«EVALUATION DE DIFFÉRENTES STRATÉGIES THÉRAPEUTIQUES ANTISENS POUR LE TRAITEMENT DE LA MALADIE DE HUNTINGTON» PAR MARINE IMBERT

Discipline : physiologie, physiopathologie, Laboratoire : Handicap Neuromusculaire : Physiopathologie, Biothérapie et Pharmacologie appliquées ENDICAP

Résumé

La maladie de Huntington (MH) est causée par une expansion de répétitions CAG sur l' exon 1 du gène huntingtine (htt), codant pour une protéine mutée. Il a été montré que la diminution d'expression de cette protéine est une piste thérapeutique très prometteuse. Dans ce projet, nous avons étudié et comparé trois approches dites «antisens» : une stratégie allèle non-spécifique, visant à diminuer de manière générale l'expression de htt ; une stratégie allèle spécifique ciblant les répétitions CAG afin d'impacter préférentiellement l'allèle muté ; et enfin une stratégie de saut d'exon permettant d' enlever des sites de clivage à l'origine d'une forme raccourcie et toxique de la protéine htt. Nous avons évalué ces approches grâce à deux outils différents : les tricyclo-DNA (TcDNA), qui sont une nouvelle classe d'oligonucléotides antisens (AON) plus

performante que les chimies précédentes, et le système U7snRNA vectorisé, permettant d'induire une expression stable des séquences antisens. Dans un premier temps, ces différentes molécules ont été évaluées in vitro dans des lignées de fibroblastes de patients en quantifiant le niveau d'ARNm et de protéines htt par RTqPCR et Western blot respectivement. Par la suite, les séquences les plus efficaces in vitro ont été sélectionnées et les AON et AAV-U7snRNA correspondants ont été injectés en intracérébroventriculaire (ICV) dans un modèle murin de la MH (souris YAC128). Les résultats les plus encourageants ont été obtenus avec le TcDNA-NS (pour allèle Non Spécifique), permettant une diminution significative de l'expression de htt dans le cortex, l' hippocampe et le striatum 2 et 6 semaines après une injection ICV. Ces résultats prometteurs suggèrent le potentiel des TcDNA comme nouvel outil thérapeutique pour la MH.

Abstract

Huntington's disease (HD) is caused by a CAG repeat expansion in the exon 1 of huntingtin gene (htt), encoding for a mutant protein. It has been shown that the silencing /down regulation of huntingtin protein is a promising therapeutic lead. In this project, I have explored and compared three strategies using the antisense approach: a non-allele specific strategy, aiming to silence the global expression of htt; an allele specific strategy targeting CAG repeats to silence preferentially the mutant allele; and an exon-skipping strategy in order to remove cleavage sites which originally cause a shorter and toxic form of the htt protein. These strategies have been evaluated using two different tools: tricyclo-DNA (TcDNA), a new class of antisense oligonucleotides (AON) more efficient than the previous chemistries, and a vectorized approach using U7snRNA system allowing a stable expression of antisense sequences. Firstly, these different molecules have been assessed in vitro in HD fibroblasts quantifying mRNA and htt protein levels with RTqPCR and Western blot respectively. Subsequently, the most efficient sequences have been selected and intracerebroventricular (ICV) injections have been performed with corresponding AON and AAV-U7snRNA in a HD mouse model (YAC128). The most encouraging results have been obtained with the TcDNA-NS (for Non Specific allele), allowing a significant decrease of htt expression in cortex, hippocampus and striatum 2 and 6 weeks after ICV injection. These promising results suggest the potential of TcDNA as a new therapeutic tool for HD.

INFORMATIONS COMPLÉMENTAIRES

Aurélie GOYENVALLE, Chargée de Recherche, Université de Versailles-Saint-Quentin-en-Yvelines, FRANCE - Directeur de these

Nicole DéGLON, Professeur associé, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois (CHUV), SUISSE - Rapporteur
Stéphanie LORAIN, Responsable de groupe, Centre de recherche en Myologie, FRANCE - RapporteurAlexis BEMELMANS, Ingénieur, CEA, FRANCE - Examinateur
Anselme PERRIER, Directeur de recherche, Inserm/UEVE UMR86, FRANCE - Examinateur
Christian LEUMANN, Professeur, Department of Chemistry and Biochemistry, University of Bern, SUISSE - Examinateur

Contact : DSR - Service SFED : theses@uvsq.fr