

Modélisation de la maladie d'Alzheimer : un parcours semé d'embûches

ANDRÉ DELACOURTE
LUC BUÉE

Unité Inserm 422,
Lille
<andre.delacourte@lille.inserm.fr>

Tirés à part :
A. Delacourte

Résumé. La maladie d'Alzheimer (MA) est une pathologie neurodégénérative qui apparaît tardivement, insidieusement, mais progressivement et irréversiblement. Elle va détruire petit à petit les neurones de l'hippocampe qui gèrent la mémoire épisodique, puis ceux qui sont impliqués dans toutes les autres fonctions cognitives. La MA est caractérisée par deux types de lésions cérébrales : les plaques amyloïdes et la dégénérescence neurofibrillaire. Trois acteurs moléculaires principaux sont impliqués dans la dynamique du processus de dégénérescence, mais le rôle de chacun reste très discuté. Il s'agit, d'une part, de la protéine APP qui libère un fragment protéolytique, le peptide A β , à l'origine des plaques et, d'autre part, de la protéine tau, constituant des filaments de la dégénérescence neurofibrillaire. Le principal handicap pour l'étude de la MA provient du fait qu'il s'agit d'une pathologie spécifiquement humaine et qu'il n'y a donc aucun modèle animal pertinent disponible. Les modèles transgéniques mis au point ne reflètent que certains aspects de la physiopathologie, ce qui handicape terriblement le criblage thérapeutique pertinent. Mais la recherche progresse...

Mots clés : maladie d'Alzheimer, physiopathologie, modèles, APP, tau

Abstract. Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder that affects people slowly, insidiously, progressively but irreversibly. This disease will destroy, little by little, the neurons of the hippocampal formation that sustain episodic memory, and the neurons of the polymodal association areas involved in all other cognitive functions. AD is characterized by two types of brain lesions: amyloid plaques and neurofibrillary degeneration. Three major molecular actors are involved in the dynamic of neurodegeneration, but the precise role of each is still a matter of debate: the first one is APP (amyloid protein precursor) that is cleaved to release A β peptide that will aggregate into plaques. The last one is the microtubule-associated protein tau that assembles into paired helical filaments in neurons to constitute neurofibrillary degeneration. The main difficulty to study AD results from the fact that this disease is specific to humans and, therefore, that there is no relevant animal model at our disposal. Transgenic mice merely reflect partial aspects of the physiopathological process, impeding therapeutic approaches such as relevant drug tests on animals. But research is in progress...

Key words: Alzheimer's disease, physiopathology, models, APP, tau

Bientôt 100 ans

Nous allons bientôt célébrer le centenaire de l'article princeps d'Aloïs Alzheimer, paru en 1907 [1]. Cet article démontrait l'existence d'une pathologie démentielle d'origine organique, caractérisée par la présence de deux types de lésions cérébrales : les plaques séniles et la dégénérescence neurofibrillaire (DNF). Cette maladie recevra, quelques années plus tard, le nom de maladie d'Alzheimer (MA).

Dès cet article, et cela n'a fait que se confirmer au fur et à mesure de l'avancée de notre connaissance, on

pouvait deviner que l'on s'adressait à une maladie complexe. En effet, c'est vraisemblablement la seule pathologie cérébrale où coexistent deux types de lésions, bien distinctes dans leur nature et leur distribution. Les plaques sont situées dans le domaine extracellulaire du parenchyme nerveux de l'écorce cérébrale. La DNF correspond à l'accumulation de filaments pathologiques ou PHF (*paired helical filaments*) dans les neurones en dégénérescence. Nous savons actuellement que la composition et la distribution spatio-temporelle de ces lésions sont totalement différentes. Par ailleurs, la relation entre elles, leur étiologie ainsi

que leur relation avec les signes cliniques font toujours l'objet de controverses très vives. Où est la poule, où est l'œuf ?

La réponse à cette question déterminera le bon choix de la cible thérapeutique et la pertinence des modélisations.

La MA est une pathologie complexe pour d'autres raisons évidentes : elle ne semble affecter que le cerveau, organe lui-même particulièrement complexe et inaccessible. On ne peut donc pas trouver de marqueur périphérique de la pathologie, ce qui bloque toute possibilité d'un diagnostic biologique aisé. De plus, cette pathologie se développe tardivement, insidieusement, se traduisant par des signes cliniques parfois très hétérogènes. Nous savons actuellement que les signes cliniques sont liés à la localisation de la région cérébrale affectée et non à la nature du processus dégénératif en cours de développement. Il en résulte que le diagnostic de certitude ne peut être que neuropathologique, et donc *post mortem*. En réalité, même à ce niveau, les choses ne sont pas simples.

Mais la difficulté principale concernant l'étude de cette pathologie résulte du fait qu'elle est spécifique à l'espèce humaine. Les deux lésions si caractéristiques de la MA n'ont jamais été vues ensemble dans le néocortex des vertébrés, y compris des primates, même très âgés.

Actuellement, malgré les quelques 40 000 articles publiés sur les aspects cliniques, neuropathologiques et moléculaires de la MA, il est très difficile de faire un tri de la pertinence des informations disponibles. Certaines apparaissent, certes, incontestables, c'est-à-dire admises par l'ensemble de la communauté scientifique, mais elles sont peu nombreuses. Nous avons retenu les affirmations suivantes :

- 1) les plaques amyloïdes sont constituées d'un peptide, appelé A β , qui dérive d'une protéine précurseur nommée APP (*amyloid protein precursor*) [2] ;
- 2) les paires hélicoïdales de filaments (PHF) qui forment la dégénérescence neurofibrillaire sont constituées de protéines tau [3-5] ;
- 3) une majorité des formes familiales autosomiques dominantes sont dues à des mutations trouvées sur les gènes app¹ ou ps1 ou ps2 [6, 7] ;
- 4) APP est un élément central dans la physiopathologie, PS1 et PS2 étant des protéines impliquées dans la coupure protéolytique de APP ;

¹ Par convention, les gènes sont marqués en minuscules et les protéines en majuscules.

5) le facteur de risque essentiel est l'âge, puis vient le génotype epsilon 4 de l'apolipoprotéine E [8].

En dehors de ces affirmations, l'ensemble de la littérature demeure très contradictoire et une large panoplie d'hypothèses reste ouverte.

Bien que certaines de ces hypothèses sont plus majoritairement soutenues que d'autres, cela ne garantit pas qu'elles soient plus exactes. En effet, elles ne relèvent pas uniquement du domaine scientifique. Elles sont à la base de la recherche d'un médicament « anti-Alzheimer » curatif qui représente un marché de 8 à 30 milliards de dollars par an. Il y a donc des paris « industriels », appuyés par des budgets colossaux qui, une fois lancés, ne peuvent plus faire marche arrière. Ceci génère des tendances, des courants, des convictions, des passions, des lobbies, et donc des controverses très vives et une véritable guerre de religion. Par exemple, êtes-vous un *believer* et croyez-vous que la neurodégénérescence résulte de la toxicité du peptide A β venant de l'APP ? Si oui, vous êtes un β APPtiste, et vous avez la chance de faire partie du courant majoritaire et dominateur. Ou pensez-vous que la protéine tau joue un rôle, certes modeste, mais incontournable, dans la physiopathologie neurodégénérative ? Alors vous êtes un tauoïste, et vous faites partie de la minorité. De plus, en fonction des connaissances et de la spécialité du laboratoire auquel il est rattaché, chacun défend sa chapelle ou sa paroisse, mettant en avant l'importance du stress oxydatif [9], de la réaction inflammatoire [10], du polymorphisme génétique [11], des facteurs environnementaux [12] et de nombreux autres facteurs. Chaque hypothèse peut contenir une part de vérité car la MA est certainement une pathologie multifactorielle.

Une stratégie universelle

Quelle est la stratégie actuelle dans la lutte contre la maladie d'Alzheimer ? Elle est globalement universelle et unitaire : il faut trouver une cible thérapeutique pertinente, puis la modéliser pour rechercher des molécules capables d'agir sur cette cible, *via* un criblage pharmacologique. Cette recherche de molécules candidates doit logiquement conduire au médicament curatif. Cette approche sous-entend une bonne connaissance de la physiopathologie, puis une modélisation pertinente qui reflète bien le dysfonctionnement. Cette démarche est lourde et fait suite aux essais infructueux sur des pistes possibles, faciles à tester, comme les antidépresseurs, les modulateurs de neuromédiateurs, les capteurs de radicaux libres, les anti-inflammatoires, le mode de vie, etc.

La modélisation de la MA est devenue plus précise à partir de 1991. L'équipe de John Hardy a alors décrit des mutations sur le gène *app* qui provoquent inéluctablement une forme autosomique dominante de la MA, débutant vers l'âge de 45 ans [13]. Les mutations sont localisées dans des régions proches de la séquence codant le peptide A β . Elles pourraient moduler la protéolyse du peptide A β à partir de son précurseur APP et générer une surproduction du peptide A β et son agrégation. A β étant le constituant des dépôts amyloïdes retrouvés dans les dépôts amyloïdes des formes familiales et sporadiques de MA, le même mécanisme pouvait être impliqué. Ensuite, toute la cascade étiopathogénique suivrait : A β serait le neurotoxique qui tue les cellules nerveuses et provoquerait ainsi une accumulation de fibrilles de protéine tau, c'est-à-dire la dégénérescence neurofibrillaire (DNF). C'est la théorie de la cascade amyloïde de Hardy [14]. Les dernières réticences vis-à-vis de cette théorie ont été levées quand l'équipe de St Georges Hyslop a montré que la majorité des mutations se trouvaient sur un autre gène, nommé *ps1*, dont la protéine PS1 participe au clivage de APP pour libérer le peptide A β [7]. La stratégie anti-Alzheimer devenait limpide et univoque : la cible pharmacologique est A β et il faut neutraliser ce neurotoxique. Le modèle animal sera les souris transgéniques² avec un ADNc³ d'*app* muté, ou une combinaison des deux acteurs (*app* et *ps1* mutés), modèles qui se sont d'ailleurs révélés des outils fantastiques pour étudier le processus d'amyloïdogenèse, car ils produisent très rapidement des plaques en grande quantité (*figure 1A*). Ces résultats ont ainsi largement conforté le théorie de la cascade amyloïde [15].

Il y a hélas un bémol à cette belle aventure scientifique :

– d'une part, les formes génétiques sont extrêmement rares. En France, il existe environ 1 000 cas de formes familiales mendéliennes recensées pour 800 000 cas de MA sporadiques possibles. Or, dans les formes sporadiques, on n'observe pas d'augmentation significative de la production sérique ou tissulaire du peptide A β . Ceci veut donc dire que l'anomalie de métabolisme de l'APP des formes sporadiques est plus discrète, ce qui expliquerait une expression clinique beaucoup plus tardive et peut-être l'intervention d'un mécanisme dif-

férent. On parle alors de défaut de clairance ou d'une fibrillogénèse exacerbée ;

– d'autre part, les souris transgéniques avec APP et PS1 mutée ne provoquent pas de dégénérescence neurofibrillaire patente. On peut, bien entendu, s'affranchir de cette objection en disant que la pathologie tau est une conséquence tardive et non spécifique. Cet argument est d'ailleurs utilisé en faveur de la théorie de la cascade amyloïde.

Au total, la modélisation à partir des souris transgéniques repose essentiellement sur les mutations des formes familiales. Elles sont intéressantes et représentent un outil fantastique pour les chercheurs. Pour autant, il ne faut pas oublier que ces formes familiales, touchant les sujets jeunes, sont extrêmement rares. S'agit-il d'exceptions qui confirment la règle ou qui la définissent ?

Le retour de la protéine tau

Le rôle de la DNF dans l'histoire naturelle de la MA a fait l'objet de controverses très vives. En effet, nous savons depuis longtemps que la DNF (donc la pathologie de la protéine tau qui la constitue) est une lésion observée dans de nombreux syndromes démentiels, notamment dans certains syndromes parkinsoniens, la plupart des démences fronto-temporales et aussi la trisomie 21 [16]. Bien entendu, elle est observée dans les formes familiales et sporadiques de la MA [17].

Rappelons que la protéine tau est une protéine qui stabilise les microtubules, qui sont à la fois les rails du transport intra-neuronal et les structures de soutien de l'espace tridimensionnel du neurone. La protéine tau peut stabiliser les microtubules, normalement très instables, par deux mécanismes de régulation. Il existe 6 isoformes⁴ tau différentes, en particulier avec 3 ou 4 répétitions de séquences d'interaction avec les microtubules. Selon le jeu d'isoformes impliquées (3R ou 4R), l'interaction stabilisatrice vis-à-vis des microtubules sera plus ou moins forte. Ensuite, l'état de phosphorylation de tau va également jouer. Plus la protéine est phosphorylée, plus l'interaction avec les microtubules va diminuer. On pense même qu'une phosphorylation anormale de tau entraîne le désassemblage des microtubules, puis, par conséquence, le blocage du transport

² Souris à qui on a incorporé un gène supplémentaire, ici le gène *app* humain avec une ou plusieurs mutations pathologiques.

³ ADNc : ADN complémentaire, correspondant au gène reconstitué à partir de la séquence codante de l'ARN messager (donc constitué des exons codants).

⁴ Un gène peut donner plusieurs ARN messagers (par épissage des exons) qui donnent des protéines légèrement différentes, des isoformes. Les isoformes tau sont dues à l'épissage alternatif des exons 2, 3 et 10.

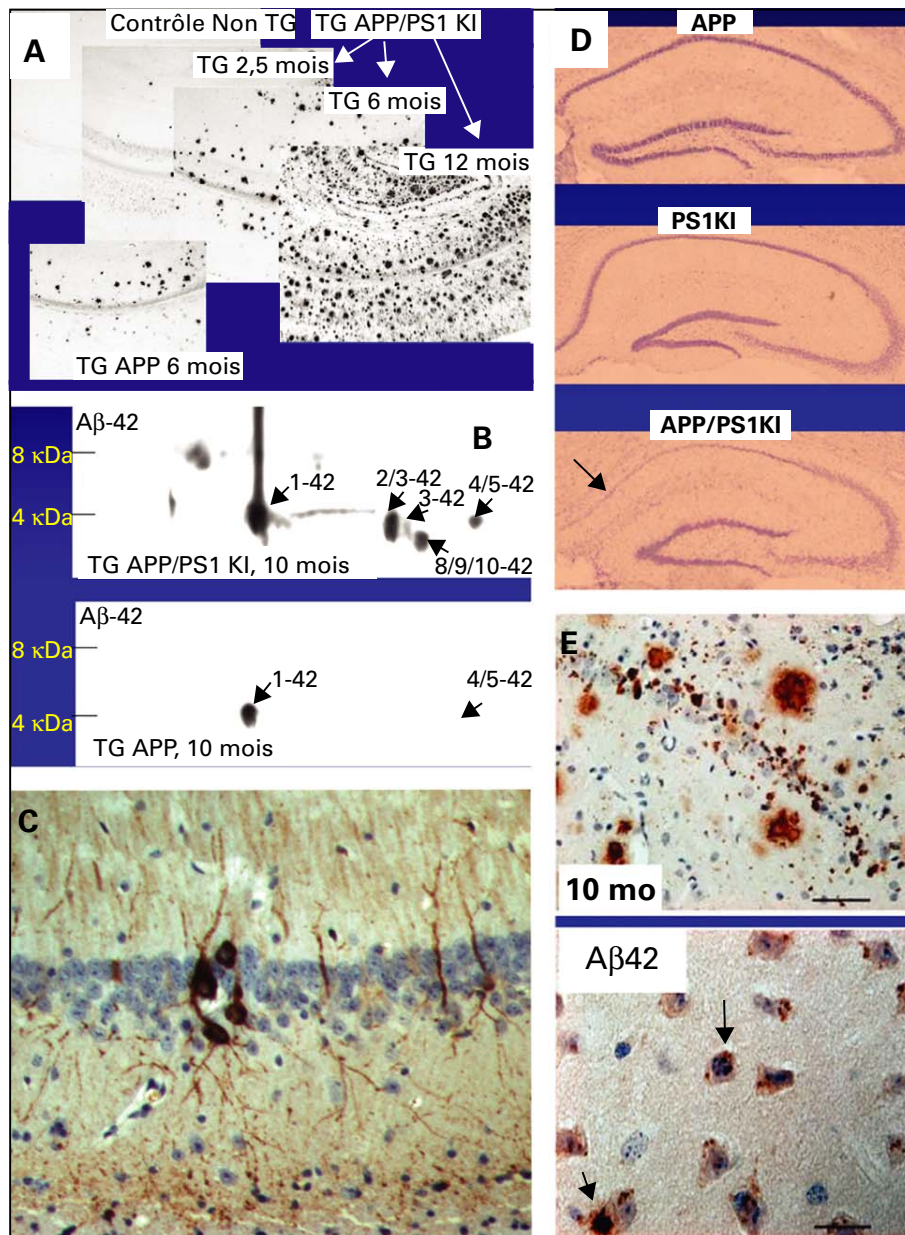


Figure 1. Modélisation de différents aspects de la physiopathologie Alzheimer. **A** : agrégats diffus et sous forme de plaques du peptide Aβ observés dans le tissu cérébral des souris transgéniques avec le gène *app* muté (mutations suédoise et London) et des mêmes souris mais qui sont knock-in¹ pour le gène *ps1* comportant deux mutations très pathogènes. On peut noter que ces dernières souris font beaucoup plus de plaques [35]. **B** : de la même manière, les souris APP/PS1 KI font des formes N-tronquées du peptide Aβ, comme celles observées dans le tissu humain. Démonstration par analyse 2D des agrégats de Aβ et révélation avec l'anticorps 21F12 reconnaissant les formes 42 C-terminales du peptide Aβ. **C** : la pathologie Tau n'est observée d'une manière significative que dans les souris transgéniques avec le gène tau comportant une ou plusieurs mutations observées dans les dégénérescences fronto-temporales FTDP-17 (document généreusement fourni par le professeur Jean-Pierre Brion). **D** : une perte neuronale importante est observée dans la région hippocampique des souris APP/PS1 KI (flèche), mais pas chez les souris APP ou PS1KI. **E** : simultanément, on peut remarquer que les dépôts de Aβ sont également intra-neuronaux (flèche). ¹ Knock-in : une séquence exonique du gène murin a été modifiée pour introduire des mutations pathologiques humaines. Cette séquence est ensuite substituée à la séquence « normale » de la souris.

Figure 1. Models of different aspects of Alzheimer physiopathology. Transgenic mice with app and ps1 human genes develop numerous Aβ plaques (A). More aggressive models [35] have other human features such as N-truncated Aβ deposits (B), no tau pathology (unlike models with mutated tau as shown here) (C) but neuronal loss in the hippocampus (D) and intraneuronal Aβ deposition

des vésicules-cargo⁵, bloquant ainsi toute l'intendance neuronale et provoquant le processus de DNF [18].

Le statut de la protéine tau a complètement changé à partir de l'année 1998. Cette année-là, il a été montré que les formes familiales de dégénérescences fronto-temporales (DFT) associées à un syndrome parkinsonien, liées au chromosome 17 (FTDP-17), sont dues à des mutations sur le gène tau. Actuellement, plus de 34 mutations ont été rapportées [19]. Chaque mutation engendre un phénotype clinique et neuropathologique très hétérogène qui s'inscrit dans un spectre qui va de la dégénérescence fronto-temporale à la MA en passant par des syndromes parkinsoniens.

Le bilan actuel indique que la majorité des syndromes démentiels sont associés, directement ou indirectement, à un défaut métabolique de la protéine tau. Ce défaut résulte d'une mutation avec perte de fonction, d'un épissage anormal suite à des mutations sur l'exon 10, d'une sous-expression de la protéine tau normale dans les DFT de type DLDH (*dementia lacking distinctive histology*) ou d'une agrégation d'une variété spécifique d'isoformes tau avec 3 ou 4 répétitions (3R ou 4R) comme dans la paralysie supranucléaire progressive (4R) ou la maladie de Pick (3R) ou de la totalité des isoformes comme dans la MA. Certaines altérations de tau sont indirectes, comme l'épissage anormal d'un grand nombre de gènes, dont celui de tau, comme dans les dystrophies myotoniques⁶.

L'étude moléculaire des agrégats de protéines tau indique qu'ils ont souvent une signature biochimique, un code-barre spécifique. C'est ainsi que l'analyse par immuno-empreinte révèle une signature sous forme de triplet dans la MA, de doublet supérieur dans certains syndromes parkinsoniens, d'un doublet inférieur dans les démences fronto-temporales de type Pick, et d'un singulet inférieur pour les dystrophies myotoniques.

De plus, la localisation de la pathologie tau et le chemin de progression emprunté par le processus de DNF le long des voies cortico-corticales dans la MA [17] ou sous-cortico-corticales dans la paralysie supranucléaire progressive et la dégénérescence corticobasale, expliquent parfaitement bien les signes cliniques.

Par ailleurs, dans les formes sporadiques de MA, la pathologie tau se développe en parallèle aux dépôts amyloïdes, avec une coexistence dans le temps, mais

non dans l'espace cérébral [20]. Un lien, voire une synergie entre les pathologies A β et tau semble évident. Suite à ces constatations, il est difficile d'ignorer la pathologie tau dans la physiopathologie de la MA. La théorie de la cascade amyloïde est donc battue en brèche : tau et A β sont deux lésions incontournables et ignorer tau représente un risque d'erreur considérable dans l'analyse de l'étiologie de la MA.

Cela a une conséquence sur la définition des critères neuropathologiques permettant d'établir le diagnostic de MA certaine. Au moment de l'apogée de la théorie de la cascade amyloïde, et dans un souci de simplification, les critères de Katchaturian, repris par ceux du Cerad, étaient uniquement basés sur le compte des plaques amyloïdes pour faire un diagnostic dit « de certitude » [21]. Nous savons actuellement que l'utilisation exclusive du nombre de plaques amyloïdes ne permet pas de différencier une MA préclinique d'une MA clinique. De la même façon, à cette époque où l'on ne connaissait pas la synucléine, protéine constituant les corps de Lewy, ces critères ne permettaient pas de distinguer une MA d'une maladie à corps de Lewy. En effet, cette dernière est associée, dans sa forme sporadique, à de nombreux dépôts amyloïdes A β . Cela signifie que toutes les études de corrélations anatomocliniques effectuées avant 1997 peuvent être remises en question. Les critères de consensus établis en 1997 ont repris logiquement ce qu'avait décrit Aloïs Alzheimer : le diagnostic ne peut se faire que si l'on voit les deux types de lésions dans le néocortex. De plus, ces critères impliquent un critère quantitatif (nombre de lésions par unité) ainsi que l'aspect spatio-temporal du développement de ces lésions. La DNF progresse de la région hippocampique vers les régions néocorticales selon 6 stades définis par Braak à l'échelle neuropathologique [22]. L'analyse moléculaire a confirmé ces stades de progression de la pathologie tau selon un chemin unique qui passe systématiquement par 10 régions cérébrales, ce qui définit les 10 stades de la pathologie tau [17]. Tous les patients correspondant à un stade supérieur au stade IV de Braak de DNF ou au stade 7 de pathologie tau, et comportant de nombreuses plaques amyloïdes, sont affectés par une démence de type Alzheimer. Tout ceci montre les difficultés de l'approche et notre compréhension tardive du processus physiopathologique.

Finalement, bien connaître la maladie d'Alzheimer pour avoir des chances de la combattre sérieusement revient, en grande partie, à se poser la question des relations entre tau et APP, les deux marqueurs et les deux acteurs incontournables de la MA.

⁵ Vésicules contenant les matériaux (protéines, enzymes) pour la réparation du neurone et pour l'activité synaptique.

⁶ Sergeant N, Delacourte A, Buée L. Tau protein as a differential biomarker of tauopathies. *Biochim Biophys Acta* 2005 ; 1739 : p. 179-97.

Les modèles de dernière génération

Nous savons que les souris transgéniques utilisant le gène muté de la protéine APP forment des plaques amyloïdes en grande quantité. Le profil des dépôts d'A β varie légèrement en fonction du promoteur⁷ utilisé et des mutations choisies. D'autre part, nous savons que les mutations sur *ps1* ou *ps2* ne provoquent pas de formation de plaques, mais qu'elles amplifient l'action de *app* mutée. Les souris qui font le plus de plaques et le plus précocement sont donc des souris avec un double transgène. L'ensemble des modèles murins disponibles peut être consulté sur le site www.alzforum.com.

Par ailleurs, nous savons que les modèles murins transgéniques utilisant un gène de la protéine tau mutée développent une dégénérescence neurofibrillaire. Les modèles mixtes APP+Tau mutés semblent se synergiser [23, 24]. C'est tout à fait le type de modèle qui est en adéquation avec la physiopathologie humaine. Idéalement il nous faudrait un modèle de ce type, mais capable d'induire une DNF locale qui s'étendrait dans tout le cortex après l'induction du dysfonctionnement de la protéine APP. Les derniers modèles de Laferla avec trois transgènes ayant des mutations pathologiques (APP muté + PS1 *knock in* avec double mutation + Tau muté) semblent reproduire plus fidèlement les deux types de lésions de la MA [25]. De plus, la diminution des dépôts amyloïdes par injection intra-hippocampique d'anticorps anti-A β semble diminuer la pathologie tau, ce qui indique une synergie entre les deux processus dégénératifs. Ce phénomène de synergie semble bien marqué également dans un modèle APP/Tau plus simple [26].

Quoi qu'il en soit, et cela fait partie des bonnes nouvelles, nous savons actuellement que APP et tau sont deux cibles pharmacologiques de la MA, et que ces cibles peuvent être abordées séparément ou ensemble. L'opposition entre tauiste et β APPtiste n'a donc plus raison d'être.

Mais la tâche qui reste à accomplir n'est pas simple, car si nous connaissons bien les cibles, il faut savoir comment les aborder précisément.

⁷ Au gène incorporé chez une souris est associé un promoteur qui permet l'expression du gène dans un tissu donné (ex : promoteur du gène prion, neurofilament, etc, pour une expression essentiellement neuronale).

La cible thérapeutique APP

Il est incontestable que APP joue un rôle causal important dans la MA. Cependant, nous ne connaissons pas le dysfonctionnement précis responsable de la genèse ou de l'intensification du processus dégénératif. Deux théories peuvent être émises impliquant soit une perte de fonction de la protéine APP soit un gain de fonction toxique du peptide A β . En termes de solutions thérapeutiques, ces deux théories débouchent sur des stratégies complètement différentes.

Perte de fonction de APP

La coupure métabolique de APP s'effectue au niveau des sites alpha, bêta et gamma (*figure 2*), par des activités enzymatiques spécifiques nommées « secrétases ». Ces coupures libèrent normalement des fragments N-terminaux nommés APP-s (pour solubles) dans le domaine extracellulaire et des fragments C-terminaux APP-CTFs (*carboxy terminal fragments*) dans le cytoplasme. La coupure par les bêta et gamma va conduire au clivage de A β (qui est un peptide physiologique) qui est sécrété. Aussi bien les APP-s que les APP-CTFs ont des fonctions physiologiques potentiellement très importantes.

D'abord, nous savons que la protéine APP fait partie d'une grande famille et qu'elle est présente dans toutes les cellules de toutes les espèces, ce qui laisse supposer un ou plusieurs rôles fondamentaux dans la cellule, mais qui demeurent encore inconnus. Ainsi, sur la structure primaire des APPs peuvent être repérées des séquences présageant une activité trophique [27].

De même, les APP-CTFs, et notamment l'extrémité cytosolique AICD (APP *intra cytoplasmic domain*) ou APP-CTF gamma, seraient des activateurs de gène [28-30]. Ces fragments sont diminués d'une manière significative dans la maladie d'Alzheimer [31]. Les études actuelles sur le métabolisme de ces fragments montrent que les APP-CTFs se présentent sous une cinquantaine de variants révélés par l'approche protéomique⁸ [32]. De plus, les voies de métabolisme impliquées sont extrêmement complexes et modulées spécifiquement dans chaque compartiment de la cellule nerveuse. Cette approche est donc infiniment complexe, mais, peut-être incontournable. À l'heure actuelle, il n'y a pas de modèle animal qui modélise cette hypothèse de la perte de fonction de APP.

⁸ Technique qui sépare très finement les protéines en fonction de leur masse moléculaire et leur charge électrique, rendant l'identification possible de chaque élément par spectrométrie de masse.

Gain de fonction toxique

Cette théorie est actuellement majoritaire et il est probable que plus de 90 % de l'effort international de recherche sur la MA cible la diminution de la production ou de l'agrégation de ce peptide comme solution thérapeutique. Mais cette cible, qui semblait unique et simple, nous fait également rentrer dans l'infiniment complexe et l'infiniment diversifié.

Tout d'abord, le peptide se présente sous différentes formes :

- Aβ est hétérogène au niveau C-terminal et on distingue essentiellement les formes 42 et 40. La forme 42 est celle qui est la plus en rapport avec l'étiologie de la MA [20] ;
- Aβ est hétérogène au niveau N-terminal et il apparaît de plus en plus que ce sont les formes N-tronquées qui sont les plus pathogènes (figure 2) [33] ;

- Aβ se trouve lui-même dans différents compartiments et sous différentes formes pathologiques : dans le domaine extracellulaire, il forme des plaques denses, nommées plaques amyloïdes ou des plaques diffuses aux stades initiaux. Il se trouve sous la forme de protofibrilles, d'oligomères ou sous forme de monomère ou dimère soluble. Toutes ces formes ont été incriminées dans la toxicité, mais, plus récemment, ce sont les oligomères qui sont pointés du doigt, car ils peuvent altérer le fonctionnement synaptique [34].

Tout récemment, il a été montré que Aβ peut également s'accumuler dans le cytoplasme de la cellule (figure 1E). Cela est observé dans un modèle de souris transgénique très intéressant, couplant la forme intracellulaire agrégée de Aβ, sous forme N-tronquée similaire à celle observée dans le cerveau humain (figure 1B) avec une mort neuronale massive des neurones de

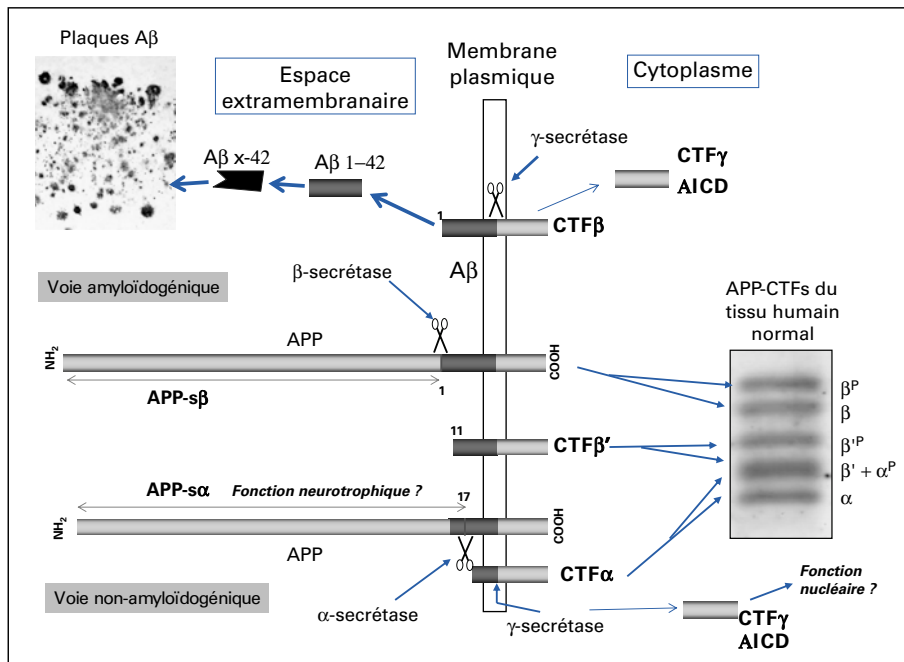


Figure 2. Représentation du métabolisme de la protéine APP et de ses produits de clivage. Le peptide Aβ est libéré suite à une coupure successive de APP par les sécrétases bêta et gamma. La coupure gamma s'effectuerait dans la membrane, par un complexe comprenant les protéines PS1, la nicastrine, APH-1 et pen-2. La coupure en alpha est généralement considérée comme la voie « physiologique » « non-amyloïdogénique » tandis que la coupure bêta, qui coupe APP pour générer le peptide Aβ, est considérée comme une voie « pathologique, amyloïdogénique ». Cependant, il ne faut pas oublier que Aβ sous sa forme 40 et 42 est un peptide physiologique, et que les fragments APP-CTFs bêta sont présents en quantité égale aux alpha dans le tissu cérébral normal. On peut noter également la complexité du paysage « APP-CTFs » car il existe également des coupures secondaires (en bêta prime par exemple), et ces APP-CTFs existent sous différents états de phosphorylation, générant ainsi une cinquantaine d'isovariants. Ces fragments, ou certains d'entre eux, peuvent avoir une activité physiologique importante. Enfin, il faut souligner que le peptide Aβ qui s'agrège pour former les premières plaques est essentiellement sous une forme N-tronquée, dont il nous reste à trouver la signification physiopathologique. Ce peptide Aβ N-tronqué, donc « pathologique », suggère une voie plus pertinente de vaccination contre la maladie d'Alzheimer.

Figure 2. Representation of the pathways of APP metabolism. Aβ peptide of 40 and 42 amino acids is the result of a successive cleavage of APP by beta and gamma secretases. On the other hand, the alpha cleavage by alpha secretases, in the middle of Aβ peptide, is considered as the "non amyloidogenic pathway". Secretases also generate carboxy terminal fragments (APP-CTFs), that could have an important physiological role. Also, Aβ peptide in early deposits is N-truncated. These x-42 Aβ species could be a therapeutic target for the "vaccination" approach.

l'hippocampe (*figure 1D*) [35]. Dans les souris triple-transgéniques de Laferla, on observe également de l'A β agrégé dans les corps cellulaires des neurones [25].

Derrière cette hétérogénéité se profilent différentes stratégies thérapeutiques anti-amyloïdes, que l'on peut parfaitement bien tester sur les modèles murins : en particulier la « vaccination » passive ou active qui élimine les dépôts extracellulaires, et qui pourrait même agir sur les dépôts intracellulaires, par déplétion et déplacement des pools d'A β [36-38].

L'autre stratégie consiste à inhiber l'agrégation par des peptides mimétiques [39]. Il est aussi possible de diminuer la production du peptide en jouant sur les sécrétases qui coupent APP aux positions bêta ou gamma [40].

On pourrait également corriger l'effet délétère de A β sur la cellule, mais il n'est pas encore connu. Plus de 20 mécanismes différents ont été proposés, de la formation de pores dans la membrane à l'induction d'apoptose, de radicaux libres, de complexes avec des métaux, d'activation aberrante de voies de signalisation, etc. Pour l'étude de tous ces aspects, il est possible d'étudier des modèles plus simples que les modèles murins, tels les modèles cellulaires [41], la drosophile [42] ou *Caenorhabditis elegans* [43].

Enfin, pour tout raisonnement sur l'impact d'une molécule utilisée sur un modèle murin, il faudra toujours tenir compte de la dualité entre fonction toxique et perte de fonction de APP. En effet, on ne peut pas ignorer certains travaux qui suggèrent que A β agrégé pourrait être un mécanisme de défense de la cellule, et/ou un révélateur de la perte de fonction de APP [44, 45].

La cible thérapeutique tau

Les formes familiales de dégénérescence frontotemporelle résultent de mutations sur le gène tau. Les modèles murins avec la protéine tau mutée développent une dégénérescence neurofibrillaire [23, 24, 46]. Des modèles simplifiés peuvent être proposés chez la drosophile [47, 48], *Caenorhabditis elegans* [49] ainsi que des modèles cellulaires [50] et même l'ovocyte de Xénope [51]. Tous ces modèles permettent de trouver des facteurs susceptibles de modifier l'état de phos-

Points clés

- Les modèles de souris transgéniques permettent une excellente approche de l'amyloïdogenèse, principale base des recherches thérapeutiques actuelles.
- Toutefois, des incertitudes majeures persistent quant au rôle précis de l'APP et du peptide A β .
- Divers modèles relativement simples permettent également d'approcher la pathologie tau, autre élément essentiel de la maladie d'Alzheimer.
- Des modèles génétiques complexes associant les pathologies APP et tau commencent à émerger, avec une synergie APP/Tau démontrée. La question de la pertinence de ces modèles vis-à-vis de l'approche thérapeutique des formes sporadiques de la maladie d'Alzheimer reste entière.

phorylation de la protéine tau afin d'éviter son agrégation. Ces facteurs sont essentiellement des kinases (ex : GSK3 β) [52], des modulateurs de kinases (cdk5) [53], des modulateurs de phosphatases (pin1) [54]. On a souligné récemment cette synergie observée entre la pathologie tau et sa phosphorylation induite par GSK3 β dans un modèle murin [55].

Conclusion

Au total, la modélisation devient de plus en plus pertinente, les stratégies de criblage de molécules à haut débit fonctionnent à plein régime dans de nombreux laboratoires et on finira par trouver une molécule ayant des propriétés de neuroprotection intéressantes, capables de ralentir ou de contenir cette pathologie Alzheimer. Mais les pathologies cérébrales de ce type, spécifiques à l'espèce humaine, se développent lentement, dans un organe inaccessible et encore mal connu, avec des mécanismes moléculaires qui restent en grande partie à élucider. Il ne faut donc pas sous-estimer l'adversaire. Et la stratégie de modélisation ne pourra passer que par une démarche logique, de bon sens, à utiliser dans le bon ordre : il faut comprendre pour bien modéliser et non modéliser pour comprendre.

Références

1. Alzheimer A, Stelzmann RA, Schnitzlein HN, Murtagh FR. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde". *Clin Anat* 1995 ; 8 : 429-31.
2. Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, Salbaum JM, Masters CL, Grzeschik KH, *et al.* The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* 1987 ; 325 : 733-6.
3. Brion JP, Flament-Durand J, Dustin P. Alzheimer's disease and tau proteins. *Lancet* 1986 ; 2 : 1098.
4. Flament S, Delacourte A. Abnormal tau species are produced during Alzheimer's disease neurodegenerating process. *FEBS Lett* 1989 ; 247 : 213-6.
5. Goedert M, Klug A. Tau protein and the paired helical filament of Alzheimer's disease. *Brain Res Bull* 1999 ; 50 : 469-70.
6. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, *et al.* Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 1991 ; 349 : 704-6.
7. St George-Hyslop PH. Role of genetics in tests of genotype, status, and disease progression in early-onset Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1998 ; 19 : 133-7.
8. Strittmatter WJ, Roses AD. Apolipoprotein E and Alzheimer's disease. *Annu Rev Neurosci* 1996 ; 19 : 53-77.
9. Perry G, Smith MA. Is oxidative damage central to the pathogenesis of Alzheimer disease ? *Acta Neurol Belg* 1998 ; 98 : 175-9.
10. Kalaria RN. Microglia and Alzheimer's disease. *Curr Opin Hematol* 1999 ; 6 : 15-24.
11. Lambert JC, Araria-Goumide L, Myllykangas L, Ellis C, Wang JC, Bullido MJ, *et al.* Contribution of APOE promoter polymorphisms to Alzheimer's disease risk. *Neurology* 2002 ; 59 : 59-66.
12. Grant WB, Campbell A, Itzhaki RF, Savory J. The significance of environmental factors in the etiology of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2002 ; 4 : 179-89.
13. Goate AM. Monogenetic determinants of Alzheimer's disease : APP mutations. *Cell Mol Life Sci* 1998 ; 54 : 897-901.
14. Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease : the amyloid cascade hypothesis. *Science* 1992 ; 256 : 184-5.
15. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease : progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002 ; 297 : 353-6.
16. Buée L, Delacourte A. Comparative biochemistry of tau in progressive supranuclear palsy, corticobasal degeneration, FTDP-17 and Pick's disease. *Brain Pathol* 1999 ; 9 : 681-93.
17. Delacourte A, David JP, Sergeant N, Buée L, Wattez A, Vermersch P, *et al.* The biochemical pathway of neurofibrillary degeneration in aging and Alzheimer's disease. *Neurology* 1999 ; 52 : 1158-65.
18. Buée L, Bussiere T, Buée-Scherrer V, Delacourte A, Hof PR. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res Brain Res Rev* 2000 ; 33 : 95-130.
19. Spillantini MG, Van Swieten JC, Goedert M. Tau gene mutations in frontotemporal dementia and parkinsonism linked to chromosome 17 (FTDP-17). *Neurogenetics* 2000 ; 2 : 193-205.
20. Delacourte A, Sergeant N, Champain D, Wattez A, Maurage CA, Lebert F, *et al.* Nonoverlapping but synergetic tau and APP pathologies in sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* 2002 ; 59 : 398-407.
21. Gearing M, Mirra SS, Hedreen JC, Sumi SM, Hansen LA, Heyman A. The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part X. Neuropathology confirmation of the clinical diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurology* 1995 ; 45 : 461-6 ; [see comments].
22. Braak H, Braak E. Staging of Alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Neurobiol Aging* 1995 ; 16 : 271-8 ; (discussion 278-84).
23. Lewis J, Dickson DW, Lin WL, Chisholm L, Corral A, Jones G, *et al.* Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science* 2001 ; 293 : 1487-91.
24. Gotz J, Chen F, van Dorpe J, Nitsch RM. Formation of neurofibrillary tangles in P301I tau transgenic mice induced by Abeta 42 fibrils. *Science* 2001 ; 293 : 1491-5.
25. Oddo S, Caccamo A, Shepherd JD, Murphy MP, Golde TE, Kaye R, *et al.* Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles : intracellular Abeta and synaptic dysfunction. *Neuron* 2003 ; 39 : 409-21.
26. Ribe EM, Perez M, Puig B, Gich I, Lim F, Cuadrado M, *et al.* Accelerated amyloid deposition, neurofibrillary degeneration and neuronal loss in double mutant APP/tau transgenic mice. *Neurobiol Dis* 2005 ; aug 23.
27. Turner PR, O'Connor K, Tate WP, Abraham WC. Roles of amyloid precursor protein and its fragments in regulating neural activity, plasticity and memory. *Prog Neurobiol* 2003 ; 70 : 1-32.
28. Cao X, Sudhof TC. A transcriptionally active complex of APP with Fe65 and histone acetyltransferase tip60. *Science* 2001 ; 293 : 115-20.
29. Cao X, Sudhof TC. Dissection of amyloid-beta precursor protein-dependent transcriptional transactivation. *J Biol Chem* 2004 ; 279 : 24601-11.
30. Pardossi-Piquard R, Petit A, Kawarai T, Sunyach C, Alves da Costa C, Vincent B, *et al.* Presenilin-dependent transcriptional control of the Abeta-degrading enzyme neprilysin by intracellular domains of betaAPP and APLP. *Neuron* 2005 ; 46 : 541-54.
31. Sergeant N, David JP, Champain D, Ghestem A, Wattez A, Delacourte A. Progressive decrease of amyloid precursor protein carboxy terminal fragments (APP-CTFs), associated with tau pathology stages in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2002 ; 81 : 663-72.
32. Vingtdoux V, Hamdane M, Gompel M, Begard S, Drobecq H, Ghestem A, *et al.* Phosphorylation of amyloid precursor carboxy-terminal fragments enhances their processing by a gamma-secretase-dependent mechanism. *Neurobiol Dis* 2005 ; jun 2.
33. Sergeant N, Bombois S, Ghestem A, Drobecq H, Kostanjevecki V, Missiaen C, *et al.* Truncated beta-amyloid peptide species in pre-clinical Alzheimer's disease as new targets for the vaccination approach. *J Neurochem* 2003 ; 85 : 1581-91.
34. Gong Y, Chang L, Viola KL, Lacor PN, Lambert MP, Finch CE, *et al.* Alzheimer's disease-affected brain : presence of oligomeric A beta ligands (ADDLs) suggests a molecular basis for reversible memory loss. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 10417-22.

35. Casas C, Sergeant N, Itier JM, Blanchard V, Wirths O, van der Kolk N, *et al.* Massive CA1/2 neuronal loss with intraneuronal and N-terminal truncated Abeta42 accumulation in a novel Alzheimer transgenic model. *Am J Pathol* 2004 ; 165 : 1289-300.
36. Schenk D, Barbour R, Dunn W, Gordon G, Grajeda H, Guido T, *et al.* Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature* 1999 ; 400 : 173-7.
37. Schenk D. Hopes remain for an Alzheimer's vaccine. *Nature* 2004 ; 431 : 398.
38. Oddo S, Billings L, Kesslak JP, Cribbs DH, LaFerla FM. A beta immunotherapy leads to clearance of early, but not late, hyperphosphorylated tau aggregates via the proteasome. *Neuron* 2004 ; 43 : 321-32.
39. Bieler S, Soto C. Beta-sheet breakers for Alzheimer's disease therapy. *Curr Drug Targets* 2004 ; 5 : 553-8.
40. Selkoe DJ. Alzheimer disease : mechanistic understanding predicts novel therapies. *Ann Intern Med* 2004 ; 140 : 627-38.
41. Petit A, Pasini A, Alves Da Costa C, Ayril E, Hernandez JF, Dumanchin-Njock C, *et al.* JLK isocoumarin inhibitors : selective gamma-secretase inhibitors that do not interfere with notch pathway *in vitro* or *in vivo*. *J Neurosci Res* 2003 ; 74 : 370-7.
42. Finelli A, Kelkar A, Song HJ, Yang H, Konsolaki M. A model for studying Alzheimer's Abeta42-induced toxicity in *Drosophila melanogaster*. *Mol Cell Neurosci* 2004 ; 26 : 365-75.
43. Gutierrez-Zepeda A, Luo Y. Testing the amyloid toxicity hypothesis of Alzheimer's disease in transgenic *Caenorhabditis elegans* model. *Front Biosci* 2004 ; 9 : 3333-8.
44. Neve RL. A beta may be a planet, but APP is central. *Neurobiol Aging* 2001 ; 22 : 151-4.
45. Lee HG, Casadesus G, Zhu X, Joseph JA, Perry G, Smith MA. Perspectives on the amyloid-beta cascade hypothesis. *J Alzheimers Dis* 2004 ; 6 : 137-45.
46. Santacruz K, Lewis J, Spires T, Paulson J, Kotilinek L, Ingelsson M, *et al.* Tau suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function. *Science* 2005 ; 309 : 476-81.
47. Wittmann CW, Wszolek MF, Shulman JM, Salvaterra PM, Lewis J, Hutton M, *et al.* Tauopathy in *Drosophila* : neurodegeneration without neurofibrillary tangles. *Science* 2001 ; 293 : 711-4.
48. Shulman JM, Feany MB. Genetic modifiers of tauopathy in *Drosophila*. *Genetics* 2003 ; 165 : 1233-42.
49. Kraemer BC, Zhang B, Leverenz JB, Thomas JH, Trojanowski JQ, Schellenberg GD. Neurodegeneration and defective neurotransmission in a *Caenorhabditis elegans* model of tauopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 9980-5.
50. Delobel P, Flament S, Hamdane M, Delacourte A, Vilain JP, Buée L. Modelling Alzheimer-specific abnormal Tau phosphorylation independently of GSK3beta and PKA kinase activities. *FEBS Lett* 2002 ; 516 : 151-5.
51. Delobel P, Flament S, Hamdane M, Jakes R, Rousseau A, Delacourte A, *et al.* Functional characterization of FTDP-17 tau gene mutations through their effects on *Xenopus oocyte* maturation. *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 9199-205.
52. Noble W, Planel E, Zehr C, Olm V, Meyerson J, Suleman F, *et al.* Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by lithium correlates with reduced tauopathy and degeneration *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102 : 6990-5.
53. Hamdane M, Sambo AV, Delobel P, Begard S, Violleau A, Delacourte A, *et al.* Mitotic-like tau phosphorylation by p25-Cdk5 kinase complex. *J Biol Chem* 2003 ; 278 : 34026-34.
54. Hamdane M, Smet C, Sambo AV, Leroy A, Wieruszkeski JM, Delobel P, *et al.* Pin1 : a therapeutic target in Alzheimer neurodegeneration. *J Mol Neurosci* 2002 ; 19 : 275-87.
55. Engel T, Lucas JJ, Gomez-Ramos P, Moran MA, Avila J, Hernandez F. Coexpression of FTDP-17 tau and GSK-3beta in transgenic mice induce tau polymerization and neurodegeneration. *Neurobiol Aging* 2005 ; jul 26.