

## **Titre du projet**

**Impact de l'interaction de l'autotaxine (ATX) avec les intégrines dans les rhumatismes inflammatoires.**

**Disciplines:** Biologie cellulaire, Inflammation, Modèles précliniques

**Laboratoire :** INSERM U1033 directeur Pr Roland Chapurlat Web: <http://www.lyos.fr/>

**Ecole Doctorale:** Interdisciplinaire Sciences – Santé (EDISS) - ED 205

### **Contexte scientifique et justification:**

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie inflammatoire chronique courante des articulations qui entraîne progressivement la destruction du cartilage et des os. Bien que l'inflammation puisse être contrôlée chez les patients atteints de PR, ceux qui sont en état de rémission clinique durable ou de faible activité de la maladie peuvent continuer à accumuler des érosions, ce qui justifie la nécessité de nouveaux traitements qui permettraient d'inhiber durablement l'activité des ostéoclastes, les cellules spécialisées dans la résorption osseuse, sans altérer leur fonction physiologique dans l'homéostasie osseuse. En outre, la PR peut être associée à des manifestations extra-articulaires dont la pneumopathie interstitielle diffuse (PID), similaire à la fibrose pulmonaire idiopathique (FPI), qui est responsable d'une surmortalité importante. Souvent méconnue, il n'existe pas de prise en charge thérapeutique validée en raison de la méconnaissance de sa physiopathologie. Le projet est basé sur des travaux récents publiés par le laboratoire et sur des résultats préliminaires *in vitro* et *in vivo* utilisant des anticorps monoclonaux neutralisants propriétaires contre l'Autotaxine (ATX).

### **Objectif:**

L'ATX est une enzyme soluble qui, par son activité lysophospholipase D, est responsable de la synthèse d'un lipide bioactif, l'acide lysophosphatidique (LPA). L'axe ATX/LPA contrôle de multiples processus physiopathologiques, notamment la dégradation osseuse dans la PR et la fibrose pulmonaire dans la FPI. Le projet comportera à la fois une phase de découverte et une phase thérapeutique préclinique. Dans l'objectif (1), le projet caractérisera par des analyses *in silico* et *in vitro* les domaines de liaison de l'ATX avec les intégrines des familles Beta1 et Beta3 en utilisant la technologie Incucyte X5. Dans l'objectif (2), le projet validera le potentiel thérapeutique du ciblage de ces domaines dans des modèles animaux précliniques de PR en utilisant des peptides pégylés et des anticorps recombinants ciblant à la fois à la dégradation osseuse et la fibrose pulmonaire en utilisant les technologies d'imagerie du petit animal vivant et d'histologie.

### **Description de la méthodologie du projet:**

**Biologie moléculaire & Biochimie:** Le projet consistera en des expériences de mutagenèses dirigées sur les ADNc d'ATX et des sous-unités Beta des intégrines Beta1 et Beta3 à partir d'une liste d'acides aminés clés déjà identifiés. Ensuite, les mutants d'ATX seront générés et purifiés par LPLC. L'impact des mutations sur la structure d'ATX sera caractérisé par cristallographie des protéines (collaboration avec l'EMBL, Grenoble). Les ADNc mut-Beta1 et mut-Beta3 seront transfectés dans des cellules COBb1<sup>-/-</sup> déficientes en Beta1 et dans des CHO déficientes en Beta3, respectivement. Des peptides synthétiques pégylés contenant des acides aminés ou des domaines ciblés seront achetés.

**Biologie cellulaire :** All mutated proteins, pegylated peptides and already generated anti-ATX recombinant antibodies will be used on cell adhesion, proliferation, migration, gel contraction assays using Incyte X5 technology.

**Modèles animaux précliniques:** Nous utiliserons deux types de modèles de souris inflammatoires: (1) modèle de perte osseuse inflammatoire induite chimiquement (LPS, CAIA) et (2) modèles d'érosion osseuse spontanée et de fibrose pulmonaire chez des souris transgéniques. Les animaux seront traités avec des peptides pégylés bloquants et des anticorps recombinants anti-ATX. Les analyses seront effectuées sur des animaux vivants par microtomographie ( $\mu$ CT) et histologie du tissu osseux.

**Résultats attendus:** Le projet déterminera les domaines spécifiques de l'ATX qui interagissent avec les intégrines. Le projet définira de nouvelles stratégies thérapeutiques qui seront validées au niveau préclinique.

**Perspectives:** En étroite collaboration avec les rhumatologues de l'INSERM U1033 et les services de rhumatologie des Hospices Civils de Lyon, la perspective du projet sera le lancement d'essais cliniques sur des patients atteints de PR pour prévenir l'inflammation, la dégradation osseuse et la fibrose pulmonaire..

**Compétences nécessaires:** Des connaissances expérimentales et fondamentales en biologie cellulaire, en biologie moléculaire et en analyse des protéines sont requises.

**Références bibliographiques:** Leblanc et al., Blood 2014, Oncotarget 2018, Flammier et al., Arthritis &

Rheumatology 2019, Peyruchaud et al., Cancers 2019, Coury et al., Frontiers in Immunology 2019.

**Mots clés:** Biologie cellulaire et moléculaire , Inflammation, Osteoclastes, Resorption osseuse, Fibrose, Intégrines

**Contact:** **Dr. O. Peyruchaud** DR2 INSERM (HDR) Chef d'équipe. L'application doit inclure: CV, lettre de motivation, Nom et adresses de deux personnes de références. Le dossier de candidature doit être envoyé avant le 1<sup>er</sup> mai 2022 à: [Olivier.peyruchaud@inserm.fr](mailto:Olivier.peyruchaud@inserm.fr). Le processus de recrutement se déroule en deux étapes : (1) Procédure de présélection interne au laboratoire. (2) Jury d'audition interdisciplinaire de l'école doctorale EDISS