

Intervention du Docteur Anne Joutel

AG du 24/05/2025

Le Docteur Anne Joutel rappelle les principaux axes de la recherche concernant la maladie CADASIL :

- comprendre le mécanisme de l'accumulation de la protéine Notch 3
- Comprendre le mécanisme de la perte des cellules musculaires lisses des petites artères du cerveau
- Développer des biomarqueurs (dans le sang ou le liquide céphalorachidien) pour prédire l'évolution ou suivre l'effet d'un futur traitement, encore hypothétique
- Développer un nouveau modèle de souris pour tester des thérapeutiques ciblant la protéine Notch3 humaine

1/Mécanisme de l'accumulation et de l'agrégation de la protéine Notch 3

La mise au point de la technique qui permet d'observer la molécule Notch 3 a pris plus d'un an.

Les molécules de Notch 3 sont observables :

- soit sous forme de particules simples
- soit sous forme de doublets ou de triplets
- soit sous forme d'amas de plus de 4 particules
- soit sous forme de GOM

Dans les artères cérébrales des souris mutées CADASIL on trouve des amas de plus de 4 particules de Notch 3 ou des GOM ; celles-ci sont absentes chez les souris non mutées. Chez les souris non mutées on observe soit des particules simples soit des doublets ou triplets. La quantité de ces dernières est augmentée chez les souris CADASIL.

Chez les souris CADASIL, la protéine Notch 3 s'accumule toujours au même endroit, entre la cellule et la membrane basale et au niveau de la surface de la cellule. Fait remarquable, il n'y a pas d'accumulation à l'intérieur de la cellule.

Les GOM semblent constituer l'étape finale dans le processus d'accumulation et d'agrégation de la protéine Notch3. Les GOM ne sont donc que la partie la plus visible de l'accumulation et on ne peut plus se contenter de ne quantifier que les GOM.

Il est possible que la protéine Notch3 mutée, sous forme de particules simples, de doublets ou de triplets, soit délétère, et que le processus d'agrégation intervienne comme un mécanisme de neutralisation.

Par ailleurs, d'autres analyses ont montré qu'une partie de la molécule Notch3 quitte la cellule et va dans le sang ou le liquide céphalo rachidien.

2/Mécanisme de la perte des cellules musculaires lisses des petites artères du cerveau

Grace à des progrès technologiques et en particulier à l'utilisation de la technique de « la rétine à plat » on a pu

=>pour la première fois démontrer la relation de cause à effet entre l'accumulation anormale de Notch3 et la perte de cellules musculaires lisses

=> montrer que la protéine Notch3 mutée entraîne l'accumulation de la forme normale de la protéine Notch3. Cette observation fournit une explication plausible au fait que dans la maladie CADASIL les patients homozygotes (dont les deux gènes sont porteurs de la mutation) ne présentent pas une symptomatologie beaucoup plus sévère que les patients hétérozygotes (qui n'ont qu'un seul gène porteur de la mutation)

=>la spectrométrie de masse a permis de quantifier les protéines exprimées dans les vaisseaux cérébraux chez des souris modèles de la maladie CADASIL. Il a été ainsi découvert que certaines protéines sont produites en plus grande quantité dans ces vaisseaux. Fait remarquable, ces protéines sont également surexprimées dans les vaisseaux cérébraux de souris modèles d'autres maladies des petits vaisseaux

Les travaux de recherche actuels ont pour objectif d'établir un lien de causalité entre l'augmentation de certaines de ces protéines et la disparition des cellules musculaires lisses dans le cadre de l'atteinte CADASIL et d'autres maladies des petits vaisseaux.

3/Les biomarqueurs

Il s'agit de développer des outils permettant de suivre l'évolution de la maladie, tout en aidant à mieux comprendre les mécanismes de la maladie.

Actuellement on sait que l'accumulation de la protéine Notch 3 a un effet délétère.

Les dosages de protéines avec les tests ELISA peuvent entraîner des erreurs de diagnostic si ces tests ne sont pas spécifiques.

On dispose maintenant d'un nouveau test pour doser Notch3 dans le sang : on constate que la protéine est présente dans le sérum et le plasma des souris mutées et non mutées. La protéine présente dans le sang vient bien des cellules musculaires lisses des vaisseaux. Chez les souris mutées il n'y a pas d'augmentation ou de diminution du taux de Notch 3 avec le temps.

Chez les patients CADASIL il y a une petite augmentation de Notch3 dans le sang mais sans relation entre la quantité de Notch3 et l'expression clinique de la maladie.

Grace à la technique de spectrométrie de masse on a pu doser environ 2500 protéines dans le liquide céphalorachidien. Cette approche a permis d'identifier une augmentation significative de plusieurs protéines chez les patients.

Dans le cadre du développement futur des recherches

- l'objectif est maintenant de confirmer les résultats très prometteurs obtenus dans le liquide céphalorachidien d'une 1ère cohorte de 30 patients et 30 contrôles en les reproduisant dans une seconde cohorte de patients et de contrôles. Cette étude a un cout d'environ 300€ par individu.

-il faudra ensuite étudier s'il y a bien un lien entre l'évolution de la maladie et le niveau d'expression de ces protéines et si le dosage de certaines de ces protéines pourrait refléter la dégénérescence des cellules musculaires lisses des petits vaisseaux cérébraux.

On peut maintenant envisager de développer un traitement qui bloquerait la production de la protéine Notch3, tout en utilisant de marqueurs biologiques pour suivre l'évolution de la maladie. Des recherches sont en cours pour développer un traitement capable de réduire la production de la protéine Notch 3.

Pour poursuivre ces recherches il a été nécessaire de créer un nouveau modèle de souris dans lequel le gène Notch 3 est « humanisé », c'est-à-dire que le gène de la souris est remplacé par celui de l'homme. Ces nouvelles souris, dont la génération a pris environ 2 ans, sont arrivées à l'IPNP à l'automne 2024 : ce sont des souris qui sur un chromosome fabriquent la protéine Notch 3 humaine et sur l'autre la protéine Notch 3 des souris. La caractérisation de ces nouvelles souris est actuellement en cours.

Le Docteur Joutel pointe l'importance de la collaboration de qualité qui existe entre son équipe à l'IPNP et l'équipe du Cervco, ainsi que l'importance de la collaboration des patients qui acceptent de participer à des recherches en particulier ceux qui ont accepté des prélèvements de liquide céphalorachidien.

Par ailleurs les recherches dépendent de financements internationaux dont certains pourraient être remis en cause actuellement.