



CARACTÉRISATION FONCTIONNELLE DE DEUX NOUVEAUX LOCI DE SUSCEPTIBILITÉ IDENTIFIÉS DANS LA SLA SPORADIQUE

Jan H. Veldink, Pays-Bas

Subvention : € 200 000

L'étiologie de la SLA est en grande partie inconnue, mais il est évident que plusieurs mécanismes moléculaires distincts (comme l'excitotoxicité liée au glutamate, les dysfonctionnements mitochondriaux et l'agrégation de protéines) doivent jouer un rôle dans l'apparition et la progression de la SLA. Toutefois, le rôle de l'un ou l'autre de ces mécanismes n'a toujours pas été prouvé. Environ 5 à 10 % des patients atteints de SLA ont une forme familiale (FALS) transmise le plus souvent selon un mode autosomal dominant. La plupart des cas de SLA n'ont cependant pas d'antécédents familiaux connus, on parle alors de SLA sporadique. Celle-ci est considérée comme une maladie complexe avec des mutations de gènes et des facteurs environnementaux qui impactent les signes cliniques. L'identification de variants génétiques associés à la SLA sporadique peut être une 1^{ère} étape dans l'élucidation de la nature complexe de la pathogénèse de cette maladie.

Afin d'identifier les facteurs de risque génétique pour la SLA, nous avons, grâce à une collaboration internationale, réalisé une étude sur le génome Genome Wide Association (GWA) en 2 phases portant sur 20 540 personnes. Une étude GWA sur 2 345 patients atteints de SLA et 9 106 personnes contrôles aux Pays-Bas, en Belgique, Suède, Irlande et États-Unis, a été suivie d'une seconde cohorte indépendante de 2 871 cas et 3 218 contrôles aux Pays-Bas, en Irlande, Allemagne, France, Royaume Uni, Pologne et États-Unis. Nous avons pu identifier 2 nouvelles parties dans l'ADN, la molécule qui porte toutes les informations relatives à l'hérédité : *19p13.3* et *9p21.2*, comme étant des nouveaux loci de susceptibilité à la SLA sporadique. Il reste toutefois à élucider le rôle et l'importance de ces gènes dans le processus de dégénérescence des motoneurones durant la SLA.

Aussi, l'objectif général de ce projet est d'établir le rôle fonctionnel des loci *19p13.3* et *9p21.2* dans la dégénérescence des motoneurones et la progression de la maladie.

Cet objectif a été subdivisé en 2 objectifs clés : **1)** la caractérisation fonctionnelle de UNC13A (protéine codée par le locus *19p13.3*) dans la dégénérescence des motoneurones au cours de la SLA et **2)** l'identification et la caractérisation des variantes dans le locus *9p21.2* liés à la pathogénèse de la SLA.

Pour atteindre cet objectif, nous utiliserons une approche pluridisciplinaire originale d'études postmortem sur des humains, la génétique humaine et dans des modèles murins, les systèmes de culture cellulaire et l'inhibition de l'expression du gène régulé par la shRNA.

Cette étude est la 1^{ère} à évaluer systématiquement le rôle fonctionnel de cette variation génétique découverte récemment et impliquée dans la pathogénèse de la SLA sporadique. Les résultats de ce travail vont ouvrir un nouveau champ de recherche pour l'étude de la SLA sporadique et vont permettre d'améliorer la compréhension de ses mécanismes et ainsi peut être aboutir au développement de nouvelles thérapies.



ÉQUIPE

Ce projet de recherche fait partie d'une collaboration en cours entre les équipes de recherche « Maladies du motoneurone » (Pr Van den Berg/ Dr Veldink) et « Connectivité neuronale/génétique des souris » (Dr Pasterkamp) du Centre Médical Universitaire d'Utrecht.

Les recherches orientées « patients » sur les maladies du motoneurone du Département de Neurologie incluent l'ensemble des maladies du motoneurone, y compris la sclérose latérale amyotrophique (qualité de vie et soin, choix de fin de vie, stratégies de traitement, pathogénèse, facteurs de risque génétiques et environnementaux).

La recherche fondamentale au Département de Neurosciences & Pharmacologie inclut des études sur la morphologie et la fonction neuronale dans les tissus humains et murins, des modèles de culture de tissu pour plusieurs régions et pathologies du cerveau, et des modèles génétiques murins (y compris des analyses phénotypiques et comportementales).

Seule l'expertise combinée et les résultats de recherche des Départements de Neurosciences & Pharmacologie et de Neurologie permettront une approche pluridisciplinaire et translationnelle comme celle exposée dans ce projet.

R.J Pasterkamp, PhD, dirige le groupe de recherche. Ses recherches ciblent les mécanismes moléculaires qui sous-tendent les connexions du système nerveux et comment ces mécanismes sont interrompus dans la SLA. L'approche pluridisciplinaire de son équipe de recherche inclut des technologies d'avant-garde au niveau moléculaire (comme l'analyse protéomique), au niveau cellulaire (comme l'imagerie cellulaire à haut débit), et sur des animaux vivants (ex modèles génétiques de souris, électroporation in utero). Le Dr Pasterkamp a publié dans des revues scientifiques très réputées (comme J Neurosci, Nature, Cell, PNAS, Nature Genetics, Mol Psychiatry).



J.H. Veldink, MD/PhD, neurologue clinique et maître de recherche, fait partie de l'équipe dirigée par le Professeur Leonard van den Berg qui est reconnue au niveau international pour ses travaux sur l'identification des facteurs génétiques, environnementaux ou liés au mode de vie qui augmentent la susceptibilité à la SLA ou qui en modifie son évolution. En 2005, il a conçu une vaste étude prospective nationale visant à recenser de façon exhaustive les personnes atteintes de SLA aux Pays-Bas (Etude Prospective SLA aux Pays-Bas (PAN)) permettant de connaître l'incidence. Grâce à ces efforts, une base de données détaillée avec biobanque sur plus de 2500 patients est maintenant disponible. Il a acquis les compétences nécessaires en programmation informatique pour traiter les nombreuses données qui découlent des études du génome, et forment la base des résultats récemment publiés sur UNC13A et 9p21.2 dans *Nature Genetics*. Par ses collaborations internationales et sa collaboration avec le professeur Ritsert Jansen du Centre de Bioinformatique de Groningen, il travaille actuellement à une méta-analyse de toutes les données génomiques disponibles (génotypes et expression des gènes) dans la SLA.





Caractérisation du rôle de deux gènes : UNC13a et C9ORF72 dans la SLA

Appel à projets 2010

Subvention: 200 000 €

Durée du projet: 3 ans

Investigateur: Jan H. Veldink, Centre Médical Universitaire d'Utrecht, Pays-Bas

Point sur les résultats - Décembre 2012

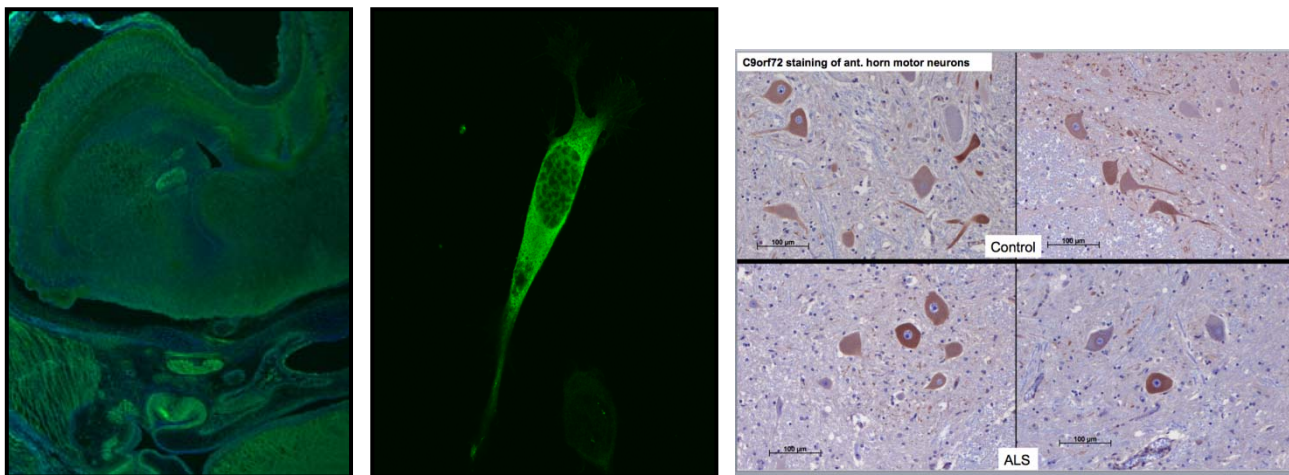
L'objectif de notre projet est de comprendre le rôle de deux gènes récemment identifiés dans la SLA UNC13A et C9ORF72.

Nous étudions la distribution de ces protéines dans le cerveau et dans la moelle épinière, mais aussi au niveau d'une seule cellule (figure). Nous avons identifié une liste de protéines susceptibles d'interagir avec C9ORF72. Nous sommes en train de valider les protéines de liaisons et étudions leurs fonctions.

De plus, nous développons un modèle murin pour C9ORF72.

Nous avons également réalisé une large étude génétique sur une cohorte de 1019 malades atteints de SLA sporadique que nous avons comparés avec 1103 personnes saines pour rechercher les mutations dans UNC13a et C9ORF72 qui pourraient jouer un rôle dans la SLA. Nous avons identifié 14 mutations, 11 dans UNC13a et 3 dans C9ORF72.

Le rôle d'UNC13A est aussi étudié en usant des souris transgéniques. Nous croisons des souris qui ont un taux inférieur à la normale de protéine UNC13A avec des souris SOD1 et regardons l'effet sur le développement de la SLA et la survie.



De gauche à droite : Expression de la protéine C9ORF72 dans cerveau de souris, sur culture d'une cellule, dans la moelle épinière d'un patient et d'un sujet contrôle sain.