcharge multiviscérale avec atteintes pulmonaire et neurologique inflammatoires en fait toute la gravité conduisant au décès des patients vers l'âge de 2-3 ans. Les patients atteints des types 2 et 3 ont une atteinte neurologique plus légère, avec une survie jusqu'à l'adolescence [8]. Le type 4 est une forme néonatale sévère de la maladie. Ces patients présentent une hépatosplénomégalie entraînant le décès dans les premiers mois de vie. Le type 5 se traduit par un déclin neurologique progressif avec un déficit intellectuel, une perte du langage et des crises convulsives.

L'amyotrophie spinale avec épilepsie progressive (SMA-PME), décrite pour la première fois en 1979 [2], n'a été associée au gène *ASAH1* que 30 ans plus tard [3] du fait de l'absence de la triade caractéristique de la FD et des signes de surcharge viscérale [4]. La maladie peut se manifester entre 3 et 5 ans par des difficultés à monter des escaliers et une marche avec des chutes, associées à une faiblesse musculaire et parfois à des fasciculations musculaires. L'électromyogramme montrant une dénervation évoque une atteinte du motoneurone périphérique avec au premier plan une amyotrophie spinale proximale (SMA) de type 3 liée à des mutations du gène *SMN1*. Une surdité, un tremblement et des difficultés d'apprentissage qui y sont souvent associés permettent d'évoquer le diagnostic de SMA non lié à *SMN1*. L'épilepsie apparaît à un âge moyen de 9-10 ans, mais avec une grande variabilité entre individus (3-15 ans). Elle peut être inaugurale de la maladie du fait du caractère parfois modéré des troubles de la marche et de l'apprentissage. Dans la grande majorité des cas, les premières crises sont myocloniques, parfois atoniques, ou sous forme d'absences. Au cours de l'évolution de la maladie, les crises deviennent plus polymorphes et résistantes aux antiépileptiques. L'aggravation des myoclonies corticales et sous-corticales en termes de fréquence et d'intensité, souvent déclenchées par l'émotion et la fatigue, contribue à la perte de la marche vers 13 ans. La répétition d'états de mal myoclonique ou tonico-clonique autour de 15 ans entraîne un état grabataire avec des troubles respiratoires et de déglutition. Le décès survient en moyenne vers 17 ans (15-26 ans).

Un spectre ou continuum clinique existe entre la SMA-PME et la FD avec des formes SMA qui vont évoluer vers des FD tardives, ou inversement, des formes tardives de FD qui peuvent développer un tableau de pseudo-sclérose latérale amyotrophique (SLA) ou SMA [9, 10]. Une variabilité dans l'âge de début et la sévérité peut exister entre les patients porteurs d'un même variant [4], voire au sein d'une même fratrie [11]. Il n'existe donc pas de corrélation génotype-phénotype.

### Modèles murins : outils pour la compréhension de la maladie et le développement thérapeutique

Afin de mieux comprendre la physiopathologie du déficit en ACDase, des modèles animaux de la maladie ont été développés. Parmi eux, trois modèles murins se distinguent. Généré en 2013, le *Asah1*<sup>P361R/P361R</sup> (P361R-Farber) est le premier modèle murin viable du déficit en ACDase. Basé sur une mutation identifiée chez un patient atteint de FD, ce modèle a été

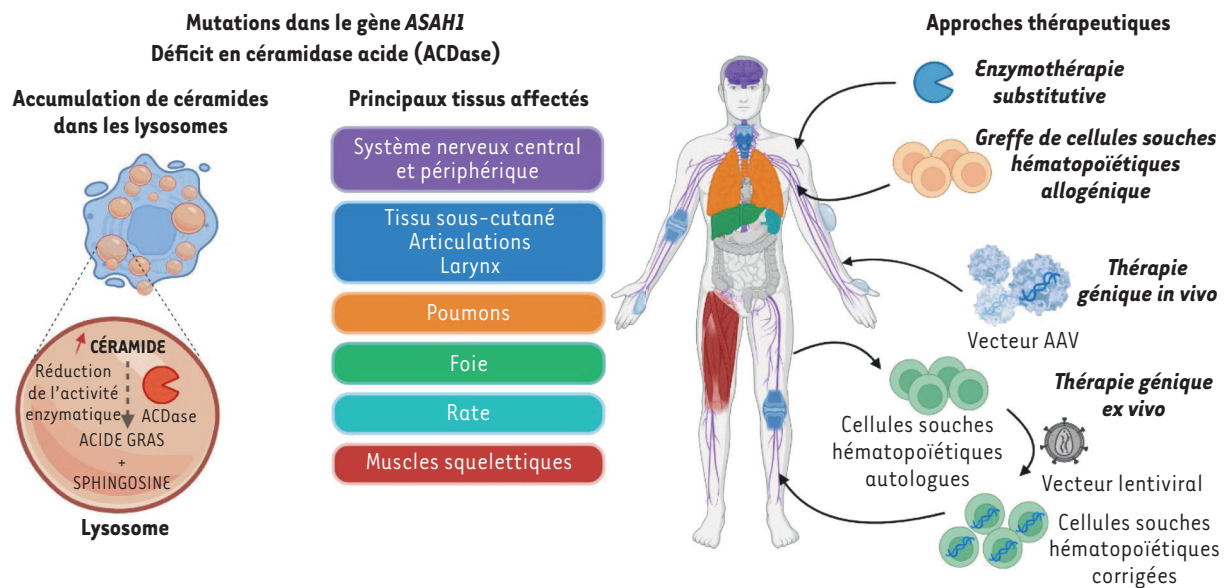
obtenu en introduisant un variant faux-sens (c.1082C>G) dans l'exon 13 du gène *Asah1*, conduisant au remplacement d'un résidu proline par une arginine en position 361 [12]. Comme pour les formes sévères de la maladie humaine, les souris mutantes présentent une hépatosplénomégalie, une hématopoïèse altérée, une détresse respiratoire, des troubles neurologiques dus à une neuroinflammation, y compris une atteinte au niveau de la rétine et du nerf optique [4, 12-14]. Le phénotype des souris P361R-Farber est progressif et conduit à leur décès à un âge moyen de 70 jours. Des analyses biochimiques chez ces animaux ont montré une activité ACDase réduite et une accumulation de céramides dans divers organes et tissus, y compris le système nerveux central (SNC).

Un autre modèle murin de la maladie de Farber, la lignée *Asah1*<sup>tmEx1</sup>, a été généré en 2018 par délétion de l'exon 1 du gène *Asah1* codant le signal peptidique de la céramidase acide [15]. Cette mutation empêche l'adressage de l'ACDase au lysosome, réduit son activité enzymatique et entraîne une accumulation de céramides dans le cerveau et les organes périphériques comme le foie, la rate, les poumons et les reins. Les souris mutantes présentent un profil sérique de cytokines inflammatoires similaire à celui des patients atteints de la FD ainsi que des signes sévères de la pathologie avec une médiane de survie des animaux autour de 50 jours.

Plus récemment, en 2023, un modèle murin nommé P361R-SMA a été obtenu à partir de la lignée P361R-Farber par délétion d'une cassette de résistance à la néomycine localisée dans l'intron 12 du gène et qui interférait avec son expression. Ces souris mutantes développent un phénotype moins sévère, plus proche de celui des patients atteints de la SMA-PME, avec une médiane de survie des animaux de 145 jours [16]. Ces souris P361R-SMA présentent des signes neurologiques progressifs avec faiblesse musculaire et diminution de la sensibilité, mais pas d'épilepsie myoclonique spontanée. Les analyses histopathologiques ont montré la présence d'infiltrats inflammatoires dans plusieurs organes périphériques comme la rate, le foie et la vessie, mais surtout au niveau de la moelle épinière avec une démyélinisation et une dégénérescence axonale dans la substance blanche. Les niveaux de céramides sont élevés dans le SNC, de manière plus importante dans la moelle épinière que dans le cerveau.

### Perspectives thérapeutiques pour le traitement du déficit en céramidase acide

Plusieurs stratégies thérapeutiques sont à l'étude pour le déficit en ACDase lié à des mutations du gène *ASAH1* (Figure 1). Une première approche a été testée chez des



**Figure 1. Déficit en céramidase acide dû à des mutations dans le gène *ASAH1* et perspectives thérapeutiques.** AAV : vecteur dérivé de virus adéno-associé (Créé avec BioRender)

patients atteints de la FD. Elle a consisté à effectuer une transplantation allogénique de cellules souches hématopoïétiques. Les résultats ont montré que ce traitement conduit à une correction complète et persistante des signes inflammatoires dans les tissus périphériques, mais n'empêche pas la progression de la maladie neurologique [17], comme cela a été observé dans d'autres maladies lysosomales affectant le SNC et traitées à un stade symptomatique, comme la mucopolysaccharidose de type II [18]. Afin d'améliorer l'efficacité de ce type de traitement, notamment au niveau du SNC, une transplantation autologue de cellules souches hématopoïétiques transduites par un vecteur lentiviral *ex vivo* porteur de la séquence codante d'*ASAH1* a été envisagée et testée chez des primates non humains sains avec des résultats prometteurs [19]. Une augmentation de l'activité spécifique de l'ACDase à des niveaux supra-physiologiques dans les cellules sanguines périphériques et la moelle osseuse a été détectée chez les animaux traités. Cette augmentation s'est accompagnée d'une réduction des taux de céramides dans certains tissus, sans conduire à des effets secondaires sur une durée d'au moins un an. Ces résultats pourraient donc ouvrir des perspectives de développement clinique, comme pour la leucodystrophie métachromatique [20].

Une autre approche, la thérapie enzymatique substitutive (TES), a été utilisée dans plusieurs maladies de surcharge lysosomale comme les maladies de Fabry, de Gaucher de type 1 ou de Pompe [21]. Elle consiste à administrer régulièrement une enzyme recombinante fonctionnelle par voie intraveineuse. Cette stratégie thérapeutique a été testée chez le modèle murin P361R-Farber. L'administration d'ACDase se traduit par un allongement d'une dizaine de jours de la survie des souris et une réduction de l'accumulation des céramides dans les tissus périphériques, mais pas dans le cerveau [22]. Ainsi, la TES pourrait être utile chez certains patients, même s'il existe des limites et si son


efficacité pourrait varier en fonction de la sévérité des manifestations cliniques [23].

Une approche alternative de thérapie génique consiste à utiliser des vecteurs dérivés de virus adéno-associés (AAV) pour transférer un transgène *ASAH1* dans les cellules. Les vecteurs AAV recombinants présentent l'avantage de transduire de nombreux types cellulaires suite à une administration intraveineuse ou locale. De plus, ils restent sous forme épisomale dans les noyaux, ne s'intégrant pas ou très peu dans le génome, et permettent une expression du transgène thérapeutique à long terme. Ce type de thérapie a été testé chez les souris P361R-Farber par administration intravitreuse d'un vecteur AAV porteur du transgène humain *ASAH1* et a conduit à l'amélioration des signes de la maladie dans la rétine [24]. Une étude par injection intraveineuse d'un vecteur AAV codant pour *ASAH1* a aussi été réalisée dans notre laboratoire avec des résultats encourageants chez les souris mutantes P361R-Farber (manuscrit en cours de rédaction). Une approche de thérapie génique *in vivo* par administration de vecteurs AAV pourrait donc permettre de traiter les manifestations cliniques chez les patients atteints de la SMA-PME et de la FD.

Comme pour d'autres pathologies à surcharge lysosomale [21], la FD et la SMA-PME pourraient bénéficier du phénomène de correction croisée par la thérapie génique. Selon ce mécanisme, les cellules transduites par le vecteur viral secrèteraient l'enzyme fonctionnelle, laquelle serait par la suite recaptée par les


cellules voisines via les récepteurs au mannose-6-phosphate situés à la membrane plasmique, corrigeant ainsi ces cellules non-transduites par le vecteur. En effet, une étude a montré que l'ACDase recombinante peut être sécrétée, puis recaptée par des fibroblastes de patients atteints de la FD, conduisant à une réduction significative des taux de céramides [22]. Ce processus pourrait donc permettre d'étendre les effets bénéfiques de la thérapie au-delà des cellules directement traitées, amplifiant son impact thérapeutique.

## Conclusion

Une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques de la maladie de Farber et de l'amyotrophie spinale avec épilepsie myoclonique progressive reste nécessaire, y compris dans le système neuromusculaire, afin d'adapter au mieux les différentes thérapies expérimentales en cours de développement ou d'en trouver d'autres, y compris pharmacologiques. Enfin, compte-tenu de l'atteinte du système nerveux chez de nombreux patients, les approches thérapeutiques visant à améliorer les manifestations cliniques périphériques et neurologiques sont indispensables afin d'améliorer la qualité de vie des patients ainsi que leur pronostic vital. 

## SUMMARY

### Therapeutic perspectives for lysosomal storage disorders caused by acid ceramidase deficiency

Farber disease and spinal muscular atrophy with progressive myoclonic epilepsy are two ultra-rare lysosomal storage disorders resulting from loss-of-function mutations in the *ASAH1* gene encoding for acid ceramidase (ACDase). ACDase deficiency leads to the intracellular accumulation of ceramides with an inflammatory response in tissues. These two diseases manifest differently but are part of a clinical continuum with variable severity affecting the nervous system and/or peripheral tissues, including the neuromuscular system. To date, no specific or curative treatments are available for patients affected by acid ceramidase deficiency. Here, we summarize the clinical features, enzyme function, mouse models and therapeutic perspectives for these allelic diseases. 

## PRIX SFM

Marion Derome a reçu le prix du Meilleur poster lors des journées de la Société française de myologie (SFM) 2022.

## LIENS D'INTÉRÊT

ABB, JD et MM sont inventeurs dans une demande de brevet intitulée « Vectors for the treatment of acid ceramidase deficiency ».

## RÉFÉRENCES

- Koch J, Gärtner S, Li CM, et al. Molecular Cloning and Characterization of a Full-length Complementary DNA Encoding Human Acid Ceramidase: Identification of the First Molecular Lesion Causing Farber Disease. *J Biol Chem* 1996 ; 271 (51) : 33110-5.
- Jankovic J, Rivera VM. Hereditary myoclonus and progressive distal muscular atrophy. *Ann Neurol* 1979 ; 6 (3) : 227-31.
- Zhou J, Tawk M, Tiziano FD, et al. Spinal Muscular Atrophy Associated with Progressive Myoclonic Epilepsy Is Caused by Mutations in *ASAH1*. *Am J Hum Genet* 2012 ; 91 (1) : 5-14.

- Yu FPS, Amintas S, Levade T, et al. Acid ceramidase deficiency: Farber disease and SMA-PME. *Orphanet J Rare Dis* 2018 ; 13.
- Kleynerman A, Rybova J, Faber ML, et al. Acid Ceramidase Deficiency: Bridging Gaps between Clinical Presentation, Mouse Models, and Future Therapeutic Interventions. *Biomolecules* 2023 ; 13 (2) : 274.
- Gebai A, Gorelik A, Li Z, et al. Structural basis for the activation of acid ceramidase. *Nat Commun* 2018 ; 9 (1) : 1621.
- Ferlinz K, Kopal G, Bernardo K, et al. Human Acid Ceramidase: Processing, Glycosylation, and Lysosomal Targeting. *J Biol Chem* 2001 ; 276 (38) : 35352-60.
- Ehler K, Frosch M, Fehse N, et al. Farber disease: clinical presentation, pathogenesis and a new approach to treatment. *Pediatr Rheumatol Online J* 2007 ; 5 : 15.
- Lee BH, Mongiovi P, Levade T, et al. Spinal muscular atrophy and Farber disease due to *ASAH1* variants: A case report. *Am J Med Genet A* 2020 ; 182 (10) : 2369-71.
- Puma A, Ezaru A, Cavalli M, et al. A case of *ASAH1*-related pure SMA evolving into adult-onset Farber disease. *Clin Genet* 2021 ; 100 (2) : 234-5.
- Antonarakis SE, Valle D, Moser HW, et al. Phenotypic variability in siblings with Farber disease. *J Pediatr* 1984 ; 104 (3) : 406-9.
- Alayoubi AM, Wang JCM, Au BCY, et al. Systemic ceramide accumulation leads to severe and varied pathological consequences. *EMBO Mol Med* 2013 ; 5 (6) : 827-42.
- Sikora J, Dworski S, Jones EE, et al. Acid Ceramidase Deficiency in Mice Results in a Broad Range of Central Nervous System Abnormalities. *Am J Pathol* 2017 ; 187 (4) : 864-83.
- Yu FPS, Sajdak BS, Sikora J, et al. Acid Ceramidase Deficiency in Mice Leads to Severe Ocular Pathology and Visual Impairment. *Am J Pathol* 2019 ; 189 (2) : 320-38.
- Beckmann N, Kadow S, Schumacher F, et al. Pathological manifestations of Farber disease in a new mouse model. *Biol Chem* 2018 ; 399 (10) : 1183-202.
- Nagree MS, Rybova J, Kleynerman A, et al. Spinal muscular atrophy-like phenotype in a mouse model of acid ceramidase deficiency. *Commun Biol* 2023 ; 6 : 560.
- Ehler K, Levade T, Di Rocco M, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation in Farber disease. *J Inherit Metab Dis* 2019 ; 42 (2), 286-294.
- Guffon N, Bertrand Y, Forest I, et al. Bone Marrow Transplantation in Children with Hunter Syndrome: Outcome after 7 to 17 Years. *J Pediatr* 2009 ; 154 (5) : 733-7.
- Walia JS, Neschadim A, Lopez-Perez O, et al. Autologous Transplantation of Lentivector/Acid Ceramidase-Transduced Hematopoietic Cells in Nonhuman Primates. *Hum Gene Ther* 2011 ; 22 (6) : 679-87.
- Boespflug-Tanguy O, Sevin C, Pigué F. Gene therapy for neurodegenerative disorders in children: dreams and realities. *Archives de Pédiatrie* 2023 ; 30 (8, Supplement 1) : 8S32-40.
- Ellison S, Parker H, Bigger B. Advances in therapies for neurological lysosomal storage disorders. *J Inherit Metab Dis* 2023 ; 46 (5) : 874-905.
- He X, Dworski S, Zhu C, et al. Enzyme replacement therapy for Farber disease: Proof-of-concept studies in cells and mice. *BBA Clin* 2017 ; 7 : 85-96.
- Parini R, Deodato F. Intravenous Enzyme Replacement Therapy in Mucopolysaccharidoses: Clinical Effectiveness and Limitations. *Int J Mol Sci* 2020 ; 21 (8) : 2975.
- Zhang H, Nagree MS, Liu H, et al. rAAV-mediated over-expression of acid ceramidase prevents retinopathy in a mouse model of Farber lipogranulomatosis. *Gene Ther* 2023 ; 30 (3) : 297-308.

TIRÉS À PART  
M. Derome