

## **Une nouvelle voie induisant la mort du motoneurone par LIGHT, un ligand de la famille du TNF (Tumor Necrosis Factor) : perspectives thérapeutiques**

Equipe Inserm-Avenir, Institut de Neurobiologie de la Méditerranée. Campus scientifique de Luminy. Marseille.

site : <http://www.inmed.univ-mrs.fr/>

### **Un nouveau processus de mort cellulaire spécifique des motoneurones**

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative qui se caractérise par une perte progressive des motoneurones de la moelle épinière, du tronc et du cortex cérébral. La découverte de mutations dans le gène *Sod1*, associées à des formes héréditaires de la SLA, a considérablement contribué à notre compréhension des rouages moléculaires conduisant à la dégénérescence sélective des motoneurones.

Nous avons démontré que l'activation du récepteur Fas, présent à la surface des motoneurones, engage un processus de mort cellulaire suivant une voie qui leur est propre. De plus, les motoneurones exprimant des formes mutées de SOD1 présentent une susceptibilité exacerbée à la mort cellulaire induite par Fas. Il a été mis en évidence, dans des souris modèles de la maladie, que le mécanisme de mort neuronale déclenché par Fas participait au processus pathogénique. Néanmoins, les mécanismes de dégénérescence neuronale demeurent extrêmement complexes et d'autres évidences suggèrent que Fas n'est pas le seul mécanisme mis en jeu.

LIGHT est un ligand, membre de la famille du TNF (Tumor Necrosis Factor) qui, une fois lié à ses récepteurs membranaires HVEM (herpes virus entry mediator) et/ou LT- $\beta$ R (lymphotoxin- $\beta$  receptor), engage un processus de mort cellulaire dans des cellules tumorales. Dans les motoneurones, nous avons observé qu'à leur surface, ils présentaient les récepteurs LT- $\beta$ R et HVEM. La présence de LIGHT va alors enclencher un processus de mort cellulaire dans environ la moitié des motoneurones *in vitro* via le LT- $\beta$ R. La voie de signalisation engagée lorsque LT- $\beta$ R est activé par son ligand LIGHT implique une cascade d'évènements non conventionnels, qui n'a jamais été décrite jusqu'à présent. Ce processus de mort cellulaire induit par LIGHT semble être spécifique des motoneurones car les neurones du striatum, cortex, hippocampe, neurones sensoriels ou interneurones spinaux sont insensibles à LIGHT. Il est alors d'autant plus intéressant, que l'effet de LIGHT est additif à celui de FasL; en effet l'addition des deux ligands induit jusqu'à 70% de perte des motoneurones.

Des études *in vitro* et *in vivo* dans les souris transgéniques exprimant des formes mutantes de SOD1 ont montré que les astrocytes contribuent au processus pathogénique. Les astrocytes qui sont les cellules environnantes des neurones jouent un rôle crucial dans leur maintien et leur bon fonctionnement. Dans un contexte pathologique, les astrocytes qui expriment des formes mutantes de SOD1 sécrètent des facteurs toxiques qui sont spécifiquement délétères pour les motoneurones. Lorsque les motoneurones sont mis en présence d'astrocytes *in vitro*, nous pouvons récapituler cet effet toxique des astrocytes mutants sur les motoneurones. Grâce à ces systèmes de co-cultures astrocytes-motoneurones, nous avons mis en évidence que cette mort des motoneurones induite par

les astrocytes mutants était dépendante de LIGHT. Notre hypothèse est que la vulnérabilité des motoneurones aux effets neurotoxiques des astrocytes impliquent l'activation de la voie de mort, LIGHT, spécifique des motoneurones.

Nous avons également montré, dans les souris modèles de la maladie, que les motoneurones spinaux présentent en effet à leur surface les deux protagonistes de cette voie: LIGHT et LT- $\beta$ R. Afin de comprendre plus en détail le rôle de LIGHT-LT- $\beta$ R dans la pathologie, nous évaluons actuellement par une approche génétique l'implication de LIGHT dans la maladie. Pour cela nous analysons l'effet de la perte du gène LIGHT dans les souris modèles de la SLA. Pour cela, nous croisons des souris qui sont déficientes pour le gène LIGHT avec les souris qui expriment une forme mutante de SOD1. Les souris descendantes, mutantes SOD1 et déficientes pour le gène LIGHT seront étudiées au regard de leurs capacités motrices et également sur un plan histologique. Nous espérons par cette expérience mieux comprendre le rôle de ce mécanisme de mort cellulaire dans la dégénérescence des neurones moteurs.

### **Les approches thérapeutiques**

Notre approche consiste à évaluer une intervention thérapeutique basée sur le transfert de gène dans les souris modèles de la maladie. Dans cette approche de thérapie génique, que nous menons en collaboration avec le laboratoire du Pr. Aebischer (EPFL, Lausanne, Suisse), nous cibons LIGHT et Fas via des dominants négatifs. Le principe des dominants négatifs est de bloquer spécifiquement l'interaction entre un ligand et son récepteur. Notre but étant de délivrer ces dominants négatifs, bloquant l'activité de LIGHT et Fas, dans la moelle épinière et le cerveau des souris et d'en évaluer les bénéfices thérapeutiques. Pour délivrer ces molécules nous utilisons des vecteurs viraux de type adéno-associés (AAV). Ces virus recombinants sécurisés peuvent, lorsque administrés directement dans le système nerveux central via le liquide céphalorachidien ou lorsque administrés en intramusculaire, atteindre les motoneurones et délivrer l'information thérapeutique souhaitée. Les outils viraux sont actuellement validés pour leur fonctionnalité et innocuité. Ce, afin d'évaluer dans un premier temps l'efficacité de délivrance des dominants négatifs le long de l'axe du système nerveux et ensuite d'évaluer par des approches comportementales et histologiques l'impact des différentes molécules sur la progression de la maladie chez les souris.