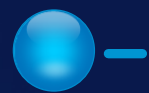


Syndrome de Pader-Willi et modèles murins

F. Muscatelli
(DR CNRS)

Institut de neurobiologie de la méditerranée
Inserm Unité 901
Marseille-Luminy



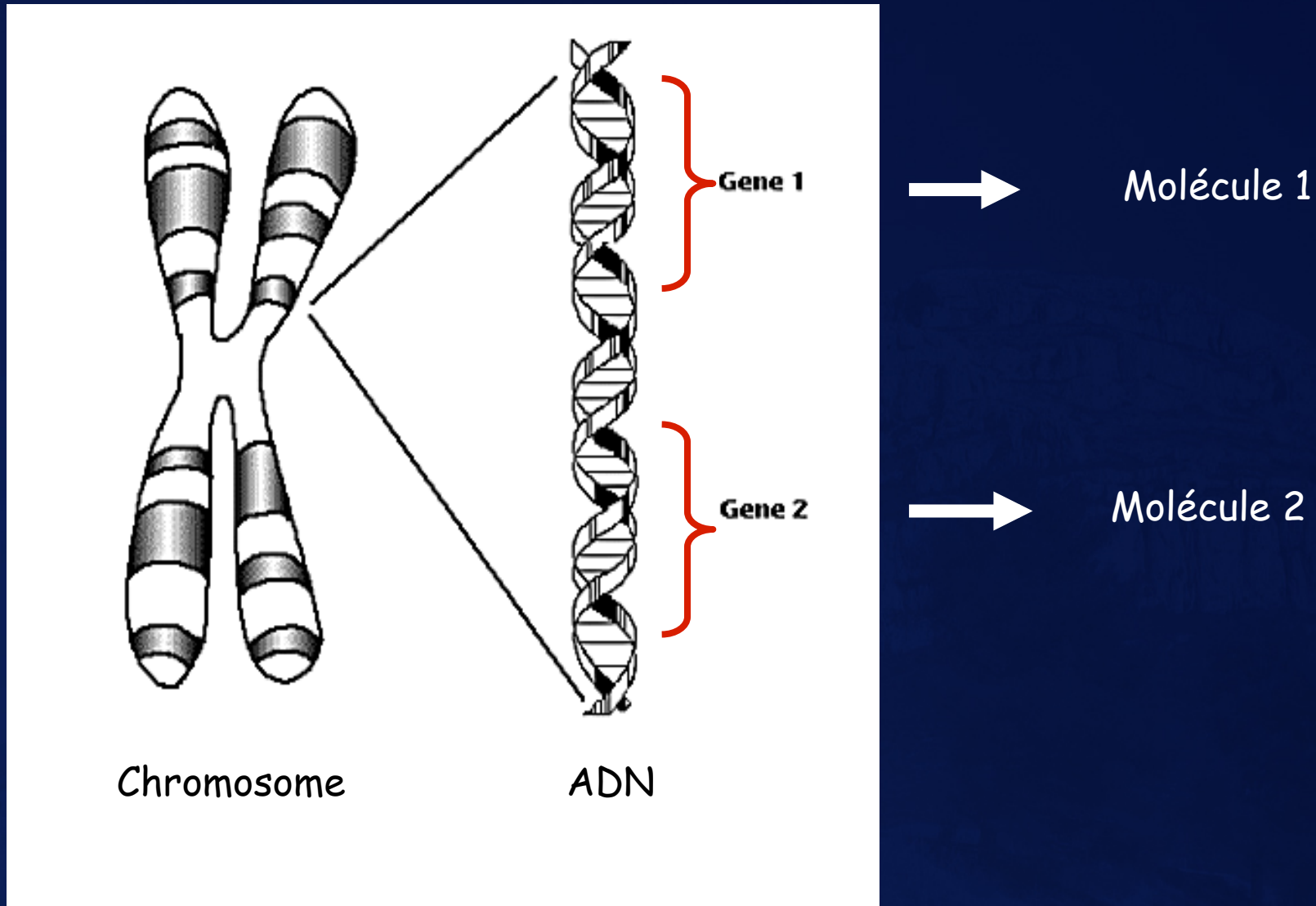


Qu'est-ce qu'un génome ?

Support de l'information héréditaire

Constitué de gènes qui codent pour des molécules nécessaires à la vie d'une cellule, au fonctionnement d'un organe, à la vie d'un organisme....

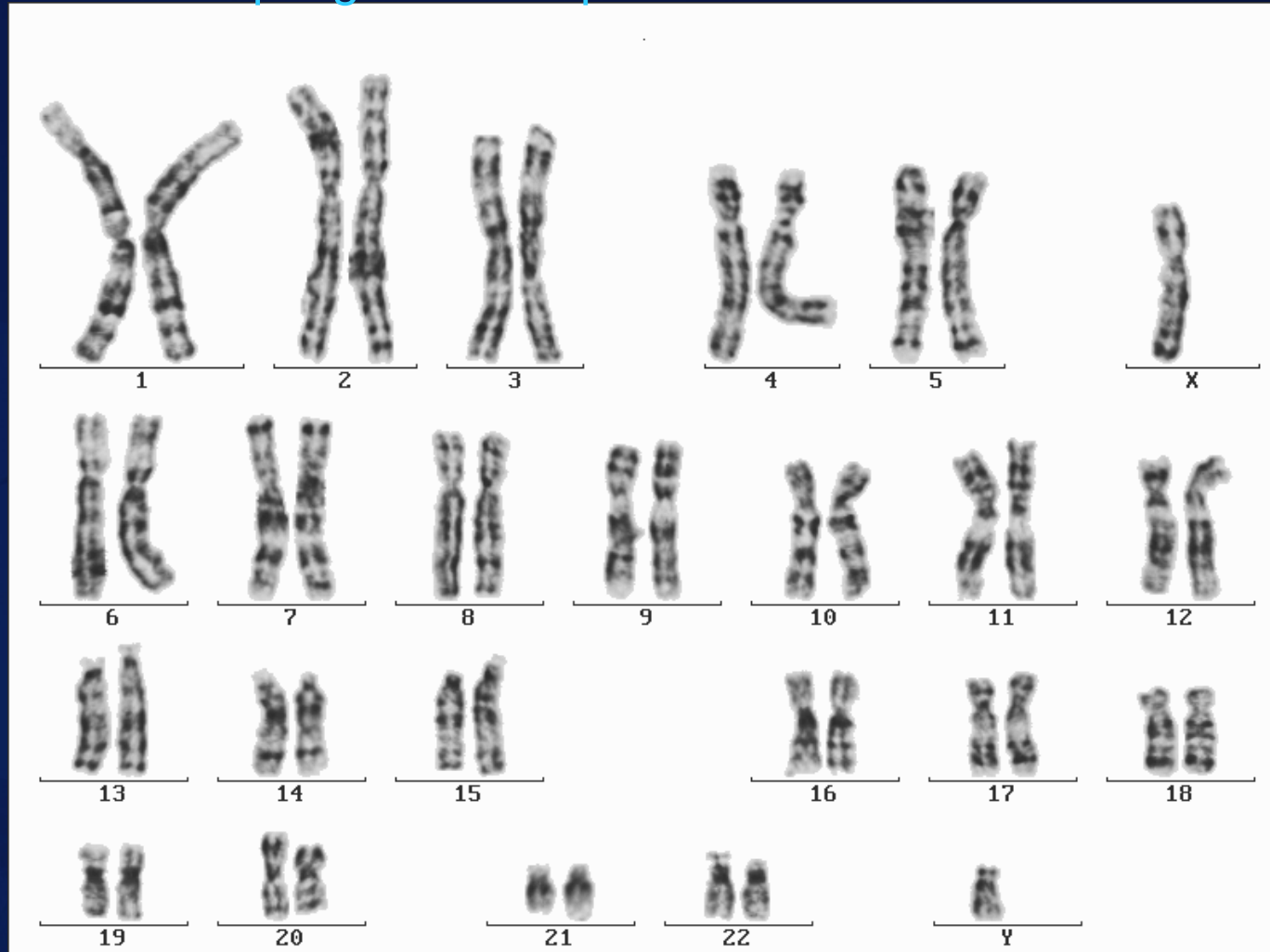
- Un gène contient l'information pour produire une molécule à un moment précis et dans un tissu spécifique





— Les chromosomes sont présents en deux exemplaires,
l'un provenant du père, l'autre de la mère.

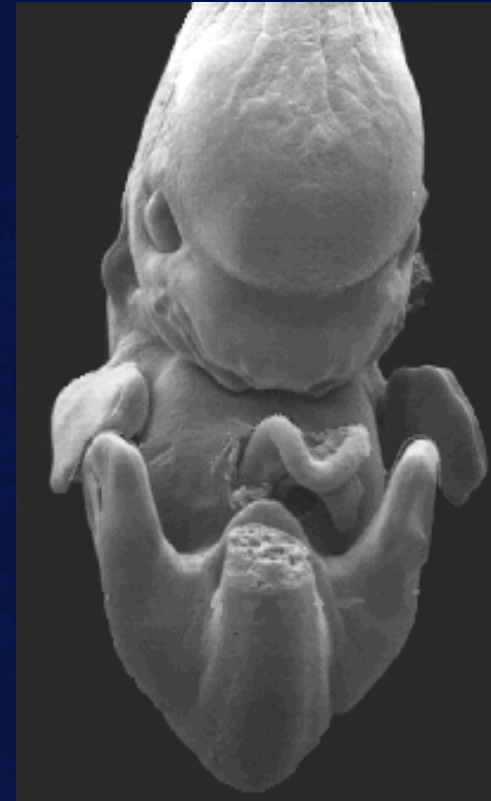
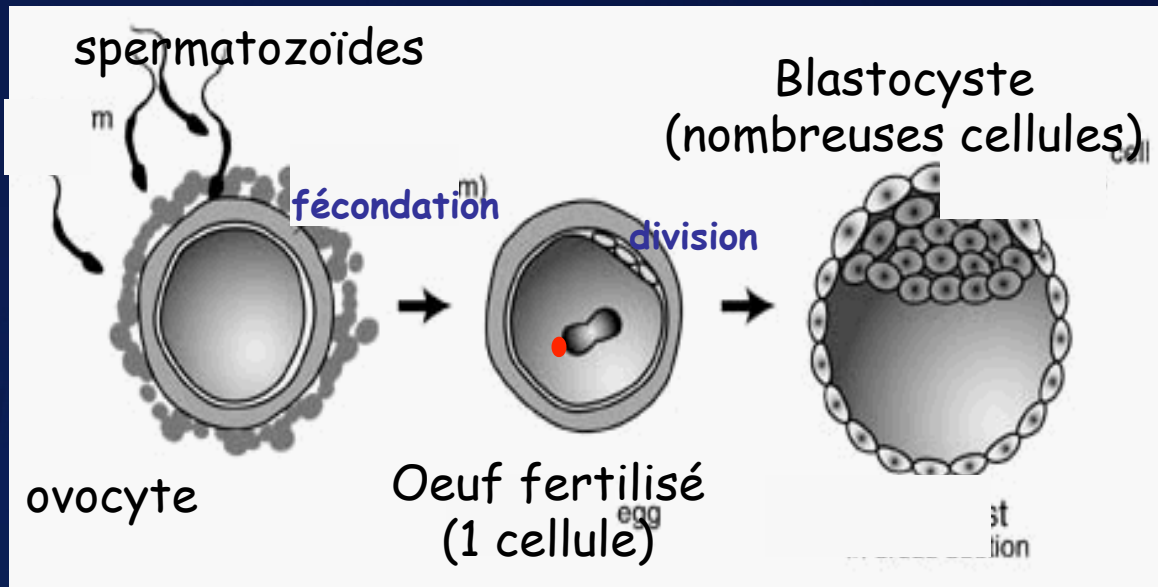
→ Chaque gène est représenté deux fois.



Tous les gènes s'expriment en deux copies mais...quelques exceptions à la règle

– Une cellule œuf donne naissance à tout un organisme!

Embryon de souris,
12^{ème} jour de gestation
(± 40^{ème} jour chez l'homme)



Le syndrome de Prader-Willi (SPW)

Symptômes cliniques : 2 phases paradoxales

■ A la naissance :

- Hypotonie néonatale sévère
- Problèmes d'alimentation avec peu ou absence de succion (alimentation par sonde)
- Retard du développement
- Détresse respiratoire avec apnée du sommeil
- Somnolence diurne excessive

■ De 2 à 4 ans :

- Appétit excessif et besoin calorique moindre,
→ obésité
- Problèmes de comportement (développement émotionnel et social) , TOC, impulsivité, psychoses
- Hypogonadisme
- Déficit cognitif....mais très bonne mémoire spatiale

■ Autres caractéristiques :

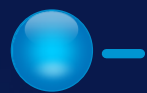
- Seuil de douleur élevé
- Grattage
- Inadaptation de la sensibilité proprioceptive
- Dysmorphie faciale
- Thermorégulation

DEPUIS 1956.....

- **1956:** Dr Prader, Dr Labhart et Dr Willi : Description clinique du SPW
- **1980-83 :** corrélation du SPW avec un remaniement du chromosome 15
- **1986-87 :** corrélation du SPW avec la délétion d'une région du chromosome 15
- **1989-90 :** corrélation du SPW avec la présence de deux chromosomes 15 maternels uniquement
- **1992 :** SPW peut résulter d'une mutation « de l'empreinte »

1995 : Diagnostic génétique fiable





Chromosomes 15

Maternel Paternel

M

P



15q11-13

Délétion paternelle

70-80 %
de novo

M

M



15q11-13

Disomie maternelle

20-30 %
de novo

Absence des gènes de la région paternelle 15q11-13

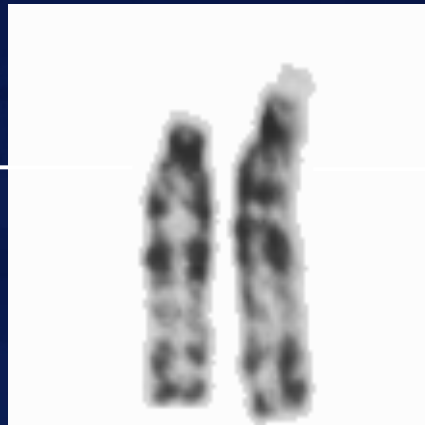
– Une particularité des gènes impliqués dans le SPW



CH₃ ● MKRN3
CH₃ ● MAGEL2
CH₃ ● NECDIN
CH₃ ● SNURF-SNRPN
● 76 snoRNA genes

Chromosome maternel

Cas normal



15



MKRN3 ● →
MAGEL2 ● →
NECDIN ● →
SNURF-SNRPN ● →
● 76 snoRNA genes →

Chromosome paternel

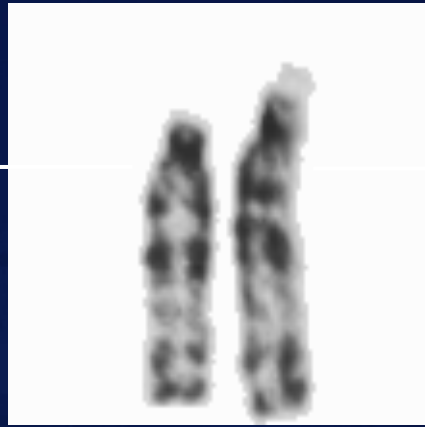
– Une particularité des gènes impliqués dans le SPW



CH₃ ● MKRN3
CH₃ ● MAGEL2
CH₃ ● NECDIN
CH₃ ● SNURF-SNRPN
● ● 76 snoRNA genes

Chromosome maternel

Patient Prader-Willi



15



Chromosome paternel

— Plusieurs gènes sont impliqués dans le SPW

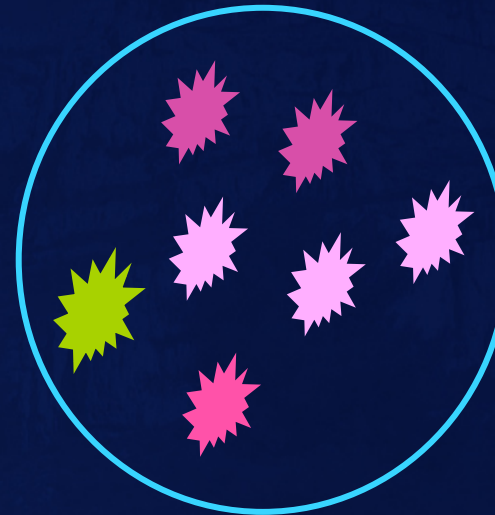
Quel(s) gène(s) pour quel(s) symptôme(s)?

Gènes impliqués dans le SPW

MKRN3
MAGEL2
NECDIN
SNURF-SNRPN
76 snoRNA
genes



Symptômes





Comprendre ce que font les gènes impliqués dans
le SPW...

...*in vivo* (dans l'organisme d'un individu)



Pourquoi un modèle murin?

- Les souris sont:
 - petites (35g)
 - faciles à loger
 - durée de vie courte (2-3 ans)
 - se reproduisent facilement
 - durée de gestation de 3 semaines
 - 5-12 bébés par portée en moyenne

Étude d'une pathologie:

- durant un cycle vie
- sur un très grand nombre d'animaux
- sur plusieurs générations

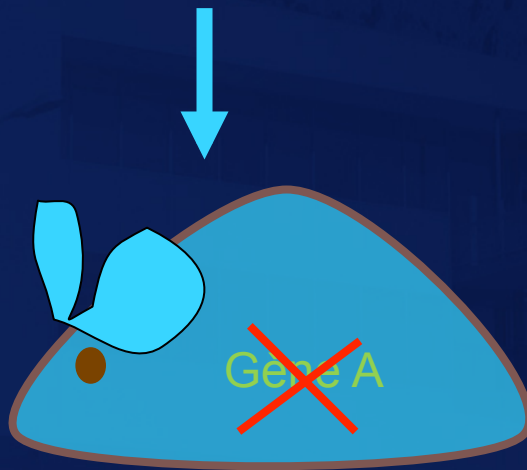
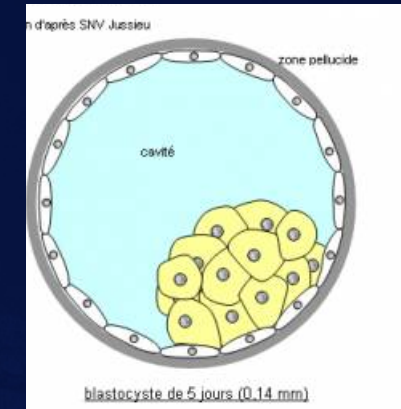
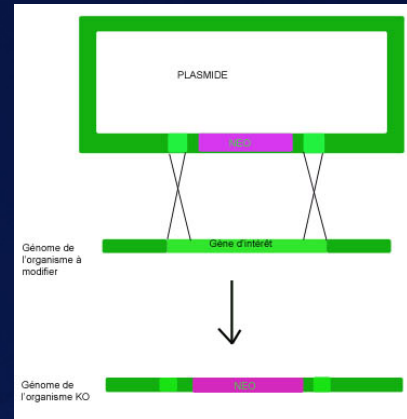
Modèle de choix pour l'expérimentation animale et la recherche clinique:



Pourquoi un modèle murin?

- Les souris sont utilisées intensivement dans nos recherches en raison de leur similitude génétique avec les être humains. La souris et l'homme partagent environ 98% de leurs 30 000 gènes.
- Depuis un certain nombre d'années, des techniques ont été mises au point permettant de modifier le génome des souris. Nous pouvons donc potentiellement reproduire dans la souris tout type d'altération génétique se produisant chez l'homme.
- Ceci n'était pas possible chez le rat !

– Souris génétiquement modifiée: inactivation d'un gène

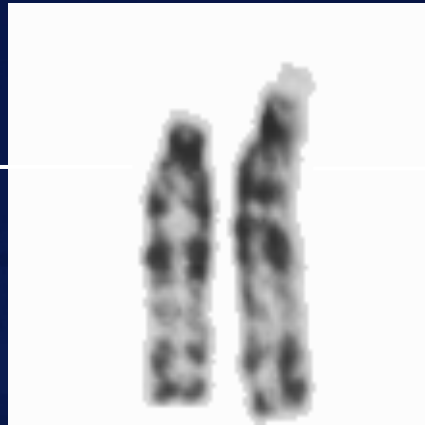


Dans ces souris, un gène ciblé a été mis « hors de combat » ou KO. Elles permettent de déterminer l'implication d'un gène donné dans l'apparition ou l'évolution d'une maladie.

– Les gènes du SPW sont conservés chez la souris



CH₃ ● MKRN3
CH₃ ● MAGEL2
CH₃ ● NECDIN
CH₃ ● SNURF-SNRPN
● ● 76 snoRNA genes



15



MKRN3 ● ■■■→
MAGEL2 ● ■■■→
NECDIN ● ■■■→
SNURF-SNRPN ● ■■■→
● ● 76 snoRNA genes ■■■→

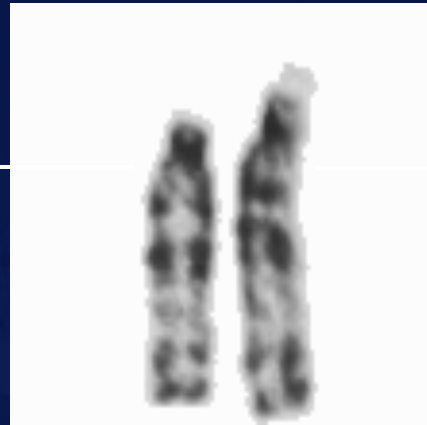
Chromosome maternel

Chromosome paternel

– Un exemple : Necdine KO chez la souris



CH₃ ● MKRN3
CH₃ ● MAGEL2
CH₃ ● NECDIN
CH₃ ● SNURF-SNRPN
● ● 76 snoRNA genes



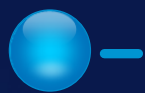
15



MKRN3 ● ||| →
MAGEL2 ● ||| →
● ●
SNURF-SNRPN ● ||| →
76 snoRNA genes ● ||| →

Chromosome maternel

Chromosome paternel



Comment utiliser ces souris KO ?

Chercher l'erreur



Souris sauvage



Souris sans Necdin
sans Magel2
sans Snord116....



– Identification du rôle des différents gènes en utilisant des modèles de souris

Inactivation de chaque gène séparément

-Snrpn KO → normal

-Snurf KO → normal

-Mkrn3 KO → normal

-Snord116 KO → retard de croissance, hyperphagie

-MBII 52 KO ?

-Necdin KO → Détresse respiratoire, déficit sensori-moteurs,

-Magel2 KO → Rythme biologique (sommeil, éveil) perturbé, altérations métaboliques, problème de succion à la naissance.

Necdin est impliqué dans le syndrome de Prader-Willi

■ Phénotype de la souris déficiente pour *Necdin* :

- Mortalité post-natale précoce (détresse respiratoire)
- Retard de croissance
- Activité de "grattage" augmentée
- Seuil à la douleur modifié
- Performances d'apprentissage modifiées

Mutant →

Sauvage →



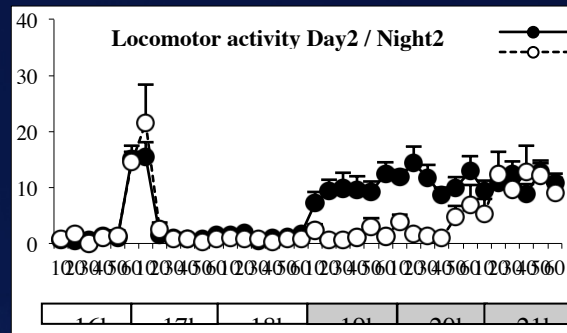
Réduction de certains neurones de l'hypothalamus (comme chez les patients PW).

Analyse des souris KO pour Magel2



- Absence d'alimentation
(50% de mortalité à la naissance)

Schaller et al., HMG, 2010



- Activité circadienne perturbée
Mezziane ,..., Muscatelli. In preparation.



- Altération du comportement social

Mezziane ,..., Muscatelli. In preparation

- Altération du métabolisme
- Diminution de la fertilité chez les mâles et les femelles
- Une étude encore en cours...



Magel2 KO nouveaux nés

50% meurent entre P0 et P1

50% survivent



Incapacité à se nourrir : pas d'initiation de l'activité de succion

et

Déficit d'Ocytocine mature dans l'hypothalamus
des nouveaux-nés



L'Injection d'ocytocine rétablit l'activité de succion
100% de survie



(Schaller et al., 2010)

Ocytocine : un acteur clé dans l'initiation de l'activité de succion

Nouveau-né sauvage



Pas d'activité d'allaitement et décès
« phénotype Magel2 KO »

Injection de récepteur antagoniste OT

Injection d'Ocytocine : une thérapie puissante pour remplacer l'alimentation par sonde dans le SPW

→ Pr. M. Tauber, Toulouse

Une thérapie puissante dans d'autres déficits d'alimentation précoce ?

Nouveaux-nés Magel2 KO

50% meurent entre P0 et P1

Reconnaissance d'objet

Reconnaissance de fonction sociale

Interaction sociale

Préférence pour le sucre

Labyrinthe aquatique
(apprentissage, mémoire)

50% survivent

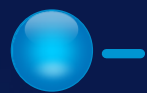


Le comportement social est modifié

L'injection d'ocytocine rétablit un comportement normal
(Mezziane, Schaller, Muscatelli, non publié)

Injection d'Ocytocine : une thérapie puissante pour rétablir des interactions sociales normales ?

"Intranasal oxytocin decreases disruptive behavior in patients with Prader-Willi syndrome"
Thuilleaux, Tauber.



SPW

Gènes candidats



Maladie génétique



Investigations cliniques



Physiopathologie



Modèles murins

Désactivation de gène



Phénotype



Physiopathologie



Fonction au niveau
Cellule / molécule

Thérapie





– De l'identification des Gènes

.....aux différentes stratégies thérapeutiques

Objectif : Compenser une fonction physiologique

Identification des Gènes➡ Quelle Thérapie ?

Thérapie génique➡ Remplacer les gènes déficients
Difficile à concevoir dans le SNC...

Thérapie cellulaire➡ « Greffer » des cellules qui permettent
de compenser les déficiences physiologiques

Thérapie pharmacologique➡ Molécules pharmacologiques
Réadapter ou compenser une voie physiologique

– Et si on pouvait réactiver les gènes maternels?



CH₃ ● MKRN3
CH₃ ● MAGEL2
CH₃ ● NECDIN
CH₃ ● SNURF-SNRPN
● ● 76 snoRNA genes

Chromosome maternel



MKRN3 ● →
MAGEL2 ● →
NECDIN ● →
SNURF-SNRPN ● →
76 snoRNA genes ● →

Chromosome maternel

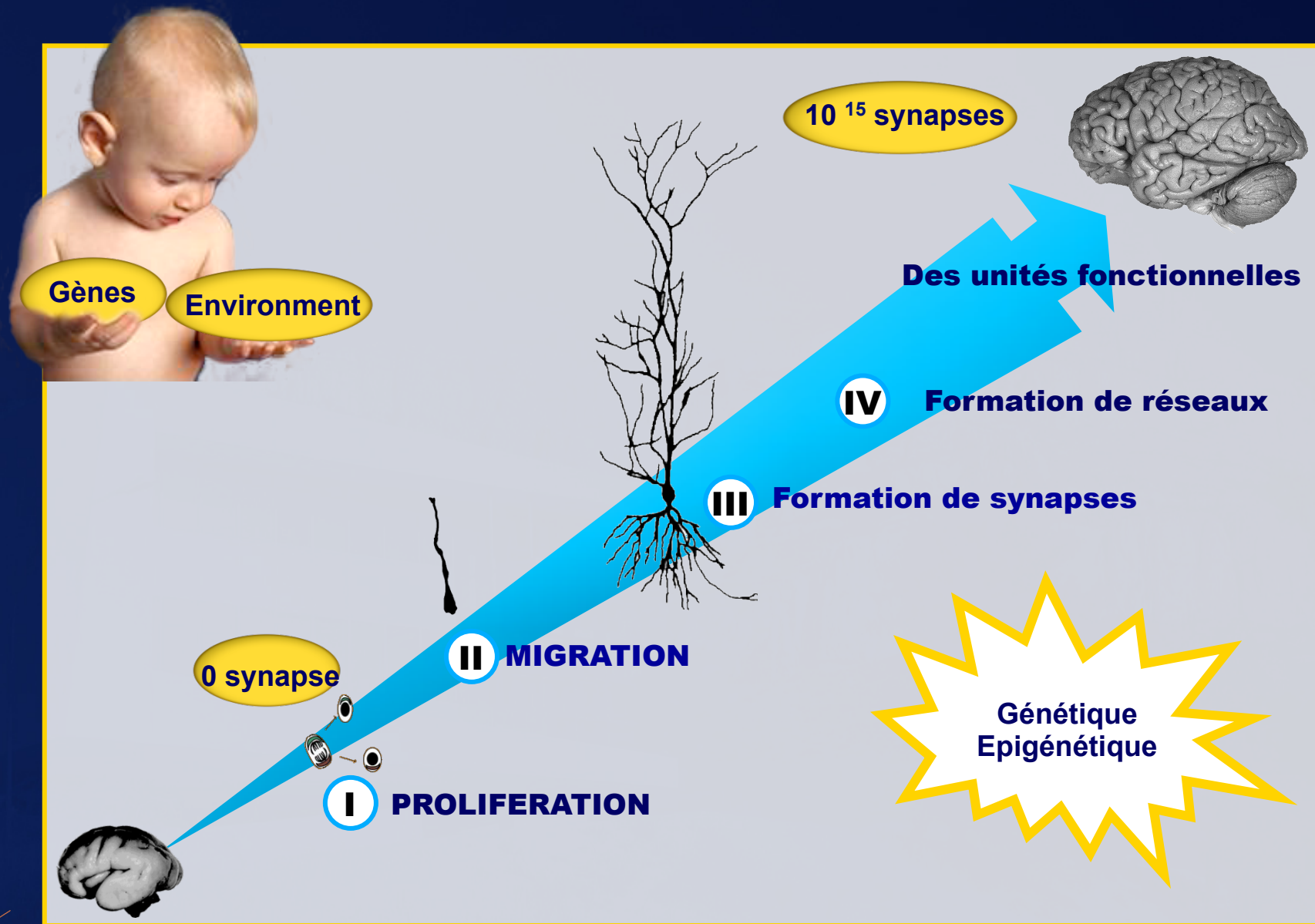
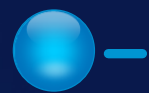
● – Gènes et environnement

- Les gènes sont déterminants pour la formation et le fonctionnement d'un organisme.
- Est-ce que le déterminisme génétique fait tout dans l'adaptation d'un individu à son environnement?



– Le cerveau: une machine complexe

- 100 milliards de neurones, 1 million de milliards de connections entre neurones
- Un système à la fois organisé et extrêmement plastique qui permet d'intégrer des milliards d'informations en des temps records
- Sa construction nécessite un programme génétique mais est aussi sensible à l'environnement afin de s'adapter aux conditions
- Ces propriétés et cette nécessité induisent cette grande fragilité du développement du cerveau



– MERCI POUR VOTRE ECOUTE....

- **Merci aux membres « passés » de l'équipe
et aux membres actuels:**

Schaller Fabienne
Rieusset Anne
Sylvian Bauer
Valery Matarazzo

Collaborations:

- **Tauber M. (Toulouse)**
- **Mezziane H. (ICS,
Strasbourg)**
- **G. Hilaire (Marseille)**
- **J. Gallego (Paris)**
- **D Swaab, (Netherlands).....**



Expérimenter les sciences pour mieux les comprendre

Constance Hammond

Association Tous Chercheurs

INMED, Inserm

163 route de Luminy, BP13

13273 Marseille cedex 9

<http://www.touschercheurs.fr/>

Associations de malades (3 jours) Prader-Willi France a déjà testé !



**Associations
Huntington**
(2 sessions)



**AMMi
(maladies mitochondriales)**

**AIRG
(maladies rénales)**
(2 sessions)



**Maladie de
Behçet**



**APTEPF et
HNPPC
(cancers du côlon)**
(2 sessions)



**Ligue contre
les dystonies**
(3 sessions)



AFM (4 sessions)



Syndrome de Rett



Strümpell Lorrain



PWF

**Contact : Marion
MATHIEU**
mathieu@touschercheurs.fr