

titre en français : Rôle des microARNs dans la polyarthrite rhumatoïde

titre en anglais : Micro-RNAs in rheumatoid arthritis

mots clés français : microARN, inflammation, polyarthrite rhumatoïde

mots clés anglais : miRNA, inflammation, rheumatoid arthritis

Lien http de l'offre : <http://u844.free.fr/>

\*Profil candidat : M2R avec maîtrise des techniques de biologie moléculaire et cellulaire

\*\*Présentation détaillée en français (1 page maxi)

Les micro(mi)-RNAs sont de petits ARNs endogènes non codants qui jouent un rôle clé dans la régulation de l'expression des gènes en contrôlant l'accumulation de protéines cibles. Ils sont impliqués dans différentes fonctions biologiques mais également dans un nombre croissant de pathologies. L'importance des miRNAs dans l'homéostasie cellulaire suggère qu'ils puissent également jouer un rôle dans la physiopathologie des systèmes ostéo-articulaires. La polyarthrite rhumatoïde (PR) est le plus fréquent des rhumatismes caractérisée par une inflammation chronique des articulations qui conduit à leur destruction, mais dont l'origine reste inconnue. Nous analyserons le profil d'expression des miRNAs chez les patients PR afin de déterminer si une dérégulation de certains miRNAs est impliquée dans cette pathologie. L'étude des mécanismes mis en jeu éclairera sa physiopathologie, permettra de développer des marqueurs pronostiques pour une meilleure prise en charge des patients, d'identifier et de valider de nouvelles cibles thérapeutiques. Les objectifs sont de :

1. **Déterminer si la PR est associée à un profil d'expression spécifique des miRNAs** en comparant les résultats de miRNA microarrays de sang PR aux sujets sains.

2. **Identifier des miRNAs pouvant servir de marqueurs pronostiques et/ou de nouvelles cibles thérapeutiques** en comparant les résultats de miRNA microarrays de sang d'un même patient PR avant et après traitement anti-TNF aux sujets sains, et en fonction de sa réponse/ échec aux biothérapies.

3. **Caractériser les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la dérégulation des miRNAs identifiés** en mesurant par RT-qPCR l'expression des miRNAs d'intérêt dans les différentes populations de cellules mononuclées de sang PR et contrôle. Puis en recherchant les gènes cibles de ces miRNAs ainsi que les voies de régulation altérées. Des anti-miRNAs et systèmes rapporteurs seront utilisés in vitro dans un modèle cellulaire développé à cet effet.

4. **Valider in vitro le potentiel thérapeutique des miRNAs PR-spécifiques** en transfectant les cellules cibles avec un plasmide exprimant le précurseur du miRNA d'intérêt ou avec des oligonucléotides anti-miRNAs complémentaires. L'inhibition ou l'augmentation des ARNm cibles et de la protéine correspondante seront mesurées afin de valider la correction du phénotype rhumatoïde.

5. **Valider in vivo une approche thérapeutique dans l'arthrite expérimentale.** L'effet thérapeutique du ciblage des miRNAs identifiés en 1 et 2, et validés en 4, combiné à des vecteurs synthétiques déjà validés pour l'ARN interférence in vivo, sera évalué dans le modèle murin bien caractérisé de l'arthrite au collagène

L'analyse de l'expression des miRNAs dans des groupes de patients PR bien caractérisés permettra de 1) déterminer si les miRNAs représentent de nouveaux éléments de régulation impliqués dans la PR, 2) identifier des miRNAs dérégulés comme marqueurs pronostiques/diagnostiques permettant une meilleure prise en charge des patients pour les traitements, 3) déterminer de nouvelles cibles thérapeutiques, 4) comprendre les mécanismes moléculaires de la physiopathologie rhumatoïde, et 5) apporter la preuve de concept dans un modèle pré-clinique d'arthrite qu'un ciblage in vivo des miRNAs par thérapie génique est une stratégie thérapeutique viable.

\*\*Présentation détaillée en anglais (id) :

Micro(mi)-RNAs are endogenous regulatory molecules that control physiological pathways at the post-transcriptional level, but being also responsible for pathological deregulations. Indeed, miRNAs are involved in cell proliferation and differentiation during development, but deregulation of these genetic regulators can be important in the pathogenesis of human disorders, such as cancer and infection. It seems likely that miRNAs will be implicated in many other human diseases, and will have promising biomedical potentials. Rheumatoid arthritis (RA) is the most frequent inflammatory rheumatism, with unknown aetiology and still unmet medical needs. We hypothesise that the analysis of miRNA expression levels in RA patients will assess whether a subset of miRNAs is aberrantly expressed in RA. Such study will help to better understand RA pathophysiology, to sub-classify patients for tailor-made treatment, and to design new targeted therapeutic strategies. **This project aims at determining the role of miRNAs in RA pathogenesis and as potential new therapeutic targets.** We propose the followings tasks:

- **To determine miRNAs specific expression profile associated with RA** by comparing the miRNAs microarray chip results obtained from blood samples of well-characterized RA patient groups and controls.
- **To identify miRNAs that could be used as prognostic markers and/or new therapeutic targets** by comparing the miRNAs microarray patterns obtained from blood samples of the same RA patient before and after anti-TNF biotherapy with chips from healthy donors, discriminating responders and non-responders to the treatment.
- **To characterize the cellular and molecular mechanisms responsible for the miRNA deregulation observed in RA.** The level of expression of the miRNAs of interest will be measured by RT-qPCR in different subsets of peripheral blood mononuclear cells isolated from subsets of RA patients and controls. The genes and pathways targeted by the miRNAs of interest will be identified using computational algorithms and validated in vitro using reporter systems.
- **To validate in vitro the therapeutic potential of RA-specific miRNAs** by transfecting cells with plasmids encoding miRNA precursors or anti-miRNAs oligonucleotides complementary to the miRNAs of interest. The decrease or increase of the targeted mRNAs and the corresponding proteins that are abnormally expressed in RA will be measured to validate the phenotype correction.
- **To validate the RNAi-based therapy in vivo in an experimental model of RA.** The effect of silencing/overexpression of miRNAs of interest will be investigate in a mouse

model of arthritis using lipoplexes containing anti-miRNAs oligonucleotides or a plasmid encoding the miRNA precursor.

Analysis of the expression levels of miRNAs in samples from well-characterized RA patient groups will 1) determine whether miRNAs represent novel regulators involved in RA pathogenesis, 2) identify miRNAs that could have prognostic/diagnostic implications for efficient health management, 3) determine the targeted genes to understand the molecular mechanisms implicated in the deregulated miRNA networks, 4) identify new therapeutic targets, and 5) bring pre-clinical proof-of-concept for the manipulation of miRNA levels by gene therapy as an attractive new approach for drug development. Moreover, elucidation of the deregulated miRNA pathways will lead to important new conceptual insights about gene function and regulation in RA pathophysiology.

\*\*Encadrement : Florence Apparailly (HDR), [florence.apparailly@inserm.fr](mailto:florence.apparailly@inserm.fr) – 04 99 63 60 86