



CRÉATION ET CARACTÉRISATION DE MODÈLES IN VITRO ET IN VIVO POUR DÉCOUVRIR LES MÉCANISMES DE PATHOGÉNÈSE DE LA SLA INDUITE PAR LA MUTATION FUS/TLS

Ludo Van den Bosch, Belgique

Subvention : € 150 000

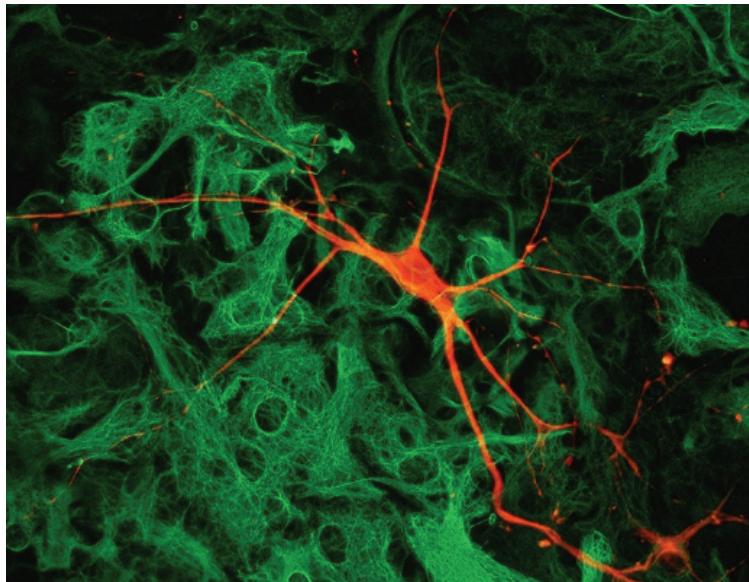
La perte de motoneurones dans le cortex moteur, le tronc cérébral et la moelle épinière est la caractéristique de la sclérose latérale amyotrophique (SLA). Ceci a pour conséquence une faiblesse musculaire progressive, l'atrophie et enfin la mort du patient, dans un délai de 2 à 5 ans après le diagnostic. Pour la majorité des patients (90%), il n'y a aucune histoire familiale (forme sporadique de la SLA ou SLAS), alors que pour une minorité (10%), une cause génétique sous-jacente est avérée (forme familiale de la SLA ou SLAF). Cliniquement, les 2 formes de SLA sont identiques et on admet en général que les mêmes voies et mécanismes à l'origine de la mort sélective des motoneurones sont impliquées dans les 2 types de SLA. Ainsi, tous les patients souffrant de SLA bénéficieront d'une meilleure connaissance de la pathogénèse de la forme familiale de la SLA, d'origine génétique. De plus, les stratégies thérapeutiques qui sont efficaces dans ces modèles SLA familiale vont la plupart du temps être également intéressantes pour les patients souffrant de forme sporadique de SLA.

Depuis près de 15 ans, les principales causes identifiées de SLA familiale étaient des mutations du gène codant pour la Cu/Zn superoxide dismutase 1 (SOD1), et la plupart de nos connaissances sur l'ALS sont basées sur des modèles (sur)exprimant ce gène mutant SOD1. Récemment, des mutations dominantes du gène codant FUS/TLS ont été découvertes comme nouvelle cause de SLA familiale.

Aucune information n'est disponible concernant les mécanismes d'apparition de la SLA induite par cette mutation FUS/TLS.

Comme cette recherche est actuellement sévèrement entravée par l'absence de modèles pour étudier la dégénérescence des motoneurones induites par la mutation FUS/TLS, le 1^{er} objectif de ce projet est de créer de nouveaux modèles FUS/TLS. Nous créerons des modèles *in vitro* et *in vivo* pour acquérir des connaissances sur l'ALS induites par la mutation FUS/TLS.

Nous disposons de fibroblastes de patients SLA porteurs de la mutation Flemish FUS/TLS. Nous allons également créer des lignes de cellules neuronales (sur)exprimant le type sauvage et mutant FUS/TLS ainsi que des cultures primaires de motoneurones.



Culture de motoneurone primaire (rouge) sur milieu nutritif d'astrocytes (vert)

De plus, nous créerons des souris transgéniques (sur)exprimant le type sauvage ou mutant FUS/TLS et ces modèles de souris seront extensivement phénotypées.

En utilisant ces différents modèles, nous allons essayer d'acquérir des connaissances sur les mécanismes de pathogénèse. Nous voulons découvrir si les mutations FUS/TLS provoquent la maladie des motoneurones à travers une « perte de fonction » et/ou un « gain de fonction ». De plus, nous allons essayer de dénouer le ou les mécanismes moléculaires impliqués dans la mort des motoneurones induite par la mutation FUS/TLS. Nous allons nous concentrer sur l'agrégation, le transport axonal et l'excitotoxicité. Nous sommes convaincus qu'étudier les mécanismes de pathogénèse des mutants FUS/TLS en particulier et les troubles du métabolisme RNA en général nous permettra de mieux connaître les mécanismes de pathogénèse des deux formes familiale et sporadique de la SLA.

Par l'utilisation combinée de cultures cellulaires, petits animaux et modèles murins, nous espérons mieux connaître le mécanisme pathogénique de la perte de motoneurones induite par la mutation FUS/TLS sous jacente dans la pathologie de la SLA.

Nous comparerons ces voies avec celles décrites pour la SLA induites par le mutant SOD1. Les voies communes seront très utiles pour la SLA sporadique, car elles sont indépendantes du gène provoquant la maladie. Ces nouvelles connaissances pourront conduire à l'identification de nouvelles cibles de médicaments qui pourraient enfin stopper et/ou guérir cette effroyable maladie mortelle.



ÉQUIPE

Principal Investigateur:
Ludo Van Den Bosch



Autres Investigateurs:

Post-Doc:
Elke Bogaert



Etudiants PhD:
Nathalie Wilmans



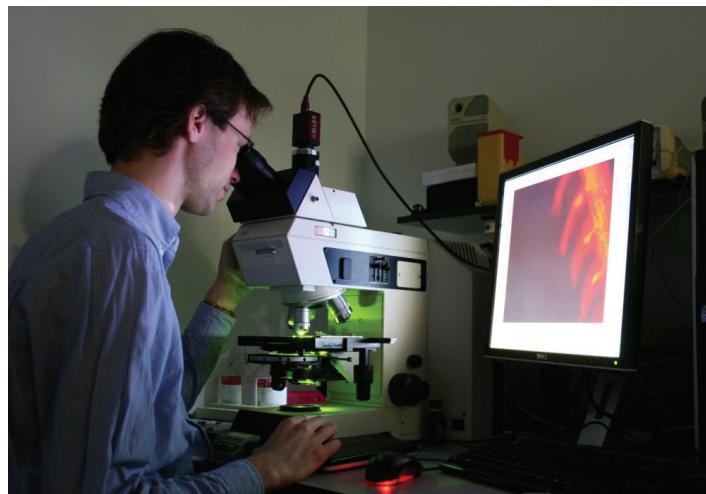
Constantin d'Ydewalle



Kim Staats



Techniciens:
Wendy Scheveneels Driss Chiheb



Vue d'ensemble du Laboratoire



Création and caractérisation de modèles *in vitro* and *in vivo* pour découvrir les mécanismes de pathogénèse de la SLA induite par la mutation FUS/TLS.

Appel à Projets 2010

Subvention: 150 000 €

Durée du projet: 3 ans

Investigateur: Ludo van den Bosch, Hôpital universitaire de Louvain, Belgique

Point sur les résultats - Décembre 2012

Ce projet a comme objectif de rechercher les mécanismes par lesquels la mutation du gène FUS/TLS est responsable d'une SLA familiale.

Nous avons créé de nouveaux modèles pour permettre une meilleure compréhension des processus pathologiques. Nous avons reprogrammé des cellules de peau de patients et avons pu générer différents types cellulaires grâce à des facteurs de croissance spécifiques. Ainsi, nous pouvons cultiver des neurones moteurs de patients dans des boîtes de Pétri et étudier leurs caractéristiques ainsi que les effets de la mutation FUS/TLS. De plus, nous avons exprimé le matériel génétique de patients porteurs du défaut génétique FUS/TLS dans les cellules cultivées. La mutation induit une présence anormale de la protéine dans le cytoplasme et son accumulation sous forme agrégée. Des stratégies neutralisant ces anomalies pourraient être utiles pour guérir les malades.

Dans un premier temps, pour extrapoler les résultats obtenus sur les cultures cellulaires, nous avons aussi créé un modèle transgénique de drosophile porteur de la mutation humaine FUS/TLS. Le résultat en est une drosophile avec de sévères problèmes moteurs. Nous sommes en train de rechercher les facteurs qui permettent de « guérir » ces désordres moteurs. Le modèle drosophile permet de réaliser des expérimentations rapidement compte tenu du cycle court de reproduction. Nous passerons ensuite sur des modèles de vertébrés, modèles murins et modèle de zebrafish que nous sommes en train de développer. Le modèle transgénique de zebrafish porteur de la mutation humaine FUS/TLS donne des embryons avec des axones moteurs plus courts, nous sommes en train de tester des stratégies visant à corriger ce problème.

Nous sommes également en train de mettre au point des modèles murins transgéniques sur lesquels nous pouvons faire exprimer le gène mutant à des temps différents et dans des tissus sélectifs. Ces modèles murins pourront permettre le screening de molécules.