

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
23 septembre 2010 (23.09.2010)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2010/106295 A1

(51) Classification internationale des brevets :
A61K 38/17 (2006.01) *A61P 21/00* (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01) *A23L 1/29* (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2010/050491

(22) Date de dépôt international :
18 mars 2010 (18.03.2010)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
0901260 18 mars 2009 (18.03.2009) FR

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) :
GENETHON [FR/FR]; 1 bis Rue de l'Internationale,
F-91000 Evry (FR). **CENTRE NATIONAL DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE** [FR/FR]; 3 Rue
Michel Ange, F-75794 Paris (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) :
KICHLER, Antoine [FR/FR]; 21 Rue Stevenson,
F-91540 Mennecy (FR). **SCHERMAN, Daniel** [FR/FR];
10 Rue Erard, F-75012 Paris (FR).

(74) Mandataires : **DENJEAN, Eric** et al.; CABINET
LAURENT & CHARRAS, Le Contemporain, 50 Chemin
de la Bruyère, F-69574 DARDILLY Cédex (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))
- avec la partie de la description réservée au listage des
séquences (règle 5.2.a))

(54) Title : USE OF DECORIN FOR INCREASING MUSCLE MASS

(54) Titre : UTILISATION DE LA DÉCORINE POUR AUGMENTER LA MASSE MUSCULAIRE

(57) Abstract : The invention relates to decorin for increasing muscle mass, in particular in the treatment of muscular dystrophies.

(57) Abrégé : L'invention concerne la décorine pour augmenter la masse musculaire, notamment dans le traitement des dystrophies musculaires.



WO 2010/106295 A1

UTILISATION DE LA DECORINE POUR AUGMENTER LA MASSE MUSCULAIRE

DOMAINE TECHNIQUE

5

La présente invention vise à augmenter la masse musculaire chez l'homme ou l'animal.

10 Plus précisément, elle préconise l'utilisation de la décorine pour développer la masse musculaire, et notamment traiter des conditions pathologiques associées à une fonte musculaire, telles que des dystrophies musculaires.

ETAT ANTERIEUR DE LA TECHNIQUE

15 Les maladies neuromusculaires regroupent des pathologies diverses qui sont généralement associées à une perte de force musculaire transitoire ou permanente. Cette perte de force s'accompagne le plus souvent d'une fonte musculaire, également appelée amyotrophie.

20 Parmi ces maladies musculaires, les myopathies constituent un groupe important correspondant à des atteintes de la fibre musculaire à proprement parler. Parmi elles, les dystrophies musculaires progressives se caractérisent par une diminution de la force musculaire avec généralement une atrophie des muscles, ainsi que par des anomalies à la biopsie musculaire révélant une modification du tissu. Appartiennent
25 notamment à ce groupe la dystrophie musculaire de Duchenne (ou DMD), la dystrophie musculaire de Becker (ou DMB), ainsi que les myopathies des ceintures.

Pour certaines de ces pathologies, les anomalies génétiques associées ont pu être identifiées. Ainsi, les dystrophies musculaires de Duchenne ou de Becker sont liées à
30 des altérations dans le gène codant la dystrophine, la dystrophie des ceintures de type 2A (LGMD 2A ou calpainopathie) à des altérations dans le gène de la calpaïne 3, les sarcoglycanopathies ou myopathies des ceintures de type LGMD 2C, LGMD 2D, LGMD 2E, LGMD 2F à des défauts dans les gènes des γ -, α -, β - et δ -sarcoglycanes, respectivement (McNally EM, Pytel P, *Muscle diseases : the muscular dystrophies*.
35 Annu Rev Pathol. 2007 ; Vol 2 :87-109).

Dans ces cas particuliers, différentes stratégies de thérapie génique sont en cours de développement mais restent délicates à mettre en œuvre.

5 Toutefois et plus généralement dans tous les cas de fonte musculaire, il existe un besoin évident de développer des solutions techniques permettant d'augmenter la masse et/ou le volume musculaire.

10 Ainsi, le document WO 2005/094446 a identifié des anticorps dirigés contre un épitope localisé entre les résidus 40 et 64 de la myostatine humaine mature susceptibles d'augmenter la masse musculaire. Toutefois, cette stratégie basée sur la reconnaissance de la myostatine par un anticorps n'est pas sans poser de problèmes. Il existe donc le besoin de trouver des solutions alternatives.

15 La présente invention repose sur la mise en évidence, par les inventeurs, de cette propriété de la décorine.

20 La décorine appartient à la famille des protéines SLRP (Small Leucine-Rich Proteoglycan) et comprend un segment LRR (Leucine-Rich Repeat). La décorine fait partie de la classe I des SLRP. Les membres de cette famille sont sécrétés avec un propeptide qui, dans certains cas, est clivé. La décorine présente également une chaîne glycosaminoglycane (GAG).

25 La décorine est une protéine de la matrice extracellulaire, de structure proche de la protéine biglycan. Elle joue un rôle dans l'assemblage de la matrice et interagit avec différents partenaires, tels que le collagène de type I, II, III et IV, ou encore le facteur TGF-beta (Ameye L, Young MF, *Mice deficient in small leucine-rich proteoglycans : novel in vivo models for osteoporosis, osteoarthritis, Ehlers-Danlos syndrome, muscular dystrophy, and corneal diseases*. Glycobiology 2002 ; Vol 12 :107R-116R ; Reed CC, Iozzo RV, *The role of decorin in collagen fibrillogenesis and skin homeostasis*. Glycoconj J. 2002 ; Vol 19(4-5) :249-55).

35 Ainsi et sur la base de son interaction avec le facteur TGF-beta, le document WO 96/25178 a proposé d'utiliser la décorine pour traiter les pathologies associées à la fibrose tissulaire, c'est-à-dire à une production excessive de matrice extracellulaire, sans rapport avec la problématique de la masse musculaire.

DESCRIPTION DETAILLEE DE L'INVENTION

La présente invention concerne donc l'utilisation de la décorine pour lutter contre la fonte musculaire, voire pour augmenter la masse musculaire.

5

Dans le cadre de l'invention, les termes « masse musculaire » pourraient indifféremment être remplacés par poids ou volume musculaire.

Ainsi et de manière plus précise, l'invention vise aussi bien :

- 10 - une composition comprenant de la décorine pour traiter des pathologies associées à une fonte musculaire ;
- l'utilisation de la décorine pour la préparation d'un médicament destiné à traiter des pathologies associées à une fonte musculaire ;
- une composition comprenant de la décorine pour augmenter la masse
- 15 musculaire ;
- l'utilisation de la décorine pour augmenter la masse musculaire.

En effet, il existe un certain nombre de conditions dans lesquelles la fonte musculaire se produit.

20

Il peut tout d'abord s'agir de conditions pathologiques, en particulier dans le cas des maladies neuromusculaires. Ainsi, la myopathie de Duchenne est une pathologie particulièrement visée mais toutes les formes de maladies neuromusculaires, en particulier les dystrophies musculaires, peuvent être traitées.

25

En outre, la cachexie ou marasme est également un état pathologique visé par la présente invention. Cet état se caractérise par une maigreur extrême, en particulier au niveau musculaire, provoquée par une longue maladie ou un apport protéinique ou calorique insuffisant.

30

Cet état pathologique est notamment observé dans les cas de maladies chroniques telles que le cancer ou le SIDA ou chez les personnes souffrant soit d'insuffisance cardiaque - il y a une atrophie des muscles squelettiques chez 68% des patients -, soit d'incontinence urinaire.

35

Sans être considérées comme pathologiques à proprement parler, certaines situations sont associées à une fonte musculaire : vieillissement, immobilisation prolongée.... Il existe donc là encore un intérêt à augmenter la masse musculaire.

- 5 En outre et notamment dans le domaine agro-alimentaire, l'invention offre la possibilité d'augmenter la production de viande animale. L'utilisation de la décorine présente donc un intérêt tout particulier chez l'animal.

Ainsi, la présente invention repose sur la mise en évidence de propriétés stimulantes
10 de la décorine sur le volume musculaire notamment.

Dans le cadre de l'invention, on appelle, de manière générique, « décorine » la protéine décrite par Krusius *et al.* (Krusius T., Ruoslahti E., *Primary structure of an extracellular matrix proteoglycan core protein deduced from cloned cDNA*. Proc Natl
15 Acad Sci USA 1986 ; Vol 83(20) :7683-87). La protéine humaine décrite dans ce document présente la séquence SEQ ID NO : 1. Elle se présente sous la forme d'une préproprotéine de 359 acides aminés. Aussi bien les protéines natives, que celles dépourvues de leur propeptide et/ou de leur séquence signal (329 aa), sont visées par la présente invention.

20 Même si la décorine à l'état naturel présente une chaîne glycosaminoglycane (GAG), une décorine dépourvue de GAG (GAG-) peut également être mise en œuvre dans le cadre de l'invention. Celle-ci peut par exemple être obtenue par traitement enzymatique.

25 La décorine peut provenir de tout organisme mais, dans le cadre de l'invention, la décorine d'origine humaine est privilégiée. Plus généralement et de manière avantageuse, la protéine provient du même organisme que celui dans lequel elle va être administrée. Ainsi et de manière privilégiée, pour les indications thérapeutiques
30 chez l'homme, une décorine humaine sera avantageusement utilisée.

En effet, un des avantages primordiaux de la solution proposée dans le cadre de la présente invention est que la décorine est une protéine naturellement présente chez les mammifères, en particulier l'homme, et donc *a priori* non susceptibles d'entraîner des
35 effets secondaires ou des réponses immunes.

Concernant la décorine humaine, il a également été montré qu'il existait des variants transcriptionnels (variants b, c, d et e), donnant lieu à des protéines isoformes de séquence SEQ ID NO : 2, 3, 4 et 5, respectivement, visées dans le cadre de la présente demande.

5

Il apparaît donc que dans le cadre de l'invention, le terme « décorine » a un sens large et couvre aussi bien :

- la protéine native, notamment de séquence SEQ ID NO : 1;
- la protéine avec ou sans la chaîne GAG (GAG+ ou GAG-, respectivement) ;
- 10 - la protéine dépourvue du propeptide et/ou de la séquence signal ;
- des variants de ces protéines, notamment incarnés par les séquences SEQ ID NOS : 2 à 5 ;
- plus généralement des fragments actifs de ces protéines,
- ou bien des dérivés actifs ou équivalents fonctionnels.

15

Concernant les fragments ou les dérivés, il s'agit bien sûr de fragments ou dérivés actifs. L'activité visée que doit posséder ces fragments ou dérivés concerne la capacité à augmenter la masse musculaire, laquelle est aisément évaluée grâce à la mise en œuvre du test décrit dans la présente demande.

20

En pratique, ceux-ci présentent avantageusement 60% d'identité avec l'une des séquences SEQ ID NO : 1 à 7, encore plus avantageusement 70%, 80%, voire 90% d'identité.

25

Ainsi et à titre d'exemple pour les dérivés, il peut s'agir de la séquence SEQ ID NO : 6 correspondant à la protéine murine de 354 aa, qui présente 80% d'identité avec la séquence humaine SEQ ID NO : 1.

30

Selon un mode de réalisation privilégié de l'invention, il s'agit d'un fragment actif de la décorine. On entend avantageusement par « fragment » un peptide comportant moins de 100 acides aminés, encore plus avantageusement moins de 50 acides aminés.

35

La mise en œuvre d'un peptide en lieu et place de la protéine présente des avantages certains, notamment au niveau de sa production mais également concernant le risque éventuel d'interférences indésirables *in vivo*.

Or, il a été démontré dans le cadre de la présente demande qu'un fragment de 41 résidus de la partie N-terminale de la décorine murine (SEQ ID NO : 7) correspondant aux résidus 31 à 71 de la séquence SEQ ID NO : 6, rapporté pour fixer le zinc (Yang VW, LaBrenz SR, Rosenberg LC, McQuillan D, Höök M. *Decorin is a Zn²⁺ metalloprotein*. J Biol Chem. 1999, 274(18):12454-60), présentait l'activité
5 recherchée. Il a également été démontré qu'un fragment encore plus petit de 30 résidus (résidus 42 à 71 de la séquence SEQ ID NO : 6 correspondant à SEQ ID NO : 15) était également actif.

- 10 Le domaine correspondant, présent dans la décorine humaine, peut être aisément déterminé grâce à la méthodologie décrite dans ce document. Un tel fragment peut par exemple présenter la séquence SEQ ID NO : 16.

De manière plus générale, l'invention concerne donc la mise en œuvre d'un fragment
15 de la décorine comprenant le domaine de fixation au zinc, en pratique les résidus 31 à 71, éventuellement 42 à 71 de la séquence murine. Dans un mode de réalisation particulier, le fragment en question présente une séquence correspondant à la séquence SEQ ID NO : 7 ou SEQ ID NO : 15. En outre, des fragments présentant
20 avantageusement 50% d'identité avec la séquence SEQ ID NO : 7 ou 15, encore plus avantageusement 60%, 70%, 80%, voire 90% d'identité, et conservant leur capacité à fixer le zinc sont également visés par la présente invention.

En outre, la décorine, ses fragments et ses dérivés actifs peuvent également se présenter sous forme de protéine fusion ou protéine chimérique, avec un autre
25 fragment protéique à leur extrémité N ou C-terminale. Celles-ci peuvent par exemple, mais de façon non limitative, augmenter le temps de résidence de la protéine dans l'organisme. Un exemple privilégié est la chimère constituée de la région constante des IgG de mammifère, associée via une séquence charnière à la décorine ou l'un de ses fragments. Un autre exemple est l'albumine humaine ou de mammifère, associée
30 elle-aussi à la décorine ou à un fragment protéique issu de la décorine. De telles associations peuvent aussi bien être obtenues à partir d'un ADNc recombiné que par liaison chimique des 2 protéines.

La présente invention repose donc sur un apport exogène de décorine. De fait, la
35 composition visée par l'invention comprend soit la protéine en tant que telle, soit un système de production de la protéine.

Concernant la protéine en tant que telle, il peut aussi bien s'agir d'une décorine native, purifiée à partir d'un organisme produisant naturellement cette protéine, ou bien d'une protéine recombinante produite à partir d'un quelconque des systèmes de synthèse disponibles et connus de l'homme du métier.

5

Alternativement, une séquence d'acides nucléiques codant pour la décorine est placée dans un système d'expression, avantageusement sous le contrôle d'un promoteur dans un vecteur. Après introduction dans l'organisme, la décorine est produite *in vivo*. Le transfert des acides nucléiques (ADN ou ARN) peut se faire soit avec des approches virales de transfert de gènes (par exemple virus adéno-associé ou AAV), soit avec des approches non virales (par exemple par simple injection intramusculaire d'un plasmide). Un ADN génomique peut avoir un intérêt puisque dans certains cas, la présence des introns stabilise l'ARNm préépipissé et améliore sa stabilité dans le noyau et son exportation, ce qui conduit à une meilleure expression protéique.

15

Ainsi, la décorine, ses dérivés ou ses fragments, peuvent être fournis sous forme d'acides nucléiques, notamment ADN ou ARN. Il peut par exemple s'agir des transcrits naturellement présents chez l'homme ou la souris. Ainsi, les séquences suivantes sont privilégiées :

- 20 - La séquence SEQ ID NO : 8 correspond au variant A1 (Accession Number NM_001920.3), qui est le plus long des transcrit et code pour l'isoforme a de la décorine humaine de séquence SEQ ID NO : 1 (Accession Number NP_001911) ;
- La séquence SEQ ID NO : 9 correspond au variant A2 (Accession Number
25 NM_133503.2), qui utilise un exon alternatif au niveau du 5'UTR en comparaison avec le variant A1 et code pour la même protéine de séquence SEQ ID NO : 1 (Accession Number NP_598010.1) ;
- La séquence SEQ ID NO : 10 correspond au variant B (Accession Number
30 NM_133504.2), qui est dépourvu des exons 3 et 4 dans la région codante, en comparaison avec le variant A1. Ceci ne cause pas de changement de phase de lecture mais code pour une isoforme b de la protéine, dépourvue d'un fragment interne de 109 aa et de séquence SEQ ID NO : 2 (Accession Number NP_598011.1) ;
- La séquence SEQ ID NO : 11 correspond au variant C (Accession Number
35 NM_133505.2), qui est dépourvu des exons 3, 4 et 5 dans la région codante, en comparaison avec le variant A1. Ceci cause un changement de phase de lecture

- interne et l'isoforme c codée, de séquence SEQ ID NO : 3 (Accession Number NP_598012.1) est plus courte de 147 acides aminés par rapport à l'isoforme a ;
- La séquence SEQ ID NO : 12 correspond au variant D (Accession Number NM_133506.2), qui est dépourvu des exons 4, 5, 6 et 7 dans la région codante, en comparaison avec le variant A1. Ceci ne cause pas de changement de phase de lecture mais code pour une isoforme d de la protéine, dépourvue d'un fragment interne de 187 aa, de séquence SEQ ID NO : 4 (Accession Number NP_598013.1) ;
 - La séquence SEQ ID NO : 13 correspond au variant E (Accession Number NM_133507.2), qui est dépourvu des exons 3, 4, 5, 6 et 7 dans la région codante, en comparaison avec le variant A1. Ceci cause un changement de phase de lecture et l'isoforme e codée, de séquence SEQ ID NO : 5 (Accession Number NP_598014.1) est plus courte de 284 acides aminés par rapport à l'isoforme a ;
 - La séquence SEQ ID NO : 14 code pour la protéine murine de séquence SEQ ID NO : 6 (Accession Number P28654).

Comme déjà dit, la décorine est connue pour être une métalloprotéine à zinc. De ce fait et dans le but de potentialiser son activité, il peut être choisi d'apporter du zinc, en plus de celui naturellement disponible dans l'organisme auquel est administrée la décorine. Ainsi et selon ce mode de réalisation, la composition comprenant la décorine comprend également du zinc, par exemple sous forme de chlorure de zinc, avantageusement à une concentration comprise entre 1 et 50 μM , voire égale à 15 μM .

Une composition comprenant la décorine selon l'invention, destinée au traitement des pathologies associées à une fonte musculaire ou destinée à l'augmentation de la masse musculaire, peut en outre contenir tout composé ou excipient acceptable, notamment pharmaceutique. La voie d'administration peut aussi bien être intramusculaire qu'intraveineuse, voire sous-cutanée, intrapéritonéale ou orale.

Pour favoriser la prise de greffe de cellules précurseurs ou cellules souches, il peut être avantageux d'associer l'administration de la décorine à la greffe de cellules (myoblastes, cellules souches, ...). Cette administration peut se faire de manière simultanée ou décalée dans le temps.

Il peut aussi être avantageux de combiner une thérapie génique, destinée au traitement d'une maladie neuromusculaire, avec l'administration de la décorine. Ainsi et selon un

mode de réalisation privilégié, un gène thérapeutique est associé au traitement par la décorine. L'administration des 2 traitements peut se faire de manière simultanée ou décalée dans le temps.

- 5 Les effets avantageux de la décorine se traduisent par une augmentation du volume (ou masse ou poids) musculaire, due à une augmentation de la surface des fibres associée éventuellement à une augmentation du nombre de fibres. Ces effets positifs peuvent être observés pour les différents muscles squelettiques, aussi bien chez un organisme atteint d'une pathologie affectant sa masse musculaire que chez un individu
10 sain. A priori, aucun effet secondaire, ni aucune réaction immunologique n'est à déplorer.

EXEMPLES DE REALISATION

- 15 L'invention et les avantages qui en découlent ressortiront mieux des exemples de réalisation suivants, à l'appui des figures annexées. Ceux-ci n'ont toutefois aucune portée limitative.

- L'invention est illustrée plus avant à l'aide d'une décorine recombinante de souris, injectée par voie intramusculaire dans des souris *mdx* possédant un gène codant une dystrophine altérée et servant de modèle d'étude pour la myopathie de Duchenne, ainsi que des souris gamma-sarcoglycan -/- (modèle murin de sarcoglycanopathies sur fond pur C57/Bl6).
- 20

25 LEGENDES DES FIGURES

La figure 1 est une vue du muscle *tibialis antérieur* prélevé sur la souris *mdx* 7, ayant reçu (à gauche) ou non (à droite) une injection intramusculaire de décorine.

- La figure 2 est une vue du muscle *tibialis antérieur* prélevé sur la souris *mdx* 8, ayant
30 reçu (à gauche) ou non (à droite) une injection intramusculaire de décorine.

La figure 3 est une vue du muscle *tibialis antérieur* prélevé sur la souris *gamma-sarco* -/- 4 à J18, ayant reçu (à gauche) ou non (à droite) une injection intramusculaire de décorine.

- La figure 4 est une vue d'une coupe transversale du muscle *tibialis antérieur* prélevé
35 sur la souris *gamma-sarco* -/- 4 à J18, ayant reçu (TAG4 à droite de la figure) ou non (TAD4 à gauche de la figure) une injection intramusculaire de décorine.

I) MATERIELS ET METHODES

Préparation de la solution de mDécorine

- 5 La protéine utilisée est de la décorine recombinante de souris (mDécorine) de séquence SEQ ID NO : 6, fournie par la société R&D systems.

24-40 heures avant l'injection, 100 µl de NaCl stérile à 150 mM et 6 µl de ZnCl₂ à 250 µM sont ajoutés à 100 µg de mDécorine en poudre. Le volume final est de 106 µl
10 avec une concentration finale d'environ 1 µg/µl. Pour les injections dans les muscles contrôles, 100 µl de NaCl à 150 mM et 6 µl de ZnCl₂ à 250 µM sont également mélangés. Toutes ces solutions, après avoir été vortexées, sont conservées à 4°C.

Injection in vivo

15

Toutes les souris sont traitées selon les directives Européennes pour la santé humaine et l'utilisation des animaux expérimentaux.

- Des souris dystrophiques *mdx* (S-linked muscular dystrophy) ou gamma-sarcoglycan -
20 /-, âgées d'au moins 6 semaines, ont été utilisées. Dans le *tibialis antérieur gauche* (TAG) qui correspond au muscle traité, 20 µg mDécorine -soit 22 µl de la solution décrite ci-dessus (20 µg Décorine + 15 µM ZnCl₂ / 22 µl NaCl)- ont été injectés. Pour le muscle témoin *tibialis antérieur droit* (TAD), 22 µl de la solution témoin décrite ci-dessus (15 µM ZnCl₂ / 22 µl NaCl) ont été administrés. Après un nombre déterminé
25 de jours après l'injection, les TAD et TAG sont prélevés après sacrifice des souris, pesés puis congelés en vue d'études histologiques.

Préparation et injection de la solution contenant le Peptide mDCN 31-71 :

- 30 Le peptide ayant la séquence SEQ ID NO : 7 a été synthétisé par la société NeoMPS avec une pureté > 65%. Il a été dissout à 2 mg/mL dans du NaCl 150 mM et stocké à -80°C.

- Pour les injections, le protocole de préparation est identique à celui utilisé pour la
35 protéine, à savoir : 24-40 heures avant l'injection, la quantité désirée de peptide est prélevée de la solution mère et mélangée avec une solution de chlorure de zinc

(ZnCl₂) et de NaCl 150 mM, de manière à avoir une concentration finale de 15 µM en zinc. Le protocole d'injection est identique à celui utilisée pour la protéine.

Analyses histologiques

5

- Marquage laminine :

Des sections cryostat (8 µm) des muscles traités et témoins sont réalisés suivant les techniques standards. Les lames sont fixées avec du Dakopen (DAKO®, Réf. : S 2002) pendant 10 minutes à l'air libre et ensuite bloquées avec une solution de PBS / sérum de chèvre 10%, pendant 30 min à température ambiante et en chambre humide. L'anticorps lapin anti laminine (DAKO®, Réf. : Z0097) est appliqué sur les lames à une dilution de 1 : 1000 pendant 12h en chambre humide. Les lames sont alors rincées dans du PSB (5 minutes) sous agitation et l'anticorps secondaire (*Kit Envision HRP Rabbit*) est appliqué sur les lames en chambre humide pendant 30 min à température ambiante. Après avoir rincées les lames dans du PBS (5 minutes) sous agitation, on applique la DAB (DAKO®, Réf. : K 3466) sur les coupes pendant 2 à 5 minutes à température ambiante et en chambre humide. On rince les lames en renouvellement constant et on monte les lames sous la hotte chimique. L'analyse des résultats est réalisée à l'aide du logiciel ELLIX.

20

- Marquage HPS :

Des sections cryostat (8 µm) des muscles traités et témoins sont réalisés suivant les techniques standards. Les lames sont plongées dans l'hématoxyline de Harris pendant 3 minutes pour être ensuite rincées à l'eau courante. Les lames sont ensuite trempées dans l'alcool chlorhydrique, rincées et plongées dans l'eau de Scott pendant une minute. Après rinçage, les lames sont plongées dans la Phloxine pendant 30 secondes, rincées à l'eau courante et trempées dans l'éthanol absolu pendant une minute. Après une exposition au Safran pendant 3 minutes, les lames sont rincées à l'éthanol absolu et monté avec la résine Eukitt dont le solvant est le Xylène. L'analyse des résultats est réalisée à l'aide du logiciel CARTHOGRAF.

30

II) RESULTATS

1/ Poids des muscles à différents temps après injection dans des souris dystrophiques mdx :

5

Les muscles TAD et TAG ont été prélevés après 7 (J7), 14 (J14) ou 21 (J21) jours après l'injection, puis pesés. L'expérience a été répétée sur trois souris distinctes à chaque temps. Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux suivants :

10 Temps J7 :

Souris	Muscles	Poids (en g)	Croissance en % (100*TAG/TAD)-100
Souris 1	TAD 1	0,0661	3,18
	TAG 1	0,0682	
Souris 2	TAD 2	0,0774	0,90
	TAG 2	0,0781	
Souris 3	TAD 3	0,0749	2,94
	TAG 3	0,0771	

Temps J14 :

Souris	Muscles	Poids	Croissance
Souris 4	TAD 4	0,0707	58,98
	TAG 4	0,1124	
Souris 5	TAD 5	0,0694	48,41
	TAG 5	0,103	
Souris 6	TAD 6	0,0854	6,67
	TAG 6	0,0911	

15

Temps J21 :

Souris	Muscles	Poids	Croissance
Souris 7	TAD 7	0,068	53,09
	TAG 7	0,1041	
Souris 8	TAD 8	0,0567	66,31
	TAG 8	0,0943	
Souris 9	TAD 9	0,0731	37,21
	TAG 9	0,1003	

La différence de masse musculaire au jour 21 entre une souris *mdx* ayant ou non reçu une injection intramusculaire de décorine peut être visualisée aux Figures 1 et 2 concernant les souris 7 et 8, respectivement. On constate une nette augmentation de la masse musculaire (+ 53,09% et + 66,31%, respectivement).

5

2/ Poids des muscles à J18 après injection dans des souris dystrophiques gamma-sarcoglycan -/- :

Une seconde série d'expériences a été réalisée sur 4 souris gamma-sarco -/-. Le protocole est identique à celui décrit pour *mdx*. Les souris ont été sacrifiées au jour J18. Les résultats obtenus, illustrés aux figures 3 et 4, sont présentés dans le tableau suivant :

10

Souris	Muscles	Poids (en g)	Croissance
Souris 1	TAD 1	0,0456	10,75
	TAG 1	0,0505	
Souris 2	TAD 2	0,0413	17,43
	TAG 2	0,0485	
Souris 3	TAD 3	0,0528	12,31
	TAG 3	0,0593	
Souris 4	TAD 4	0,0444	24,10
	TAG 4	0,0551	

3/ Injection du peptide 31-71 issu de la partie N-terminale de la décorine murine dans des souris *mdx* :

Pour vérifier si la partie N-terminale de la décorine suffit pour observer des augmentations de masse musculaire, des expériences similaires ont été réalisées en présence du peptide mDCN 31-71 (SEQ ID NO : 7) correspondant aux résidus 31-71 de la décorine murine (SEQ ID NO : 6). Ce peptide a été décrit comme étant suffisant et nécessaire pour fixer le zinc (Yang VW, LaBrenz SR, Rosenberg LC, McQuillan D, Höök M. *Decorin is a Zn²⁺ metalloprotein*. J Biol Chem. 1999, 274(18):12454-60.).

Des souris *mdx* ont été injectées par voie IM dans le TA à l'aide des formulations suivantes :

TAG : 65 µg peptide 41 DCN + 15 µM ZnCl₂ / 33 µl NaCl;

TAD : 15 µM ZnCl₂ / 33 µl NaCl.

25

A J18, les souris ont été sacrifiées et le poids des muscles TAG et TAD a été mesuré. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

	<i>Muscle</i>	<i>Poids en mg</i>	<i>Croissance</i>
Souris 4	TAD 4	53,6	8,77
	TAG 4	58,3	
Souris 5	TAD 5	39,2	19,39
	TAG 5	46,8	
Souris 6	TAD 6	40,1	24,69
	TAG 6	50	

- 5 Ces résultats montrent qu'un effet sur la croissance musculaire est conservé en présence de cette seule partie de la décorine.

Des résultats similaires ont pu être obtenus avec un peptide encore plus court de 30 acides aminés, présentant la séquence SEQ ID NO : 15.

REVENDICATIONS

1/ Composition comprenant un fragment de la décorine apte à fixer le zinc pour traiter des pathologies associées à une fonte musculaire.

5

2/ Composition selon la revendication 1, *caractérisée* en ce que les pathologies sont choisies dans le groupe comprenant : les maladies neuromusculaires, avantageusement les dystrophies musculaires telles que la myopathie de Duchenne, et les cachexies.

10

3/ Composition selon la revendication 1 ou 2, *caractérisée* en ce que le fragment comprend la séquence SEQ ID NO : 7 ou 15.

4/ Composition selon la revendication 1 ou 2, *caractérisée* en ce que le fragment présente la séquence SEQ ID NO : 7 ou 15.

15

5/ Composition comprenant de la décorine pour augmenter la masse musculaire,

6/ Composition selon la revendication 5, *caractérisée* en ce que l'augmentation de la masse musculaire vise à compenser la fonte résultant d'une immobilisation ou de la

20

7/ Composition selon la revendication 5 ou 6, *caractérisée* en ce qu'elle est destinée à l'animal.

25

8/ Composition selon l'une des revendications 5 à 7, *caractérisée* en ce que la décorine se présente sous la forme d'un fragment actif.

9/ Composition selon la revendication 8, *caractérisée* en ce que le fragment actif est apte à fixer le zinc.

30

10/ Composition selon la revendication 9, *caractérisée* en ce que le fragment comprend la séquence SEQ ID NO : 7 ou 15.

11/ Composition selon la revendication 9, *caractérisée* en ce que le fragment présente

35

la séquence SEQ ID NO : 7 ou 15.

12/ Composition selon l'une des revendications précédentes, *caractérisée* en ce que la décorine se présente sous la forme d'un fragment actif, d'une protéine recombinante, d'une protéine fusion ou d'un acide nucléique codant une telle protéine ou un tel fragment.

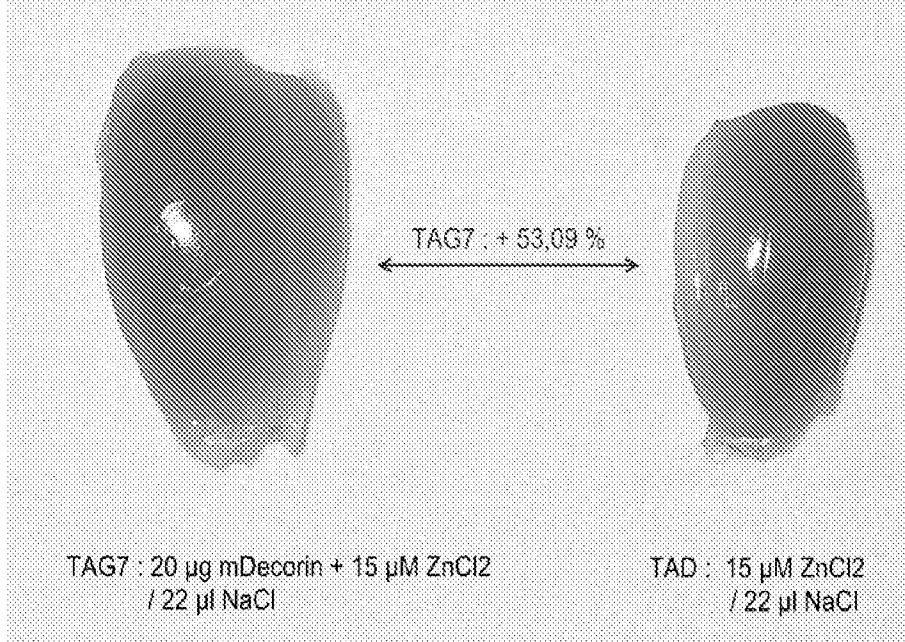
5

13/ Composition selon l'une des revendications précédentes, *caractérisée* en ce que la décorine est destinée à être injectée sous forme intramusculaire, intrapéritonéale ou intraveineuse.

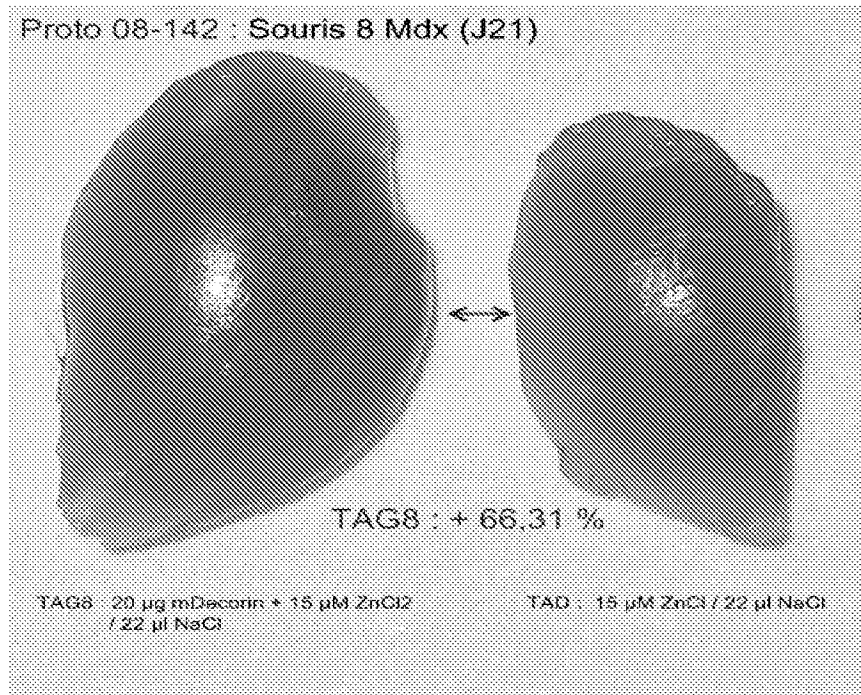
10 14/ Composition selon l'une des revendications précédentes, *caractérisée* en ce que la décorine est associée à d'autres traitements, notamment la thérapie génique et la greffe de cellules.

1/2

Proto 08-142 : Souris 7 mdx (J21)

Figure 1

Proto 08-142 : Souris 8 Mdx (J21)

Figure 2

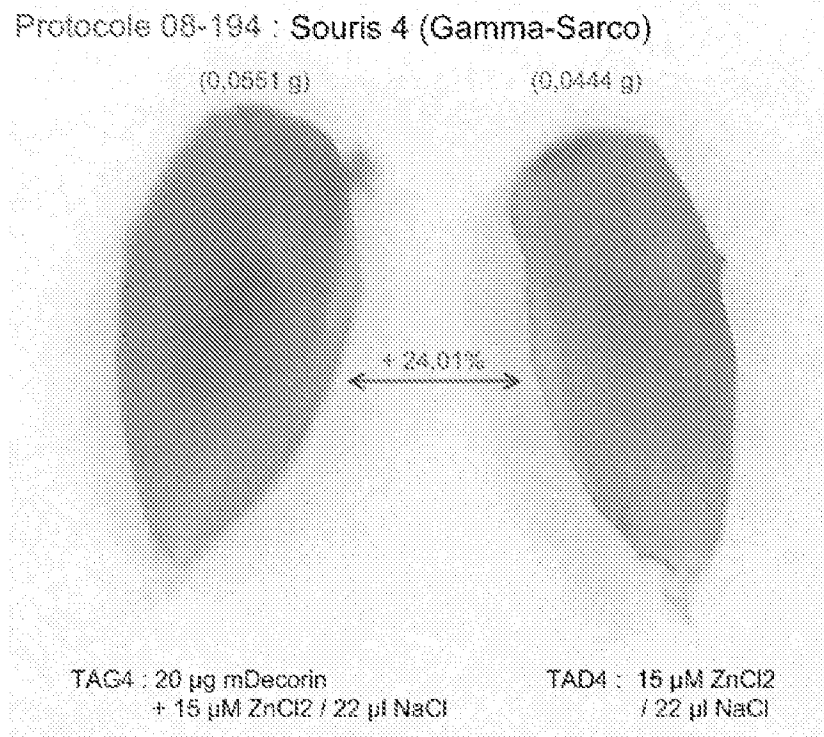


Figure 3

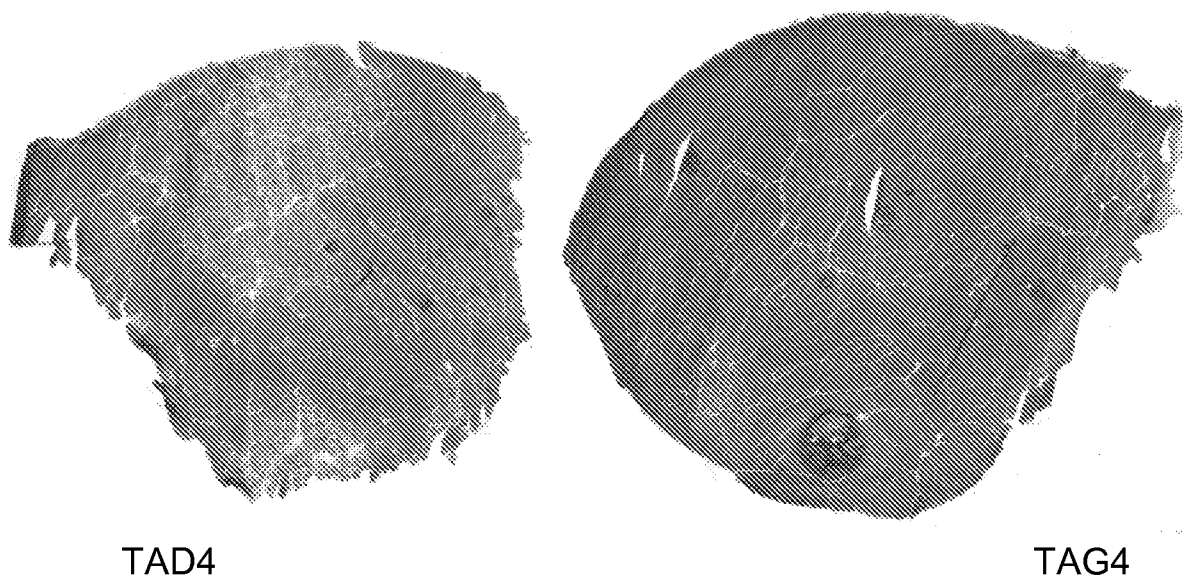


Figure 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/FR2010/050491

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K38/17 A61K48/00 A61P21/00 A23L1/29
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, EMBASE, BIOSIS, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/123848 A (UNIV BROWN [US]; FALLON JUSTIN R [US]; MCKECHNIE BETH [US]; AMENTA ALI) 1 November 2007 (2007-11-01)	1,2,5-7
Y	page 1, paragraph 1 page 4, paragraph 1 - page 6, paragraph 1 page 7, last paragraph - page 8, paragraph 1 page 8, paragraph 3; examples 1-6 claims 1-20	1,2,5-8, 12-14
X	WO 99/54491 A (CHILDRENS HOSP MEDICAL CENTER [US]) 28 October 1999 (1999-10-28)	1,2,5-7
Y	page 1, lines 5-9 page 5, lines 19-29; example 13	1,2,5-8, 12-14
	----- -/-- -----	

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 June 2010

Date of mailing of the international search report

02/07/2010

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mateo Rosell, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/FR2010/050491

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KISHIOKA Y ET AL: "Decorin enhances the proliferation and differentiation of myogenic cells through suppressing myostatin activity" JOURNAL OF CELLULAR PHYSIOLOGY 200806 US, vol. 215, no. 3, June 2008 (2008-06), pages 856-867, XP002550992 ISSN: 0021-9541 * abstract page 856, right-hand column, paragraph 2 - page 857, left-hand column, paragraph 1 page 863, left-hand column, last paragraph - page 867, right-hand column, paragraph 1 -----	1,2,5-8, 12-14
Y	LI Y ET AL: "Decorin gene transfer promotes muscle cell differentiation and muscle regeneration" MOLECULAR THERAPY 200709 GB, vol. 15, no. 9, September 2007 (2007-09), pages 1616-1622, XP002550993 * abstract page 1617, left-hand column, paragraphs 2,3 page 1618, left-hand column, last paragraph - page 1619, right-hand column, paragraph 1 page 1621, left-hand column, paragraph 2 -----	1,2,5-8, 12-14
Y	ZHU JINHONG ET AL: "Relationships between transforming growth factor-beta 1, myostatin, and decorin - Implications for skeletal muscle fibrosis" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 282, no. 35, August 2007 (2007-08), pages 25852-25863, XP002550994 ISSN: 0021-9258 * abstract page 25862, left-hand column, paragraph 2 - last paragraph -----	1,2,5-8, 12-14
Y	MIURA T ET AL: "Decorin binds myostatin and modulates its activity to muscle cells" BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, ACADEMIC PRESS INC. ORLANDO, FL, US, vol. 340, no. 2, 10 February 2006 (2006-02-10), pages 675-680, XP024924098 ISSN: 0006-291X [retrieved on 2006-02-10] * abstract page 677, right-hand column, paragraph 2 - page 679, right-hand column, paragraph 3 ----- -/--	1,2,5-8, 12-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/FR2010/050491

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ZANOTTI ET AL: "Altered extracellular matrix transcript expression and protein modulation in primary Duchenne muscular dystrophy myotubes" MATRIX BIOLOGY, ELSEVIER, vol. 26, no. 8, 1 October 2007 (2007-10-01), pages 615-624, XP022369660 ISSN: 0945-053X * abstract page 615, left-hand column, last paragraph - page 616, left-hand column, paragraph 1 page 616, left-hand column, last paragraph - page 617, left-hand column, paragraph 2- -----	1,2,5-8, 12-14
A	ZANOTTI S ET AL: "Decorin and biglycan expression is differentially altered in several muscular dystrophies" BRAIN 200511 GB, vol. 128, no. 11, November 2005 (2005-11), pages 2546-2555, XP002550995 ISSN: 0006-8950 1460-2156 * abstract page 2551, right-hand column, last paragraph - page 2552, left-hand column, paragraph 1 page 2552, right-hand column, paragraph 4 - page 2553, left-hand column, paragraph 4 -----	1-14
A	FADIC RICARDO ET AL: "Increase in decorin and biglycan in Duchenne Muscular Dystrophy: role of fibroblasts as cell source of these proteoglycans in the disease" JOURNAL OF CELLULAR AND MOLECULAR MEDICINE, vol. 10, no. 3, July 2006 (2006-07), pages 758-769, XP002550996 ISSN: 1582-1838 page 761, left-hand column, last paragraph - right-hand column, paragraph 1 page 765, left-hand column, last paragraph - page 767, right-hand column, paragraph 1 -----	1-14
A	YANG VIVIAN W -C ET AL: "Decorin is a Zn²⁺ metalloprotein" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 274, no. 18, 30 April 1999 (1999-04-30), pages 12454-12460, XP002585787 ISSN: 0021-9258 cited in the application page 12457, left-hand column, last paragraph - page 12458, left-hand column, paragraph 1; table 1 ----- -/--	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/FR2010/050491

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2005/020491 A1 (HOOK MAGNUS [US] ET AL HOEOEK MAGNUS [US] ET AL) 27 January 2005 (2005-01-27) * abstract page 2, right-hand column, paragraph 24-25; sequence 2 -----	1-14
A	WO 2005/094446 A (LILLY CO ELI [US]; SMITH ROSAMUND CAROL [US]; KIKLY KRISTINE KAY [US];) 13 October 2005 (2005-10-13) cited in the application page 1, paragraph 1 page 15, paragraph 1 - page 16, paragraph 1; examples 1-5 -----	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/FR2010/050491

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007123848 A	01-11-2007	NONE	
WO 9954491 A	28-10-1999	AU 3657799 A	08-11-1999
US 2005020491 A1	27-01-2005	US 2006258570 A1	16-11-2006
WO 2005094446 A	13-10-2005	AU 2005227896 A1	13-10-2005
		BR PI0508716 A	07-08-2007
		CA 2558805 A1	13-10-2005
		EA 200601752 A1	27-02-2007
		EP 1733041 A2	20-12-2006
		JP 2007530551 T	01-11-2007
		KR 20060133049 A	22-12-2006

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2010/050491

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

INV. A61K38/17 A61K48/00 A61P21/00 A23L1/29
ADD.

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, EMBASE, BIOSIS, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 2007/123848 A (UNIV BROWN [US]; FALLON JUSTIN R [US]; MCKECHNIE BETH [US]; AMENTA ALI) 1 novembre 2007 (2007-11-01)	1,2,5-7
Y	page 1, alinéa 1 page 4, alinéa 1 - page 6, alinéa 1 page 7, dernier alinéa - page 8, alinéa 1 page 8, alinéa 3; exemples 1-6 revendications 1-20	1,2,5-8, 12-14
X	WO 99/54491 A (CHILDRENS HOSP MEDICAL CENTER [US]) 28 octobre 1999 (1999-10-28)	1,2,5-7
Y	page 1, ligne 5-9 page 5, ligne 19-29; exemple 13	1,2,5-8, 12-14
	----- -/--	



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

18 juin 2010

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

02/07/2010

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Mateo Rosell, A

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	KISHIOKA Y ET AL: "Decorin enhances the proliferation and differentiation of myogenic cells through suppressing myostatin activity" JOURNAL OF CELLULAR PHYSIOLOGY 200806 US, vol. 215, no. 3, juin 2008 (2008-06), pages 856-867, XP002550992 ISSN: 0021-9541 * abrégé page 856, colonne de droite, alinéa 2 - page 857, colonne de gauche, alinéa 1 page 863, colonne de gauche, dernier alinéa - page 867, colonne de droite, alinéa 1 -----	1,2,5-8, 12-14
Y	LI Y ET AL: "Decorin gene transfer promotes muscle cell differentiation and muscle regeneration" MOLECULAR THERAPY 200709 GB, vol. 15, no. 9, septembre 2007 (2007-09), pages 1616-1622, XP002550993 * abrégé page 1617, colonne de gauche, alinéas 2,3 page 1618, colonne de gauche, dernier alinéa - page 1619, colonne de droite, alinéa 1 page 1621, colonne de gauche, alinéa 2 -----	1,2,5-8, 12-14
Y	ZHU JINHONG ET AL: "Relationships between transforming growth factor-beta 1, myostatin, and decorin - Implications for skeletal muscle fibrosis" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 282, no. 35, août 2007 (2007-08), pages 25852-25863, XP002550994 ISSN: 0021-9258 * abrégé page 25862, colonne de gauche, alinéa 2 - dernier alinéa -----	1,2,5-8, 12-14
Y	MIURA T ET AL: "Decorin binds myostatin and modulates its activity to muscle cells" BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, ACADEMIC PRESS INC. ORLANDO, FL, US, vol. 340, no. 2, 10 février 2006 (2006-02-10), pages 675-680, XP024924098 ISSN: 0006-291X [extrait le 2006-02-10] * abrégé page 677, colonne de droite, alinéa 2 - page 679, colonne de droite, alinéa 3 ----- -/--	1,2,5-8, 12-14

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	ZANOTTI ET AL: "Altered extracellular matrix transcript expression and protein modulation in primary Duchenne muscular dystrophy myotubes" MATRIX BIOLOGY, ELSEVIER, vol. 26, no. 8, 1 octobre 2007 (2007-10-01), pages 615-624, XP022369660 ISSN: 0945-053X * abrégé page 615, colonne de gauche, dernier alinéa - page 616, colonne de gauche, alinéa 1 page 616, colonne de gauche, dernier alinéa - page 617, colonne de gauche, alinéa 2	1,2,5-8, 12-14
A	----- ZANOTTI S ET AL: "Decorin and biglycan expression is differentially altered in several muscular dystrophies" BRAIN 200511 GB, vol. 128, no. 11, novembre 2005 (2005-11), pages 2546-2555, XP002550995 ISSN: 0006-8950 1460-2156 * abrégé page 2551, colonne de droite, dernier alinéa - page 2552, colonne de gauche, alinéa 1 page 2552, colonne de droite, alinéa 4 - page 2553, colonne de gauche, alinéa 4	1-14
A	----- FADIC RICARDO ET AL: "Increase in decorin and biglycan in Duchenne Muscular Dystrophy: role of fibroblasts as cell source of these proteoglycans in the disease" JOURNAL OF CELLULAR AND MOLECULAR MEDICINE, vol. 10, no. 3, juillet 2006 (2006-07), pages 758-769, XP002550996 ISSN: 1582-1838 page 761, colonne de gauche, dernier alinéa - colonne de droite, alinéa 1 page 765, colonne de gauche, dernier alinéa - page 767, colonne de droite, alinéa 1 ----- -/--	1-14

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	YANG VIVIAN W -C ET AL: "Decorin is a Zn²⁺ metalloprotein" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 274, no. 18, 30 avril 1999 (1999-04-30), pages 12454-12460, XP002585787 ISSN: 0021-9258 cité dans la demande page 12457, colonne de gauche, dernier alinéa - page 12458, colonne de gauche, alinéa 1; tableau 1 -----	1-14
A	US 2005/020491 A1 (HOOK MAGNUS [US] ET AL HOEOEK MAGNUS [US] ET AL) 27 janvier 2005 (2005-01-27) * abrégé page 2, colonne de droite, alinéa 24-25; séquence 2 -----	1-14
A	WO 2005/094446 A (LILLY CO ELI [US]; SMITH ROSAMUND CAROL [US]; KIKLY KRISTINE KAY [US];) 13 octobre 2005 (2005-10-13) cité dans la demande page 1, alinéa 1 page 15, alinéa 1 - page 16, alinéa 1; exemples 1-5 -----	1-14

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/FR2010/050491

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2007123848 A	01-11-2007	AUCUN	
WO 9954491 A	28-10-1999	AU 3657799 A	08-11-1999
US 2005020491 A1	27-01-2005	US 2006258570 A1	16-11-2006
WO 2005094446 A	13-10-2005	AU 2005227896 A1	13-10-2005
		BR PI0508716 A	07-08-2007
		CA 2558805 A1	13-10-2005
		EA 200601752 A1	27-02-2007
		EP 1733041 A2	20-12-2006
		JP 2007530551 T	01-11-2007
		KR 20060133049 A	22-12-2006