

UNIVERSITÉ PARIS-SUD

ÉCOLE DOCTORALE 419 :
BIOSIGNE

Laboratoire :

THÈSE DE DOCTORAT SUR TRAVAUX

ASPECTS MOLÉCULAIRES ET CELLULAIRES DE LA BIOLOGIE

par

Laetitia FRANCELLE

**A study of striatal markers as disease modifiers
in Huntington's Disease**

Date de soutenance : 26/11/2014

Composition du jury :

Directeur de thèse :	Dr Emmanuel BROUILLET	Laboratoire des maladies neurodégénératives, URA CEA-CNRS 2210, Service MIRcen, Institut d'Imagerie Biomédicale, CEA, Fontenay aux Roses, France.
Président du jury:	Pr Dr Hervé DANIEL	Pharmacologie et Biochimie de la Synapse, Institut de Biochimie et de Biophysique Moléculaire et Cellulaire, UMR 8619, Centre Universitaire d'Orsay, Orsay, France.
Rapporteurs :	Dr Jocelyne CABOCHE	Signalisation Neuronale et Régulation Génique, Unité Neurosciences Paris Scène, INSERM/UMR-S1130; CNRS/UMR8246, Paris France.
	Dr Karine MERIENNE	Interactive Dynamics of Memory Systems, Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives (LNCA), UMR7364/ Université de Strasbourg/CNRS, Strasbourg, France.
Examineurs :	Pr Dr Tiago FLEMING OUTEIRO	Department of NeuroDegeneration and Restorative Research Center for Nanoscale Microscopy and Molecular Physiology of the Brain, University Medical Center Göttingen, Göttingen, Germany.
	Dr Jean-Vianney BARNIER	Centre de Neurosciences Paris-Sud (CNPS), UMR 8195 CNRS-UPS, Bât 444, Centre Universitaire d'Orsay, Orsay, France.

INTRODUCTION

La maladie de Huntington (MH) est une affection neurodégénérative héréditaire à transmission autosomale dominante.

Elle se caractérise par une triade de symptômes : déficits moteurs (Gusella & MacDonald 1995, Shoulson & Chase 1975, Sitek et al 2014), déclin cognitif (Ho et al 2003, Montoya et al 2006a, Montoya et al 2006b) et atteintes psychologiques (Caine & Shoulson 1983, Cummings 1995, Roos 2010).

Il existe des traitements symptomatiques de la maladie, mais aucun traitement curatif, bien que la compréhension de la maladie avance depuis la découverte de sa cause en 1993.

La cause de la MH consiste en une expansion de répétitions des nucléotides Cyanine, Adénosine et Guanine dans le gène huntingtin (HTT) (Andrew et al 1993, Gusella et al 1983, HD CRG 1993). Cette mutation conduit à une expansion anormale d'un segment polyglutamine dans la protéine Huntingtine (Htt) (Hannan 1996).

La mutation de la Htt entraîne à la fois une perte partielle des fonctions de la protéine sauvage et un gain de fonction toxique de la Htt mutée (Htt-m). L'expansion de polyglutamine modifie les interactions protéiques et perturbe la protéolyse de la protéine ainsi que de nombreuses fonctions moléculaires et cellulaires (voir pour revue (Zuccato et al 2010)), dont des déficits énergétiques, des dérégulations transcriptionnelles et un transport axonal anormal.

HYPOTHESE DE TRAVAIL ET OBJECTIFS DE LA THESE

La Htt mutée, bien qu'ubiquitaire dans le cerveau, conduit à une neurodégénérescence préférentielle du striatum. Cette atteinte préférentielle du striatum pourrait en partie s'expliquer par la présence de produits de gènes sélectivement exprimés dans le striatum. Le laboratoire étudie depuis plusieurs années l'implication potentielle de marqueurs moléculaires du striatum dans la vulnérabilité des neurones du striatum vis-à-vis de la Htt-m.

La problématique du travail, qui découle des observations de la littérature, s'appuie dans un premier temps sur un article de revue publié dans *Frontiers in Cellular Neuroscience* « Possible involvement of self-defense mechanisms in the preferential vulnerability of the striatum in Huntington's Disease » (Francelle et al 2014).

Cette revue permet de faire le bilan des marqueurs moléculaires du striatum expérimentalement étudiés, et potentiellement impliqués dans la vulnérabilité des neurones striataux dans la MH. Une majorité de ces marqueurs voient leur expression diminuer dans un contexte de MH (modèles murins MH, patients MH, etc).

La surexpression de certains de ces marqueurs permettant le retour à une expression basale induit :

- 1) soit un effet protecteur pour les neurones du striatum, ils sont alors dit « neuroprotecteurs », comme MSK1, Bcl11b, FOXB1, STEP61 et les récepteurs CB1R, A2AR, SCN4B ;
- 2) soit un effet délétère, amplifiant l'effet toxique de la Htt-m, ils sont alors considérés comme « protoxiques », comme RGS2, PDE, Rhés, Calcineurine et les récepteurs D1R et D2R ;
- 3) soit aucun effet contre la Htt-m, comme Capucine et Hippocalcine.

Cette revue permet également de mettre en évidence l'existence de mécanismes de compensation visant à protéger la survie des neurones du striatum contre la toxicité de la Htt-m, notamment en diminuant l'expression de gènes considérés comme facteurs de risque, et à contrario en augmentant l'expression de gènes neuroprotecteurs.

Le laboratoire, en collaboration avec Michel De Chaldée, a généré une banque de marqueurs striataux, par l'utilisation de la méthode SAGE (de Chaldee et al 2003). A partir d'une centaine, seulement une dizaine de marqueurs ont été sélectionnés, à l'aide de plusieurs critères, entre autres l'enrichissement striatal, une expression diminuée dans un contexte MH, une fonction inconnue.

Une étude préliminaire a permis de discriminer 5 de ces marqueurs par rapport à la possibilité de les incorporer dans des vecteurs viraux afin de pouvoir les injecter et d'induire leur surexpression dans le striatum de souris et mesurer leur impact sur la survie neuronale contre la toxicité de la Htt-m. Sur les 5, certains marqueurs ont donné des résultats encourageants.

Trois de ces marqueurs montraient un effet neuroprotecteur significatif dans un contexte de MH. J'ai donc choisi d'étudier plus en détails les caractéristiques de ces trois marqueurs striataux, ainsi que les mécanismes moléculaires potentiels permettant d'expliquer leur effet protecteur dans un contexte de la MH.

Ces marqueurs sont l'ARN long intergénique non-codant Abhd11os, les protéines μ -crystalline (CRYM) et Doublecortin-like kinase 3 (DCLK3).

Les résultats sont présentés dans des articles centrés sur chacun de ces marqueurs.

Premier article (en cours de révision après corrections dans le journal *Neurobiology of Aging*): « **The striatal long non-coding RNA Abhd11os is neuroprotective against an N-terminal fragment of mutant huntingtin *in vivo*** » (Laetitia Francelle co-premier auteur).

Cette étude démontre que l'ARN long intergénique non codant (ARNlinc) Abhd11os n'est pas traduit en un peptide détectable dans des cellules vivantes, et ce en dépit de deux ORFs (Open reading frame) au sein de sa séquence et d'une queue de polyadénylation indiquant sa maturité. Les taux de Abhd11os sont significativement réduits dans différents modèles de souris MD, et la surexpression de Abhd11os dans un modèle lentiviral de MH chez la souris, induit une neuroprotection contre un fragment N-terminal de huntingtine mutée (mHtt). A l'inverse, éteindre complètement l'expression de Abhd11os (par une approche shRNA) est protoxique. Nous avons ainsi mis en évidence que l'ARNlinc Abhd11os joue un rôle neuroprotecteur dans la MH, et possiblement dans d'autres maladies neurodégénératives.

La fonction de *Abhd11os* est inconnue. Le gène *Abhd11os* se localise dans la région chromosomale 7q11 (Micale et al 2008). La délétion de cette région est responsable d'une maladie du développement, la maladie de Williams-Beuren. Du fait que *Abhd11os* soit positionnée aux abords d'une région chromosomique instable, il n'est pas exclu qu'elle puisse être impliquée dans cette pathologie (Micale et al 2008). *Abhd11os* est sélectivement exprimée dans le striatum (de Chaldee et al 2003). Son expression est fortement diminuée (-70%) dans le striatum de souris R6/2 (Brochier et al 2008), ainsi que dans les modèles murins de la MH, BACHD et Ki140CAG (données du laboratoire).

L'équipe de Guttman a suggéré que certains ARNlinc seraient impliqués dans le contrôle de la transcription, peut-être en guidant les protéines permettant le remodelage de la chromatine jusqu'au loci, et que les ARNlinc pouvaient agir avec les facteurs de transcription, avec ces derniers permettant de mettre en place des programmes transcriptionnels, et les ARNlinc pouvant réprimer les programmes transcriptionnels précédents (Guttman et al 2009, Khalil et al 2009). Nous avons pu montrer que la surexpression de *Abhd11os* n'avait pas d'effet significative sur les niveaux d'expression du transcrit inverse (*Abhd11*) chez la souris.

Il serait donc tentant de penser que *Abhd11os* produirait un effet neuroprotecteur en régulant négativement certains programmes de transcription dont la dérégulation aurait un rôle central dans la pathologie de la MH.

Plusieurs techniques nécessiteraient d'être mises en place afin d'étudier par quel mécanisme passe la neuroprotection induite par *Abhd11os* contre la Htt-m, entre autres des techniques d'identification des cibles génétiques des ARNlinc maintenant optimisées (Kung et al 2013). Cette question pourrait être explorée par des essais d'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP) et de chromatine-ARN (RIP) (Pandey et al 2008). D'autres techniques permettent de détecter des interactions entre loci d'ADN et ARN en utilisant des oligonucléotides complémentaires taggés (Simon et al 2011).

Abhd11os est un rare ARNlinc à avoir un effet neuroprotecteur dans la MH. Il sera nécessaire de confirmer cet effet dans d'autres modèles de la maladie. Sa surexpression ou son extinction permettrait de mieux comprendre ses rôles dans des situations saines, ainsi que dans des contextes pathologiques.

Deuxième article (accepté pour publication dans le journal *Human Molecular Genetics*): « **Loss of thyroid hormone binding protein CRYM renders striatal neurons more vulnerable to mutant huntingtin in Huntington's Disease** » (Laetitia Francelle co-premier auteur).

Nous nous sommes intéressés à la protéine CRYM, qui est enrichie dans le striatum chez la souris, le rat et le macaque. CRYM est une protéine régulatrice du transport nucléaire des hormones thyroïdiennes T3 et T4. Ce travail montre que l'expression des ARNm de CRYM est diminuée chez les modèles de souris MH (transgénique et knock-in) avant l'apparition des symptômes. La surexpression de CRYM, par approche lentivirale, protège de la neurotoxicité induite par un fragment N-terminal de huntingtine mutée (mHtt). Ce travail met ainsi l'accent sur un lien potentiel entre la dégénérescence striatale dans la MH et la dérégulation des hormones thyroïdes reportées chez les patients.

CRYM est une protéine cytosolique qui se lie à une hormone thyroïdienne, la 3,5, 3'-triiodo-L-thyronine (T3) de manière dépendante du NADPH. La CRYM se dimérise afin de pouvoir fixer deux molécules de NADPH qui permettent l'ouverture du site de capture de la T3 (Suzuki et al 2007). L'expression stable de la CRYM dans une lignée de cellule dérivée de la glande pituitaire (GH3) montre qu'elle permet à la fois d'augmenter l'influx de la T3 dans les cellules et de diminuer son efflux. La CRYM faciliterait donc l'entrée et le transit cytoplasmique de la T3 jusqu'au noyau où la T3 peut agir comme facteur de transactivation. Les souris KO pour la CRYM ne présentent pas de modifications significatives de la gestion de la T3 (Suzuki et al 2007).

Les mutations de la CRYM, que l'on retrouve chez l'homme, ont pour conséquence une surdité non syndromique (Abe et al 2003, Oshima et al 2006). Il s'avère que la CRYM est très exprimée dans les fibroblastes de l'oreille interne.

Dans le cerveau de rat adulte, CRYM est particulièrement exprimée dans le noyau accumbens et le striatum alors que son expression dans la glande pituitaire est modérée (de Chaldee et al 2003). Il semble cohérent que les fonctions régulées par le NADPH et /ou par la T3 soient affectées par une modification de l'expression de CRYM. L'expression de CRYM est aussi diminuée de 50% dans les souris R6/2 (Brochier et al 2008) et chez les patients atteints de la MH (Hodges et al 2006).

Les hormones thyroïdiennes jouent un rôle important dans les mécanismes tels que la croissance, le métabolisme et l'homéostasie, et sont essentielles pour le développement du cerveau humain et des fonctions cognitives (voir comme revue Rovet 2014). La T3 serait importante pour le développement neuronal durant toute la vie d'un organisme (voir comme revue Remaud et al 2014).

La signalisation de la thyroïde influencerait le métabolisme cellulaire et les fonctions mitochondriales (Weitzel & Iwen 2011). Des défauts de cette signalisation impacteraient sur la respiration mitochondriale et la production d'espèces réactives d'oxygène (ROS) (Long et al 2014).

Une diminution d'expression de CRYM entraînerait une perte de fonction de transport et de rétention de la T3 dans le cytoplasme, ce qui impacterait les voies de transcription activées par la T3, à savoir la neurogenèse, le métabolisme cellulaire, la production de ROS et d'autres conséquences conduisant à la mort cellulaire. Ces hypothèses vont dans le sens des observations faites dans la MH. En effet, les niveaux d'hormones sont négativement corrélés avec la sévérité des symptômes des patients atteints de MH, ce qui suggère que l'axe thyrotropique est altéré chez les patients de la MH (Saleh et al 2009).

CRYM a également d'autres rôles dans la cellule qui pourrait expliquer sa participation dans la vulnérabilité striatale. Des études suggèrent que CRYM pour être une enzyme versatile avec une activité reductase, capable d'interagir avec plusieurs substrats, tels que la ketimine, les hormones thyroïdiennes, ou les ligands pyruvate et alanine (Hallen et al 2011).

Visser et al avaient également suggéré que CRYM pourrait être impliqué dans le catabolisme des hormones thyroïdiennes. La protéine pouvant s'accrocher et prévenir l'efflux de T3S et T4S (Visser et al 2010).

De plus amples études sont nécessaires pour déterminer par quels mécanismes moléculaires seraient médiés les mécanismes moléculaires.

Par exemple, il serait intéressant d'étudier l'impact de l'inactivation du site d'accrochage entre CRYM et la T3 dans des modèles de la MH. Une perte de neuroprotection suggèrerait fortement que le mécanisme majeur par lequel CRYM est neuroprotecteur passerait par son action sur la T3. Cette hypothèse pourrait également être validée par des concentrations en T3 différente entre les conditions saines, MH avant et après surexpression de la MH.

Troisième article (en préparation): « **Role of Doublecortin-like kinase 3 (DCLK3) in the preferential vulnerability of the striatum in Huntington's Disease** » (Laetitia Francelle co-premier auteur).

Ce travail retrace la caractérisation moléculaire et cellulaire de la protéine DCLK3, et a permis de valider le haut potentiel thérapeutique de la protéine DCLK3.

DCLK3 fait partie de la famille des « doublecortin-like kinases » (Ohmae et al 2006), avec DCLK1 et DCLK2. DCLK3 contient deux domaines fonctionnels : le domaine doublecortin (DC) dans sa partie N-terminale, qui lui permettrait son accrochage aux microtubules, et le domaine Ser/Thr kinase dans sa partie C-terminale similaire à la Ca²⁺/calmodulin kinase I/IV (CaMK I/IV). La fonction de DCLK3 est inconnue.

DCLK3 est préférentiellement exprimée dans le striatum (de Chaldee et al 2003, Lein et al 2007). La déafférentation dopaminergique par le MPTP chez les souris conduit à une induction de son expression (Brochier et al 2008). Son expression a tendance à être diminuée dans les souris R6/2 (Brochier et al 2008) et est nettement diminuée dans les souris BACHD et Ki140CAG, modèles transgéniques murins de la MH.

La surexpression de DCLK3, dans un premier temps, par approche lentivirale, permet d'une part une neuroprotection cellulaire dans un modèle aigu de toxicité neuronale médiée par la surexpression d'un fragment N-terminal de la Htt mutée ; dans un deuxième temps, par approche adénovirale, diminue le phénotype MH (comportement moteur) et la dégénérescence striatale (par une approche IRM) d'un modèle transgénique murin de la MD, les souris Ki140CAG.

Afin de mieux comprendre les mécanismes expliquant les effets protecteurs de DCLK3, ma thèse a visé à caractériser cette protéine pour trouver des pistes de mécanismes moléculaires pouvant expliquer ses effets neuroprotecteurs. J'ai pu montrer que DCLK3 pouvait s'accrocher au cytosquelette, plus précisément, aux microtubules, mais était également retrouvé dans le noyau des cellules. La protéine est clivée en plusieurs fragments dans différents types cellulaires et *in vivo*. Le domaine kinase est actif, et permet une activité d'autophosphorylation de DCLK3, et peut également phosphoryler un substrat universel des kinases, la protéine basique de la myéline (MBP).

Grâce à une étude *in vivo*, nous avons pu montrer que le domaine catalytique (kinase) seul est capable de protéger contre la dégénérescence striatale induite par la Htt mutée. De façon intéressante, dans le cerveau des patients MH, la protéine semble être clivée et processée différemment comparé à une condition saine.

Nous avons utilisé une approche par double-hybride afin de trouver les interagteurs de DCLK3. Pour cela, nous avons utilisé la forme humaine de DCLK3 ne contenant que le domaine kinase, afin d'éviter tout problème lié au clivage de la protéine. Une banque

d'ARNs humains ont permis de trouver expérimentalement un maximum d'interacteurs, dont un degré de confiance était évalué.

A ce stade, nous ne savons pas à quelle étape l'activité du domaine kinase est requis, mais plusieurs scénarii peuvent être envisagés.

Lorsque DCLK3 est surexprimée dans les souris modèle de la MH, elle serait clivée, transportée via les microtubules, transloquée dans le noyau, ce qui lui permettrait d'interagir avec ses partenaires protéiques/facteurs de transcription. Ces interactions permettraient de générer des signaux pro-survie. Il y a de grandes chances que l'effet de DCLK3 sur la transcription doit être spécifique, and qu'il produirait une « empreinte » de modification, plutôt qu'un effet plus global.

Cependant nous n'avons pas encore pu établir un lien direct entre l'effet neuroprotecteur de DCLK3 et ses interacteurs identifiés grâce au double-hybride. De plus amples études sont en cours au laboratoire pour valider ces résultats et permettraient d'avoir un mécanisme d'action plus clair. En effet, de façon intrigante, alors que nous avons montré expérimentalement que DCLK3 est partiellement colocalisé aux microtubules, nous n'avons pas trouvé par le double-hybride d'interacteurs correspondant à des protéines cytoplasmiques ou du cytosquelette. Une possibilité serait que le domaine kinase interagisse avec ses substrats en interaction de type « kiss-and-run », ce qui ne permettrait pas de les mettre en évidence avec le double-hybride.

Il est également possible que l'accrochage de DCLK3 aux microtubules serait indirectement médié par son interaction avec les partenaires révélés par le double-hybride. Des résultats préliminaires indiquent que dans des cellules humaines, TADA3 est retrouvé exprimé dans le cytoplasme et le noyau. Des exemples de cette hypothèse existent, où des protéines sont exprimées dans le cytoplasme, mais après activation par modification post-traductionnelle, migrent vers le noyau. C'est par exemple le cas pour Htt, p53 et NF- κ B.

Une autre possibilité serait que l'effet neuroprotecteur de DCLK3 ne serait pas médié par ses partenaires et ne passerait donc pas par la régulation de la transcription.

En effet, le double-hybride utilisé n'a peut-être pas permis de sélectionner les interacteurs cytoplasmiques de la protéine, le domaine doublecortin étant absent de la forme utilisée pour cette méthode.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Première conclusions

L'élucidation précise des mécanismes d'action de ces modificateurs de la MH reste encore à résoudre, mais plusieurs pistes sont maintenant possiblement envisagées par rapport à leurs caractéristiques moléculaires.

Comme Abhd11os, CRYM et DCLK3 ont une expression préférentielle dans le striatum, et que leur niveau d'expression est diminué dans les modèles de la MH, il est possible que leur baisse d'expression induise une dégénérescence préférentielle du striatum

dans la MH. En utilisant un modèle aigu de la MH par injection de vecteur lentiviral codant pour ces marqueurs dans le striatum de souris, co-injecté avec un vecteur codant pour la Htt-m, toxique pour les neurones, nous avons montré que ces trois marqueurs striataux ont un effet neuroprotecteur contre un fragment N-terminal de la Htt-m. Ce n'est pas le cas tous les marqueurs striataux dont l'expression est diminuée dans la MH, qui peuvent avoir peu d'effet ou des effets amplifiant la toxicité de la Htt-m.

Jusqu'à maintenant peu de marqueurs striataux ont été expérimentalement testés pour leur capacité à modifier la toxicité de la Htt-m (Francelle et al 2014).

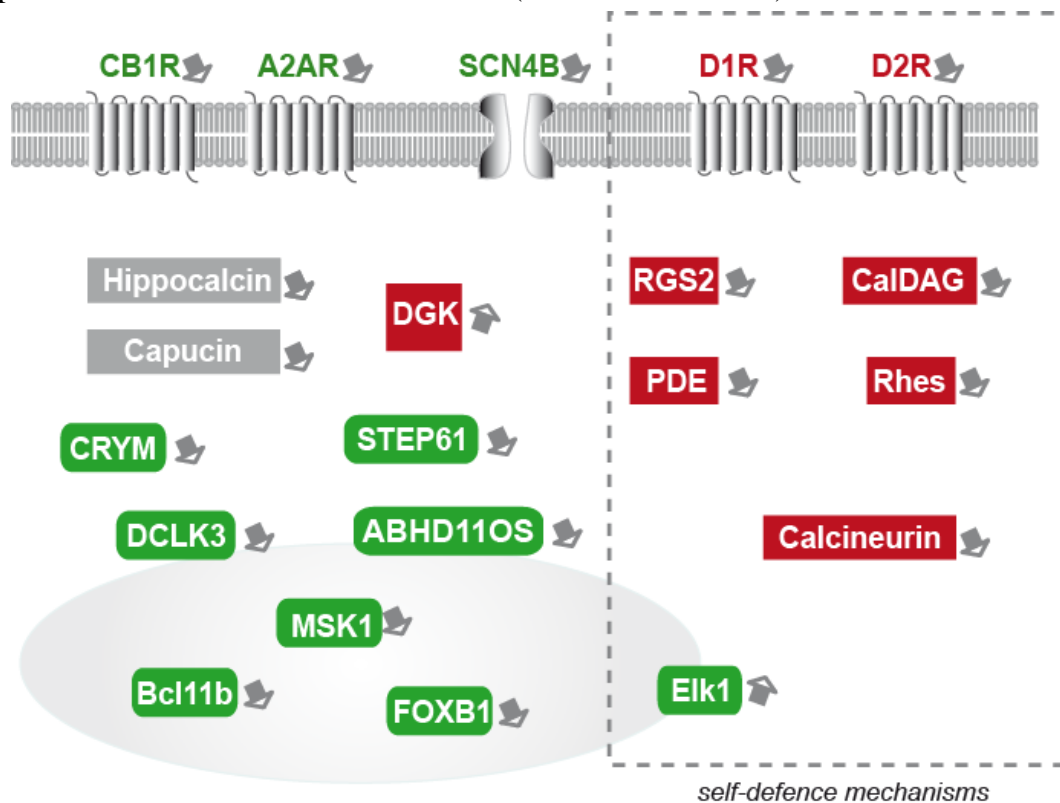


Figure 1 Représentation schématique des marqueurs du striatum qui ont été expérimentalement étudiés comme modificateurs de la toxicité de la Htt-m dans la MH (adapté de Francelle et al 2014).

Tous les marqueurs striataux qui peuvent modifier (positivement ou négativement) la toxicité de la Htt-m peuvent être considérés comme cibles thérapeutiques, ce qui ouvre le champ à de nouvelles pistes vers de nouvelles thérapies.

Autres modèles pour étudier les effets neuroprotecteurs des marqueurs striataux

Le modèle murin aigu de la MH par injection lentivirale au niveau du striatum de vecteur codant pour la Htt-m nous a permis d'étudier rapidement l'impact de plusieurs marqueurs striataux contre un fragment court N-terminal et toxique de la Htt-m, donnant des résultats rapides concernant la modification au niveau cellulaire.

Pour DCLK3 nous avons utilisé deux modèles de souris transgéniques de la MH : N171-82Q et Knock-in 140CAG (Ki140CAG). Ces modèles ont été utilisés pour tester des cibles thérapeutiques. Leurs avantages sont la mise en place de déficits moteurs progressifs, ainsi qu'une dérégulation transcriptionnelle apparaissant avec le temps.

Le modèle murin « à la mode » en ce moment est représenté par les souris zQ175. Ce modèle récapitule plusieurs marques de la MH (Heikkinen et al 2012, Menalled et al 2012). En effet, il mime la lésion génétique humaine et présente de robustes et précoces atteintes du comportement et des altérations moléculaires, qui apparaissent en même temps que les anomalies transcriptionnelles.

Ce modèle permettrait de valider les effets neuroprotecteurs de Abhd11os et CRYM dans un contexte génétique plus proche des patients, dans un délai plus court qu'avec les souris Ki140CAG.

En parallèle, il serait intéressant d'étudier les courbes de survie des souris R6/2, dont le phénotype évolue très rapidement, en surexprimant les trois marqueurs striataux au niveau du striatum, par une approche virale. Cela nous permettrait d'étudier l'impact de la surexpression ou de baisse d'expression médiant une protection cellulaire sur l'amélioration globale de survie de ces souris.

Concernant DCLK3, une de nos perspectives est de développer la souris knock-out (KO), qui n'exprime plus conditionnellement DCLK3, et de la croiser avec une souris modèle de la MH. Ce croisement permettrait de confirmer qu'une perte de DCLK3 pourrait exacerber la pathologie de la MH. Dans le même temps, ceci nous donnera des informations quant à l'impact d'une perte d'expression de DCLK3 au niveau périphérique, et son impact sur la toxicité médiée par la Htt-m, qui est exprimée de façon ubiquitaire.

De base, la souris KO nous donnera des pistes quant aux fonctions de DCLK3 dans un contexte sain. Les rôles que jouent DCLK3 pourront mieux nous aider à connaître ses cibles, autant activateurs, qu'inhibiteurs ou que substrats. Ces connaissances nous permettront de mieux envisager DCLK3 comme outil thérapeutique adapté à plusieurs maladies neurodégénératives impliquant les ganglions de la base.

Impact de notre étude dans le domaine

- *Marqueurs striataux comme modificateurs géniques de l'âge d'apparition de la maladie*

Un point commun de notre étude est l'implication potentielle de nos marqueurs striataux sur la régulation transcriptionnelle, ce qui a son importance dans la MH.

En effet, ni la longueur normale de la répétition CAG dans la MH, ni son interaction avec l'expansion de l'allèle influence l'âge d'apparition des symptômes. La seule variance restante a été décrite comme étant fortement héritable (Aziz et al 2012, Djousse et al 2003, Lee et al 2012, Wexler et al 2004), c'est-à-dire impliquant la présence dans le génome de facteurs géniques de risque, appelés modificateurs géniques, dont les polymorphismes naturels contribuent à l'altération du développement de l'apparition des symptômes de la MH.

Kalathur et al ont constitué une liste de 24 modificateurs géniques, incluant l'histone deacétylase 3 (HDAC3), le récepteur 1 métabotropique au glutamate (GRM1), la sous-unité 2 régulatrice de CDK5 (CDK5R2) (Kalathur et al 2012). Ce type d'approches pourrait permettre de mieux comprendre la neuropathologie dans la MH.

- *Marqueurs striataux comme protecteurs de l'identité neuronale*

La dérégulation transcriptionnelle des marqueurs du striatum semble être plus importante que pour les autres produits de gènes (Francelle et al 2014). Dans cette idée, la

neurodégénérescence du striatum pourrait commencer par un phénomène lié à la perte d'identité neuronale. L'établissement de l'identité neuronale nécessite l'expression coordonnée d'une batterie spécifique de gènes (Ballas et al 2001, Belyaev et al 2004, Muhr et al 2001). Selon Johnson et al, la neurodégénérescence pourrait être vu comme une maladie causée par les ARN. Leurs publications suggèrent un rôle prédominant des microARN dans la MH, où l'étiologie moléculaire de la MH reflèterait la perte d'identité neuronale, causée en partie par la dérégulation de mécanismes transcriptionnels et post-transcriptionnels (Johnson et al 2012, Johnson et al 2008). La répression transcriptionnelle est une voie principale par laquelle les programmes de développement d'expression de gènes sont établis.

La question suivante serait de comprendre comment les gènes impliqués dans la vulnérabilité striatale influencent l'identité striatale.

Il est important de déterminer un rôle potentiel aux autres facteurs –cis qui modifient potentiellement l'âge d'apparition des symptômes de la MH, ainsi que leur fonction cellulaire et impact sur l'intégrité neuronale.

DISCUSSION GENERALE

Outre la découverte de candidats neuroprotecteurs qui pourrait permettre de développer de nouvelles cibles thérapeutiques, cette étude a permis d'envisager de nouvelles hypothèses permettant d'expliquer la vulnérabilité striatale dans la MH et de donner une vue d'ensemble des voies sur lesquelles il serait possible d'agir pour induire des effets neuroprotecteurs dans ce contexte.

BIBLIOGRAPHIE

- Abe S, Katagiri T, Saito-Hisaminato A, Usami S, Inoue Y, et al. 2003. Identification of CRYM as a candidate responsible for nonsyndromic deafness, through cDNA microarray analysis of human cochlear and vestibular tissues. *American journal of human genetics* 72: 73-82**
- Andrew SE, Goldberg YP, Kremer B, Telenius H, Theilmann J, et al. 1993. The relationship between trinucleotide (CAG) repeat length and clinical features of Huntington's disease. *Nature genetics* 4: 398-403**
- Aziz NA, Roos RA, Gusella JF, Lee JM, Macdonald ME. 2012. CAG repeat expansion in Huntington disease determines age at onset in a fully dominant fashion. *Neurology* 79: 952; author reply 52-3**
- Ballas N, Battaglioli E, Atouf F, Andres ME, Chenoweth J, et al. 2001. Regulation of neuronal traits by a novel transcriptional complex. *Neuron* 31: 353-65**
- Belyaev ND, Wood IC, Bruce AW, Street M, Trinh JB, Buckley NJ. 2004. Distinct RE-1 silencing transcription factor-containing complexes interact with different target genes. *The Journal of biological chemistry* 279: 556-61**

- Brochier C, Gaillard MC, Diguet E, Caudy N, Dossat C, et al. 2008. Quantitative gene expression profiling of mouse brain regions reveals differential transcripts conserved in human and affected in disease models. *Physiological genomics* 33: 170-9
- Caine ED, Shoulson I. 1983. Psychiatric syndromes in Huntington's disease. *The American journal of psychiatry* 140: 728-33
- Cummings JL. 1995. Behavioral and psychiatric symptoms associated with Huntington's disease. *Advances in neurology* 65: 179-86
- de Chaldee M, Gaillard MC, Bizat N, Buhler JM, Manzoni O, et al. 2003. Quantitative assessment of transcriptome differences between brain territories. *Genome research* 13: 1646-53
- Djousse L, Knowlton B, Hayden M, Almqvist EW, Brinkman R, et al. 2003. Interaction of normal and expanded CAG repeat sizes influences age at onset of Huntington disease. *American journal of medical genetics. Part A* 119A: 279-82
- Francelle L, Galvan L, Brouillet E. 2014. Possible involvement of self-defense mechanisms in the preferential vulnerability of the striatum in Huntington's disease. *Frontiers in cellular neuroscience* 8: 295
- Gusella JF, MacDonald ME. 1995. Huntington's disease. *Seminars in cell biology* 6: 21-8
- Gusella JF, Wexler NS, Conneally PM, Naylor SL, Anderson MA, et al. 1983. A polymorphic DNA marker genetically linked to Huntington's disease. *Nature* 306: 234-8
- Guttman M, Amit I, Garber M, French C, Lin MF, et al. 2009. Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding RNAs in mammals. *Nature* 458: 223-7
- Hallen A, Cooper AJ, Jamie JF, Haynes PA, Willows RD. 2011. Mammalian forebrain ketimine reductase identified as mu-crystallin; potential regulation by thyroid hormones. *Journal of neurochemistry* 118: 379-87
- Hannan AJ. 1996. Trinucleotide-repeat expansions and neurodegenerative disease: a mechanism of pathogenesis. *Clinical and experimental pharmacology & physiology* 23: 1015-20
- HDCRG. 1993. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. *Cell* 72: 971-83
- Heikkinen T, Lehtimäki K, Vartiainen N, Puolivali J, Hendricks SJ, et al. 2012. Characterization of neurophysiological and behavioral changes, MRI brain volumetry and 1H MRS in zQ175 knock-in mouse model of Huntington's disease. *PloS one* 7: e50717
- Ho AK, Sahakian BJ, Brown RG, Barker RA, Hodges JR, et al. 2003. Profile of cognitive progression in early Huntington's disease. *Neurology* 61: 1702-6
- Hodges A, Strand AD, Aragaki AK, Kuhn A, Sengstag T, et al. 2006. Regional and cellular gene expression changes in human Huntington's disease brain. *Human molecular genetics* 15: 965-77
- Johnson R, Noble W, Tartaglia GG, Buckley NJ. 2012. Neurodegeneration as an RNA disorder. *Progress in neurobiology* 99: 293-315
- Johnson R, Zuccato C, Belyaev ND, Guest DJ, Cattaneo E, Buckley NJ. 2008. A microRNA-based gene dysregulation pathway in Huntington's disease. *Neurobiology of disease* 29: 438-45
- Kalathur RK, Hernandez-Prieto MA, Futschik ME. 2012. Huntington's disease and its therapeutic target genes: a global functional profile based on the HD Research Crossroads database. *BMC neurology* 12: 47

- Khalil AM, Guttman M, Huarte M, Garber M, Raj A, et al. 2009. Many human large intergenic noncoding RNAs associate with chromatin-modifying complexes and affect gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106: 11667-72
- Kung JT, Colognori D, Lee JT. 2013. Long noncoding RNAs: past, present, and future. *Genetics* 193: 651-69
- Lee JM, Ramos EM, Lee JH, Gillis T, Mysore JS, et al. 2012. CAG repeat expansion in Huntington disease determines age at onset in a fully dominant fashion. *Neurology* 78: 690-5
- Lein ES, Hawrylycz MJ, Ao N, Ayres M, Bensinger A, et al. 2007. Genome-wide atlas of gene expression in the adult mouse brain. *Nature* 445: 168-76
- Menalled LB, Kudwa AE, Miller S, Fitzpatrick J, Watson-Johnson J, et al. 2012. Comprehensive behavioral and molecular characterization of a new knock-in mouse model of Huntington's disease: zQ175. *PloS one* 7: e49838
- Micale L, Fusco C, Augello B, Napolitano LM, Dermitzakis ET, et al. 2008. Williams-Beuren syndrome TRIM50 encodes an E3 ubiquitin ligase. *Eur J Hum Genet* 16: 1038-49
- Montoya A, Pelletier M, Menear M, Duplessis E, Richer F, Lepage M. 2006a. Episodic memory impairment in Huntington's disease: a meta-analysis. *Neuropsychologia* 44: 1984-94
- Montoya A, Price BH, Menear M, Lepage M. 2006b. Brain imaging and cognitive dysfunctions in Huntington's disease. *Journal of psychiatry & neuroscience : JPN* 31: 21-9
- Muhr J, Andersson E, Persson M, Jessell TM, Ericson J. 2001. Groucho-mediated transcriptional repression establishes progenitor cell pattern and neuronal fate in the ventral neural tube. *Cell* 104: 861-73
- Ohmae S, Takemoto-Kimura S, Okamura M, Adachi-Morishima A, Nonaka M, et al. 2006. Molecular identification and characterization of a family of kinases with homology to Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinases I/IV. *The Journal of biological chemistry* 281: 20427-39
- Oshima A, Suzuki S, Takumi Y, Hashizume K, Abe S, Usami S. 2006. CRYM mutations cause deafness through thyroid hormone binding properties in the fibrocytes of the cochlea. *Journal of medical genetics* 43: e25
- Pandey RR, Mondal T, Mohammad F, Enroth S, Redrup L, et al. 2008. Kcnq1ot1 antisense noncoding RNA mediates lineage-specific transcriptional silencing through chromatin-level regulation. *Molecular cell* 32: 232-46
- Roos RA. 2010. Huntington's disease: a clinical review. *Orphanet journal of rare diseases* 5: 40
- Saleh N, Moutereau S, Durr A, Krystkowiak P, Azulay JP, et al. 2009. Neuroendocrine disturbances in Huntington's disease. *PloS one* 4: e4962
- Shoulson I, Chase TN. 1975. Huntington's disease. *Annual review of medicine* 26: 419-36
- Simon MD, Wang CI, Kharchenko PV, West JA, Chapman BA, et al. 2011. The genomic binding sites of a noncoding RNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108: 20497-502
- Sitek EJ, Thompson JC, Craufurd D, Snowden JS. 2014. Unawareness of Deficits in Huntington's Disease. *Journal of Huntington's disease* 3: 125-35
- Suzuki S, Suzuki N, Mori J, Oshima A, Usami S, Hashizume K. 2007. micro-Crystallin as an intracellular 3,5,3'-triiodothyronine holder in vivo. *Mol Endocrinol* 21: 885-94

- Visser WE, Wong WS, van Mullem AA, Friesema EC, Geyer J, Visser TJ. 2010. Study of the transport of thyroid hormone by transporters of the SLC10 family. *Molecular and cellular endocrinology* 315: 138-45**
- Wexler NS, Lorimer J, Porter J, Gomez F, Moskowitz C, et al. 2004. Venezuelan kindreds reveal that genetic and environmental factors modulate Huntington's disease age of onset. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 3498-503**
- Zuccato C, Valenza M, Cattaneo E. 2010. Molecular mechanisms and potential therapeutical targets in Huntington's disease. *Physiological reviews* 90: 905-81**