

## Thème 2: P42, un peptide thérapeutique contre la maladie de Huntington (Responsable: F. Maschat)

Plusieurs gènes cibles d'Engrailed connus pour leur rôle dans le développement neuronal ont été isolés dans mon laboratoire. Parmi ces cibles se trouve le gène *huntingtin* codant pour une protéine dont l'homologue humain est impliqué dans la chorée de Huntington, qui est une maladie rare neurodégénérative qui concerne 1,3 personnes sur 10 000 en Europe. Il n'y a pour le moment aucun traitement curatif de cette maladie. Cette maladie résulte de l'expansion anormale d'un domaine polyQ contenu dans la partie N-terminale de la protéine Huntingtin humaine (hHtt). Quand ce domaine excède 35Q, la protéine polyQ-hHtt forme des agrégats et une dégénérescence des neurones du striatum est observée. Plusieurs études, dont les nôtres, ont identifié une influence de la fonction normale de la Htt dans la maladie (Mugat et al., 2008). En effet, nous avons pu montrer que l'activation de la Huntingtine normale (*via* Engrailed, ou par d'autres mécanismes) permettait de sauver des phénotypes induits par la protéine mutante polyQ-Htt. Nous avons recherché, au sein de la protéine Htt, quelle partie était responsable de cet effet protecteur. Cette analyse nous a permis d'isoler un peptide de 23 aa (P42) qui empêche l'agrégation de polyQ-hHtt. Nous avons pu confirmer le rôle protecteur de P42 *in vivo* chez la *Drosophile*, où il est capable de sauver la formation d'agrégats et différents phénotypes induits par l'expression de la protéine mutante polyQ-hHtt (Arribat, Bonneaud *et al.*, 2013; article plébiscité dans *International Innovation*).

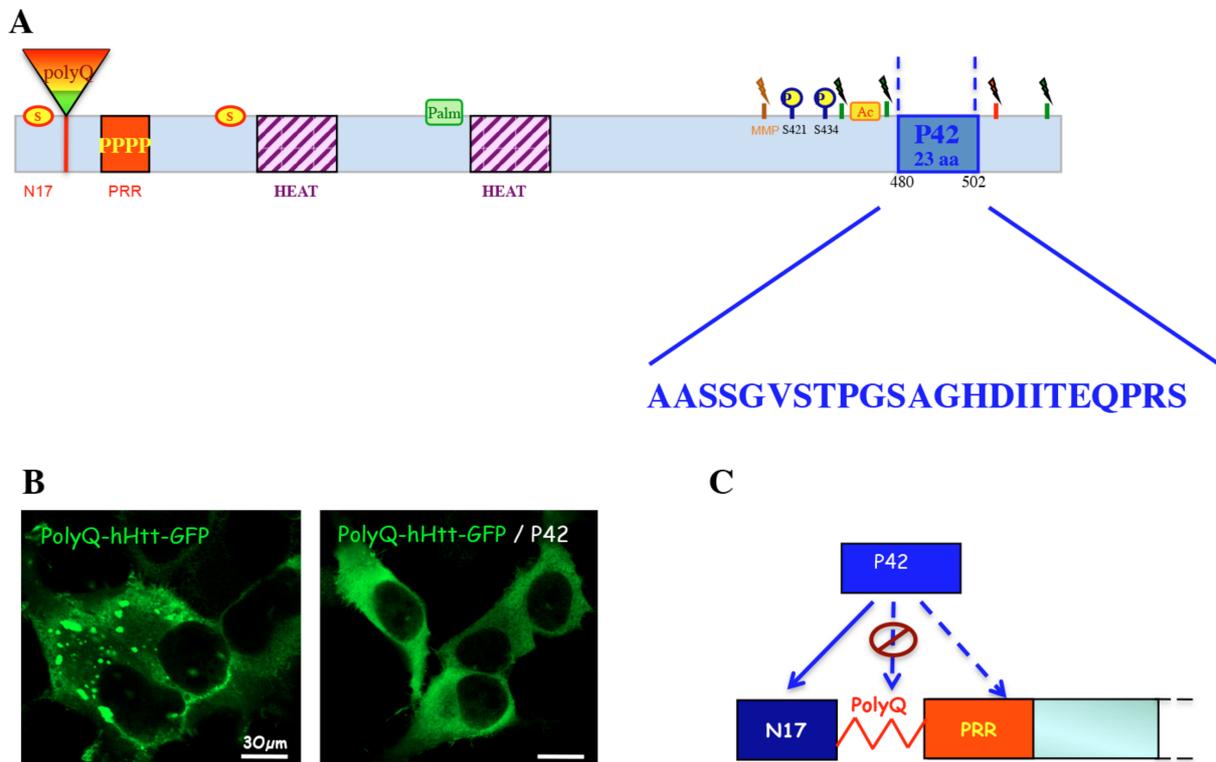


Figure: A- Localisation du peptide P42 dans 548 aa de la partie N-terminale de la protéine Huntingtine humaine (Htt). La séquence d'acides aminés de P42 est montrée. B- Cellules HeLa transfectées par un vecteur exprimant le polyQ-Htt-GFP conduisant à la formation d'agrégats cytoplasmiques; la co-transfection avec polyQ-Htt-GFP et P42 empêche la formation d'agrégats (Arribat et al., 2013). C- Mécanisme d'action de P42 impliquant une interaction de P42 avec la protéine Htt. Des expériences de co-immunoprécipitation et BiFC ont confirmé une interaction directe de P42 avec N17.

Contrairement aux autres stratégies adoptées jusqu'à présent dans le domaine, ce peptide ne cible pas directement la mutation polyQ présente dans la protéine Huntingtin, mais agit spécifiquement sur la Huntingtine mutante en interagissant avec les 17 premiers aa, qui sont impliqués dans les premières étapes d'agrégation.

Afin de vérifier l'effet protecteur de P42 dans un modèle murin de cette maladie (modèle R6/2), nous avons combiné deux approches complémentaires: i) d'une part nous avons fusionné P42 au domaine TAT de HIV afin d'assurer sa diffusion et le passage de la barrière hémato-encéphalique ; ii) d'autre part afin de mieux protéger notre peptide de la dégradation et d'effectuer des traitements journaliers, nous avons utilisé un nouveau procédé de spray oral après dilution du peptide dans des microémulsions Eau-dans-Huile (technologie Aonys®, développée par une compagnie privée Medesis Pharma-Baillargues, avec laquelle nous collaborons). Nous avons pu mesurer, par des techniques de spectrométrie de masse sur coupes de cerveau (*Maldi linear ion trap spectrometer*), la distribution de P42-TAT par Aonys® par rapport à des techniques plus classiques d'administration. Ceci nous a permis de vérifier que P42-TAT était bien retrouvé dans le cerveau après administration orale de microémulsions de type Aonys®. En utilisant cette technique d'administration originale, non-invasive, nous avons pu montrer l'effet protecteur de P42 sur des souris R6/2 (Arribat et al., 2014), au cours de traitements pré-symptomatiques, mais aussi post-symptomatiques, suggérant que P42 pourrait être utilisé pour prévenir mais aussi traiter les symptômes de la maladie.

#### **Projets en cours:**

P42 faisant partie de la protéine Htt endogène, le but actuel est d'analyser le rôle physiologique de ce peptide afin de mieux comprendre son action comme agent protecteur. Un deuxième volet consistera à améliorer la stabilité de P42 dans un but thérapeutique. Dans ce but des bithérapies impliquant P42 et d'autres molécules protectrices seront également testées.

**Ces données ont montré que P42 a la capacité non seulement de diminuer l'impact négatif de l'expression de la protéine mutante polyQ-Htt (en empêchant par exemple son agrégation), mais aussi en augmentant la fonction de la protéine Htt normale, dont il fait partie intégrante.**

#### **Publications associées:**

- Paucard\*, A., Couly\* S., Bonneaud, N., Maurice, T., Benigno, L., Jourdan, C., Vignes, M. and Maschat, F. "Improvement of BDNF signalling by P42 peptide in Huntington's disease." *Article soumis*. \*co premiers auteurs.
- Marelli, C., Maschat, F. (2016). "P42: a novel and promising peptide-based therapy for Huntington's disease". *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 11:24. DOI: 10.1186/s13023-016-0405-3
- Arribat, Y., Talmat-Amar, Y., Paucard, A., Lesport, P., Bauer, C., Bec, N., Parmentier, M.L., Benigno, L., Larroque, C., Maurel, P., Maschat, F. (2014) Systemic delivery of P42 peptide: a new weapon to fight Huntington's disease. *Acta Neuropathologica Communications* (2):86-103.
- Arribat\*, Y., Bonneaud\*, N., Talmat-Amar, Y., Layalle, S., Parmentier, M. L., Maschat, F. (2013) A Huntingtin Peptide Inhibits PolyQ-Huntingtin Associated Defects. *PLoS One* 8(7): e68775. \*co premiers auteurs.
- Mugat, B., Parmentier, M-L, Bonneaud, N., Chan H.O.E, Maschat, F. (2008) Protective role of Engrailed in a *Drosophila* model of Huntington's disease. *Human Molecular Genetics*, 17(22), 3601-3616; doi:10.1093/hmg/ddn255.