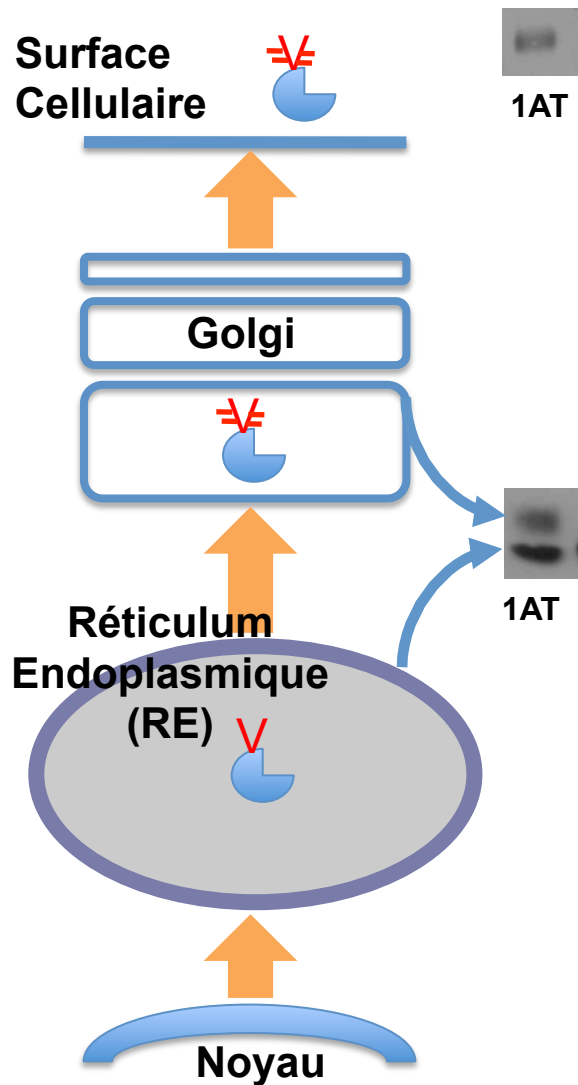




Recherche des facteurs génétiques en cause dans les hépatopathies associées au déficit en Alpha 1-Antitrypsine

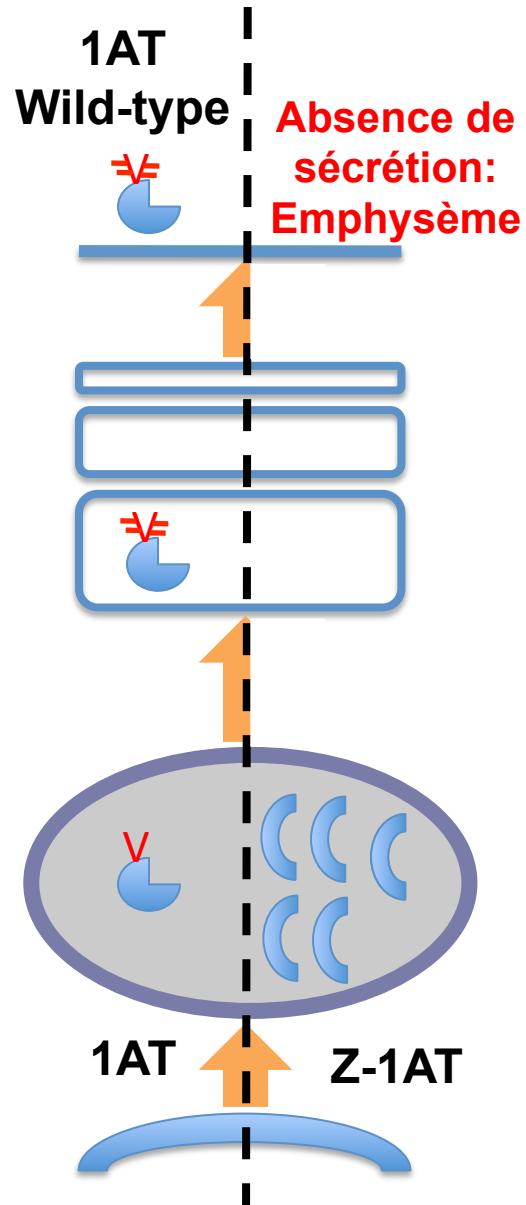
Marion Bouchecareilh
INSERM U1053 Bordeaux

Alpha 1-Antitrypsine (1AT)



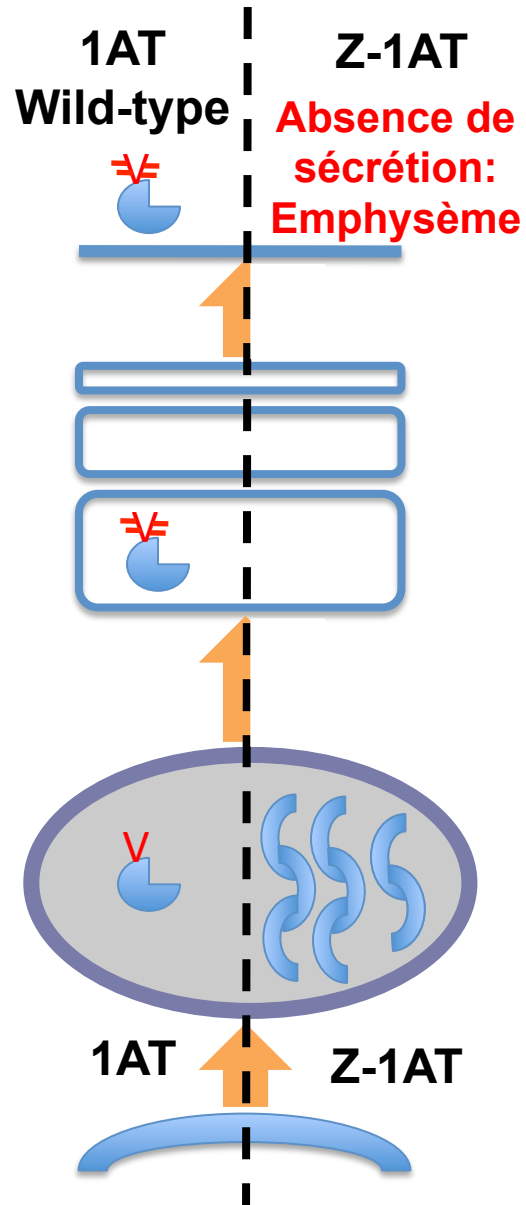
- Glycoprotéine de 52 kDa
- **Produite et sécrétée principalement par les hépatocytes**
- **Inhibiteur général des sérine-protéases**
- **Activité essentielle au niveau des poumons**
 - *Dégradation de l'élastine composante clé de la matrice extracellulaire des alvéoles*
- **Production hépatique cruciale pour maintenir:**
 - *Balance de protéases/antiprotéases*
 - *Intégrité des poumons*

Déficit en Alpha 1-Antitrypsine (1ATD)



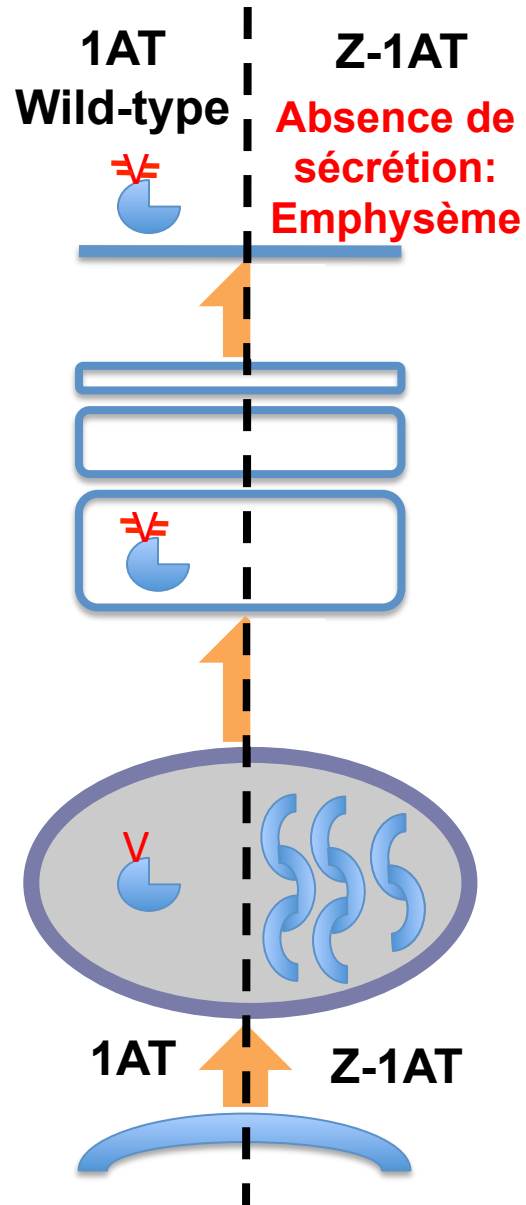
- Plusieurs mutations d'1AT = 1ATD (1/2500)
- Absence de trafic et de sécrétion

Déficit en Alpha 1-Antitrypsine (1ATD)



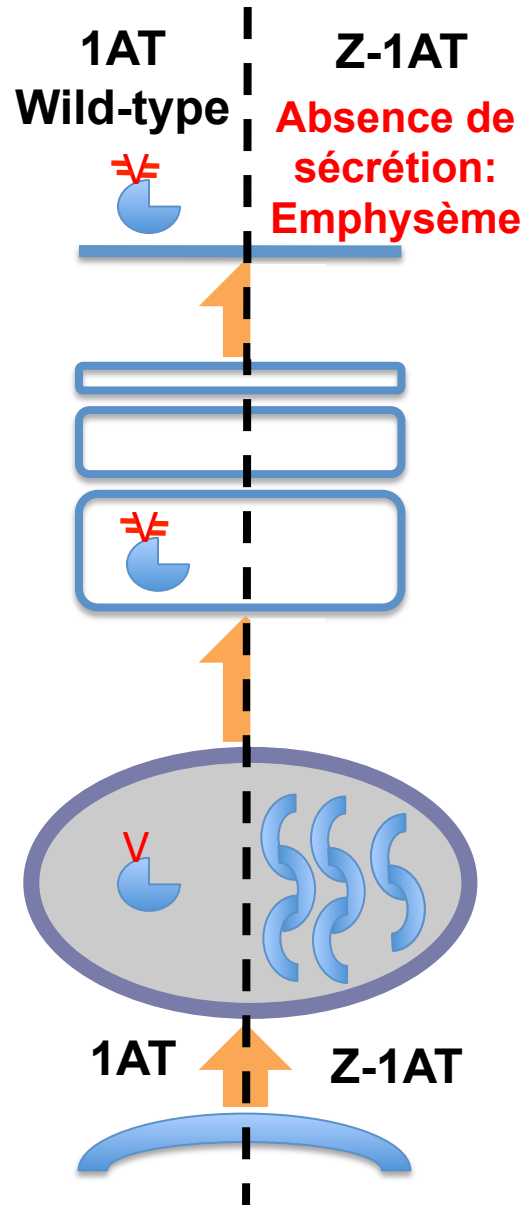
- Plusieurs mutations d'1AT = 1ATD (1/2500)
- Absence de trafic et de sécrétion
- Mutant Z (E342K):
 - le plus sévère et le plus commun
 - Substitution d'un glutamate en lysine à la position 342

Déficit en Alpha 1-Antitrypsine (1ATD)

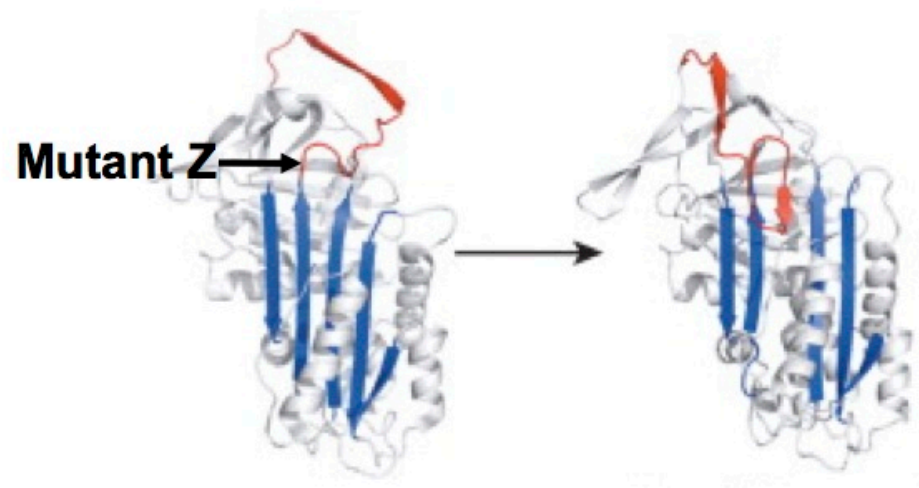


- Plusieurs mutations d'1AT = 1ATD (1/2500)
- Absence de trafic et de sécrétion
- Mutant Z (E342K):
 - le plus sévère et le plus commun
 - Substitution d'un glutamate en lysine à la position 342
 - Formation et accumulation d'agrégats

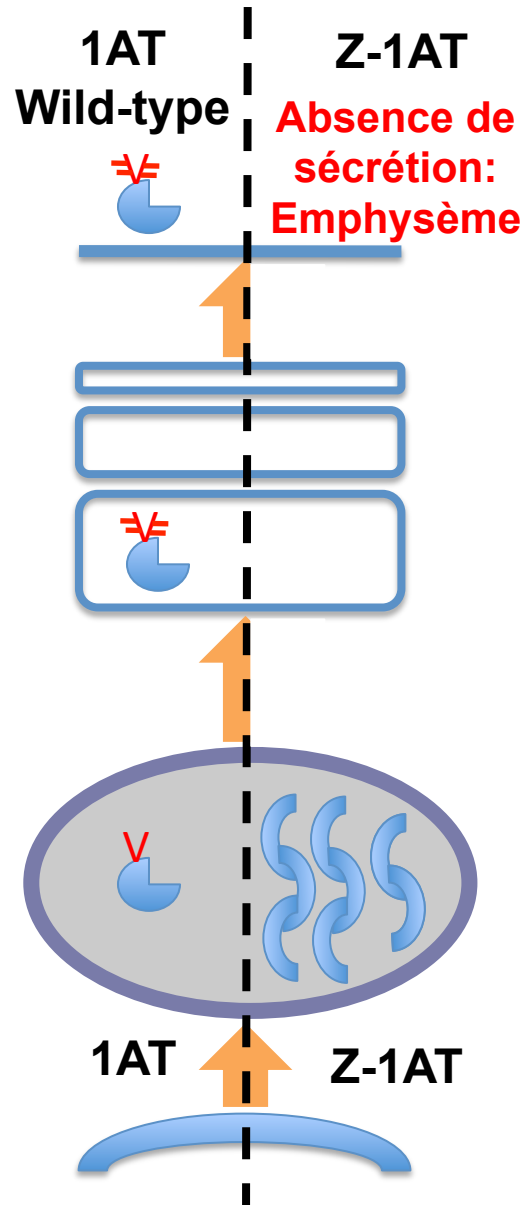
Déficit en Alpha 1-Antitrypsine (1ATD)



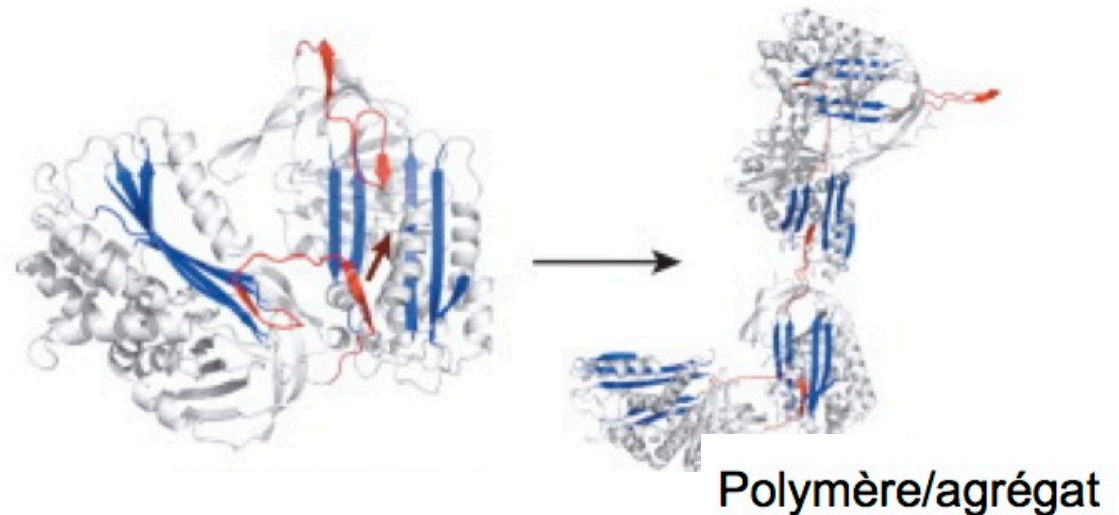
- Plusieurs mutations d'1AT = 1ATD (1/2500)
- Absence de trafic et de sécrétion
- Mutant Z (E342K):
 - le plus sévère et le plus commun
 - Substitution d'un glutamate en lysine à la position 342
 - Formation et accumulation d'agrégats



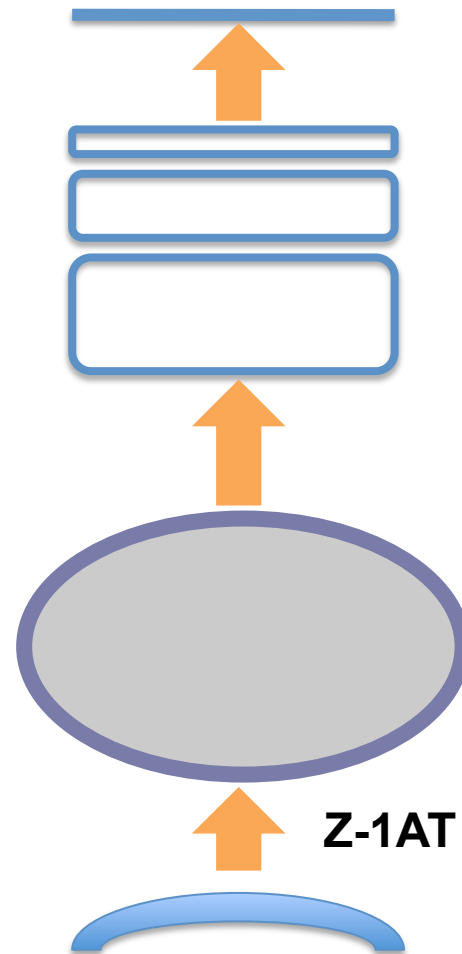
Déficit en Alpha 1-Antitrypsine (1ATD)



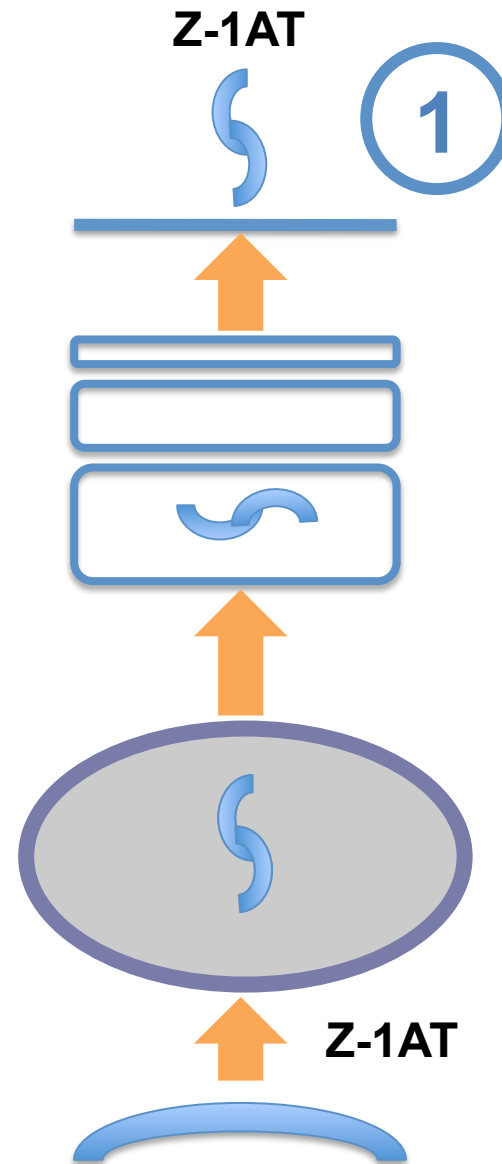
- Plusieurs mutations d'1AT = 1ATD (1/2500)
- Absence de trafic et de sécrétion
- Mutant Z (E342K):
 - le plus sévère et le plus commun
 - Substitution d'un glutamate en lysine à la position 342
 - Formation et accumulation d'agrégats



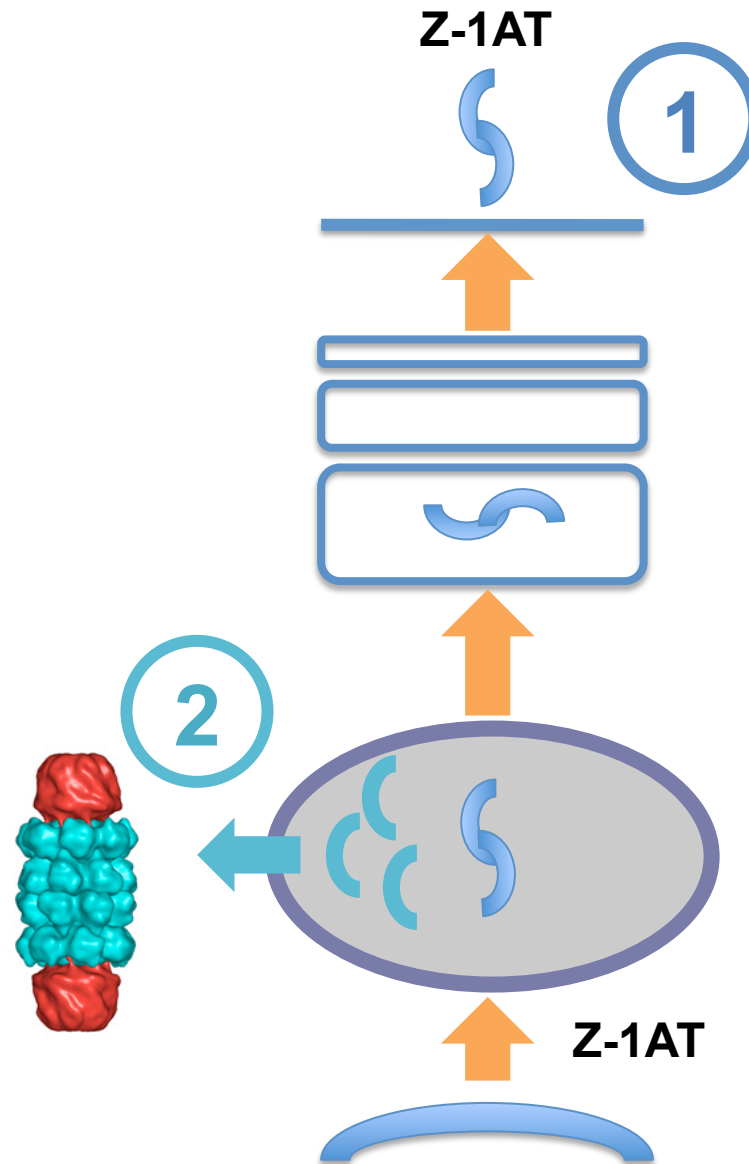
Biologie du mutant Z-1AT



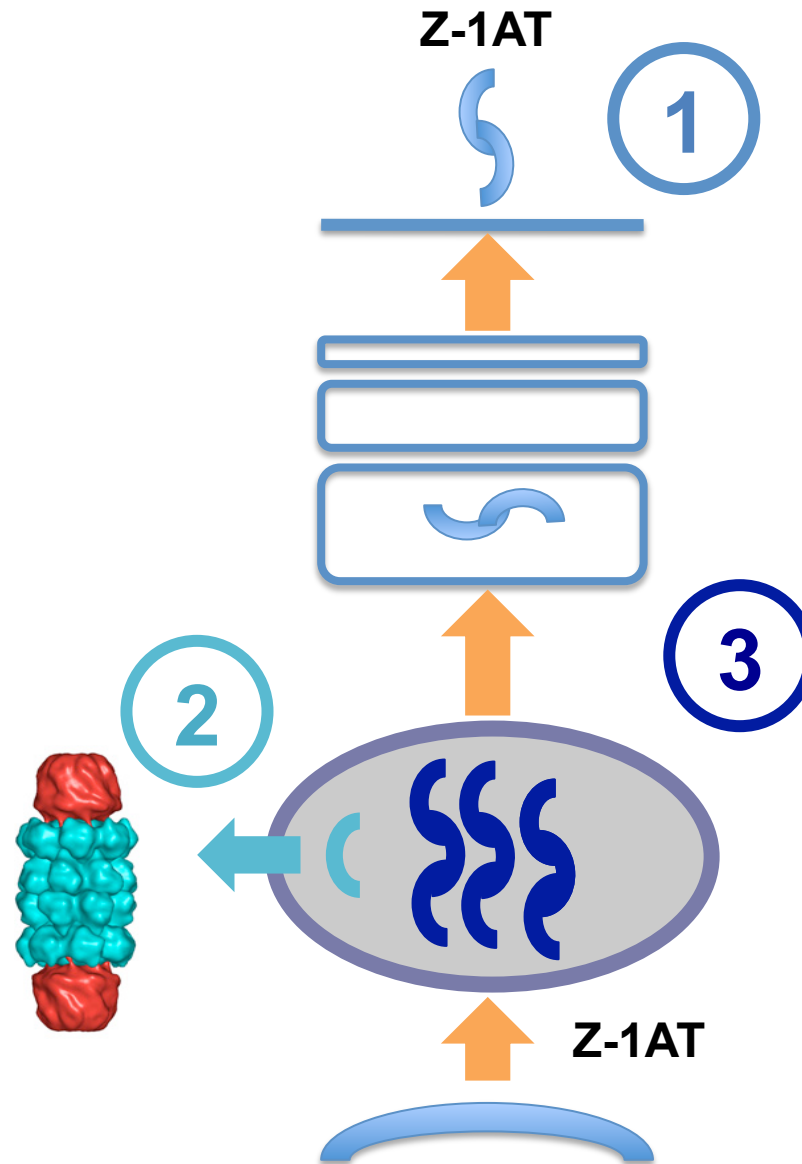
Biologie du mutant Z-1AT



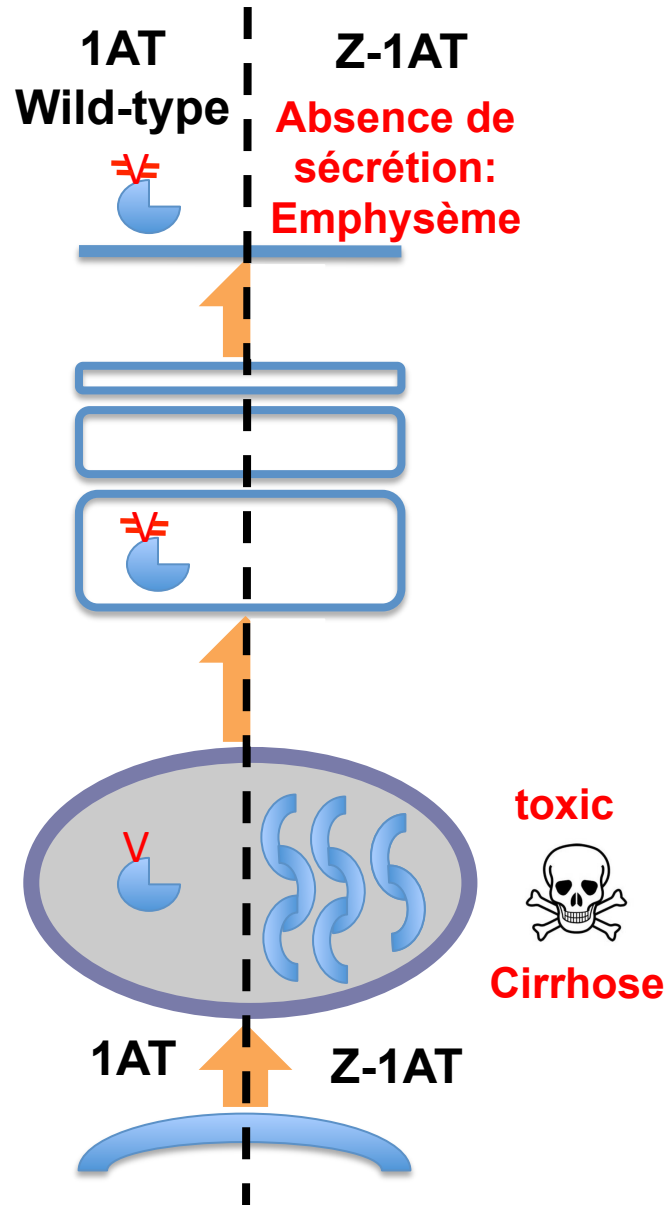
Biologie du mutant Z-1AT



Biologie du mutant Z-1AT

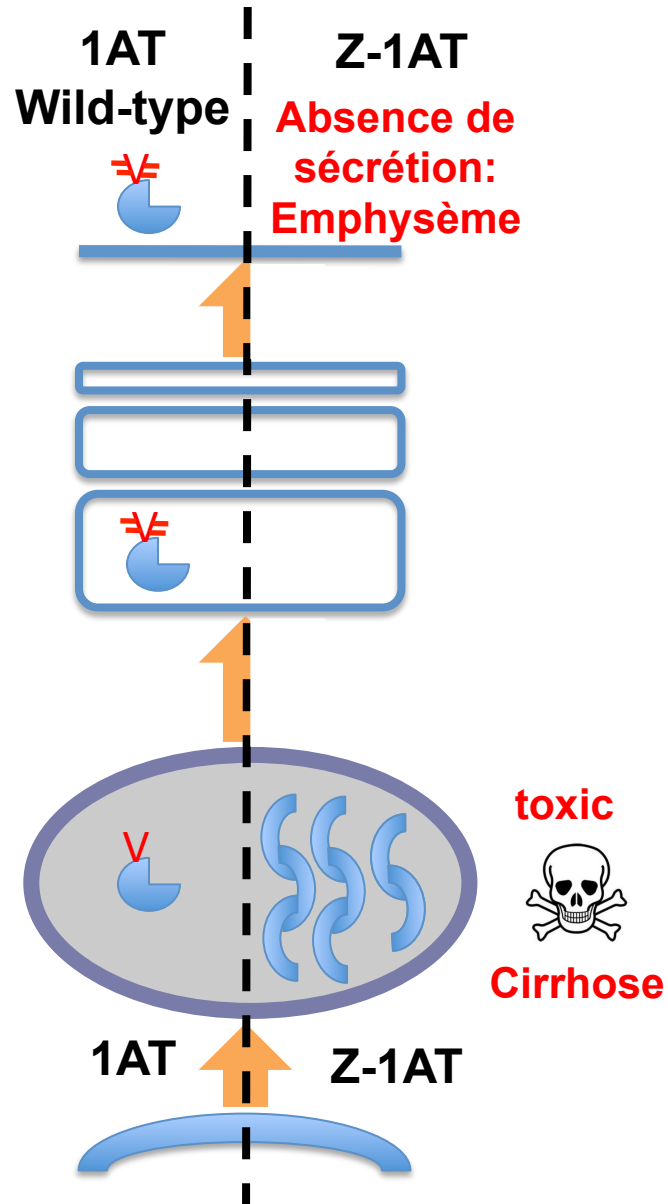


Déficit en Alpha 1-Antitrypsine (1ATD)



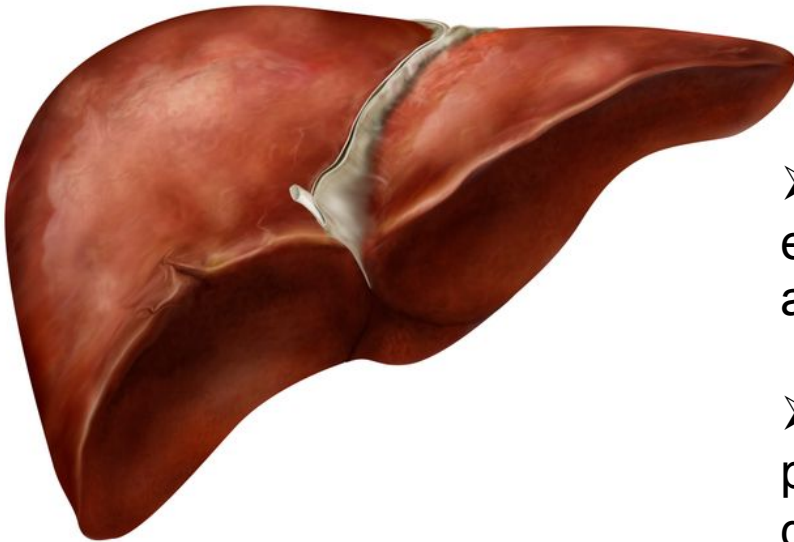
- Plusieurs mutations d'1AT = 1ATD (1/2500)
- Absence de trafic et de sécrétion
- Mutant Z (E342K):
 - le plus sévère et le plus commun
 - Substitution d'un glutamate en lysine à la position 342
 - Formation et accumulation d'agrégats
 - Cirrhose (≈ 8% des patients ZZ)

Déficit en Alpha 1-Antitrypsine (1ATD)



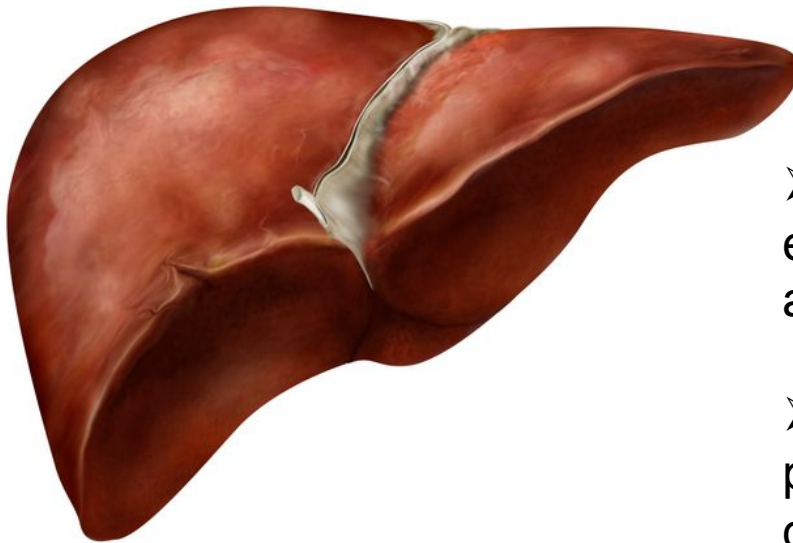
- Plusieurs mutations d'1AT = 1ATD (1/2500)
- Absence de trafic et de sécrétion
- Mutant Z (E342K):
 - le plus sévère et le plus commun
 - Substitution d'un glutamate en lysine à la position 342
 - Formation et accumulation d'agrégats
 - Cirrhose (≈ 8% des patients ZZ)
 - Cause beaucoup plus fréquente de maladie du foie chez les adultes

Déficit en Alpha 1-Antitrypsine (1ATD) et foie



- Variabilité considérable dans la survenue et la sévérité des dommages hépatiques associés au déficit en 1AT
- Impossibilité de prédire quelles sont les personnes à risque de développer des dommages au foie

Déficit en Alpha 1-Antitrypsine (1ATD) et foie

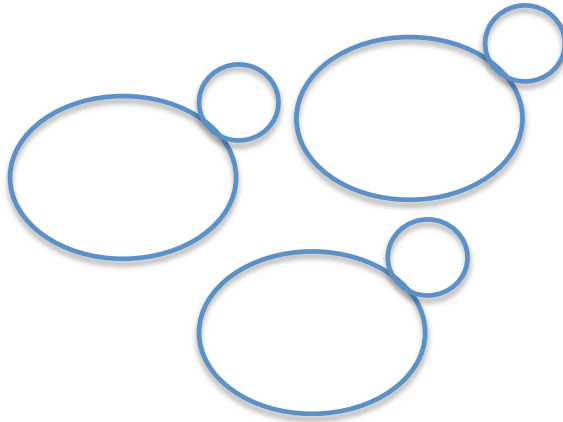


- Variabilité considérable dans la survenue et la sévérité des dommages hépatiques associés au déficit en 1AT
- Impossibilité de prédire quelles sont les personnes à risque de développer des dommages au foie

Quels sont les facteurs génétiques associés au déficit en 1AT et impliqués dans les dommages hépatiques?

Approche Expérimentale

Crible génétique



Séquençage d'Exome

ADN de fratries

(Frères/sœurs ZZ **avec** et **sans** atteintes hépatiques)



Identification de gènes
candidats

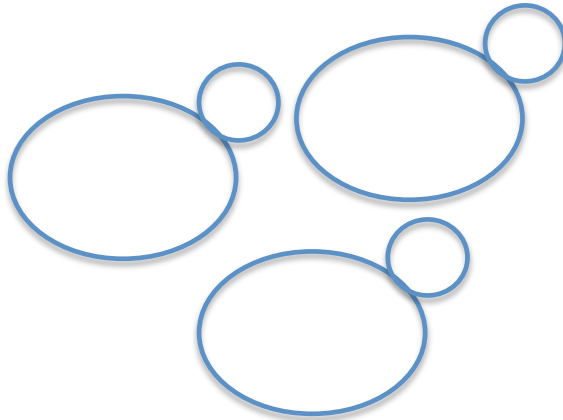
Validation dans
cellules humaines

Gènes validés: **cibles
thérapeutiques**

biomarqueurs

Approche Expérimentale

Crible génétique



Séquençage d'Exome

ADN de fratries

(Frères/sœurs ZZ avec et sans atteintes hépatiques)



Pr. A. Lachaux
*Cohorte DEFI-ALPHA/
POLYGEN*

*(≈150 patients, informations
et échantillons biologiques)*

Identification de gènes
candidats

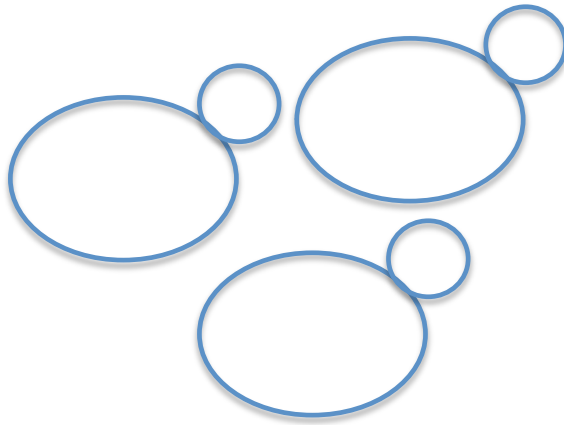
Validation dans
cellules humaines

Gènes validés: **cibles
thérapeutiques**

biomarqueurs

Approche Expérimentale

Crible génétique



Séquençage d'Exome



*Pr. A. Lachaux
Cohorte DEFI-ALPHA/
POLYGEN*

Identification de gènes
candidats

*Collaboration Gitler Lab
(Stanford, CA, USA)*

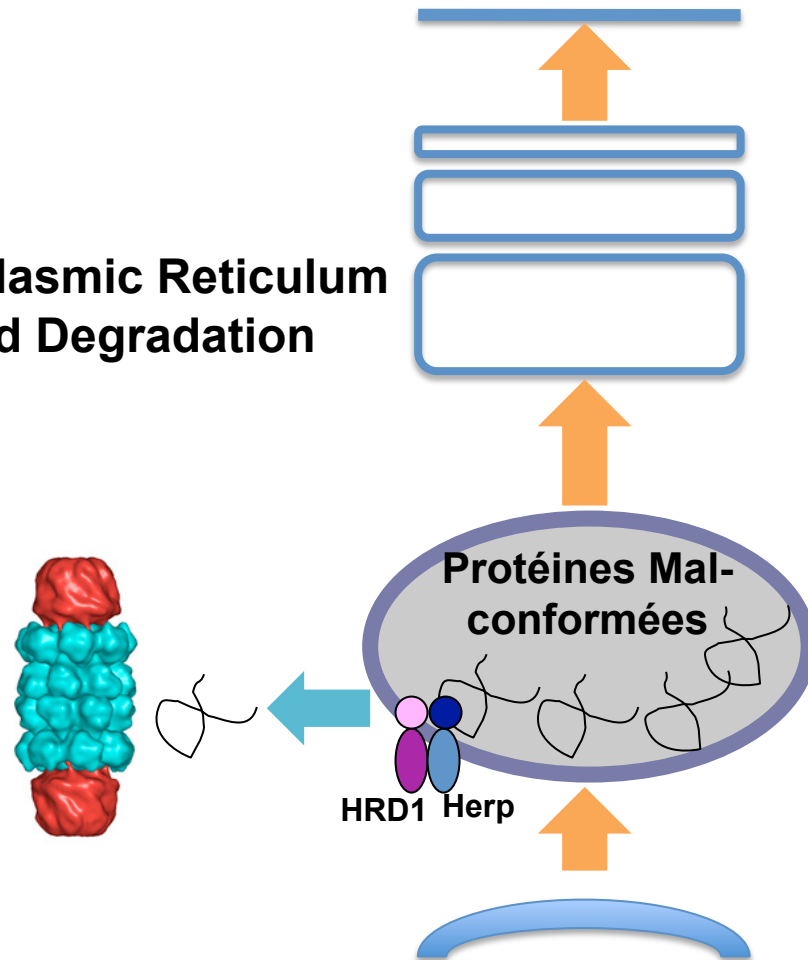


Herp

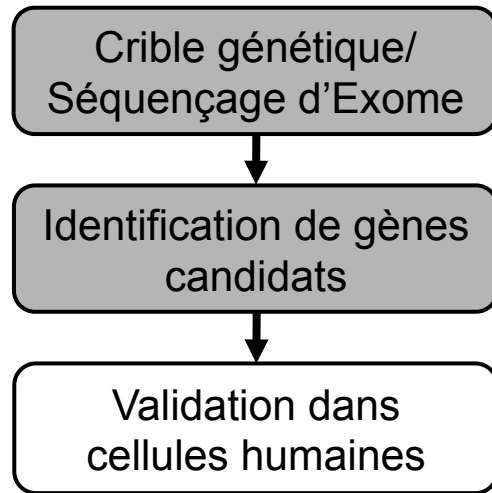
HRD1

Voie de signalisation: ERAD

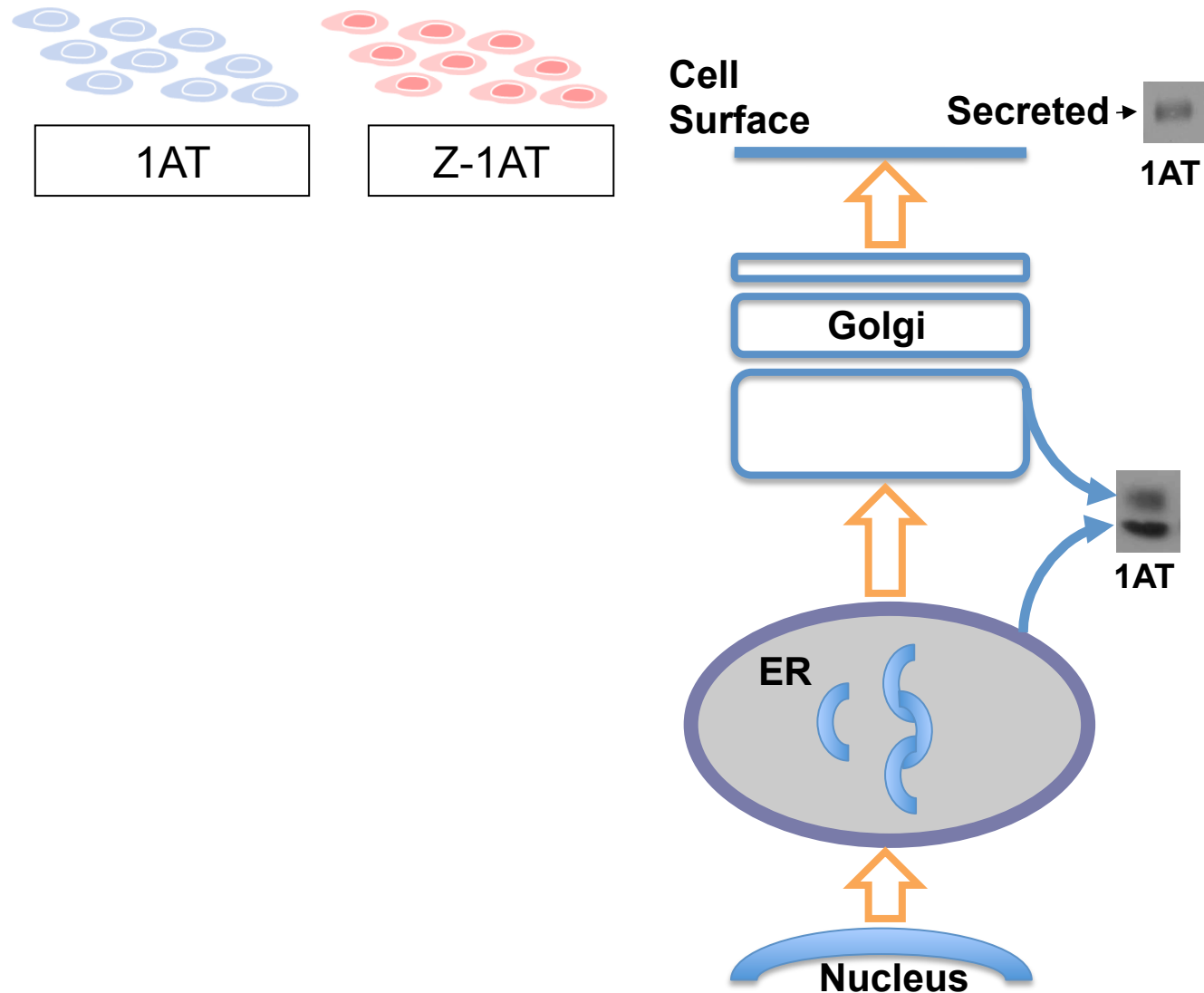
**ERAD: Endoplasmic Reticulum
Associated Degradation**



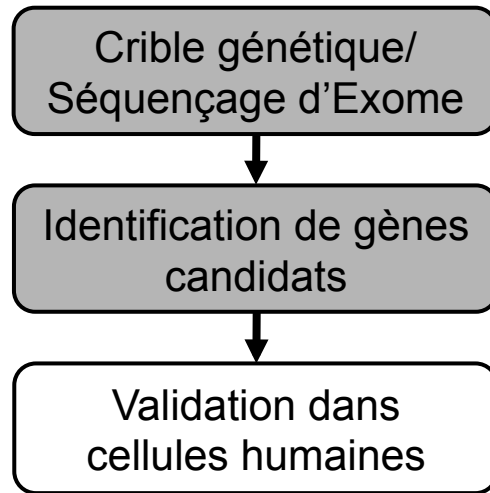
Validation des gènes candidats



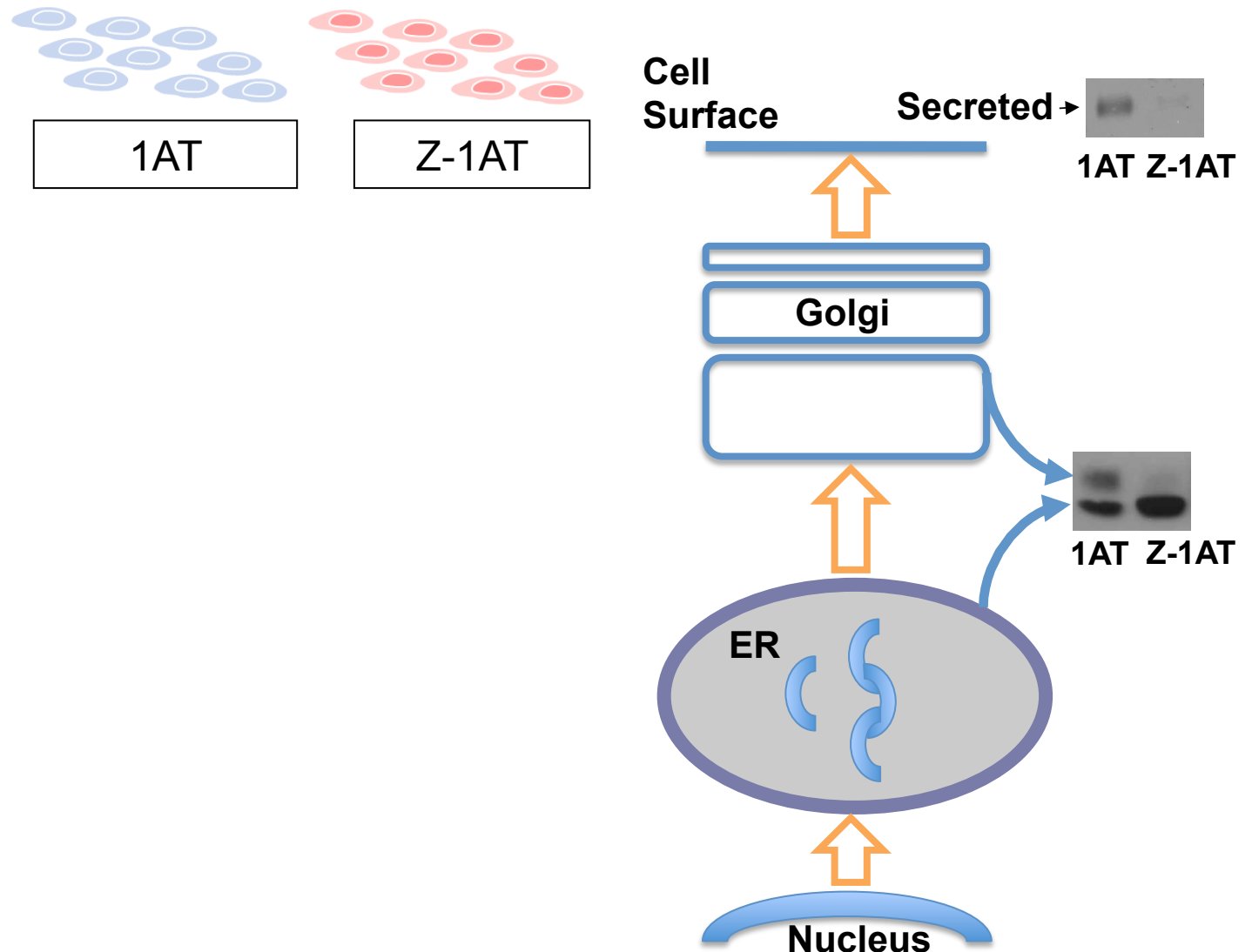
Modèles cellulaires du déficit en 1AT



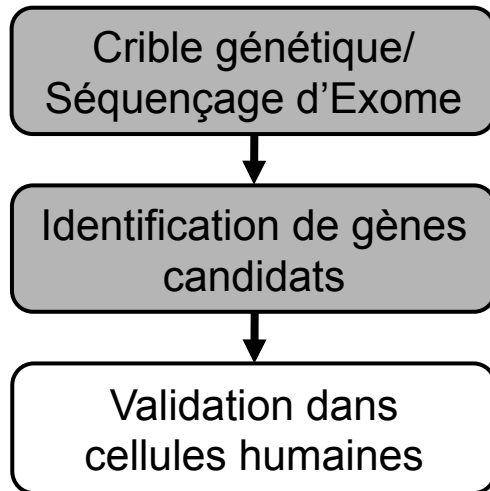
Validation des gènes candidats



Modèles cellulaires du déficit en 1AT



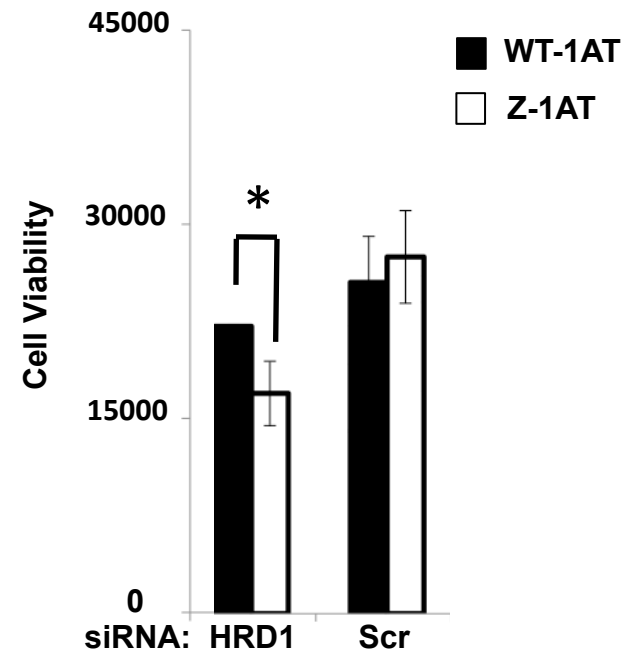
Validation des gènes candidats



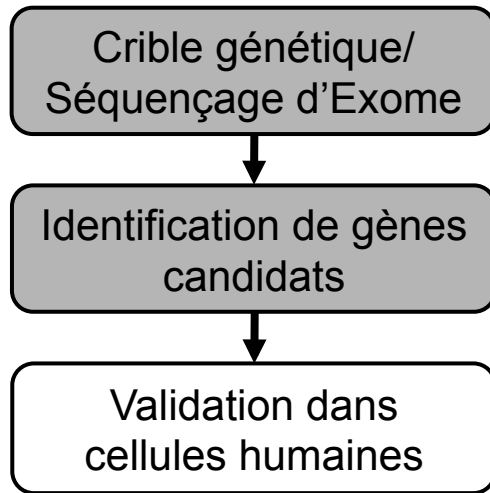
Modèles cellulaires du déficit en 1AT



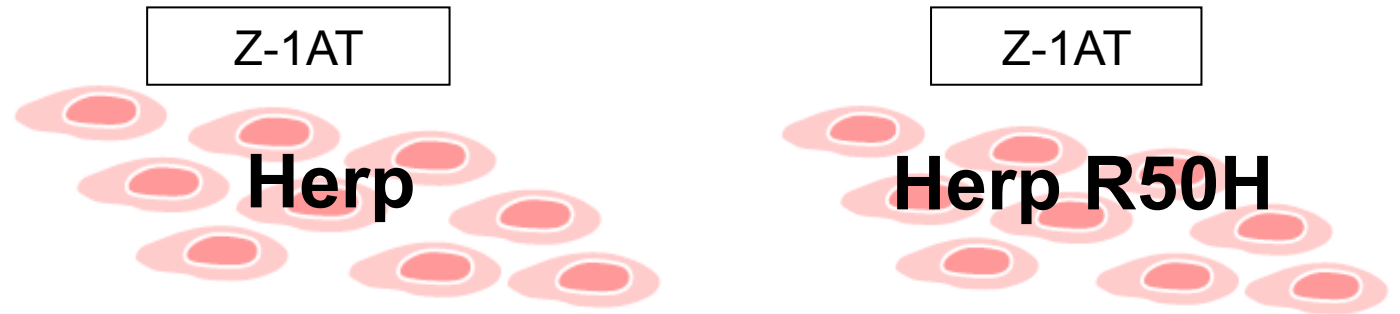
L'extinction d'HRD1 diminue la viabilité des cellules exprimant le mutant Z



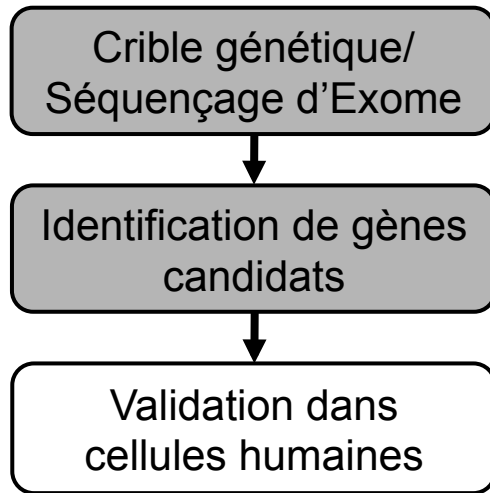
Validation des gènes candidats



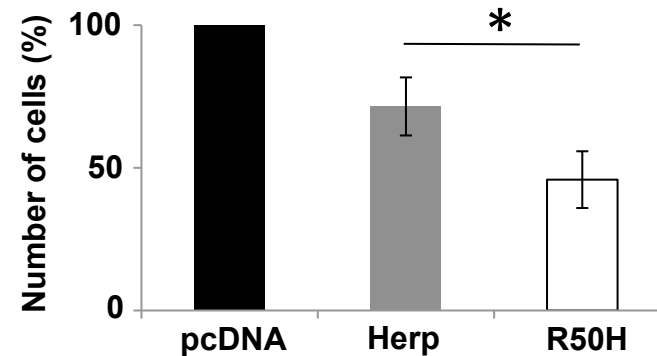
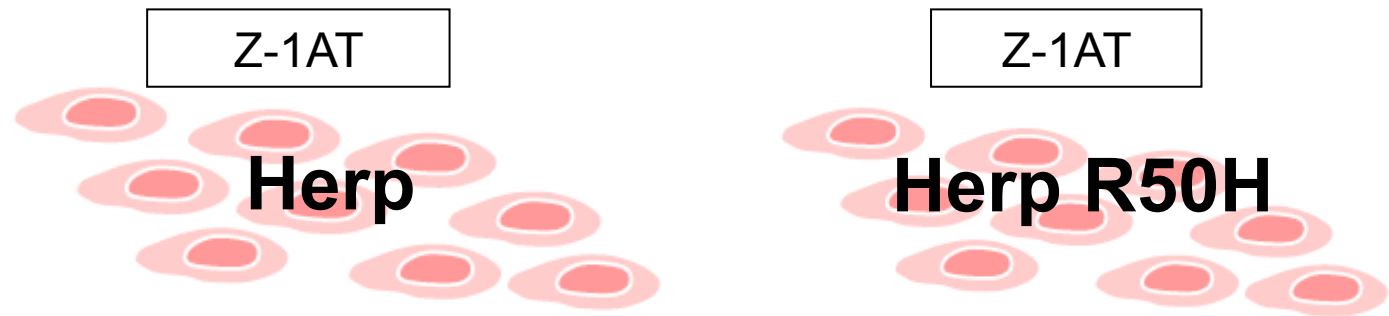
Modèles cellulaires du déficit en 1AT



Validation des gènes candidats

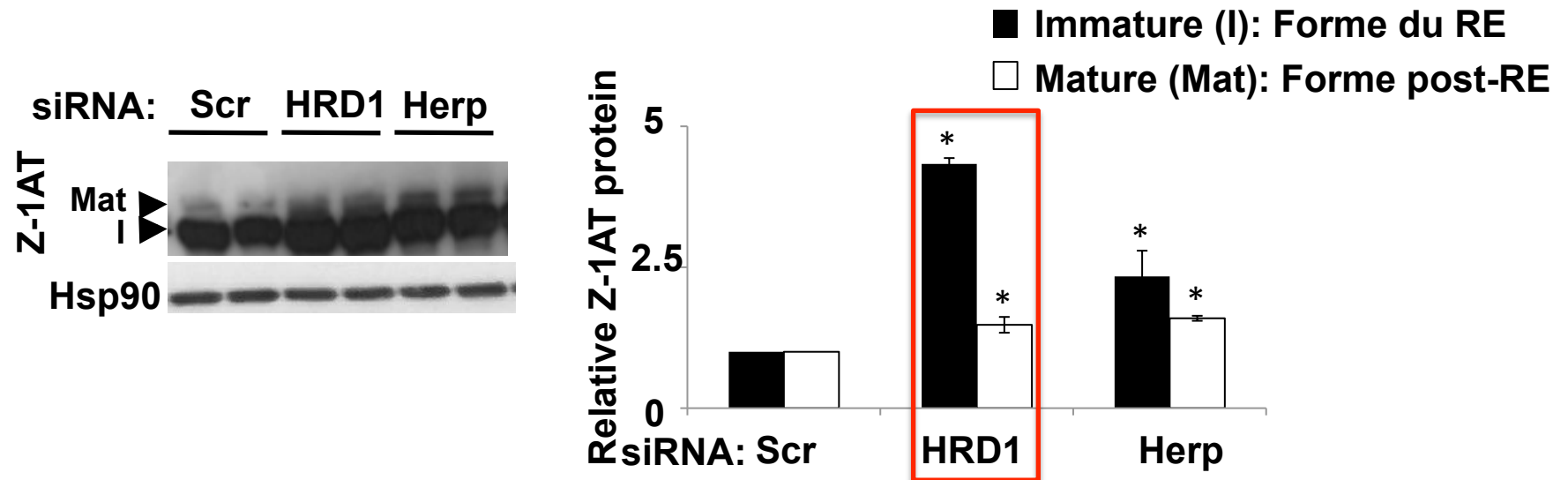


Modèles cellulaires du déficit en 1AT



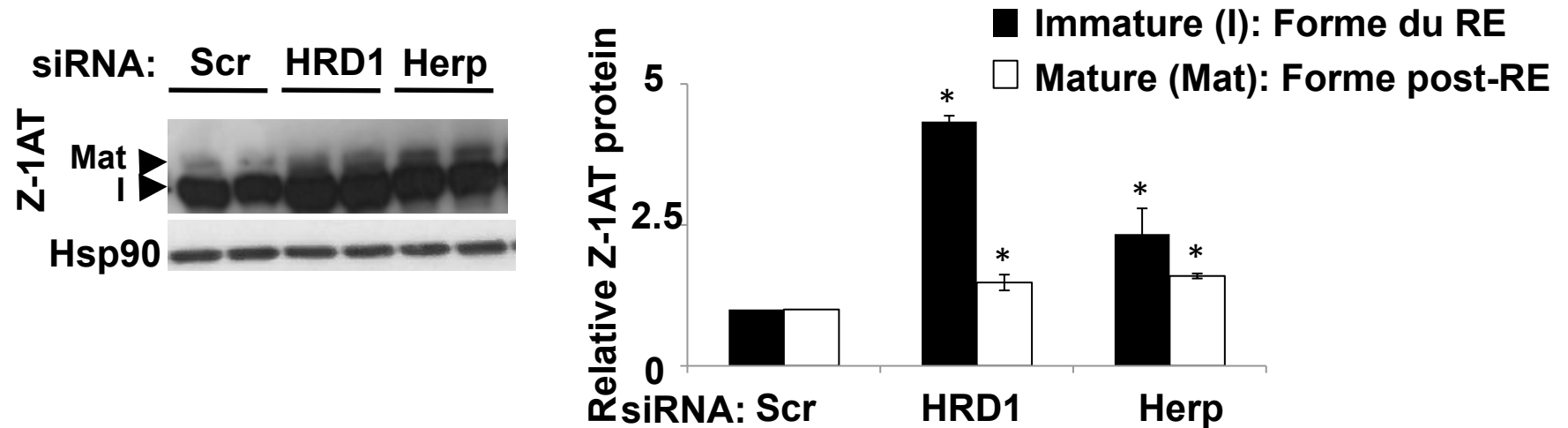
Le variant Herp R50H diminue la prolifération et la viabilité cellulaires

Validation des gènes candidats

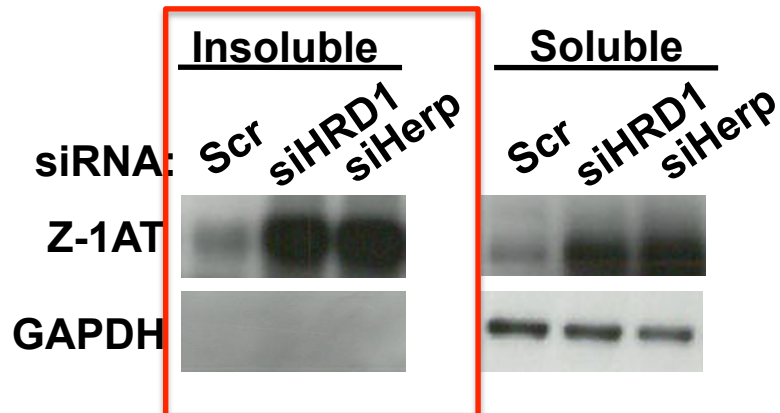


L'extinction de Herp et HRD1 augmente la forme immature du mutant Z-1AT

Validation des gènes candidats

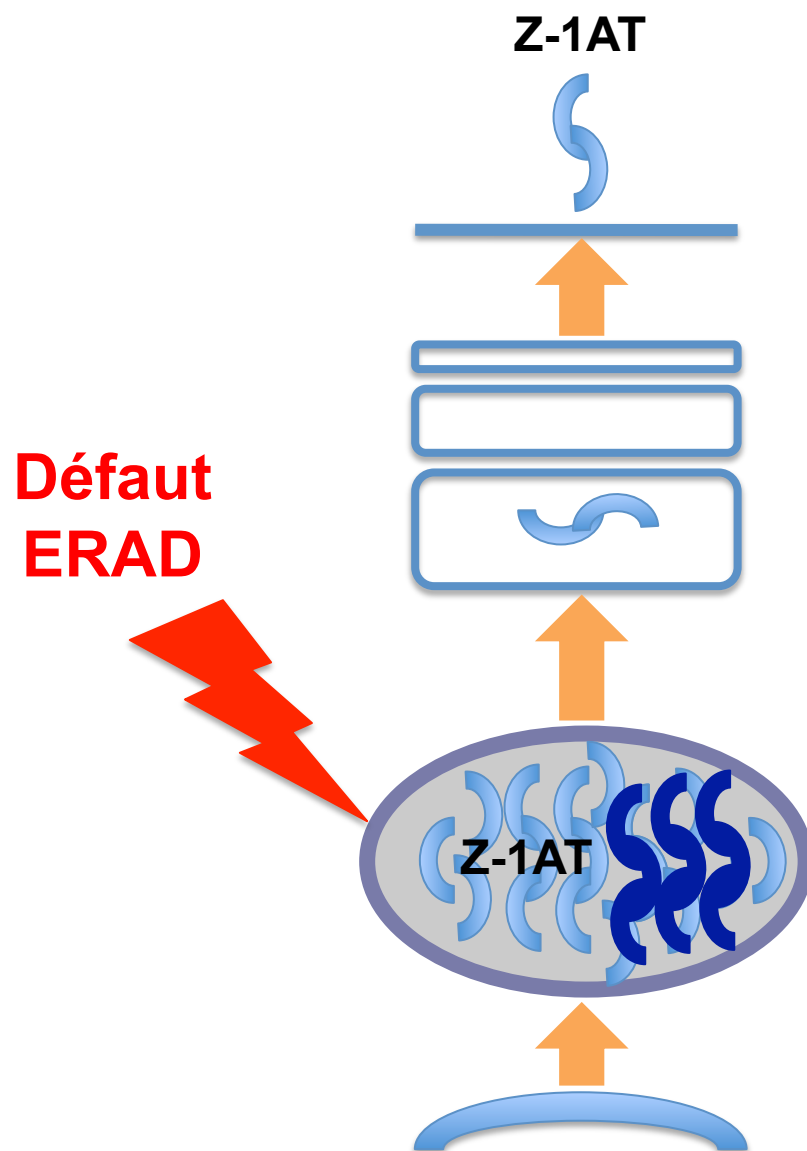


L'extinction de Herp et HRD1 augmente la forme immature du mutant Z-1AT

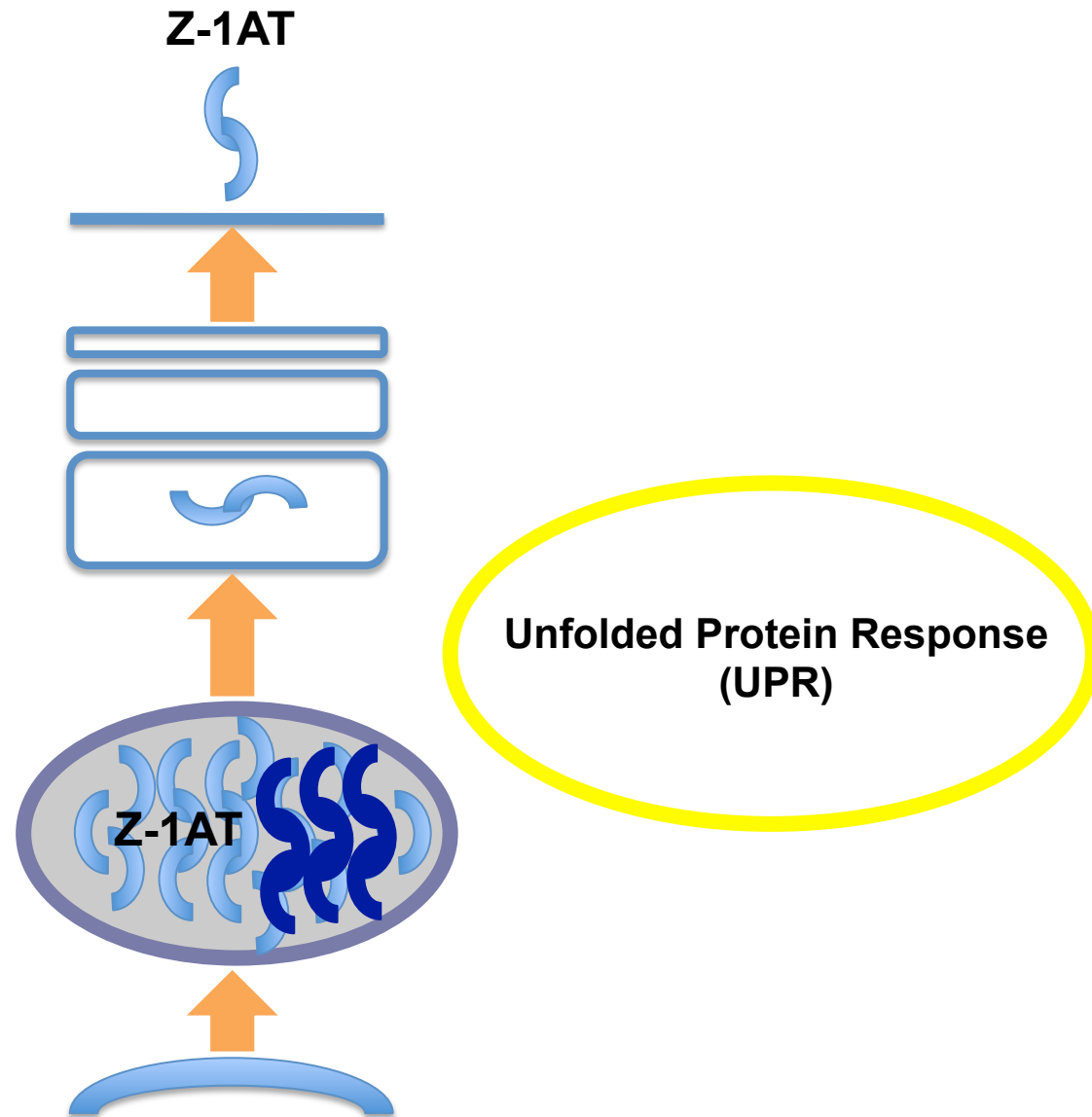


L'extinction de Herp et HRD1 augmente la formation des agrégats du mutant Z-1AT

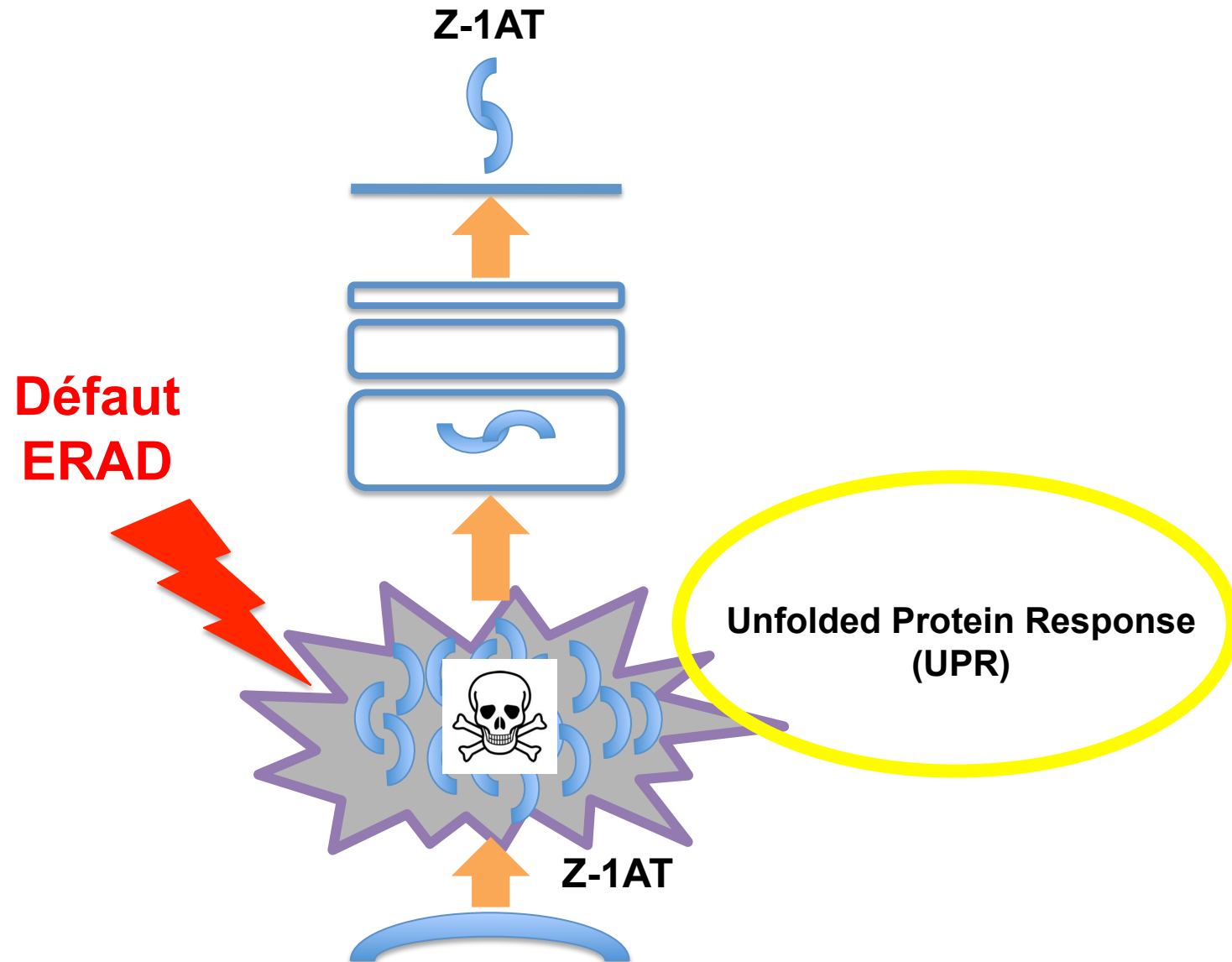
ERAD - mutant Z-1AT



ERAD - mutant Z-1AT - Hypothèse



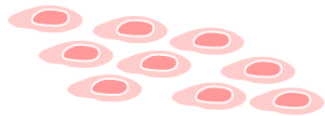
ERAD - mutant Z-1AT - Hypothèse



Mesure de l'UPR: Marqueurs BiP et Herp

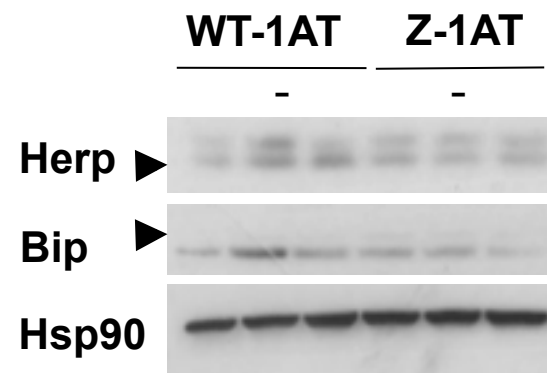


1AT



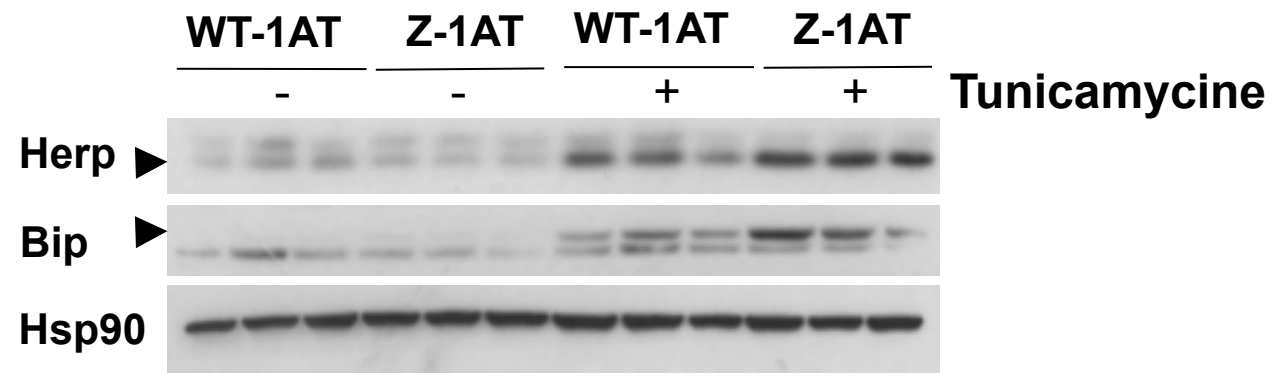
Z-1AT

Déficit en 1AT et Unfolded Protein Response



Les agrégats seuls du mutant Z-1AT n'activent pas l'UPR

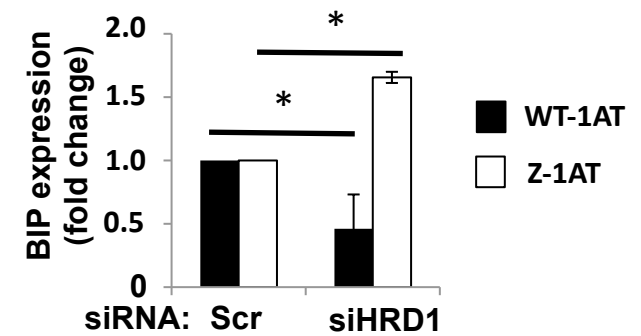
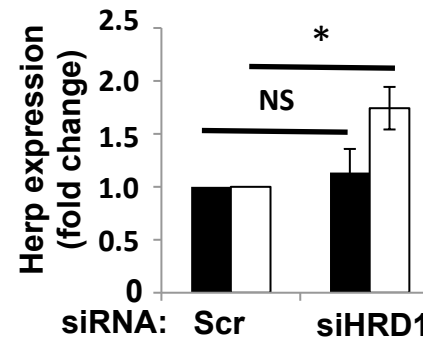
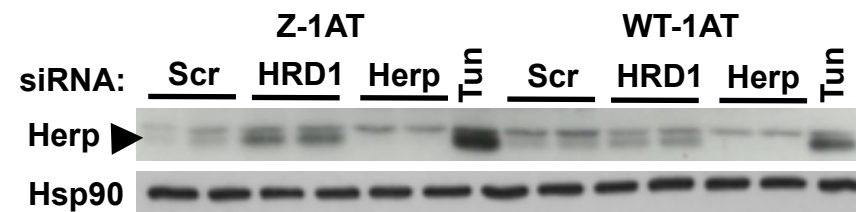
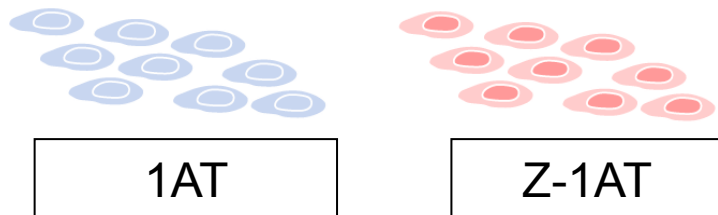
Déficit en 1AT et Unfolded Protein Response



Les cellules exprimant le mutant Z-1AT présentent une hyperactivation de l'UPR

Déficit en 1AT et Unfolded Protein Response

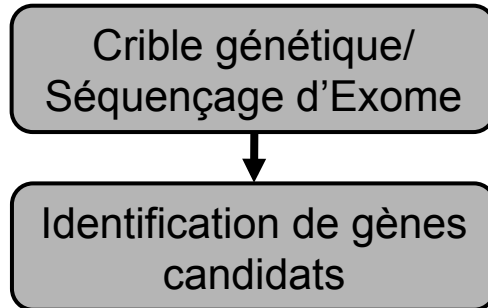
Mesure de l'UPR:
Marqueurs BiP et Herp



Les cellules exprimant le mutant Z présentent une hyperactivation à l'UPR suite à l'extinction d'HRD1 et de Herp

Une dérégulation de l'ERAD induit la mort cellulaire via une hyperactivation de l'UPR

Pipeline expérimental: Séquençage d'Exome



ADN de fratries

(Frères/sœurs ZZ **avec** et
sans atteintes hépatiques)



Pr. A. Lachaux
Cohorte DEFI-ALPHA/POLYGEN

↓

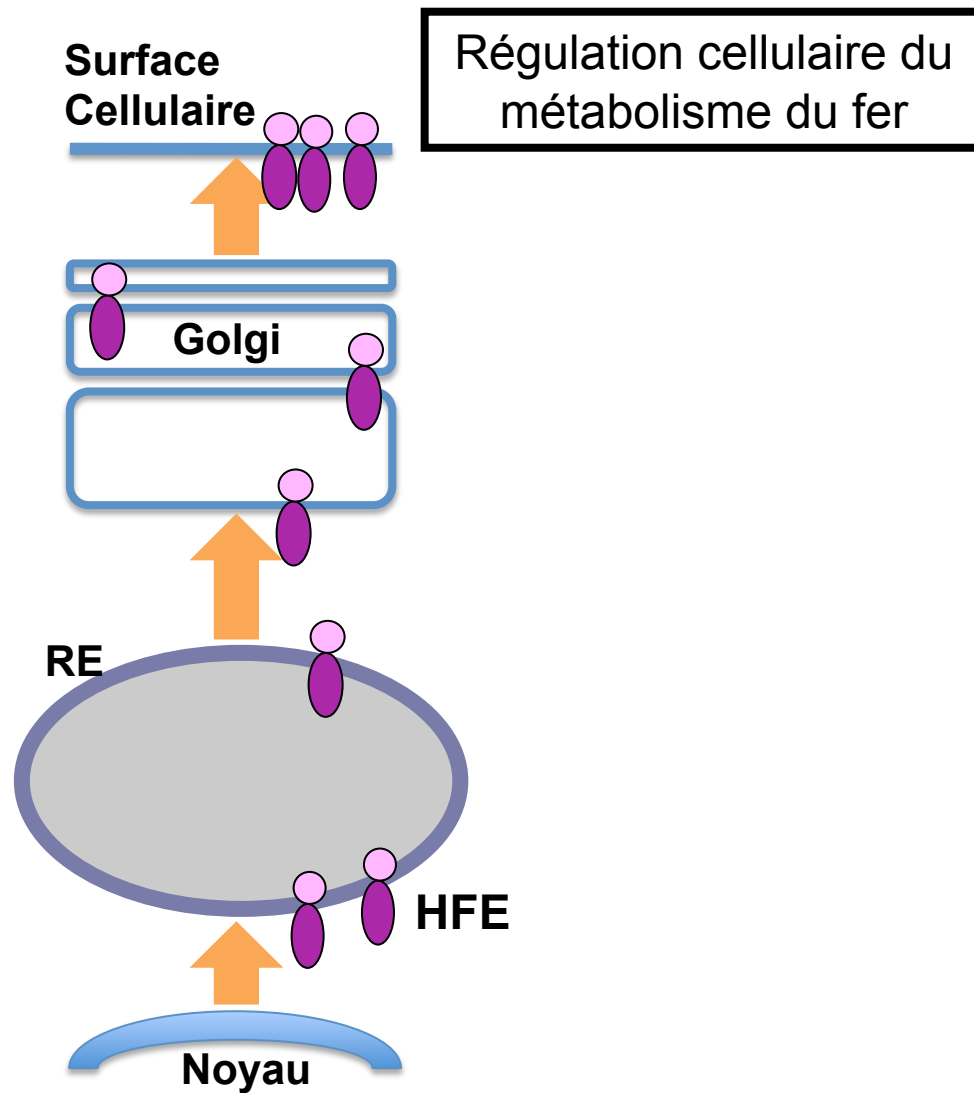
Séquençage Exome Analyse Bionformatique

Identification de gènes
candidats

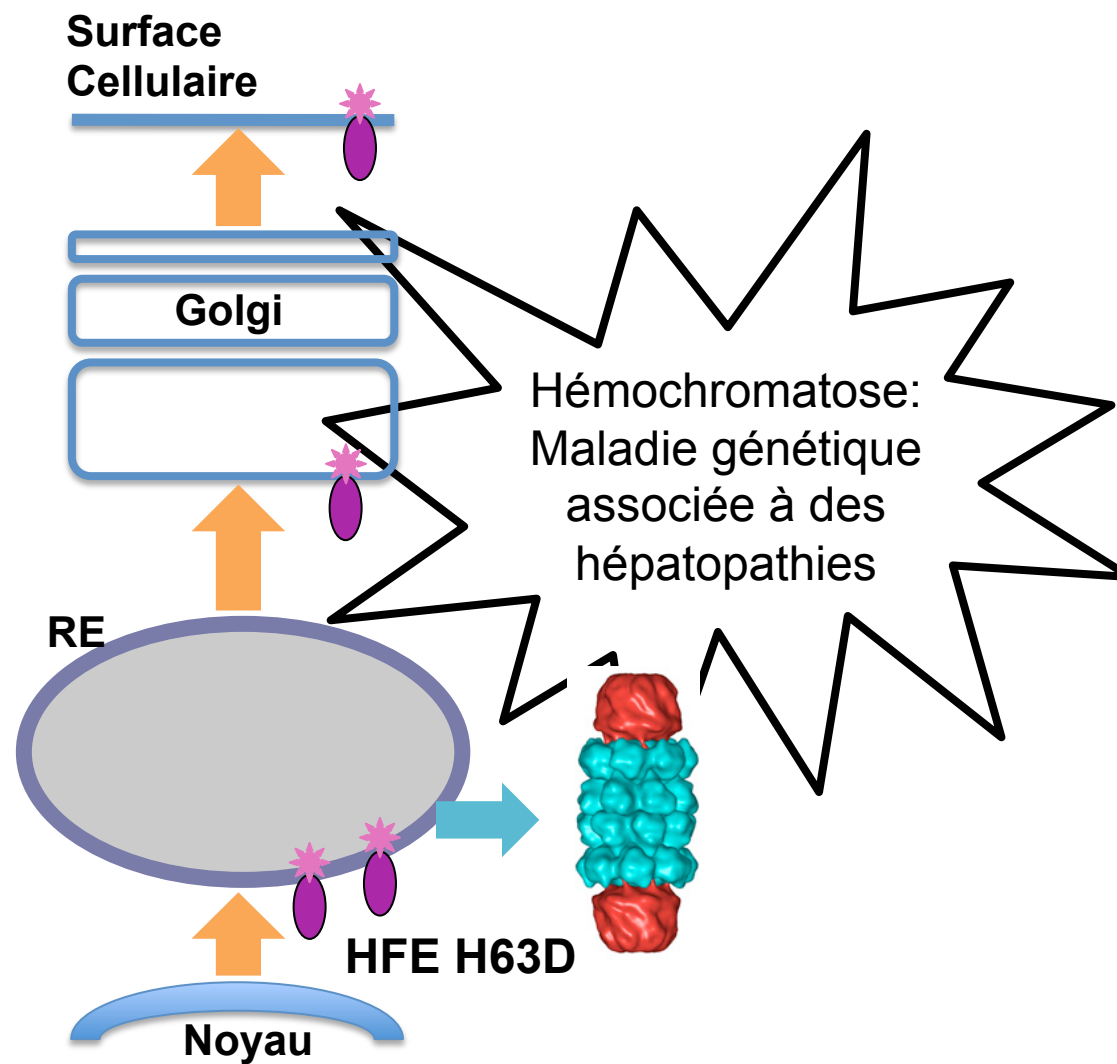
Collaboration Gitler Lab
(Stanford, CA, USA)

HFE rs1799945
C187G H63D

HFE



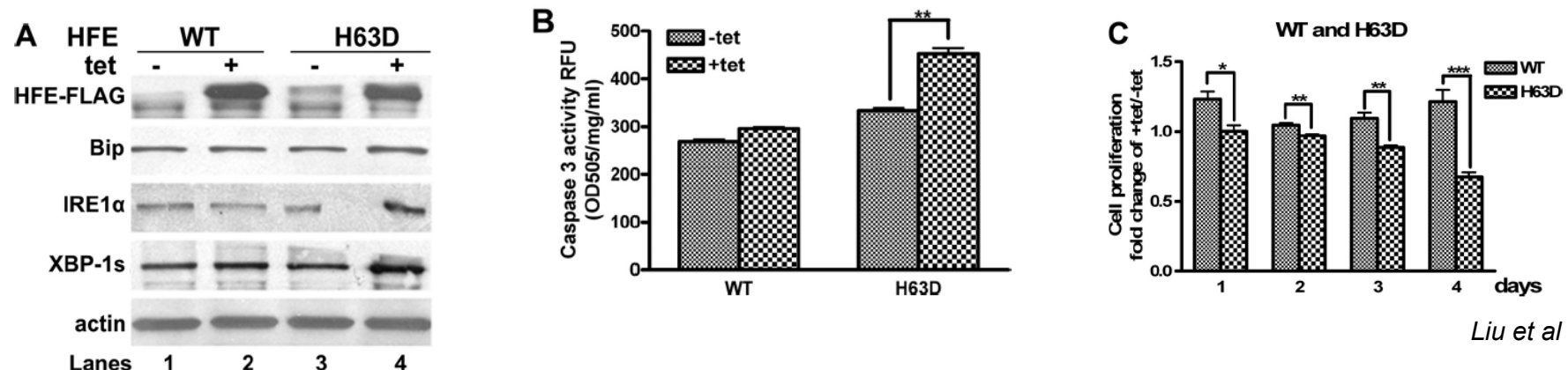
HFE H63D



HFE mutations in α -1-antitrypsin deficiency: an examination of cirrhotic explants

Maggie Lam¹, Michael Torbenson², Matthew M Yeh³, Perumal Vivekanandan² and Linda Ferrell¹

- Les patients déficitaires en 1AT et porteurs de la mutation HFE-H63D développent une cirrhose plus précocement.

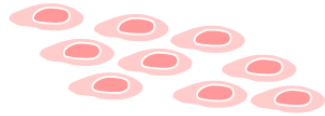


HFE H63D induit une activation des caspases et réduit la prolifération cellulaire et ceci est associé avec une activation prolongée de l'UPR

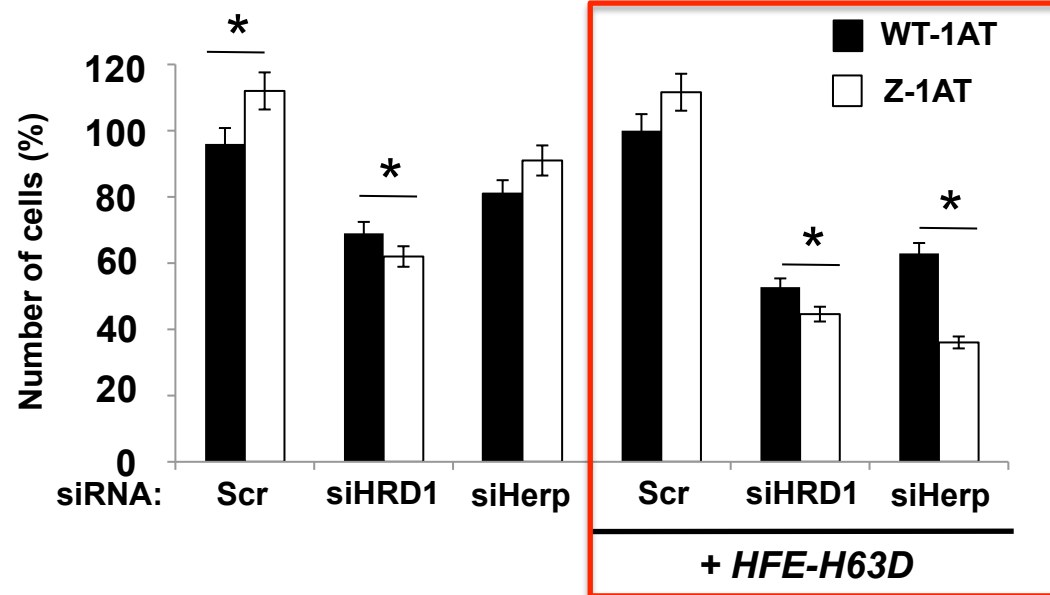
HFE H63D et 1ATD



1AT



Z-1AT



L'expression HFE H63D associé à un défaut de l'ERAD diminue la prolifération et la viabilité des cellules du mutant Z

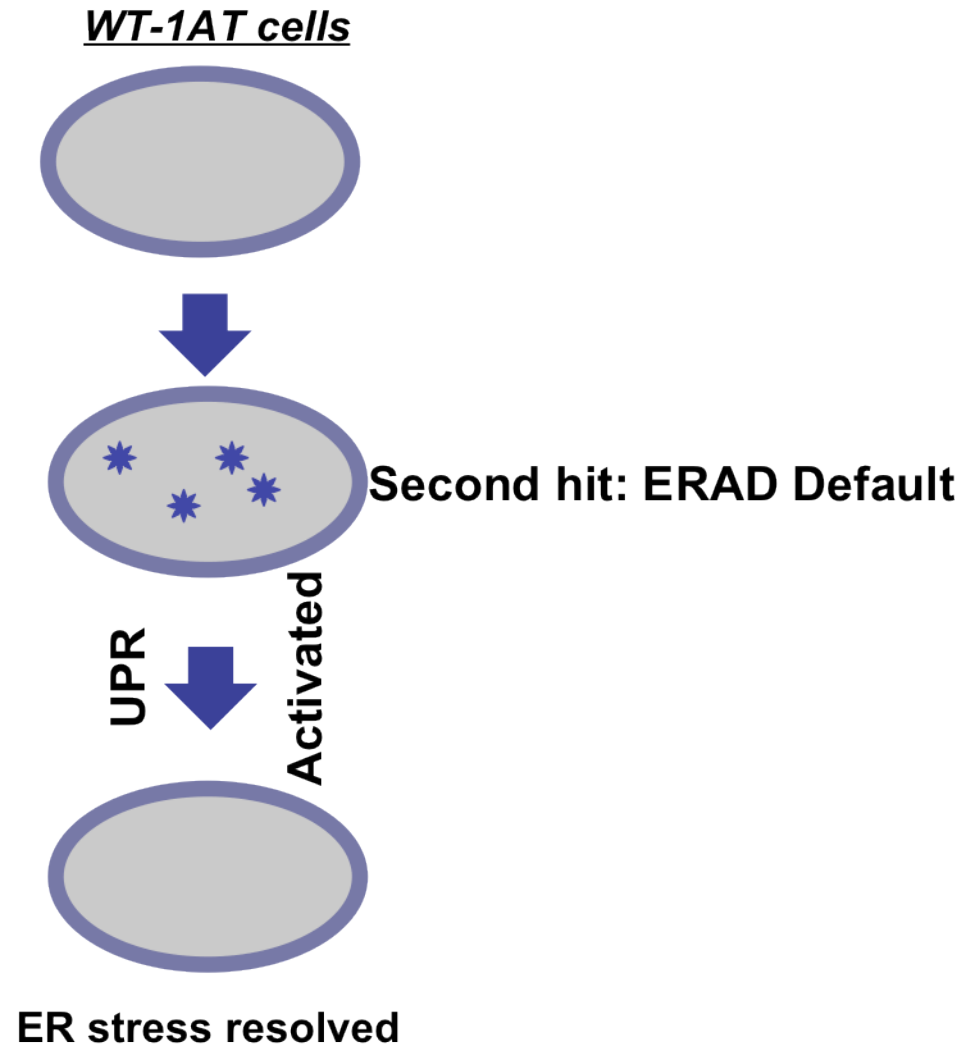
HFE H63D et 1ATD

Table 1. Genotypes of Herp and HFE variants among ZZ individuals who developed or not liver symptoms.

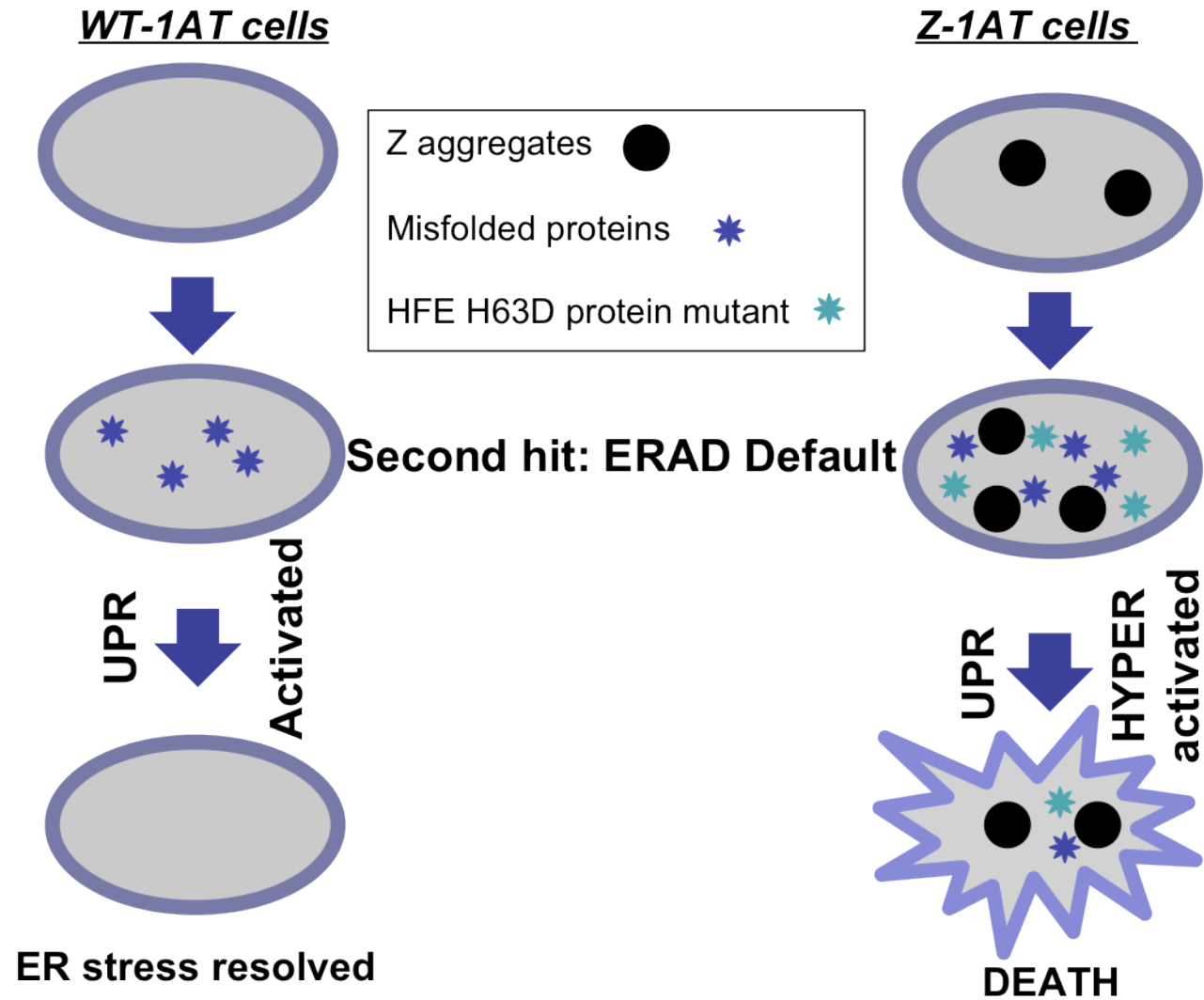
		Sex	Age	Hepatic Status	1AT	HFE	Herp
Family 1	Sibling 1	M	16	Cirrhosis, Transplanted at 8	ZZ	×	×
	Sibling 2	M	14	Normal	ZZ		×
Family 2	Sibling 1	M	12	Normal	ZZ		×
	Sibling 2	F	5	Increase enzymes level (ALT 102 U/L; GT 21U/L)	ZZ		×
Family 3	Sibling 1	M	20	GT > 20 U/L	ZZ	×	
	Sibling 2	M	23	Normal	ZZ		
Family 4	Father	M	43	Normal	ZZ		×
	Sibling 1	M	7	Increase in enzymes level (ALT 82 U/L; GT 31U/L)	ZZ		×
	Sibling 2	F	4	Hepatomegaly, cholestasis and high level of enzymes (ALT 152 U/L; GT 131 U/L)	ZZ	×	×
Family 5	Sibling 1	M	13	GT > 20 U/L	ZZ		
	Sibling 2	M	10	GT > 40 U/L	ZZ		

Variants Herp R50H et HFE H63D : facteurs génétiques impliqués dans la progression des dommages au foie associés à l'1ATD.

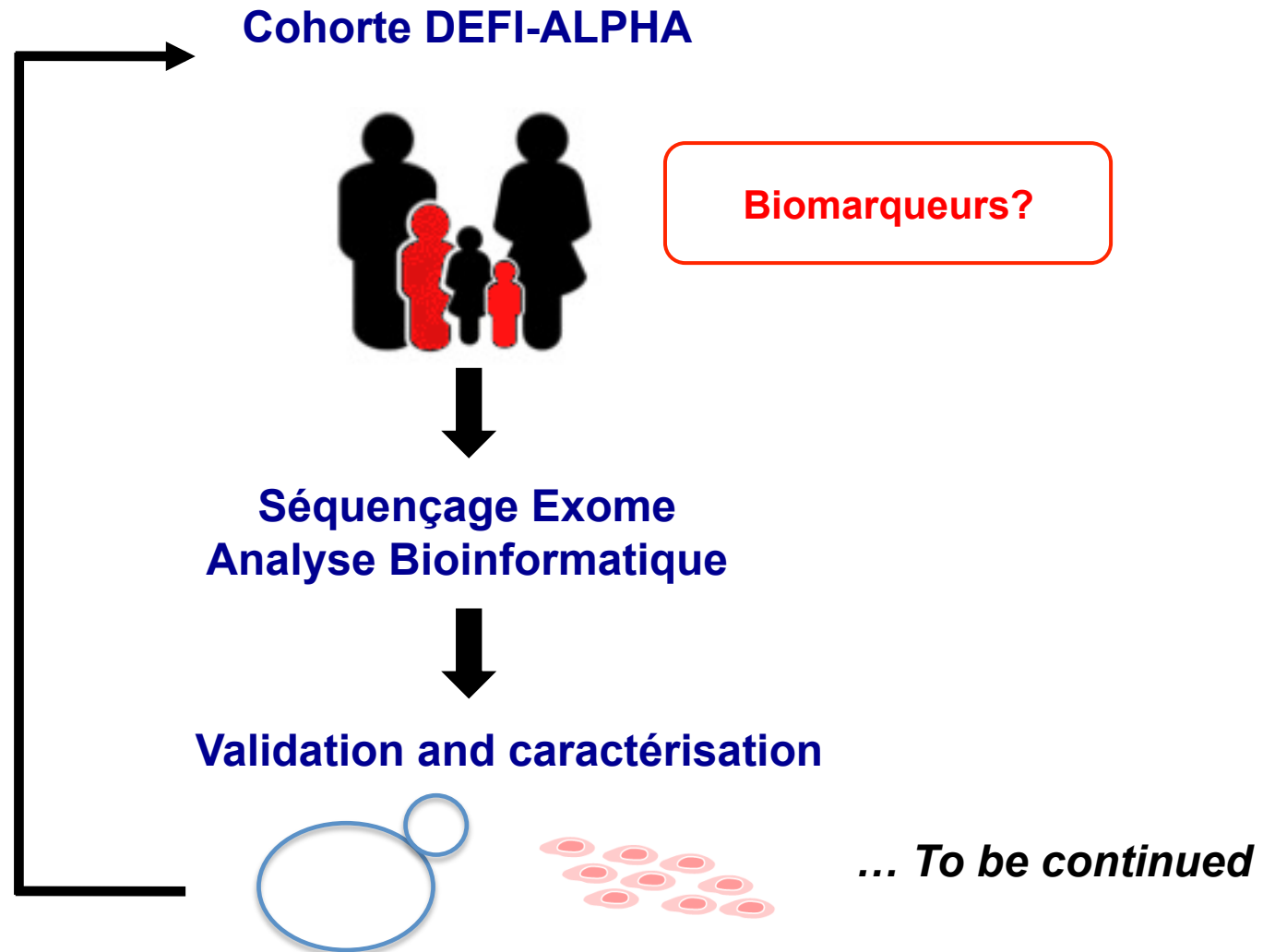
Modèle



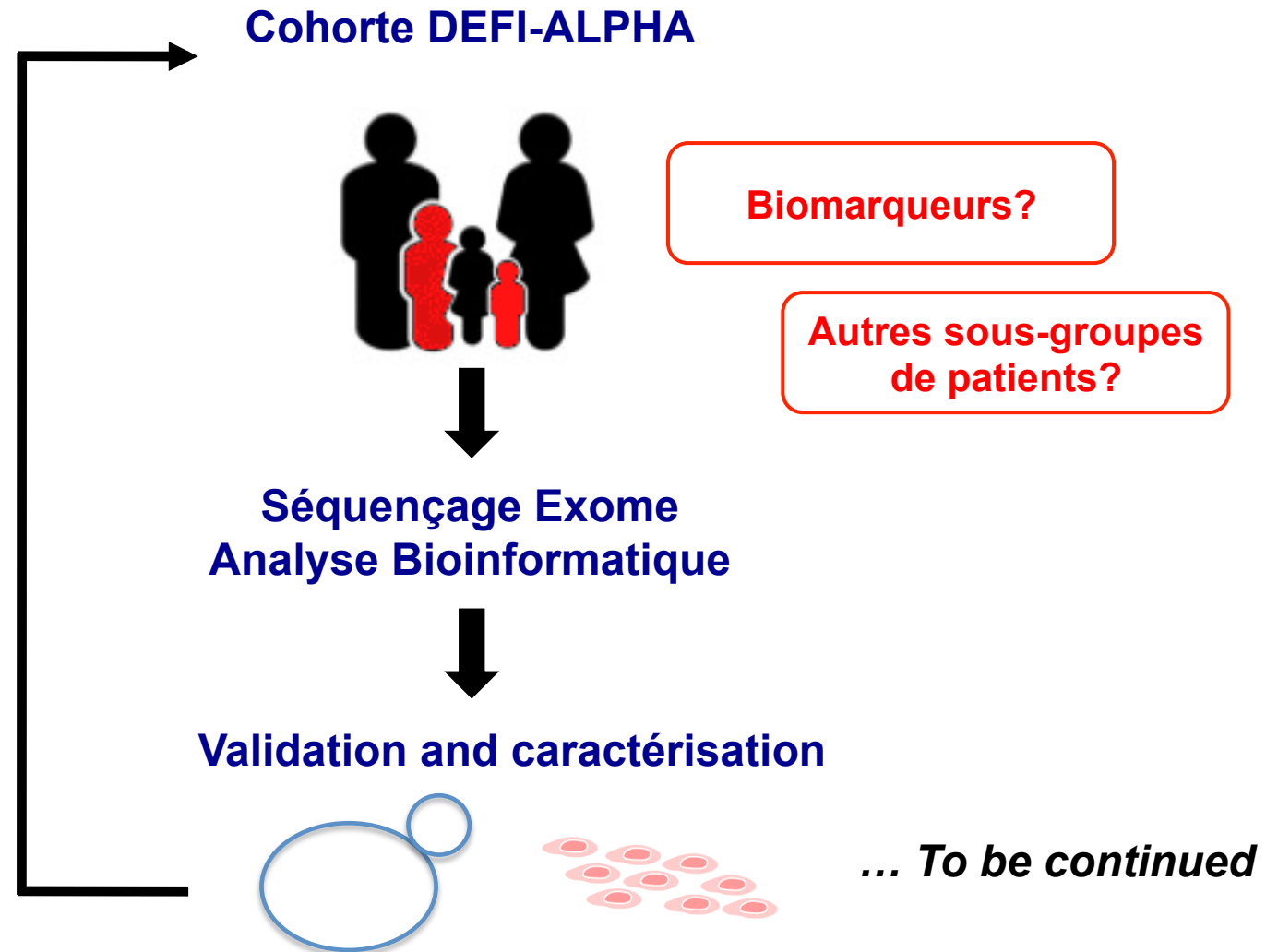
Modèle



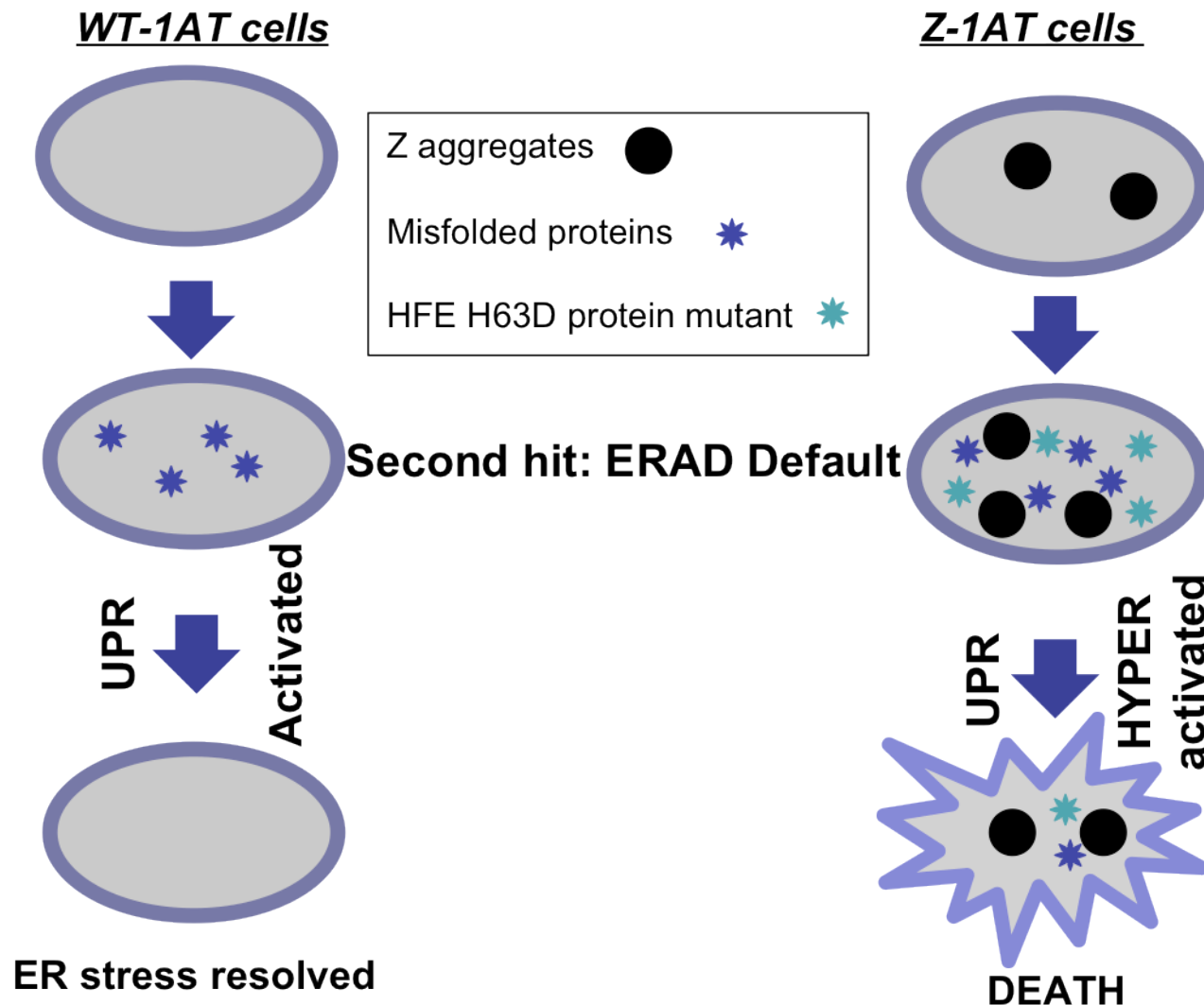
Conclusion et Perspectives



Conclusion et Perspectives



Conclusion et Perspectives



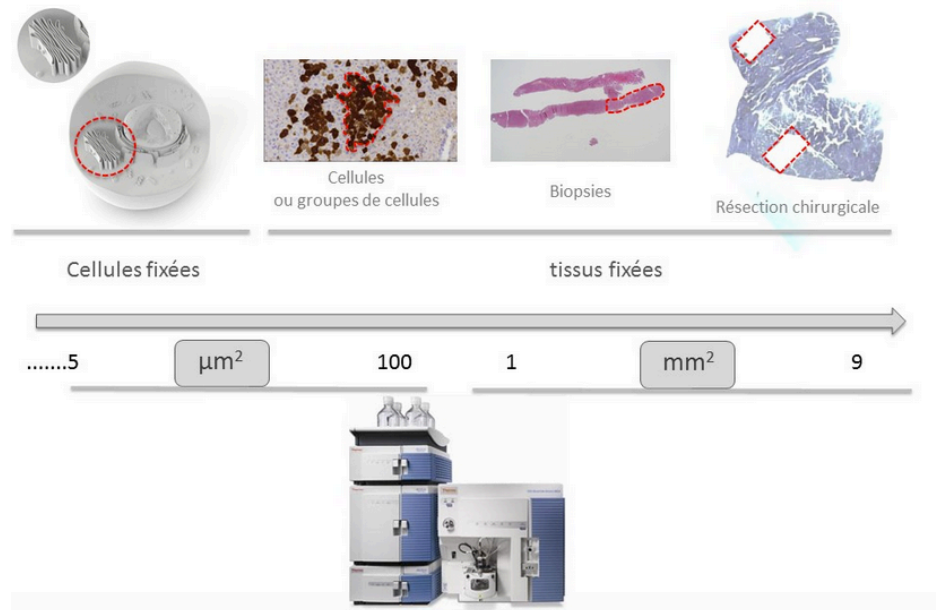
Inhibiteurs de l'UPR comme thérapeutique?

Autre maladies rares pédiatriques du foie (Mucoviscidose, Wilson...)?

Quels sont les modificateurs associés aux maladies rares pédiatriques du foie?



Association de la microdissection laser à la spectrométrie de masse



Perspectives

Pr. A. Lachaux
**Pr S. Collardeau-
Frachon**

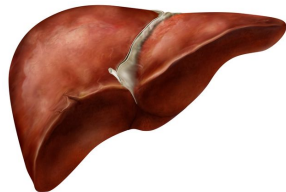
Alpha 1-Antitrypsine



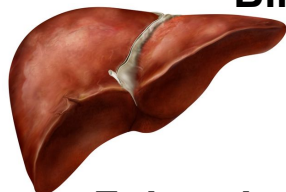
Mucoviscidose



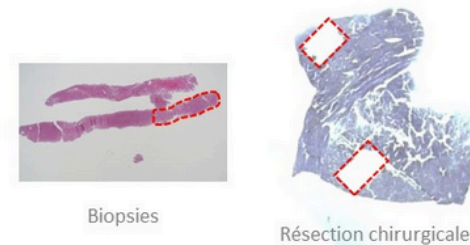
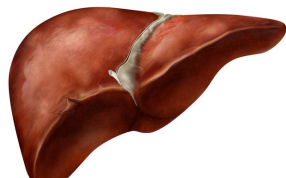
Maladie de Wilson



**Atrésie des voies
Biliaires**



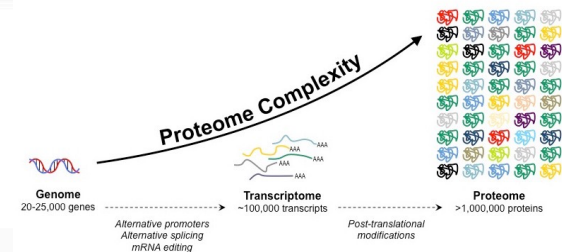
Foie sain



Biopsies

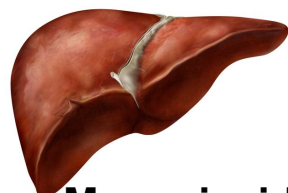
Résection chirurgicale

tissus fixées



Conclusion et Perspectives

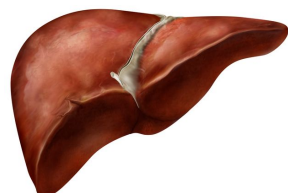
Alpha 1-Antitrypsine



Mucoviscidose



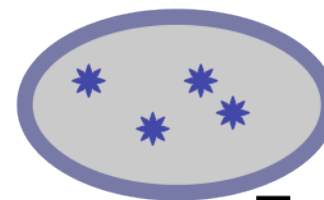
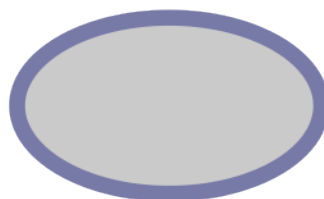
Maladie de Wilson



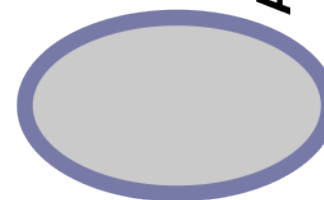
**Atrésie des voies
Biliaires**



WT-1AT cells



UPR



ER stress resolved

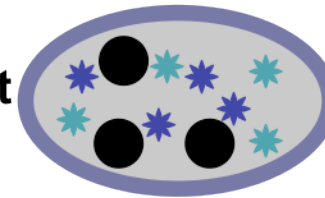
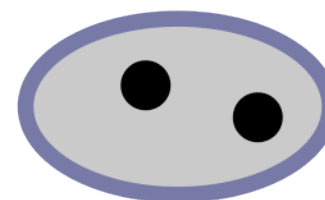
Z aggregates ●

Misfolded proteins ★

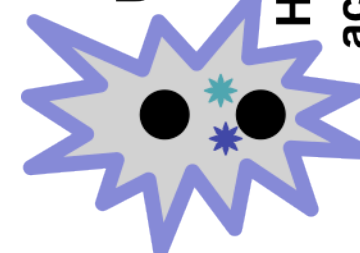
HFE H63D protein mutant ★

Second hit: ERAD Default

Z-1AT cells



UPR

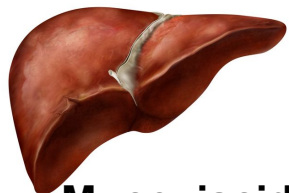


DEATH

UPR
HYPER
activated

Perspectives

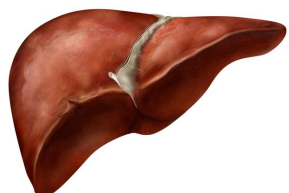
Alpha 1-Antitrypsine



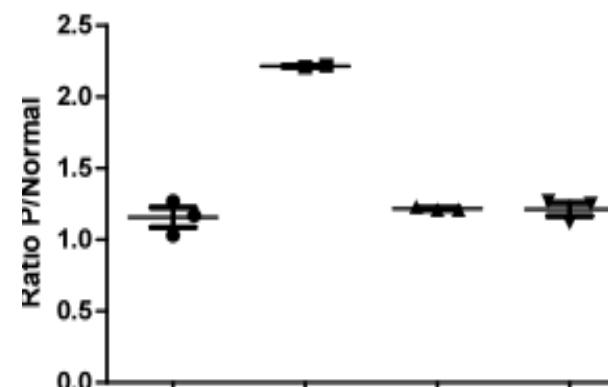
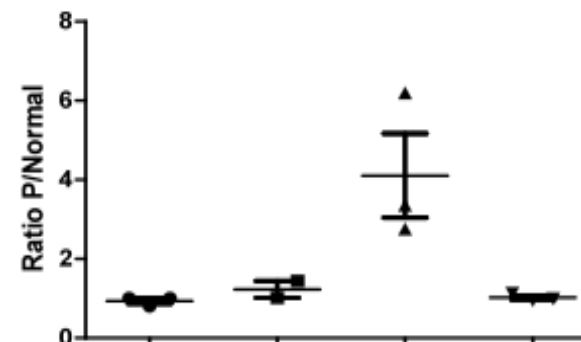
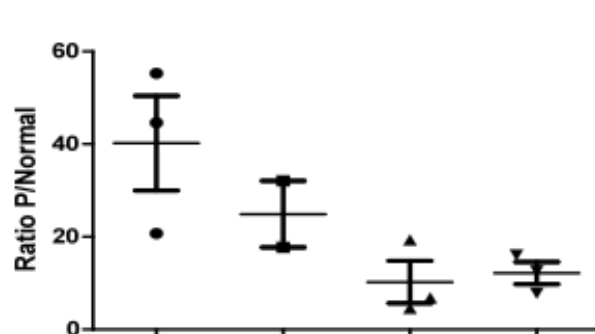
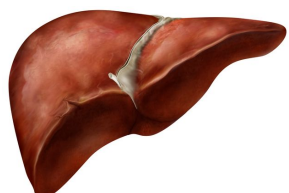
Mucoviscidose



Maladie de Wilson



Atrésie des voies
Biliaires

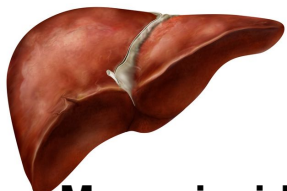


Alpha 1-Antitrypsine
Mucoviscidose
Maladie de Wilson
Atrésie des voies Biliaires

Alpha 1-Antitrypsine
Mucoviscidose
Maladie de Wilson
Atrésie des voies Biliaires

Perspectives

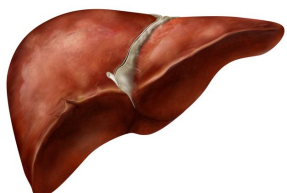
Alpha 1-Antitrypsine



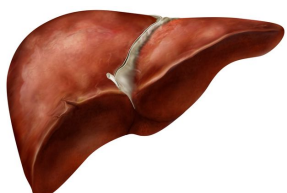
Mucoviscidose



Maladie de Wilson



**Atrésie des voies
Biliaires**



Identification de cibles
candidates



Validation échantillons
biologiques et cellules
humaines

A plus long terme...



biomarqueurs

**cibles
thérapeutiques**



Remerciements

Equipe Dr. Moreau (BaRITOn – U1053)

Violaine Moreau
Frédéric Saltel
Paulette Bioulac
Anne-Aurélié Raymond
Sylvaine Di Tommaso



Equipe Pr. Cullin

Christophe Cullin
Christelle Marchal
Hélène Vignaud

Equipe Pr. Lachaux

Abdelouahed Belmalih
Sophie Collardeau-Frachon
Philippe Joly
Alain Lachaux
Lioara Restier

Equipe Pr. Arveiler

Benoit Arveiler
Patricia Maurin

Gitler Lab

Julien Couthouis



Groupe "ALPHA"
Déficit en Alpha-1 Antitrypsine

Association Nationale Française
ADAAT Alpha1-France

<http://www.alpha1-france.org>

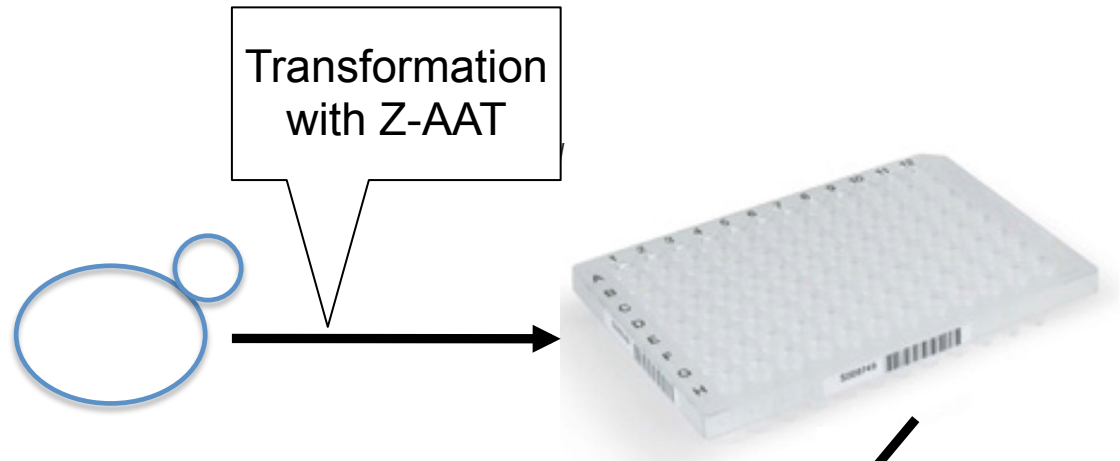
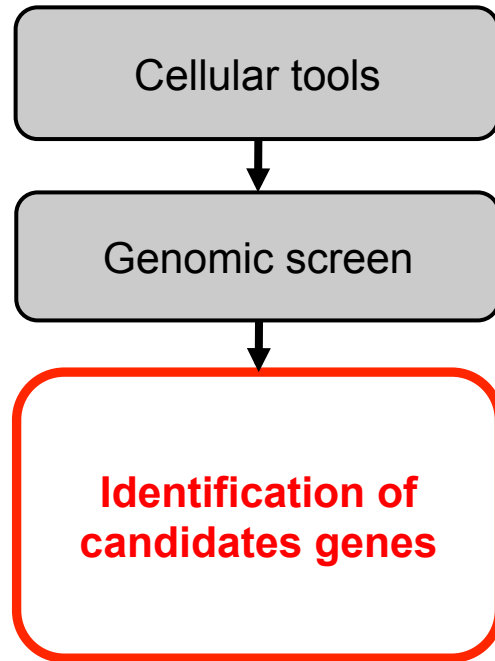


université
de **BORDEAUX**

MO Biologie cellulaire,
développement et évolution



Genomic screen



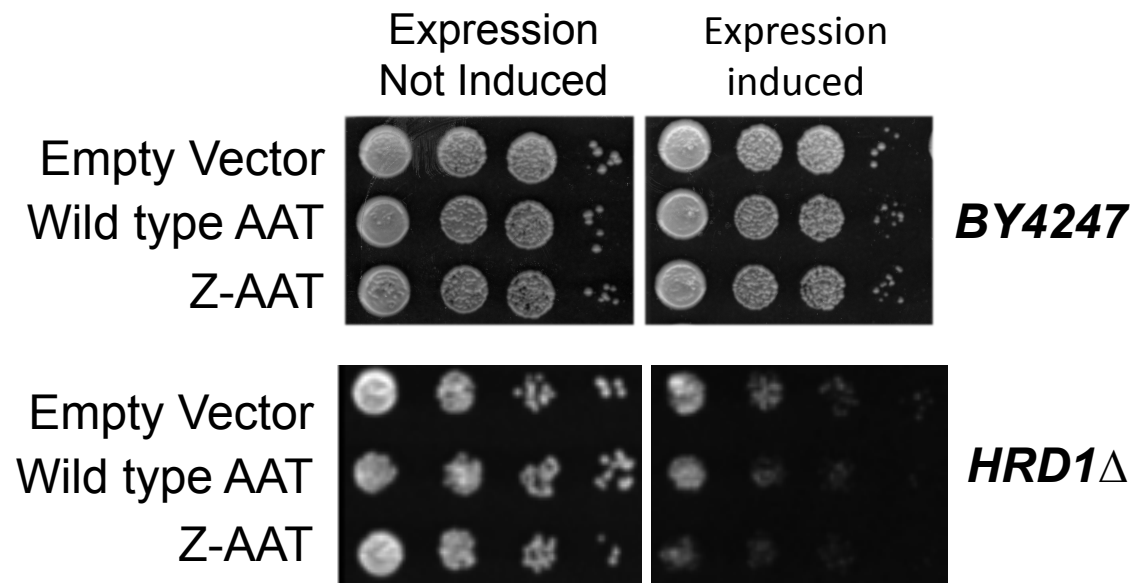
Gene	Description	Human ortholog
YNL330C/RPD3	<i>Histone deacetylase</i>	HDAC2
YNL041C/COG6	<i>Component of Oligomeric Golgi Complex6</i>	COG6
YPL180W/TCO89	<i>Subunit of TORC1</i>	mTORC1
YDR116C/MRPL1	<i>Mitochondrial ribosomal</i>	MRLP1
YOL013C/HRD1	<i>Ubiquitin-protein ligase</i>	HRD1

Genomic screen

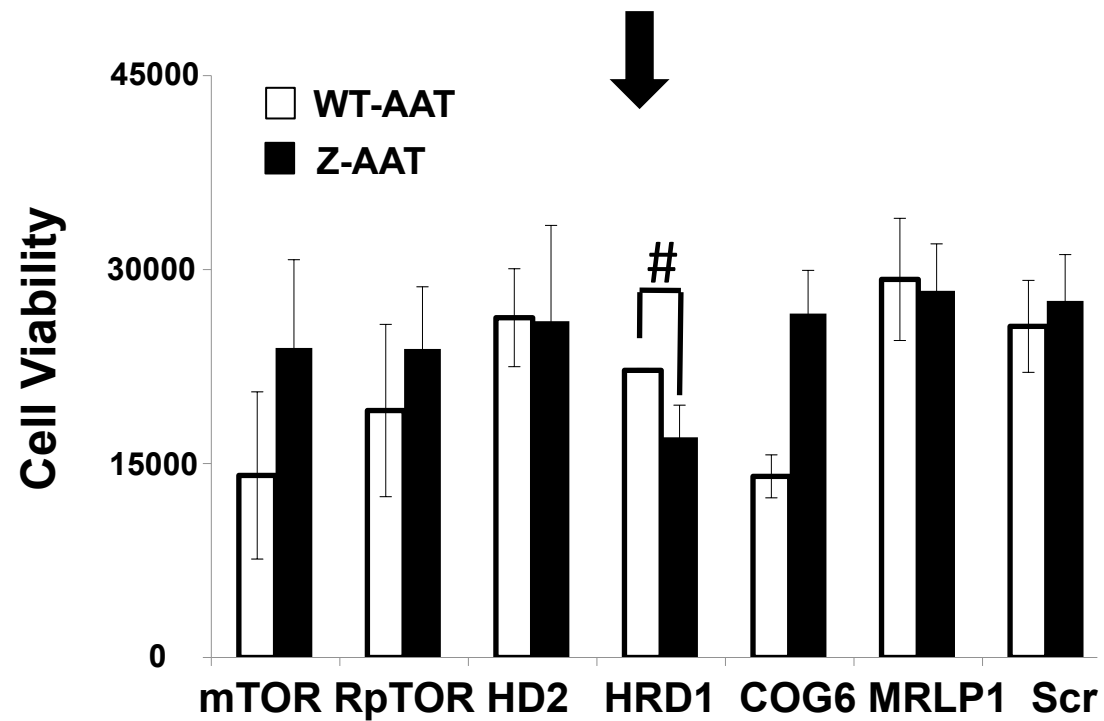
Outils cellulaires

Genomic screen

**Identification of
candidates genes**



Validation of Candidates genes



Unfolded Protein Response

