

Résumé de thèse d'Alberto Iannuzzo

Université Paris Cité, Institut Cochin, INSERM U1016

Directeur de thèse: Jérôme Delon; Co-Dir. de thèse: Isabelle Meyts

Déchiffrer les mécanismes responsables de la pathogénicité des variants de CDC42 identifiés dans les syndromes auto-inflammatoires

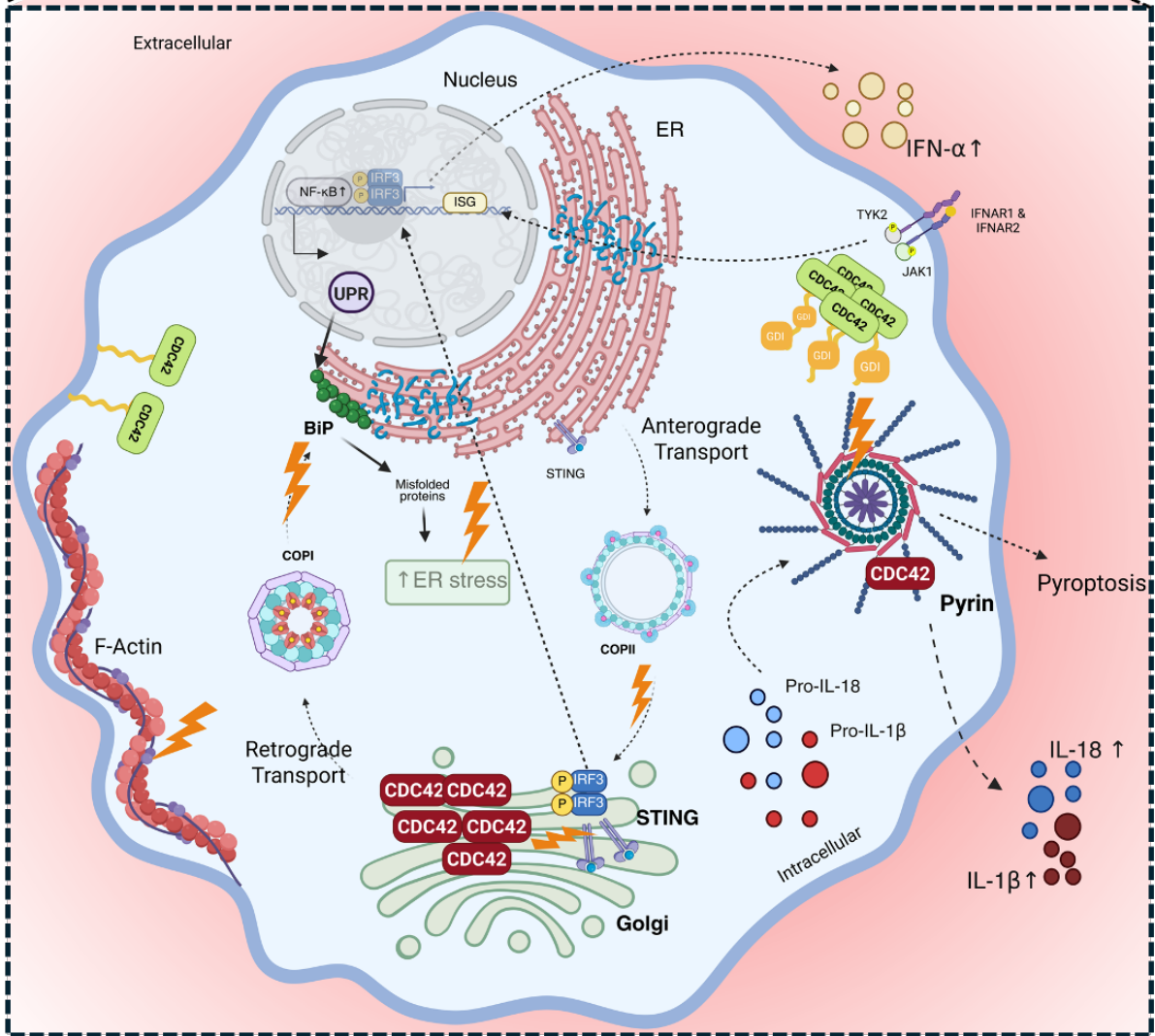
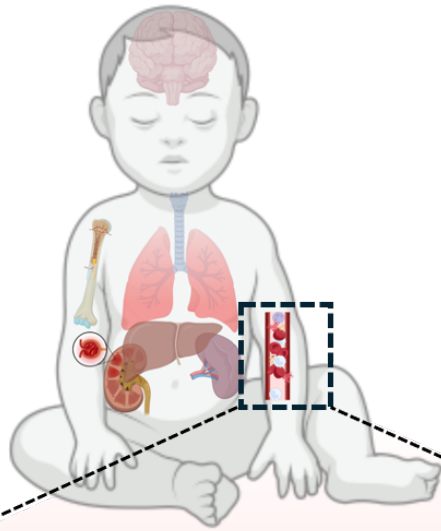
Les syndromes auto-inflammatoires (AIS) sont des maladies héréditaires rares causées par une dérégulation de l'immunité innée, entraînant une inflammation systémique incontrôlée en l'absence d'infection. De nombreux AIS résultent de mutations affectant des voies inflammatoires clés telles que TNF, NF- κ B, IL-1 β et les inflammasomes. Les GTPases de la famille RHO, dont CDC42, régulent des fonctions essentielles des cellules immunitaires, notamment l'organisation du cytosquelette, la migration, l'adhésion, la polarité et la progression du cycle cellulaire. Bien que des anomalies de la signalisation des GTPases RHO aient été associées à des immunodéficiences et à des maladies inflammatoires, leurs mécanismes précis restaient mal compris.

L'objectif de ce projet de doctorat était donc d'étudier comment les variants de CDC42 contribuent aux maladies auto-inflammatoires, en mettant l'accent sur les défauts du cytosquelette et les anomalies de signalisation. Des études récentes ont identifié plusieurs mutations de CDC42 associées à des AIS sévères. Les variants C-terminaux (R186C, C188Y et 192C24) provoquent le syndrome NOCARH, caractérisé par une cytopénie néonatale, une auto-inflammation, une éruption cutanée et une hémophagocytose. En revanche, la mutation N-terminale Y64C est associée au syndrome de Takenouchi-Kosaki, caractérisé par des traits dysmorphiques, un retard neurodéveloppemental, une macrothrombocytopénie et une inflammation modérée. Les résultats expérimentaux ont montré que le variant Y64C présentait une localisation cellulaire normale et n'affectait ni la polymérisation de l'actine ni la signalisation NF- κ B. À l'inverse, les variants C-terminaux s'accumulaient anormalement dans l'appareil de Golgi et le noyau, réduisaient la polymérisation de l'actine et augmentaient la phosphorylation et la translocation nucléaire de NF- κ B. Fait important, la dépolymérisation de l'actine seule n'activait pas NF- κ B, indiquant que les mutations de CDC42 déclenchent la signalisation inflammatoire par des mécanismes indépendants. Des analyses complémentaires ont porté sur le trafic RE-Golgi, le stress du réticulum endoplasmique (RE), l'activation de STING et les réponses à l'interféron de type I. Le variant CDC42-R186C piégé dans le Golgi perturbait le transport RE-Golgi, induisait un stress du RE et entraînait l'accumulation de STING dans le Golgi en raison d'un défaut de transport rétrograde dépendant du COPI. Cela conduisait à une suractivation de STING et à une augmentation de l'expression des gènes stimulés par l'interféron. Des observations similaires ont été faites pour le variant 192C24, tandis que Y64C et C188Y, qui ne s'accumulent pas dans le Golgi, n'activaient pas STING. Une nouvelle mutation N-terminale T43I n'affectait pas la localisation ni les réponses à l'interféron, mais provoquait une hyperactivation de l'inflammasome Pyrine, probablement via une liaison accrue de CDC42 à Pyrine. Ces résultats suggèrent que CDC42 régule positivement l'inflammasome Pyrine et que CDC42 et RHOA participent ensemble au contrôle de l'inflammation médiée par Pyrine.

L'étude a également souligné l'importance des défauts de trafic RE-Golgi et du stress du RE comme moteurs de la dérégulation immunitaire, de manière similaire à ce qui est observé dans les maladies causées par des mutations des sous-unités du complexe COPI telles que COPA et COPZ1. Les maladies liées à CDC42 et à COPA présentent toutes deux des défauts de transport rétrograde dépendant du

COPI, entraînant un stress du RE et l'activation des voies NF- κ B et interféron de type I. Des niveaux élevés d'IFN- α chez les patients porteurs de CDC42-R186C étaient corrélés à la sévérité de la maladie, et une activation simultanée des voies NF- κ B, interféron et Pyrine a été observée, suggérant que plusieurs mécanismes inflammatoires contribuent à la pathologie.

Dans l'ensemble, ce travail montre que différentes mutations dans un même gène peuvent produire des phénotypes cliniques distincts en affectant différentes voies cellulaires. Les variants de CDC42 piégés dans le Golgi activent à la fois les voies STING et Pyrine, tandis que T43I active sélectivement Pyrine. De plus, des mutations dans des gènes différents peuvent conduire à des phénotypes similaires, comme observé pour les variants CDC42 et COPA. Ces résultats soulignent l'importance d'approches de médecine de précision combinant diagnostic génétique et études fonctionnelles pour guider des thérapies ciblées dans les maladies auto-inflammatoires causées par des mutations de CDC42.



Légende de la figure

Les patients analysés présentent un phénotype clinique inflammatoire systémique, caractérisé par des manifestations distinctives telles qu'un syndrome d'activation macrophagique ou lymphohistiocytose hémophagocytaire (HLH) avec hépatosplénomégalie, myélofibrose, éruptions cutanées, atteintes neurologiques et pulmonaires, nécessitant souvent une greffe de cellules souches hématopoïétiques (HSCT).

Mon travail s'est concentré sur l'exploration du rôle de la dérégulation immunitaire et de sa contribution au phénotype clinique observé. La figure illustre les principales voies cellulaires impliquées, telles que je les ai décrites dans la thèse. Elle met en évidence la manière dont les mutations affectant COPI et CDC42 perturbent le transport vésiculaire rétrograde et antérograde, la production d'interféron de type I, la polymérisation des filaments d'actine et l'activation du senseur de l'immunité innée, la Pyrine. Les voies de signalisation dérégulées sont symbolisées graphiquement par un éclair.

Nos résultats montrent que différentes mutations d'un même gène peuvent conduire à des phénotypes hétérogènes en dérégulant des voies distinctes. Un exemple clair est que les variants de CDC42 piégés dans le Golgi hyperactivent à la fois STING et la Pyrine, tandis que la mutation T43I hyperactive sélectivement la Pyrine. En revanche, des mutations dans des gènes différents peuvent également entraîner des phénotypes similaires, comme observé pour les variants de CDC42 piégés dans le Golgi et de COPA. Cette complexité souligne la nécessité d'approches de médecine de précision fondées sur la génétique et la validation fonctionnelle des variants pathogènes responsables de désordres inflammatoires.