

Présentation des projets financés au titre de l'édition 2010 du
 Programme « Malz »

ACRONYME et titre du projet	Page
AD HOC	2
Thérapie cellulaire et maladie d'Alzheimer : étude du potentiel thérapeutique et des mécanismes d'action des cellules souches olfactives humaines	
APPNET	4
Netrin-1 comme un ligand du récepteur APP : mécanisme moléculaire et implication thérapeutique sur la maladie d'Alzheimer	
CoRehAlz	6
Mécanismes cellulaires, moléculaires et systémiques sous-tendant l'établissement d'une réserve cognitive dans un modèle murin de la maladie d'Alzheimer	
CRESCENDO.....	8
Reserve cognitive et Endophénotypes cliniques	
EPITAUDNA.....	10
Analyse du rôle de Tau nucléaire dans des neurones en condition physiologique ou de stress: influence d'oligomères Abeta	
MInAlpha7	12
Imagerie moléculaire des récepteurs nicotiques alpha7 dans la maladie d'Alzheimer	
SOMADOLF	14
Le déficit somatostatinergique dans le système olfactif : biomarqueur précoce de la maladie d'Alzheimer	
SynflAD	16
Déficits synaptiques et neuroinflammation dans un modèle murin de la maladie d'Alzheimer	
TAU-STRUCT	18
Characterization par Résonance Magnétique Nucléaire des changements conformationnelles par Phosphorylation de la protéine Tau, impliquée dans la maladie d'Alzheimers	

AD HOC

Thérapie cellulaire et maladie d'Alzheimer : étude du potentiel thérapeutique et des mécanismes d'action des cellules souches olfactives humaines

Résumé

Actuellement, 7 millions d'Européens souffrent de la maladie d'Alzheimer. La société américaine dépense annuellement plus de 100 milliards de dollars pour cette maladie et il est prévu que ce coût s'élève à 500 milliards de dollars en 2020. Outre la perte de mémoire, cette maladie se caractérise par une importante mort cellulaire. Au niveau mondial, nous sommes l'un des trois laboratoires à avoir mis au point une méthode de purification des cellules souches adultes de la cavité nasale humaine. Nous avons par ailleurs observé leur capacité à améliorer les symptômes locomoteurs dans un modèle rat de la maladie de Parkinson.

Les trois partenaires du projet viennent de démontrer que les cellules souches olfactives (CSO) de la cavité nasale humaine, greffées dans le liquide céphalo-rachidien de souris dont l'hippocampe avait été préalablement lésé, étaient capables de i) migrer spécifiquement vers les zones de lésion cérébrale, ii) s'y différencier en neurones, iii) restaurer la potentialisation à long terme (LTP) et iv) favoriser la récupération des capacités mnésiques des souris lésées. De manière intéressante, des résultats similaires ont été observés lorsque les CSOs étaient injectées dans le liquide céphalo-rachidien. Par ailleurs, nous avons observé que des CSOs injectées dans le sang migrent dans les hippocampes lésés. Nous avons maintenant pour objectif de confirmer ces résultats dans un modèle de souris transgénique pour la maladie d'Alzheimer. De plus, en vue de nous rapprocher du lit des patients, nous réaliserons des greffes encore moins invasives en transplantant les cellules souches en intraveineux.

Le projet AD HOC implique trois équipes académiques et une société de biotechnologie, VECT-HORUS, experte dans l'étude du passage de la barrière hémato-encéphalique, qui ont déjà travaillé et publié ensemble. A l'aide d'un modèle de souris transgénique (5xFAD) qui présente à la fois des pertes cellulaires et des déficits mnésiques, nous allons comparer deux modes de transplantation cellulaire peu invasifs, à savoir en intra-thécal et en intra-veineux. De manière plus spécifique, nos objectifs sont de :

o évaluer le bénéfice thérapeutique d'une greffe intraveineuse de CSOs

o identifier les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la migration des CSOs à travers la barrière hémato-encéphalique et au sein du parenchyme cérébral.
o évaluer le rôle des peptides beta amyloïde sur le métabolisme des CSOs.

Résultats attendus

Toutes les techniques envisagées sont maîtrisées par le consortium. Nous espérons pouvoir:

- confirmer les données précédentes sur le potentiel thérapeutique des CSOs, notamment en rétablissant les capacités mnésiques d'animaux lésés. Si les CSOs traversent bien la barrière hémato-encéphalique et migrent à travers le parenchyme nerveux, nous pourrions alors envisager des greffes en intraveineuse;
- améliorer nos connaissances dans le domaine des mécanismes moléculaires qui participent i) au homing des cellules souches vers les zones lésées du cerveau; ii) à la migration dans le parenchyme nerveux et iii) à la différenciation cellulaire.
- Identifier les voies de signalisation impliquées dans la différenciation des CSOs lorsqu'elles sont mises en présence de peptides beta amyloïde.

En cas de succès, cette nouvelle étude sur les CSOs, qui sont prélevables chez l'homme de manière peu invasive et n'induisent pas de tumeurs, ouvrirait la voie à des essais cliniques basés sur des transplantations autologues, comme nous l'avons fait avec un autre type cellulaire chez des patients paraplégiques.

Partenaires François S, ROMAN
Michel VIGNES
Yves MOLINO

Coordinateur François FERON

Aide de l'ANR 580 000€

Début et durée Mars 2011 - 36 mois

Référence ANR-10-MALZ-005

Label pôle EuroBioMed (ex ORPHEME)

APPNET

Netrin-1 comme un ligand du récepteur APP : mécanisme moléculaire et implication thérapeutique sur la maladie d'Alzheimer

Résumé

Malgré les recherches intensives sur la maladie d'Alzheimer (MA) depuis sa description en 1907- incluant le séquençage du peptide A β en 1984 et le clonage de son précurseur APP (β -amyloid precursor protein) en 1987- très peu est connu concernant les ligands potentiels de APP et en quoi ces ligands putatifs affectent la signalisation en aval de APP. Durant le précédent contrat ANR «neuroscience », le laboratoire de P. Mehlen a identifié netrin-1, un facteur de guidage et trophique, comme un ligand de APP. Ils ont montré que cette interaction modifie la signalisation de APP (incluant une augmentation de l'activité transcriptionnelle du domaine intracellulaire de APP) et que APP est requis pour la fonction de netrin-1 pendant la migration des neurones corticaux au cours du développement. De manière intéressante, la netrin-1 inhibe à la fois in vitro et in vivo la genèse du peptide A β ; qui est clé pour la MA (brevet CNRS/The Buck Institute for Age Research, n° 00532-050). L'identification de la netrin-1 comme un potentiel ligand de APP conduit à poser de nombreuses questions et en particulier quel est le rôle de la transduction du signal APP/netrin-1 pendant le développement du système nerveux et dans la mise en place de la pathologie. Cependant, cette observation pourrait aussi avoir une importance clé en terme de développement thérapeutique. En effet, il pourrait être d'un grand intérêt de développer un composé capable de mimer la netrin-1 pour définir un candidat médicament dans la MA. Dans ce projet, deux partenaires complémentaires (biologie cellulaire et modèles animaux d'une part et structure des protéines d'autre part) proposent d'examiner des questions cruciales concernant l'importance de la netrin-1 dans la fonction d'APP et d'emmener cette observation vers le développement de candidat médicament. D'abord, concernant la partie de recherche fondamentale, nous souhaitons savoir si APP est un récepteur à dépendance, c'est à dire si la fonction pro-apoptotique de APP déjà décrite et dont nous faisons l'hypothèse qu'elle participe avec Ab à la progression de la MA, est bloquée par la présence de netrin-1. Dans un second temps, nous tenterons de montrer que netrin-1 délivrée in vivo par injection intra-crânienne dans un modèle de MA chez la souris n'a pas juste un effet inhibiteur sur la production de A β comme nous l'avons déjà montré mais aussi un effet sur le phénotype de la MA (perte synaptique, perte cognitif, etc...). Enfin, dans un troisième temps nous tenterons de déterminer la structure du complexe APP/netrin-

1 afin de pouvoir définir, grâce à une combinaison de crible/modèle in silico et d'un crible de petite molécule, des composés (leads) qui pourraient soit mimer la netrin-1 soit augmenter l'affinité de netrin-1 pour APP et qui pourraient par conséquent apporter une nouvelle piste thérapeutique.

Le projet présenté à cet appel d'offre ANR MALZ permettra tout d'abord d'apporter d'avantage de connaissance fondamentale sur l'importance de netrin-1 dans la fonction de APP. Il devrait permettre (i) de décrire la structure du complexe APP/netrin-1, (ii) de préciser si netrin-1 n'affecte pas seulement la production de Ab mais aussi la formation d'un autre fragment toxique C31 issu du clivage intracellulaire par les caspases et (iii) de montrer que en « preuve de concept » l'injection intra-crânienne de netrin-1 dans un modèle murin de MA est associée à une réduction du phénotype de la maladie. Cette connaissance sera alors utilisée pour prédire, synthétiser ou caractériser un composé qui pourrait inhiber/prévenir la progression de la MA.

Partenaires Jean-Luc Ferrer

Coordinateur Patrick MEHLEN

Aide de l'ANR 680 000€

Début et durée Mars 2011 - xx mois

Référence ANR-10-MALZ-008

Label pôle

CoRehAlz

Mécanismes cellulaires, moléculaires et systémiques sous-tendant l'établissement d'une réserve cognitive dans un modèle murin de la maladie d'Alzheimer

Résumé

L'hypothèse de la réserve cognitive suggère que les personnes ayant une activité mentale soutenue au cours de leur vie, développent des connections neuronales plus robustes et plus élaborées, pouvant créer des réseaux neuronaux alternatifs permettant de supporter un plus grand nombre de dommages pathologiques avant de succomber à la maladie. Nos données préliminaires montrent nettement les effets bénéfiques de l'exposition à un milieu enrichi (EE) utilisée en tant que thérapie de réhabilitation fonctionnelle chez les rongeurs. De plus elle s'accompagne d'une diminution de l'amyloïdogénèse. Sur la base de ces résultats, le but de ce projet de 3.5 ans est de disséquer les mécanismes qui conduisent à l'apparition des déficits mnésiques associées avec la maladie d'Alzheimer (MA). Nous évaluerons par quels processus l'EE permet de retarder l'apparition (1) des troubles cognitifs associés à la maladie et (2) de marqueurs neuropathologiques de la maladie tels que les dépôts amyloïdes. Notre hypothèse stipule que les effets bénéfiques de l'EE reposeraient sur des modifications durables et stables des réseaux cérébraux impliqués dans les fonctions cognitives. L'originalité de notre approche repose sur le fait que l'exposition à l'EE a lieu précocement au cours de la vie et a une durée restreinte, et permet néanmoins l'établissement d'une réserve cognitive cérébrale robuste dans le temps. Nous utiliserons les souris transgéniques Tg2576 qui miment certains aspects de la MA et qui ont l'avantage de présenter un phénotype lié à l'âge, pour étudier les mécanismes cellulaires et moléculaires sous-jacents à l'établissement de cette réserve cognitive qui confère au cerveau une certaine résilience face aux effets délétères de la maladie. Les expériences que nous proposons, organisées autour de 8 objectifs interdépendants, reposent sur la complémentarité et l'expertise des 3 partenaires impliqués. La tâche 1 porte sur la production et le génotypage des souris transgéniques Tg2576. La tâche 2 caractérisera la cinétique des effets de l'EE sur les fonctions mnésiques chez les souris modèles de la MA. Nous cartographierons ensuite la dynamique des réorganisations des réseaux hippocampo-corticaux au cours des processus de mémoire spatiale chez des souris MA âgées exposées précocement au milieu enrichi (tâche 3). La tâche 4 repose sur les enregistrements électrophysiologiques afin d'examiner l'influence de l'EE sur la plasticité synaptique chez ces souris MA. La caractérisation des effets de l'EE sur la

réorganisation et la réactivité du réseau vasculaire chez les souris Tg2576 sera étudiée dans la tâche 5. Enfin, les tâches 6 et 7 exploreront l'amyloïdogenèse dans les compartiments neuronaux et vasculaires chez les souris MA ainsi que la modulation la neurogenèse hippocampique et des processus épigénétiques au sein des régions extrahippocampiques du cerveau chez les souris transgéniques après l'EE. La tâche 8 est dévolue à la dissémination des résultats obtenus par le consortium, sous forme de publications dans des revues internationales.

La force de notre projet repose sur le fait qu'il est basé sur une approche intégrée combinant l'utilisation d'un modèle animal de la MA bien caractérisé (partenaires 1 et 3), d'outils d'imagerie cellulaire de gènes dépendants de l'activité neuronale (partenaires 1 et 2) et de marqueurs de la progression de la maladie (partenaires 1, 2 et 3), de l'électrophysiologie (in vivo LTP) (partenaire 1), de paradigmes comportementaux pour évaluer les fonctions mnésiques (partenaires 1 et 2) et de l'étude confocale de l'activité des vaisseaux sanguins cérébraux (partenaire 3). Le travail proposé dans ce projet devrait ouvrir de nouvelles perspectives concernant des approches cliniques dans le domaine des maladies neurodégénératives où l'utilisation de paradigmes de stimulation de la réserve cognitive, seule ou combinée à l'utilisation de traitements pharmacologiques, apparaît comme une stratégie pertinente.

Partenaires Bruno BONTEMPI
Nathalie MACREZ

Coordinateur Claire RAMPON

Aide de l'ANR 580 000€

Début et durée Janvier 2011 - 43 mois

Référence ANR-10-MALZ-001

Label pôle Prod'Innov

Résumé

Le concept de réserve cognitive (RC) a été développé pour comprendre et analyser les différences observées entre l'existence de lésions liées au vieillissement normal ou pathologique (maladie d'Alzheimer) et la variabilité de leur expression clinique. Toutefois, les bases neurales sous-jacentes de la CR restent mal connues.

La RC pourrait atténuer les effets des modifications neurales liées au vieillissement via l'expression différentielle de réseaux neuronaux, tels qu'ils peuvent être identifiés en imagerie fonctionnelle (fMRI). C'est sur ces bases scientifiques que le projet CRESCENDO (Cognitive REServe and Clinical ENDO phenotype) a été élaboré. L'objectif du projet est d'identifier les déterminants de l'hétérogénéité du vieillissement cognitif en évaluant le rôle de la RC dans ces processus de compensation avec une approche combinant biomarqueurs d'imagerie cérébrale, évaluation neuropsychologique, prise en compte des proxies de la réserve cognitive et des biomarqueurs plasmatiques (charge amyloïde et profil lipidique)

Le projet CRESCENDO est une extension dans le temps de la cohorte épidémiologique ESPRIT, initiée en 1999 et qui a pour objectif l'étude des facteurs de risque cliniques, biologiques, génétiques et environnementaux des troubles cognitifs et psychologiques liés au vieillissement (subventionnée par l'ANR LongVie). Le projet CRESCENDO prévoit un nouveau suivi à 12 ans, incluant les 600 plus jeunes participants de la cohorte ESPRIT.

Le premier objectif est l'étude des réseaux neuronaux mis en œuvre dans la RC en réalisant une tâche d'activation -les lettres de Sternberg- en condition IRM, qui est particulièrement adaptée à l'identification de patterns d'activation en fonction de l'expression des niveaux de RC du sujet âgé. Cet objectif permettra l'identification de biomarqueurs d'imagerie fonctionnelle de la RC. De plus, pour examiner si la RC pourrait expliquer les discordances observées entre les déterminants du vieillissement cérébral, les marqueurs du vieillissement cérébral pathologique (marqueurs d'imagerie structurelle) et leur expression clinique (déclin cognitif), nous prévoyons un examen détaillé d'imagerie structurelle incluant des mesures d'atrophies cérébrales régionales ou globales, de lésions de la substance blanche, de micro-saignements...

Le second objectif est d'étudier l'impact de la charge amyloïde plasmatique sur la relation RC-déclin cognitif, et de déterminer si l'évolution du profil lipidique contribue à modifier la RC en prenant en compte différents facteurs

comme les facteurs génétiques (APOE). La constitution d'une bio-banque à l'inclusion et au suivi à 10 ans va nous permettre de répondre à cet objectif par une approche dynamique.

Ce projet va permettre de mieux comprendre les mécanismes de résilience du vieillissement cérébral pathologique. En l'absence de stratégie thérapeutique définie, l'identification des facteurs permettant de renforcer la RC pourrait constituer une piste d'intervention efficace.

Ce projet bénéficie de l'expertise dans le champ de la RC de nos collaborateurs de la Columbia University NYC, USA (- Y.Stern, R.Mayeux A.Brickman- Cognitive Neuroscience Division, Sergievsky Center et Taub Institute), qui nous donne l'opportunité unique d'aborder le concept de RC avec une approche originale tout en permettant la comparaison des résultats entre deux cohortes menées en population générale : WHICAP et ESPRIT.

Ce projet sera conduit tant par des partenaires académiques qu'industriels : Inserm U888 unité de recherche spécialisée dans la recherche épidémiologique et clinique du vieillissement cérébral ; Intrasense qui aborde l'imagerie médicale de façon innovante, et SysDiag groupe de recherche mixte académique (CNRS) et industriel (BIORAD) expert dans le champ des marqueurs biologiques. Chaque partenaire bénéficiera d'un accès privilégié et local aussi bien d'équipements IRM de Recherche au sein du CHU que de plateformes de supercalculateurs.

Partenaires Stephane CEMOUNY
JEANNETTE FAREH

Coordinateur Karen RITCHIE

Aide de l'ANR 655 000€

Début et durée Mars 2011 - xx mois

Référence ANR-10-MALZ-007

Label pôle EuroBioMed (ex ORPHEME)

EPITAUDNA

Analyse du rôle de Tau nucléaire dans des neurones en condition physiologique ou de stress: influence d'oligomères Abeta

Résumé

La maladie d'Alzheimer est la seule maladie neurodegenerative dans laquelle les pathologies Tau et Abeta sont associées. Déchiffrer les mécanismes impliqués dans la relation entre les deux pathologies demeure un enjeu essentiel pour comprendre l'étiopathologie de la maladie d'Alzheimer. Tau est principalement connue en tant que protéine associée aux microtubules. Une étude récente réalisée en collaboration avec nos deux équipes, a mise en évidence une nouvelle fonction de Tau en temps que partenaire clé dans la réponse précoce du neurone à un stress. Nous avons montré qu'un stress oxydant, ou un stress par la chaleur induisait une accumulation réversible de Tau déphosphorylée dans les noyaux des neurones. De plus nous avons démontré que la protéine Tau déphosphorylée était capable de se lier à l'ADN et de préserver l'intégrité de l'ADN en condition de stress. A l'inverse, un stress par le froid augmentait la phosphorylation de Tau, prévenait l'accumulation de Tau nucléaire et induisait des dommages à l'ADN. Il a été montré que la toxicité Abeta était médiée par Tau mais les mécanismes impliqués sont encore mal connus. L'hyperphosphorylation de Tau induite par Abeta pourrait prévenir l'accumulation de Tau dans le noyau et perturber son rôle protecteur de l'ADN en condition de stress. Etant donné la capacité de Tau à former des complexes protéine-ADN, Tau nucléaire pourrait avoir un effet sur l'expression génique dans les neurones en se liant directement à des séquences régulatrices de l'ADN et/ou en régulant l'épigénétique. Par conséquent la prévention de l'accumulation de Tau nucléaire induite par les oligomères Abeta pourrait également perturber l'expression des gènes régulés par Tau en condition de stress. Le double enjeu de ce projet est d'approfondir la connaissance du rôle de Tau nucléaire concernant la regulation de l'expression génique et les modifications épigénétiques dans des neurones différenciés en condition physiologique ou de stress, et d'analyser l'effet d'oligomères Abeta dans ces mécanismes. Les buts sont les suivants: 1) Analyser la capacité de Tau à se lier à l'ADN neuronal. A l'aide de CHIP assays, nous nous focaliserons sur la capacité de Tau à interagir avec des loci spécifiques comme les séquences d'ADN présentes dans les compartiments nucléaires où Tau a été décrite dans des cellules de neuroblastomes et non neuronales. Par technique de ChIP-on-chip, nous analyserons la capacité de Tau à interagir avec l'ADN global, particulièrement pour des régions promotrices..

Enfin, nous essaierons de déterminer les régions de la protéine Tau nécessaires à la formation de complexes Tau-ADN, à l'aide de vecteurs adénoviraux codant pour des formes sauvages ou mutées de Tau. 2) Analyser la capacité de Tau à réguler l'expression génique. Nous analyserons la capacité de Tau à réguler l'expression génique relative à certains loci (séquences centromériques et péri-centromériques et gènes codant pour l'ADNr) et nous analyserons l'effet global de Tau sur l'expression d'ARNm et d'ARN non codant, comme les miRNAs, par microarrays. 3) Étudier la capacité de Tau à moduler des mécanismes épigénétiques (modifications des histones). Nous nous focaliserons sur le taux et la distribution de diverses modifications des histones associées à l'activation ou la répression de la transcription (acétylation, méthylation). Nous analyserons également l'expression et la distribution de facteurs et co-facteurs qui régulent ces modifications dans les neurones. 4) Étudier les effets d'oligomères Abeta sur l'accumulation nucléaire de Tau induite par un stress, la formation de complexes Tau-ADN et la fonction nucléaire de Tau. Nous testerons si l'hyperphosphorylation de Tau induite par des oligomères Abeta perturbe la capacité de Tau à s'accumuler dans les noyaux des neurones en condition de stress. La capacité de Tau à se lier à l'ADN, à réguler l'expression génique et à moduler des mécanismes épigénétiques sera également étudiée.

Partenaires Eliette Bonnefoy

Coordinateur Marie-Christine Galas

Aide de l'ANR 357 635€

Début et durée Janvier 2011 - 36 mois

Référence ANR-10-MALZ-006

Label pôle

MInAlpha7

Imagerie moléculaire des récepteurs nicotiques alpha7 dans la maladie d'Alzheimer

Résumé

La maladie d'Alzheimer (MA) est la plus fréquente des démences. Avec 860000 personnes affectées en France, elle est un problème de santé publique majeur. Le diagnostic de la MA est actuellement basé sur des critères cliniques. Le diagnostic de certitude repose sur la mise en évidence post-mortem de lésions cérébrales caractéristiques : dépôts de protéines β -amyloïdes, dégénérescence neurofibrillaire, pertes neuronales. L'exploration de ces lésions in vivo par imagerie moléculaire TEP (tomographie par émission de positons) doit permettre de disposer d'un outil de diagnostic sensible et spécifique. Cette méthode nécessite de disposer de traceurs, ou radiopharmaceutiques, spécifiques de la cible moléculaire à explorer (protéine anormale, récepteur).

Les dépôts de protéines anormales (plaques β -amyloïdes, protéines tau hyperphosphorylées) sont des cibles de choix à explorer dans le cadre de la MA. Des radiopharmaceutiques permettant de les localiser et de les quantifier in vivo sont actuellement en cours d'utilisation. Des résultats récents montrent que la mesure de la densité en plaques A β par TEP peut être corrélée avec le stade d'avancement de la MA, d'autres montrent que cette densité ne permet pas de prédire l'état cognitif des patients.

Une autre approche pour disposer d'un outil diagnostique de la MA consiste à mesurer des variations de marqueurs biologiques associés aux dysfonctionnements de la neurotransmission puis au processus de mort neuronale. Les neurones cholinergiques sont largement impliqués dans les processus affectés au cours de la MA et sont la cible privilégiée des traitements actuels. L'altération de la neurotransmission cholinergique a été confirmée en utilisant de la nicotine marquée au carbone-11 montrant une corrélation entre la densité en récepteurs cholinergiques et le déficit d'attention. L'exploration fonctionnelle de la neurotransmission cholinergique apparaît donc comme une approche prometteuse pour le diagnostic précoce et sélectif de la MA. Les récepteurs nicotiques alpha7 (Ralpha7) jouent des rôles majeurs au cours de la MA: modification de leur densité, formation de complexes Ralpha7-protéines β -amyloïdes toxiques pour les neurones, renforcement de la neuroinflammation qui aggrave les lésions neuronales. A ce jour, aucun traceur des Ralpha7 utilisable en TEP n'est disponible.

L'objectif de ce projet est de développer un radiopharmaceutique marqué au 18F pour le diagnostic et le

suivi thérapeutique de la MA par imagerie moléculaire TEP en ciblant les récepteurs nicotiniques alpha7.

Les objectifs spécifiques sont: 1) de concevoir et synthétiser de nouveaux composés ciblant les Ralpha7, 2) d'évaluer in vitro leurs caractéristiques pharmacologiques (affinité, sélectivité), 3) de réaliser le radiomarquage au 18F des composés prometteurs, 4) d'évaluer ces nouveaux traceurs chez l'animal.

Ce projet s'appuie sur des compétences reconnues de 2 partenaires dans les domaines :

1) de la chimie organique : l'ICOA (Orléans) est spécialisé dans la synthèse organique de molécules à visée thérapeutique, et possède donc tout le savoir faire permettant de générer un large éventail de molécules,

2) de la radiochimie, pharmacologie in vitro, in vivo, imagerie moléculaire TEMP/TEP : l'équipe 3 de l'unité Inserm U930 (Tours) dispose du savoir faire nécessaire au développement de radiopharmaceutiques pour une utilisation en préclinique (modèles animaux) et en clinique.

Des résultats préliminaires ont déjà été obtenus par ce consortium. En nous appuyant sur des données de la littérature décrivant des composés ayant une affinité pour les Ralpha7, nous avons obtenu de nouveaux composés dont certains appartenant à 2 familles chimiques présentent des affinités de l'ordre du nanomolaire pour les Ralpha7. Ces résultats nous conduisent à poursuivre le développement de nouveaux composés fluorés qui, en fonction de leurs propriétés pharmacologiques, seront marqués au 18F pour une validation chez l'animal.

Partenaires Sylvain ROUTIER

Coordinateur Sylvie CHALON

Aide de l'ANR 354 662€

Début et durée Février 2011 - 36 mois

Référence ANR-10-MALZ-004

Label pôle

SOMADOLF

Le déficit somatostatinergique dans le système olfactif : biomarqueur précoce de la maladie d'Alzheimer

Résumé

La somatostatine (SRIF) est un neuropeptide exprimé très largement dans le cerveau où il est impliqué dans de nombreuses fonctions selon sa localisation (neuroendocrinologie pour les systèmes hypothalamiques, fonctions cognitives et sensorielles pour les interneurons télencéphaliques). Les taux de somatostatine dans les interneurons corticaux et hippocampiques sont diminués chez les patients atteints par la maladie d'Alzheimer (AD), en relation avec la gravité de l'atteinte cognitive. Récemment un polymorphisme de nucléotide simple (SNP rs4988514) spécifique des primates et présent dans la partie 3'UTR du gène codant pour la somatostatine (SST) a été associé, dans deux études sur des populations différentes, à un risque plus important de développer la maladie chez les sujets porteurs de l'allèle epsilon 4 du gène de l'apolipoprotéine E, suggérant que le génotype SST puisse modifier l'expression du peptide et induire des phénotypes intermédiaires liés à l'AD, tels que l'hyperphosphorylation de Tau.

Un déficit olfactif est un des premiers symptômes observés chez les patients AD. Ce déficit est parfois décrit avant les atteintes cognitives, et il est associé à la présence de dégénérescences neurofibrillaires dans les régions olfactives. Comme les déficits cognitifs sont clairement associés à l'étendue de la pathologie Tau dans les structures hippocampiques et corticales, il est probable que le déficit olfactif résulte de la neurodégénérescence précoce dans les structures télencéphaliques qui soutiennent les processus olfactifs. De manière surprenante, alors que la pathologie Tau est clairement présente dans le bulbe olfactif des patients AD, son implication précise dans le déficit fonctionnel n'a pas véritablement été démontrée jusqu'à présent. Comme la somatostatine a récemment été impliquée dans la modulation des signaux olfactifs, nous faisons l'hypothèse que les interneurons et les récepteurs somatostatinergergiques dans le système olfactif sont touchés précocement au cours de la maladie d'Alzheimer et que cette atteinte est liée au déclin des fonctions olfactives.

Des approches transgéniques in vitro seront utilisées pour évaluer l'impact fonctionnel du polymorphisme génique SST lié à l'AD sur l'expression de la somatostatine. Des lignées de souris transgéniques exprimant un élément régulateur minimal du gène hSST seront développées et

caractérisées fonctionnellement en ce qui concerne leurs phénotypes olfactifs et cognitifs, afin d'évaluer l'intérêt du SNP en tant que facteur de risque précoce de l'AD. Parallèlement, la vulnérabilité des systèmes SRIF olfactifs aux atteintes du cytosquelette caractéristiques de l'AD sera évaluée sur pièces neuroanatomiques caractérisées cliniquement, du sujet contrôle au patient confirmé, en relation avec le polymorphisme génique SST lié à l'AD. Enfin, un modèle expérimental relevant pour l'AD, la souris ThyTau22, qui développe progressivement une pathologie Tau sera utilisée pour explorer le lien fonctionnel entre les niveaux de SRIF dans le système olfactif, les états d'hyperphosphorylation de Tau et les performances olfactives des animaux, afin de conforter ce nouveau modèle animal reflétant une pathophysiologie Tau et neuropeptidergique analogue à celle observée aux stades précoces de la maladie d'Alzheimer.

Partenaires Michel SIMONNEAU
LUC BUEE

Coordinateur Jacques EPELBAUM

Aide de l'ANR 680 000€

Début et durée Janvier 2011 - 36 mois

Référence ANR-10-MALZ-003

Label pôle

Résumé

Ce projet porte sur l'étude des liens entre le dysfonctionnement synaptique, l'un des signes précoces de la maladie d'Alzheimer (MA), et la neuroinflammation qui contribue à son déclenchement et à sa chronicité. Le peptide β -amyloïde (A β), qui s'accumule dans le cerveau des patients atteints de MA, altère la transmission synaptique glutamatergique et déclenche une neuroinflammation. Ce projet se propose de mieux comprendre les mécanismes et les causes de l'altération de la transmission synaptique dans un modèle murin de MA, les souris APP/PS1, qui présentent des déficits cognitifs précoces. D'autre part, ce projet a pour objectif de déterminer les relations causales entre neuroinflammation et altération de la transmission synaptique dans ce modèle de MA.

Nous proposons de caractériser les déficits structuraux et fonctionnels de la transmission synaptique glutamatergique dans les cellules pyramidales de CA3, avec une attention particulière pour les synapses des fibres moussues, dans un modèle de MA, la lignée de souris doublement transgénique APP/PS1. Au delà du choix de CA3 pour cette étude, l'originalité de notre approche par rapport à tous les travaux précédents tient à notre capacité d'analyser en détail les déficits synaptiques, ex vivo, à différents stades d'évolution de la "pathologie" chez l'animal, en examinant des paramètres qui ont été peu ou pas étudiés: plasticité présynaptiques, déséquilibres d'expression des récepteurs du glutamate, plasticité des réponses synaptiques NMDA. D'autre part, à travers cette étude, nous chercherons à comprendre quel est l'impact des mécanismes neuroinflammatoires sur l'acquisition de déficits synaptiques. Finalement, nous ferons des tentatives pour réduire les déficits synaptiques chez l'animal par l'administration de nouvelles molécules anti-inflammatoires et d'un traitement utilisé en clinique, la mémantine dont le mécanisme d'action dans le cadre de la MA reste mal connu.

Notre laboratoire n'a pas précédemment travaillé sur des projets liés à la maladie d'Alzheimer. Cependant, il semble qu'il y a en France un faible investissement des électrophysiologistes dans cette problématique, et "l'hypothèse synaptique" des déficits cognitifs précoces de la MA a reçu très peu d'attention dans notre pays. Nous souhaitons vivement mettre durablement notre expertise de physiologiste synaptique et de biologiste cellulaire au service de la recherche dans le domaine de la maladie d'Alzheimer.

Ce projet devrait nous permettre d'établir les bases d'une étude des déficits synaptiques au cours de l'âge dans un

modèle murin de MA, qui pourront être corrélés aux déficits cognitifs. Ce travail permettra de mieux comprendre comment l'accumulation de peptide β -amyloïde chez l'animal affecte les différents paramètres de la transmission synaptique. D'autre part, ce travail établira des ponts entre déficits synaptiques et neuroinflammation, deux éléments clefs de la pathologie.

Partenaires

Coordinateur Christophe MULLE

Aide de l'ANR 297 000€

Début et durée Mois 20xx - xx mois

Référence ANR-10-MALZ-009

Label pôle

TAU-STRUCT

Characterization par Résonance Magnétique Nucléaire des changements conformationnelles par Phosphorylation de la protéine Tau, impliquée dans la maladie d'Alzheimers

Résumé

La protéine Tau, une protéine qui contrôle la dynamique des microtubules (MT) dans sa forme physiologique, joue aussi un rôle central dans la progression de la maladie d'Alzheimer. Dans la maladie d'Alzheimer, Tau devient hyperphosphorylée, perd sa capacité à se lier aux microtubules, et s'aggrave en plaques. La base moléculaire de cette transition reste largement inconnue, et l'origine du changement conformationnel est d'autant plus intrigant car dans sa forme physiologique et soluble la protéine Tau est intrinsèquement désordonnée.

Au cours de la dernière décennie, il est devenu de plus en plus clair qu'une fraction importante (jusqu'à 40%) des protéines codées par le génome humain sont intrinsèquement désordonnées ou contiennent des régions désordonnées de longueur importante (> 50 aa). Ces protéines intrinsèquement désordonnées (PIDs) sont fonctionnelles en dépit d'une absence de structure stable. Il est essentiel d'élaborer une nouvelle méthodologie pour comprendre la relation entre la séquence primaire d'une PID et sa fonction et malfonction. Les transitions ordre-désordre accompagnant les interactions de PIDs avec leurs partenaires physiologiques, et les transitions entre formes solubles, saines, et formes agrégées, pathologiques, de certaines de ces protéines constituent des exemples particulièrement intrigants dont les origines moléculaires restent peu ou pas comprises en termes de biophysique structurale. Le fait que les PIDs soient fréquemment associées à des maladies humaines, y compris les maladies neurodégénératives, ne fait que renforcer l'importance de ces questions.

Ici, nous proposons d'utiliser la résonance magnétique nucléaire, en combinaison avec la diffusion aux petits angles des rayons X (SAXS) pour développer une description moléculaire du comportement conformationnel de la protéine Tau, et nous utiliserons ensuite ces méthodes comme outils de base pour suivre le passage de l'état physiologique à l'état pathologique de la protéine Tau.

Notre approche est d'étudier l'effet de la phosphorylation de la protéine Tau. Dans sa forme agrégée Tau est hyperphosphorylée, et l'inhibition des kinases responsables pour la phosphorylation de Tau est considérée comme une des stratégies les plus rationnelles pour trouver de nouveaux médicaments visant à inhiber la neurodégénérescence. Pour

comprendre l'effet de la phosphorylation sur le comportement structurale de la protéine, commençant avec la première description à une résolution atomique de la protéine à l'état natif, nous allons étudier les changements conformationnelles induites par la phosphorylation progressive de la protéine.

Le projet fournira un aperçu sans précédent des changements de conformation qui sont associés à des formes de Tau pathogènes et, plus généralement, établira des méthodes pour décrire les protéines désordonnées et les changements conformationnelles qui accompagnent le développement des maladies conformationnelles.

Partenaires

Coordinateur Martin BLACKLEDGE

Aide de l'ANR 219 377€

Début et durée Mois 20xx - xx mois

Référence ANR-10-MALZ-002

Label pôle