



RÉPUBLIQUE
FRANÇAISE

*Liberté
Égalité
Fraternité*

anr ©
agence nationale
de la recherche



LES CAHIERS DE L'ANR N° 13 - DÉCEMBRE 2020

LES MALADIES NEURODÉGÉNÉRATIVES : LE DÉFI DES NEUROSCIENCES

Projets financés sur la période 2010–2018

LES « CAHIERS DE L'ANR »

traitent de questions thématiques transverses aux différents appels à projets financés par l'ANR. Cette collection, qui existe depuis 2009, met en perspective les recherches, les innovations et les avancées technologiques en cours dans un domaine spécifique. Sans prétention d'exhaustivité, son objectif est de revenir sur les enjeux sociétaux et les défis d'avenir identifiés par les communautés de recherche mobilisées sur une thématique.

Le présent cahier concerne les maladies neurodégénératives. Il est fait référence aux différents projets de recherche financés par l'ANR. Une présentation synthétique des projets est proposée. L'importance et la diversité des projets de recherche et des équipes scientifiques sont ainsi mises en lumière. Chaque cahier, qui permet d'approfondir la connaissance scientifique du domaine choisi s'adresse aux chercheurs, aux décideurs politiques mais aussi au grand public. Ce cahier est le résultat d'une large collaboration, associant des scientifiques issus d'horizons disciplinaires variés, soit comme auteur soit comme relecteur. L'ANR y a apporté son soutien en assurant le pilotage du projet, la production des données, les analyses descriptives et représentations graphiques et tabulaires. Tous les contributeurs sont remerciés.

Ce Cahier n°13 a été conçu par Catherine Heurteaux, Morgane Bourdonnais, Sheyla Mejia Gervacio, Hayet Pigeon et Kiri Couchman en collaboration avec la Direction de l'Information et de la Communication. Nous remercions l'ensemble des contributeurs et des relecteurs, et plus particulièrement Dominique Dunon-Bluteau, Luc Buée, Étienne Hirsch, Bernard Poulain, Geneviève Rougon, Christianne Branlant et l'ensemble des coordinateurs de projets.

La collection des Cahiers de l'ANR comporte treize numéros, tous disponibles sur le site de l'ANR : www.anr.fr

Présentation du cahier

La croissance démographique mondiale s'est accompagnée de l'augmentation progressive du nombre de personnes âgées. Dans les pays développés, l'espérance de vie dépasse désormais nettement les 80 ans. Même si, chez les personnes les plus âgées, les principales causes de décès restent les maladies cardiovasculaires et le cancer, les maladies neurodégénératives (MND), dont les maladies d'Alzheimer et de Parkinson, la sclérose latérale amyotrophique et d'autres troubles neurodégénératifs connus pour être fortement liés à l'âge entrent dans le classement des dix maladies dont l'issue est la mort, qui sont incurables et dont la progression ne peut pas être ralentie de manière significative. Ces cinquante dernières années ont été marquées par la percée des MND.

Le présent cahier se propose de faire un état des lieux de la recherche financée par l'ANR concernant les MND entre 2010 et 2018 et d'en envisager les nouvelles perspectives. Ce cahier est basé sur l'étude « Bilan Maladies Neurodégénératives 2010-2018 - ANR » ayant identifié 278 projets dédiés aux MND financés par l'ANR depuis 2010. Ces projets répondant à différents appels à projets de l'ANR : appels thématiques et non thématiques d'avant 2014 suivis par les appels à projets génériques (AAPG) après 2014, des appels spécifiques (type MALZ : « Maladie d'Alzheimer et Maladies apparentées ») ou internationaux ont été sélectionnés au sein de comités gérés par l'ANR ou par des consortia internationaux (ERANET, JPND dont le président, Philippe Amouyel, est français). Cinquante-six de ces projets ont fait l'objet d'une fiche présentée en annexe à la fin du cahier, synthétisant les travaux réalisés des différentes équipes de recherche.

La troisième partie du cahier détaille la contribution des projets financés par l'ANR entre 2010 et 2018, et l'impact des financements ANR comme élément moteur de la recherche sur les MND.

La dernière partie résume les principales conclusions de cette analyse et les perspectives en termes de recherche et d'innovation.

Avant-propos

Pour les femmes et les hommes du XXI^e siècle les risques de développer une MND deviennent considérables d'après les prévisions actuelles. Dans ce contexte, les MND sont devenues un problème de Santé Publique majeur et sont l'objet de programmes de recherche ambitieux pour comprendre leur développement et mettre au point des thérapies. Ces maladies, invalidantes et aujourd'hui incurables, sont la conséquence de la dégénérescence progressive et de la mort de cellules nerveuses à l'origine de problèmes liés au mouvement (appelées ataxies) ou au fonctionnement mental (appelées démences).

Les démences sont responsables du fardeau le plus lourd. Elles touchent aujourd'hui 47 à 50 millions de personnes dans le monde, et la maladie d'Alzheimer représente 60 à 70 % des cas. En France, environ 900 000 personnes sont touchées et 200 000 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année ; 20 % des personnes de plus de 80 ans et 40 % des personnes de plus de 90 ans sont concernées. Avec le vieillissement de la population, il est anticipé que 1,8 million de personnes seront atteintes par la maladie d'Alzheimer en France en 2050. Environ 300 000 cas de maladies de Parkinson sont recensés en France, dont 30 000 patients sont atteints de la forme sévère de la maladie et 85 000 personnes sont atteintes de la sclérose en plaque. Les autres MND sont moins fréquentes, il s'agit des maladies à prions, de la maladie de Huntington, de l'ataxie spinocérébelleuse de l'amyotrophie spinale progressive et des maladies neuromotrices. En revanche, ces dernières concernent, en termes d'âge, un spectre plus large de la population avec des pics entre 30 et 50 ans.

Les conséquences des MND sont graves sur le plan de la santé des individus à cause des complications qu'elles occasionnent au plan physique, émotionnel, cognitif et comportemental. Le fardeau socio-économique est considérable compte tenu de l'incapacité et de l'invalidité qui les accompagnent. Cela entraîne des besoins accrus chez les personnes atteintes et leurs proches aidants, ainsi que des coûts énormes pour eux et la société. Le rapport mondial 2015 de l'organisation « Alzheimer's Disease International » estime à 733 Md€ le coût annuel de la maladie dans le monde, soit plus de 1 % du PIB mondial. En Europe, le coût annuel des MND s'élève à 134,7 Md€ se répartissant pour 37 % en coûts directs de santé, 23 % pour les coûts directs non médicaux et 40 % pour les coûts indirects.

En France, selon l'association « France Alzheimer », lorsque l'on additionne les malades et leurs aidants, 3 millions de personnes sont concernées par la maladie d'Alzheimer et des démences apparentées, ce qui représente un coût économique annuel de 19 Md€. Cela inclut les coûts directs médicaux encourus pour le traitement (médicaments, salaires du personnel de soins, hospitalisations et frais d'hébergement en institution de longue durée : 5,3 Md€), les coûts indirects liés à la perte de productivité de la main d'œuvre et les frais de renonciation des aidants naturels (perte de revenus liée à leur engagement près du malade, soit une aide informelle estimée à 14 Md€). Depuis près de 20 ans la France s'est dotée de plans nationaux pour lutter contre les MND. Après trois plans dédiés à la maladie d'Alzheimer initiés dès 2001 et un plan national d'action Parkinson mis en place en 2011, l'État a mis en place le premier Plan Maladies NeuroDégénératives (PMND) sur la période 2014-2019.

Les objectifs de ces plans étaient de créer davantage de synergie entre les actions de recherche, les soins et l'accompagnement des personnes concernées. Le volet recherche du PMND avait comme objectifs de dynamiser et mieux coordonner la recherche sur les MND et de mieux comprendre les maladies neurodégénératives pour prévenir leur apparition et ralentir leur évolution. Ce plan s'étant achevé à la fin 2019, l'ANR a saisi cette opportunité pour 1/ réaliser un bilan des projets de recherche qu'elle a financés, 2/ analyser leur impact afin d'alimenter la réflexion sur la mise en place de nouvelles actions gouvernementales et 3/ répondre à cette question de Santé Publique majeure.

Les bases de données de l'ANR ont permis d'élaborer un bilan complet des projets financés par l'agence, notamment en termes de cartographie thématique, budgétaire et géographique. Mais l'analyse de l'impact de ces projets est plus délicate et nécessite que les projets soient achevés depuis plusieurs années, afin d'appréhender l'ensemble de leurs productions et identifier leur prise en compte en terme de Santé Publique. Dans ce contexte, pour compléter l'étude, nous avons analysé dans la presse nationale quotidienne de ces six derniers mois¹ les articles dédiés aux MND, en se concentrant sur ceux qui s'appuyaient directement sur des chercheurs ou des projets soutenus par l'ANR. Une centaine d'articles ont été identifiés, 71 concernaient la maladie d'Alzheimer, 10 la maladie de Parkinson, 5 la sclérose en plaque, 2 la maladie de Huntington et 12, globalement, les MND. Un tiers de ces articles (33) s'appuyaient sur des travaux de recherche financés par l'ANR. Sans être exhaustifs, les paragraphes suivants illustrent les contributions de l'ANR aux résultats mis en lumière au travers de ces articles de presse, qui ont vocation à être diffusés auprès du grand public, et si possible à se concrétiser en mesures concrètes de Santé Publique.

² Les journaux pris en compte dans cette analyse sont : *Le Figaro*, *Le Monde*, *Les échos*, *Le Parisien/Aujourd'hui*, *La Croix*, *Libération*, *L'humanité*, *l'Express*, *le Point*, *le nouvel OBS* sur la période septembre 2019 – février 2020.

Le chercheur le plus cité (9 citations) dans ces 33 articles de la grande presse est le Professeur Bruno Dubois qui a publié un ouvrage remarqué sur la maladie d'Alzheimer (La maladie du siècle, Grasset 2019). Spécialiste de l'histoire naturelle de cette maladie le Pr Dubois a été financé par 4 projets ANR récents dont deux projets européens JPND. Ses travaux ont pour objectif de mieux pronostiquer (par de l'imagerie de la protéine tau) et de mieux prédire de façon fiable la progression de la maladie chez un patient donné. Dans un même objectif de fiabiliser la prédiction, Stanley Durrleman (1 citation, 1 projet ANR) s'emploie à ce que l'intelligence artificielle ouvre la voie vers une médecine personnalisée permettant de prédire l'évolution de la maladie d'Alzheimer. Toujours dans le domaine diagnostique, Gilles Grateau (1 citation, 1 projet ANR) a corrélié une mutation génétique à une maladie de l'amylose impliquée dans le développement de démence. Dans le cadre de la prévention, l'étude de Pierre Rustin (2 citations, 1 projet ANR) a montré que les fongicides (SDHI-inhibiteurs de la succinate déshydrogénase) augmentent les risques de développement des maladies de Parkinson et d'Alzheimer comme l'indique l'analyse des cohortes d'agriculteurs. Etant donné que ces fongicides sont utilisés à haute dose sur les cultures, nous pourrions avoir à faire face à un scandale sanitaire.

Plusieurs approches de thérapies géniques (9 projets ANR) sont actuellement à l'étude. Stéphane Palfi (2 citations, 1 projet ANR) a mis en place en 2010 un traitement par thérapie génique de patients atteints de la maladie de Parkinson avec des améliorations pour 15 patients, et un deuxième essai clinique a été lancé en 2019 après modification du traitement. Nathalie Cartier, Sorbonne Université, CNRS et Inserm (2 citations, 6 projets ANR) pionnière de la thérapie génique a rejoint l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière pour développer un traitement contre la maladie d'Alzheimer. Cette thérapie, testée sur les rongeurs, cible le cholestérol en excès dans les neurones malades en facilitant sa dégradation. L'élimination du cholestérol excédentaire, réduit la formation des plaques séniles caractéristiques de la maladie, améliore le fonctionnement cérébral et restaure la mémoire des animaux testés. Reste à finaliser les études de toxicité et surtout à travailler sur le mode d'administration de cette thérapie chez l'homme.

Une autre approche thérapeutique consiste à promouvoir l'élimination des plaques séniles et plus généralement des toxines au niveau du cerveau. Dans ce contexte certains financements ANR ont permis la collaboration du chercheur français Stéphane Olié avec Maiken Nedergaard (1 projet JPND, 1 citation) découvreuse du système glymphatique- assurant la mise en place de vagues du liquide céphalorachidien qui pourraient faciliter le nettoyage des toxines du cerveau dont les plaques amyloïdes pendant le sommeil.

Enfin, l'ANR a soutenu un projet amont du Pr. Alexandre Carpentier (2 citations), qui travaille à l'APHP en collaboration avec la startup Carthera, incubée à l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, qui propose une stratégie innovante. Il s'agit de rendre ponctuellement perméable et sans risque, la barrière hémato-encéphalique, qui protège le cerveau chez des patients de la maladie d'Alzheimer par un dispositif implantable diffusant des ultrasons. L'hypothèse est qu'un tel traitement permettrait d'éliminer les lésions caractéristiques qui s'accumulent pendant la maladie, voire à terme de promouvoir une meilleure pénétration des médicaments à travers la barrière hémato-encéphalique.

En conclusion, cette analyse qui prend en compte l'ensemble des projets ANR nationaux et internationaux (JPND, CoEN) montre que la recherche dans le domaine des maladies neurodégénératives est intense, mais le constat actuel est que nous sommes encore loin d'avoir des moyens et thérapies efficaces pour enrayer l'apparition et la progression de ces pathologies. En effet, des progrès notables ont été réalisés en termes de diagnostic et de compréhension de l'évolution de ces maladies, mais malgré l'exploration de nombreuses pistes thérapeutiques, aucune d'entre elles n'a débouché sur des améliorations majeures de l'évolution de ces maladies. Des espoirs sont ouverts et l'effort ne doit pas être relâché. Autre point à souligner, il est aujourd'hui bien établi que le développement des MND n'est pas une conséquence naturelle et inéluctable du vieillissement, mais qu'il s'agit bien de pathologies, et qu'en conséquence la recherche de thérapies spécifiques devrait aboutir à long terme. Dans ce contexte, alors que le plan MND vient de s'achever en 2019, il est légitime et hautement souhaitable, que les recherches soutenues par l'ANR et présentées dans cette étude puissent se poursuivre et s'étendre, notamment, au travers d'une nouvelle action gouvernementale sur ces pathologies majeures du XXI^e siècle.

Dominique DUNON-BLUTEAU

Responsable de département Biologie Santé

Liste des abréviations

AAPG : Appel à projets générique	ITMO NNP : Institut Thématique Multi-Organismes Neurosciences, Sciences cognitives, Neurologie, Psychiatrie
ALLENVI : Agence nationale de recherche pour l'Environnement	JCJC : Jeunes Chercheurs, Jeunes Chercheuses
ALLISTENE : Agence des sciences et technologies du Numérique	JPND : EU Joint Programme Neurodegenerative Disease Research
ANCRE : Alliance Nationale de Coordination pour la Recherche sur l'Énergie	JEI : Jeune Entreprise Innovante
ANR : Agence nationale de la recherche	LABEX : Laboratoire d'Excellence
ATHENA : Alliance thématique nationale des sciences humaines et sociales	MALZ : Appel d'offre « Maladie d'Alzheimer et Maladies apparentées »
ARIIS : Alliance pour la Recherche et l'Innovation des Industries de Santé	MESRI : Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation
ARS : Agence Régionale de Santé	MND : Maladie NeuroDégénérative
ARSEP : Fondation pour l'Aide à la Recherche sur la Sclérose en Plaques	PIA : Programme Investissements d'Avenir
AVIESAN : Alliance des Sciences de la Vie et de la Santé	PHRC : Programme Hospitalier de Recherche Clinique
BPI : Banque Publique d'Investissement	PhRMA : Pharmaceutical Research and Manufacturers of America
CHU : Centre Hospitalo-Universitaire	PME : Petite et Moyenne Entreprise
CNSA : Caisse Nationale de Solidarité pour l'Autonomie	PMND : Plan Maladies Neurodégénératives
CoEN : Centre of Excellence in Neurodegeneration	PRC : Projet de Recherche Collaborative
COFIL : Comité de Pilotage de la Recherche	PRCE : Projet de Recherche Collaborative – Entreprises
CPP : Comité de Pilotage de la Programmation	PRCI : Projet de Recherche Collaborative – International
CPU : Conférence des Présidents d'Université	PRTS : Programme de Recherche Translationnelle en Santé
DGA : Délégation Générale de l'Armement	R&D : Recherche et Développement
DMLA : Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age	RIB : Rencontre Internationale de Biotechnologie
EQUIPEX : Equipement d'Excellence	RPIB : Recherches Partenariales et Innovation Biomédicale
FRC : Fédération pour la Recherche sur le Cerveau	SLA : Sclérose Latérale Amyotrophique
FRSQ : Fonds de Recherche en Santé du Québec	SNR : Stratégie Nationale de Recherche
IFRAD : Fondation pour la Recherche sur la Maladie d'Alzheimer	STED : Stimulated emission depletion microscopy
IHU : Institut Hospitalo-Universitaire	TECSAN : Technologie pour la Santé et Autonomie
IM2A : Institut de la Mémoire et de la Maladie d'Alzheimer	TEP : Tomographie par Emission de Positrons
INBS : Institut National Biologie Santé	
IRSC : Institut de Recherche en Santé du Canada	

SOMMAIRE

PARTIE 1. Contexte, état de l'art, impact économique et enjeux de la recherche sur les maladies neurodégénératives 10

- ▶ Le système nerveux central et les maladies neurodégénératives 10
- ▶ Les approches thérapeutiques et diagnostiques des maladies neurodégénératives 11
- ▶ Quel avenir ? 12

PARTIE 2. Acteurs et organisation de la recherche sur les maladies neurodégénératives en France 13

- ▶ Les acteurs publics 13
- ▶ Les industries pharmaceutiques et les sociétés de biotechnologies 18

PARTIE 3. L'ANR au cœur des défis scientifiques et technologiques des MND 20

- ▶ Caractéristiques générales des programmes et projets ANR 20
- ▶ Typologie de projets financés 2010-2018 20
- ▶ Distribution annuelle des projets par type de financement 22
- ▶ Localisation des équipes impliquées dans la recherche sur les MND 25
- ▶ Partenariats internationaux 27
- ▶ Bilan des projets finalisés en 2018 29
- ▶ Composition des consortia financés 29
 - 1) Composition des consortia : Partenariat public/privé 29
 - 2) Composition des consortia internationaux financés 30
- ▶ Impact des projets ANR 32
 - 1) Les publications issues des équipes financées 32
 - 2) Retombées pour la Recherche et la Santé 37
 - 3) Avancement de carrière du personnel participant aux projets financés et Devenir des JCJC 42

PARTIE 4. Perspectives en termes de recherche et d'innovation sur les MND 44

RÉFÉRENCES 49

PARTIE 5. Panorama des projets scientifiques financés 51

PARTIE 1.

CONTEXTE, ÉTAT DE L'ART, IMPACT ÉCONOMIQUE ET ENJEUX DE LA RECHERCHE SUR LES MALADIES NEURODÉGÉNÉRATIVES

Les troubles neurologiques sont partout du simple mal de tête à la migraine, de l'oubli bénin à la maladie d'Alzheimer... Il existe de nombreuses preuves qui identifient ces troubles neurologiques comme l'une des plus grandes menaces pour la santé publique. De plus, certaines affections comme les troubles neuropsychiatriques provoquent de graves problèmes de santé, mais peu ou pas de décès directs. Il faut donc prendre en compte dans les menaces liées aux troubles neurologiques la mortalité prématurée (années de vie perdues à cause de la mortalité prématurée) et le handicap (années de vie saine perdues en raison d'un handicap).

L'importance pour la santé publique mondiale des troubles neurologiques courants tels que les troubles cognitifs, l'épilepsie, la sclérose en plaques, la douleur associée aux troubles neurologiques, la maladie de Parkinson, l'accident vasculaire cérébral et les traumatismes crâniens est donc croissante. Parmi ces troubles, les MND regroupent des pathologies affectant les neurones du système nerveux central. Elles peuvent être liées à des mécanismes de neurodégénérescence intrinsèques ou des phénomènes extrinsèques comme une infection virale, un accident vasculaire cérébral ou des traumatismes crâniens.

Le système nerveux central et les maladies neurodégénératives

Le système nerveux central regroupe le cerveau et la moelle épinière. Il est constitué de neurones qui sont des cellules hautement différenciées avec des caractéristiques morphologiques et chimiques différentes formant des sous-populations fonctionnelles. Les neurones sont capables de former des réseaux de communication grâce des connections inter-neurales appelées synapses. Les neurones et leurs synapses sont en lien avec les autres cellules du cerveau (astrocytes, épendymocytes, microglie, oligodendrocytes)

et sont très sensibles à leur environnement (homéostasie cérébrale, inflammation, nutriments, etc.). Si un neurone ou une sous-population neuronale est endommagé ou dégénère, leur remplacement est actuellement impossible. Par ailleurs, agir sur le cerveau reste difficile. Le cerveau est en effet isolé du reste de l'organisme, en particulier du sang, par une barrière, la barrière hémato-encéphalique.

Dans les MND, les conséquences de la neurodégénérescence sont de deux types: cognitif et moteur. Elles sont dramatiques pour les patients. On retrouve ainsi, sous le terme MND, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson, mais aussi les dégénérescences lobaires fronto-temporales, la maladie de Huntington, la sclérose en plaques, la sclérose latérale amyotrophique ou les ataxies spino-cérébelleuses.

Toutes ces pathologies provoquent des handicaps majeurs dont l'apparition s'échelonne sur plusieurs années. De plus, l'âge reste un facteur de risque majeur dans de nombreuses MND. Si l'ampleur des maladies neurodégénératives au sein de la population va se stabiliser voire diminuer dans les années à venir grâce aux progrès de la médecine, d'autres liées à l'âge vont exploser du fait du vieillissement de la population (www.who.int/mental_health/neurology/neurodiso/en/). L'exemple le plus frappant est celui de la maladie d'Alzheimer. En Europe, on estime à 16 % la proportion de la population âgée de plus de 65 ans touchée par cette maladie. Elle pourrait atteindre 25 % en 2030. Ainsi, dans le monde, il y a 7 millions de personnes présentant une maladie d'Alzheimer et le coût de leur prise en charge est estimé à 130 milliards d'euros (www.neurodegenerationresearch.eu/). Le poids pour les aidants est également une préoccupation majeure. Enfin, les traitements restent limités, surtout symptomatiques, et ne s'attaquent pas aux causes de la maladie. Les maladies neurodégénératives sont en effet très hétérogènes compliquant les approches thérapeutiques et diagnostiques.

Les approches thérapeutiques et diagnostiques des maladies neurodégénératives

1) Les approches thérapeutiques

Au cours des siècles derniers, les MND ont d'abord été définies par leur tableau clinique (symptômes et état pathologique cliniquement observables), neuropathologique (caractérisation des lésions histologiques) et plus récemment neurochimique (messagers chimiques de neurones). Ainsi, un déficit en dopamine a été mis en évidence dans la maladie de Parkinson. Des molécules comme la L-DOPA, précurseur de la dopamine traversant la barrière hémato-encéphalique, ont permis de pallier aux déficits moteurs observés dans cette pathologie. Cette approche apporte aux patients parkinsoniens un vrai bénéfice. Dans la maladie d'Alzheimer, c'est l'acétylcholine qui a été identifiée comme le neurotransmetteur le plus réduit. Cependant, les inhibiteurs d'acétylcholinestérase (enzyme qui dégrade l'acétylcholine) n'ont pas connu le même succès que la L-DOPA. Ils restent très controversés et ont été récemment dé-remboursés en France.

Outre ces approches neurochimiques, la fin du XX^e siècle a été marquée par de nouvelles analyses phénotypiques des MND avec en particulier la caractérisation des constituants des lésions neuropathologiques et l'étude des défauts génétiques. Les lésions histologiques sont caractérisées par des constituants protéiques particuliers avec par exemple, l'alpha-synucléine dans les corps de Lewy de la maladie de Parkinson ou les peptides amyloïdes A β dans les plaques séniles et la protéine tau dans les neurones en dégénérescence neurofibrillaire de la maladie d'Alzheimer. Les MND sont alors considérées comme des protéinopathies. L'agrégation spécifique de certaines protéines a ainsi permis de définir des sous-groupes de protéinopathies comme les alpha-synucléinopathies (agrégation d'alpha-synucléine retrouvée dans la maladie de Parkinson, la maladie à corps de Lewy ou l'atrophie multi-systématisée), les prionopathies (agrégation de la protéine prion), ou encore les tauopathies (agrégation de la protéine tau)... L'identification de ces constituants protéiques a permis d'identifier les gènes impliqués dans les formes familiales de MND : APP, précurseur du peptide A β dans la maladie d'Alzheimer et le syndrome de Down ; MAPT, le gène codant pour les protéines tau dans les dégénérescences lobaires fronto-temporales. Entre le XX^e et XXI^e siècle, les progrès de la génomique ont facilité l'identification de nouveaux constituants protéiques et des progrès considérables ont été faits dans ce domaine. Il est plus facile d'identifier des gènes qui codent pour des protéines impliquées dans les formes familiales de maladies neurodégénératives : alpha-synucléine, C9orf72, huntingtine, TARDBP...

L'identification des constituants des lésions histologiques des MND a ensuite permis d'échafauder les premières stratégies thérapeutiques. Il y a certaines pathologies avec l'identification de mécanismes importants. Ainsi, dans la maladie d'Alzheimer, c'est l'hypothèse de la cascade amyloïde qui s'impose. Dans la maladie de Parkinson, c'est la vulnérabilité des neurones dopaminergiques en présence de toxines environnementales qui est fondamentale. Dans la maladie de Huntington toutes les hypothèses restent ouvertes. Basés sur ces différentes hypothèses, de multiples modèles expérimentaux sont désormais disponibles pour identifier de nouvelles cibles thérapeutiques et développer des stratégies thérapeutiques en clinique.

Malheureusement, malgré la multiplicité des approches : petites molécules inhibitrices d'enzymes, immunothérapie, oligonucléotides anti-sens... et la réalisation de nombreux essais cliniques, aucun nouveau traitement ciblant le supposé *primum movens* des MND n'est disponible.

Les échecs répétés des essais cliniques dans la maladie d'Alzheimer ont conduit à une étude détaillée des coûts aux États-Unis pour cet exemple de maladie neurodégénérative. Un programme de développement de médicaments contre la maladie d'Alzheimer est estimé à 5,6 milliards de dollars, avec un processus qui prendrait 13 ans des études précliniques à l'approbation par les administrations (Scott *et al.*, 2014). À titre de comparaison, le coût estimé du développement d'un traitement contre le cancer est de 793,6 millions de dollars par candidat médicament (Prasad *et al.*, 2017). Les coûts de développement des médicaments contre la maladie d'Alzheimer dépassent donc largement la plupart des estimations pour les médicaments dans d'autres domaines thérapeutiques. La recherche sur la maladie d'Alzheimer et le développement de traitements nécessitent des capitaux importants. Ces investissements seront largement compensés par la réduction des coûts et en améliorant la qualité de vie des patients (Cummings *et al.*, 2018). Ces commentaires pour la maladie d'Alzheimer s'étendent évidemment à la plupart des autres MND.

Actuellement, grâce au séquençage du génome humain et aux approches pangénomiques (GWAS, exome sequencing...), la quasi-totalité des régions du génome (loci) liés aux maladies neurodégénératives est en cours d'identification. Le XXI^e est donc l'ère post-génomique avec l'identification des gènes et de leurs régulations (épigénomique, transcriptomique...),

et la caractérisation des protéines, de leurs fonctions et de leurs voies métaboliques. Les liens cerveau-périphérie sont à leurs balbutiements. Là encore, il y a des territoires à explorer : microbiote, endocrinologie et environnement...

Connaître la fonction physiologique des voies modifiées dans les MND ouvre en effet de nouvelles stratégies thérapeutiques. C'est actuellement le challenge avec, par exemple, les thérapies cellulaires et géniques. Les connaissances apportées par la neurophysiologie et l'intelligence artificielle devraient aussi renforcer fortement les recherches en vue de thérapies. Il y a bien sûr eu les stimulations cérébrales profondes dans la maladie de Parkinson (Benabid *et al.*, 2005) mais également leur utilisation dans d'autres pathologies. Par ailleurs, les approches « EEG-neurofeedback », très utilisées en psychiatrie (Batail *et al.*, 2019) pourraient également avoir des applications dans les MND.

Enfin, les thérapies non-médicamenteuses ont vu leur intérêt croître suite aux études épidémiologiques. Certaines pathologies chroniques comme l'hypertension et le diabète ou l'exposition à des toxines environnementales (métaux lourds, pesticides...) sont des facteurs de risque des MND. L'exercice physique, la nutrition et certaines activités quotidiennes (jardinage, musique, danse, vie en société, voyage/tourisme) sont potentiellement des facteurs à intégrer dans les risques et traitements des MND.

2) Les approches diagnostiques

En parallèle à ces connaissances sur les MND et leurs conséquences sur les approches thérapeutiques, leur diagnostic s'est aussi grandement amélioré. Si le diagnostic avait été un peu délaissé faute de traitement disponible, les premiers essais cliniques ont montré la limite de l'acuité du diagnostic dans les MND. Par exemple, dans la maladie d'Alzheimer où le diagnostic était principalement clinique, les premiers essais cliniques ont montré que plus de 30 % des patients intégrés dans les essais cliniques de la maladie d'Alzheimer ne présentaient pas cette pathologie (Maarouf *et al.*, 2010 ; Vandenberghe *et al.* 2016). Il est donc essentiel d'avoir des outils permettant de préciser le diagnostic des MND. Pour les formes familiales autosomiques dominantes, comme la maladie de Huntington, c'est assez simple, il suffit de rechercher la mutation. Pour les autres, comme les maladies d'Alzheimer et de Parkinson, cela peut être plus compliqué.

Il existe plusieurs approches. L'imagerie cérébrale par IRM (imagerie par résonance magnétique) et TEP (tomographie à émission de positons) a fait des progrès considérables ces dernières années. L'IRM permet 1) d'écartier le diagnostic de MND vers d'autres causes (tumeur ou accident ischémique, par exemple) ; 2) de visualiser l'atrophie de certaines régions cérébrales (temporal interne dans la maladie d'Alzheimer) et l'élargissement des ventricules cérébraux ; 3) d'orienter le diagnostic vers des phénomènes vasculaires ou inflammatoires (Boulouis *et al.*, 2017 ; Koric *et al.*, 2016; Saint-Aubert *et*

al., 2012; De Souza *et al.*, 2012; Mevel *et al.*, 2010). L'imagerie par TEP n'est pas encore utilisée dans toutes les MND en clinique. Par exemple, les ligands de TEP pour la neurodégénérescence des tauopathies n'en sont qu'à leur début. À l'inverse, l'ioflupane, traceur utilisé en tomoscintigraphie d'émission monophotonique, est très utilisé pour différencier la maladie à corps de Lewy de la maladie d'Alzheimer. En effet, l'ioflupane, en se liant aux transporteurs pré-synaptiques de la dopamine dans le striatum, permet de visualiser la perte dopaminergique dans la maladie à corps de Lewy (Cummings *et al.*, 2011). Cependant, ces ligands de TEP détectent parfois des lésions histologiques chez des sujets cliniquement sains et posent des questions éthiques importantes.

Les autres outils diagnostiques peuvent être génétique, transcriptomique ou protéique. La multiplicité des études pangénomiques a permis d'établir un ensemble de polymorphismes liés à certaines MND. Si les approches de bioinformatique ne permettent pas encore d'établir un pourcentage de risque d'une maladie donnée, ceci est à prévoir dans un horizon très proche soulevant là encore de nouvelles questions éthiques. Les marqueurs protéiques détectables dans le liquide cébrospinal ou le sang (peptide A β , alpha-synucléine, neurofilaments, protéines tau, etc.) sont actuellement les plus prometteurs. Ils sont facilement accessibles et leur détection est peu coûteuse (immunochimie, spectrométrie de masse...).

Dans le cas des MND, les essais cliniques actuels couplent donc souvent des évaluations cliniques (cognition, motricité) à des outils diagnostiques (imagerie, génétique ou protéique). Ces outils permettent également une meilleure stratification des patients. Le meilleur exemple est sans doute le polymorphisme de l'apolipoprotéine E où l'allèle epsilon 4 est un facteur de risque important pour la maladie d'Alzheimer. Au total, le diagnostic des MND s'améliore mais la recherche doit se poursuivre afin de permettre l'utilisation d'outils diagnostiques pertinents en clinique.

Quel avenir ?

Les enjeux de recherche pour les MND sont multiples : la connaissance des acteurs (A β /APP, alpha-synucléine, C9orf72, fus, huntingtine, neurofilaments, tau, TDP-43...) de ces maladies est essentielle ; le développement de modèles expérimentaux plus pertinents reste un challenge ; le diagnostic MND doit s'améliorer en y apportant des données pronostiques en conservant un cadre éthique et enfin, les panoplies de stratégies thérapeutiques innovantes sont à déployer.

La plupart des projets sur les MND financés par l'ANR abordent ces enjeux. Cela permet d'orienter les futures recherches mais il reste du chemin à parcourir...

Luc BUÉE

Directeur, INSERM U1172, Lille

PARTIE 2.

ACTEURS ET ORGANISATION DE LA RECHERCHE SUR LES MALADIES NEURODÉGÉNÉRATIVES EN FRANCE

Les acteurs publics

Sur cette thématique médicale, les Universités, l'INSERM, le CNRS et le CEA sont les principaux acteurs publics sur le plan national. Les équipes qui portent le label INSERM sont souvent en partenariat avec les Centres Hospitalo-Universitaires (CHU).

La mise en place du « Programme Investissements d'Avenir » (PIA) en 2010, non directement lié aux autres appels à projets ANR constitue un élément majeur dans la dynamique de financement de la recherche française. Sur les 35 Md€ mobilisés au titre du grand emprunt national, 21,9 Md€ ont été dédiés à l'enseignement supérieur et à la recherche avec 15,35 Md€ dédiés aux pôles d'excellence et 6,55 Md€ aux projets d'excellence. L'ANR a été désignée comme l'un des opérateurs des actions de ce programme, de la mise en œuvre des appels à projets au suivi des réalisations financées.

Dans sa majeure partie, ce programme a pour but de 1/ développer des pôles d'excellence (15,35 Md€) avec l'identification de laboratoires d'excellence (LABEX), d'Instituts hospitalo-universitaires (IHU), d'Instituts Carnot et d'Instituts de Recherche Technologiques et 2/ développer des projets thématiques d'excellence (3,305 Md€), qui portent sur des équipements d'excellence (EQUIPEX), des financements en Santé et Biotechnologies (Cohortes, Infrastructures nationales en biologie-santé, Bio informatique et Nano biotechnologies).

Vingt et un projets PIA dédiés en totalité ou en partie aux MND, répartis dans six actions structurantes (LABEX, EQUIPEX, IHU, INBS, Bioinformatique, Nano biotechnologie) ont été identifiés, ceci avec un lien plus ou moins fort avec les MND : un lien très fort 100 % (6 projets), un lien modéré (15 projets) et un lien faible (4 projets).

Le **Tableau 2** montre que les projets ICM, BRAIN, CORTEX, DISTALZ, NEURATRIS, NiConnect sont plus spécifiquement ciblés « MND », mais leur financement ne représente pas la totalité des dotations (127,25 M€).

Dans les autres projets financés, à liens faibles ou modérés avec les MND, il est aussi difficile d'estimer la part des financements correspondant aux MND, en raison de la difficulté d'évaluer le pourcentage de répartition. Ces projets PIA, qui ont bénéficié de crédits importants s'étalant sur plus de dix ans n'ont pas été inclus dans les analyses statistiques présentées dans ce cahier, du fait d'assiettes temporelles et budgétaires très différentes.



Tableau 1. Projets PIA à 100 % en lien avec les MND.

MND À 100 %					
ACTION	ACRONYME	TITRE	SITE WEB	DOTATION	PROJETS ET MALADIES IMPLIQUÉES
IHU	IHU-A-ICM	Institut de Neurosciences Translotionnelles de Paris	https://institutducerveau-icm.org/fr/presentation-de-ihu/	55 000 000 €	Actions spécifiques de l'IHU sur deux maladies neurodégénératives : Parkinson et Alzheimer avec création de plateformes d'imagerie, de neurophysiologie, de bioinformatiques, d'essais cliniques et de modèles animaux.
LABEX	BRAIN	Bordeaux Région Aquitaine Initiative pour les Neurosciences	https://brain.labex.u-bordeaux.fr/	20 000 000 €	Étude de la maladie d'Alzheimer et pathologies apparentées et de la maladie de Parkinson ; focus sur les défauts d'organisation synaptique. Mise en place de nouveaux modèles animaux et biomarqueurs en clinique. Création d'un diplôme de neurologie sur les maladies neurologiques dégénératives.
LABEX	CORTEX	Construction, Fonction Cognitive, Réhabilitation et Réparation du Cortex	https://labex-cortex.universite-lyon.fr/	11 500 000 €	Étude complète de la maladie de Parkinson : altération du contrôle du mouvement, de la perception, troubles psychiatriques, imagerie, thérapeutique par stimulation cérébrale profonde et modèles animaux. Étude des troubles de la perception et des anomalies du comportement dans la maladie d'Alzheimer.
LABEX	DISTALZ	Développement de stratégies innovantes pour une approche transdisciplinaire de la maladie d'Alzheimer	http://distalz.univ-lille2.fr/	12 000 000 €	Maladie d'Alzheimer (MA) : déterminants génétiques, hypothèses physiopathologiques testées dans des modèles cellulaires et animaux, étude de biomarqueurs en clinique, aspects sociaux et éthiques liés à la progression de la maladie, enseignements dédiés à la MA.
INBS	NEURATRIS	Infrastructure de Recherche Translotionnelle pour les Biothérapies en Neurosciences	http://www.neurattris.com/index.php/fr/	28 000 000 €	Infrastructure au service des maladies neurologiques ; applications aux maladies neurodégénératives (thérapies innovantes, cellulaires ou géniques ; évaluation préclinique ; efficacité thérapeutique).
Bioinformatique	NiConnect	Outils pour la Recherche Clinique par cartographie de la connectivité cérébrale fonctionnelle	https://team.inria.fr/parietal/research/spatial_patterns/niconnect/	753 543 €	Mise au point d'outils informatiques pour le traitement de neuro-images : applications au diagnostic et au suivi des maladies de Parkinson et d'Alzheimer.

Tableau 2. Projets PIA en lien modéré avec les MND. Les dotations ne sont pas indiquées en raison de la difficulté d'évaluer le pourcentage de répartition.

LIENS MODÉRÉS OU PROJETS MND PARTIELS				
ACTION	ACRONYME	TITRE	SITE WEB	PROJETS ET MALADIES IMPLIQUÉES
LABEX	PRIMES	Physique, Radiobiologie, Imagerie Médicale et Simulation	primes.universite-lyon.fr	Amélioration des critères diagnostics en imagerie dans les maladies neurodégénératives.
IHU	CESAME	Institut cerveau et santé mentale	pas de site	Amélioration des connaissances physiopathologiques des maladies neurodégénératives à partir de l'utilisation de cellules souches et de modèles animaux. Développement de biomarqueurs radiologiques. Aspects immunologiques dans le développement des maladies neurodégénératives. Conséquences sociales pour les patients atteints de maladies neurodégénératives.
LABEX	LIPSTIC	Lipoprotéines et santé : prévention et traitement des maladies inflammatoires non-vasculaires et du cancer	www.labex-lipstic.fr	Métabolisme des lipoprotéines et développement des maladies neurodégénératives.
EQUIPEX	ULTRABRAIN	Thérapie et Neurostimulation cérébrale de très haute précision par Ultrasons Transcrâniens	pas de site	Traitement local de troubles neurologiques, dont les Tremblements parkinsoniens, par ultrasons intracrâniens.
EQUIPEX	PHENOVIRT	Phénotypage humain et réalité virtuelle	phenovirt.equipex.u-bordeaux.fr	Développement d'outils de réalité virtuelle permettant la caractérisation ou le suivi de sujets malades dont ceux atteints de maladies neurodégénératives.
EQUIPEX	IRON	Radiopharmaceutiques innovants en Oncologie et Neurologie	www.labex-iron.com	Développement de nouveaux radiotraceurs pour les maladies neurodégénératives.
LABEX	INRT	Biologie intégrative : Dynamique nucléaire, Médecines régénérative et translationnelle	labex-inrt.igbmc.fr	Développement de modèles expérimentaux pour comprendre les maladies neurodégénératives.
LABEX	REVIVE	Cellules Souches et Médecine Régénérative	www.revive.fr	Développement de thérapies cellulaires innovantes pour le traitement de certaines maladies neurodégénératives (sclérose latérale amyotrophique ou SLA ; syndrome de Sanfilippo)
LABEX	MEMOLIFE	Les Mémoires du Vivant : une approche intégrée	http://www.memolife.biologie.ens.fr/	Etude des mécanismes moléculaires impliqués dans les maladies neurodégénératives (dont Parkinson).
LABEX	EpiGenMed	Du Génome et l'Épigénome à la médecine moléculaire : des nouveaux paradigmes en biologie aux nouvelles stratégies thérapeutiques de demain	www.epigenmed.fr	Etudes des bases moléculaires du système nerveux central perturbées dans les maladies neurodégénératives.
LABEX	IPGG_LABEX	Institut Pierre-Gilles de Gennes pour la Microfluidique	www.institut-pgg.fr	Développement d'un système microfluidique de détection précoce de biomarqueurs de la neurodégénérescence.
LABEX	SIGNALIFE	Réseau d'innovation sur les voies de signalisation en sciences du vivant	signalife.unice.fr	Etude des mécanismes responsables de la progression des maladies liées au vieillissement (dont les troubles neurodégénératifs)
Nonbio-technologie	DIGIDIAG	Diagnostic Digital	pas de site	Développement d'un système microfluidique pour le diagnostic de MND : Application à la maladie d'Alzheimer.
INBS	France-BioImaging	Développement d'une infrastructure française distribuée coordonnée pour la Bioimagerie cellulaire photonique et électronique dédiée à l'innovation, à la formation et au transfert de technologie	france-bioimaging.org	Infrastructure nationale dédiée à la bioimagerie cellulaire : Application à différentes MND (dont Huntington, Alzheimer).
INBS	France Life Imaging	France In vivo Imaging	www.francelifeimaging.fr	Infrastructure nationale dédiée à l'imagerie biomédicale (dont Recherche translationnelle sur les biothérapies et l'imagerie pour les maladies neurodégénératives).

Pour répondre à la priorité de Santé Publique que représentent la maladie d'Alzheimer et les maladies apparentées, le gouvernement français a lancé en février 2008 **le plan Alzheimer 2008-2012**. Ce plan se déclinait en 44 mesures regroupées en trois axes prioritaires : améliorer la qualité de vie des patients et de leur famille, mieux connaître la maladie pour agir et se mobiliser pour un enjeu de société. La dotation de 1,6 Md€ sur 5 ans se répartissait comme suit : 1,2 Md€ pour le volet social, 200 M€ pour la clinique et 200 M€ (en théorie) pour la recherche. L'objectif principal de ce plan était la construction d'un parcours médicalisé pour chaque malade, depuis le diagnostic jusqu'à la prise en charge. Les données SIGAPS (Devos *et al.*, 2006) ont permis de mesurer l'impact de ce plan Alzheimer sur la production d'articles originaux concernant la maladie d'Alzheimer et les maladies apparentées par les 27 centres hospitalo-universitaires (CHU) (Devos *et al.*, 2016). Les résultats montrent que la production et la qualité des publications ont augmenté après la mise en place du Plan Alzheimer, même s'il reste à déterminer si cette augmentation est en rapport avec l'application du volet recherche du Plan. Grâce à la mise en place du plan, les recherches dans les CHU se sont mieux structurées et a permis une meilleure répartition des productions scientifiques sur le territoire français (Devos *et al.*, 2016).

En juin 2008, le Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche a créé **la Fondation Plan Alzheimer** (qui, après le plan est devenue **la Fondation Alzheimer**) pour mettre en œuvre le volet Recherche du Plan national. Elle est hébergée par l'Inserm et rattachée à l'ITMO (Institut Thématique Multi-Organismes) Neurosciences, Sciences cognitives, Neurologie, Psychiatrie de l'Alliance des Sciences de la Vie et de la Santé (AVIESAN). Cette fondation assure la programmation des projets en recherche fondamentale et en recherche translationnelle sur la maladie d'Alzheimer et maladies apparentées. D'autres fondations/associations sur fonds privés, telles que **France Alzheimer et maladies apparentées, Fondation Médéric Alzheimer, Fondation Vaincre Alzheimer** soutiennent la recherche biomédicale en finançant des projets de recherche et impulsent des solutions d'accompagnement des patients et de leurs proches en conjuguant la recherche en sciences humaines et sociales et l'innovation de terrain. **La Fondation pour la recherche sur la maladie d'Alzheimer (IFRAD)** soutient l'Institut de la Mémoire et de la maladie d'Alzheimer (IM2A), pôle de référence de l'AP-HP, ouvert en 2010, qui constitue une grande base nationale de données cliniques. L'IFRAD contribue aussi à la biobanque Neuro-CEB, première banque tissulaire nationale dédiée à la recherche sur la maladie d'Alzheimer. Ses membres fondateurs et financeurs sont la Fondation Vaincre Alzheimer, France Parkinson, Fondation ARSEP, CSC, France DFT, l'ARSLA, qui se sont regroupées pour soutenir un projet commun aussi important que le don de cerveau pour la recherche.

L'association France Parkinson, créé en 1984 par le Professeur Yves Agid, neurologue à l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière. Cette association soutient et assiste

les malades et leurs proches, informe sur la maladie, les traitements et les aides, sensibilise l'opinion et finance des projets de recherche en sciences humaines grâce à la générosité des donateurs. En parallèle, un plan gouvernemental doté d'une enveloppe de 3,1 M€, **le Plan national d'actions Parkinson 2011-2014**, a été adopté en mars 2012. Ce plan a permis de mieux prendre en charge les malades et leurs familles autour des 24 centres régionaux de référence.

L'ARSEP, la Fondation pour l'aide à la recherche sur la Sclérose en plaques, créée en 1969, a, quant à elle, mission de contribuer à la prévention et au traitement de la sclérose en plaques par la recherche, l'enseignement et l'information auprès du public. Sa stratégie scientifique cible la compréhension de la maladie et le développement de nouvelles voies thérapeutiques avec une ouverture renforcée vers l'extérieur, tant sur le plan national, qu'international. Elle finance également des programmes pilotés par de jeunes chercheurs au travers de ses nombreux partenaires Inserm, CNRS et divers Instituts de recherche, tels que l'ICM et Pasteur. La sclérose en plaques a été identifiée comme MND lorsqu'elle a été introduite dans le « Plan Maladies Neurodégénératives », créée en 2014.

L'Association Huntington France, créée en 1978 a pour objectif d'accompagner les malades et leurs familles dans toutes les étapes de la maladie, faire connaître la maladie et soutenir la recherche médicale. L'association est adhérente et rattachée au Comité Inter-Associations Huntington, qui regroupe 9 associations, à la Filière Brain Team, qui regroupe les Maladies rares à expression motrice et cognitive du Système nerveux central, à l'Alliance Maladies rares, regroupant 206 associations de malades, à l'E.H.A. (European Huntington Association) et à l'I.H.A. (International Huntington Association).

À la suite du rapport d'évaluation du plan Alzheimer 2008-2012, le gouvernement français a décidé de mettre en place un nouveau « **Plan Maladies Neuro-Dégénératives (PMND)** » pour la période **2014-2019**, doté de 470 M€ et élargi à l'ensemble des MND : malades atteints d'Alzheimer, de Parkinson et de sclérose en plaques. Les MND rares, telles que la sclérose latérale amyotrophique (SLA), la maladie de Huntington, les maladies du motoneurone, les ataxies spino-cérébelleuses et les maladies à prions font partie du « Plan Maladies Rares » pour la prise en charge des patients et le soin mais elles ont été intégrées au PMND pour le volet Recherche. Ce plan, issu d'une large concertation avec les acteurs du secteur comprenait trois grandes priorités : améliorer le diagnostic et la prise en charge des malades, assurer la qualité de vie des malades et de leurs aidants, développer et coordonner la recherche. Il se déclinait en quatre axes stratégiques :

► Axe 1 - Soigner et accompagner tout au long de la vie et sur l'ensemble du territoire (favoriser un diagnostic de qualité, garantir l'accès à un programme personnalisé de soins de qualité, adapter la formation des professionnels).



► Axe 2 - Favoriser l'adaptation de la société aux enjeux des MND et atténuer les conséquences sur le quotidien (faire connaître la maladie, lutter contre la stigmatisation, créer les conditions d'une vie plus simple et autonome chez soi, favoriser le lien social, les liens de proximité, l'innovation sociale et lutter contre l'isolement, soutenir les proches des malades, maintenir les malades dans l'emploi et favoriser la réinsertion professionnelle, améliorer les pratiques et attitudes professionnelles).

► Axe 3 - Dynamiser et coordonner la recherche sur les MND avec l'objectif de mieux comprendre leur étiologie, pour essayer de prévenir leur apparition et ralentir leur évolution. Les MND sont polymorphes, touchent tous les âges de la vie, et couvrent le champ des maladies rares aussi bien que celui des maladies les plus communes. Elles possèdent toutefois des caractéristiques communes : les technologies et approches de leur étude peuvent être partagées ce qui invite à coordonner les efforts de recherches.

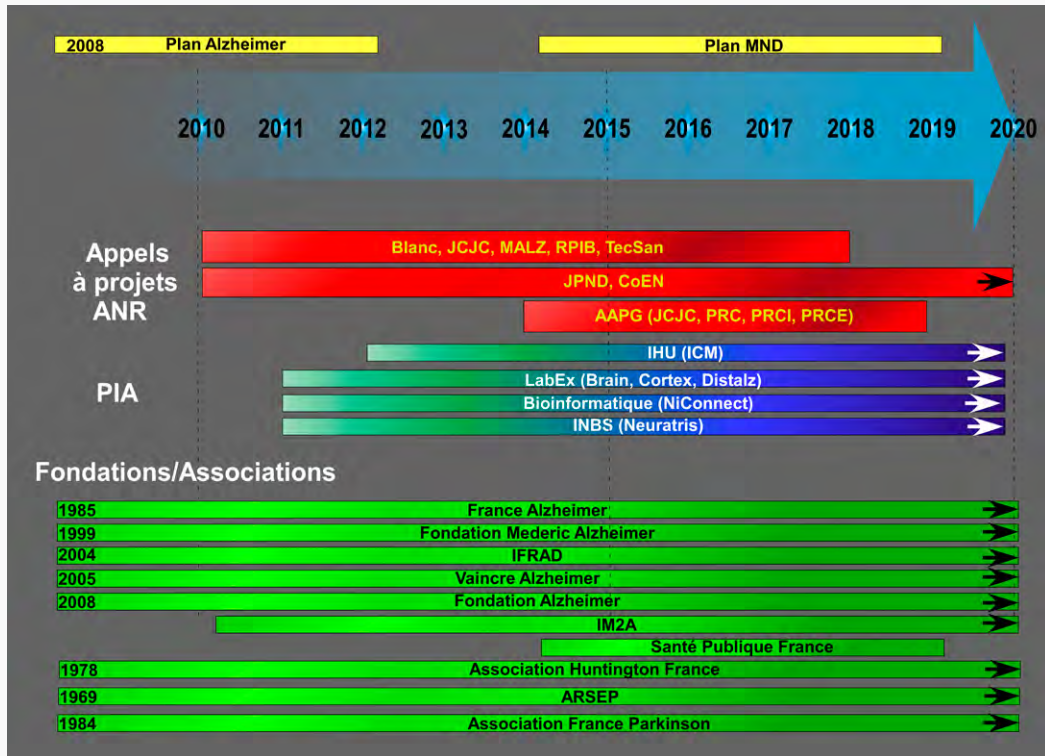
► Axe 4 - Faire de la gouvernance du plan un véritable outil d'innovation, de pilotage des politiques publiques et de la démocratie en santé (structurer la gouvernance, renforcer la place et le rôle des agences régionales de santé (ARS)).

La contribution de **Santé publique France** au Plan MND est aussi importante. Par son programme de surveillance épidémiologique, Santé publique France contribue à produire des informations sur le poids des MND au niveau national, aussi bien en termes de fréquence que de recours aux soins. Depuis 2014, Santé publique France a développé un programme de surveillance des MND en collaboration avec l'Inserm (Équipe « Épidémiologie du vieillissement et des maladies liées à l'âge » de l'U1018-CESP) et a participé à plusieurs actions du plan gouvernemental.

En ce qui concerne l'ANR, chaque année, en s'appuyant sur ses Comités de Pilotage de la Programmation (CPP), l'agence élabore un Plan d'Action, en cohérence avec les priorités fixées par l'Agenda Stratégique National (SNR) pour la recherche, le transfert et l'innovation « France Europe 2020 » (<https://www.enseignementsup-recherche.gouv.fr/cid73260/brochure-france-europe-2020.html>), lui-même élaboré en cohérence avec le programme cadre européen « Horizon 2020 » (<https://www.horizon2020.gouv.fr/>), qui se structure autour des grands défis scientifiques, technologiques, environnementaux et sociétaux. Les CPP associent des représentants de l'ANR, du Ministère chargé de la Recherche et de l'Innovation (DGRI), des autres ministères dont le MESRI, des Alliances nationales de Recherche, du CNRS, de la Conférence des Présidents d'Université (CPU), et de la recherche privée.

Plus spécifiquement, la coordination de la recherche sur les MND est assurée par l'ITMO NNP (Neurosciences, Sciences Cognitives, Neurologie, Psychiatrie), qui préside un comité de pilotage de la recherche (COFIL recherche), qui inclut les participants du CPP et la Fondation Plan Alzheimer. L'ITMO NNP et le COFIL veillent à mettre en cohérence la politique publique de Recherche sur les MND (plans gouvernementaux Alzheimer 2008-2012, Maladies Neurodégénératives 2014-2019), en inscrivant précisément les mesures Recherche liées aux plans dans les Plans d'Action de l'ANR. Les dispositifs mis en place s'appuient sur la recherche préclinique en amont et multidisciplinaire (neurosciences, métabolisme, immunologie...), la recherche clinique, l'épidémiologie et les sciences sociales. La **Figure 1** montre l'articulation temporelle entre l'ensemble des financeurs (Fondations, Plan gouvernementaux, PIA) et les appels à projets ANR.

Figure 1. Chronologie de l'implication des financeurs (Fondations, Plans Alzheimer et MND, PIA à 100 % en lien avec les MND) en relation avec les appels à projets ANR nationaux (Blanc, JCJC, AAPG) et les appels ANR internationaux dédiés (JPND, CoEN).



Les industries pharmaceutiques et les sociétés de biotechnologies

De nombreuses compagnies sont impliquées dans la recherche sur les MND et sont actives dans le développement de nouvelles molécules. Si la reconnaissance internationale de la R&D française en matière de santé est nourrie par des chercheurs et des institutions publiques, elle est aussi facilitée par certains dispositifs d'aide publique aux entreprises : au premier rang, le crédit impôt recherche (CIR), qui permet aux entreprises de déduire de leur impôt les dépenses engagées pour la recherche fondamentale et le développement expérimental.

Autre levier du dynamisme de la R&D des entreprises françaises, le statut de jeune entreprise innovante (JEI), créé en 2004 qui permet à de jeunes PME investissant massivement en recherche et développement de bénéficier d'exonérations d'impôt sur les sociétés. Les Rencontres Internationales de Biotechnologies (RIB), comme l'édition 2017 sur les maladies neurologiques témoignent de l'implication des Entreprises du Médicament aux côtés de BPI-France dans la consolidation d'un écosystème dédié à l'innovation. De même, organisées conjointement par ARIIS (Alliance pour la Recherche et l'Innovation des Industries de Santé) et AVIESAN, les Rencontres Internationales de Recherche (RIR) consacrées en 2017, aux maladies du cerveau ont regroupé des chercheurs académiques et des décideurs R&D internationaux de haut niveau des Entreprises de Santé autour de projets innovants au cœur des enjeux d'innovation.

En 2017, plus de 2600 essais cliniques mondiaux sur le médicament ont été initiés par les industriels. La France a pris part à 12 % d'entre eux et se place en 4^{ème} position en Europe, derrière l'Allemagne, le Royaume-Uni et l'Espagne. Parmi les 25 premiers groupes investissant le plus en R&D, 7 sont des entreprises pharmaceutiques (Roche, Johnson & Johnson, Novartis, Pfizer, Merck US, Astrazeneca et Sanofi).

En 2018, 161 essais cliniques sont en cours pour les maladies d'Alzheimer (82), Parkinson (47) et Sclérose en plaques (32). Un espoir est né pour la maladie d'Alzheimer avec l'aducanumab, une biothérapie constituée d'anticorps monoclonaux dirigés contre les agrégats de peptide amyloïde. Une nouvelle analyse des 2 essais cliniques de phase III, EMERGE et ENGAGE, chez des patients Alzheimer atteints de troubles cognitifs légers a montré, avec une dose élevée de la molécule, une réduction significative de 23 % ($p < 0,01$) du déclin cognitif du patient (Howard and Liu, 2020). Fort de ces résultats, Biogen a décidé de demander un enregistrement de ce médicament auprès de la FDA aux États-Unis et de reprendre un nouvel essai clinique sur les mêmes patients recrutés et continuant d'être traités.

En France, de nombreuses sociétés de biotechnologie sont impliquées dans la recherche sur les MND avec comme objectifs la découverte de biomarqueurs et la mise au point de tests de diagnostic précoce. Parmi les sociétés françaises actives dans ce domaine, on peut citer 1/ COVALAB à Villeurbanne, spécialisée dans l'ingénierie de l'anticorps, qui propose des kits de détection pour les agrégats protéiques cérébraux, 2/ ICDD à Marseille, qui commercialise des biomarqueurs de sécurité et d'efficacité du médicament, 3/ Innovative Health Diagnostics à Strasbourg (IHD), qui développe des tests sanguins de dépistage précoce de la maladie d'Alzheimer : IHD-Amy et IHD-PKC tests, et 4/ Exonhit qui, avec son test sanguin de dépistage de la maladie d'Alzheimer, AclarusDX, veut pénétrer le marché américain, qui représente plus de la moitié du marché du diagnostic mondial.



PARTIE 3.

L'ANR AU CŒUR DES DÉFIS SCIENTIFIQUES ET TECHNOLOGIQUES DES MND

Pour répondre aux défis que représentent les MND et en cohérence avec les plans gouvernementaux, Alzheimer 2008-2012, Maladies Neurodégénératives 2014-2019, l'ANR soutient des projets de recherche fondamentale ou appliquée et de valorisation. Dans ce contexte, l'ANR constitue un moteur qui favorise la coopération et le partenariat entre les organismes publics et privés et le développement de collaborations nationales et internationales constructives. Elle joue un rôle clef pour structurer une recherche compétitive de haut niveau, surmonter nombre de verrous technologiques et faciliter les processus d'innovation. Les financements ANR alloués aux MND ont pour but de maintenir la recherche française dans le peloton de tête de la compétition internationale dans ce domaine des MND en Biologie/Santé et la rendre plus forte et plus visible sur le plan européen et mondial.

Caractéristiques générales des programmes et projets ANR

La programmation thématique de l'ANR ambitionne de jouer un rôle d'accélérateur et d'amplificateur de thèmes de recherche qui émergent au sein de différentes composantes de la société. Dans ce contexte et en cohérence avec les plans gouvernementaux, Alzheimer 2008-2012 et Maladies Neurodégénératives 2014-2019, les appels à projets ANR dans lesquels se situent le domaine des MND se sont déclinés en deux grandes périodes : **de 2010 à 2013 et de 2014 à 2018**.

Pour la première période, la structuration des appels à projets s'articule autour de trois composantes : 1/ Les instruments non-thématiques (**l'appel à projets « Blanc », l'appel à projets de recherche individuelle « JCJC »** Jeunes Chercheurs Jeunes Chercheuses), 2/ Les actions européennes et internationales (**« International »** incluant une édition de l'ERANET NEURON

et plusieurs JPND) pour la construction de l'espace européen de la recherche et les collaborations multilatérales transnationales et 3/ en cohérence avec les objectifs « Horizon 2020 », les appels nationaux spécifiques, **« National Spécifique »** dont **MALZ** ciblés sur la maladie d'Alzheimer et maladies apparentées et **RPIB** (Recherches Partenariales Innovation Biomédicale).

Pour la deuxième période, **de 2014 à 2018**, la structuration des appels à projets s'articule de la façon suivante : 1/ l'appel à projets générique (**AAPG**) qui mobilise quatre instruments de financement qui concernent, soit des projets de recherche **JCJC**, soit des projets de recherche collaborative entre entités publiques dans un contexte national (**PRC** : projet de recherche collaborative) ou international bilatéral (**PRCI** : projet de recherche collaborative – international) et entre entités publiques et privées (**PRCE** : Projet de recherche collaborative – entreprises) et 2/ Les actions européennes et internationales (**« International »** incluant CoEN, JPND).

Typologie de projets financés 2010-2018

Sur neuf années de programmation (2010-2018), un total de 278 projets ayant pour objet de recherche les MND a été identifié. Le budget total investi par l'ANR pour ce domaine de recherche s'élève à 110 M€ ; soit ~12.2 M€/an pour cette période. Au total, 630 équipes ont participé une ou plusieurs fois aux projets financés. Les projets comptent en moyenne 3,7 équipes.

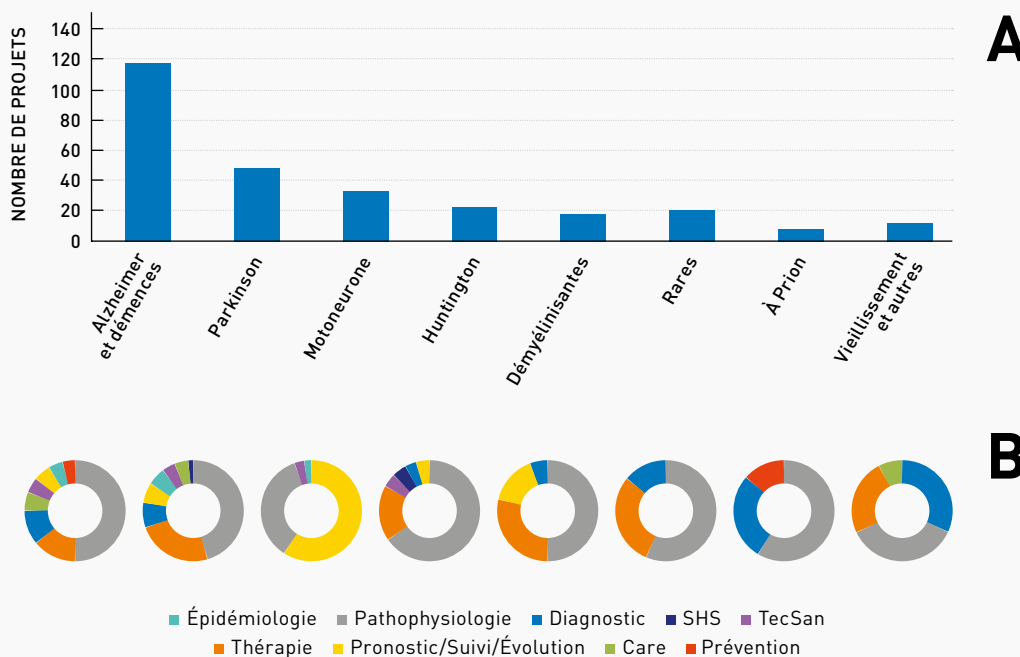
La présente analyse est divisée en deux parties, la première montre une caractérisation des projets financés, ainsi que l'évolution des financements dans le domaine des MND depuis 2010. La deuxième partie montre un bilan de la production scientifique des projets finalisés jusqu'en 2019 et un résumé des résultats scientifiques les plus marquants.

L'analyse des projets ANR sur les MND concerne la Maladie d'Alzheimer et autres démences, la Maladie de Parkinson, les Maladies du Motoneurone, la Maladie de Huntington, les maladies démyélinisantes comme la Sclérose en Plaques, les Maladies Rares Neurodégénératives, les Maladies à Prions. Quelques projets portent aussi sur le Vieillissement et la Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age (DMLA).

La **Figure 2** montre la distribution des projets en fonction de la maladie concernée et le champ « disciplinaire » (axes) dans lequel ils se situent. Pour chaque maladie, les enjeux actuels et futurs de la recherche sur les MND concernent des avancées en épidémiologie, prévention, diagnostic, physiopathologie, thérapeutique, technologie pour la santé et l'autonomie (Tecsan), le soin (Care) et l'accompagnement social des malades (SHS). L'analyse du nombre de projets par maladie (**Figure 2A**) montre que 43 % des projets financés concerne la maladie d'Alzheimer et maladies apparentées (en particulier démences fronto-temporales et démences vasculaires), le restant se concentrant sur la maladie de Parkinson (~ 18 %), la maladie de Huntington (~ 8 %), les Maladies du Motoneurone (~ 8 %), la Sclérose en plaques (~ 7 %), les Maladies Rares (~ 7 %), et de manière plus marginale, les Maladies à Prions (~ 3 %), le Vieillissement et autres (~ 5 %).

logie, prévention, diagnostic, physiopathologie, thérapeutique, technologie pour la santé et l'autonomie (Tecsan), le soin (Care) et l'accompagnement social des malades (SHS). L'analyse du nombre de projets par maladie (**Figure 2A**) montre que 43 % des projets financés concerne la maladie d'Alzheimer et maladies apparentées (en particulier démences fronto-temporales et démences vasculaires), le restant se concentrant sur la maladie de Parkinson (~ 18 %), la maladie de Huntington (~ 8 %), les Maladies du Motoneurone (~ 8 %), la Sclérose en plaques (~ 7 %), les Maladies Rares (~ 7 %), et de manière plus marginale, les Maladies à Prions (~ 3 %), le Vieillissement et autres (~ 5 %).

Figure 2. Distribution des projets financés par pathologie (A) et discipline concernée (B).



Les projets financés abordent différents aspects des MND. Dans chacune des pathologies étudiées, l'analyse du nombre de projets par catégorie disciplinaire (**Figure 2B**) montre que plus de la moitié des projets se concentre sur les mécanismes physiopathologiques. Les projets à visées purement translationnelles/cliniques, tels que le développement d'options thérapeutiques, l'amélioration des moyens pour le diagnostic, le pronostic, le suivi et/ou l'évolution des patients restent minoritaires. Une exception concerne les maladies du motoneurone pour lesquelles une grande proportion des projets a pour objectif l'amélioration des méthodes de pronostic, le suivi et l'évolution des malades.

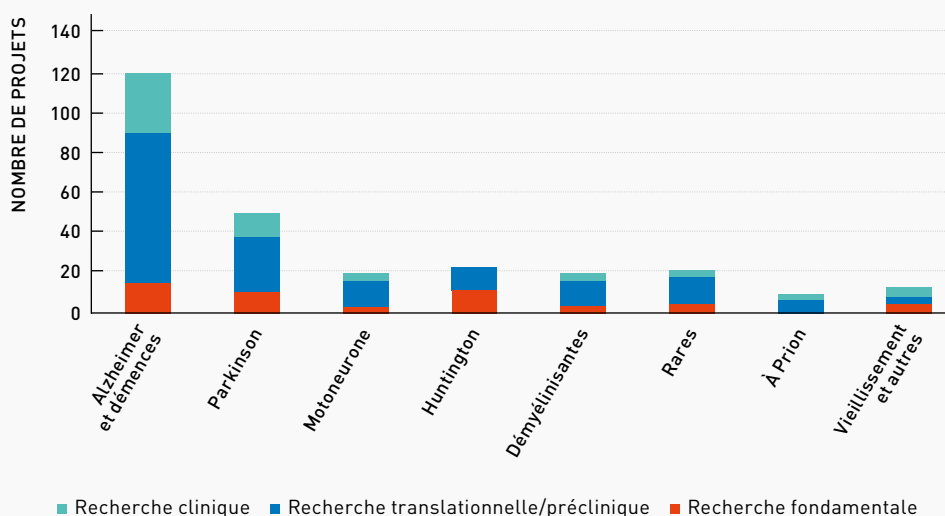
Le développement des stratégies thérapeutiques concerne principalement les Maladies rares, les Maladies Démyélinisantes et la DMLA. On constate qu'un faible nombre est concerné par le développement des technologies pour la santé et l'autonomie (Tecsan) (~ 5 %), par l'amélioration du cadre de vie des malades (Care) (~ 4 %) ou par les stratégies de prévention impliquées dans les MND (SHS), (~ 1 %), épidémiologie, (~ 4 %) (**Figure 2B**).

Les projets MND analysés ayant majoritairement pour objectif une compréhension des mécanismes physiopathologiques se situent pour leur majorité dans le

domaine de la recherche Préclinique/Translationnelle (61 %) et dans le domaine de la recherche Fondamentale (19 %). Les recherches sont essentiellement basées sur des modèles expérimentaux cellulaires ou animaux. Au-delà des mécanismes, elles visent aussi à identifier des cibles potentielles pour le développement de thérapeutiques novatrices ou le développement de nouvelles stratégies pour le diagnostic et le suivi de patients atteints de MND.

Les projets de recherche « Clinique/Appliquée » (20 %) sont principalement conduits sur des cohortes de patients touchés par la maladie d'Alzheimer, de Parkinson, les maladies du motoneurone et la DMLA, et de façon plus marginale les maladies rares et les maladies à prions (Figure 3).

Figure 3. Distribution des projets financés selon l'objectif de la recherche.



Distribution annuelle des projets par type de financement

Le nombre de projets financés par l'ANR dans le domaine des MND fluctue selon les années. Les fluctuations sont, en partie, fonction du type d'appel d'offres pour l'année concernée (National, National Spécifique et International) (Figure 4). L'ensemble des projets représente 22 % des projets répertoriés en « Neurosciences ».

Entre 2010 et 2012, les MND ont été principalement financées par l'appel à projet Blanc (AAPG Blanc, 30 %, 13 M€) et le programme Jeunes Chercheurs Jeunes Chercheuses (JCJC, 14 %, 5 M€), mais aussi, de façon très importante, par les programmes nationaux spécifiques, tels que l'appel à projets thématiques MALZ (39 %, 21,6 M€), TecSan (Techno-

logie pour la santé et l'autonomie, 4,5 %, 3,4 M€), ou par des programmes dédiés à la valorisation tels que Emergence (Emergence de produits, technologies ou services à fort potentiel de valorisation, 4,5 %, 1,4M€) ou RPIB (Recherches Partenariales et Innovation Biomédicale, 2,6 %, 2,5 M€). Seulement 5,5 % des projets (2 M€) ont été financés dans le cadre du programme de **collaboration internationale-bilatérale (PRCI)**, et principalement centrés sur la maladie de Parkinson.

Le programme MALZ, qui consistait à favoriser l'interdisciplinarité et la convergence des recherches fondamentales, cliniques et industrielles a accompagné le Plan Alzheimer 2008-2012. MALZ était complémentaire aux appels à projets de la Fondation Plan Alzheimer et au Programme Hospitalier de Recherche Clinique (PHRC). Aux trois éditions nationales en 2010, 2011 et 2012 s'est ajoutée une édition internationale avec le Canada (IRSC) et le Québec (FRSQ). Au

total, sur les 187 projets déposés, 28 projets ont été financés correspondant à 74 équipes pour une enveloppe de 13,7 M€, dont 1,7 M€ pour le programme franco-canadien. Le programme MALZ, qui montre clairement l'effet incitatif d'avoir un appel d'offre ciblé pour soutenir une thématique précise comme dans le cas du plan Alzheimer, a permis d'améliorer les connaissances fondamentales sur les désordres moléculaires et cellulaires conduisant à la maladie d'Alzheimer et aux démences apparentées, sur les causes et déterminants possibles de ces maladies et sur l'identification de nouvelles cibles pour une intervention thérapeutique susceptible de bloquer ou de ralentir le processus dégénératif. Il a permis de définir des marqueurs cliniques liés au comportement des patients et à leurs performances cognitives, et des marqueurs génétiques, biologiques ou de neuro-imagerie pour un diagnostic précoce et l'établissement d'un pronostic et pour le suivi des patients. MALZ a aussi amplifié la constitution de cohortes de malades.

Le programme RPIB a soutenu des projets de recherches biologiques et biomédicales menés conjointement par des entreprises et des laboratoires académiques. Ce programme RPIB avait pour objectifs de valoriser les résultats de la recherche publique et de promouvoir leur transfert vers des applications industrielles dans le domaine de la santé. L'objectif était aussi de permettre d'augmenter les échanges d'expertises entre laboratoires académiques et industriels et de renforcer ainsi la compétitivité française dans le secteur biomédical. Les projets s'inscrivaient dans l'un des 3 axes suivants : Produits thérapeutiques et vaccins, Outils et produits de diagnostic et Outils technologiques pour la recherche et la production de biomolécules. Dans le cadre des MND, 4 projets ont été développés qui ont permis le dépôt de 5 brevets et la création de 2 start-up.

Le programme TecSan, réalisé en partenariat avec la Caisse Nationale de Solidarité pour l'Autonomie (CNSA) et la Délégation Générale de l'Armement (DGA) a permis de stimuler le partenariat entre laboratoires académiques et entreprises et *in fine* la valorisation. TecSan a accompagné la mesure 7 du Plan Alzheimer et maladies apparentées 2008-2012. Ce programme a permis de financer des projets techniquement innovants afin de répondre aux problèmes sanitaires conjoncturels, dont le vieillissement normal et pathologique de la population. Les axes prioritaires de TecSan ont mis l'accent sur la télémédecine et le développement de technologies pour l'assistance à domicile.

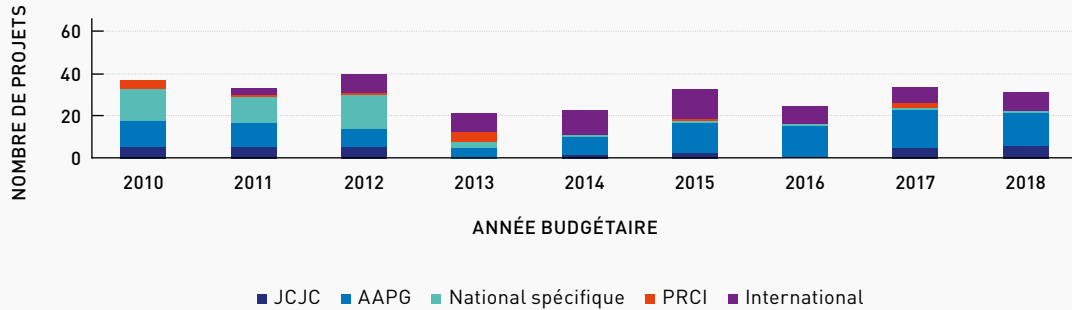
À partir de 2013, en s'appuyant sur le plan « Maladies Neurodégénératives », l'ANR s'est associé au programme européen conjoint sur les MND JPND (EU Joint Programme – *Neurodegenerative Disease Research*) avec 28 autres pays. Depuis 2015, l'ANR s'est aussi associé à l'International Network of Centres of Excellence in Neurodegeneration (CoEN), qui associe six pays : l'Allemagne, le Canada, l'Espagne, la France, l'Irlande et le Royaume-Uni. L'activité principale de l'ANR dans ces deux instruments de financement est la participation aux lancements des appels à projets conjoints visant la collaboration internationale pour les MND. **Les appels à projets en collaboration internationale**, JPND et CoEN, qui se sont substitués aux programmes nationaux spécifiques ont permis de promouvoir la reconnaissance de sites d'excellence nationaux, au rang de centre d'excellence européens et dynamiser ainsi les coopérations internationales (Figure 4). En France, 7 centres d'excellence ont été labellisés en 2015 : DHUNE-CE, DHUNE-Centre d'Excellence (Aix-Marseille), BIND, *Bordeaux Initiative for Neurodegenerative Disorders* (Bordeaux), GREEN, *GRE noble Excellence in Neurodegeneration* (Grenoble), LICEND, *Lille Centre of Excellence for Neurodegenerative Disorders* (Lille), *Montpellier Center of Excellence in Biomarkers and personalized medicine for neurodegenerative disorders* (Montpellier), *Salpêtrière Center for Translational Research on Neurodegenerative Disorders* (Paris), *NeuroToul*, *Toulouse Neuro-Degenerative Center* (Toulouse).

On observe une hétérogénéité du nombre de projets financés à l'International, qui s'explique par le changement annuel de la thématique de l'appel et aux budgets alloués différents. On peut aussi noter qu'à partir de 2015, le nombre de projets financés par l'AAPG pour les MND a augmenté par rapport aux premières années de cette analyse. Parmi les explications supportant ce fait, on peut citer qu'une meilleure compréhension des mécanismes opérant dans un système physiologique grâce aux avancées de la recherche fondamentale a permis d'aborder l'analyse de leurs perturbations dans les MND.

Le nombre de projets financés dans le cadre des appels à projets de recherche individuelle JCJC qui était compris entre 1 et 4 jusqu'à 2016 a augmenté en 2017 et 2018 (5 et 6, respectivement).



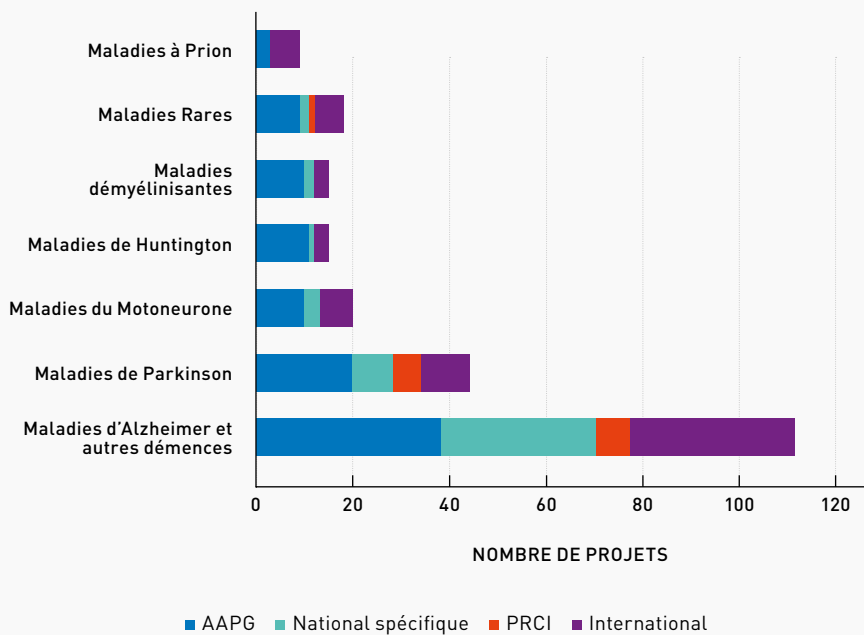
Figure 4. Nombre de projets financés par année selon le type de financement ANR. L'appellation AAPG inclut l'appel à projets Blanc 2010-2013.



Parmi les instruments de financement ANR (AAPG, National Spécifique, PRCI et International), la représentation des différentes maladies concernées par cette analyse est hétérogène (Figure 5). Les maladies d'Alzheimer et autres démences, la maladie de Parkinson, la maladie d'Huntington et les maladies rares

et démyélinisantes sont principalement financées par l'AAPG (JCJC inclus) et les appels nationaux spécifiques lancés jusqu'en 2012. En contraste, les maladies du motoneurone et les maladies à prions sont majoritairement financées par les appels à projets internationaux et AAPG.

Figure 5. Distribution des projets par pathologie étudiée selon le type de financement.



Localisation des équipes françaises impliquées dans la recherche sur les MND

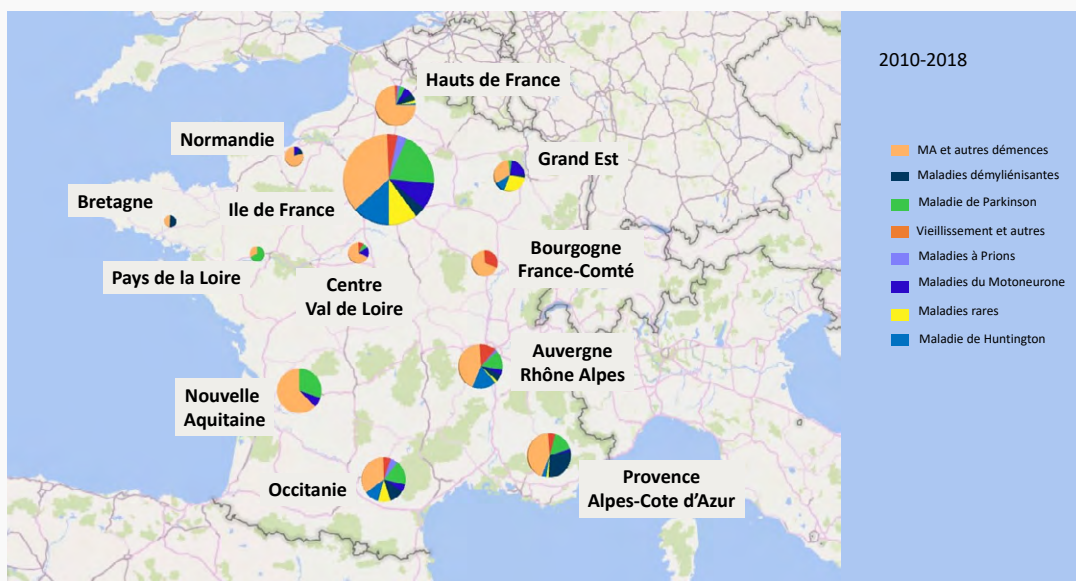
Les équipes de recherche nationales travaillant sur les MND sont très présentes en Ile de France (41 %) mais aussi dans les autres régions de France (Figure 6, Tableau 3). Toutes les régions et villes où les Centres of Excellence in Neurodegeneration (CoEN) sont labélisés par Aviesan à savoir Paris, Montpellier, Lille, Bordeaux, Aix-Marseille, Toulouse et Grenoble ont reçu des financements ANR pour réaliser des projets MND. Les centres d'excellence en enseignement et recherche sur les MND regroupent des laboratoires de recherche préclinique et épidémiologique et des structures hospitalières de recherche clinique dans un même périmètre.

La Figure 6 et le Tableau 3 montrent la localisation régionale des centres travaillant sur les différentes maladies concernées par cette analyse. Les projets impliquant la maladie d'Alzheimer et autres démences sont majoritaires dans toutes les régions; de même pour la maladie de Parkinson. En contraste, la distribution de projets impliquant, par exemple, les maladies rares et les maladies démyélinisantes, ainsi que la catégorie « vieillissement et autres » est moins homogène. Ceci peut s'expliquer par le nombre d'équipes spécialisées dans ces pathologies plus faible et leur concentration dans certaines régions (Grand Est, Bourgogne-Franche Comté, Auvergne Rhône Alpes). Dans tous les cas, 40 % des partenaires financés se situent en Île-de-France.

Tableau 3. Distribution régionale des équipes de recherche MND financées dans la période 2010-2018.

RÉGIONS	PARTENAIRES FINANCÉS	POURCENTAGE
Auvergne Rhône-Alpes	56	9
Bourgogne Franche-Comté	19	3
Bretagne	4	1
Centre Val de Loire	12	2
Grand Est	28	5
Hauts de France	47	8
Île-de-France	239	40
Normandie	11	2
Nouvelle Aquitaine	56	10
Occitanie	54	9
Pays de la Loire	6	1
Provence-Alpes-Côte d'Azur	57	10
TOTAL	589	100

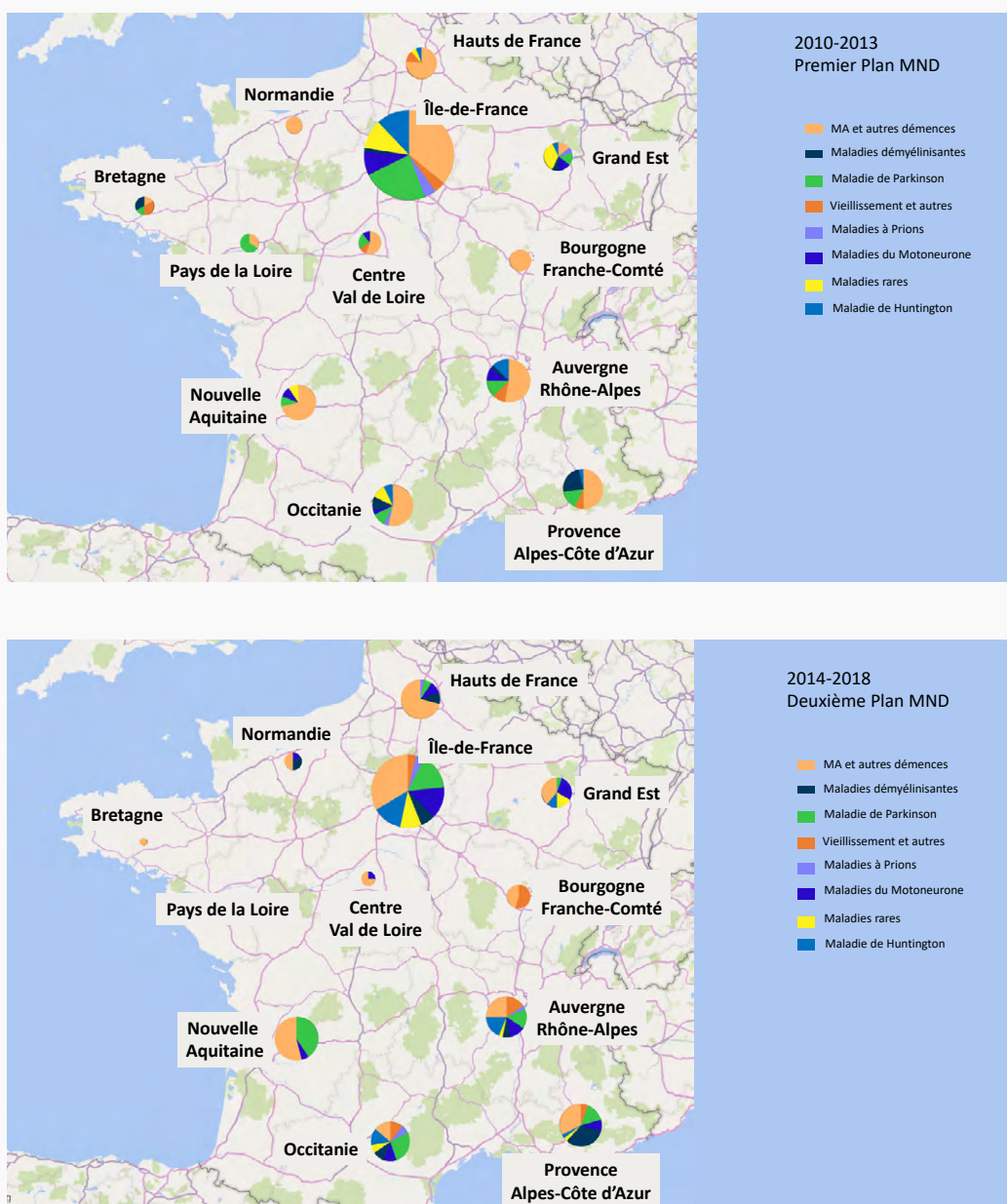
Figure 6. Distribution régionale des pathologies étudiées par les équipes financées dans la période 2010-2018.



Si l'on regarde la répartition géographique des équipes de recherche financées en fonction de la mise en place des Plans Alzheimer et Maladies Neurodégénératives (Figure 7), on constate une évolution dans la dynamique et la spécialisation de certaines villes. En effet, la recherche sur les MND se réduit en Bretagne, Pays de Loire et Centre Val de Loire, probablement à cause de la disparition des appels spécifiques type MALZ dans la période 2014-2018.

Le second plan MND a conforté les recherches sur la maladie d'Alzheimer, mais a aussi permis de dynamiser, dans certaines régions (Normandie, Auvergne Rhône-Alpes, Provence-Alpes-Côte d'Azur) les études sur d'autres MND, telles que les maladies démyélinisantes, maladies à Prions et maladies du Motoneurone. La recherche sur la maladie de Parkinson s'est aussi intensifiée en régions Nouvelle Aquitaine, Occitanie et Hauts de France.

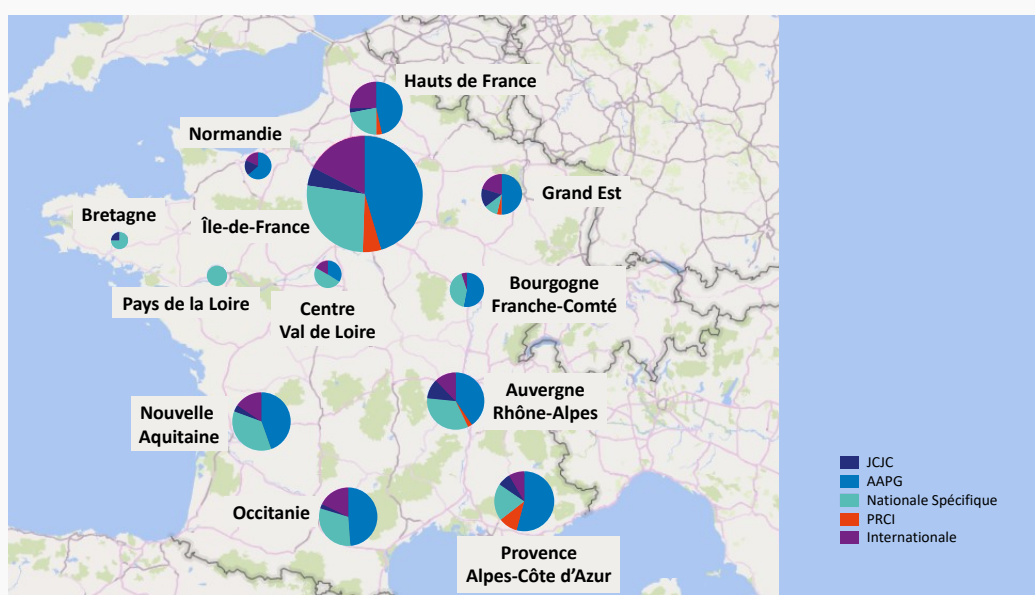
Figure 7. Distribution régionale des pathologies étudiées par les équipes financées en fonction de la mise en place des Plans Alzheimer et MND dans la période 2010-2018.



La répartition des financements en fonction du type d'appels à projets est homogène et majoritaire dans la plupart des régions françaises. La participation à des projets internationaux multilatéraux est, par contre, plus fortement représentée dans les régions accueillant les centres d'excellence mentionnés plus haut (Figure 8). Certaines régions peu représentées, telles que la Bretagne et les Pays de Loire, ont principalement été financées par les appels à projets « national

spécifique ». Les PRCI sont concentrés sur les régions Ile de France et Provence-Alpes-Côte d'Azur.

Figure 8. Distribution régionale des équipes de recherche MND financées par différents type d'appels à projets dans la période 2010-2018.



Partenariats internationaux

La dimension internationale est une autre caractéristique des projets MND. Les équipes financées par l'ANR dans les appels à projets internationaux et PRCI collaborent avec des équipes étrangères hautement reconnues dans le domaine des MND.

Au total, 373 partenaires étrangers participent aux 84 projets MND en collaboration avec des partenaires français (Figure 9). Les équipes françaises collaborent avec des équipes issues de 29 pays, principalement représentés par des équipes européennes (Allemagne, Royaume-Uni, Italie et Pays-Bas) ainsi

que des équipes canadiennes. Les principaux pays partenaires de la France sont partenaires de l'initiative JPND. Seulement 6 pays partenaires des projets ne faisant pas partie de JPND ont été répertoriés (Figure 9 et Tableau 4).

Il est à noter que si la participation des équipes françaises est forte, ces dernières (sauf pour les PRCI) sont plus souvent partenaires et non coordinatrices, laissant le leadership à d'autres pays comme l'Allemagne, le Canada, les Pays-Bas ou le Royaume-Uni.

Figure 9. Répartition géographique des équipes de recherche MND étrangères impliquées dans des projets collaboratifs financés par l'ANR dans la période 2010-2018.

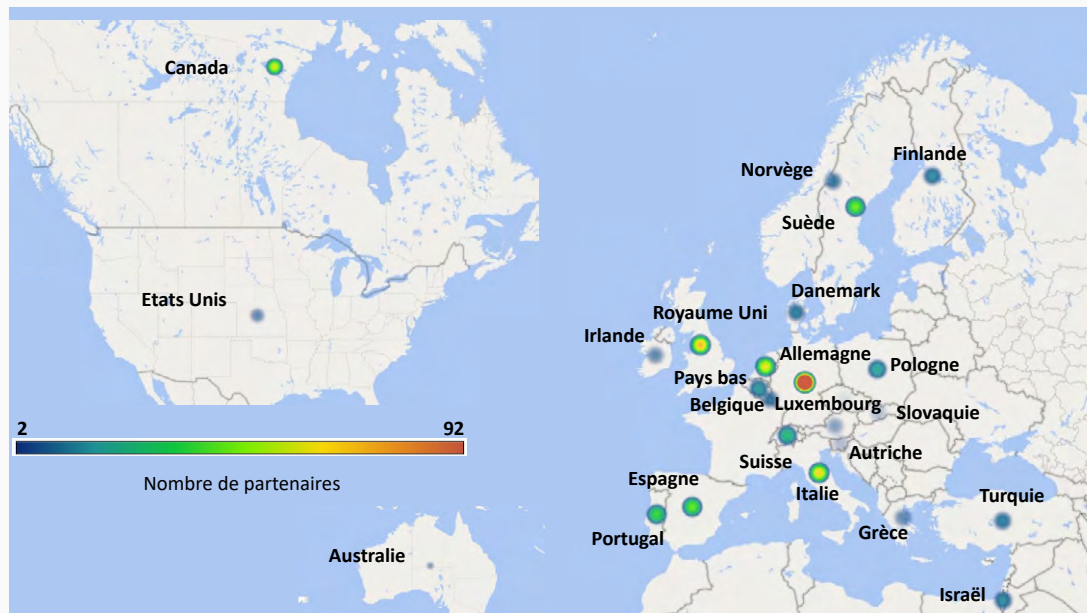


Tableau 4. Distribution géographique des équipes de recherche MND étrangères impliquées dans des projets collaboratifs financés par l'ANR dans la période 2010-2018.

PAYS	PARTENAIRES FINANCÉS	POURCENTAGE
Allemagne	92	24,7
Royaume-Uni	35	9,4
Italie	32	8,6
Pays-Bas	30	8,0
Canada	29	7,8
Suède	22	5,9
Espagne	21	5,6
Portugal	18	4,8
Suisse	13	3,5
Pologne	10	2,7
Belgique	8	2,1
Finlande	7	1,9
Israël	7	1,9
Danemark	6	1,6
Turquie	6	1,6

PAYS	PARTENAIRES FINANCÉS	POURCENTAGE
Luxembourg	5	1,3
Norvège	5	1,3
États-Unis*	4	1,1
Grèce*	4	1,1
Irlande	4	1,1
Australie	3	0,8
Autriche	3	0,8
Slovaquie	2	0,5
Slovénie	2	0,5
Hong Kong*	1	0,3
Inde*	1	0,3
Japon*	1	0,3
Taiwan*	1	0,3
Tchéquie	1	0,3
TOTAL	373	100

* pays non partenaires de JPND.

Bilan des projets finalisés en 2018

Les résultats rapportés dans cette analyse ont été extraits des rapports finaux communiqués par les consortia. Au total 134 projets ont été analysés. La plupart des projets ont débuté entre 2010 et 2013 et ont été finalisés avant juin 2018. La durée moyenne des projets finalisés est de 42 mois. Un nombre restreint de projets de plus courte durée et sélectionnés entre 2014 et 2016 font également partie de cette analyse – 9 et 3 projets issus des instruments de financement « International et National », respectivement –.

Les projets analysés sont organisés par instrument de financement. Leur périmètre est décrit en page 20. Les différents projets analysés ont été financés par les instruments suivants : 1/ **l'appel générique AAPG, programme Blanc compris** (nommé « National », 31 projets), 2/ **les JCJC** (15 projets), 3/ **les appels spécifiques nationaux**, tels que le programme MALZ (41 projets) et des appels à projets dédiés à l'innovation ou à la valorisation des résultats issus de la recherche tels que « Émergence de produits, technologies ou services à fort potentiel de valorisation », « Recherches partenariales et innovation biomédicale », « Technologies pour la santé et l'autonomie » et « Villes Numériques Connectées » (13 projets), 4/ **les PRCI** (9 projets) et 5/ **les appels internationaux** (25 projets). Pour ces derniers il s'agit d'appels à projets ERA-NET associés au programme conjoint de programmation « JPND » de l'appel à projets dédié aux Centres of Excellence in Neurodegeneration (CoEN) ainsi qu'une édition de l'ERANET-NEURON.

La présente analyse met en évidence la contribution des partenaires financés par l'ANR à la production générée au sein de consortia. Cette production inclut les publications scientifiques et autres résultats ayant un impact potentiel ou direct sur la santé. Le devenir des JCJC, l'élargissement des collaborations à des nouveaux partenaires, ainsi que l'obtention de nouveaux financements pour la poursuite des projets sont aussi examinés.

La production des projets dédiés à l'innovation et à la valorisation comprend principalement les dépôts de brevets, la création de start-up et l'interaction avec l'industrie. Finalement, 2 projets analysés concernent le travail des groupes de réflexion internationaux. Leur production qui consiste principalement en des livres blancs techniques n'est pas incluse dans les statistiques globales de cette analyse.

Composition des consortia financés

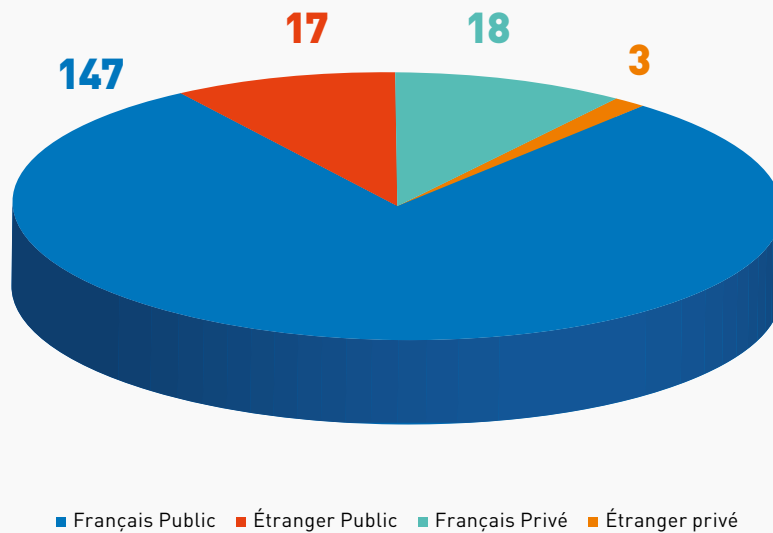
Les 278 projets financés ont mobilisé 630 équipes partenaires. Sur ces 278 projets, ont été analysés les 134 projets dont les rapports finaux ont été finalisés en 2018. À l'exception des projets JCJC, qui n'impliquent qu'un seul responsable scientifique, 88 % des projets analysés sont collaboratifs. L'appel générique et les appels nationaux spécifiques, dont MALZ impliquent principalement des partenariats franco-français, contrairement aux appels à projets PRCI et internationales. Cette section analyse la composition des consortia dans le contexte des instruments de financement concernés.

1) Composition des consortia : Partenariat public/privé

Les partenaires privés sont éligibles pour la plupart des instruments de financement concernés par cette analyse. Du fait que les entreprises privées ne pouvaient être que prestataire de service et non partenaire avant 2016, leur participation n'apparaît que dans 14 projets financés dans le cadre du « National spécifique » et un PRCI. Dans tous les cas, il n'y a qu'un partenaire privé par projet. Un total de 18 partenaires privés français et 3 partenaires privés étrangers sont impliqués dans les projets financés. Les partenaires privés représentent ~10 % des partenaires français dans les catégories National spécifique et PRCI, tandis que ce pourcentage s'élève à ~15 % si l'on considère les partenaires privés étrangers participant aux projets financés dans les mêmes catégories (**Figure 10**). Cela peut s'expliquer par le fait qu'à l'étranger, les consortiums sont plus importants avec plus de laboratoires de recherche et donc la présence de plus de partenaires privés. De plus, dans la période analysée, les règles de l'ANR énoncées dans les textes des appels à projets nationaux recommandaient d'intégrer des partenaires privés français pour éviter la concurrence étrangère. Peut-être manquait-il aussi une spécialisation des entreprises privées françaises dans le domaine des MND.

Les consortia impliquant des partenaires privés contribuent plus au dépôt de licences, à la création de protocoles, de publications de divulgation et revues et organisent plus de colloques comparés à des consortia constitués exclusivement de partenaires académiques. Leur production est équivalente dans tous les autres domaines analysés *i.e.* publications scientifiques, obtention de financement, etc.

Figure 10. Participation des partenaires privés/publics.



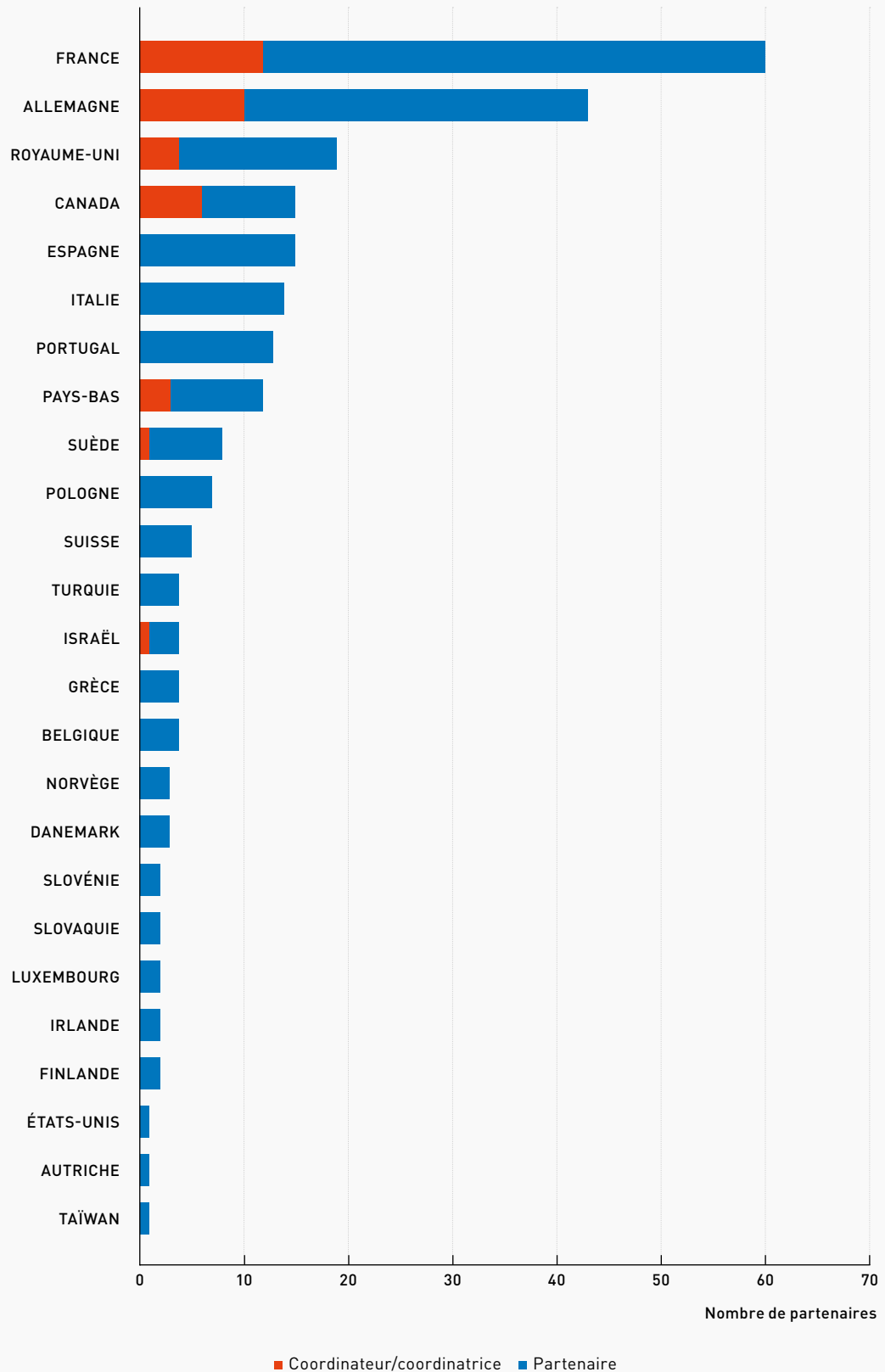
2) Composition des consortia internationaux financés

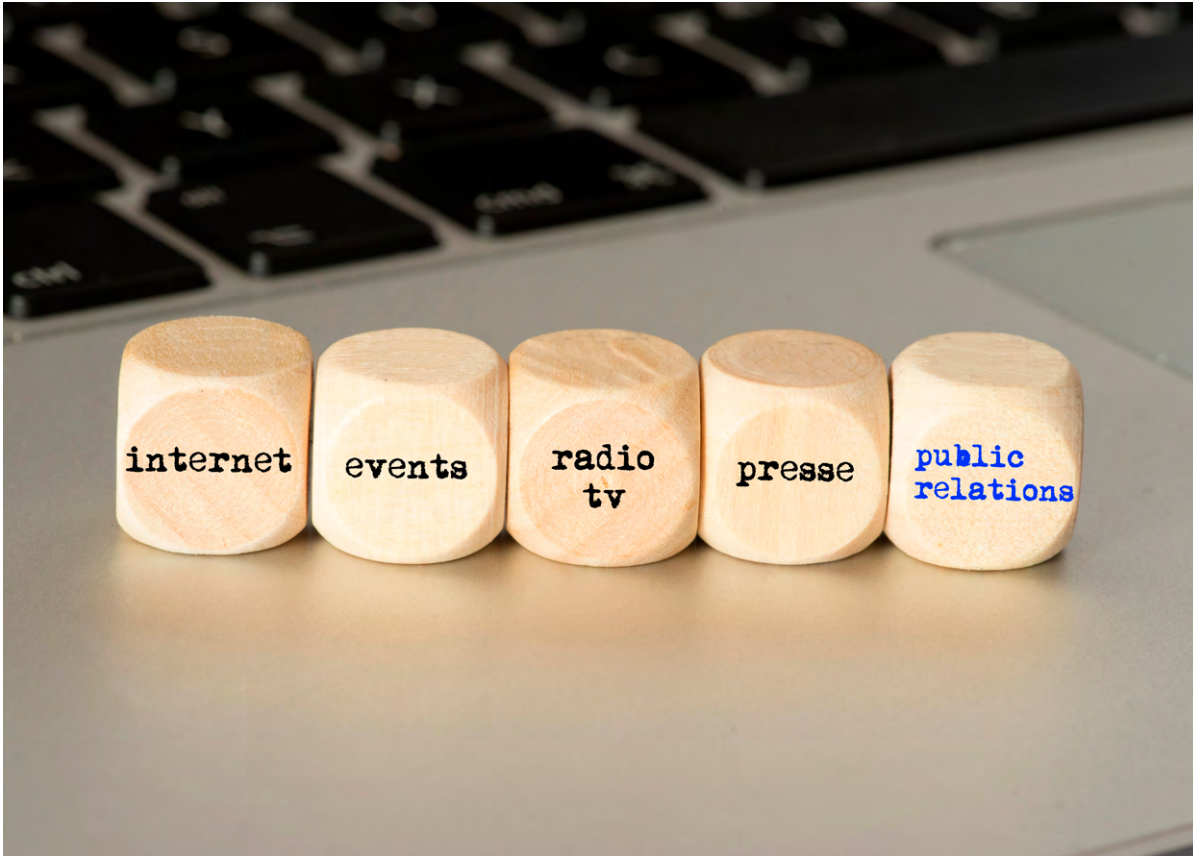
Cette section et la suivante concernent les projets en collaboration Internationale et PRCI. L'objectif est d'identifier le pays financeur des principaux partenaires des projets auxquels participent les équipes françaises financées par l'ANR. Comme indiqué sur la [Figure 11](#), au travers des projets concernés, les partenaires français collaborent, en Europe, majoritairement avec l'Allemagne suivie par le Royaume-Uni, l'Espagne, l'Italie, les Pays-Bas et le Portugal.

Il faut tenir compte du fait que cette répartition géographique est largement liée aux partenariats établis par l'ANR. Les collaborations financées dans ce domaine de recherche sont faibles avec les États-Unis du fait de l'absence de participation des États-Unis à la plupart des appels à projets. Elles sont aussi faibles avec les pays de l'EU-13 pour des raisons similaires mais à partir de 2015, les instruments de financement internationaux ont mis en place des mécanismes pour encourager la collaboration avec les pays EU-13, ce qui devrait changer cette tendance dans les années à venir.

On note sur la [Figure 11](#), une forte participation des équipes françaises, en tant que partenaires. En revanche, elles sont proportionnellement moins fréquemment coordinatrices des projets lorsque l'on compare, par exemple, à l'Allemagne, le Canada ou le Royaume-Uni).

Figure 11. Distribution des partenaires et coordinateurs impliqués dans les projets PRCI et Internationaux selon le pays de réalisation des recherches.





Impact des projets ANR

1) Les publications issues des équipes financées

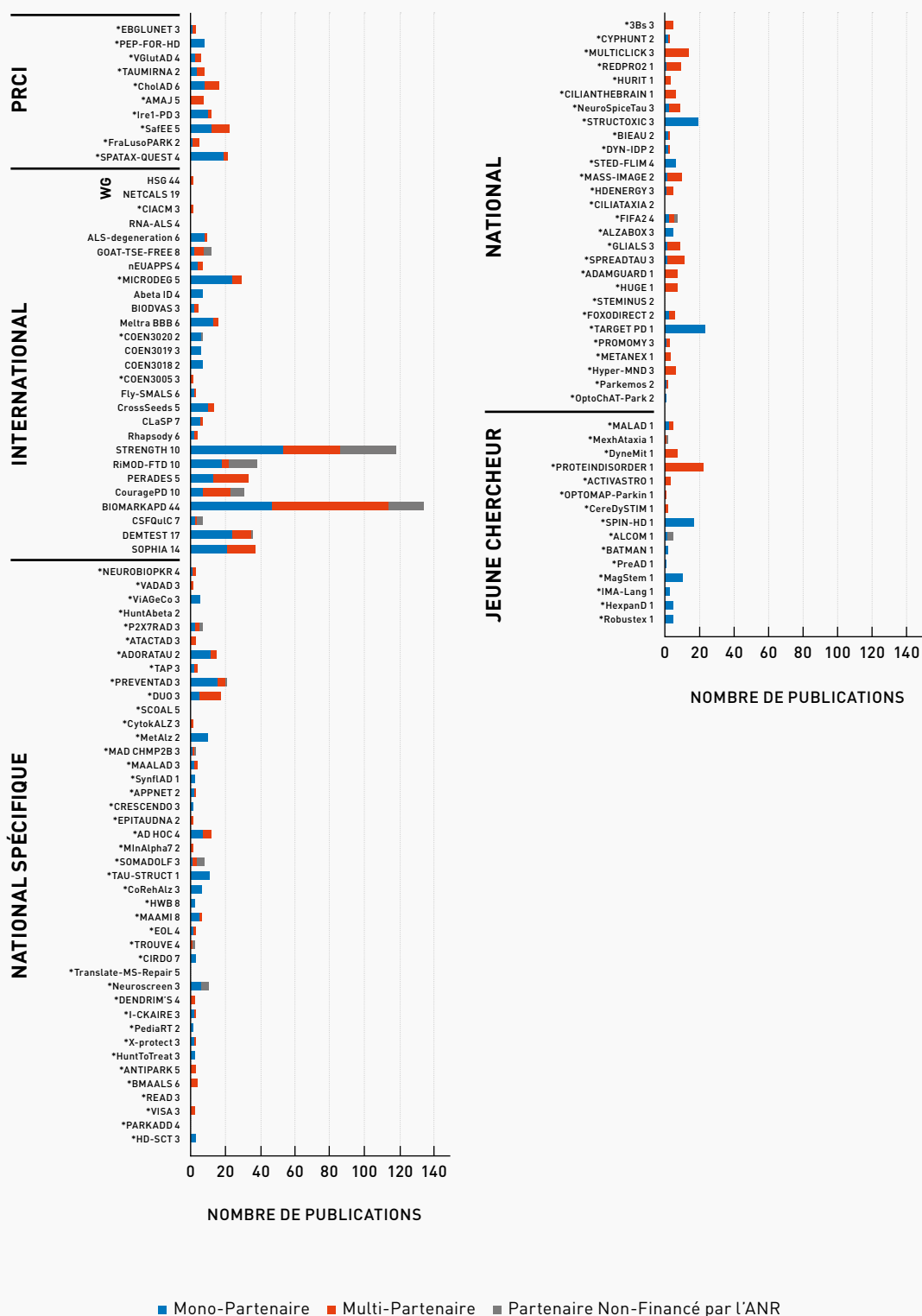
Un total de 1 179 publications scientifiques incluant ou n'incluant pas les équipes françaises participant aux projets dans le cadre des projets internationaux a été déclaré dans les rapports finaux des 134 projets analysés (593 de l'International, 109 des PRCI, 237 du National spécifique et 240 du National). Sur les 593 publications issues de l'International, seulement 65 ont été co-signées par des français dont 30 où le partenaire français est leader (dernier auteur ou « correspondant » auteur). Le taux de publication par projet est très variable – entre 1 et 138 articles. Ces chiffres sont bien sûr fonction du nombre de partenaires dans le consortium – intervalle de 1 à 44 partenaires – (**Figure 12**). Ainsi, sur les 138 publications du projet BiomarkAPD, 12 ont été co-signées par les partenaires français.

– Co-publications entre membres des consortia

Une première analyse a consisté à rechercher si les publications étaient mono (un seul membre du consortium figurant dans la liste d'auteurs) ou multi-partenaire (plusieurs membres du consortium figurant dans la liste d'auteurs). Cette partie de l'analyse concerne 105 projets. Sont exclus les projets des JCJC portés par un seul responsable scientifique (15 projets), ainsi que les projets menés par les groupes de réflexion (2 projets). 19 % (20 projets) déclarent seulement des publications produites par un seul partenaire du consortium. 19 % (20 projets) déclarent seulement des publications multi-partenaires, tandis que la majorité 54,3 % (57 projets) déclare les deux types de publications, où les multi-partenaires représentent en moyenne un peu moins de la moitié de leur production (40 %). Finalement 7 % (8 projets) déclarent n'avoir publié aucun article scientifique à la fin du projet.

Ce faible pourcentage peut s'expliquer par le décalage entre la fin du projet et les délais nécessaires à la publication. Les préprints ne sont pas comptabilisés dans cette étude.

Figure 12. Nombre de publications scientifiques mono- et multi- partenaires par projet analysé. Les publications des auteurs hors consortium non financés mentionnées dans le rapport final sont incluses dans cette figure. À gauche est indiqué le nombre des partenaires de chaque consortium. Les projets coordonnés par une équipe française sont indiqués par un astérisque*. L'appellation « National » correspond aux projets financés par les programme « Blanc 2010-2013 » et AAPG.



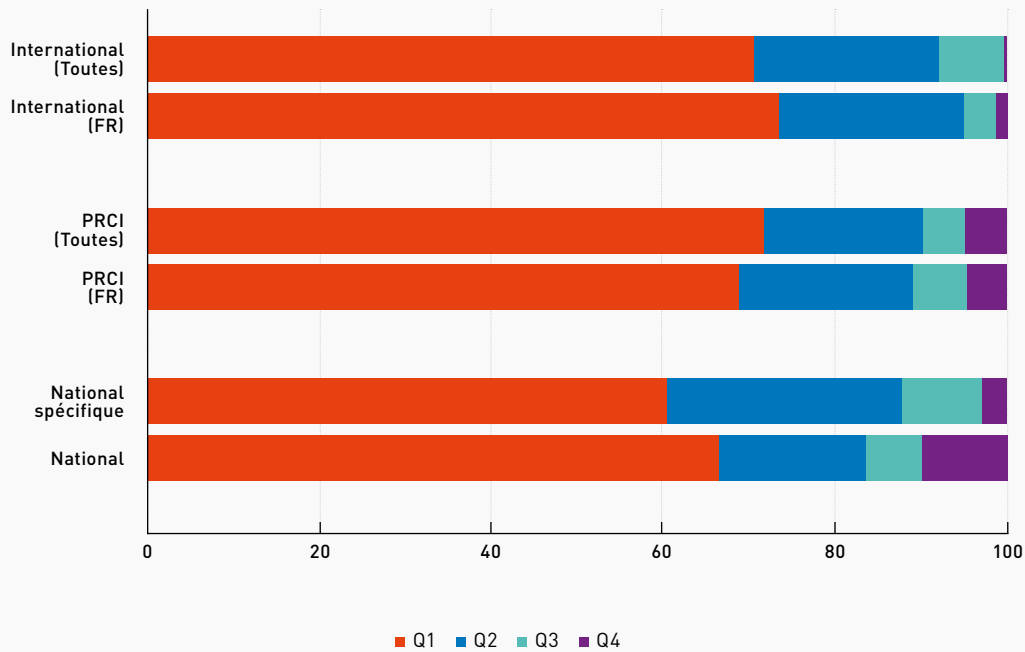
– Publications par classement de journal

Dans cette section, les publications scientifiques ont été organisées par quartile de classement, utilisant les Neurosciences ou la Neurologie comme domaines principaux (Figure 13). Plus de 60 % des publications scientifiques produites par les consortia financés sont classées dans le premier quartile (Q1), indépendamment du type d'appels à projets à l'origine du finance-

ment. Le pourcentage de publications classées dans le premier quartile dépasse 70 % dans les appels à projets en collaboration internationale et PRCI. La proportion des articles en Q1 augmente légèrement, si l'analyse concerne seulement les publications avec au moins un partenaire français pour les appels à projets internationaux (FR) (Figure 13).

Figure 13. Classement par quartile du facteur d'impact des publications scientifiques selon l'initiative de financement.

Pour les publications issues de projets internationaux et PRCI, la figure représente la totalité des publications du projet (ligne du haut) et celles impliquant les partenaires français (FR) (ligne du bas). Les projets JCJC sont inclus dans les 2 instruments de financement, National Spécifique et National.



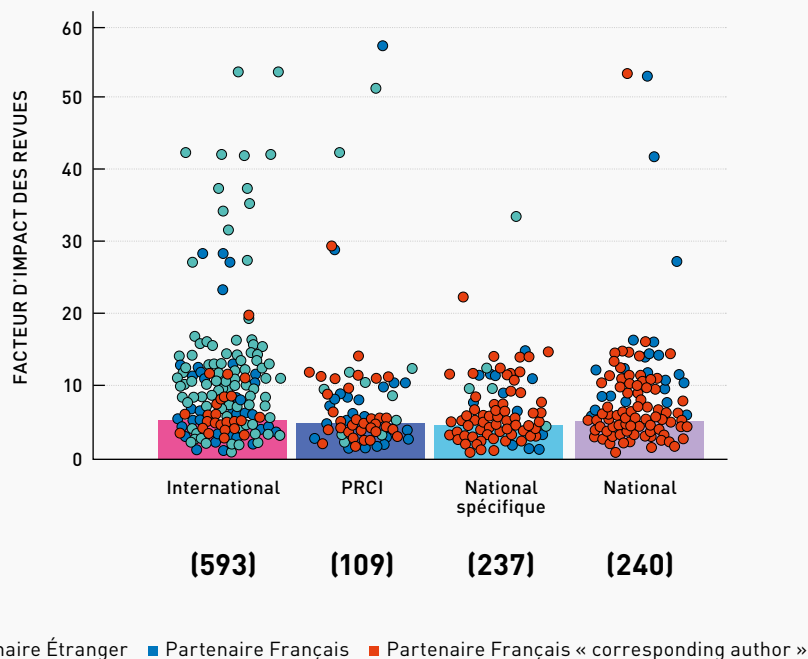
La Figure 14 montre la distribution des publications par facteur d'impact et leur nombre en fonction du type de financement. En ce qui concerne les partenaires français financés, la distribution des publications est similaire entre les appels à projets International, PRCI, National Spécifique et National, à l'exception de :

- 1/ certaines publications (y compris des revues) avec un facteur d'impact très élevé dédiées à la recherche clinique, mais qui correspondent aux appels à projets internationaux ;
- 2/ des publications généralistes, telles que Lancet, JAMA ou Nature ;

3/ une revue à comité de lecture (*Nature Reviews Drug Discovery*), publiée par des porteurs impliqués dans sept consortia internationaux JPND ou ERA-NET NEURON et un projet PRCI (Ire1-PD, 2013).

La Figure 14 révèle aussi que malgré la présence des partenaires français dans les consortia internationaux, leur niveau de publications, si l'on s'en réfère à l'impact facteur, n'augmente pas, pour la majorité.

Figure 14. Médiane de facteur d'impact des publications en fonction du type de financement. Les publications individuelles sont représentées par un rond. Le chiffre entre parenthèse indique le nombre total des publications scientifiques dans chaque instrument de financement. Les projets JCJC sont inclus dans les 2 types de financement, National Spécifique et National. Les diagrammes en barres représentent la médiane de tous les facteurs d'impact par catégorie.



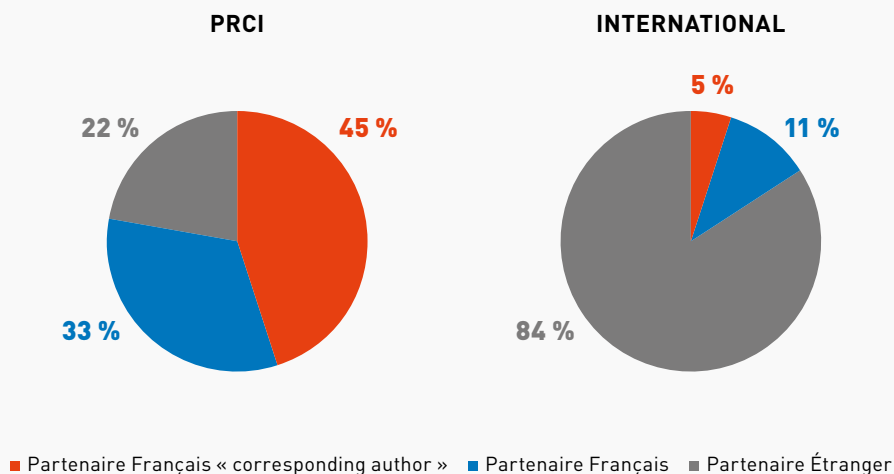
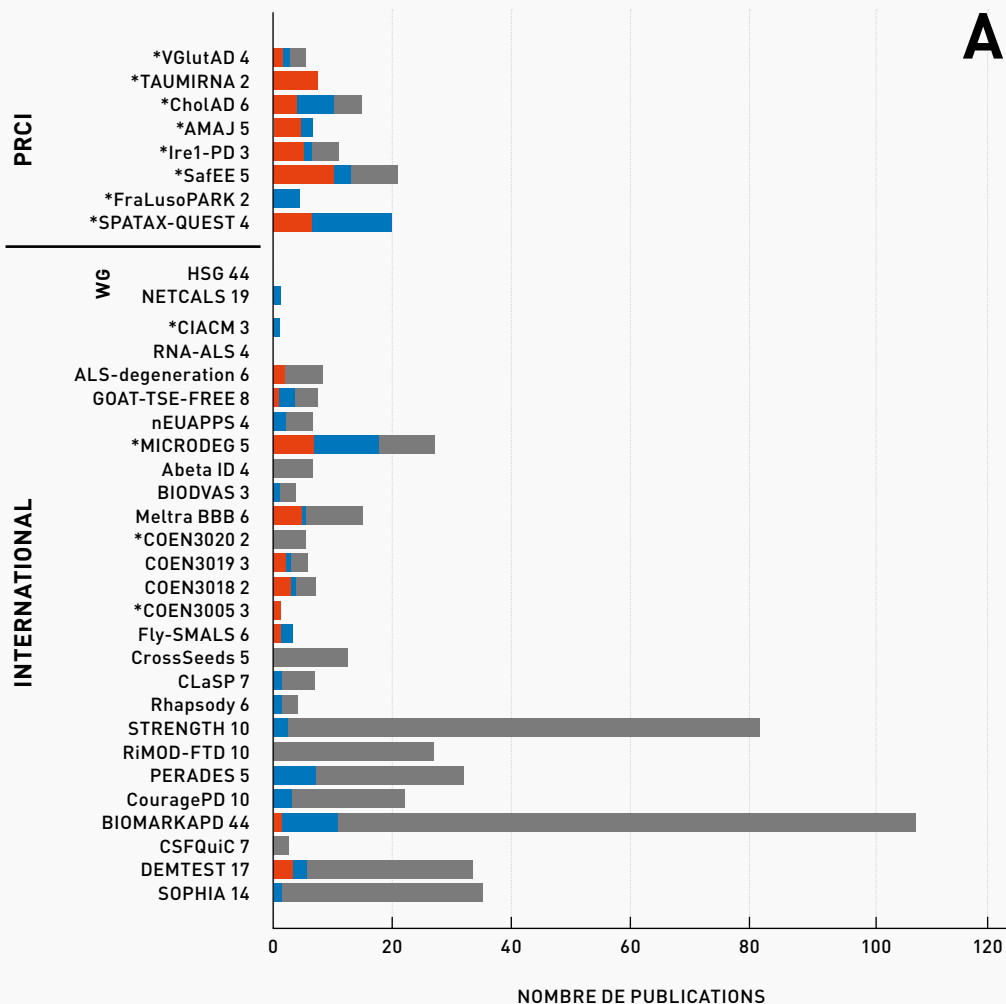
— Publications scientifiques / Contribution des partenaires Français

Cette section concerne les projets en collaboration Internationale et PRCI – 35 projets analysés – et a pour objectif d'analyser le rôle des partenaires français figurant dans les publications scientifiques du consortium. Les appels à projets « International » et « PRCI » ont en effet pour objectif principal de développer des collaborations franco-internationales.

La **Figure 15** montre le nombre total de publications scientifiques par projet dans chaque instrument de financement, les publications dans lesquelles un partenaire français est présent dans la liste d'auteurs. Le dernier auteur ou « corresponding author » est indiqué.

Figure 15. Rôle du Partenaire Français dans les publications scientifiques produites par chaque projet, issu des appels à projets International et PRCI. Ce rôle est défini selon le placement de l'auteur français dans la liste d'auteurs en Leader – correspondant auteur ou/et dernier auteur – ou partenaire – toutes les autres positions.

(A) Nombre de publications scientifiques par projet International et PRCI. Les projets coordonnés par une équipe française portent un astérisque. **(B)** Pourcentage des partenaires français selon leur rôle dans les publications scientifiques dans les 2 instruments de financement International et PRCI.



Comme attendu, les consortia, dans l'instrument « International », produisent un plus grand nombre de publications scientifiques, dû à l'implication d'un plus grand nombre de partenaires par projet financé (Figure 15A). La Figure 15B révèle que dans l'instrument « International », 84 % des publications n'ont comme auteurs que les partenaires étrangers. Dans ces consortia, la contribution des partenaires français représente 16 % des publications dont 5 % où ils sont « corresponding authors ». Ce constat suggère un manque de collaborations entre les partenaires français et étrangers. Mais ce faible pourcentage est sans doute biaisé par le fait que, dans cette analyse, 2 projets internationaux, « Strength » et « BioMARKAPD », ont conduit à la production de plus de 80 et 110 articles avec, respectivement, 6 et 2 articles à très haut facteur d'impact, diluent la participation des chercheurs français aux publications. Il reste cependant qu'une des forces des équipes françaises est d'être en position de leader dans les publications issues de certains consortia coordonnés par des équipes étrangères, comme c'est le cas pour l'initiative Centres of Excellence in Neurodegeneration-CoEN.

Dans l'instrument de financement « PRCI », le pourcentage de participation des partenaires français en position de leader (dernier auteur ou « corresponding author ») atteint 50 %, ce qui est attendu, vu que la coordination des projets est bilatérale, dans cet instrument : donc confiée, soit à la France, soit au pays étranger en fonction de l'année de l'appel PRCI.

2) Retombées pour la Recherche et la Santé

Dans les projets analysés, on peut observer le développement d'un nombre très significatif d'**outils et modèles expérimentaux** pour la recherche au stade préclinique. Pour exemple, des modèles animaux ou cellulaires portant des modifications génétiques ou des lésions induites expérimentalement pour l'étude de la maladie d'Alzheimer, de la maladie de Huntington, des maladies à prions, la sclérose latérale amyotrophique, et la sclérose en plaques, et autres maladies neurodégénératives (29 projets).

Trente projets ont abouti au développement et à l'utilisation de **dispositifs expérimentaux** permettant par exemple 1/la reconstruction des circuits neuronaux (3 projets), 2/ l'identification d'agrégats de la protéine Tau (SPREADTAU, Tau-STRUCT), de l'hangtine (SPIN-HD) et des prions cryptiques (Unmasking Blood Prions), 3/ de nouvelles méthodes d'imagerie, RMN, EEG (4 projets dont HDENERGY, ADAMGUARD, LOCOMOTIV), 4/ des méthodes automatisées d'analyse d'images et d'algorithmes d'analyse génétique (6 projets dont In Vivo STED), 5/ le développement de puces microfluidiques (MicroDEG, NeuroScreen). Un projet (CIACM) a développé un modèle computationnel du fonctionnement du système vasculaire chez les sujets âgés.

Vingt-et-un projets ont contribué à identifier des **déterminants génétiques ou protéiques** associés au risque de développement ou de complications pour 1/ la sclérose latérale amyotrophique (5 projets dont SOPHIA), 2/ la Maladie d'Alzheimer (ADAMGUARD, CIRCROT, PREVENTAD, TAF, Tau miRNA, CoEN 3019), 3/ les dégénérescences fronto-temporales (RIMOD-FTD, MAD-CHMP2B, ToFU) et spinocérébelleuses (ModelPolyQ), 4/ la maladie de Charcot (1 projet), 5/ la maladie d'Huntington (FOXODIRECT, HUGE) et 6/ la maladie de Parkinson (4 projets dont Parkemos, TARGET PD). La grande majorité de ces contributions provient des projets financés dans les appels à projets internationaux JPND et CoEN. Entre 2012 et 2014, l'identification des déterminants génétiques responsables des maladies a tenu une place prépondérante dans les appels internationaux.

Outre les déterminants génétiques, au moins 29 projets sont concernés par l'identification des **mécanismes moléculaires et cellulaires associés à la physiopathologie**. Les études impliquant *la maladie d'Alzheimer* se sont intéressées 1/ au rôle des peptides amyloïdes et de la protéine Tau dans le fonctionnement normal ou pathologique du cerveau, à l'identification des facteurs impliqués dans leur agrégation (SPREADTAU), 2/ au rôle de l'hangtine dans le transport d'APP dans les axones et dendrites (HUNT-ABETA), 3/ à la perturbation du cytosquelette (MAALAD) et 4/ à la transmission glutamatergique (VGLUTAD). L'importance d'une réserve cognitive (CoRehAlz), des récepteurs adénosine A2A (ADORATAU), nicotiques alpha 7 (Min Alpha7) et purinergiques P2X7 (P2X7RAD), des acétyltransférases (ATACTAD), et des déficits métaboliques (MetALZ, CholAD) a aussi été identifiée. Le projet VADAD a analysé le rôle du dysfonctionnement cérébrovasculaire lié à l'hypertension artérielle dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer.

Les études sur *les maladies à prions* se sont principalement intéressées à la dérégulation de l'axe de signalisation PDK1-TACE comme trait de neurodégénérescence partagé par d'autres maladies neurodégénératives amyloïdes (PrPC/PDK1).

Les études sur *la sclérose latérale amyotrophique* se sont principalement concentrées sur les mécanismes responsables 1/ de la stabilité axonale, 2/ de la régénération de la gaine de myéline, 3/ des gènes et interactions modifiées entre motoneurons et astrocytes et 4/ de la dynamique de la fonction neuroinflammatoire (NeuroInflamDyn, CYTOKALZ, SYNFLAD).

Dans le contexte de *la maladie de Huntington*, 1/ la modification de fonctions neuronales dans les régions affectées, la modulation sélective des astrocytes activés (ACTIVASTRO), 2/ les défauts du transport axonal (HURIT), 3/ le rôle de l'hangtine pendant la neurogenèse corticale (HUGE) et 4/ les régulations épigénétiques (HexpanD) ont été majoritairement étudiés.

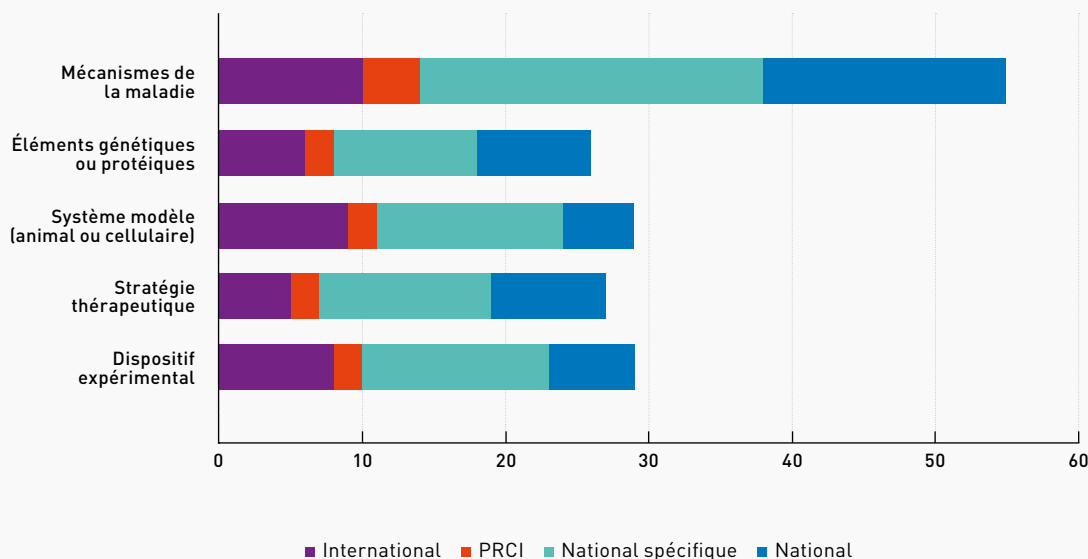
Les projets sur *la maladie de Parkinson* se sont intéressés 1/ au dysfonctionnement des circuits neuronaux (OPTOMAP-PARKIN) et du trafic membranaire (Met-DePADI), 2/ aux interneurons cholinergiques (OptoChaT-Park), 3/ à la propagation des assemblages protéiniques pathogènes (NeuTARGETS, STRIATANS, STRUCTOXIC) et 4/ à la modélisation multifactorielle de la dégénérescence parkinsonienne (TARGET-PD).

Enfin, 19 projets ont développé des **stratégies thérapeutiques** testées sur des modèles cellulaires et animaux pour 1/ la maladie de Parkinson (4 projets dont CereDySTim, X-PROTECT), 2/ la sclérose en Plaques (4 projets dont COEN 3020, IC-KAIRE, EOL), 3/ la Ma-

ladie d'Alzheimer (6 projets dont ADAMGUARD, AD HOC), 4/ la maladie de Huntington (2 projets), 5/ la maladie Charcot (1 projet) et 6/ les maladies à prions (1 projet) et 5/ pour le contrôle de la différenciation de cellules souches (1 projet).

La **Figure 16** montre l'implication des différents types d'instrument de financement (International, PRCI, National Spécifique) dans chacun des champs thématiques en recherche préclinique. Tous les types d'instrument de financement contribuent à l'ensemble des thèmes étudiés dans des proportions comparables, avec une contribution majeure des appels à projets « National spécifique ».

Figure 16. Contribution des projets à la recherche préclinique.



– Recherche Clinique

Concernant la recherche clinique, les projets internationaux ont principalement contribué à l'identification et à la validation de candidats biomarqueurs et de déterminants génétiques. En contraste, les projets financés dans le cadre des appels nationaux spécifiques ont majoritairement contribué au développement de thérapies innovantes, testées chez l'Homme et de dispositifs médicaux technologiques.

Biomarqueurs : Treize projets ont travaillé à la validation de biomarqueurs pour le diagnostic, le pronostic et la progression de la maladie sur des modèles animaux et chez les humains. Les projets analysés

ont proposé des marqueurs comportementaux ou biologiques 1/ pour la maladie d'Alzheimer et autres démences (PERADES, BIOMARKAPD, BRIDGET), 2/ les dégénérescences de l'enfance (1 projet), 3/ la démence vasculaire (2 projets), 4/ la maladie de Parkinson (MeMoDeeP, BIOMARKAPD), 5/ les maladies à prions (2), 6/ la maladie de Huntington (1 projet), 7/ la sclérose en plaques (1 projet) et 8/ la sclérose latérale amyotrophique (1 projet).

Déterminants génétiques : Neuf projets étaient concernés par des études de séquençage ou la validation sur du tissu humain des biomarqueurs précédemment identifiés sur des modèles animaux pour 1/ la maladie d'Alzheimer (1 projet), 2/ la maladie de

Parkinson (1 projet), 3/ les maladies à prions (2 projets dont CrossSeeds), 4/ la démence vasculaire (1 projet), 5/ la sclérose latérale amyotrophique (1 projet), 6/ la sclérose en plaques (1 projet), 7/ la maladie de Huntington (1 projet) et 8/ les dégénérescences de l'enfance (1 projet).

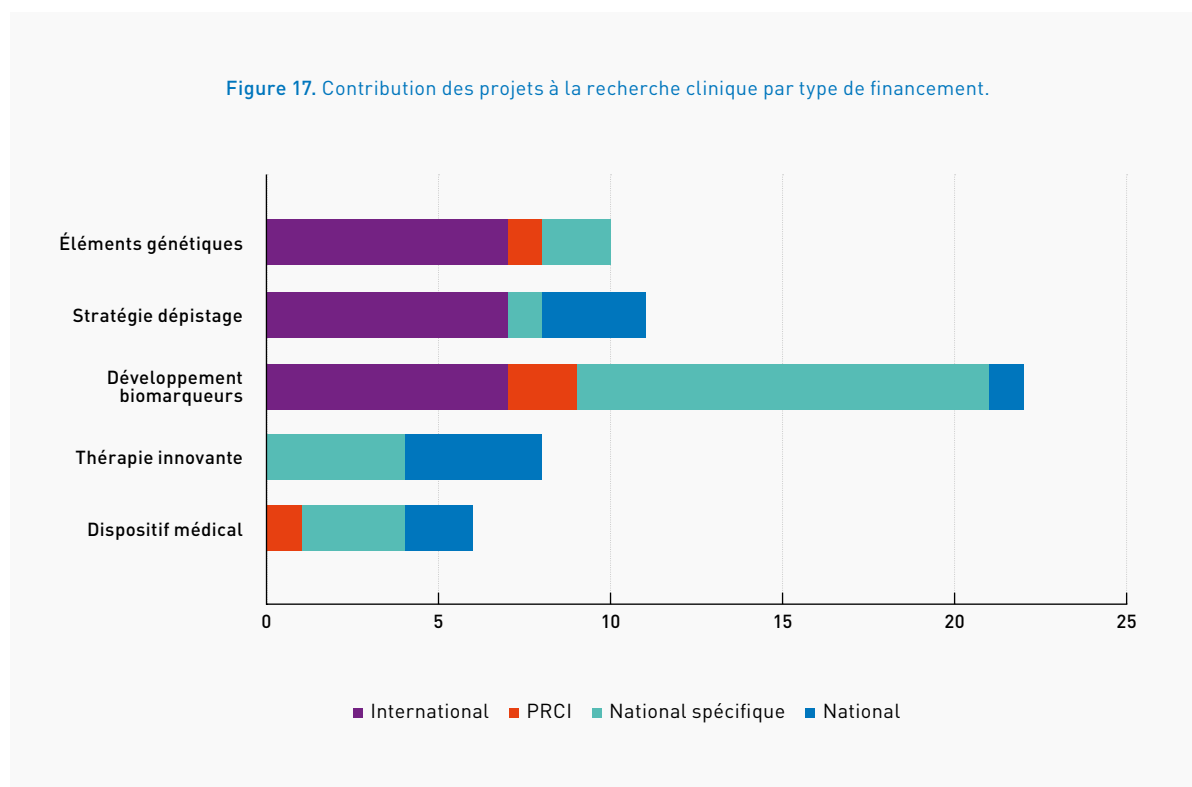
Méthodologie pour le dépistage : Principalement dans le contexte des études des déterminants moléculaires des MND, de nouvelles méthodologies/protocoles pour le dépistage ont été développés ou standardisés (2 projets dont ViAgeCo).

Développement stratégies thérapeutiques : Trois projets ont principalement contribué à des thérapies innovantes pour 1/ la sclérose latérale amyotrophique, 2/ le déclin cognitif lié au vieillissement, et 3/ les effets thérapeutiques de l'inclusion sociale pour les patients atteints de la maladie d'Alzheimer.

Dispositif médicaux : Cinq projets ont développé 1/ des dispositifs pour la compensation du déclin cognitif dans la maladie d'Alzheimer et la sclérose latérale amyotrophique, et 2/ des dispositifs permettant la communication malades-soignants à distance.

La **Figure 17** montre la contribution des différents instruments de financement pour la recherche clinique. D'une façon générale, les projets internationaux contribuent plus à la caractérisation de biomarqueurs et l'identification de déterminants génétiques en accord avec le périmètre des appels à projets lancés pendant les années de financement des projets analysés. En revanche, les projets financés par les appels nationaux spécifiques type MALZ avec un objectif de transfert de connaissances vers la pratique médicale, contribuent plus au développement de dispositifs médicaux et aux tests des thérapies innovantes.

Figure 17. Contribution des projets à la recherche clinique par type de financement.

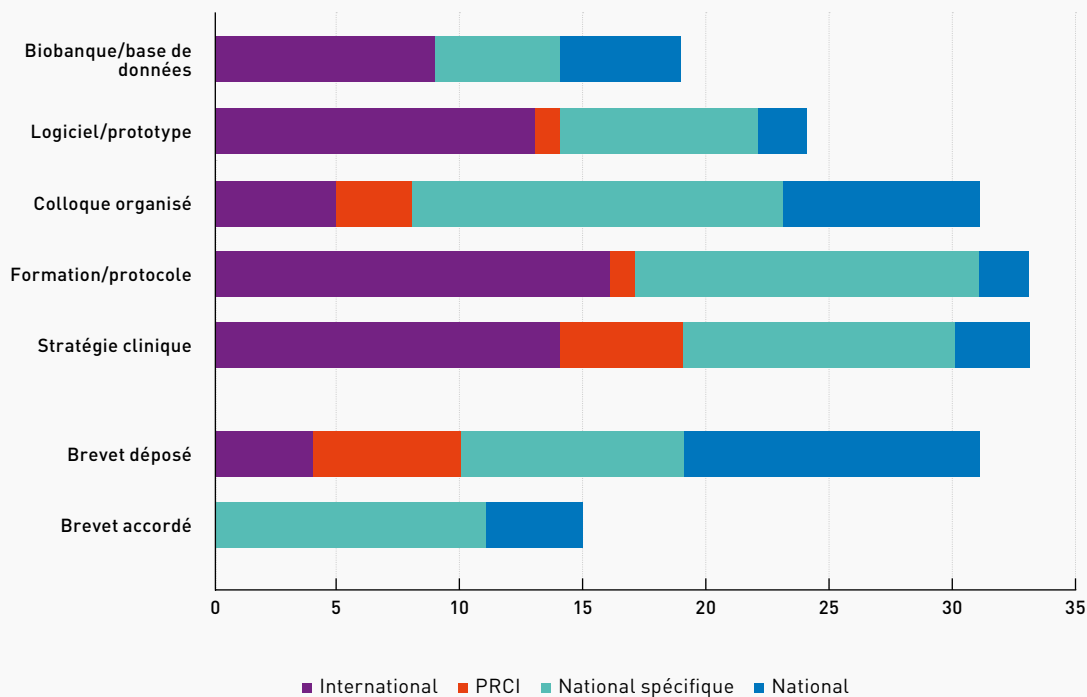


— Impact des résultats sur les pratiques professionnelles scientifiques et médicales

Dans cette section, sont analysées les contributions ayant une influence sur les pratiques professionnelles dans les communautés scientifique et médicale, telles que des bases de données, des bio-banques, logiciels et organisation de colloques ou formations.

Des nouveaux protocoles pour la détection, la thérapie, la réhabilitation et la prévention adaptés à l'utilisation médicale ou pouvant être adoptés par d'autres communautés scientifiques ont aussi été déclarés dans les rapports. La **Figure 18** montre les contributions des projets selon le type d'initiative de financement.

Figure 18. Contributions des projets à la pratique professionnelle scientifique et médicale.



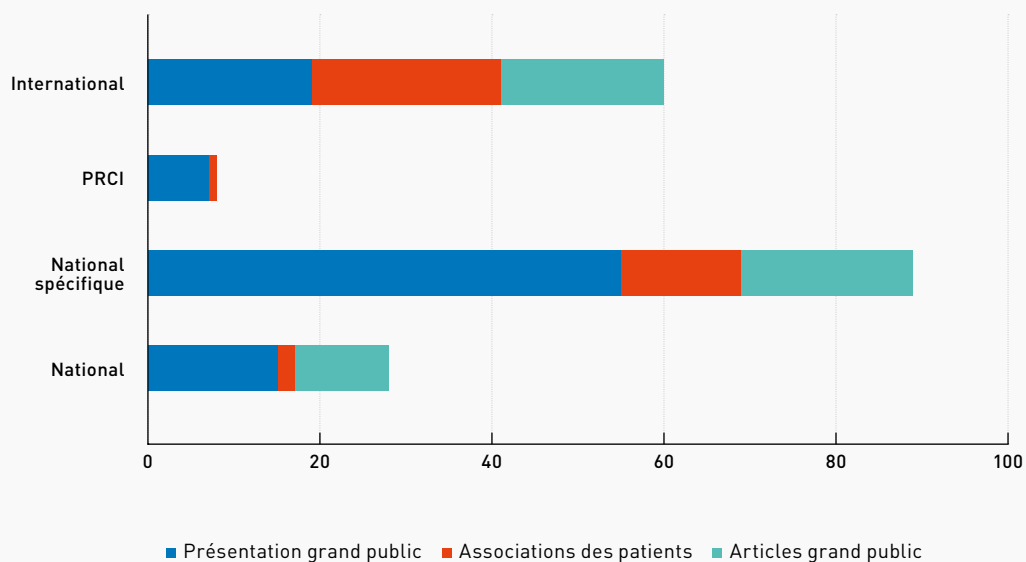
Au total, trente-cinq brevets ont été déposés dans 16 projets, dont 15 ont été accordés mais encore non licenciés. Les brevets obtenus concernent : 1/ des composés neuroprotecteurs pour la maladie de Parkinson (2 projets), d'Alzheimer (1 projet) et Huntington (3 projets) ; 2/ l'utilisation de la chimie Click pour le développement de ligands pour la maladie d'Alzheimer (1 projet), 3/ des dispositifs pour le contrôle de la différenciation des cellules souches (1 projet) ; 4/ des molécules pour le traitement de la sclérose en plaques (1 projet) ; 5/ des composants pour contrôler la dégénérescence maculaire liée à l'âge (1 projet) ; 6/ des dispositifs pour compenser des fonctions chez les personnes atteintes de sclérose en plaques (1 projet) ; et 7/ des techniques pour analyser les lipides dans le contexte de la sclérose amyotrophique latérale (1 projet) (Figure 18). Il est à noter que l'instrument de financement « National spécifique » est présent de façon importante dans tous les champs thématiques et le « National » a le plus contribué à l'innovation par un nombre important de dépôts de brevets.

— Contributions pour le grand public

Un certain nombre de projets déclarent des actions de communication et de divulgation dirigées vers le grand public (Semaine du Cerveau, Science et Santé, TV5 Monde, JournalTV M6...) et les associations de patients (CJD patients, Care Research Wales, European Parkinson Disease Association (EPDA), Association Huntington France (HA), Association Connaître les symptômes cérébelleux (CSC), Association Française de Friedreich, Association APICAEN...) sous la forme d'articles de vulgarisation ou de conférences.

Ces communications concernent principalement des informations sur les maladies, les nouveaux outils et modèles expérimentaux, ainsi que des rapports ou articles contenant la description et les résultats des projets. La Figure 19 démontre que tous les instruments de financement contribuent de manière comparable à la communication avec le grand public, celles-ci étant inégalement réparties (ou renseignées dans les rapports), et le plus souvent concentrées sur certains consortia. L'instrument de financement « National spécifique » semble être le plus actif.

Figure 19. Communications dirigées vers le grand public.



— Élargissement et continuité de la collaboration

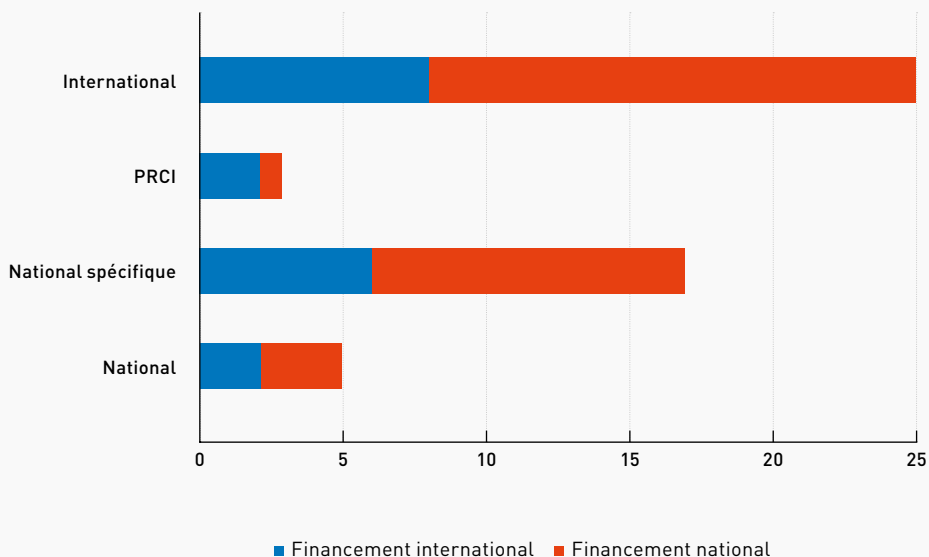
Pendant la vie d'un projet, certains consortia engagent de nouvelles collaborations, afin d'élargir les objectifs initiaux ou de répondre à des questions issues des résultats obtenus. Dans la limite de l'information déclarée dans les rapports finaux, la présente analyse met en évidence l'établissement de collaborations avec de nouvelles équipes de recherche, non membres du consortium originel financé, ainsi que de nouvelles demandes de financement impliquant des membres déjà financés dans les consortia et les nouvelles collaborations établies.

La majorité des consortia internationaux financés (57 %) ont établi entre 1 et 8 nouvelles collaborations avec des équipes externes au consortium originel. Cette pratique est nettement moins fréquente parmi les projets financés par les appels à projets PRCI ou National Spécifique, car seulement 25 % environ des équipes ont établi entre 1 et 4 nouvelles collaborations. Il est possible que la taille du consortium originel détermine une tendance à établir de nouvelles collaborations ; la taille des consortia internationaux étant plus importante à l'origine : moyenne de 5 membres à l'International comparé à 4 et 3 pour les PRCI et le National Spécifique, respectivement, et entre 1 et 4 pour le National.

En ce qui concerne les nouvelles demandes de financement, 33 ont été obtenues par 19 consortia. Sept financements avec un coordinateur français ont été obtenus en France (FRM, Fondation ELA, Fondation France Alzheimer (Figure 20)).



Figure 20. Nombre de financements obtenus pour la continuation des projets.



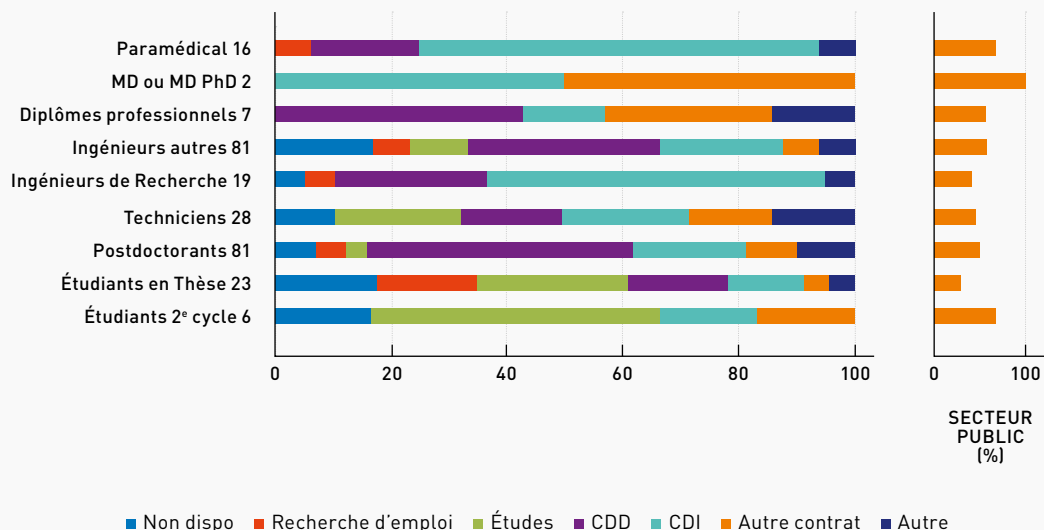
3) Avancement de carrière du personnel participant aux projets financés et devenir des JCJC

Cette section concerne tous les projets financés (108 projets) à l'exception des appels à projets internationaux, dont l'information n'est pas disponible dans les rapports finaux. Outre les partenaires du consortium, un total de 263 personnes ont été employées sur contrat non permanent financé par l'ANR dans les 108 projets analysés. Le personnel a été classifié en fonction de leur niveau d'études avant le projet, en personnel paramédical, médical, diplômé d'une branche autre que la recherche, ingénieur de recherche, ingénieur d'étude (assistant ingénieur inclus), technicien, post-doctorant, étudiant en thèse ou de deuxième cycle. Les personnels participant le plus aux projets sont les ingénieurs, post doctorants, techniciens et étudiants en thèse.

La **Figure 21** montre le type de contrat ou activité exercé par le personnel à la fin du projet selon son niveau d'études pendant le projet, ainsi que le pourcentage du personnel travaillant dans le secteur public, principalement académique ou hospitalier. Quatre catégories sont concernées par la poursuite professionnelle après le projet : étudiants en thèse ou du deuxième cycle, les ingénieurs et les techniciens.

Les professions paramédicales et médicales ont obtenu des contrats à durée indéterminée (CDI), tandis que dans toutes les autres catégories 30 à 50 % du personnel obtient des contrats à durée déterminée (CDD) à la fin du projet ; les post doctorants étant les principaux contributeurs dans cette dernière catégorie. Les demandeurs d'emploi représentent entre 5 et 15 % pour 5 catégories en ordre décroissant : paramédicale, étudiant en thèse, ingénieur de recherche, ingénieur d'une autre branche et post doctorant. Les autres types d'emploi ne pouvant pas être identifiés dans les catégories CDI et CDD concernent entre 5 et 40 % du personnel dans les catégories suivantes, en ordre décroissant : les diplômés de branches autres que la recherche, les techniciens, les étudiants en thèse, ingénieurs de branches hors recherche et les post -doctorants. Il faut néanmoins rester prudent sur les résultats de cette analyse, car l'ensemble des rapports ne donnent pas forcément la liste complète du devenir des personnels employés pendant le projet et l'obligation des personnels à respecter la loi Sauvadet peut amener un biais à ces pourcentages. Par ailleurs, l'obtention de financements par les chercheurs impliqués dans les consortia, et principalement les coordinateurs de projets, leur permet le plus souvent une meilleure évolution de carrière.

Figure 21. Devenir professionnel du personnel en CDD impliqués dans les projets.
Les chiffres à droite des ordonnées correspondent au nombre total de personnels employés dans chaque catégorie.



— Devenir des JCJC

L'analyse des 15 projets JCJC montre un excellent bilan puisque les objectifs voulus pour ce type d'instrument de financement ont été, pour la majorité, atteints. 47 % des porteurs de projets JCJC sont devenus responsables d'équipe (6) ou de département (1). Le nombre et le niveau des publications est excellent.

Sur les 15 projets, on peut noter :

- L'obtention de 3 ERC ;
- L'obtention de 13 nouveaux projets ANR financés dont 8 comme coordinateur/coordinatrice ;
- Une participation, pour 2 d'entre eux, dans des consortia internationaux (FP7 European Grant financement, European Cooperation in Science and Technology) ;
- L'obtention de prix nationaux et internationaux, dont le Young Investigator Award 2013 de l'European Network to Cure ALS (ENCALS), le Prix 2013 de la Frick Foundation et le Prix « Eliane et Gérard Pauthier » 2018 de la Fondation de France.



PARTIE 4.

PERSPECTIVES EN TERMES DE RECHERCHE ET D'INNOVATION SUR LES MND

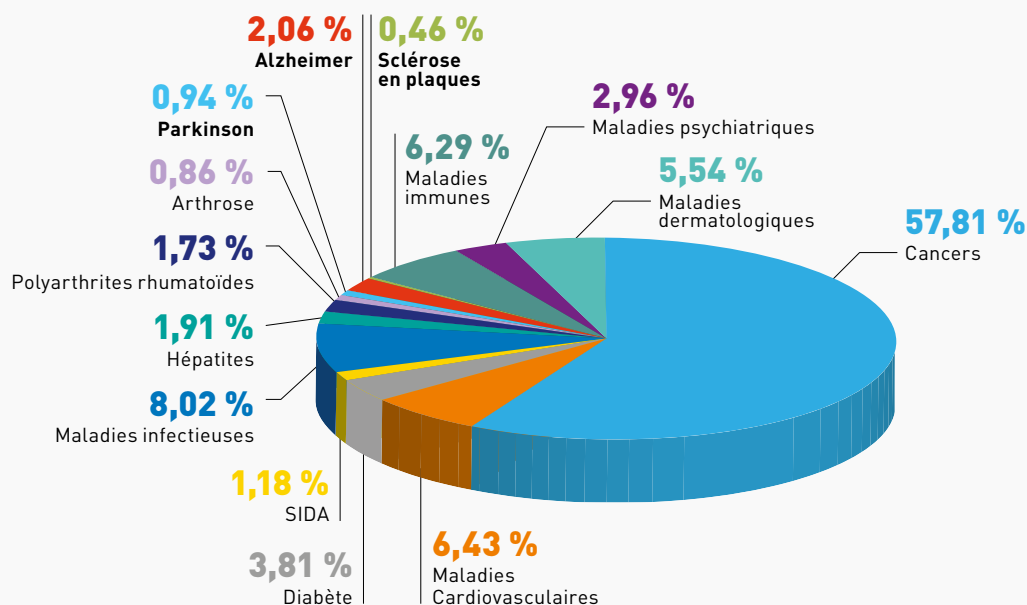
Les maladies neurodégénératives (MND) sont des affections invalidantes. Au sein de l'ensemble des pathologies neurodégénératives, les deux plus fréquentes sont les maladies d'Alzheimer et de Parkinson. La sclérose en plaques est plus rare, mais en revanche très invalidante. Le nombre de personnes atteintes est en continuelle progression, particulièrement dans le cas des pathologies affectant les fonctions cognitives. À titre d'exemple, la maladie d'Alzheimer touche 900 000 personnes en France et 35,6 millions dans le monde. 225 000 nouveaux cas sont recensés chaque année (7,7 millions dans le monde) et des prévisions indiquent que le nombre de cas devrait presque doubler tous les 20 ans. Le grand âge et la perte d'autonomie liée aux MND représentent un des défis médicaux et sociétaux majeurs du futur. La forte prévalence de ces pathologies, revers de l'allongement de l'espérance de vie, entraîne un coût économique et social considérable, bien plus important que le cancer, les maladies cardiovasculaires et le diabète réunis. Un des grands problèmes réside dans le fait qu'il existe un délai souvent long entre le déclenchement de la maladie et l'apparition des premiers symptômes. La recherche est encore aujourd'hui dans sa phase la plus frustrante. On observe une meilleure connaissance des mécanismes physiologiques, de l'épidémiologie, de l'impact environnemental et de la génétique moléculaire, mais les traitements actuels n'empêchent pas la progression de ces pathologies, permettant au mieux de stabiliser et de réduire leurs symptômes. En raison de nombreux essais cliniques infructueux, les grandes firmes pharmaceutiques réduisent leurs activités de R&D en Neuropharmacologie.

À l'heure actuelle, des traitements existent pour limiter les symptômes de ces maladies, mais aucun ne permet de ralentir leur évolution et encore moins de les guérir. La **Figure 22** (Long, 2017) extraite du « *Bio-pharmaceutical Pipeline : Innovative Therapies in Clinical Development* » publié par PhRMA (The Pharmaceutical Research and Manufacturers of America) donne une image du nombre de médicaments en développement dans le monde et leur répartition tout au long de la chaîne de recherche et de développement : phases précliniques et cliniques (phases I, II et III).

On constate une vague d'innovations thérapeutiques, principalement dans le domaine de la cancérologie. Face au cancer, les MND, comme la maladie d'Alzheimer, de Parkinson et la Sclérose en plaques semblent rester le « parent pauvre » de la R&D, 240 molécules au total contre 4 006. La différence de résultats peut s'expliquer par une différence de financements alloués aux MND par rapport au cancer : Pour exemple, 1,5 Md€ pour le Plan Cancer 2014-2019 contre 470 M€ pour le Plan MND 2014-2019, mais les financements sont proportionnels au nombre de patients (3,8 millions de cancéreux contre 1,2 million de patients MND). Néanmoins, le faible pourcentage (6 %) de molécules « MND » en développement reflète l'aridité des stratégies thérapeutiques. La compréhension incomplète des mécanismes physiopathologiques de ces maladies – la faible prédictibilité des modèles animaux (aux vues de la complexité de la maladie) – la difficulté de recrutement d'un grand nombre de patients – la grande hétérogénéité du profil de ces patients – le choix de tester une seule molécule à la place de combinaison de médicaments et – l'apparition d'effets secondaires graves sont les principaux facteurs expliquant le faible taux de succès de la R&D. En raison du fort taux d'échec pendant les phases cliniques, le nombre de candidats-médicaments en phase I reste insuffisant, d'où l'importance et la nécessité de stimuler la recherche fondamentale pour essayer d'induire un pipeline d'innovations thérapeutiques efficaces face à ces maladies.

Néanmoins, en dépit de toutes ces difficultés, des avancées existent face aux MND. L'hypothèse « prion » et le caractère transmissible, de cerveau à cerveau de la maladie d'Alzheimer pourrait aider à mieux comprendre l'irréversibilité de cette pathologie complexe et multifactorielle (Gary *et al.*, 2019). L'analyse de la morphologie des sillons du cortex cérébral par IRM permettrait de diagnostiquer la maladie d'Alzheimer dans 91% des cas. En outre, la taille des sillons apparaîtrait associée au stade d'évolution de la maladie et du déclin cognitif (Bertoux *et al.*, 2019). La corrélation entre l'intensité et la topographie des lésions Tau, détectées par tomographie par émission de positrons (imagerie TEP) et la topographie de l'atrophie céré-

Figure 22. Développement préclinique et essais cliniques phases I, II, III.



brale serait un bon indicateur de prédiction de l'évolution de la pathologie (La Joie *et al.*, 2020). Même si cela reste à confirmer sur un plus grand nombre de patients, l'annonce récente par Biogen d'une première molécule efficace, l'aducanumab représenterait un espoir (Howard and Liu, 2020). La thérapie génique avec l'utilisation de gènes thérapeutiques, déjà testés chez l'homme face à la DMLA ou à l'amyotrophie spinale pourrait s'étendre aux maladies d'Alzheimer, d'Huntington et de Parkinson, le cholestérol et la dopamine étant les cibles (Kacher *et al.*, 2019 ; Loera-Valencia *et al.*, 2019). C'est sans doute face à la sclérose en Plaques que réside le plus bel espoir. On observe une recrudescence des options thérapeutiques disponibles et plusieurs produits prometteurs offrant divers mécanismes d'action sont en phase avancée de développement. Les enjeux restent à mieux comprendre les phases précoces de la maladie et protéger les axones (neuroprotection), en supprimant la composante inflammatoire très précocement, en favorisant la remyélinisation et en restaurant la conduction électrique des neurones.

L'analyse reportée dans ce Cahier de l'ANR pour la période 2010-2018 montre que cette Agence a joué un rôle majeur dans la recherche sur les MND. Grâce à ses nombreux appels à projets nationaux et internationaux, l'ANR a activement soutenu des projets dans les domaines du Fondamental, du Translationnel et de la Valorisation. L'analyse montre que certaines MND

sont moins étudiées que d'autres. Les raisons en sont probablement un nombre moins important de patients touchés par ces maladies et une attention des politiques publiques plus faible. Les projets financés par l'ANR depuis 2010 se sont majoritairement concentrés sur la maladie d'Alzheimer, suivie par les maladies de Parkinson, de Huntington, du Motoneurone et enfin de la Sclérose en Plaques. Ces pathologies ont des caractéristiques communes (affection invalidante chronique, dégénérescence neuronale lente et progressive aux mécanismes biologiques mal connus, signes cliniques tardifs...). Pour une meilleure avancée dans la connaissance de ces maladies, il semble important qu'une coordination plus efficace des recherches entre les différentes MND soit effective.

Le financement de 278 projets ont permis la production de connaissances nouvelles dans la période 2010-2018 et l'élaboration de nouveaux consortiums nationaux et internationaux contribuant à l'interdisciplinarité. Globalement, les projets financés ont atteint leurs objectifs initiaux. L'ensemble des projets financés a permis de favoriser l'interdisciplinarité et la convergence des recherches fondamentales, cliniques et industrielles. Même si les appels à projets thématiques dédiés (National Spécifique dont MALZ) ont permis de renforcer, de façon ciblée, la recherche sur les MND, on constate de meilleurs résultats en termes d'objectifs atteints, de productions scientifiques et de visibilité avec les projets génériques AAPG.

Le problème, dans certains projets MALZ, peut venir de l'absence d'interactions efficaces entre les fondamentalistes et les cliniciens, qui n'ont pas forcément les mêmes objectifs. Par contre, quand l'interaction fait preuve d'une bonne synergie, la qualité des résultats est excellente. Les projets JCJC, en nette augmentation, se sont révélés aussi être une grande réussite. Les appels à projets internationaux, tels que JPND et CoEN ont, quant à eux, souvent permis l'étude de plus grandes cohortes et ont ainsi participé activement à la recherche clinique.

À l'initiative de CoEN, les centres d'excellence français ont pu se mettre en réseau avec ceux des autres pays participants. Quant au JPND, porté par la France, il a permis de faciliter les collaborations pour la recherche et l'innovation sur les MND entre pays européens, en couvrant à la fois les aspects de la recherche fondamentale, clinique et en Sciences humaines et sociales. Les projets financés visaient principalement à développer de nouvelles méthodes pour l'optimisation et la standardisation des biomarqueurs et ainsi améliorer le diagnostic et le suivi des patients MND. Même si les chercheurs français ne sont pas majoritaires en tant que coordinateurs des projets internationaux financés, leur partenariat avec des équipes étrangères a permis, pour certains, de publier souvent dans les meilleurs journaux de spécialité.

Dans les futurs appels à projets internationaux, il sera important d'exiger le développement et/ou le renforcement de collaborations fortes et réelles entre partenaires, particulièrement dans les grands consortia, dans le but de publier plus d'articles collaboratifs de grande qualité. La promotion de la recherche collaborative en Europe et dans le monde favorise l'impact et le rayonnement des chercheurs français et fait émerger des partenariats de recherche de haut niveau. D'une façon générale, quel que soit l'appel d'offres, les équipes, dont les résultats sont les plus significatifs se situent dans les villes où il existe de grands instituts de Neurosciences, Physiopathologie, Génétique avec un plus grand nombre de chercheurs (exemples non exhaustifs : Bordeaux, Strasbourg, Marseille, Montpellier, Lille, Grenoble, Paris). Ces instituts sont le plus souvent associés aux structures LabEX, Equipex, IHU...

L'analyse montre également que l'ANR favorise un continuum du Fondamental à l'Innovation. Les projets financés avec un partenaire privé, même s'ils sont encore trop peu nombreux stimulent les collaborations public-privé et les retombées innovantes. Le dépôt de brevets et la création de start-ups en sont la meilleure preuve, comme observé dans le programme « Recherche Partenariale Innovation Thérapeutique » (RPIB). Au travers de ses appels à projets intégrant des compagnies privées, il est crucial que l'ANR conti-



nue de consolider ces partenariats. L'identification de nouvelles stratégies thérapeutiques pour les MND ne peut que reposer sur une synergie optimale entre la recherche académique et l'industrie. La dynamique de ce partenariat favorise le transfert de technologie des équipes académiques vers le monde industriel, pour des applications ciblées aux professionnels de santé et des soins personnalisés au patient. Le succès du programme TecSan est un bon exemple d'un fort impact sur la pratique médicale et sur l'assistance des malades en rupture d'autonomie, et d'un renforcement de la compétitivité des entreprises. Bpi-France assure souvent la transition vers le monde industriel, en soutenant les entreprises dans les phases clés de leur évolution. L'innovation est au cœur des priorités de Bpi-France, depuis le soutien aux stades amonts de la R&D jusqu'au renforcement du capital des entreprises innovantes, source essentielle de compétitivité. Partenaire privilégié des régions, elle est un outil de dynamisation des territoires.

Notre analyse montre que les recherches financées par l'ANR ont porté, pour l'essentiel, sur l'exploration des mécanismes physiopathologiques, moléculaires et cellulaires des MND (voir les fiches de synthèse en annexe). Les études précliniques réalisées dans les modèles expérimentaux ont permis d'identifier des éléments déterminants de la pathogenèse des MND dont, plus spécialement, la maladie d'Alzheimer et maladies associées, Parkinson, Huntington et Sclérose en plaques. L'accent a été mis sur les processus d'apprentissage et de mémorisation, les altérations fonctionnelles du neurone et de ses réseaux, en particulier la transmission et la plasticité synaptique, les défauts de trafic cellulaire, les perturbations du cytosquelette... Des avancées ont été aussi réalisées sur la connaissance des mécanismes de l'agrégation pathologique des protéines, le rôle des déterminants génétiques, du métabolisme et de la neuroinflammation (cellules immunitaires, microglie, astrocytes). L'imagerie cérébrale digitalisée a contribué à l'élaboration de plusieurs modèles intégrant les mécanismes de réserve cognitive plus ou moins élevée selon les individus. Le développement de nouvelles approches technologiques (optogénétique, microscopie à super-résolution (STED), puces microfluidiques...) ont permis de lever des verrous technologiques et scientifiques. À partir de modèles expérimentaux cellulaires et animaux, quelques projets ont découvert de nouveaux mécanismes à l'origine de la dysfonction neuronale identifiant ainsi de nouvelles cibles thérapeutiques. Ces cibles peuvent conduire à l'élaboration de nouvelles stratégies neuroprotectrices, qu'elles soient basées sur la pharmacologie, la neurostimulation, la thérapie génique, mais devant être validées chez l'homme. Ces observations mettent en lumière toute l'importance, dans les programmes et projets futurs, de **développer de nouveaux modèles expérimentaux** corrélant au mieux les dysfonctionnements observés chez l'Homme.

Un des enjeux actuels de la recherche sur les MND est **l'identification de biomarqueurs pour un diagnostic plus précoce**. En ralentissant le développement des lésions à un stade asymptomatique ou très précoce, les molécules testées dans les essais cliniques pourraient se révéler efficaces en permettant de limiter, voire d'empêcher, l'apparition des symptômes. Ces biomarqueurs devront se situer à différents niveaux d'analyse, imagerie, biologie et neurophysiologie clinique. Une partie des projets financés s'est concentrée sur cet aspect, en analysant sur des cohortes des facteurs de risque d'apparition de la maladie, des facteurs génétiques et épigénétiques ou en étudiant de nouveaux déterminants biologiques ou physiques, des défauts dans le métabolisme. L'électroencéphalogramme (EEG), qui permet d'observer des modifications électriques cérébrales précoces chez des sujets à la phase préclinique de la maladie d'Alzheimer pourrait être associé aux biomarqueurs. La combinaison EEG-biomarqueurs grâce à un algorithme de machine-learning pourrait se révéler un outil diagnostique haute performance utilisable en Clinique courante.

La médecine de demain sera – personnalisée, adaptée à chaque patient, car elle tiendra compte du profil génétique ou protéique d'un individu, – **préventive**, car elle prendra en considération les problèmes de santé en se concentrant sur le mieux-être et non la maladie, – **prédictive**, car elle indiquera les traitements les plus appropriés pour le patient et – **participative**, car elle amènera les patients à être plus responsables de leur santé et de leurs soins. Pour aboutir à une plus grande efficacité médicale, de plus en plus de solutions thérapeutiques ne s'adresseront qu'à un nombre réduit de patients. Les essais cliniques se feront sur des sous-groupes étroits de patients. Un nouveau modèle d'innovation pour les traitements devra émerger reposant sur l'association des recherches fondamentale, translationnelle, clinique et épidémiologique.

Pour atteindre ses objectifs, l'ANR doit conserver son rôle d'acteur clé dans ce schéma. De par ses appels à projets et ses financements futurs, il est souhaitable que l'agence soit active i) dans la découverte et la validation de nouveaux procédés de prévention, ii) dans le diagnostic et le traitement (recherche translationnelle et clinique), iii) contribuer au développement d'outils innovants pour la santé et l'autonomie (recherche technologique) et iv) participer efficacement aux recherches en sciences humaines et en épidémiologie pour la compréhension des maladies et la mise au point de traitements. L'épidémiologie a en effet peu progressé dans le cercle des innovations, laissant la prééminence à la compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires *in vitro*.

Les futurs appels à projets de l'ANR devront continuer à s'approprier l'évolution des Sciences. **Le développement croissant des essais *in silico* utilisant la bio-simulation**, n'impliquant pas de tests biologiques pourrait permettre d'optimiser le criblage de molécules et d'accélérer le développement des traitements. **L'avènement de systèmes de modélisation complexes multi-niveaux et l'utilisation de nouvelles technologies de pointe sur cellule individuelle associée à de l'imagerie avancée, le séquençage à haut débit, l'intelligence artificielle (IA) et les organoïdes (« mini-tissus ») adaptés au patient**, ou encore **la microfluidique et les modèles de maladie d'organes sur puce** pourraient aider à étudier la progression d'une maladie et développer de nouvelles thérapies.

Les systèmes dotés d'IA, de techniques de « machine learning » et de puissances de calcul importantes pourraient permettre de synthétiser et de modéliser des données complexes pour affiner un diagnostic, identifier les mutations génétiques en cause. À partir de données issues d'un grand nombre de personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer ou à risque de la développer, l'IA pourrait permettre de créer des modèles numériques de l'évolution du cerveau et de la maladie. L'ambition à terme est que l'IA détecte la maladie au plus tôt, propose un pronostic d'évolution personnalisé pour chaque patient et devienne ainsi un outil informatique de médecine prédictive de précision.

Les organes sur puces progressent grâce aux avancées sur les cellules souches. Dans ce contexte, la thérapie cellulaire en plein essor offrira-t-elle la possibilité de répondre réellement aux défis de la médecine régénérative face aux différentes atteintes neurodégénératives ? On peut l'espérer et le souhaiter. Enfin, **les applications de la nanomédecine, avec le développement de nanomédicaments capables de passer la barrière hémato-encéphalique pour atteindre de nouvelles cibles**, devraient rendre la prise en charge des maladies plus précise et plus adaptée.

Face à ce grand défi que représentent les MND, les acteurs de la recherche et de l'industrie et les pouvoirs publics ont pris conscience qu'il était crucial d'avancer de concert et de façon synergique pour apporter une solution à cette problématique. Grâce à ses différents appels à projets lancés et ses financements alloués pendant la période 2010-2018 et en relation avec le plan national « Maladies Neurodégénératives », l'ANR a été un levier crucial pour contribuer à relever ce challenge. Pour une meilleure efficacité, l'ANR doit encore renforcer le partenariat public/privé et tisser des liens encore plus étroits avec les instances publiques. Les collaborations entre chercheurs et cliniciens à l'échelle nationale et internationale doivent se resserrer par la multiplication de centres d'investigation clinique, qui contribueront à l'augmentation du nombre d'essais cliniques utilisant des financements académiques en collaboration avec des compagnies pharmaceutiques.



Les associations de patients, telles que les Associations France Parkinson et France Alzheimer, sous la coupe de la Fédération pour la Recherche sur le Cerveau (FRC) représentent un maillon important dans le développement de thérapies innovantes. Un partenariat dynamisé entre ces associations et l'ANR pourrait accroître les retombées positives des consortia financés.

Grâce à de nouveaux appels à projets prenant en compte l'ensemble de ces progrès, et avec peut-être davantage d'investissements dans les projets à risque, il est important que l'ANR, dans le cadre des MND continue d'être un acteur incontournable dans la levée de verrous scientifiques et technologiques. Utilisant les technologies les plus récentes et tenant compte des interactions entre les différentes MND, le développement d'une programmation transdisciplinaire, qui s'articulerait en 4 axes :

- ▶ Du gène aux hypothèses physiopathologiques (caractérisation de la composante génétique) ;
- ▶ Des hypothèses physiopathologiques aux voies biologiques (impact de ces gènes et des voies identifiées dans de nouveaux modèles expérimentaux) ;
- ▶ Des voies biologiques aux cibles (développement de tests génétiques et biologiques) ;
- ▶ Des cibles biologiques aux essais cliniques (accès à de plus grandes cohortes caractérisées à un stade précoce de la maladie) ;

pourrait-être la réponse à ce grand défi du XXI^e siècle, que représentent les MND.

Références

- ▶ Batail, J.M., Bioulac, S., Cabestaing, F., *et al.* EEG neurofeedback research: A fertile ground for psychiatry? *Encephale*, 2019, 45(3):245–255.
- ▶ Benabid, A.L., Chabardès, S., Seigneuret, E. Deep-brain stimulation in Parkinson's disease: long-term efficacy and safety - What happened this year? *Curr Opin Neurol*, 2005, 18(6):623–630.
- ▶ Bertoux M, Lagarde J, Corlier F, Hamelin L, Mangin JF, Colliot O, Chupin M, Braskie MN, Thompson PM, Bottlaender M, Sarazin M. Sulcal morphology in Alzheimer's disease: an effective marker of diagnosis and cognition. *Neurobiol Aging*, 2019, Dec; 84:41-49.
- ▶ Boulouis G, Edjlali-Goujon M, Moulin S, Ben Hassen W, Onaggara O, Oppenheim C, Cordonnier C. MRI for in vivo diagnosis of cerebral amyloid angiopathy: Tailoring artifacts to image hemorrhagic biomarkers. *Rev Neurol*, 2017 ; 173(9) 554-561.
- ▶ Cummings, J.L., Henchcliffe, C., Schaier, S., Simuni, T., Waxman, A., Kemp, P. The role of dopaminergic imaging in patients with symptoms of dopaminergic system neurodegeneration. *Brain*, 2011, 134(Pt 11):3146–3166.
- ▶ Cummings, J., Reiber C, Kumar, P. The price of progress: Funding and financing Alzheimer's disease drug development. *Alzheimers Dement* (N Y), 2018, 4, 330–343.
- ▶ De Souza, L.C., Sarazin, M., Uspenskaya, O., Habert, M.O., Lamari, F., Lehericy, S., Dubois, B. Les marqueurs de la maladie d'Alzheimer prodromale. *Rev Neurol*, 2012, 168 (11): 815-824.
- ▶ Devos, P, Lefranc H, Dufresne, E Beuscart, R : Ménard, J. From bibliometric analysis to research policy: the use of SIGAPS in Lille University Hospital. *Stud Health Technol Inform*, 2006, 124: 543-548.
- ▶ Devos, P, Cortot, A, Ménard, J, Utilisation des données SIGAPS pour mesurer l'impact du plan Alzheimer sur la production d'articles des CHU. *Presse Med.*, 2016, 45 :e1-e10.
- ▶ Gary C, Lam S, Hérard AS, Koch JE, Petit F, Gipchtein P, Sawiak SJ, Caillierez R, Eddarkaoui S, Colin M, Aujard F, Deslys JP; French Neuropathology Network, Brouillet E, Buée L, Comoy EE, Pifferi F, Picq JL, Dhenain M. Encephalopathy induced by Alzheimer brain inoculation in a non-human primate. *Acta Neuropathol Commun.*, 2019 Sep 4; 7 (1):126.
- ▶ Howard R.& Liu, K.Y. Questions EMERGE as Biogen claims aducanumab turnaround. *Nature Reviews Neurology*, 2020,16 : 63–64.
- ▶ Kacher R, Lamazière A, Heck N, Kappes V, Mounier C, Despres G, Dembitskaya Y, Perrin E, Christaller W, Sasidharan Nair S, Messent V, Cartier N, Vanhoutte P, Venance L, Saudou F, Néri C, Caboche J, Betuing S. CYP46A1 gene therapy deciphers the role of brain cholesterol metabolism in Huntington's disease. *Brain*, 2019 Aug 1; 142 (8): 2432-2450.
- ▶ Koric, L., Guedj, E., Habert, M.O., Semah, F. CMMR study group. Molecular imaging in the diagnosis of Alzheimer's disease and related disorders. *Rev Neurol*, 2016; 172(12): 725-734.
- ▶ La Joie R, Visani AV, Baker SL, Brown JA, Bourakova V, Cha J, Chaudhary K, Edwards L, Iaccarino L, Janabi M, Lesman-Segev OH, Miller ZA, Perry DC, O'Neil JP, Pham J, Rojas JC, Rosen HJ, Seeley WW, Tsai RM, Miller BL, Jagust WJ, Rabinovici GD. Prospective longitudinal atrophy in Alzheimer's disease correlates with the intensity and topography of baseline tau-PET. *Sci Transl Med.*, 2020 Jan 1;12(524).
- ▶ Loera-Valencia R, Cedazo-Minguez A, Kenigsberg PA, Page G, Duarte AI, Giusti P, Zusso M, Robert P, Frisoni GB, Cattaneo A, Zille M, Boltze J, Cartier N, Buée L, Johansson G, Winblad B. Current and emerging avenues for Alzheimer's disease drug targets. *J Intern Med.*, 2019, Oct; 286(4):398-437
- ▶ Long, G. The Biopharmaceutical Pipeline : Innovative Therapies in Clinical Development, *PhRMA (The Pharmaceutical Research and Manufacturers of America)*, 2017, 1-24.
- ▶ Maarouf, C.L., Dausgs, I.D., Kokjohn, T.A. *et al.* The biochemical aftermath of anti-amyloid immunotherapy. *Mol Neurodegener.*, 2010, 5: 39.
- ▶ Mevel, K., Grassiot, B., Chetelat, G., Defer, G., Desgranges, B., Eustache, F. Le réseau cérébral par défaut : rôle cognitif et perturbations dans la pathologie. *Rev Neurol* 2010 ; 166 (11) : 859-72.
- ▶ Prasad, V., Mailankody, S. Research and development spending to bring a single cancer drug to market and revenues after approval. *JAMA Intern Med*, 2017, 177, 1569-1575.
- ▶ Saint-Aubert, L., Puel, M., Chollet, F., Pariente, J. Diagnostic précoce de la maladie d'Alzheimer. *Rev Neurol*, 2012; 168(11) 825-832.
- ▶ Scott, T.J., O'Connor, A.N. Link, T.J. Beaulieu: Economic analysis of opportunities to accelerate Alzheimer's disease research and development. *Ann N Y Acad Sci*, 2014, 1313, 17-34.
- ▶ Vandenberghe, R., Rinne, J.O., Boada, M. *et al.* Bapineuzumab for mild to moderate Alzheimer's disease in two global, randomized, phase 3 trials. *Alz Res Therapy*, 2016, 8, 18. <https://doi.org/10.1186/s13195-016-0189-7>



“

Soigner les gens, ce n'est pas seulement rechercher les causes de leurs maladies, c'est leur donner l'espoir que demain sera mieux qu'hier. ”

Guillaume Musso

PARTIE 5.

PANORAMA DES PROJETS SCIENTIFIQUES FINANCÉS

Maladie de Parkinson	p. 52
Maladie d'Alzheimer et Tauopathies	p. 64
Maladie d'Huntington	p. 92
Démences Fronto-Temporales	p. 100
Sclérose en Plaque	p. 104
Maladies à Prions	p. 109
Innovations technologiques	p. 112

L'ANR remercie les porteurs qui ont fourni les informations pour la réalisation des fiches projets.

A blue-tinted photograph of a hand, with a brain scan overlay on the right side. The hand is positioned as if holding something, with fingers slightly curled. The brain scan shows concentric rings, suggesting a cross-section of the brain.

Maladie de Parkinson

CereDySTim	p. 53
LOCOMOTIV	p. 54
MeMoDeeP	p. 55
MeTDePaDi	p. 56
NeuTARGETS	p. 57
OptoChAT-ParK	p. 58
OPTOMAP-Parkin	p. 59
STRIATRANS	p. 60
STRUCTOXIC	p. 61
TARGET PD	p. 62
X-PROTECT	p. 63

CereDySTim

Stimulations du cervelet pour le traitement de la maladie de Parkinson et des dyskinésies

— Rappel des objectifs

La maladie de Parkinson est l'un des principaux troubles neuro-dégénératifs avec une prévalence supérieure à 2 % après 65 ans. Cette maladie est causée par la dégénérescence d'une petite population des neurones entraînant la diminution d'un neurotransmetteur, la dopamine. Le traitement des patients avec un précurseur de la dopamine améliore considérablement certains des symptômes de la maladie, cependant des effets secondaires handicapants se développent et réduisent le bénéfice du traitement lorsque la neuro-dégénérescence progresse.

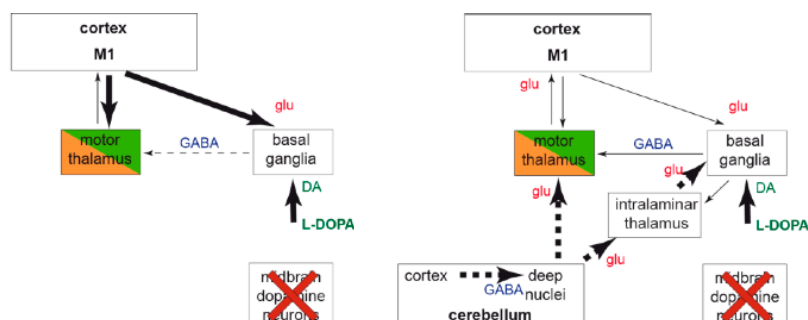
Notre projet s'est intéressé à la contribution du cervelet aux troubles moteurs dans la maladie de Parkinson et aux effets secondaires du traitement avec la lévodopa dans la phase tardive de la maladie. L'objectif de ce projet était d'examiner l'effet des stimulations du cervelet sur les effets secondaires des traitements pharmacologiques – genèse de mouvements involontaires handicapants – et sur la connectivité fonctionnelle des circuits moteurs du cerveau.

Le projet a fait appel à un spectre large de techniques de pointe pour la neurophysiologie chez l'animal éveillé : optogénétique, enregistrements multi-électrodes in vivo, analyse du comportement moteur. Il s'est également appuyé sur l'utilisation de modèles animaux de la maladie de Parkinson et de la dyskinésie ainsi que de souris transgéniques exprimant des canaux ioniques activés par la lumière dans les cellules de Purkinje dans le cervelet.

— Résultats majeurs

Nous avons tout d'abord identifié le rôle du cervelet dans la coordination de l'activité neuronale corticale. Nous avons montré que le cervelet exerce principalement une action excitatrice sur cette activité corticale durant les tâches motrices ; son activité influence aussi la cohérence des oscillations corticales. Notre projet a identifié ensuite l'implication des cellules de Purkinje du cervelet et de relais thalamiques de la voie cérébello-corticale dans la maladie de Parkinson et dans le traitement des dyskinésies induites par la lévodopa. Nous avons montré une réduction de l'activité neurale dans le cortex moteur de modèles animaux de la maladie de Parkinson et une augmentation de l'activité du cortex moteur pendant l'état dyskinétique. Par des stimulations optogénétiques spécifiques des cellules de Purkinje sur une nouvelle lignée de souris transgéniques nous avons montré une suppression complète des dyskinésies oro-linguales après stimulations optogénétiques spécifiques de la zone oro-linguale du cervelet. Ces stimulations cérébelleuses ont été associées à une normalisation de l'activité du cortex moteur. Notre projet a donc révélé que le cervelet a un impact fonctionnel sur les mouvements involontaires handicapants et sur l'activité du cortex moteur.

Circuits moteurs dans la pathologie de Parkinson.
Gauche : Modèle classique de l'impact de la dégénérescence des neurones dopaminergiques ; Droite : Modèle révisé : Nos résultats indiquent que le cervelet est un acteur de la normalisation du comportement moteur et aussi des voies cérébello-corticale et cérébello-striatale dans la maladie de Parkinson et dans les dyskinésies induites par la levodopa (DA : dopamine, L-DOPA : lévodopa, M1 : cortex moteur, glu : glutamate).
Crédit : © Equipe Neurophysiologie des Circuits Cérébraux, IBENS, Paris.



— Production scientifique et valorisation

L'ensemble de ce travail fait l'objet de plusieurs publications et présentations. Notre projet a donné lieu principalement à 4 publications (J Neurosci. 2013 et 2017, Nat Commun. 2018 et Cerebral Cortex 2019) et une thèse soutenue à l'Ecole Doctorale Comportement, Cerveau, Cognition en juin 2017 ainsi que de nombreuses présentations orales et affichées dans des colloques internationaux. Nous avons également organisé un colloque 'Cerebellum Day' en janvier 2017 où nous avons pu avoir des échanges entre nos recherches sur les modèles animaux et des recherches cliniques chez des patients Parkinsoniens. Ensemble, nous espérons pouvoir concevoir des thérapies d'appoint innovantes et peu coûteuses qui pourront améliorer l'état des patients Parkinsoniens en utilisant des stimulations répétées du cervelet induisant des changements durables dans les circuits moteurs du cerveau.

Publications :

- Menardy F, Varani A, Combes A, Léna C, Popa D. Functional alteration of the cerebellum-cortical coupling in experimental Parkinson's disease. *Cerebral Cortex* 2019 Apr 1;29(4):1752-1766.
- Tinterri A, Menardy F, Diana MA, Lokmane L, Keita M, Couplier F, Lemoine S, Mailhes C, Mathieu B, Merchan-Sala P, Campbell K, Gyory I, Grosschedl R, Popa D, Garel S. Active intermixing of indirect and direct neurons builds the striatal mosaic. *Nat Commun*. 2018 Nov 9;9(1):4725.
- Pelosi A, Menardy F, Popa D, Girault JA, Denis H. Heterozygous Gnal Mice Are a Novel Animal Model with Which to Study Dystonia Pathophysiology. *J Neurosci*. 2017, 37(26):6253-6267.
- Popa D, Spolidoro M, Proville R, Guyon N, Belliveau L, Léna C. Functional role of the cerebellum in gamma-band synchronization of the sensory and motor cortices. *Journal of Neuroscience*, 2013, 33(15):6552-6.

Le projet CereDySTim est un projet Jeunes Chercheurs, Jeunes Chercheuses de recherche fondamentale. Le projet a démarré en janvier 2013 et a duré 54 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR à hauteur de 293 280 €.

COORDINATRICE

Daniela Popa : daniela.popa@ens.fr
Institut De Biologie de l'ENS, Neurophysiologie des Circuits Cérébraux
<http://www.ibens.ens.fr/spip.php?rubrique53>

LOCOMOTIV

LOsing Control of MOTor Inhibition: a different View of parkinsonian akinesia

— State of the art and scientific aims

The ability to inhibit behavior is increasingly recognized as a fundamental executive function, with dysfunctional inhibitory processes implicated in a growing number of neurological disorders. In motor control, response inhibition permits cancelling planned or initiated actions, but recent work in even this simple circumstance points to the existence of distinct types of response inhibition that can be confounded with each other as well as with ancillary cognitive processes. To date, intense controversy surrounds the interpretation of data from tasks eliciting response inhibition, due to difficulties in modeling the underlying psychological processes as well as recording associated neural network dynamics. Identifying the neural bases of response inhibition is a pressing clinical issue. While impulsivity is usually viewed as the unique outcome of disorders of response inhibition, excessive inhibitory control may actually lead to difficulty initiating actions. This is manifest in Parkinson's disease (PD), where akinesia is particularly disabling. Indeed, one of the most debilitating expressions of akinesia occurs during gait, where PD patients can experience « freezing of gait », where they are unable to initiate stepping, which can lead to falls with high mortality and morbidity. Our project is using specifically designed behavioral tasks performed by humans and non-human primates to characterize how neural activity within and across cortical and basal ganglia networks unfolds in time to support response inhibition in healthy individuals and Parkinson's disease patients with dysfunctional inhibitory control.

— Main results

We have implemented parallel behavioral tasks to study response inhibition in healthy humans, PD patients and non-human primates. All these tasks have the common goal of isolating the effects of proactive and reactive inhibition, but with the possibility of using different response modalities (e.g., hand movements or gait initiation). We have successfully developed methods that allow us to record high-density electroencephalographic (EEG) activity while healthy subjects and PD patients use gait initiation to indicate their response. Moreover, we have successfully developed methods that allow us to do this when PD patients are undergoing DBS stimulation. Our principal results thus far are 1) high frequency STN-DBS degrades kinematic parameters of gait initiation, 2) high frequency STN-DBS decreases response inhibition resulting in more anticipatory movements, which is opposed by increased response inhibition on dopaminergic medication (but Off DBS), 3) neural processing of the stimulus modulates theta, alpha and beta band EEG activity in cortical areas in distinct ways, 4) we

have found evidence that neurons in the subthalamic nucleus are modulated by both proactive and reactive response inhibition, 5) dysfunction of the cortical control of inhibition in PD is not just a motor problem but involves abnormalities in executive networks. By identifying the clinically relevant electrophysiological signatures of inhibitory dysfunctions and STN-DBS effects, the new data obtained will hopefully contribute towards developing novel therapeutic interventions in PD, or improving currently suboptimal therapies, for instance by providing accurate targets for closed-loop approaches or direct cortical stimulation. The technology is ready and very promising, however, the clinical use of DBS is partly empirical, and awaits identification of accurate electrophysiological markers predicting clinically relevant outcomes.

— Scientific outcomes

- ▶ Lio G, Thobois S, Ballanger B, Lau B, Boulinguez P. Removing deep brain stimulation artifacts from the electroencephalogram: Issues, recommendations and an open-source toolbox. *Clin Neurophysiol.* 2018 Oct;129(10):2170-2185.
- ▶ Opensource Toolbox: DBSFILT is a matlab toolbox designed to detect and remove deep brain stimulation induced artifacts from EEG or MEG data. <https://github.com/guillaumelio/DBSFILT>.
- ▶ Meyer GM, Spay C, Laurencin C, Ballanger B, Sescousse G, Boulinguez P. Functional imaging studies of Impulse Control Disorders in Parkinson's disease need a stronger neurocognitive footing. *Neurosci Biobehav Rev.* 2019 Mar;98:164-176. doi: 10.1016/j.neubiorev.2019.01.008.
- ▶ Spay C, Albares M, Lio G, Thobois S, Broussolle E, Lau B, Ballanger B, Boulinguez P. Clonidine modulates the activity of the subthalamic-supplementary motor loop: evidence from a pharmacological study combining deep brain stimulation and electroencephalography recordings in Parkinsonian patients. *J Neurochem.* 2018 Aug;146(3):333-347.
- ▶ Spay C, Meyer G, Lio G, Pezzoli G, Ballanger B, Cilia R, Boulinguez P. Resting state oscillations suggest a motor component of Parkinson's Impulse Control Disorders. *Clin Neurophysiol.* 2019 Nov;130(11):2065-2075. doi: 10.1016/j.clinph.2019.08.015.
- ▶ Spay C, Meyer G, Welter ML, Lau B, Boulinguez P, Ballanger B. Functional imaging correlates of akinesia in Parkinson's disease: Still open issues. *NeuroImage: Clinical.* 2019;21:101644.
- ▶ Varriale P, Collomb-Clerc A, Van Hamme A, Perrochon A, Ke-moun G, Sorrentino G, George N, Lau B, Karachi C, Welter M-L. Decreasing subthalamic deep brain stimulation frequency reverses cognitive interference during gait initiation in Parkinson's disease. *Clin Neurophysiol.* 2018 129:2482-2491.

Le projet **LOCOMOTIV** est un projet collaboratif de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2017 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 771 033,90 €.

Partenaires : Inserm, UMRS 1127 / Institut du Cerveau et de la Moëlle épinière, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon.

COORDINATEUR

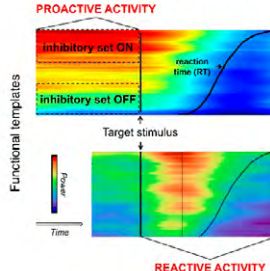
Brian Lau : brian.lau@upmc.fr
Inserm, UMRS 1127 / ICM

Data acquisition + Blind Source Separation

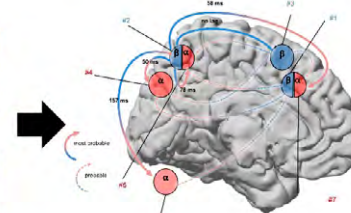


Crédit : © DR.

Spectral analyses (source level) + Statistical matching procedure



Anato-functional modeling



Output: Network Dynamics Underlying inhibitory control in a Cortical Network Model

MeMoDeeP

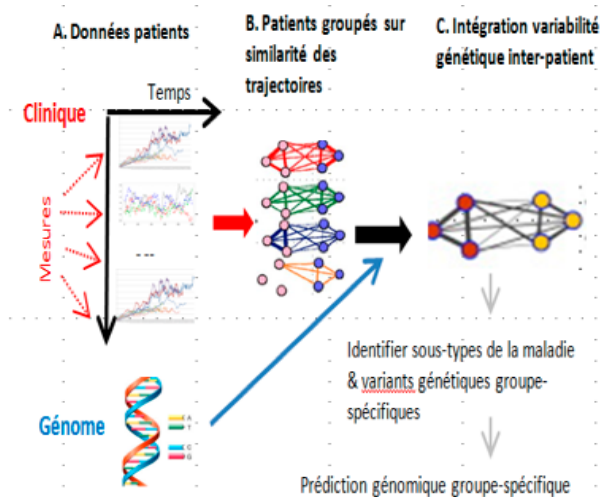
Méthodes et Modèles pour la caractérisation phénotypique fine de la Maladie de Parkinson

— Rappel des objectifs

La maladie de Parkinson (PD) est une maladie neurodégénérative liée à l'âge qui affecte 1 % de la population âgée de plus de 60 ans et 4 % au-delà de 80 ans. Plus de 100 000 personnes souffrent de cette maladie en France et le nombre de cas devrait augmenter considérablement avec le vieillissement de la population. À ce jour, les traitements ne sont que substitutifs et ne permettent pas d'empêcher la neurodégénérescence massive qui entraîne une perte progressive d'autonomie et finalement le décès. PD peut présenter différents sous-types cliniques et son évolution/gravité est très variable d'un patient à l'autre. Pour une pathologie complexe, comme PD, il n'existe pas de bio-marqueurs objectifs. L'intégration et la combinaison d'un grand nombre et aussi de différents types de variables est requise pour aller au-delà de la simple stratification empirique des patients. Toutefois, cette haute-dimensionnalité et ce mélange de types de données soulève des défis considérables. MeMoDeeP développe une étude exploratoire de différents modèles mathématiques et statistiques dans une grande cohorte longitudinale de PD (données temporelles – cliniques, d'évolution et traitement, et données pan-génomique). Les principaux objectifs sont d'évaluer les performances de ces méthodes pour identifier des sous-ensembles de patients où l'étiologie pourrait être plus homogène et pour lesquels la prévision génomique s'avérerait plus pertinente et précise.

— Résultats majeurs

La cohorte DIG-PD (6 ans de suivi) contient ~500 variables longitudinales sur 415 patients ; soit ~1 915 observations par variable. Le génotypage haut-débit a été complété par des analyses d'imputations. Au total, la variabilité du génome de chaque patient est couverte par plus de 7 millions de SNPs, passant les filtres de contrôle qualité. MeMoDeeP a réalisé une analyse fine des structures de corrélations temporelles entre données hétérogènes des patients DIG-PD. Les résultats suggèrent une réduction possible de la dimension des données centrée autour d'une quinzaine de scores cliniques mesurant les performances motrices, non-motrices et cognitives des patients au cours du temps. Nos analyses se sont concentrées sur cet ensemble de scores ajustés pour des effets de genre et d'âge à la visite. MeMoDeeP a développé un modèle mathématique de clustering non supervisé original qui permet l'analyse temporelle jointe des scores. Ce modèle de mélange de régressions fait intervenir des poids logistiques fonction de variables génétiques ; celles qui pourraient ne pas être pertinentes pour la classification sont sélectionnées via une pénalité de type Lasso à la vraisemblance à maximiser. Nous avons validé la méthode d'inférence proposée sur des simulations. Moins de 2 milliers de SNPs peuvent être intégrés dans le modèle. Nos premières analyses se sont donc limitées à l'intégration de ~1800 SNPs fonctionnels (CADD score), présents dans les gènes exprimés dans le cerveau. Nous retrouvons des sous-types de PD et des variants génétiques ayant potentiellement un rôle dans cette typologie. Cependant, les valeurs de l'héritabilité génomique de ces premiers clusters se révèlent faibles (<5%) ne suggérant pas de mécanismes biologiques spécifiques à ces clusters. L'intégration de données génétiques tout-génome dans l'étape de clustering s'avère, comme nous l'avions suspecté, complexe d'un point de vue méthodologique. Nous avons donc étendu le travail méthodologique en développant une approche basée sur des analyses en composantes principales des données tout-



Modèles de classification non-supervisée basée sur des données cliniques longitudinales & Intégration de données pan-génomique pour démembler l'hétérogénéité étiologique de la maladie de Parkinson. Crédit : © M. Martinez.

génomique, qui intègre les principaux axes de variation en variables à effets fixes dans notre modèle de clustering. Une autre difficulté est la question de l'impact de l'effet sujet (observations temporelles non indépendantes) sur l'inférence statistique. Il peut donc s'avérer plus efficace et robuste d'ignorer la variabilité temporelle des scores cliniques mais d'intégrer les données tout-génome. Ces différentes alternatives sont en cours d'étude. Les comparaisons s'attachent à estimer et comparer l'héritabilité génomique intra-cluster obtenue par les différentes approches. Nos résultats seront soumis à réplification dans d'autres cohortes indépendantes (PPMI).

— Production scientifique et valorisation

► MM Courbariaux, C Ambroise, ..., & the MeMoDeep Consortium. *A mixture model with logistic weights for disease subtyping with integrated genome association study*. *Statistics in Medicine* (soumis). Un package R a été développé (<https://github.com/MCour/DiSuGen>). Les méthodologies et premiers résultats ont été présentés sous forme de communication orale ou poster (Journées de Statistique, SFdS 2018) et séminaire (Inra Toulouse, 2019). Un manuscrit sera rédigé sur les résultats des analyses de validation des clusters via l'intégration de la variabilité génomique. Une journée de restitution finale, de type atelier de travail, est prévue pour l'été 2020 à l'ICEM, Paris.

Le projet MeMoDeeP est un projet collaboratif de recherche fondamentale. Le projet a commencé en février 2017 pour une durée de 42 mois (projet prolongé, fin prévue en mars 2021). Il a bénéficié d'une aide ANR de 388 360 €.

Partenaires : CNRS UMR 8071, Inserm, UMR_S1127 / Institut du cerveau et de la Moëlle Epinière.

COORDINATRICE

Maria Martinez : maria.martinez@inserm.fr
IRSD Inserm U1220

MeTDePaDi

Défauts du trafic membranaire dans la maladie de Parkinson

— Rappel des objectifs

La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neurodégénérative progressive qui affecte plusieurs régions majeures du cerveau, en particulier la substance noire (SN). Bien que des traitements symptomatiques soient disponibles, il n'y a pas de traitement de protection ou curatif et le diagnostic n'est établi que lorsque la dégénérescence est avancée. Il existe donc un besoin médical majeur pour développer des traitements et identifier des biomarqueurs de MP à un stade précoce. À cet égard, la génétique a révélé l' α -synucléine, une protéine enrichie dans les corps de Lewy de cerveaux de MP et LRRK2, une protéine de signalisation, comme principaux facteurs pathologiques impliqués dans les MP familiales et sporadiques. Des données récentes suggèrent que l' α -synucléine, localisée dans les terminaisons nerveuses, régule la fonction de SNAREs à la base de la fusion membranaire responsable de la sécrétion. Récemment VAMP7 a été montré pour interagir avec LRRK1 et α -synucléine pour se lier à VAMP2 et bloquer la sécrétion synaptique. Ces observations nous ont conduits à l'hypothèse de travail que l'exocytose dépendant des VAMP pourrait être régulée par LRRK2 et α -synucléine et que ce mécanisme pourrait être défectueux dans la MP. Moduler la sécrétion dépendant de VAMP7 pourrait fournir une nouvelle cible prometteuse pour le traitement de patients parkinsoniens précocement diagnostiqués.

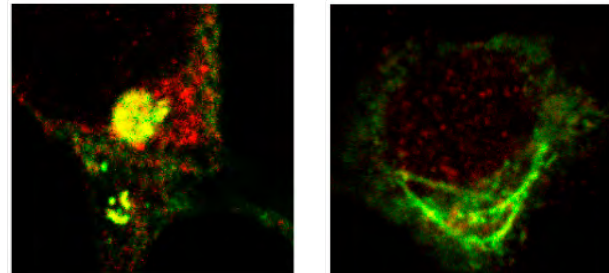
— Résultats majeurs

1/ Nous avons testé l'interaction de LRRK2 avec VAMP2, 3, 4, 7, 8, Sec22b et YKT6. Nous avons constaté que l'interaction VAMP4 / LRRK2 était la plus forte et nous avons trouvé la hiérarchie d'interaction suivante : VAMP4 > VAMP7 > VAMP8. Les mutations pathogènes de LRRK2 G2019S et R1441C n'altèrent pas l'interaction avec VAMP4. VAMP4 localise dans les agrégats intracellulaires générés par ces formes mutées de LRRK2 (Figure 1). Nous explorons maintenant l'effet des mutations de LRRK2 sur le sécrétome de cellules neuronales. Nous avons mis en évidence le sécrétome dépendant de VAMP7 (Wojnacki et al, preprint 2019), et allons explorer celui dépendant de VAMP4. Notre hypothèse de travail est que les mutations pathogènes de LRRK2 pourraient affecter les voies de sécrétion dépendant de VAMP4 et VAMP7 (Figure 3).

2/ Nous avons testé l'effet de la modulation de la phosphorylation de LRRK2 sur son activité. Nous avons notamment pu observer que la phosphorylation de certains sites de LRRK2 pouvait altérer la phosphorylation de substrats de LRRK2 dans la cellule, tels que Rab8 et Rab10. Aussi, les liens entre LRRK2, VAMP7 et α -synucléine ont été analysés avec une proximité physique entre ces 3 protéines observées par proximity ligation assay (PLA) en cellules HEK293T (Figure 2). Nous observons aussi que les niveaux d' α -synucléine sont influencés par la surexpression de LRRK2 et VAMP7, suggérant une coopération de LRRK2 et VAMP7 pour réguler les niveaux cellulaires d' α -synucléine.

— Production scientifique et valorisation

► Wojnacki J, Pressé M, Nola S, Cholley B, Delevoye C, Ouslimani A, Lipecka J, Guerrero C, Bun P, Fader C, Colombo MI and Galli T. VAMP7-Dependent Autophagic Secretion Allows for Axonal Growth in Nutrient Restriction Conditions (July 1, 2019). DEVELOPMENTAL-CELL-D-19-00530. Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=3413101> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3413101>, article in revision.



À gauche : GFP-LRRK2^{G2019S} (vert), VAMP4 (rouge). À droite : GFP-LRRK2^{R1441C} (vert), VAMP4 endogène (rouge).
Figure 1 : VAMP4 qui se situe normalement dans le TGN et des vésicules endosomales apparaît piégé dans les agrégats de LRRK2 lors de l'expression de mutants pathogènes (Francesca Filippini, Thierry Galli).

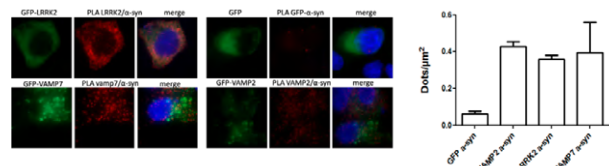


Figure 2 : Proximité physique entre α -syn/LRRK2, α -syn/VAMP7 et α -syn/VAMP2 visualisé par 'proximity ligation assay' PLA. Des cellules HEK293T sont transfectées avec les plasmides flag- α -syn/GFP-VAMP7, flag- α -syn/GFP-VAMP2 et flag- α -syn/GFP-LRRK2 avec flag- α -syn/GFP comme contrôle négatif. Le marquage est effectué avec les anticorps anti-flag et anti-GFP. Dans le panneau de droite, sont données les quantifications de co-localisation des points rouges avec le GFP effectuées dans le logiciel Fiji sur 10 cellules par échantillon (Alessia Sarchione, Antoine Marchand, Jean-Marc Taymans, Marie-Christine Chartier-Harlin).

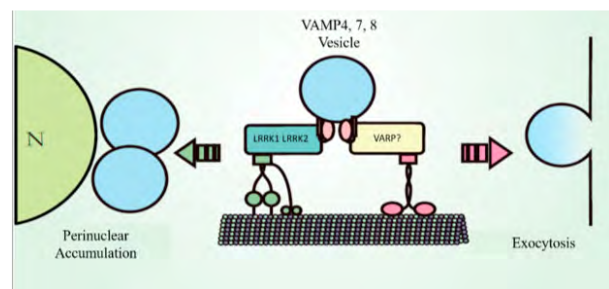


Figure 3 : modifié d'après Wang *et al.*, iScience 2018.
Hypothèse de travail : LRRK2 et LRRK1 seraient impliqués dans le transport des vésicules endosomales. Les mutations LRRK2 empêcheraient l'exocytose des vésicules VAMP4 et VAMP7.

Le projet MeTDePaDi est un projet collaboratif de recherche fondamentale. Le projet a commencé en février 2017 pour une durée de 48 mois (projet prolongé, fin prévue en juillet 2021). Il a bénéficié d'une aide ANR de 639 000 €.

Partenaires : JPArc / INSERM U1172 (LNC).

COORDINATEUR

Thierry Galli : thierry.galli@inserm.fr

INSERM U1266 (IPNP)

<https://ipnp.paris5.inserm.fr/recherche/equipes-et-projets/15-equipe-galli>

NeuTARGETS

Targeting the propagation of pathogenic protein assemblies in neurodegenerative disease

— Rappel des objectifs

Les données actuelles appuient l'hypothèse que la progression des maladies neurodégénératives (MND) peut être causée par la propagation des agrégats d'une cellule à l'autre. Nous cherchons à élucider les mécanismes clés de la façon dont les protéines se replient en assemblages toxiques et se transfèrent entre les neurones et le long des voies neuronales, facilitant ainsi la propagation des MND. Nous étudions ces mécanismes en utilisant une approche à plusieurs niveaux, des molécules aux modèles animaux, et combinons des techniques structurales et biophysiques et la biologie cellulaire. Nous visons à développer de nouvelles cibles thérapeutiques pour arrêter l'autoréplication et la propagation des agrégats d'amyloïde-bêta (A β) et d'alpha-synucléine (α S) afin d'améliorer la progression de la maladie d'Alzheimer's (AD) et de Parkinson's (PD).

Le projet est organisé en deux grands axes :

AXE 1 : Perturbation de la propagation et de la dissémination d'assemblages de protéines pathogènes : 1a. analyse du processus d'agrégation, de l'ensemencement et de la toxicité cellulaire de α S et A β . 1b. Suivi de leur trafic et leur transfert vers les cellules réceptrices et identification des voies communes. 1c. Identification de cibles thérapeutiques communes par criblage à haut débit des facteurs cellulaires impliqués dans la toxicité, le trafic et l'agrégation de α S et A β .

AXE 2 : Inactivation des assemblages de protéines pathogènes aux stades précoces et asymptomatiques de la maladie. Production d'outils thérapeutiques (peptides dérivés du chaperon, anticorps) qui interféreraient avec α S et A β , la nucléation, la propagation, la stabilité et pour réduire leur toxicité.

— Résultats majeurs

En utilisant des approches interdisciplinaires allant de la biologie cellulaire à la biophysique nous avons obtenu des données sur les propriétés structurales et fonctionnelles des agrégats protéiques pathologiques, leur toxicité et leurs mécanismes de propagation et d'ensemencement qui sont essentielles pour identifier des cibles pour de futurs traitements. Nous avons également révélé des voies communes que les agrégats utilisent pour se propager ; ce qui laisse croire que les cibles thérapeutiques pour la MA et la MP pourraient être applicables à d'autres MND.

► **Partenaire 1 :** A démontré l'implication des « tunneling nanotubes » dans le transfert et la propagation des agrégats α S dans les lysosomes (Figure 1) ainsi que dans le transfert α S entre les neurones primaires et les astrocytes et a identifié les protéines/complexes qui sont impliqués dans la formation des nanotubes (Figure 2).

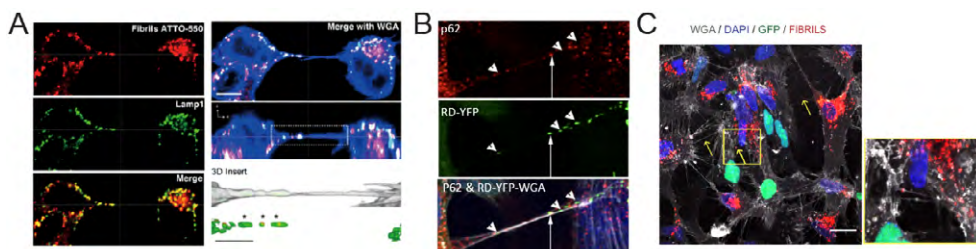


Figure 1. Les protéines mal repliées se répandent à l'intérieur des TNT. A) Les fibrilles syn à l'intérieur des TNT entre cellules CAD colocalisent avec le marqueur lysosomal Lamp1. B) Fibrilles de Tau à l'intérieur des TNT entre les cellules SH5Y5 neuronales colocalisent avec le marqueur autophagique P62. C) Fibrilles syn à l'intérieur des TNT entre les hULP. Crédit : © DR.

► **Partenaire 2 :** A produit et analysé des propriétés structurales et fonctionnelles de différentes souches de α S, découvert des « cross-talk » entre les fibrilles pathogènes α S et tau au niveau des membranes cellulaires neuronales, en particulier les synapses. Ils ont mis en place une méthode permettant l'amplification des dépôts de protéines riches en α S du cerveau des patients pour des études complémentaires.

► **Partenaire 3 :** A établi un modèle organotypique de culture en tranches de β -amyloïdosis et a caractérisé l'utilisation d'anticorps pour traiter les protéines endogènes chez les souris transgéniques APP.

► **Partenaire 4 :** A conduit une étude ultrastructurale des intermédiaires lors de la formation de fibrilles A β et introduit une stratégie d'utilisation d'anticorps pour cibler spécifiquement la nucléation secondaire dépendant des fibrilles.

— Production scientifique et valorisation

- Abounit S *et al.*, EMBO J. 35, 2120-2138, 2016.
- Loria F *et al.*, Acta Neuropathol. 134(5):789-808, 2017.
- Shrivastava AN *et al.*, Neuron. 5;95(1):33-50, 2017.
- Shrivastava AN *et al.*, EMBO J. doi : 10.15252/embj.201899871, 2019.
- Novotny R. *et al.*, J Neurosci. 36 : 5084-5093, 2016.
- Jucker M, Walker LC, Nat Neurosci, 21:1341-1349 ; 2018.
- Meisl G *et al.*, Chem Sci, 8(6):4352-4362, 2017.
- Munke A. *et al.*, PNAS, 114(25):6444-6449, 2017.

Le projet NeuTARGETS est un projet collaboratif international de recherche fondamentale. Le projet a commencé en décembre 2014 et a duré 53 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 556 643 €.

Partenaires : CNRS NEURO-PSI - UMR 9197, HIH & DZNE Tübingen (Allemagne), Lund University (Suède).

COORDINATRICE

Chiara Zurzolo : chiara.zurzolo@pasteur.fr

Institut Pasteur

<https://research.pasteur.fr/fr/team/membrane-traffic-and-pathogenesis/>

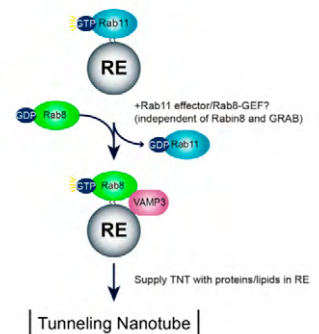


Figure 2. Schéma de la cascade Rab11a-Rab8a-VAMP3 dans la régulation des TNT. Deux protéines Rab (Rab11, Rab8) découvertes par l'analyse à haut débit de 41 protéines Rab, contrôlent positivement la formation de TNT par un mécanisme de cascade. Crédit : © DR.

OptoChAT-Park

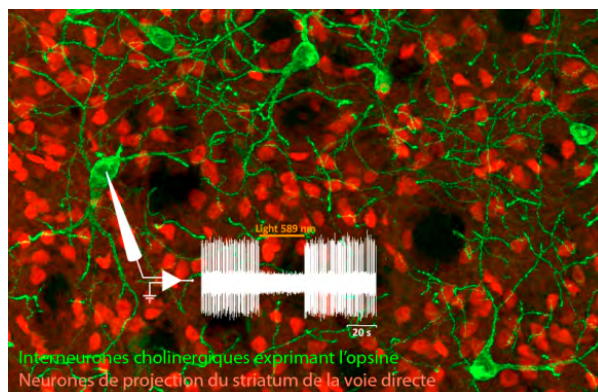
Plasticité et rôle des microcircuits striataux impliquant les interneurons cholinergiques dans le fonctionnement physiopathologique des ganglions de la base

— Rappel des objectifs

L'un des enjeux de la neurobiologie est de pouvoir disséquer le rôle fonctionnel de populations neuronales spécifiques au sein de réseaux neuronaux complexes. Cette connaissance pourrait notamment contribuer à affiner le ciblage des approches thérapeutiques de neuromodulation, du niveau des structures cérébrales à celui de leurs éléments constitutifs. Le développement de l'optogénétique constitue une avancée technologique essentielle dans ce domaine. Cette approche permet en effet, au travers de l'expression génétiquement ciblée de protéines photosensibles, de contrôler par la lumière l'activité neuronale avec une grande précision spatiotemporelle. Le projet OptoChAT-Park s'est focalisé sur les interneurons cholinergiques (CINs) du striatum, structure d'entrée des ganglions de la base, en condition physiologique et dans des modèles expérimentaux de la maladie de Parkinson, chez la souris. Bien qu'en faible nombre (< 2 % des neurones du striatum), les CINs, de par leur activité tonique et leur connectivité, sont présumés représenter des acteurs clés des fonctions et pathologies associées aux ganglions de la base, dont la maladie de Parkinson. Cependant, la complexité de leurs mécanismes de signalisation et la multiplicité de leurs cibles rendent difficile l'évaluation de leur impact sur le fonctionnement normal et pathologique des ganglions de la base et les comportements qui en dépendent.

— Résultats majeurs

En associant approches optogénétique, électrophysiologique et comportementale, le projet OptoChAT-Park a apporté une démonstration directe de l'implication des CINs dans la pathophysiologie des troubles moteurs parkinsoniens (Maurice *et al.*, Cell Rep. 2015). Le contrôle exercé par les CINs sur la fonction motrice se manifeste en condition parkinsonienne, où ils deviennent hyperexcitables, et non en situation physiologique, suggérant que ce contrôle dépend fortement du tonus dopaminergique. La photo-inhibition des CINs réduit les déficits parkinsoniens dans différents tests sensorimoteurs, alors que leur photo-activation n'a pas d'effet, corrige les modifications pathologiques de l'activité de la structure de sortie des ganglions de la base et restaure un équilibre dans le transfert des informations corticales au travers du réseau. Cet effet s'exercerait préférentiellement au travers d'une action sur la voie directe par laquelle le striatum contrôle l'activité de la structure de sortie. Les autres résultats marquants montrent qu'en condition parkinsonienne : i) le blocage des récepteurs muscariniques M1 ou M4 reproduit les effets bénéfiques moteurs obtenus après photo-inhibition des CINs, avec une action prépondérante des M4 exprimés sur les neurones de la voie directe (Ztaou *et al.*, 2016) ; ii) l'inhibition des CINs a également des effets bénéfiques sur des déficits non moteurs (Ztaou *et al.*, 2018), améliore l'apprentissage sensorimoteur et augmente la transmission corticostriée spécifiquement dans les neurones de la voie directe. L'ensemble de ce travail a montré la faisabilité et l'efficacité du contrôle optogénétique d'une petite population neuronale au sein d'une large structure cérébrale chez la souris. Il a mis en évidence un rôle causal des CINs dans la pathophysiologie de la maladie de Parkinson permettant d'impliquer ces interneurons dans les effets bénéfiques des stratégies anti-cholinergiques et apporté un éclairage sur les substrats cellulaires de leur action. Ces évidences précliniques du potentiel thérapeutique de l'inhibition des CINs pourraient promouvoir la recherche de stratégies ciblant l'activité de ces neurones, au-delà de la manipulation de leurs récepteurs.



Double visualisation, dans le striatum de souris transgéniques, des neurones de projection de la voie directe (fluorescence rouge) et des interneurons cholinergiques dans lesquels a été exprimée l'halorhodopsine permettant leur photo-inhibition (fluorescence verte). Le tracé électrophysiologique illustre l'arrêt de l'activité spontanée d'un interneurone cholinergique lorsque de la lumière ambre est délivrée *in vivo* dans le striatum de ces souris. Crédit : © Nicolas Maurice & Florence Jaouen.



Tests comportementaux évaluant les perturbations sensorimotrices dans des modèles murins de la maladie de Parkinson. Les souris ne peuvent descendre du pôle test (gauche ; © Noémie Roché) ni se désengager d'une posture inhabituelle (catalepsie induite par un neuroleptique (droite) ; © Samira Ztaou). Ces déficits sont réduits par la photo-inhibition des CINs.

— Production scientifique et valorisation

Publications :

- ▶ Maurice N *et al.* Cell Rep. 2015;13:657-66.
- ▶ Ztaou S *et al.* J Neurosci, 2016;36:9161-72.
- ▶ Ztaou S, Lhost J, Watabe I, Torromino G, Amalric M. Eur J Neurosci. 2018;48:2988-3004.
- ▶ Ztaou S, Amalric M. Neurochem Int. 2019 ;126:1-10. Review.
- ▶ Mallet, N., Leblois, A., Maurice, N., & Beurrier, C. (2019). Striatal Cholinergic Interneurons: How to Elucidate Their Function in Health and Disease. *Frontiers in pharmacology*, 10, 1488. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01488>.

Le projet OptoChAT-Park est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en février 2011 et a duré 41 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 386 918 €.

Partenaires : CNRS UMR 6155 LNC / Aix-Marseille Univ.

COORDINATRICE

Lydia Kerkerian-Le Goff :
lydia.kerkerian-le-goff@univ-amu.fr
CNRS UMR 6216 / Aix-Marseille Univ.
<http://www.ibdm.univ-mrs.fr/>

OPTOMAP-Parkin

Electrophysiological mapping of networks dynamics in basal ganglia in normal and Parkinsonian conditions using optogenetic control of specific neuronal pathway

— State of the art and scientific aims

Normal brain functions rely on the overall modulation of cell firing activity and the precise spatiotemporal control of firing pattern, including (possibly synchronized) oscillatory activity among neuronal network and brain areas. Disruption in the dynamical properties orchestrating local firing rates and global network oscillations changes are observed in many neurological disorders. This is particularly well-illustrated in the basal ganglia where the loss of dopamine in Parkinson's disease is associated with persistent alterations in both the firing rate and oscillatory synchronization in the beta (β) frequency range (12-30 Hz) among and between basal ganglia nuclei. These two activity changes (i.e. firing rate and β -synchronization) have been proposed to underlie the main motor symptoms of PD that are akinesia and rigidity. Understanding which neuronal circuits orchestrate and propagate these abnormal activities is a necessary step to better control them for symptomatic benefit. The goal of this work was therefore to shed light on the mechanistic principle underlying the generation of these parkinsonian abnormal neural dynamics. To do so, we employed optogenetic methods that relied on the use of modified adeno-associated virus (AAV) to express light-sensitive protein (i.e. opsins) into neurons of interest in order to control them directly with light stimulation. One great advantage of such optogenetic strategy is to be able to manipulate targeted neuronal populations with unprecedented specificity and millisecond temporal control. We have used different opsins depending on the desired effect: neuronal inhibition to test the necessity condition, and neuronal excitation to test for the sufficiency condition. Using this optogenetic approach we were able to test different hypothesis regarding the specific contribution of various neuronal circuit components such as the motor cortex, the subthalamic nucleus, and the globus pallidus to the pathophysiology of Parkinson's disease in a rat model.

— Main results

A longstanding controversy has been to understand how these different components of the cortico-basal ganglia circuits contribute to the generation of abnormal neural activities underlying

Parkinsonism. Our results cast doubt on the capacity of the motor cortex or the subthalamic neurons to generate, propagate or amplify abnormally synchronous oscillatory activity at β -frequency in Parkinsonism thus challenging current dogma in the field. On the opposite, we were able to reveal a novel key role of the globus pallidus in the circuit dysfunction of Parkinson's disease which was not identified previously. In particular, our results place the globus pallidus as a central hub nucleus in basal ganglia circuits not only capable of orchestrating abnormal firing rate and synchronization changes but also broadcasting them to the entire cortico-basal ganglia network. This work might help designing new therapeutic avenues to better control the abnormal activities present in Parkinsonism with the goal to improve symptomatic benefit.

— Scientific outcomes

- ▶ de la Crompe, B., Aristieta, A., Leblois, A., Elsherbiny, S., Boraud, T., and Mallet, N. (2020). The globus pallidus orchestrates abnormal network dynamics in Parkinsonism. *Nat Commun* 11, 1570 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15352-3>.
- ▶ Mallet N., Delgado L., Chazalon M., Miguelez C., Baufreton J. (2019) Cellular and Synaptic Dysfunctions in Parkinson's Disease: Stepping out of the Striatum. *Cells* 29;8(9).
- ▶ Mallet, N., Schmidt, R., Leventhal, D., Chen, F., Amer, N., Boraud, T., and Berke, J.D. (2016). Arky pallidal Cells Send a Stop Signal to Striatum. *Neuron* 89, 308–316.

Le projet OPTOMAP-Parkin est un projet Jeunes Chercheurs, Jeunes Chercheuses de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2014 et a duré 45 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 324 168 €.

COORDINATEUR

Nicolas Mallet : nicolas.mallet@u-bordeaux.fr
CNRS UMR 5293 / Université de Bordeaux
<https://www.bordeaux-neurocampus.fr/staff/nicolas-mallet/>

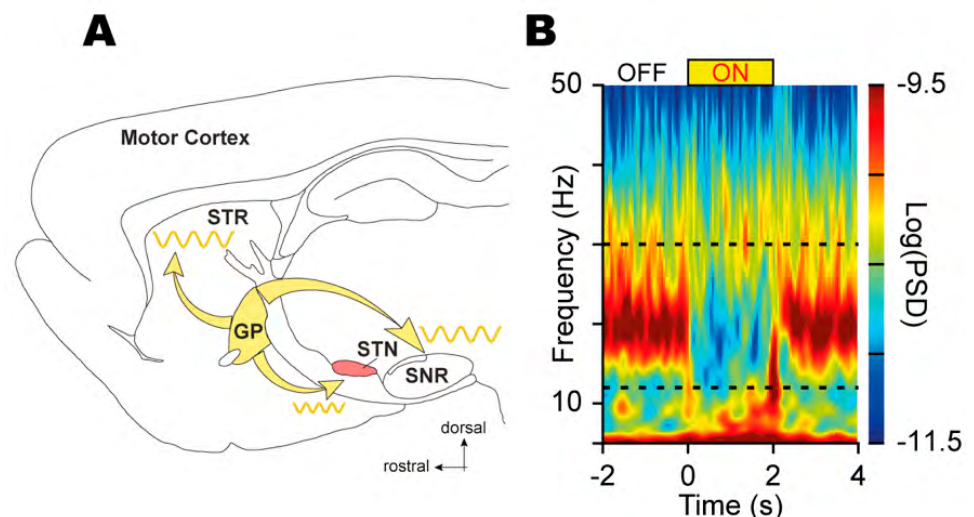


Figure de la publication de la Crompe *et al.*, The globus pallidus orchestrates abnormal network dynamics in a model of Parkinsonism. *Nature Communications* 11, 1570 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15352-3>

STRIATRANS

Mécanismes moléculaires impliqués dans la synthèse locale de protéines dans le striatum : de l'apprentissage contrôlé par la récompense à la pathologie

— Rappel des objectifs

La sélection et l'exécution d'une réponse comportementale adéquate reposent sur l'utilisation d'informations (stimuli sensoriels et/ou contextuels) prédictives d'évènements motivationnels positifs ou aversifs. Les mécanismes d'apprentissage contrôlé par la récompense conduisant à l'optimisation de ces comportements motivés requièrent l'intégrité de la transmission dopaminergique (DA). La survenue de stimuli sensoriels associés à l'obtention d'une récompense inattendue (dite récompense primaire) provoque l'activation de certains neurones DA. Cette activation est modifiée au fil de l'apprentissage, puisqu'elle survient ensuite en réponse aux stimuli prédictifs de la récompense primaire, et non plus à la récompense primaire elle-même. De plus, ces neurones DA codent pour les erreurs de prédiction de récompense, un aspect essentiel de la mise en place d'apprentissage de comportements motivés. Ces neurones sont également inhibés par la présentation de stimuli aversifs inattendus, et codent ainsi plus généralement la valeur de la motivation. D'autres neurones DA vont au contraire être activés par des stimuli aversifs et/ou des signaux d'alerte impliqués dans la détection rapide d'évènements sensoriels potentiellement importants. L'identification de ces différentes populations de neurones DA illustre ainsi la complexité et la diversité des mécanismes neuronaux par lesquels la DA participe à l'apprentissage et au contrôle d'actions motivées. Une perturbation de la transmission DA entraîne des dysfonctionnements des circuits neuronaux qu'elle contrôle conduisant au développement d'états pathologiques (maladie de Parkinson, troubles obsessionnels compulsifs (TOC) ou encore troubles anxieux généralisés). Dans ce contexte, l'objectif de STRIATRANS est de disséquer les mécanismes moléculaires et cellulaires contrôlés par la DA et à en déterminer le rôle fonctionnel au sein de circuits neuronaux identifiés dans des conditions physiologiques et physiopathologiques. Ce projet s'est focalisé sur l'étude des mécanismes moléculaires impliqués dans le contrôle de la traduction des protéines au sein d'une structure cible des neurones DA, le striatum.

— Résultats majeurs

En combinant des approches comportementales, anatomo-fonctionnelles et pharmacologiques, nous avons pu démontrer que l'administration de psychostimulants augmente 1) l'activation de facteurs contrôlant l'initiation et l'élongation de la traduction des ARNm et 2) la phosphorylation de la protéine ribosomale rpS6, spécifiquement dans les neurones striatonigraux (qui expriment les récepteurs DA D1R) via une cascade AMPc/PKA/DARPP-32. Ces événements moléculaires sont importants pour la mise en place des effets comportementaux à long-terme induits par les psychostimulants. En recherchant les conséquences fonctionnelles de cet événement de phosphorylation, nous avons pu montrer que l'absence de phosphorylation de rpS6 n'altérait pas la traduction globale des ARNm mais affectait uniquement un sous-ensemble d'ARNm dont nombre d'entre eux codent pour des protéines associées à la fonction des mitochondries. Ainsi une des fonctions de la phosphorylation de rpS6 dans le striatum est de contrôler la synthèse rapide d'ARNm codant pour des protéines mitochondriales afin de maintenir de l'homéostasie énergétique des cellules. L'absence de phosphorylation de rpS6 s'accompagne d'une altération de la plasticité synaptique striatale.

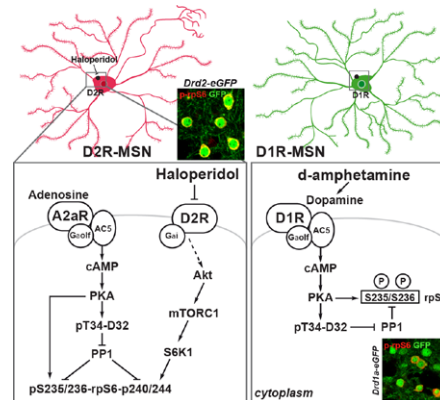


Schéma présentant les mécanismes intracellulaires conduisant à la phosphorylation de la sous-unité ribosomale S6 (rpS6) en réponse à l'administration d'halopéridol et d'amphétamine dans les neurones striataux exprimant les récepteurs D2R et D1R. Schéma adapté de Valjent E, Biever A, Gangarossa G, Puighermanal E. *Adv Protein*.

Nous avons pu également montrer que l'administration aiguë d'un antipsychotique, l'halopéridol, induit la phosphorylation rapide et soutenue de la sous-unité ribosomale S6 (rpS6) (Ser235/236 et Ser240/244) exclusivement dans les D2-MSNs. Cette régulation met en jeu la stimulation des récepteurs à l'adénosine A2a (A2aR), la production d'AMPc et fait intervenir l'inhibition de la PP-1 par la DARPP-32. Seule la phosphorylation de rpS6 sur les résidus Ser240/244 requiert l'activation de la voie mTORC1. Cette étude a permis de préciser les mécanismes moléculaires d'action de l'halopéridol qui pourraient sous-tendre la mise en place des dyskinesies tardives fréquemment observées lors de la prise répétée d'halopéridol.

— Production scientifique et valorisation

- ▶ Biever A, *et al.*, *J Neurosci*. 2015, 35(10):4113-30. [Cover Illustration].
- ▶ Valjent E, *et al.*, *Neuropsychopharmacology* 2011, 36(12):2561-70.
- ▶ Bonito-Oliva A, *et al.*, *Neuropharmacology*. 2013, 72:197-203.
- ▶ Puighermanal E, *et al.*, *Front Mol Neurosci*. 2017, 10:419.
- ▶ Biever A, *et al.*, *Front Mol Neurosci*. 2017, 9:165.
- ▶ Biever A, Valjent E, Puighermanal. *Front Mol Neurosci*. 2015, 8:75. Review.
- ▶ Gangarossa G, Perroy J., Valjent E. *Brain Struct Funct*. 2013 218(2):405-19.

Le projet STRIATRANS est un projet Jeunes Chercheurs, Jeunes Chercheuses de recherche fondamentale. Le projet a commencé en mars 2011 et a duré 45 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 240 000 €.

COORDINATEUR

Emmanuel Valjent : emmanuel.valjent@igf.cnrs.fr
 Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
<https://www.igf.cnrs.fr/index.php/fr/h-teams-fr/h-valjent-fr>

STRUCTOXXIC

Relation structure-propriétés des agrégats protéiques impliqués dans les maladies neurodégénératives de Parkinson et Huntington

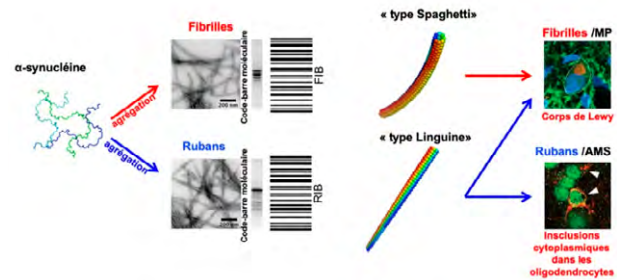
— Rappel des objectifs

Les maladies neurodégénératives d'Alzheimer, de Parkinson ou de Huntington sont intimement associées à l'agrégation hautement ordonnée de protéines endogènes. Des observations faites par Heiko Braak, Patrik Brundin et Jeffrey Kordower suggèrent que les agrégats des protéines caractéristiques de ces maladies neurodégénératives se propagent et s'amplifient dans le système nerveux central de patients affectés à la manière de la protéine infectieuse PrP. Nous avons montré que les assemblages des protéines huntingtine et alpha-synucléine qui sont impliqués dans les maladies neurodégénératives de Huntington et de Parkinson se lient aux cellules et induisent l'agrégation de leurs homologues endogène. Nous avons proposé que ce phénomène contribue à la progression de ces maladies neurodégénératives. En effet, à la mort des neurones, les agrégats des protéines huntingtine et alpha-synucléine qui se sont formés et accumulés dans les neurones affectés, sont libérés. Ils peuvent alors se lier aux membranes des neurones avoisinants, y pénétrer et servir d'amorces pour l'agrégation des protéines des cellules saines, entraînant de proche en proche la dégénérescence des neurones dans le cerveau.

— Résultats majeurs

Nous avons identifié et caractérisé la structure des assemblages protéiques qui ont la propriété de pénétrer dans les cellules et d'induire l'agrégation des protéines des cellules saines. Nous avons identifié leurs cibles à la surface des neurones et des astrocytes. Cela nous a permis de décrire les premiers événements pathogéniques qui affectent l'intégrité neuronale : la redistribution pathogénique de protéines essentielles à la surface des neurones. Nous avons aussi montré que ces agrégats sont transportés le long de l'axone et transmis d'un neurone à un autre. Comme ces agrégats protéiques se retrouvent « nus » lors de leur transit entre neurones, nous avons cherché à les cibler. Nous avons montré que le chaperon moléculaire Hsc70 se lie à ces agrégats et affecte leur propagation entre cellules. Comme cette découverte présente un potentiel thérapeutique, nous avons cartographié les aires d'interaction entre les agrégats des protéines alpha-synucléine et huntingtine et le chaperon moléculaire Hsc70.

La propagation des assemblages de la protéine alpha-synucléine de neurone à neurone dans le système nerveux central contribue à la progression de pathologies regroupées sous l'appellation synucléinopathies: la maladie de Parkinson, l'atrophie multisystématisée et la démence à corps de Lewy. Cela suggère qu'un même événement moléculaire peut causer différentes maladies. Nous avons émis l'hypothèse que des synucléinopathies distinctes par leurs profils clinico-pathologiques auraient une base moléculaire et structurale. Nous avons réussi à générer dans un tube à essais différentes formes fibrillaires à partir de l'alpha-synucléine. Nous avons documenté les propriétés biochimiques, physiques, structurales et fonctionnelles de ces différentes formes fibrillaires, l'une ressemblant dans un microscope électronique à des pâtes larges (linguine), l'autre à des pâtes cylindriques pleines (spaghetti) et avons montré qu'elles entraînaient l'apparition des caractéristiques pathologiques des maladies de Parkinson ou de l'atrophie multisystématisée. Nous avons ainsi établi une base moléculaire et structurale pour différentes synucléinopathies.



L'alpha-synucléine s'agrège en différentes sortes de fibres qui ont des formes différentes (fibrilles ou rubans) et des code-barres distincts. Ces agrégats induisent les caractéristiques de pathologies distinctes Maladie de Parkinson ou Atrophie MultiSystématisée lors de leur injection à des animaux modèle. Crédit : © Ronald Melki, Luc Bousset, Wouter Peelaerts.

— Production scientifique et valorisation

Nos travaux ont donné lieu à 27 publications. Les 5 principales :

- ▶ Bousset L, Pieri L, Ruiz-Arlandis G, Gath J, Jensen PH, Habenstein B, Madiona K, Olieric V, Böckmann A, Meier BH, Melki R. Structural and functional characterization of two alpha-synuclein strains. *Nat Commun.* 2013; 4:2575. doi: 10.1038/ncomms3575.



- ▶ Monsellier E, Redeker V, Ruiz-Arlandis G, Bousset L, Melki R. Molecular interaction between the chaperone Hsc70 and the N-terminal flank of huntingtin exon 1 modulates aggregation. *J Biol Chem.* 2015; 290:2560-76. doi: 10.1074/jbc.M114.603332.
- ▶ Peelaerts W, Bousset L, Van der Perren A, Moskalyuk A, Pulizzi R, Giugliano M, Van den Haute C, Melki R*, Baekelandt V. Synuclein strains cause distinct synucleinopathies after administration *Nature* 2015; 522:340-4. doi: 10.1038/nature14547. Recommended F1000, Highly Cited Paper, News and views in Nature* auteur correspondant.
- ▶ Shrivastava AN, Redeker V, Fritz N, Pieri L, Almeida LG, Spolidoro M, Liebmann T, Bousset L, Renner M, Léna C, Aperia A, Melki R*, Triller A alpha-synuclein assemblies sequester neuronal proteins and impair their function *EMBO J.* 2015. 34:2408-23. doi: 10.15252/embj.201591397. Cover issue, News and views in *EMBO J** auteur correspondant.
- ▶ Brahic M, Bousset L, Bieri G, Melki R, Gitler AD. Axonal transport and secretion of fibrillar forms of alpha-synuclein, Aβ42 peptide and HTTExon 1. *Acta Neuropathol.* (2016) 131:539-48. doi: 10.1007/s00401-016-1538-0.

Le projet **STRUCTOXXIC** est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2012 et a duré 36 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 300 000 €.

Partenaires : CNRS Lyon et Beat Meier, ETH Zurich.

COORDINATEUR

Ronald Melki : ronald.melki@cnrs.fr
CNRS, Institut François Jacob (MIRcen)

TARGET PD

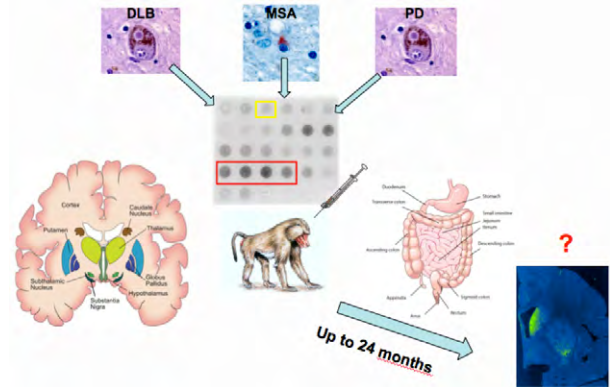
Modélisation multi-factorielle de la dégénérescence parkinsonienne : vers des modèles translationnels heuristiques

— Rappel des objectifs

En dépit des progrès sans précédent dans la compréhension des mécanismes neurodégénératifs dans la maladie de Parkinson (MP), AUCUN modèle mammifère ne reproduit encore la dégénérescence parkinsonienne âge-dépendante, la pathologie α -synucléine avec ses inclusions, la physiopathologie de la MP ainsi que la large gamme de symptômes parkinsoniens moteurs et non moteurs. Cette absence empêche le développement de stratégies thérapeutiques neuroprotectrices et neurorégénératives, et constitue un obstacle tant pour la recherche académique qu'industrielle dans la nécessaire translatabilité des découvertes fondamentales en données cliniquement pertinentes. Les données épidémiologiques et cliniques suggèrent fortement que la MP résulte d'une étiologie multifactorielle impliquant des facteurs de susceptibilité génétique et d'expositions environnementales se superposant au vieillissement, le facteur de risque majeur de la MP. La nature multifactorielle des causes dégénératives et des processus a été négligée jusqu'à présent, expliquant l'échec de la réplication de la MP chez les mammifères. Nous proposons ici quatre catégories de mécanismes que nous avons combiné dans un cadre intégré: (i) le rôle du vieillissement, (ii) le rôle de la dysfonction lysosomale (s), (iii) le rôle de l' α -synucléine agissant potentiellement à la manière d'un prion et, d'une importance primordiale, (iv) la plus grande susceptibilité des neurones dopaminergiques de primates par rapport aux neurones dopaminergiques des rongeurs PD.

— Résultats majeurs

TARGET PD a donc modélisé de façon innovante la MP chez la souris et les primates l'interaction de ces causes de la mort cellulaire dans la MP. Que TARGET PD soit un programme ambitieux promoteur d'un potentiel de rupture épistémologique qui augmente la compétitivité de la France tout en ouvrant la voie vers des modèles de validation préclinique des traitements neuroprotecteurs pour la MP et au-delà, justifiait d'accepter le défi qu'il représentait. Nous avons répondu à l'ensemble des objectifs en déterminant que le vieillissement est un facteur qui s'ajoute aux mécanismes propres à la MP mais qui de fait n'est pas un facteur de risque, tant chez les rongeurs que chez les primates. Nous avons caractérisé les dysfonctions lysosomales dans de nombreux modèles et apportés des pistes encourageantes sur la modulation de la voie autophagique-lysosomale en tant que poste thérapeutique pour ces pathologies à accumulation de protéines. Nous avons mené l'effort sans précédent d'une caractérisation chez le rongeur et surtout chez le primate de la capacité l' α -synucléine, à induire l'aggrégation, la propagation du message agrégatif et enfin la neurodégénérescence. TARGET PD a donc modélisé de façon innovante la MP chez la souris et les primates l'interaction de ces causes de la mort cellulaire dans la MP.



Étude des conséquences de l'exposition (i) à des agrégats protéiques de différentes pathologies administrés (ii) dans le système nerveux central ou dans le système nerveux entérique chez le primate non humain.
Dr. Celine Périer. Crédit : © Institut des Maladies Neurodégénératives.

— Production scientifique et valorisation

- ▶ Arotcarena ML, Bourdenx M, Dutheil N, Thiolat ML, Doudnikoff E, Dovero S, Ballabio A, Fernagut PO, Meissner WG, Bezard E, Dehay B. Transcription factor EB overexpression prevents neurodegeneration in experimental synucleinopathies. *JCI Insight*, 2019; 4.
- ▶ Bourdenx M, Daniel J, Genin E, Soria FN, Blanchard-Desce M, Bezard E, Dehay B. Nanoparticles restore lysosomal acidification defects: Implications for Parkinson and other lysosomal-related diseases. *Autophagy*, 2016; 12: 472-83.
- ▶ Bourdenx M, Dovero S, Engeln M, Bido S, Bastide MF, Dutheil N, Vollenweider I, Baud L, Piron C, Grouthier V, Boraud T, Porras G, Li Q, Baekelandt V, Scheller D, Michel A, Fernagut PO, Georges F, Courtine G, Bezard E, Dehay B. Lack of additive role of ageing in nigrostriatal neurodegeneration triggered by alpha-synuclein overexpression. *Acta Neuropathol Commun*, 2015; 3: 46.

Le projet TARGET PD est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en décembre 2012 et a duré 60 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 559 874 €.

COORDINATEUR

Dr. Erwan Bézard : erwan.bezard@u-bordeaux.fr
Institut des Maladies Neurodégénératives, CNRS UMR 5293 /
Université de Bordeaux II
<http://www.imn-bordeaux.org/>

X-PROTECT

Potentiel neuroprotecteur de peptides dérivés de la protéine X du Bornavirus

— Rappel des objectifs

Les maladies neurodégénératives représentent un enjeu majeur de santé publique, qui risque d'accroître en importance dans les années à venir avec le vieillissement global des populations. Il est donc essentiel d'identifier de nouvelles pistes permettant de bloquer ou de ralentir la mort neuronale. X-PROTECT cherche à exploiter la capacité naturelle développée par les virus qui, en tant que parasites obligatoires, ont adopté des stratégies visant à limiter la mort de leur cellules cibles afin d'optimiser leur survie. En outre, ces stratégies « pro-survie » sont probablement plus élaborées dans le cas des virus neurotropes, qui infectent des cellules post-mitotiques à capacité de renouvellement limitée. Notre projet a évalué le potentiel neuroprotecteur de protéines et de peptides dérivés du Bornavirus, un virus neurotrope qui persiste dans les neurones du cerveau de nombreuses espèces animales, sans provoquer directement la mort cellulaire. Ceci est lié à l'expression d'une protéine virale non-structurale, qui se localise dans la mitochondrie des neurones infectés et les protège de la mort cellulaire. Dans ce contexte, les objectifs d'X-PROTECT ont consisté à : (a) évaluer le potentiel neuroprotecteur de la protéine X du Bornavirus, en utilisant des modèles cellulaires et animaux de la maladie de Parkinson ; (b) concevoir des produits dérivés de la protéine X plus facilement utilisables en thérapie ; (c) déterminer une méthode d'administration non-invasive et évaluer le pouvoir neuroprotecteur de ces nouveaux composés.

— Résultats majeurs

À l'aide de cultures neuronales compartimentalisées, nous avons montré que la protéine X du Bornavirus protégeait les neurones de la fragmentation axonale induite par diverses toxines, même lorsqu'elle était exprimée seule en dehors du contexte d'une infection. En outre, nous avons montré que la localisation mitochondriale de cette protéine était essentielle pour ses effets protecteurs et nous avons conçu des mutants de la protéine X avec un ciblage mitochondrial accru. Nous avons ensuite montré que la protéine X, lorsqu'elle est exprimée dans le cerveau de souris après injection stéréotaxique d'un lentivecteur dans la substance noire, protégeait les neurones dopaminergiques de la neurodégénérescence induite par la toxine MPTP, un modèle toxique de la maladie de Parkinson. Enfin, nous avons conçu un peptide dérivé de la partie C-terminale de la protéine X et fusionné à une séquence d'adressage mitochondrial. Ce peptide a démontré un potentiel neuroprotecteur comparable à celui de la protéine complète, non seulement en culture cellulaire mais aussi chez la souris intoxiquée par le MPTP. De façon intéressante, ce peptide a pu être administré par instillation intranasale pour être efficace, ce qui laisse espérer une approche simple et peu invasive pour protéger de la neurodégénérescence.

— Production scientifique et valorisation

► Szelechowski, M., Bétourné, A., Monnet, Y., Thouard, A., Ferré, C.A., Peyrin, J.M., Hunot, S. and Gonzalez-Dunia D. Nature Communications 5:5181. doi: 10.1038/ncomms6181, 2014.

► Ferré CA, Davezac N, Thouard A, Peyrin JM, Belenguer P, Miquel MC, Gonzalez-Dunia* D, Szelechowski* M. FASEB Journal 30(4): 1523-33, 2016.

Brevet :

► Szelechowski, M., Bétourné, A., Hunot, S., Gonzalez-Dunia, D. Methods and pharmaceutical compositions for prevention or treatment of neurodegenerative diseases. EP14305874.1, 2014. US Extension N° 10,059,748, 2018.

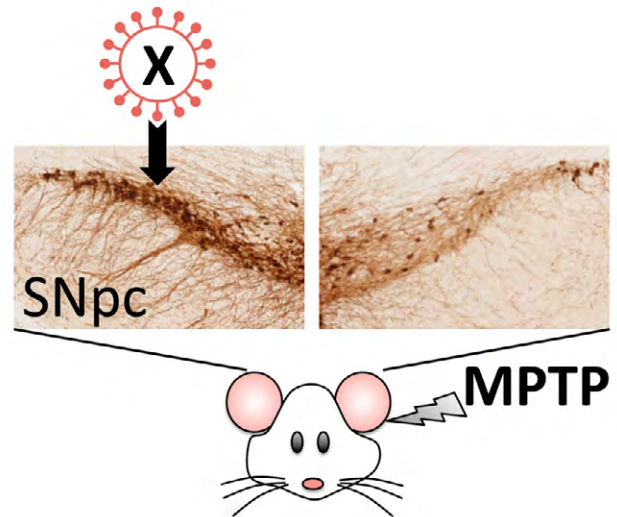


Figure 1 : Représentation schématique de la protection des neurones dopaminergiques de la substance noire qui est conférée par l'expression de la protéine X dans le cerveau d'un modèle murin de maladie de Parkinson induit par intoxication avec la toxine MPTP. Crédit : © Marion Szelechowski – Daniel Dunia – Stéphane Hunot.

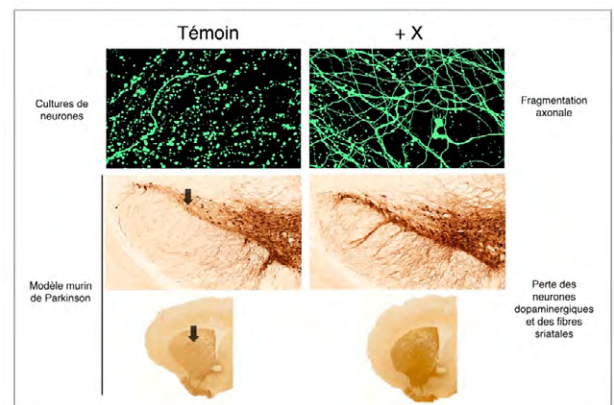


Figure 2 : Protection neuronale conférée par la protéine X du Bornavirus. Sur des cultures neuronales, la protéine protège contre la fragmentation axonale induite par des toxines mitochondriales (panneau du haut, marquage de la Tubuline neuronale, révélant la fragmentation axonale). Dans le modèle murin de maladie de Parkinson induit par la toxine MPTP, la protéine X, protège de la perte des corps cellulaires (en haut) ou des terminaisons axonales (en bas) des neurones dopaminergiques de la substance noire. Crédit : © Marion Szelechowski – Daniel Dunia – Stéphane Hunot.

Le projet X-PROTECT est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en mars 2013 et a duré 30 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 248 890 €.

Partenaires : ICM, Inserm, Paris, Inserm Transfert SA, Paris [partenaire valorisation].

COORDINATEUR

Daniel Gonzalez-Dunia : daniel.dunia@inserm.fr

CPTP, Inserm, Toulouse

<https://www.cptp.inserm.fr/en/research-teams/team-7-dunia-casper/>

Maladie d'Alzheimer et Tauopathies

ADAMGUARD	p. 65	MetAlZ	p. 79
AD HOC	p. 66	MinAlpha7	p. 80
ADORATAU	p. 67	NeurobioPKR	p. 81
ATACTAD	p. 68	P2X7RAD	p. 82
BIOMARKAPD	p. 69	PERADES	p. 83
CholAD	p. 70	PREVENTAD	p. 84
CircProt	p. 71	SPREADTAU	p. 85
CoRehAlz	p. 72	SynflAD	p. 86
CYTOKALZ	p. 73	TAF	p. 87
GWAS in AD	p. 74	TaumiRNA	p. 88
HSG	p. 75	VADAD	p. 89
HuntAbeta	p. 76	VGLUTAD	p. 90
InVivoSTED	p. 77	ViAGeCo	p. 91
MAALAD	p. 78		

ADAMGUARD

Les réseaux protéiques associés aux récepteurs 5-HT₄ : gardes rapprochées du trafic de l'ADAM10 et de l'APP

— Rappel des objectifs

► Réduire la production de peptides amyloïdes toxiques

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative, à progression lente, provoquant une perte de mémoire associée à des troubles cognitifs importants. Au cours de cette pathologie, un déséquilibre se produit qui conduit à une surproduction par les cellules, et notamment par les neurones, du peptide amyloïde Aβ. L'accumulation de ce peptide est toxique et induit des défauts synaptiques associés à une mort neuronale. Nous avons montré que la présence à la membrane cellulaire du récepteur de la sérotonine de type 4 (5-HT₄) permet de réduire la production de peptides amyloïdes. Ce garde du corps et ses associés modifient le trajet de la protéine précurseur du peptide Aβ et de l'alpha-sécrétase ADAM10 à l'intérieur de la cellule. Les objectifs du projet ADAMGUARD sont : – d'identifier les protéines partenaires du récepteur 5-HT₄ et d'expliquer comment elles contrôlent le trafic intracellulaire des acteurs impliqués dans le développement de la maladie d'Alzheimer ; – de rechercher des composés activateurs de ce récepteur pour renforcer son action protectrice ; – de proposer des stratégies innovantes visant à diminuer la production des peptides amyloïdes afin de retarder la progression de la maladie d'Alzheimer.

► Spectrométrie de masse, caractérisation fonctionnelle des partenaires protéiques et modèles murins

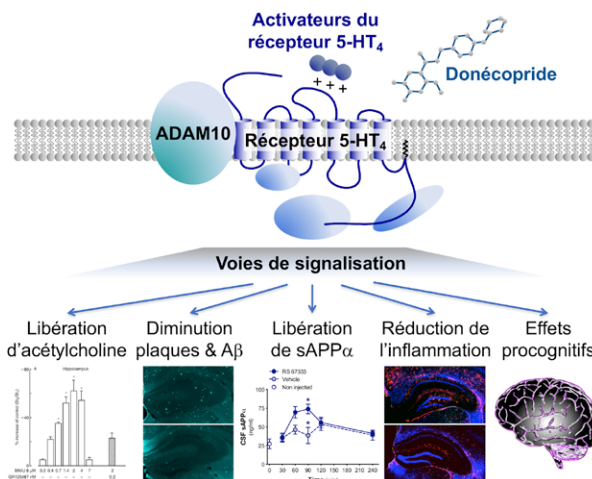
L'identification des protéines partenaires constituant le réseau associé au récepteur 5-HT₄ et à l'ADAM10 a été réalisée par spectrométrie de masse. Cette technologie permet de déterminer avec précision la composition en protéines d'un échantillon biologique. Cette approche non-biaisée a fourni une liste exhaustive des partenaires du réseau, parmi lesquelles nous avons focalisé notre attention sur les protéines les plus à même d'avoir une action dans le trafic intracellulaire. L'effet de la surexpression ou de la suppression de ces protéines d'intérêt sur la production de peptide amyloïde dans les cellules a été analysée. Nous avons également étudié dans des modèles cellulaires et *in vivo* l'effet de l'activation du récepteur lui-même par des molécules chimiques, candidats-médicaments. De nouveaux candidats-médicaments ont été validés à l'aide de modèles murins transgéniques de la maladie d'Alzheimer.

— Résultats majeurs

Les analyses protéomiques nous ont permis de cibler plusieurs protéines du réseau associé au récepteur 5-HT₄ et à l'ADAM10 qui présentent un intérêt particulier dans le contexte de la maladie d'Alzheimer et dont nous poursuivons la caractérisation. Nous avons montré que l'administration chronique et précoce de molécules activant le récepteur 5-HT₄ ralentit le développement de la pathologie et empêche les pertes de mémoire de souris modèles de la maladie d'Alzheimer. Nous avons réalisé une analyse longitudinale des dommages causés par les peptides amyloïdes sur la vascularisation cérébrale et sur l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique. En collaboration avec deux équipes de l'Université de Caen, nous avons conçu une molécule double-cible innovante et prometteuse pour le traitement de la maladie d'Alzheimer : le donecopride. Deux brevets avec extension internationale ont été déposés.

— Production scientifique et valorisation

► Rochais C. *et al.* (2019) *Brit J Pharmacol.* 177: 1988-2005. doi: 10.1111/bph.14964.



Effets bénéfiques obtenus, dans le contexte de la maladie d'Alzheimer, lors de l'activation du récepteur de la sérotonine de type 4 (5-HT₄) par des molécules activatrices ou des candidats-médicaments comme le donecopride. ADAM10 : alpha-sécrétase majeure cérébrale, responsable du clivage protecteur de la protéine précurseur de l'amyloïde. D'après Siniscalchi A., 1999 et Claeysen S., 2015.

- Baranger K. *et al.* (2017) *Neuropharmacology.* 126:128-141. doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.08.031.
- Giannoni P. *et al.* (2016) *Neurobiol Dis.* 88:107-17. doi: 10.1016/j.nbd.2016.01.001.
- Claeysen S, Bockaert J, Giannoni P. (2015) *ACS Chem Neurosci.* 6:940-3. doi: 10.1021/acschemneuro.5b00135.
- Rochais C. *et al.* (2015) *J Med Chem.* 58:3172-87. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b00115.
- Saraceno C. *et al.* (2014) *Cell Death Dis.* 5:e1547. doi: 10.1038/cddis.2014.492.
- Lecoutey C. *et al.* (2014) *Proc Natl Acad Sci USA.* 111:E3825-30. doi: 10.1073/pnas.1410315111.
- Giannoni P. *et al.* (2013) *Front Aging Neurosci.* 5:96. doi: 10.3389/fnagi.2013.00096.
- Cochet M. *et al.* (2013) 4:130-40. doi: 10.1021/cn300095t.

Brevets

- Dallemagne P, Rochais C, Claeysen S. (2018) Combination of acetylcholinesterase inhibitor and 5-HT₄ receptor agonist as neuroprotective agent in the treatment of neurodegenerative diseases. EP 18306278.5, PCT/EP2019/076129.
- Dallemagne P, Rochais C, Claeysen S. (2018) Donecopride as neuroprotective agent in the treatment of neurodegenerative diseases. EP 18306280.1, PCT/EP2019/076229.

Le projet ADAMGUARD est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en mars 2013 et a duré 60 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 405 100 €.

COORDINATEUR

Joël Bockaert : joel.bockaert@igf.cnrs.fr
IGF CNRS UMR 5203
www.igf.cnrs.fr

AD HOC

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

— Rappel des objectifs

En France, 900 000 personnes souffrent de la maladie d'Alzheimer. Outre la perte de mémoire, cette pathologie se caractérise par une importante mort cellulaire. Notre équipe a participé à la découverte des cellules souches adultes de la muqueuse olfactive humaine et, après avoir montré qu'elles permettent d'améliorer les symptômes locomoteurs dans un modèle rat de la maladie de Parkinson, nous avons pour objectif d'évaluer leur effet thérapeutique dans deux modèles murins de la maladie d'Alzheimer. Plus précisément, nous avons cherché à :

- ▶ évaluer le bénéfice thérapeutique de greffes de cellules souches olfactives ;
- ▶ caractériser les spécificités moléculaires et comportementales des souris transgéniques 5XFAD, modèle animal de la MA ;
- ▶ identifier certains des mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la migration des cellules souches.

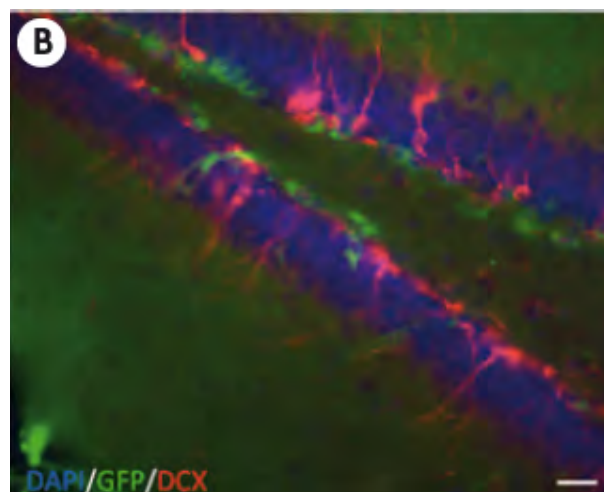
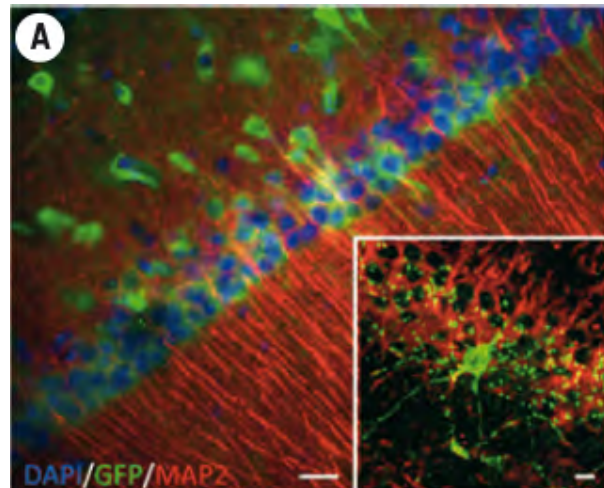
Nous avons utilisé trois types de stratégies méthodologiques complémentaires : i) des souris, modifiées ou non génétiquement, qui miment certains des symptômes de la maladie d'Alzheimer observés chez l'homme et qui nous ont permis d'évaluer le devenir des cellules souches après transplantation, soit dans le cerveau soit dans le sang ou le liquide céphalo-rachidien, ii) des tests comportementaux, des matrices d'électrodes et des puces pangénomiques d'ADN pour mieux caractériser nos modèles animaux et identifier les facteurs qui pourraient expliquer la migration des cellules souches, iii) des cultures cellulaires et un modèle *in vitro* de barrière hémato-encéphalique afin d'identifier les mécanismes moléculaires à l'origine de l'écotropisme des cellules souches et de leur action sur le tissu hôte.

— Résultats majeurs

Nous avons découvert que les cellules souches olfactives humaines sont capables de se transformer en neurones et de rétablir des capacités d'apprentissage, après avoir été transplantées dans l'hippocampe ou le liquide céphalo-rachidien de souris amnésiques. Afin de procéder à des greffes encore moins invasives, nous avons réalisé une étude préliminaire indiquant que les cellules souches peuvent également migrer dans le cerveau lésé lorsqu'elles sont implantées dans la circulation sanguine. A l'aide d'une modèle *in vitro* de barrière hémato-encéphalique, nous avons observé que les cellules souches sont capables de migrer au travers de cette barrière et découvert que la chimiokine Ccl2, produite par les zones d'inflammation cérébrale, attire les cellules souches. Enfin, nous avons participé à la caractérisation des souris transgéniques 5XFAD, modèle reconnu de la maladie d'Alzheimer, à l'aide d'outils tels que les puces ADN, les matrices d'électrodes et des tests comportementaux. L'ensemble de ces travaux nous a permis d'établir de nouveaux partenariats au niveau national et international dans les domaines de la recherche fondamentale et clinique.

— Production scientifique et valorisation

Le programme AD HOC a permis de publier 14 articles. La majorité de ces publications reflètent le fruit de la coopération entre 2 ou 3 équipes du consortium, témoignant ainsi du dynamisme d'AD HOC pour la génération de connaissances et pour l'ouverture de voies de recherche originales sur la maladie d'Alzheimer qui devraient contribuer à terme à dessiner des stratégies thérapeutiques innovantes dans le domaine de la thérapie cellulaire.



Transplantation intracérébrale ou intraventriculaire de cellules souches de la muqueuse olfactive. Cinq semaines après transplantation, des cellules souches humaines de la muqueuse olfactive (GFP+/vertes) sont retrouvées dans les couches cellulaires hippocampiques des champs amoniens (A) et du gyrus dentelé (B). Les cellules humaines, après avoir migré, se sont intégrées aux réseaux neuronaux préexistants et possèdent majoritairement des caractéristiques phénotypiques et morphologiques (insert en A) de neurones. De plus, les cellules humaines stimulent la formation de nouveaux neurones endogènes exprimant la doublecortine (DCX+/rouge) (B). (barres d'échelles : 20 µm). Crédit : © Emmanuel NIVET (INP CNRS UMR705).

Le projet AD HOC est un projet collaboratif public-privé de recherche fondamentale et préclinique. Le projet a commencé en mars 2011 et a duré 41 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 580 000 €.

Partenaires : IBMM CNRS UMR 5247, CNRS/AMU UMR 6149/7259, société VECT-HORUS.

COORDINATEUR

François Feron : francois.feron@univ-amu.fr
CNRS/AMU UMR6184 NICN

<https://inp.univ-amu.fr/en/teams/nose-nasal-olfactory-stemness-and-epigenesis>

ADORATAU

Récepteurs A_{2A} et Tauopathie

— Rappel des objectifs

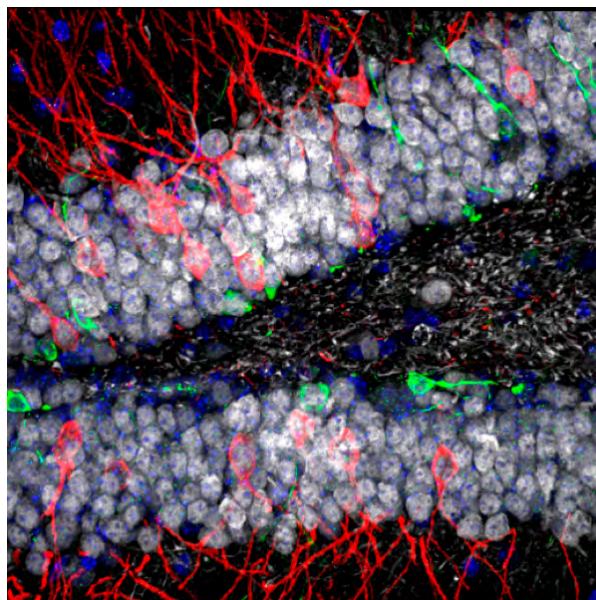
La consommation habituelle de caféine réduit les troubles cognitifs liés au vieillissement ainsi que le risque de développer la maladie d'Alzheimer (MA). Les effets centraux de la caféine sont en particulier liés à son action antagoniste des récepteurs adénosinergiques A_{2A} (A_{2A}Rs), dont l'expression cérébrale est anormalement élevée dans le contexte pathologique. Ces observations suggèrent que les effets bénéfiques de la caféine sont en lien avec le blocage de ces récepteurs dont la dysfonction participerait au développement de la maladie d'Alzheimer. Dans ce contexte, nos travaux se sont plus particulièrement intéressés au lien entre la Tauopathie, qui a un rôle primordial dans l'évolution des troubles mnésiques dans la maladie d'Alzheimer, et les A_{2A}Rs avec les objectifs 1) de démontrer l'impact d'une dysfonction neuronale et astrocytaire des A_{2A}Rs sur le développement de la tauopathie et de ses conséquences cognitives; 2) d'établir l'effet protecteur du blocage pharmacologique ou génétique du A_{2A}R dans des modèles de la MA et 3) de développer de nouvelles molécules antagonistes des récepteurs.

— Résultats majeurs

Nos données démontrent que le blocage pharmacologique (caféine/antagoniste) ou génétique des A_{2A}Rs exerce un effet bénéfique sur les troubles mnésiques dans des modèles murins de la MA reproduisant les lésions Tau mais également amyloïde. Nos travaux sur les souris Tau démontrent que l'invalidation constitutive mais également le traitement par un antagoniste sélectif à un stade tardif de la pathologie réduit la pathologie Tau, les troubles mnésiques associés tout en normalisant la plasticité synaptique et la balance Glutamate/GABA dans l'hippocampe. Nos données anatomopathologiques démontrent par ailleurs une augmentation significative de l'expression neuronale des récepteurs dans le tissu de patients Alzheimer mais également atteints de démence lobaire fronto-temporale avec mutation de Tau, une tauopathie primaire. Grâce à un nouveau modèle triple transgénique généré au laboratoire, nous avons surexprimé de manière conditionnelle les récepteurs dans les neurones des souris Tau à un stade précoce. Nos données montrent que la dérégulation neuronale des récepteurs potentialise la perte synaptique et les troubles cognitifs liés à la pathologie Tau, par un mécanisme dépendant de la microglie. Les A_{2A}Rs jouent donc un rôle central dans le lien Tauopathie et troubles mnésiques et s'avère être une cible thérapeutique à considérer dans le futur pour le traitement des Tauopathies. Dans cette perspective, nous avons développé de nouveaux antagonistes à partir d'études *in silico*. Cinq séries de molécules originales ont été synthétisées et leur affinité évaluée. Puis nous avons étudié la fonctionnalité, la sélectivité, les propriétés ADME et le passage de la BHE. Une série de dérivés se montre particulièrement intéressante et plusieurs molécules sont considérées pour des études comportementales.

— Production scientifique et valorisation

- ▶ Flaten V *et al.* (2013) Biochemical Society Transactions 42(2):587-92.
- ▶ Laurent C *et al.* (2014) Neurobiology of Aging 35(9):2079-90.
- ▶ Moas-Héloire V *et al.* (2015) European Journal of Medicinal Chemistry 106, 15-25.
- ▶ Batalha VL *et al.* Scientific reports 6:31493
- ▶ Laurent C *et al.* (2016) Molecular Psychiatry 21(1):149
- ▶ Duroux, R. *et al.* (2017) J. Enz. Inhib. Med. Chem. 32, 850.



Surexpression neuronale des récepteurs A_{2A} dans le Gyrus Denté de souris (A_{2A} : rouge ; Doublecortin : vert ; NeuN : blanc ; DAPI : bleu).
Crédit : © Emilie Faivre (INSERM UMRS-1172).

- ▶ Cellai L* *et al.* (2018) Frontiers in Neuroscience 12:520.
- ▶ Faivre E *et al.* (2018) Frontiers in Molecular Neuroscience 11:235.
- ▶ Temido-Ferreira M *et al.* (2018) Molecular Psychiatry (in press). doi: 10.1038/s41380-018-0110-9.
- ▶ Duroux R *et al.* (2018). Eur J Med Chem 144:151-163.
- ▶ Boulahjar R *et al.* (2018). Bioorganic and Medicinal Chemistry 26, 3296-3307.
- ▶ Paiva I *et al.* (2019). Glia 67(12):2329-2342.
- ▶ Carvalho K *et al.* (2019) Brain 142(11):3636-3654.

Le projet ADORATAU est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2013 et a duré 57 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 407 440 €.

Partenaire : Université Charles-de-Gaulle Lille 3 EA4481.

COORDINATEUR

David Blum : david.blum@inserm.fr
Inserm UMR-S1172 [ex U837], « Alzheimer & Tauopathies »
<http://crjpa.fr/>

ATACTAD

Activation des acétyltransférases dans la maladie d'Alzheimer

— Rappel des objectifs

Les troubles mnésiques sont un des symptômes majeurs de la maladie d'Alzheimer (MA) avant l'apparition de démences. Le contexte général du projet ATRACTAD est la recherche de nouveaux outils thérapeutiques basés sur les modulateurs des acétylations, pouvant permettre une amélioration de la plasticité et des capacités mnésiques dans la MA. L'acétylation réversible de la chromatine est une modification épigénétique qui joue un rôle fondamental dans les fonctions normales du cerveau car elle influence l'expression des gènes. Les acétylations sont régulées par deux familles d'enzymes : les histones acétyltransférases (HATs) catabolisent l'ajout d'un groupement acétyle et les histones déacétylases (HDACs) suppriment ce groupement. Au laboratoire, nous nous intéressons aux voies de régulation des acétylations dans la formation de la mémoire spatiale. Nous faisons l'hypothèse que certaines régulations par acétylation sont altérées au cours de la MA et impactent les capacités mnésiques des patients, notamment dans la formation de la mémoire à long terme. L'objectif de ce projet ATRACTAD est d'évaluer les mécanismes moléculaires liés aux acétylations (signatures épigénétiques et transcritomiques) mis en jeu lors d'un processus mnésique et ceux qui sont démantelés par la pathologie. Des analyses précliniques seront menées avec une molécule activatrice des acétyltransférases CBP/p300 chez l'animal normal et chez le modèle animal de MA pour établir si l'on peut améliorer la plasticité et les fonctions mnésiques, et ce, même dans un cerveau endommagé.

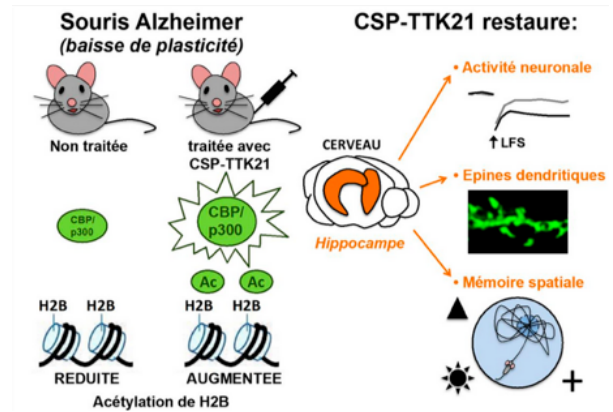
— Résultats majeurs

Preuve de concept chez l'animal normal.

Un résultat marquant est la démonstration d'effets bénéfiques de l'injection d'une molécule activatrice des HAT chez l'animal normal. Cette molécule a été développée en collaboration avec un laboratoire indien (Pr. TK Kundu ; Brevet 2013). Jusqu'à présent, dû à la mauvaise perméabilité de ces molécules, aucun laboratoire n'avait utilisé de tels activateurs *in vivo*. Nous montrons que l'activation systémique des HAT CBP/p300 induit l'acétylation des histones dans le cerveau de souris, stimule la neurogenèse adulte en favorisant la maturation et la survie des neurones nouvellement générés et augmente la durée de rétention d'une mémoire spatiale.

Signatures épigénétique des tauopathies.

Nous avons utilisé des souris présentant des dégénérescences neurofibrillaires (lésions cérébrales de la maladie d'Alzheimer), les souris THY-Tau 22 (Drs D. Blum, L. Buée). À l'âge de 8 mois, elles présentent des déficits de mémoire, une baisse d'activité neuronale et une perte de la capacité à former des épines dendritiques (excroissances des neurones impliquées dans la mémoire). Nous montrons une altération importante des programmes génétiques dans l'hippocampe des souris malades lors d'une tâche d'apprentissage, ainsi que de l'acétylation de l'histone H2B à l'échelle du génome. L'injection de la molécule activatrice rétablit les niveaux d'acétylation de H2B dans le cerveau, ainsi qu'une partie des programmes génétiques. Une étude préclinique réalisée sur les souris « Alzheimer » montre une amélioration de la mémoire à long terme, de la formation des synapses et de la transmission synaptique. Le projet ATRACTAD a permis d'identifier des signatures épigénétique et transcriptomique associées à la dégradation de la plasticité neuronale et de la mémoire au sein du cerveau présentant des lésions de la maladie d'Alzheimer. Il a également montré qu'il était possible de



La molécule CSP-TTK21, en activant l'enzyme CBP/p300 dans le cerveau, permet de rétablir des modifications épigénétiques (comme l'acétylation de H2B) perdues au cours de la maladie d'Alzheimer dans l'hippocampe et de restaurer la plasticité neuronale, ainsi que les capacités de mémoire spatiale.
 Crédit : © Anne-Laurence Boutillier, Jean-Christophe Cassel.

contrecarrer ces dysfonctionnements et d'améliorer la plasticité et la mémoire en activant les HAT CBP/p300 dans le cerveau malade. Le maintien/rétablissement des capacités mnésiques chez les patients MA permettrait de reculer l'âge auquel ils perdent leur autonomie.

— Production scientifique et valorisation

- ▶ Chatterjee S, *et al.* Reinstating plasticity and memory in a tauopathy mouse model with an acetyltransferase activator. *EMBO Mol Med.* 2018 Nov;10(11).
- ▶ Merienne K, Boutillier AL. [Epigenetic regulations and cerebral plasticity: towards new therapeutic options in neurodegenerative diseases?]. *Biol Aujourd'hui.* 2016;210(4):297-309.
- ▶ Chatterjee S*, Mizar P*, Cassel R*, *et al.* A novel activator of CBP/p300 acetyltransferases promotes neurogenesis and extends memory duration in adult mice. *The Journal of Neuroscience.* * first co-authors. 2013 Jun 26;33(26):10698-712.

Brevet : « A nanosphere - Histone Acetyltransferase (HAT) activator composition, process and methods thereof ». TK Kundu, AL Boutillier *et al.* International publication Number N° dépôt: WO 2013/160885 A1 ; date de dépôt : 31/10/2013.

De nombreuses conférences et posters ont été présentés à des congrès nationaux/internationaux.

Le projet ATRACTAD est un projet collaboratif international de recherche fondamentale et préclinique. Le projet a commencé en octobre 2012 et a duré 36 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 445 630 €.

Partenaires : Inserm, UMRS 1172 (ex U837) « Alzheimer & Tauopathies » (Lille), Transcription & Disease Laboratory, MGBU, JNCASR (Bangalore, Inde).

COORDINATRICE

Anne-Laurence Boutillier : laurette@unistra.fr
 Université Louis Pasteur Strasbourg 1 / CNRS UMR7237
www.lnca.cnrs.fr

BIOMARKAPD

Biomarkers for Alzheimer's disease and Parkinson's disease

— Rappel des objectifs

Les maladies d'Alzheimer et Parkinson ont une incidence qui augmente avec le vieillissement de la population et représentent ainsi un véritable enjeu de santé publique. Les traitements actuellement développés seront d'autant plus actifs qu'ils seront prescrits au stade précoce de ces maladies, stade où leur diagnostic est particulièrement difficile. C'est là que les biomarqueurs, actuellement en développement, peuvent trouver toute leur utilité en permettant d'orienter le diagnostic et de détecter les effets des thérapeutiques en développement. Ainsi, trois marqueurs biologiques du liquide céphalorachidien peuvent aider au diagnostic de maladie d'Alzheimer : il s'agit de la concentration de protéines TAU totale et de protéine TAU hyperphosphorylée, reflétant la dégénérescence axonale et celle de l'isoforme à 42 acides aminés du peptide β amyloïde. Pour la maladie de Parkinson, il s'agit du dosage de l'alpha-synucléine dans le liquide céphalorachidien. Cependant, d'importantes différences dans les mesures de ces biomarqueurs ont été rapportées entre les études, entre les centres et entre les laboratoires. Ces variations de résultats peuvent être dues à des facteurs pré-analytiques ou analytiques et nécessitent d'harmoniser des procédures standardisées pour la mesure des marqueurs biologiques de la maladie d'Alzheimer et de la maladie de Parkinson. C'est le projet BIOMARKAPD.

— Résultats majeurs

Dans BIOMARKAPD, nous avons mené des actions pour normaliser les mesures des biomarqueurs à travers toute l'Europe afin de définir comment recueillir des échantillons, comment effectuer les mesures et comment interpréter les résultats. Ces travaux incluent également la formation de différents personnels (techniciens, biologistes, praticiens). Nous avons également créé une biobanque avec des échantillons de patients bien caractérisés atteints des maladies d'Alzheimer et Parkinson, y compris des patients à un stade très précoce, ainsi que des contrôles neurologiques sains. Ces échantillons serviront à mettre au point de nouveaux essais et à tester de nouveaux et meilleurs candidats biomarqueurs. Enfin, nous avons contribué à la génération de matériaux de référence certifiés qui pourront être utilisés pour harmoniser les essais utilisés pour mesurer les différents biomarqueurs. Les résultats de notre projet auront une influence majeure sur la recherche clinique et le développement de médicaments pour les maladies neurodégénératives en général et pour les maladies d'Alzheimer et Parkinson en particulier. Ils auront un impact sur ce type d'efforts à l'échelle mondiale et feront de l'Europe un chef de file mondial dans ce domaine. Le nombre important de publications illustre la richesse de la participation des équipes françaises ayant débouché sur des résultats d'importance concernant 1/ la standardisation des phases préanalytiques et analytiques, 2/ la validation d'un protocole de validation des techniques d'immunoanalyse de biomarqueurs neurodégénératifs 3/ la mise en place d'une biobanque, 4/ la validation de protocoles d'utilisation clinique, 5/ établissement de liens forts entre équipes de chercheurs. Le consortium était de conception multidisciplinaire unique et comprenait des spécialistes des sciences fondamentales, des biochimistes, des cliniciens, des économistes de la santé et des épidémiologistes. De cette façon, tout le processus, de la découverte des biomarqueurs à la mise en œuvre, était couvert. La collaboration a été un tel succès que les partenaires ont décidé de mettre sur pied la société internationale « CSF Neurochemistry » pour pour-



Crédit : © DR.

suivre le travail sur le développement des essais, qui propose en 2020 son troisième meeting (A. Perret-Liaudet et S. Lehmann font partie de l'Advisory Board).

— Production scientifique et valorisation

- ▶ del Campo M, *et al. Biomark Med.* 2012 Aug;6(4):419-30.
- ▶ Molinuevo JL *et al. J Alzheimers Dis.* 2013 Jan 1;36(1):67-77.
- ▶ Molinuevo JL *et al. Alzheimers Dement.* 2014 Nov;10(6):808-17.
- ▶ Reijs BL *et al. Frontiers in neurology* 2015; 6: 216.
- ▶ Leitao, M. J *et al. Frontiers in neurology.* 2015;6:153.
- ▶ Hoglund K *et al. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry.* 2015;449:3-8.
- ▶ Fourier A *et al. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry.* 2015;449:9-15.
- ▶ Blennow K *et al. Alzheimers Dement.* 2015 Jan;11(1):58-69.
- ▶ Andreasson U *et al. Frontiers in Neurology* 2015;6:179.
- ▶ Winblad B *et al. Lancet Neurol* 2016 Apr; 15(5):455-532.
- ▶ Lelethal N *et al. J Alzheimers Dis.* 2016 Mar 1.
- ▶ Vergallo A *et al. Alzheimers Dement.* 2018 Jul 26.

Le projet BIOMARKAPD est un projet collaboratif international de recherche fondamentale. Le projet a commencé en juin 2012 et a duré 42 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 456 352 €.

Partenaires : 52 partenaires dont 3 Français : Hôpital de la Salpêtrière, Inserm IMMA ; CHRU Montpellier, IRB ; Hospices civils de Lyon, Université de Lyon.

COORDINATEUR

Bengt Winblad
Karolinska Institute, Suède

CholAD

Non amyloid components of Alzheimer's disease: the cholesterol

— State of the art and scientific aims

Research on AD has concentrated upon proteins that aggregate in the brain: A β and tau. These proteins are insoluble and poorly diffusible and interact little with their environment. Toxicity at a distance from the aggregates implies interaction by diffuse molecules. Such molecules, associated with the aggregates, have not been intensely investigated. ApoE (the epsilon 4 haplotype being the major risk factor of AD) must be listed first among these candidate associated molecules. ApoE is a known transporter of cholesterol in the brain.

We hypothesized that altered homeostasis/regulation, of cholesterol and of other, still imperfectly characterized, membrane lipids as well as of ApoE and of other proteins implicated in lipid transports were involved in the etiopathogenesis of AD. The project has attempted to identify lipids and non amyloid proteins that are mediators of the pathology.

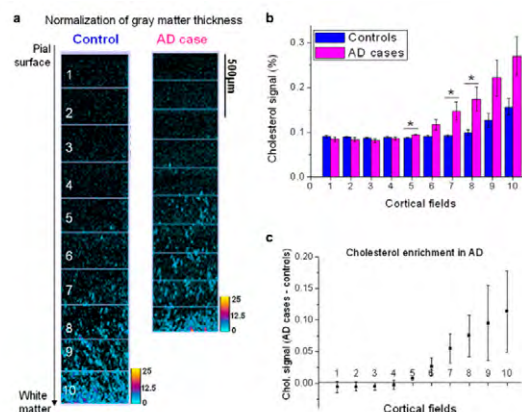
— Main results

- We confirmed the accumulation of cholesterol identified by microdissection of human cerebral cortex, followed by LC-MS. Using TOF-SIMS imaging, we found an increase of the cholesterol signal in the deep layers of the cortex. Specific ceramides were also detected in the plaques (Cer d18:1/18:0 and Cer d18:1/20:0) while Cer d18:1/26:1 was decreased.. Data suggest that the increased concentration was the consequence of an increased activity of sphingomyelinase. The importance of the balance between sphingosine-1- phosphate and ceramide was also shown.

- From the recent GWAS study, we analyzed PICALM, a clathrin adaptor protein. We found that PICALM was abnormally cleaved in AD, co-localized with tau and was overexpressed in microglia. - M.C.Potier, N. Cartier and her co-workers (ICM, Paris) showed that changes in the cholesterol concentration at the plasma membrane induced alteration of the topography of BACE (which was recruited in the rafts) and could explain the increase in A β production. Cholesterol increase at the plasma membrane of neurons in culture could reproduce early molecular and cellular phenotypes of AD: changes in gene expression profiles, reminiscent of early AD stages, enlarged and aggregated early endosomes and increased amyloid- β 42 secretion. In addition they showed that APP vesicular transport was inhibited in neuronal processes.

- B. Delatour injected A β oligomers in wild type mice. Using both immunohistochemistry and mass spectrometry, they showed that the injection produced immediate and transitory behavioral effects. They tested oligomers made with and without lipids and found that no difference could be found in the effects.

- E. Rogava identified or confirmed Alzheimer disease risk loci (CR1, CLU, PICALM and Bin1) - W. Zhang developed double transgenic mice Abcg2-KO/Tg-SwDI. Abcg2 deficiency augmented oxidative stress and cognitive defects in the AD mice. In vitro ApoE2 protected astroglial cells from A β 42-induced inflammatory response, which was, on the contrary, promoted by ApoE4. 3). Insulin signaling, in neuronal N2a cells, reduced cholesterol levels/metabolism at early time points as well as A β production. A number of TFs/signaling pathways that were activated or down regulated by insulin or/and A β peptides were identified.



Cholesterol-enrichment in the deep layers of the neocortex in Alzheimer's disease cases. a, Normalisation procedure and its application to TOF-SIMS images. b, Comparison between the cholesterol signal in each field in control and AD cases. c, Differences between the cholesterol in control and AD cases. From Lazar *et al.*, 2013.

— Scientific outcomes

- ▶ Ando K *et al.* (2013) Acta Neuropathol 125:861–78. doi: 10.1007/s00401-013-1111-z.
- ▶ Ando K *et al.*, (2016) Neurobiol Dis 94:32–43. doi: 10.1016/j.nbd.2016.05.017.
- ▶ Ceccom J *et al.*, (2014) Acta Neuropathol Commun 2:12. doi: 10.1186/2051-5960-2-12.
- ▶ Epelbaum S *et al.*, (2015) Neurobiol Aging. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2015.03.005.
- ▶ Jun G *et al.*, (2010) Arch Neurol 67:1473–1484. doi: 10.1001/archneurol.2010.201.
- ▶ Lazar AN *et al.*, (2013) Acta Neuropathol 125:133–44. doi: 10.1007/s00401-012-1041-1.
- ▶ Lee JH *et al.*, (2011) Arch Neurol 68:320–8. doi: 10.1001/archneurol.2010.292.
- ▶ Marquer C *et al.*, (2011) FASEB J 25:1295–305. doi: 10.1096/fj.10-168633.
- ▶ Marquer C *et al.* (2014). Mol Neurodegener 9:60. doi: 10.1186/1750-1326-9-60.
- ▶ Panchal M *et al.*, (2014) Neurobiol Dis 65:193–201. doi: 10.1016/j.nbd.2014.01.010.
- ▶ Reitz C *et al.*, (2011) Arch Neurol 68:99–106. doi: 10.1001/archneurol.2010.346.
- ▶ Reitz C *et al.*, (2011) Ann Neurol 69:47–64. doi: 10.1002/ana.22308.

Le projet CholAD est un projet collaboratif international de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2011 et a duré 47 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 435 000 € (3 partenaires français).

Partenaires : France : Inserm Paris V, Université Paris V René Descartes / Université Paris VII Denis Diderot. Canada : Université de Toronto, Université de Montréal, Université d'Ottawa.

COORDINATEUR

Charles Duyckaerts : charles.duyckaerts@aphp.fr
Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale Paris 6

CircProt

Protection des circuits synaptiques dans les maladies d'Alzheimer et de Huntington, rôle de BDNF et TrkB

— Rappel des objectifs

Les maladies de Huntington (HD) et d'Alzheimer (AD) sont toutes deux fortement associées à des déficiences liées au Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF, facteur neurotrophique essentiel pour le développement et la fonction synaptique et maintenance des circuits neuronaux. Bien que le BDNF soit neuroprotecteur, le développement de stratégies thérapeutiques liées au BDNF a été limité par le manque de connaissances sur les mécanismes qui régulent sa synthèse, son transport et sa libération ainsi que sa signalisation via son récepteur TrkB dans AD et HD. L'objectif de ce consortium était donc d'identifier des stratégies pour améliorer et mobiliser la synthèse endogène du BDNF, son trafic, et la signalisation de TrkB dans le traitement de la dysfonction synaptique et la dégénérescence observées dans HD et AD. L'analyse en parallèle des défauts synaptiques dans AD et HD associés aux dysfonctionnements des circuits neuronaux et leur restauration par des molécules nous aideront à identifier les mécanismes cellulaires communs et/ou divergents pour ces deux maladies.

— Résultats majeurs

1) Développement et validation de circuits neuronaux modèles de HD

Une étape essentielle pour valider des molécules et des stratégies thérapeutiques a été de reconstituer sur puces microfluidiques des réseaux neuronaux corticostriataux normaux et modèles de pathologies comme HD et le syndrome de Rett, une maladie neurodéveloppementale pour laquelle le BDNF joue également un rôle majeur. Par cette approche, nous avons développé et caractérisé les différentes étapes de développement et de maturation du circuit (Moutaux *et al.*, 2018). Ces puces ont démontré que la régulation du métabolisme du cholestérol permet de rétablir le trafic et la signalisation BDNF/TrkB dans un circuit HD (Kacher *et al.*, 2019). Enfin, nous avons développé un circuit microfluidique modèle du syndrome de Rett en réduisant la protéine MeCP2 et avons pu montrer que l'activation du transport endogène de BDNF via l'activation de la phosphorylation de la protéine huntingtine permet de rétablir le fonctionnement synaptique et améliore les symptômes chez les souris Rett (Ehninger *et al.*, In Press).

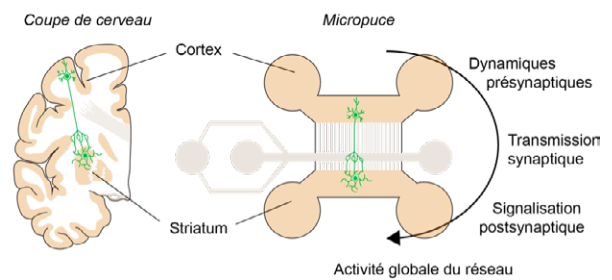
2) Analyse du potentiel thérapeutique du FTY720 dans un modèle d'AD.

Nous avons analysé si un traitement chronique au FTY720 (fingolimod), un composé chimique anti-inflammatoire impactant les taux de BDNF et déjà utilisé en clinique pour une autre maladie neurologique, pouvait contrer la pathologie dans le modèle APP-PS1 de l'AD. Nous avons montré que l'injection intra-péritonéale de FTY720 durant 1 à 2 mois normalise la plasticité synaptique, évite la perte d'épines dendritiques, atténue la neuroinflammation et restaure la cognition dans ce modèle (Kartalou *et al.* soumis).

3) Analyse de l'impact du fragment C-terminal de l'APP (AICD) sur la fonction neuronale

Afin d'élaborer de nouvelles approches thérapeutiques innovantes pour combattre l'AD, il est nécessaire de mieux comprendre les déficits de la fonction neuronale qui la caractérise. Pour cela, nous avons analysé comment l'augmentation des taux d'AICD, un peptide qui s'accumule dans les modèles animaux de l'AD et aussi chez des patients humains, impacte l'excitabilité

Reconstruction de réseaux neuronaux sur micropuces



Les réseaux microfluidiques permettent de reconstituer des circuits neuronaux reproduisant des pathologies comme la maladie de Huntington ou le syndrome de Rett (circuit cortico-striatal, ou de la maladie d'Alzheimer (réseaux cortico-hippocampal ou cortico-cortical de neurones).
Crédit : © M Cazorla / F Saudou.

neuronale. Nous avons montré que son augmentation dans le noyau réduit l'excitabilité des neurones excitateurs de l'hippocampe modifiant les oscillations en réseau et les tâches mnésiques associés (Pousinha *et al.* 2019).

— Production scientifique et valorisation

- ▶ Moutaux E *et al.* (2018). Neuronal network maturation differently affects secretory vesicles and mitochondria transport in axons. *Scientific Reports*. 8(1):13429.
- ▶ Kacher R *et al.* (2019) CYP46A1 gene therapy deciphers the role of brain cholesterol metabolism in Huntington's disease. *Brain*. 142(8):2432-2450.
- ▶ Ehinger Y *et al.* (2019) Huntingtin phosphorylation governs BDNF homeostasis and improves the phenotype of Mecp2 knockout mice, *Embo Molecular Medicine* In Press bioRxiv 643312; doi: <https://doi.org/10.1101/643312>
- ▶ Kartalou G-I (2020) Anti-inflammatory treatment with FTY720 starting after onset of symptoms reverses synaptic and memory deficits in an AD mouse model. (under review *Neuropsychopharmacology*). bioRxiv 868026 doi: <https://biorxiv.org/cgi/content/short/2019.12.15.868026v1>
- ▶ Pousinha PA *et al.* (2019) The Amyloid Precursor Protein C-Terminal Domain Alters CA1 Neuron Firing, Modifying Hippocampus Oscillations and Impairing Spatial Memory Encoding. *Cell Rep*. 29(2):317-331.e5.

Le projet CircProt est un projet collaboratif international de recherche fondamentale. Le projet a commencé en avril 2016 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 389 792 €.

Partenaires : Heinrich-Heine-University (Allemagne), University of Helsinki (Finlande), CNRS UMR7275 (France), GIN Inserm U1216 UGA (France), National Research Council (Italie), University of Milano (Italie), University of Bergen (Norvège).

COORDINATEUR

Volkmar Lessmann

Otto-von-Guericke-University [Allemagne]

<https://www.circprot.eu/>

CONTACTS :

Frédéric Saudou : frederic.saudou@inserm.fr

Hélène Marie : marie@ipmc.cnrs.fr

CoRehAlz

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

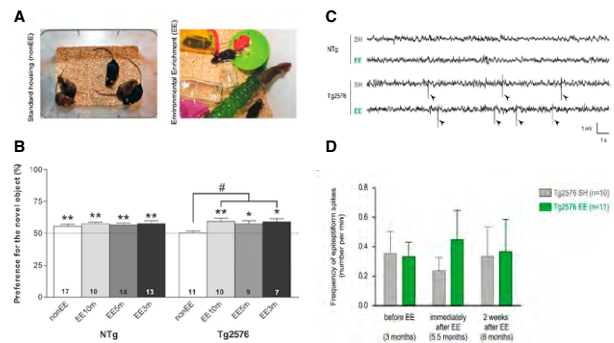
— Rappel des objectifs

Notre projet est basé sur des preuves cliniques et épidémiologiques considérables montrant que l'activité et le style de vie peuvent réduire le risque de développer la MA. Le modèle de réserve cognitive suggère que les personnes ayant une plus grande capacité de réserve du cerveau peuvent développer une résistance aux effets neurodégénératifs et optimiser leurs capacités de comportement par le recrutement différentiel des réseaux de neurones et / ou l'utilisation de stratégies cognitives alternatives. Notre projet avait comme objectif de déchiffrer les mécanismes cellulaires, moléculaires et les systèmes mis en jeu pour établir la réserve cognitive du cerveau qui sous-tend la résistance aux dommages neuropathologiques associés à la MA.

— Résultats majeurs

Les données des études épidémiologiques et des modèles animaux suggèrent que la progression de la MA peut être modulée par des facteurs environnementaux. Les mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans l'expression des effets modulateurs de l'environnement, en particulier les niveaux d'activité physique et mentale, commencent à être élucidés. Bien que les effets de l'enrichissement environnemental (EE) au long de la vie dans les modèles souris de la MA sont étudiés, nous nous sommes concentrés sur des périodes de temps spécifiques, caractérisant les principales étapes du développement de la maladie dans nos souris MA (Tg2576). Les souris de la lignée Tg2576 surexpriment l'isoforme 695 de hAPP avec la double mutation suédoise sous le contrôle du promoteur de hamster de la protéine prion. Ces souris présentent de l'amyloïde diffus et des dépôts A β focaux, et des troubles cognitifs liés à l'âge. Les souris Tg2576 présentent une progression lente de la maladie, et donc principalement imitent les étapes prodromiques de la MA. 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. Cette exposition courte et précoce des souris Tg2576 permet l'établissement d'une réserve cognitive cérébrale robuste dans le temps. Nous avons caractérisé la cinétique des effets de l'EE sur les fonctions mnésiques chez les souris modèles de la MA, cartographié 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. Des enregistrements électrophysiologiques ont permis d'exclure l'influence de l'EE sur le phénotype épileptique des souris MA. Nous avons caractérisé les effets de l'EE sur la réorganisation et la réactivité du réseau vasculaire des souris MA et l'amyloïdogenèse dans les compartiments neuro-naux et vasculaires des souris MA a été étudiée.

Nos travaux confortent l'idée que l'utilisation de paradigmes de stimulation de la réserve cérébrale cognitive, seule ou combinée à l'utilisation de traitements pharmacologiques, est une stratégie efficace pour protéger le cerveau. En l'occurrence, nos données révèlent que ces paradigmes s'avèrent capables non seulement de compenser certains déficits mnésiques, mais également d'agir au niveau neuronal pour corriger, au moins partiellement, l'organisation synaptique et la plasticité neuronale. Ainsi, nous avons identifié des altérations biologiques en amont de l'apparition des signes cliniques de la maladie, ce qui suggère que ces travaux doivent être poursuivis dans l'idée de caractériser le plus tôt possible la survenue de la pathologie.



A : souris élevées en milieu standard (SH), (gauche) ou exposées à l'EE en stimulations (droite) ;

B : L'EE restaure la mémoire de reconnaissance des souris Tg2576.

C : Tracés EEG de souris non transgéniques (NTg) ou Tg2576 de 6 mois hébergées en SH ou en EE. Seules les Tg2576 présentent des pointes interictales (flèches).

D : Fréquence des pointes interictales des souris Tg2576 hébergées en SH ou en EE, avant (à 3 mois), immédiatement après (5,5 mois) et 2 semaines après l'enrichissement (6 mois).

Crédit : © d'après Verret *et al.* 2013 ; Bezzina *et al.* 2015.

— Production scientifique et valorisation

- ▶ Verret L. *et al.* (2013) *Neurobiol Aging*, 34(1): 211-25.
- ▶ Krezymon *et al.* *Plos One* (2013) 27;8(9).
- ▶ Bezzina C *et al.* (2015) *Plos One*, 13; 10(3).
- ▶ Bezzina C *et al.* (2015) *Front. Aging Neurosci.* 23;7: 178.
- ▶ Verret L. & Rampon C Imperial College Press (vol 7) (2013).
- ▶ Bezzina C. et Rampon C. (2013) *La Revue de Neuropsychologie* 5(4), 293-7.

Le projet CoRehAlz est un projet de recherche fondamentale et préclinique. Le projet a commencé en janvier 2011 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 580 000 €.

Partenaires : CNRS CNIC / Université Bordeaux 1.

COORDINATRICE

Claire Rampon : claire.rampon@univ-tlse3.fr
 CNRS CRCA / Université Paul Sabatier
<http://cbi-toulouse.fr/fr/equipe-rampon>
<http://cognition.ups-tlse.fr>

CYTOKALZ

Processus inflammatoires périphériques dans la maladie d'Alzheimer : étude physiopathologique et diagnostique

— Rappel des objectifs

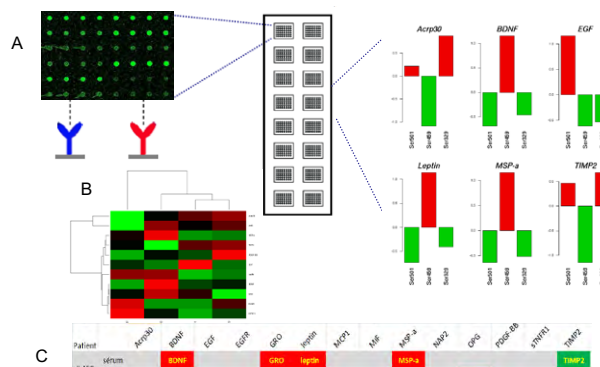
La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie neurodégénérative et évolutive, caractérisée par une perte progressive d'autonomie fonctionnelle. La MA représente la cause majeure de démence dans les pays occidentaux et le nombre de patients atteints de cette maladie est en constante progression du fait de l'espérance de vie croissante et du vieillissement de la population. Cette pathologie est ainsi devenue une préoccupation majeure de santé publique, et ce d'autant plus que la prise en charge de ces patients représente un coût économique considérable. La maladie est caractérisée par la présence de 2 processus neuro-pathologiques (les dégénérescences neurofibrillaires et les plaques amyloïdes [plaques séniles]), dont la détection permet de poser le diagnostic de la pathologie. Le dosage des biomarqueurs du liquide céphalo-rachidien (LCR, diminution des peptides Aβ1-42, augmentation des protéines Tau et p-Tau) constitue une aide précieuse au diagnostic de la MA et de ses formes prodromiques, mais le défi aujourd'hui réside dans l'identification de biomarqueurs dont le dosage pourrait être effectué dans le sang, ce qui faciliterait grandement le diagnostic et donc la prise en charge rapide des patients concernés.

L'inflammation intra-cérébrale est une caractéristique de la MA, consécutive à la souffrance neuronale et à l'accumulation des plaques amyloïdes et des dégénérescences neurofibrillaires. Les modèles murins de la MA montrent que les cellules immunitaires périphériques peuvent par ailleurs être recrutées du sang vers le cerveau, modulant ainsi l'expression de la maladie. Il a également été suggéré que la neuro-inflammation pouvait également être un facteur dans l'initiation de la maladie. Des études supplémentaires ont ainsi décrit des taux anormaux de cytokines, chimiokines et facteurs de croissance dans le LCR et le sang de patients atteints de la MA. Cependant, le rôle exact de l'inflammation dans la neurodégénérescence reste sujet à controverses et ses conséquences majoritairement délétères pour le cerveau.

L'étude CYTOKALZ avait pour objectif d'évaluer l'implication des processus inflammatoires dans la MA. Pour cela, nous avons développé une approche ambitieuse, basée sur l'utilisation de technologies hautement performantes en protéomique et permettant la caractérisation multiplexe et sensible de biomarqueurs protéiques. L'analyse de ces biomarqueurs inflammatoires a ainsi été menée dans le LCR et le plasma de patients atteints de démence de type MA, mais aussi dans le plasma d'animaux issus d'un modèle murin de cette pathologie (souris THY-Tau22).

— Résultats majeurs

L'étude CYTOKALZ a permis de détecter dans les modèles animaux et chez les patients un large éventail de protéines pro-inflammatoires, validant ainsi l'informativité pour le diagnostic de la MA de biomarqueurs sanguins décrits dans la littérature. Ce projet a ainsi permis d'identifier de nouveaux candidats présents dans le LCR et le plasma (IL-8, TNFR1, TIMP-1, sIL6R), dont le dosage, en association avec les tests actuellement réalisés en pratique clinique, pourrait constituer une plus-value pour le diagnostic ou le dépistage ou le suivi de cette maladie. La validité de ces nouveaux candidats a par ailleurs été testée au sein d'une cohorte élargie de patients disposant d'un suivi longitudinal, permettant ainsi d'évaluer leur performance prédictive du déclin cognitif.



A : des puces à anticorps sont utilisées pour analyser les prélèvements et quantifier les différentes cytokines.
B : des analyses biostatistiques permettent de regrouper les biomarqueurs présentant des modifications d'expressions
C : des mesures individuelles avec des approche ciblé (Meso-Scale-Discovery) permettent de confirmer les observations.
Crédit : © LBPC CHU Montpellier.

— Production scientifique et valorisation

- ▶ Central Nervous System and Peripheral Inflammatory Processes in Alzheimer's Disease: Biomarker Profiling Approach. Delaby C, Gabelle A, Blum D, Schraen-Maschke S, Moulinier A, Boulanghien J, Séverac D, Buée L, Rème T, Lehmann S. *Front Neurol.* 2015 Aug 24;6:181. doi: 10.3389/fneur.2015.00181. eCollection 2015. PMID: 26379616.
- ▶ Hippocampal T cell infiltration promotes neuroinflammation and cognitive decline in a mouse model of tauopathy. Laurent C, Dorothee G, Hunot S, Martin E, Monnet Y, Duchamp M, Dong Y, Légeron FP, Leboucher A, Burnouf S, Faivre E, Carvalho K, Caillierez R, Zommer N, Demeyer D, Jouy N, Sazdovitch V, Schraen-Maschke S, Delarasse C, Buée L, Blum D. *Brain.* 2017 Jan;140(1):184-200. doi: 10.1093/brain/aww270. Epub 2016 Nov 5. PMID: 27818384.
- ▶ Increased tauopathy drives microglia-mediated clearance of beta-amyloid. Chen W, Abud EA, Yeung ST, Lakatos A, Nassi T, Wang J, Blum D, Buée L, Poon WW, Blurton-Jones M. *Acta Neuropathol Commun.* 2016 Jun 23;4(1):63. doi: 10.1186/s40478-016-0336-1. PMID: 27339073.

Un article supplémentaire est en cours de préparation, dans le cadre de l'extension de cette étude par le biais d'un autre projet collaboratif (CHU Poitiers, Pr M.Paccalin).

Le projet CYTOKALZ est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2012 et a duré 42 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 560 865 €.

Partenaires : INSERM Montpellier, INSERM Lille.

COORDINATEUR

Sylvain Lehmann : s-lehmann@chu-montpellier.fr
CHU Montpellier

GWAS in AD

GWAS in AD: focus on miRNA

— Rappel des objectifs

Jusqu'à présent, les analyses des études d'association pangénomique (GWAS) ont identifié des dizaines de loci, contenant quelques centaines de gènes, génétiquement associés à la maladie d'Alzheimer (MA). Cependant, aucun gène n'est clairement identifié comme étant un coupable, et des stratégies supplémentaires sont nécessaires pour réduire la liste des candidats. Les microARN sont de petits ARN endogènes non codants qui fonctionnent pour réprimer la production de protéines et ont été impliqués dans les maladies neurodégénératives.

Au cours des dernières années, nous avons identifié un certain nombre de polymorphismes mononucléotidiques (SNP) dans le gène APP affectant la liaison des microARN, conduisant potentiellement à un risque accru de MA. Nos observations suggèrent que plusieurs polymorphismes associés à la MA abrogent la fonction des microARN. Notre objectif est d'explorer en détail la relation entre les données GWAS et les microARN.

À cette fin, nous profitons de notre expertise unique en génétique, biologie moléculaire, études animales et humaines.

— Résultats majeurs

Nous avons identifié une poignée de miARN clés et de cibles génétiques (en particulier les gènes à risque de MA) susceptibles d'être impliqués dans le développement de la maladie. Une attention particulière est désormais portée au gène *Fermt2* impliqué dans l'APP et la production de bêta-amyloïde. Nous pensons que tout changement dans *Fermt2* pourrait contribuer au risque de MA sporadique.

Ces travaux ont aussi contribué à l'étude / développement de jeunes chercheurs dans tous les laboratoires. Cette subvention a permis le développement de collaborations nationales (Paris, Rouen) et internationales (KU Leuven, Belgique et DRI, IOB, UCL, Royaume-Uni). Il a également fourni un effet de levier sur le rôle du tau dans la régulation des gènes. Enfin, il est à noter qu'il s'agit de l'un des premiers fonds français Coen suite à la sélection du Centre d'excellence français en neurodégénérescence (LiCEND à Lille). Il a également bénéficié de l'effet levier apporté par le LabEx DISTALZ.

Dans l'ensemble, ce projet a aidé à découvrir les rôles sans précédent des loci associés à la MA. Cela permet de préciser certaines voies impliquées dans la ou les causes de la MA sporadique et d'ouvrir la porte à de nouveaux biomarqueurs et voies thérapeutiques.

— Production scientifique et valorisation

- Delay C, Grenier-Boley B, Amouyel P, Dumont J, Lambert JC (2016) miRNA-dependent target regulation: functional characterization of single-nucleotide polymorphisms identified in genome-wide association studies of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 24;8(1):20.
- Chapuis J, Flaig A, Grenier-Boley B, et al. (2017) Genome-wide, high-content siRNA screening identifies the Alzheimer's genetic risk factor FERMT2 as a major modulator of APP metabolism. *Acta Neuropathol* 133(6):955-966.
- Lebouvier T, Pasquier F, Buée L (2017) Update on Tauopathies. *Curr Op Neurol*, 30(6):589-598.
- Benhelli-Mokrani H, Chauderlier A, Mansuroglu Z, et al. (2018) Genome-wide identification of neuronal DNA regions bound by Tau protein under physiological and stress conditions. *Nucleic Acids Res*, 46(21):11405-422.

Polymorphismes associés à la maladie d'Alzheimer dans des sites cibles de microARN identifiés in silico, avec la fréquence d'allèles mineurs correspondante, les odds ratio (OR) et l'effet potentiel sur la liaison des microARN (modifié d'après Delay et al., 2016).

Gène	PolymiRTS	Allèle mineure	MAF (%)	OR	95 % CI	miRNA	Conséquence	Effet attendu sur l'expression
<i>FERMT2</i>	rs7143400	T	10.08	1.09	1.04-1.15	hsa-miR-4504	Appariement parfait	Diminution
<i>MS4A2</i>	rs2847655	C	41.09	0.90	0.87-0.93	hsa-miR-585-3p	Perturbation de l'appariement	Augmentation
						hsa-miR-3945	Appariement parfait	Diminution
						hsa-miR-6876-3p	Perturbation de l'appariement	Augmentation
<i>MS4A6A</i>	rs610932	A	42.49	0.91	0.88-0.94	hsa-miR-626	Perturbation de l'appariement	Augmentation
						hsa-miR-6888-3p	Appariement parfait	Diminution
<i>NUP160</i>	rs9909	C	33.75	0.93	0.90-0.96	hsa-miR-3976	Appariement parfait	Diminution
						hsa-miR-1185-1-3p	Perturbation de l'appariement	Augmentation

Abréviations : MAF Fréquence des allèles mineurs, PolymiRTS Polymorphismes dans les sites cibles miARN, miR & miRNA microARN

Un résumé des gènes, des polymorphismes mononucléotidiques, de l'identité des allèles mineurs par rapport au brin de la région non traduite 3', du MAF et de l'OR [IC à 95 %], les miARN affectés, les effets des PolymiRTS associés à la maladie d'Alzheimer identifiés dans Delay C *et al.* (2016) et les conséquences prévues. Crédit : © ISITE-ULNE de Lille.

- Sierksma A, Lu A, Salta E, Vanden Eynden E, Callaerts-Vegh Z, D'Hooge R, Blum D, Buée L, Fiers M, De Strooper B (2018) Deregulation of neuronal miRNAs induced by either amyloid- β or TAU pathology. *Mol Neurogener*, 13(1):54.
- Boscher E, Husson T, Quenez O, et al. (2019) Copy Number Variants in miR-138 as a Potential Risk Factor for Early-Onset Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 68(3):1243-1255.
- Sierksma A, Lu A, Salta E, Mancuso R, Zoco J, Blum D, Buée L, De Strooper B, Fiers M (2020) Novel Alzheimer risk genes determine the microglia response to amyloid β but not to TAU pathology. *EMBO Mol Med* (2020) 12: e10606.
- Eysert, F., Coulon, A., Boscher, E. *et al.* Alzheimer's genetic risk factor FERMT2 (Kindlin-2) controls axonal growth and synaptic plasticity in an APP-dependent manner. *Mol Psychiatry* (2020). <https://doi.org/10.1038/s41380-020-00926-w>

Le projet GWAS in AD est un projet collaboratif international de recherche fondamentale et préclinique. Le projet a commencé en mars 2016 et a duré 36 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 313 600 €.

Partenaires : Institut Pasteur de Lille U1167, Inserm UMR 1172, France.

COORDINATEUR

Sébastien Herbert

Université de Laval (Canada)

CONTACT :

Luc Buée : luc.buee@inserm.fr

<http://lucbuee.fr/>

HSG

Harmonized Hippocampal Subfield Segmentation Working Group

— Rappel des objectifs

Le lobe temporal médian (LTM) est une des régions cérébrales les plus étudiées dans le domaine du vieillissement normal et pathologique. La mesure *in vivo* du volume du LTM est classiquement utilisée de façon clinique afin de détecter la MA. Cependant, cette mesure isolée n'est pas suffisamment fiable et sensible. Or, le LTM est composé de plusieurs sous-régions qui se distinguent dans leur structure et leur fonction. De façon intéressante, ces régions sont différenciellement sensibles aux effets du vieillissement et de la MA, et la mesure de certaines sous-régions du LTM permet de détecter plus précisément les stades précoces de la maladie.

L'IRM *in vivo* à très haute résolution offre l'opportunité de mesurer les sous-régions du LTM avec précision. Cependant, les résultats rapportés dans la littérature dans le cadre de la MA sont très variables. Cette divergence peut s'expliquer par des différences méthodologiques, notamment concernant la définition anatomique des régions, qui varie fortement d'un protocole de segmentation à un autre. Cette absence alarmante de consensus est en grande partie due à un manque de protocoles de segmentation harmonisés pour les sous-régions du LTM, à la fois pour les sous-champs hippocampiques et les régions corticales adjacentes.

La solution permettant de remédier à ce problème méthodologique est donc de développer un protocole de segmentation harmonisé fiable et validé par les experts du domaine. L'objectif est également de créer un protocole qui peut être appliqué à toutes les populations d'âge et de santé variables. Cette initiative a été lancée en 2013 par le Harmonized Hippocampal Subfield Segmentation Working Group (HSG ; <http://hippocampalsubfields.com/>).

— Résultats majeurs

Les équipes du HSG se sont concentrées sur l'élaboration d'un protocole de segmentation des sous-champs hippocampiques, en se focalisant spécifiquement sur la partie antérieure de ces structures. Cette portion de l'hippocampe est particulièrement compliquée à segmenter, principalement à cause de sa complexité anatomique et du manque de descriptions histologiques disponibles. Pour ces raisons, la partie antérieure de l'hippocampe est rarement segmentée par les chercheurs utilisant l'IRM 3T *in vivo*.

Nous avons obtenu des échantillons histologiques de la tête de l'hippocampe ainsi que des annotations réalisées par les neuroanatomistes impliqués dans le HSG. Pour chacun des échantillons, nous avons obtenu au moins deux ensembles de segmentation afin de caractériser les différences entre les laboratoires de neuroanatomie. La collecte de ces échantillons a permis de mettre en place une base de données unique concernant la tête d'hippocampe, qui s'étend bien au-delà des atlas publiés auparavant.

Grâce au soutien financier du JPND, les équipes ont pu se rencontrer aux États-Unis, au Canada et au Royaume-Uni. La possibilité de se rencontrer afin de définir les règles de segmentation a permis à notre groupe de faire beaucoup plus de progrès qu'il n'aurait été possible autrement. Ces rencontres ont également permis aux participants de plus de laboratoires de participer à l'effort d'harmonisation. Une première version du protocole a été achevée à Londres et est en cours de finalisation par l'intermédiaire de rendez-vous téléphoniques et de vidéoconférences.



Coups histologique et IRM de la partie antérieure de l'hippocampe. Image tirée de Olsen *et al.*, (2019). Progress update from the Hippocampal Subfields Group. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 13: 439-449.

— Production scientifique et valorisation

Conférences :

- ▶ 2019 Society for Neuroscience, Chicago, USA.
- ▶ 2019 Organization for Human Brain Mapping, Rome, Italy.
- ▶ 2019 Alzheimer's Association International Conference, Los Angeles, USA.
- ▶ 2018 Society for Neuroscience, San Diego, USA.
- ▶ 2018 International Conference on Learning and Memory, Irvine, USA.
- ▶ 2018 Alzheimer's Association International Conference, Chicago, USA.
- ▶ 2017 Society for Neuroscience, Washington DC, USA.
- ▶ 2017 Alzheimer's Association International Conference, London, UK.

Publications :

- ▶ Olsen RK *et al.* (2019) Progress update from the Hippocampal Subfields Group. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 13: 439-449.
- ▶ Wisse LEM *et al.* (2017) *Hippocampus*. 27: 3-11
- ▶ Yushkevich PA *et al.* (2015) *NeuroImage*.111: 526-41.

Le projet HSG est un projet collaboratif international de recherche fondamentale. Le projet a commencé en novembre 2016 et a duré 12 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 50 000 € (partenaire français).

Partenaires : 44 partenaires dont 4 participants français, et une équipe Française financée (Inserm U1077).

COORDINATRICE

Rosanna Olsen

Rotman Research Institute (Canada)

<http://hippocampalsubfields.com/>

HuntAbeta

Huntingtine et la régulation du trafic d'APP/Abeta dans la maladie d'Alzheimer

— Rappel des objectifs

Comprendre le rôle du transport axonal d'APP dans la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer (MA) est caractérisée par le trafic et le clivage anormaux de la protéine précurseur amyloïde (APP) dont la fonction est encore mal comprise. Comme APP est le pré-curseur des peptides A β dont les niveaux sont cruciaux pour la MA, le clivage d'APP a été largement étudié. Cependant, on sait peu de choses sur la façon dont l'APP est transportée des corps cellulaires vers les synapses. En particulier, quels sont les mécanismes qui contrôlent le transport d'APP dans les axones et les dendrites ? Peut-on réduire la production d'A β dans les modèles de la MA en modulant le transport d'APP ? Quels sont les impacts sur la production d'A β et la maintenance des synapses ? Le but du projet est d'analyser en détail les régulateurs du transport axonal du trafic d'APP dans la MA. La dissection des mécanismes régulant le trafic d'APP peut conduire à une meilleure compréhension des mécanismes de production d'A β et à de meilleures interventions thérapeutiques potentielles.

— Résultats majeurs

Analyses *in vitro* et *in vivo* du transport axonal d'APP

En utilisant des dispositifs microfluidiques pour reconstituer sur puce un réseau corticocortical fonctionnel séparé par un compartiment synaptique, nous avons étudié le transport de l'APP dans les axones et les dendrites et l'accumulation d'A β aux synapses. Nous avons pu montrer qu'APP est transporté vers les synapses à la fois par les neurones pré et post-synaptiques mais que la majorité de l'APP qui s'accumule à la synapse provient des neurones présynaptiques et que ce transport a lieu dans les axones. Nos travaux antérieurs ont montré que la huntingtine (HTT), la protéine qui est mutée dans la maladie de Huntington (MH) est capable de réguler le transport de la protéine APP. Nous avons identifié une forme non phosphorylée de la HTT qui réduit le transport de cargos. Nous avons alors testé la possibilité que cette forme HTT non phosphorylée puisse ralentir le transport d'APP vers la synapse. Nous avons pu montrer que lorsque la HTT n'est pas phosphorylée, le transport d'APP vers la synapse et son accumulation sont réduits. Nous avons alors observé que cette réduction du transport permet de réduire les conséquences d'une expression anormale de la protéine APP, situation qui est observée dans la MA. En effet, alors que l'expression anormale

d'APP conduit à une diminution du nombre de synapses, cette situation est restaurée lorsque la HTT n'est plus phosphorylée. Ces résultats suggèrent qu'un ralentissement du transport axonal d'APP pourrait avoir un effet physiologique sur la synapse et donc sur les défauts cognitifs observés dans la MA. Nous avons alors croisé des souris modèles de la MA avec des souris qui expriment la HTT non phosphorylable et dans lesquelles le transport antérograde de l'APP est réduit. Nous avons constaté que la diminution du transport axonal réduit les niveaux d'APP à la synapse et restaure le nombre de synapses *in vivo*. Nous avons ensuite analysé le comportement de ces souris et observé que la réduction chronique du transport axonal réduit le déficit de mémoire chez les souris modèles de la maladie. Nous n'avons pas trouvé de corrélation avec les niveaux d'A β et de plaques amyloïdes dans le cerveau de ces souris suggérant que les défauts synaptiques et cognitifs sont plutôt liés au niveau synaptique d'APP mais pas à l'accumulation d'A β et/ou de plaques amyloïdes. Ce projet a permis de mettre en évidence un lien entre les protéines HTT et APP qui sont respectivement responsables de la MH et de la MA. Ces travaux suggèrent qu'une meilleure compréhension du transport axonal d'APP pourrait permettre l'identification de stratégies thérapeutiques pour la MA.

— Production scientifique et valorisation

► Bruyère J, Abada YS, Vitet H, Fontaine G, Deloulme JC, Cès A, Denarier E, Pernet-Gallay K, Andrieux A, Humbert S, Potier MC, Delatour B, Saudou F. Presynaptic APP levels and synaptic homeostasis are regulated by Akt phosphorylation of huntingtin. *Elife*. 2020 May 26;9:e56371. doi: 10.7554/eLife.56371.

Le projet HuntAbeta est un projet de recherche fondamentale et préclinique. Le projet a commencé en octobre 2012 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 575 048 €.

Partenaires : CNRS UMR7225 / ICM.

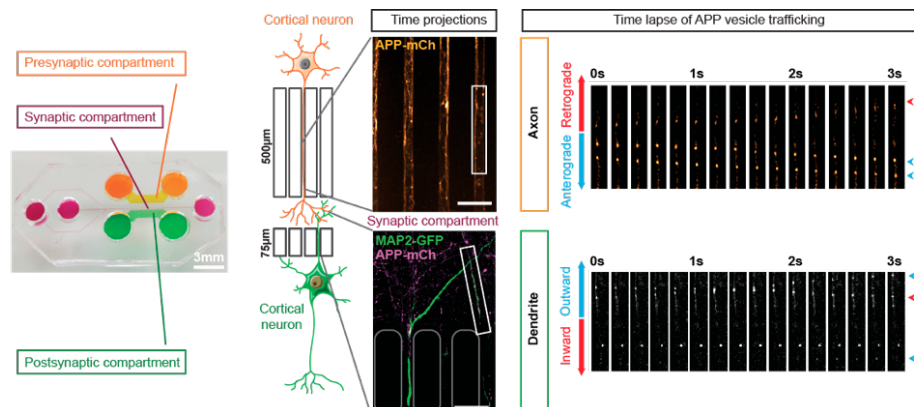
COORDINATEUR

Frédéric Saudou : frederic.saudou@inserm.fr

Institut Curie puis Inserm U836

<https://neurosciences.univ-grenoble-alpes.fr/en/research/research-teams/team-intracellular-dynamics-and-neurodegeneration>

Analyses du transport axonal et dendritique de la protéine APP en microchambre.
Crédit : © F Saudou/J Bruyère.



InVivoSTED

Synaptic correlates of learning and memory dysfunction analyzed by super-resolution STED microscopy in the hippocampus *in vivo*

— Rappel des objectifs

Les épines dendritiques constituent des unités de traitement informatique de l'information qui sous-tendent essentiellement toutes les fonctions cérébrales supérieures et jouent un rôle crucial dans les troubles cérébraux tels que l'autisme et la MA. Leur structure morphologique est étroitement liée à la fonction des synapses, car la taille des têtes des épines dendritiques s'adapte à la force synaptique, et la forme et le nombre des épines dendritiques peuvent être modifiés par l'induction de la plasticité synaptique et par l'expérience sensorielle.

Le « recâblage » des circuits neuronaux par la plasticité des épines dendritiques est considéré comme un mécanisme neurobiologique clé de la formation de la mémoire. Le rétrécissement des épines dendritiques potentialisées induit optiquement perturbe les capacités motrices nouvellement acquises. Alors que la plasticité des épines dendritiques associée à des expériences comportementales a été observée de façon constante dans le cortex de souris *in vivo*, on en sait très peu sur son rôle dans l'hippocampe, centre de mémoire du cerveau.

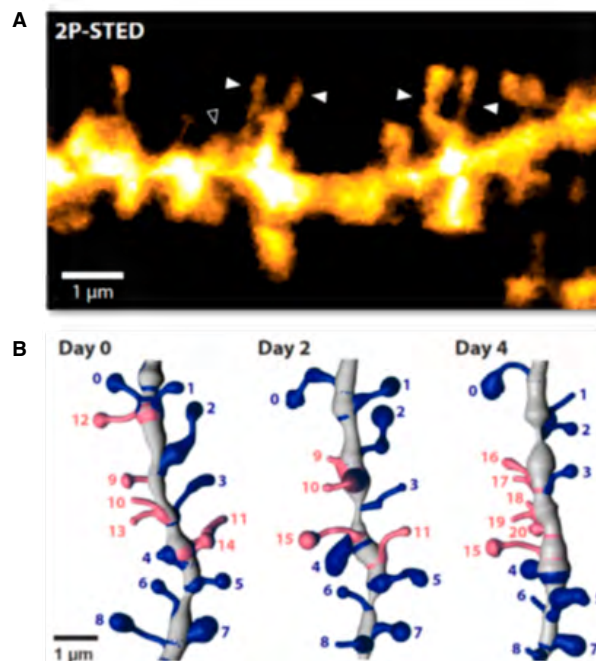
L'imagerie *in vivo* des épines dendritiques dans l'hippocampe est difficile en raison de son éloignement de plus de 1 mm sous la surface du cerveau de la souris. Une étude pionnière a permis d'y parvenir grâce à la microscopie de fluorescence bi-photonique (2P), mais seulement sur une période de quelques heures. Récemment, des approches basées sur une « fenêtre sur l'hippocampe » ou la micro-endoscopie ont permis l'imagerie 2P « chronique » sur plusieurs semaines. Cependant, la microscopie 2P manque inévitablement de la résolution spatiale nécessaire pour visualiser des détails importants de la morphologie des épines dendritiques et leur nombre.

— Résultats majeurs

Nous nous sommes tournés vers la microscopie à super-résolution de type STED (STimulated Emission Depletion) pour améliorer la visualisation des épines dendritiques dans l'hippocampe intact de souris vivantes. Nous avons utilisé un microscope STED basé sur l'excitation 2P (2P-STED) et l'avons équipé d'un objectif à longue distance de travail pour atteindre l'hippocampe situé en profondeur. Nous avons adopté une technique de « fenêtre sur l'hippocampe », où une partie du cortex somatosensoriel sus-jacent est retirée chirurgicalement.

Cette nouvelle approche offre une résolution spatiale et une qualité d'image considérablement améliorées par rapport à la microscopie 2P dans l'hippocampe de la souris *in vivo*. En utilisant des souris transgéniques avec des neurones marqués par fluorescence, nous avons mesuré la densité des épines sur les dendrites des neurones dans l'hippocampe et comparé les résultats obtenus avec la microscopie 2P et 2P-STED *in vivo* ainsi qu'avec la microscopie STED dans des sections fixes de l'hippocampe. En outre, nous avons effectué des imageries *in vivo* 2P-STED répétitives sur une période de quatre jours pour mesurer le « turnover » des épines dendritiques.

La densité des épines est deux fois plus élevée que celle rapportée par la microscopie 2P, et environ 40 % de toutes les épines dendritiques se sont renouvelées dans les quatre jours, ce qui suggère un niveau élevé de remodelage des circuits dans l'hippocampe *in vivo*. Les petites épines sont principalement affectées par le renouvellement.



A : Image STED à super-résolution des épines dendritiques de l'hippocampe dans le cerveau d'une souris vivante. Les épines dendritiques forment des synapses excitatrices. Les modifications de leur nombre ou de leur forme constituent un mécanisme cellulaire clé pour le stockage des souvenirs dans le cerveau.
B : Reconstruction anatomique d'une portion de dendrite qui a été imagée durant quatre jours.
Crédit : © DR.

En résumé, le présent travail représente une avancée substantielle pour l'étude des synapses de l'hippocampe chez les souris vivantes, en étendant le champ d'application de la microscopie à super-résolution à une structure cérébrale profonde essentielle au fonctionnement de la mémoire.

— Production scientifique et valorisation

► Pfeiffer T *et al.* *Elife*. 2018 Jun 22;7.

Le projet InVivoSTED est un projet collaboratif international de recherche fondamentale. Le projet a commencé en mars 2016 et a duré 36 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 211 578 €.

Partenaires : CNRS UMR 5297/Université de Bordeaux.

COORDINATEUR

Martin Fuhrmann
DZNE Bonn (Allemagne)

CONTACT :

Daniel Choquet : daniel.choquet@u-bordeaux.fr
<https://www.bordeaux-neurocampus.fr/team/dynamic-organization-and-function-of-synapses/>

MAALAD

Perturbation du cytosquelette dans la maladie d'Alzheimer : étude cellulaire et moléculaire

— Rappel des objectifs

La maladie d'Alzheimer (MA) est caractérisée par l'accumulation de deux types d'agrégats : des plaques extracellulaires contenant des peptides bêta-amyloïdes (A β) et des enchevêtrements neurofibrillaires intra-neuronaux composés de tau, une protéine associée aux microtubules. Si un consensus scientifique existe sur l'importance de ces deux marqueurs histologiques dans les mécanismes physiopathologiques à l'origine des altérations de la mémoire qui caractérisent cette pathologie, des interrogations perdurent sur les mécanismes impliquant ces protéines responsables des perturbations observées. Une étape importante dans la compréhension des modes d'action respectifs de la protéine tau et des formes solubles du peptide A β est de déterminer comment ces deux acteurs de la maladie d'Alzheimer affectent les mécanismes moléculaires à l'origine des modifications fonctionnelles des réseaux neuronaux qui sous-tendent la mémoire. L'objectif du projet « MAALAD » était -1) de caractériser le rôle des cytosquelettes microtubulaire et d'actine des modifications morpho-fonctionnelles des synapses nécessaires à la mise en place des processus mnésiques -2) d'étudier les perturbations induites par ces deux acteurs majeurs de la maladie d'Alzheimer, les formes solubles pré-agrégées de la peptide bêta-amyloïde les oligomères solubles d' A β et les différentes formes de la protéine tau (sauvage et mutées) afin de caractériser les perturbations fonctionnelles induites à l'échelle de la synapse.

— Résultats majeurs

Nous avons pu démontrer que la réorganisation des cytosquelettes d'actine et microtubulaire neuronal est une étape essentielle des modifications morpho-fonctionnelles nécessaires à la mise en place des mécanismes moléculaires impliqués dans les processus mnésiques. Dans des conditions physiologiques, la protéine tau joue un rôle central dans cette réorganisation. En effet, elle régule non seulement l'organisation du cytosquelette neuronal microtubulaire mais elle présente également la capacité d'interagir et de réorganiser le cytosquelette d'actine présent dans les synapses des neurones impliqués dans la formation de la mémoire permettant ainsi la mise en place des modifications fonctionnelles nécessaires à l'établissement de la mémoire à l'échelle synaptique. Dans des conditions pathologiques telles que celles observées dans la maladie d'Alzheimer, le rôle de la protéine tau est perturbé avec comme conséquence une organisation des cytosquelettes neuronaux imparfaite qui ne permet plus la mise en place des mécanismes moléculaires nécessaires à la mémoire. Ces résultats nous ont amené à tester l'impact thérapeutique d'approches ciblant le rétablissement de la dynamique des cytosquelettes neuronaux dans les processus d'apprentissage dans la MA. Nous avons ainsi pu démontrer que des composés pharmacologiques ciblant des kinases agissant sur la dynamique des cytosquelettes microtubulaires ou d'actine rétablissent les propriétés dynamiques des cytosquelette synaptique et donc de l'apprentissage. En conclusion, dans le cadre du projet MAALAD nous avons identifié que dans des conditions pathologiques associées à la MA, il existait des altérations de l'organisation des cytosquelettes microtubulaire et d'actine qui produisent une incapacité de la mise en place des modifications morphologiques et fonctionnelles des synapses qui sous-tendent les processus mnésiques chez l'homme. Cette étude a validé l'intérêt thérapeutique des molécules ciblant le cytosquelette pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.

Tau : une protéine synaptique

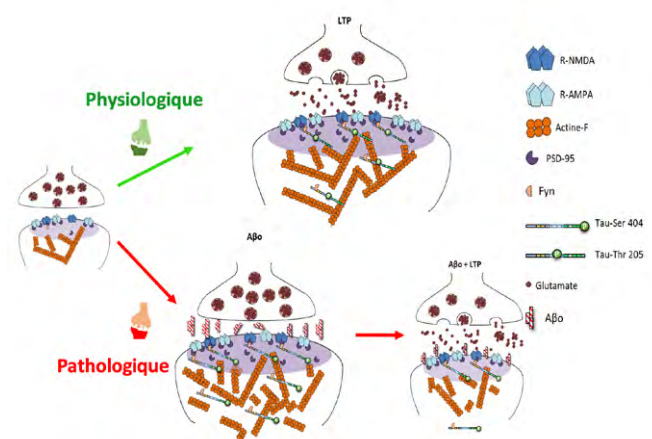


Fig : Schéma représentatif de l'implication des mécanismes moléculaires impliquant la protéine Tau et le peptide A β dans le processus pathologiques observés au cours de la maladie d'Alzheimer. Crédit : © DR.

— Production scientifique et valorisation

► 13 publications internationales sont issues de nos travaux effectués dans le cadre du projet MAALAD ; 2 brevets sont déposés ou en cours de dépôt.

Le projet MAALAD est un projet de recherche fondamentale et préclinique. Le projet a commencé en octobre 2011 et a duré 42 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 553 040 €.

Partenaires : I2MC (U1216 - INSERM), Grenoble Institut des Neurosciences.

COORDINATEUR

Alain Buisson : alain.buisson@univ-grenoble-alpes.fr

Inserm U836 Grenoble Institut des Neurosciences

<https://neurosciences.univ-grenoble-alpes.fr/fr/recherche/>

[equipes-de-recherche/equipe-neuropathologies-et-dysfonctionnements-synaptiques--637939.htm?RH=NEUROFR_ANNU](https://neurosciences.univ-grenoble-alpes.fr/fr/recherche/equipes-de-recherche/equipe-neuropathologies-et-dysfonctionnements-synaptiques--637939.htm?RH=NEUROFR_ANNU)

MetAlZ

Origines cellulaires des déficits métaboliques dans la maladie d'Alzheimer

— Rappel des objectifs

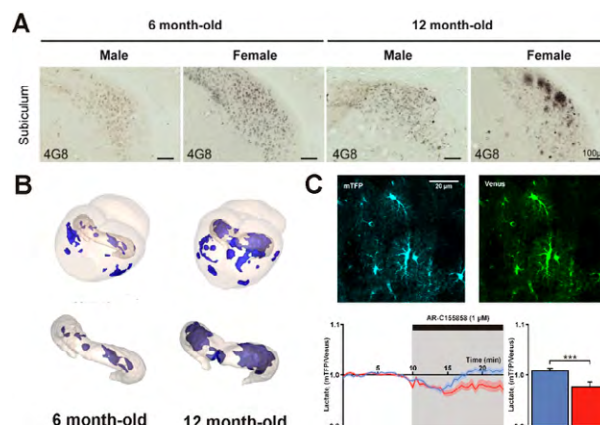
Un des enjeux majeurs dans la recherche de traitements efficaces contre la maladie d'Alzheimer (MA) est de la diagnostiquer le plus tôt possible afin d'intervenir avant que les dommages ne soient irréversibles. Les déficits du métabolisme cérébral se sont révélés être un indicateur présymptomatique fiable de l'évolution de la maladie. Le métabolisme étant essentiel aux fonctions cérébrales et à l'intégrité du cerveau, ses altérations pourraient initier ou contribuer aux processus neurodégénératifs irréversibles de la MA. Une meilleure compréhension de la physiopathologie de ces déficits pourrait conduire à l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques pour ralentir la progression de la MA. Notre but est de comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires à l'origine de l'hypométabolisme cérébral de la MA. Pour atteindre cet objectif nous avons conçu une approche descendante visant à i) définir les régions cérébrales présentant les premiers signes anatomopathologiques et métaboliques de la maladie, ii) caractériser les altérations phénotypiques de plusieurs types cellulaires suspectés et iii) déterminer avec une haute résolution spatiale et temporelle les changements d'activités métaboliques des types cellulaires suspectés.

— Résultats majeurs

L'anatomopathologie des signes de la MA s'est révélée être plus marquée et plus précoce chez les souris 3xTg femelles que chez les mâles. Le subiculum est en outre l'une des premières structures cérébrales à développer des plaques amyloïdes et des déficits métaboliques.

A un stade juvénile, les cellules pyramidales corticales des souris 3xTg présentent une hyperactivité glycolytique et un déficit de la voie des pentoses phosphates sans toutefois présenter d'autres altérations phénotypiques notoires. Le métabolisme du glucose étant important à la survie neuronale, ces altérations pourraient contribuer aux dysfonctionnements plus tardifs des cellules pyramidales au cours de la MA.

La voie astrocytaire de synthèse de L-Sérine, qui se branche sur la glycolyse, est altérée chez les souris 3xTg jeunes ainsi que chez des patients atteints de la MA. Cette altération métabolique se traduit par un déficit en D-Sérine, un co-agoniste des récepteurs NMDA nécessaire à la plasticité synaptique, ainsi que par des déficits synaptiques et comportementaux. Ces déficits sont mimés par une inactivation de la voie astrocytaire de synthèse de L-Sérine. Un régime alimentaire enrichi en L-Sérine permet de prévenir les déficits synaptiques et comportementaux des souris 3xTg. Ces résultats montrent que la glycolyse astrocytaire contrôle les fonctions cognitive et suggèrent que la L-sérine orale est un traitement de la MA déjà disponible.



Anatomopathologie et déficits métaboliques progressifs chez les souris 3xTg-AD. La pathologie amyloïde apparaît dans le subiculum et est plus marquée chez les femelles que chez les mâles (A). L'hypométabolisme (régions bleues) s'observe essentiellement dans la formation hippocampique des souris femelles dès 6 mois et s'étend à 12 mois (B). L'imagerie du lactate intracellulaire en utilisant le biosenseur FRET Laconic révèle un déficit de glycolyse dans les astrocytes hippocampiques (C, bleu ; souris sauvage, rouge ; souris 3xTg-AD). Figure issue de l'article Le Douce *et al.* Impairment of glycolysis-derived L-serine production in astrocytes contributes to cognitive deficits in Alzheimer's disease. *Cell Metab* 2020, Mar 3;31(3):503-517.

— Production scientifique et valorisation

Publications :

- Merienne *et al.* Efficient gene delivery and selective transduction of astrocytes in the mammalian brain using viral vectors. *F1000Res*. 2013 Jul 5;7:106.
- Bonvento *et al.* Imaging and spectroscopic approaches to probe brain energy metabolism dysregulation in neurodegenerative diseases. *JCBFM*. 2017 Jun;37(6):1927-1943.
- Piquet *et al.* Supragranular Pyramidal Cells Exhibit Early Metabolic Alterations in the 3xTg-AD Mouse Model of Alzheimer's Disease. *F1000Res*. 2018 Jul 18;12:216.
- Devienne *et al.* Single Cell Multiplex Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction After Patch-clamp. *JoVE*. 2018 Jun 20;(136).
- Le Douce *et al.* Impairment of Glycolysis-Derived L-Serine Production in Astrocytes Contributes to Cognitive Deficits in Alzheimer's Disease. *Cell Metab*. 2020 Mar 3;31(3):503-517.e8. doi: 10.1016/j.cmet.2020.02.004.

Mise en place d'une plateforme d'imagerie pour l'étude longitudinale du métabolisme cérébral par bioluminescence (contrat FRC).

Le projet MetAlZ est un projet de recherche fondamentale et pré-clinique. Le projet a commencé en novembre 2011 et a duré 51 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 435 922 €.

Partenaires : Laboratoire CEA URA 2210 (CNRS).

COORDINATEUR

Bruno Cauli : bruno.cauli@upmc.fr
CNRS UMR 8246 (SU, INSERM)

MinAlpha7

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

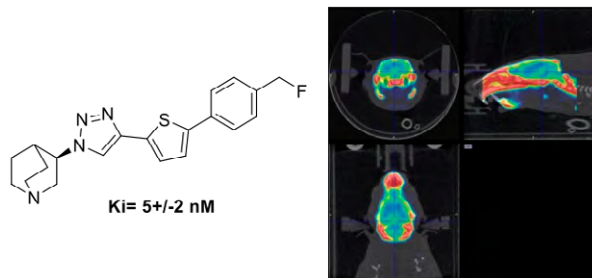
— Rappel des objectifs

L'imagerie moléculaire en tomographie d'émission de positons (TEP), utilise des traceurs radioactifs ou radiopharmaceutiques, et permet l'exploration de fonctions biologiques dans l'organisme vivant. Cette méthode peut ainsi détecter des lésions cérébrales apparaissant au cours de maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer (MA), elle est donc une technique de choix pour le diagnostic précoce et le suivi de l'efficacité des traitements. Le diagnostic de certitude de la MA repose sur la mise en évidence post mortem de lésions cérébrales caractéristiques telles que des dépôts de protéines β -amyloïdes et des dégénérescences neurofibrillaires. Depuis peu, ces lésions peuvent être explorées en TEP mais leur densité ne semble pas toujours refléter l'intensité du déclin cognitif. L'objectif général du projet vise au développement de nouveaux traceurs permettant l'exploration en TEP des systèmes de neurotransmission cholinergiques connus pour être affectés dans la MA. Les récepteurs nicotiques à l'acétylcholine de type alpha7 (R α 7) sont une cible de choix car : 1) ils sont très exprimés dans les régions cérébrales touchées (hippocampe, cortex) et leur diminution précoce est corrélée avec la perte des fonctions cognitives; 2) ils favorisent l'internalisation du peptide A β , augmentant ainsi sa neurotoxicité; 3) ils stimulent des voies de signalisation capables de prévenir la réaction inflammatoire très impliquée dans la MA, et leurs agonistes sont considérés comme de potentiels neuroprotecteurs. Le projet MinAlpha7 proposait de développer un traceur dédié à l'exploration des R α 7, car au moment du dépôt de ce projet aucun traceur TEP marqué au fluor-18 permettant d'explorer ces récepteurs n'était disponible en clinique.

— Résultats majeurs

Le développement de nouveaux traceurs utilisables en TEP repose sur une démarche expérimentale multidisciplinaire allant de la chimie à la clinique en passant par la radiochimie et les modèles animaux. Elle comporte les étapes suivantes: 1) conception et synthèse chimique de nouveaux composés, 2) validation pharmacologique in vitro (affinité, spécificité), 3) marquage au ^{18}F des composés d'intérêt, 4) évaluation de ces nouveaux traceurs candidats in vivo chez l'animal (passage de la BHE, cinétique, métabolisme, quantification), 5) études pilotes avant utilisation en clinique (toxicité, dosimétrie, cinétique, métabolisme). Le projet MinAlpha7 inclut les 4 premières étapes.

Au total, environ 180 nouveaux composés ont été synthétisés et évalués pour leur affinité vis à vis des R α 7. Parmi eux, 6 possédaient une bonne affinité et un atome de fluor pouvant être substitué par un ^{18}F . Ces 6 composés ont été radiomarqués et évalués in vivo chez le rat. Ces travaux ont été poursuivis grâce à un financement de la région Centre-Val de Loire. Nous avons comparé les propriétés biologiques des traceurs TEP issus de nos travaux à celles d'un traceur décrit au cours de la même période, le [^{18}F]ASEM, dont nous avons mis au point la préparation sur site. Celui-ci ayant les meilleures propriétés en termes de liaison aux R α 7 in vivo chez le rongeur, nous l'avons utilisé pour poursuivre nos travaux dans des modèles animaux d'affections neurodégénératives (maladies d'Alzheimer et de Parkinson).



Composé « OA545 » : formule chimique, affinité pour les R α 7 (K_i), images TEP de l'accumulation cérébrale chez le rat. Crédit : © DR.

— Production scientifique et valorisation

Nos travaux ont été valorisés par la publication de 4 articles dans des journaux internationaux à comité de lecture, et 1 brevet international :

- ▶ Ouach, A., Vercouillie, J., Bertrand, E., Rodrigues, N., Pin, F., Sérière, S., Boyirana, L., Chartier, A., Percina, N., Tangpong, P., Gulhan, Z., Mothes, C., Deloye, J.B., Guilloteau, D., Page, G., Suzenet, F., Buron, F., Chalon*, S., Routier*, S. (*equal contribution) (2019) Bis(het)aryl-1,2,3-triazole as α 7 nicotinic acetylcholine receptor ligands : synthesis, structure affinity relationships, agonism activity, [^{18}F]-radiolabeling and PET study in rats *Eur J Med Chem* 179:449-469.
- ▶ Ouach, A., Pin, F., Bertrand, E., Vercouillie, J., Gulhan, Z., Mothes, C., Deloye, J.B., Guilloteau, D., Suzenet, F., Chalon, S., Routier, S. (2016) Design of α 7 nicotinic acetylcholine receptor ligand using the (het)Aryl-1,2,3-triazole core: Synthesis, in vitro evaluation and SAR studies. *Eur J Med Chem* 107:153-64.
- ▶ Chalon, S., Vercouillie, J., Guilloteau, D., Suzenet, F., Routier, S. (2015) PET tracers for imaging brain α 7 nicotinic receptors: an update. *Chem Comm* DOI: 10.1039/c5cc04536c.
- ▶ Pin, F., Vercouillie, J., Ouach, A., Mavel, Gulhan, Z., Chicheri, G., Jarry, C., Massip, S., Deloye, J.-B., Guilloteau, D., Suzenet, F., Chalon*, S., Routier*, S. (*equal contribution) (2014) Design of alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor ligands in quinuclidine, tropane and quinazoline series. Chemistry, molecular modeling, radiochemistry, in vitro and in rats evaluations of a [^{18}F] quinuclidine derivative. *Eur J Med Chem* 82:214-224.
- ▶ S. Routier, F. Suzenet, F. Pin, S. Chalon, J. Vercouillie, D. Guilloteau. (2012) New 1,4-disubstituted 1,2,3-triazole compounds are alpha-7 nicotinic receptor modulators, useful for treating CNS diseases, anxiety, cognitive disorder, hyperactivity, Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *WO2012143526*.

Le projet MinAlpha7 est un projet de recherche fondamentale et préclinique. Le projet a commencé en février 2011 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 354 662 €.

Partenaires : UMR CNRS7311, ICOA, Orléans.

COORDINATRICE

Sylvie Chalon : sylvie.chalon@univ-tours.fr
UMR Inserm U1253, iBrain, Tours
<https://ibrain.univ-tours.fr/>

NeurobioPKR

PKR et molécules de danger dans la maladie d'Alzheimer

— Rappel des objectifs

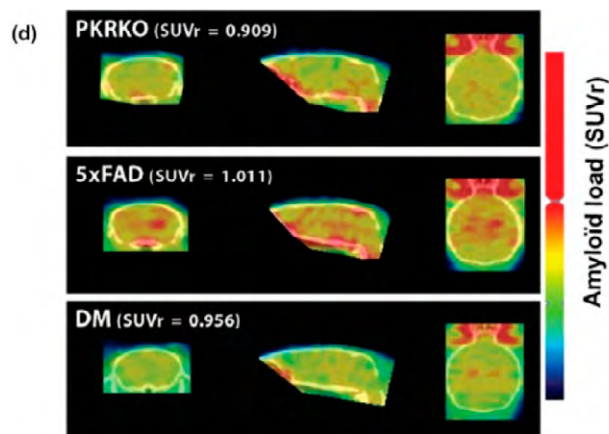
La maladie d'Alzheimer (MA) est marquée sur le plan clinique par des troubles mnésiques suivis progressivement par une aphasia, une apraxie et une agnosie. Les lésions neuropathologiques regroupent une accumulation de peptide beta amyloïde sous formes de plaques amyloïdes et des dégénérescences neurofibrillaires constituées de protéine tau hyper phosphorylée. Il s'associe à ces lésions, une neuroinflammation et des pertes synaptiques et neuronales. La cause de la MA n'est pas connue mais selon l'hypothèse de la cascade amyloïde, les oligomères de peptide amyloïde 1-42 serait neurotoxiques et entraîneraient des anomalies neuronales et gliales conduisant à l'accumulation de tau phosphorylée, à l'inflammation et à la neurodégénérescence. Nous avons montré antérieurement que la kinase pro-apoptotique avait des concentrations élevées dans le cerveau des patients MA et des niveaux augmentés dans le LCS de patients avec troubles cognitifs légers et de patients MA. La kinase PKR participe à l'« integrated stress response » en bloquant la traduction cellulaire par phosphorylation d'eIF2 alpha et elle est aussi impliquée dans la production de cytokines inflammatoires et dans l'inflammasome. Nous avons aussi montré chez nos patients que les concentrations de PKR et PKR phosphorylée du LCS étaient un facteur de prédiction du déclin cognitif chez les patients avec des troubles cognitifs légers et les patients MA. Le but de l'étude est de comprendre si la kinase PKR peut-être en partie à l'origine de la neuroinflammation cérébrale de la MA en activant le toll-like récepteurs des molécules de danger.

— Résultats majeurs

- Nous avons montré que l'inflammation périphérique expérimentale induite par le LPS produisait une neuroinflammation avec augmentation de la production de peptide amyloïde 1-42. Si ces injections de LPS sont effectuées chez des souris PKR knock out, on note une diminution de la neuroinflammation centrale et une diminution de la production de peptide amyloïde 1-42. PKR participerait à l'inflammasome et l'amylose cérébrale (Carret Rebillat *et al.* Et Hugon *et al.*)

- Nous avons montré que l'interaction protéine PACT qui est l'activateur de PKR et son substrat peut engendrer une diminution des conséquences inflammatoires liées à l'activation de PKR (Dabo *et al.*)

- Enfin le croisement de souris transgéniques Alzheimer 5XFAD avec des souris Knock out PKR entraîne une réduction du déclin mnésique et cognitif chez les souris double mutante, une diminution de la charge amylose cérébrale, une diminution de la neuroinflammation et de l'apoptose cellulaire cérébrale. Des études en co-cultures cellulaires neurones/microglie ont révélées que c'était le PKR neuronal qui jouait un rôle majeur dans la neurodégénérescence après exposition des cultures au LPS. PKR est donc un acteur de la neurodégénérescence, de l'amyloïdose cérébrale et du déclin cognitif observé.



Réduction de la charge amyloïde en PET amyloïde (florbetapir) chez les souris double mutante (DM) 5XFAD :PKRKO par rapport aux souris Alzheimer pure 5XFAD (Tible *et al.* 2019).

— Production scientifique et valorisation

- ▶ PKR knockout in the 5XFAD model of Alzheimer's disease reveals beneficial effects on spatial memory and brain lesions. Tible M, Mouton Liger F, Schmitt J, Giralt A, Farid K, Thomasseau S, Gourmaud S, Paquet C, Rondi Reig L, Meurs E, Girault JA, Hugon J. *Aging Cell.* 2019 Jun;18(3):e12887. doi: 10.1111/ace1.12887.
- ▶ Inhibition of the inflammatory response to stress by targeting interaction between PKR and its cellular activator PACT. Dabo S, Maillard P, Collados Rodriguez M, Hansen MD, Mazouz S, Bigot DJ, Tible M, Janvier G, Helynck O, Cassonnet P, Jacob Y, Bellalou J, Gatignol A, Patel RC, Hugon J, Munier-Lehmann H, Meurs EF. *Sci Rep.* 2017 Nov 23;7(1):16129. doi: 10.1038/s41598-017-16089-8.
- ▶ PKR involvement in Alzheimer's disease. Hugon J, Mouton-Liger F, Dumurgier J, Paquet C. *Alzheimers Res Ther.* 2017 Oct 5;9(1):83. doi: 10.1186/s13195-017-0308-0
- ▶ Neuroinflammation and Aβ accumulation linked to systemic inflammation are decreased by genetic PKR down-regulation. Carret-Rebillat AS, Pace C, Gourmaud S, Ravasi L, Montagne-Stora S, Longueville S, Tible M, Sudol E, Chang RC, Paquet C, Mouton-Liger F, Hugon J. *Sci Rep.* 2015 Feb 17;5:8489. doi: 10.1038/srep08489.

Le projet NeurobioPKR est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2013 et a duré 52 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 708 000 €.

Partenaires : Inserm UMRS 839, Université Paris Diderot UMR 941, UPMC UMR 7102, CNRS/Institut Pasteur Hepacivirus unit.

COORDINATEUR

Jacques Hugon : jacques.hugon@aphp.fr, jacques.hugon@inserm.fr - Inserm, Institut du Fer à Moulin
www.cmrr.parisnord.org

P2X7RAD

Rôle du récepteur purinergique P2X7 dans la maladie d'Alzheimer

— Rappel des objectifs

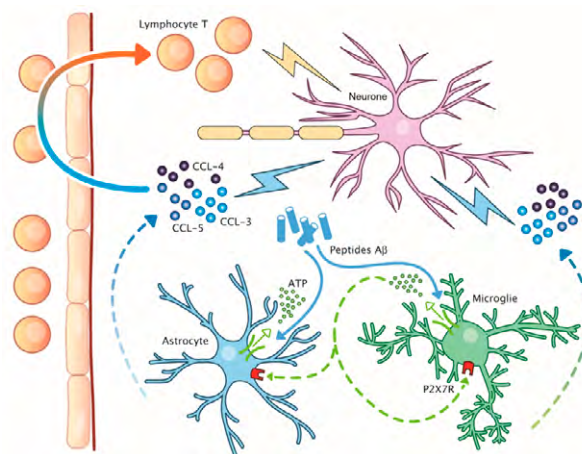
La maladie d'Alzheimer (MA) est une pathologie neurodégénérative liée à l'âge qui se caractérise par des pertes des fonctions cognitives avec au premier plan une atteinte mnésique. Actuellement, il n'y a aucun traitement qui retarde ou arrête la progression de la maladie. La plupart des approches thérapeutiques pour traiter la MA sont axées sur les mécanismes conduisant à la formation des deux lésions caractéristiques de la pathologie : les plaques séniles composées d'agrégats extracellulaires de peptides amyloïdes β ($A\beta$) et les dégénérescences neurofibrillaires constituées d'agrégats intracellulaires de protéines tau hyperphosphorylées. Les processus inflammatoires et immunologiques jouent un rôle important dans cette maladie : le système immunitaire participerait à la destruction des plaques d' $A\beta$ mais aussi à la production de molécules pro-inflammatoires qui sont délétères pour les neurones. Ainsi, les nouvelles perspectives thérapeutiques visent à contrôler cette réponse immunitaire dans la MA.

— Résultats majeurs

La MA touche principalement des sujets âgés dont le système immunitaire pourrait s'avérer déficient chez les patients atteints de MA. En comparant l'effet du vieillissement et l'effet de la pathologie sur l'activation du système immunitaire dans un modèle murin, nous avons mis en évidence que la principale différence réside dans une production beaucoup plus importante de molécules pro-inflammatoires, notamment les chimiokines, dans le cas de la pathologie. Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives thérapeutiques qui consisteraient à adapter la réponse immunitaire pour réduire cette réponse pro-inflammatoire.

Parmi les cibles thérapeutiques potentielles, le récepteur P2X7 (P2X7R) pourrait être impliqué dans le développement et la progression de la MA car il contribue au développement des réponses inflammatoires. Son expression est augmentée dans les cellules gliales qui entourent les plaques $A\beta$ dans des modèles animaux et chez les patients atteints de MA. P2X7R est activé en présence de forte concentration d'ATP, libérée par les cellules endommagées et qui agit comme un signal de danger. Un double rôle de ce récepteur, à la fois pro-inflammatoire et neuro-protecteur, a été supposé dans la MA. Nous avons cherché à mieux comprendre son implication dans cette pathologie. Pour cela, nous avons étudié les conséquences de l'inactivation de P2X7R dans un modèle murin de MA. Nous avons montré que l'absence de P2X7R réduisait non seulement les lésions $A\beta$, mais également les déficits cognitifs associés. Nous avons démontré que P2X7R est une cible thérapeutique pertinente en empêchant la production de chimiokines pro-inflammatoires et le recrutement de lymphocytes T pathogènes.

L'ensemble de ces résultats apportent de nouveaux éléments importants sur l'implication du système immunitaire dans la MA et ouvre de nouvelles pistes de recherche sur le potentiel des antagonistes du P2X7R en tant que cible thérapeutique dans la MA.



Rôle du récepteur purinergique P2X7 dans la pathologie $A\beta$ (adapté de Médecine Sciences Martin E *et al.* 2018).

Les peptides $A\beta$ induisent la libération d'ATP par les cellules gliales qui peuvent à leur tour libérer de l'ATP via l'activation de récepteurs purinergiques. Cette augmentation d'ATP extracellulaire active P2X7R, entraînant la libération des chimiokines CCL (C-C motif chemokine ligand) 3, 4 et 5 par la microglie et les astrocytes. Ces chimiokines pourraient entraîner directement une atteinte des fonctions neuronales et conduiraient au recrutement de lymphocytes T dans le système nerveux central, en particulier les lymphocytes T CD8+, qui participeraient également à la toxicité neuronale.

— Production scientifique et valorisation

- ▶ Martin E, *et al.* Mol Psychiatry. 2019 Jan;24(1):108-125.
- ▶ Martin E, *et al.* Aging Cell. 2017 Feb;16(1):27-38.
- ▶ Laurent C, *et al.* Brain. 2017 Jan;140(Pt 1):184-200.
- ▶ Martin E, *et al.* J Vis Exp. 2017 Jun 22;(124).
- ▶ Kanellopoulos J & Delarasse C. Front Cell Neurosci. 2019 Sep 4;13:401.
- ▶ Martin E & Delarasse C. Biomed J. 2018 Feb;41(1):34-40
- ▶ Martin E, *et al.* Med Sci (Paris). 2019 Feb;35(2):97-99.
- ▶ Laurent C, *et al.* Med Sci (Paris). 2017 Oct;33(10):817-819.

Le projet P2X7RAD est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en février 2013 et a duré 59 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 533 000 €.

Partenaires : AP-HP (INSERM), ICM (Paris), CNRS UMR 7225, Université Paris Sud UMR 8619, Univ Paris Sud.

COORDINATEUR

Bertrand Fontaine : bernard.fontaine@sorbonne-universite.fr
Inserm UMR_S974

PERADES

Deciphering genetic, Polygenic and Environmental Risk for Alzheimer's Disease using powerful cohorts, focused Epigenetics and Stem cell metabolomics

— Rappel des objectifs

Au-delà des formes autosomiques dominantes rares de la MA (moins de 1 %), les formes communes de la pathologie ont une composante génétique importante, estimée à environ 70 %. Ainsi, déchiffrer cette composante génétique offre une opportunité unique pour (i) mieux définir l'étiologie sous-jacente de la MA ; et (ii) de définir des scores de risque polygéniques potentiellement utiles en terme d'outils diagnostiques/pronostiques.

C'est dans ce contexte que le consortium PERADES a été mis en place afin de caractériser de nouveaux déterminants génétiques de la MA et de déterminer si ces déterminants peuvent être utiles en terme d'outil diagnostique et finalement de rechercher des interactions possibles entre gènes et facteurs environnementaux.

— Résultats majeurs

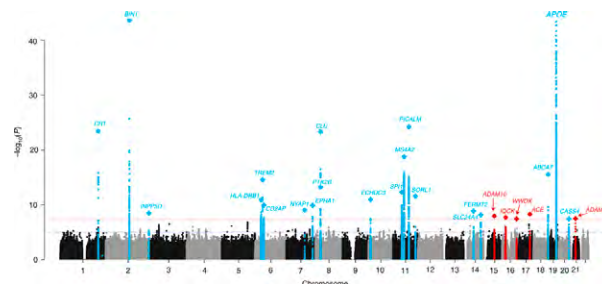
Grâce à l'utilisation d'un nouvel outil de génotypage appelé « Exome chip » qui permet d'analyser de nombreux variants non-synonymes, ce travail a permis de confirmer le gène TREM2 comme déterminant génétique majeur de la MA mais aussi de mettre en évidence deux nouveaux facteurs génétiques, ABI3 et PPLCY2. De façon importante, ces trois gènes sont principalement exprimés dans les cellules microgliales, indiquant un rôle majeur de la réponse inflammatoire dans la MA.

Le projet PERADES a aussi participé à la ré-analyse de la base de données IGAP (International Genomics of Alzheimer Project). Après réplication, 5 nouveaux signaux atteignant le seuil de significativité GWAS ont été caractérisés.

Le projet s'est aussi focalisé sur des formes extrêmes (âge de début précoce avant 65 ans). Des analyses d'exomes ont été réalisés par le Centre National de Génotypage (Évry) sur 830 patients (dont 400 financés par PERADES) et 1 200 contrôles appariés. L'association de 2 gènes (TREM2 et ABCA7) a été confirmée et un troisième gène (SORL1) pour lequel un ensemble de variants tronquants ou faux sens rares confère un risque important de MA a été identifié. L'existence d'un excès de mutations de novo sur plusieurs gènes d'un réseau fonctionnel centré sur le peptide amyloïde a été montré. Enfin, l'analyse de CNVs a démontré que des duplications du gène MAPT causaient une maladie neurodégénérative nouvelle, dont les liens avec la MA sont maintenant à préciser.

— Production scientifique et valorisation

- ▶ Kunkle, B. *et al.* Genetic meta-analysis of diagnosed Alzheimer's disease identifies new risk loci and implicates Aβ, tau, immunity and lipid processing. *Nat Genet.* 2019 Mar;51(3):414-430.
- ▶ Sims, R. *et al.* Rare coding variants in PLAGL2, ABI3, and TREM2 implicate microglial-mediated innate immunity in Alzheimer's disease. *Nat Genet.* 2017 Sep;49(9):1373-1384.
- ▶ Nicolas G, Charbonnier C, Oliveira J.R.M. Improving Significance in Association Studies: a New Perspective for Association Studies. *THE JOURNAL OF MOLECULAR NEUROSCIENCE* 2015, 56: 529-530.
- ▶ Rovelet-Lecrux A *et al.* De novo deleterious genetic variations target a biological network centered on Aβ peptide in early-onset Alzheimer disease. *MOLECULAR PSYCHIATRY* 2015, 20: 1046-1056.
- ▶ Nicolas G *et al.* Screening of dementia genes by whole-exome sequencing in early-onset Alzheimer disease: input and lessons. *EUROPEAN JOURNAL OF HUMAN GENETICS* 2016, 24: 710-716.



Manhattan plot décrivant les loci associés au risque de développer la maladie d'Alzheimer (en bleu, ceux déjà connus et en rouge ceux nouvellement caractérisés). Crédit : © Kunkle *et al.*, *Nat Genet.* 2019.

- ▶ Nicolas G *et al.* SORL1 rare variants: a major risk factor for familial early-onset Alzheimer's disease. *MOLECULAR PSYCHIATRY* 2016, 21:831-836.
- ▶ Le Guennec K *et al.* ABCA7 rare variants and Alzheimer disease risk. *NEUROLOGY* 2016, 86: 2134-2137.
- ▶ Campion D *et al.* Alzheimer disease: modeling an Aβ-centered biological network. *MOLECULAR PSYCHIATRY* 2016, 21: 861-871.
- ▶ Le Guennec K *et al.* 17q21.31 duplication causes prominent Tau-related Dementia with Increased MAPT Expression. *MOLECULAR PSYCHIATRY* 2016, Dec 13. doi: 10.1038/mp.2016.226. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 27956742.
- ▶ Le Guennec K *et al.* Deletion of exons 9 and 10 of the Presenilin 1 gene in a patient with Early-onset Alzheimer Disease generates longer amyloid seeds. *NEUROBIOLOGY OF DISEASE* 2017 Apr 28. pii: S0969-9961(17)30102-X. doi: 10.1016/j.nbd.2017.04.020. [Epub ahead of print]
- ▶ Lanoiselée HM *et al.* APP, PSEN1 and PSEN2 mutations in early-onset Alzheimer disease: A study of 170 families and 119 sporadic cases. *PLOS MEDICINE* 2017, 14: e1002270.
- ▶ Bellenguez C *et al.* Contribution to Alzheimer's disease risk of rare variants in TREM2, SORL1, and ABCA7 in 1779 cases and 1273 controls. *NEUROBIOLOGY OF AGING* 2017, 59: 220.e1-220.e9.
- ▶ Campion D, Charbonnier C, Nicolas G. SORL1 genetic variants and Alzheimer disease risk: a literature review and meta-analysis of sequencing data. *ACTA NEUROPATHOL.* 2019 Aug;138(2):173-186.

Le projet PERADES est un projet collaboratif international de recherche fondamentale. Le projet a commencé en mai 2014 et a duré 36 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 758 960 €.

Partenaires : Erasmus Medical Center Rotterdam (Pays-Bas), VU University Medical Center Amsterdam (Pays-Bas), UCL Institut Pasteur de Lille U744, Inserm U1079.

COORDINATRICE

Julie Williams

Université de Cardiff (Royaume-Uni)

CONTACTS :

Dominique Campion : dominique.campion@univ-rouen.fr

Jean-Charles Lambert : jean-charles.lambert@pasteur-lille.fr

PREVENTAD

MMP-12 comme marqueur précoce et cible thérapeutique dans la progression de la maladie d'Alzheimer

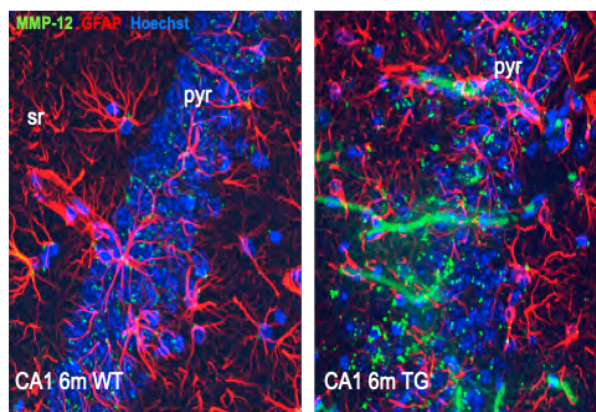
— Rappel des objectifs

Évaluation du rôle de MMP-12 dans la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie neurodégénérative pour laquelle il n'existe que des traitements palliatifs avec des bénéfices marginaux. La MA est caractérisée par l'accumulation d'enchevêtrements neurofibrillaires et la formation de plaques amyloïdes et est associée à un dysfonctionnement de la barrière hémato-encéphalique (BHE) et à des processus neuroinflammatoires. Nous avons montré, ainsi que d'autres groupes, que les métalloprotéinases matricielles (MMPs) contribuent à la neuroinflammation et à la neurodégénérescence et modulent les propriétés de la BHE. MMP-12 est une protéinase associée aux processus inflammatoires, encore peu étudiée dans le cerveau. L'objectif général de notre projet était de générer des connaissances sur le rôle de MMP-12 cérébrale au niveau vasculaire et d'évaluer si MMP-12 est un marqueur précoce et/ou une cible thérapeutique dans la MA, en synergie avec d'autres MMPs. Le projet était multidisciplinaire, impliquant la chimie, la biochimie, la pharmacologie, la biologie moléculaire et cellulaire, l'imagerie cellulaire et les approches comportementales chez l'animal. Nous avons ainsi combiné des études *in vitro* sur des cultures primaires de cellules gliales et neuronales et des modèles *in vitro* de la BHE, et des études *in vivo* sur les modèles de souris transgéniques 5xFAD de la MA pour étudier le rôle de MMP-12 dans le clivage de l'APP, la neuroinflammation, le comportement. En particulier, nous avons généré de nouvelles souches de souris bigéniques (5xFAD/MMP-12^{-/-} et 5xFAD/MT5-MMP^{-/-}) en croisant les souris 5xFAD avec des souches de souris déficientes en MMP-12 et MT5-MMP. Des méthodologies similaires ont été appliquées en parallèle pour une étude comparative de MMP-12, MT1-MMP et de MT5-MMP, potentiellement impliquées dans la MA.

— Résultats majeurs

Nous montrons que l'expression de MMP-12 augmente avec le vieillissement, en phase avec l'augmentation des taux de marqueurs d'inflammation. Nous montrons également une forte induction de MMP-12, dans des modèles *in vitro* de BHE enflammée. L'application de MMP-12 recombinante à ce modèle conduit à une perméabilité accrue de la BHE *in vitro*, associée à la protéolyse de constituants des jonctions serrées impliquées dans l'intégrité de la BHE. Cependant, MMP-12 semble moins impliquée dans le clivage de l'APP que MT1-MMP et MT5-MMP. Nous montrons que l'expression de MMP-12 augmente chez les souris 5xFAD à un stade précoce de la maladie, et progresse au cours du vieillissement avec les processus neuroinflammatoires. Le rôle de MMP-12 dans la MA a été étudié dans la lignée de souris bigénique 5xFAD déficiente pour MMP-12 que nous avons générée, et nous montrons qu'*in vivo*, MMP-12 serait effectivement impliquée dans les altérations de la BHE. Les études menées en parallèle indiquent que MT1-MMP et MT5-MMP seraient plus impliquées dans le clivage de l'APP que MMP-12. D'une manière générale, nos résultats suggèrent que parmi les MMP impliquées dans la MA, l'expression de MMP-12 est un marqueur précoce de l'inflammation qui serait liée à une altération vasculaire au cours du vieillissement et dans la MA.



Photographies de coupes de cerveaux réalisées chez des souris sauvages (WT) et des souris transgéniques (TG) modèles de la maladie d'Alzheimer à 6 mois. Les neurones pyramidaux (pyr) de la couche CA1 de l'hippocampe, une structure cérébrale atteinte dans la pathologie, sont colorés en bleu au niveau de leurs noyaux. Les astrocytes, les cellules de soutien des neurones sont marquées en vert. La distribution de MMP-12 active, révélée avec la sonde fluorescente RXP470, est en rouge. Cette sonde montre une nette augmentation de l'activité de MMP-12 dans le système vasculaire cérébral des souris Alzheimer comparé aux souris WT. Crédit : © DR.

— Production scientifique et valorisation

Le projet a permis la publication de 14 articles dans des revues internationales et le dépôt de 2 brevets. Les résultats du projet ont été présentés lors de 18 réunions nationales et internationales. Une thèse de doctorat (Amandine Bonnet) a également été réalisée et soutenue en janvier 2017 sur le projet MMP-12, MT5-MMP, MT1-MMP dans la MA.

Le projet PREVENTAD est un projet collaboratif public-privé de recherche fondamentale. Le projet a commencé en novembre 2011 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 501 674 €.

Partenaires : Société Vect-Horus (Marseille) ; Simopro, CEA.

COORDINATEUR

Michel Khrestchatsky : michel.khrestchatsky@univ-amu.fr
Aix-Marseille Université, NICN
<https://inp.univ-amu.fr>

SPREADTAU

Transfert différentiel intercellulaire des assemblages de Tau

— Rappel des objectifs

Les tauopathies sont des maladies caractérisées par une agrégation des protéines Tau menant à la dégénérescence neuronale. Tau est présente dans le cerveau sain sous six isoformes et un déséquilibre de ce ratio est observé en contexte pathologique. Dans certaines tauopathies sporadiques, dont la MA, cette dégénérescence évolue dans le cerveau en suivant un chemin spatiotemporel bien caractérisé. Cette évolution est le résultat d'une propagation inter-cellulaire de la protéine Tau via un possible mécanisme de type prion. L'objectif de SPREADTAU est de définir la place des différentes isoformes de Tau dans la propagation de la pathologie. Une étude comparative sans a priori des six isoformes de Tau fut réalisée afin d'évaluer la toxicité, l'internalisation, l'agrégation de type Prion (seeding) et enfin la propagation de ces espèces.

— Résultats majeurs

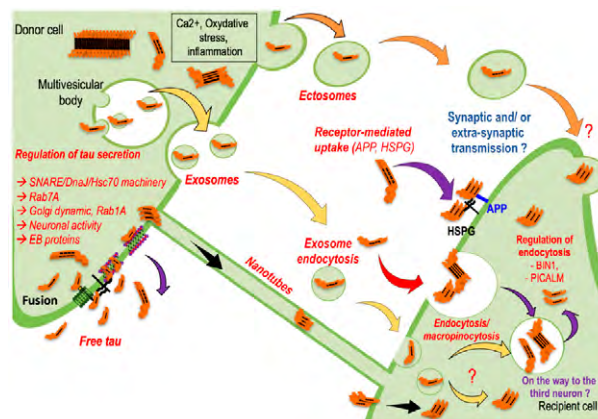
Combinant les expériences sur les mécanismes d'agrégation et propagation de l'alpha-synucléine et de tau, SPREADTAU a exploré l'homéostasie cérébrale (cholestérol, inflammation) et leurs conséquences sur la sécrétion et la propagation de la pathologie tau.

Ce projet a mis en évidence un nouveau mode de transfert de Tau par les nanotubes. Nous avons aussi documenté le processus d'internalisation des assemblages pathogéniques de l'alpha-synucléine, de tau et de la Huntingtine Exon1 par les cellules et la voie par laquelle ces assemblages atteignent le cytoplasme où ils croissent par recrutement de leurs protéines constituantes sous forme monomérique dans le cytoplasme. Nous avons ainsi montré que les assemblages d'alpha-synucléine sont internalisés par endocytose. Ils sont ensuite dirigés vers le lysosome. C'est lors de la fusion des endosomes avec le compartiment lysosomal qu'une fraction des assemblages s'échappe des compartiments membranaires, se retrouve dans le cytoplasme où ils croissent et s'amplifient par recrutement de la forme cellulaire de leurs protéines constituantes. Tous les assemblages pathogéniques suivent le même chemin pour atteindre le cytoplasme où ils peuvent croître et s'amplifier. Nous avons identifié des partenaires membranaires des assemblages fibrillaires de tau et avons documenté leur redistribution à la surface des cellules. Enfin, nous avons montré une propagation différentielle entre les isoformes 3R et 4R en utilisant une approche de vectorisation virale *in vivo* chez le rat.

Le soutien de l'ANR est mis en avant dans différents articles et revues traitant de Tau, de ses fonctions et du mécanisme d'interaction des assemblages pathogéniques avec la membrane cellulaire et ses conséquences. Il ouvre de nombreuses perspectives diagnostiques et thérapeutiques.

— Production scientifique et valorisation

- Dujardin S *et al.* (2015). *Neuropathol Appl Neurobiol*, 41, 59-80.
- Burlot MA *et al.* (2015) *Hum Mol Genet*, 24(21) 5965-76.
- Tardivel M *et al.*, *Acta Neuropathol Commun* 2016;4(1):117.
- Flavin WP *et al.* (2017). *Acta Neuropathol* 134(4):629-653.
- Marciniak E *et al.* (2017). *J Exp Med*, 214(8): 2257-69.
- Shrivastava AN *et al.* (2017). *Curr Op Neurol*, 30(6):589-598.
- Dujardin S *et al.* (2018). *Acta Neuropathol Commun*, 6: 132.
- Gratuze M *et al.* (2018) *Neuroendocrinology*, 107: 181-95.



Comment la protéine Tau est-elle sécrétée et transférée dans les cellules secondaires ? Elle pourrait être transportée 1/ par les vésicules extracellulaires (flèche jaune), comme les exosomes. 2/ par de plus grosses vésicules, les ectosomes (flèche orange) (150–1000 nm) provenant du bourgeonnement direct de la membrane plasmique. 3/ Tau se trouve principalement sous forme libre dans les fluides extracellulaires (en violet). Les mécanismes de sécrétion et capture restent mal définis. Le rôle des héparane sulfate protéoglycannes (HSPGs) a émergé. From Colin M *et al.*, 2020 (ref16).

- Laurent C *et al.* (2018). *Biomed J*, 41: 21-33.
- Albert M *et al.* (2019) *Brain*, 142(6):1736-1750.
- Carvalho K *et al.* (2019). *Brain*, 142(11): 3636-54.
- Leboucher A *et al.* (2019). *Neurobiol Dis*, 125 :14-22.
- Paiva I *et al.* (2019). *Glia*, 67(12):2329-2342.
- Shrivastava AN *et al.* (2019). *EMBO J*, 38, e99871.
- Colin M *et al.* (2020) *Acta Neuropathol*, 139: 3-25.
- Temido-Ferreira M *et al.* *Mol Psychiatr*, 25):1876-1900.

Le projet SPREADTAU est un projet collaboratif de recherche fondamentale. Le projet a commencé en octobre 2015 et a duré 44 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 587 746 €.

Partenaires : CNRS, Gif-sur-Yvette UPR 3082, LIMMS UMI 2820 CNRS.

COORDINATEUR

Luc Buée : luc.buee@inserm.fr
Inserm, UMRS 1172 [ex U837] « Alzheimer & Tauopathies »
<http://lucbuee.fr/>

SynFIAD

Déficits synaptiques et neuroinflammation dans des modèles murins de la maladie d'Alzheimer

— Rappel des objectifs

SynFIAD vise à comprendre les mécanismes physiopathologiques du vieillissement pathologique des fonctions cognitives dans l'hippocampe. Nous avons travaillé sur un modèle murin de la MA, les souris APP/PS1. La mémoire épisodique, qui dépend de l'hippocampe, est le premier signe clinique de la MA, qui est associé à une activité déficiente de l'hippocampe lors de tâches d'encodage de la mémoire chez les patients. Le projet s'intéresse aux dysfonctionnements synaptiques, la perte des synapses étant le meilleur corrélat morphologique de la déficience cognitive au début de la MA, plutôt que les plaques amyloïdes bêta, ou la perte neuronale.

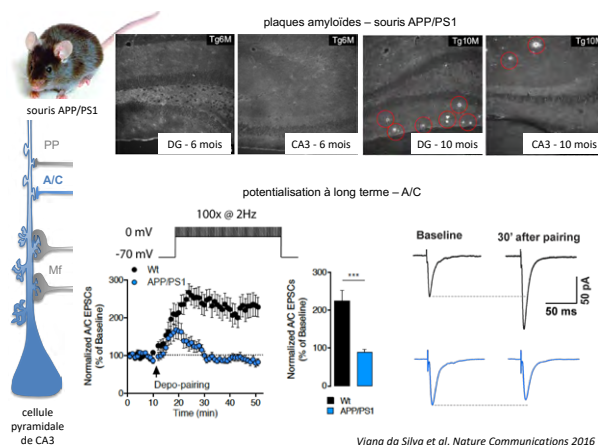
Nous nous intéressons à la région CA3 de l'hippocampe, qui code pour la mémoire spatiale et épisodique, en particulier au premier stade de l'acquisition. La plasticité synaptique, c'est à dire le changement plus ou moins durable de la force des connexions entre neurones est considérée comme un mécanisme fondamental de la mémoire. Dans les modèles murins de MA, la potentialisation synaptique à long terme (LTP) de la transmission synaptique au niveau des synapses collatérales-CA1 de Schaffer est généralement altérée dans les modèles murins de MA. Le dysfonctionnement synaptique a été principalement étudié dans CA1 ou le gyrus denté (DG), alors que très peu d'études traitent des déficits dans CA3.

Le réseau auto-associatif de connexions récurrentes entre les cellules pyramidales CA3 est connu pour permettre l'encodage de mémoires épisodiques grâce à la plasticité synaptique de ces entrées, dites associatives/commissurales (A/C). Le projet SynFIAD a consisté en une étude fonctionnelle et morphologique approfondie des propriétés des cellules pyramidales CA3, et de leurs entrées synaptiques dans un modèle murin de la MA, à un stade précoce de la pathologie et des déficits cognitifs. Nous avons aussi étudié l'interaction entre neuroinflammation et dysfonctionnement synaptique.

— Résultats majeurs

Nous avons démontré que la LTP associative est abolie dans les cellules pyramidales de CA3 à un stade précoce de la pathologie (6 mois), avant la formation de plaques. A ce stade, commencent à apparaître des déficits de mémoire de type épisodique. Nous avons démontré que cette perte de plasticité est liée à une dérégulation des récepteurs neuronaux de l'adénosine (A2AR). La neutralisation des A2AR par suppression induite par interférence ARN dans un seul neurone postsynaptique rétablit la LTP associative dans CA3 et le traitement avec des antagonistes A2AR annule les déficits de mémoire immédiate. Les A2AR sont la cible de la caféine, et des études épidémiologiques pointent un effet bénéfique d'une consommation régulière de café sur la MA. Ces résultats encouragent le test d'efficacité thérapeutique des antagonistes A2AR chez les patients atteints de MA à un stade précoce.

Deux autres études ont décrit les déficits spécifiques observés à un stade précoce au niveau des synapses DG-CA3. Enfin dans une dernière étude effectuée à un stade plus tardif (1 an chez la souris, nous avons démontré que la LTP présynaptique des synapses DG-CA3 était altérée, suite à une accumulation de prostaglandine PGE2, en conséquence de la neuroinflammation induite par la pathologie. Nous avons pu préciser la nature du récepteur présynaptique impliqué (récepteur EP2) dans ce phénomène. Cette étude engage à mieux comprendre les liens entre



Viana da Silva et al, Nature Communications 2016

Perte de la plasticité synaptique dans la région CA3 de l'hippocampe, à un âge précoce du développement pathologique chez la souris APP/PS1. La perte de plasticité apparaît avant l'apparition de plaques amyloïdes. Elle est réversible si l'on supprime génétiquement ou que l'on bloque pharmacologiquement les récepteurs de l'adénosine de type A2A. Crédit : © Viana da Silva et al., 2016.

neuroinflammation et dérégulation des mécanismes présynaptiques par des facteurs libérés par les cellules gliales en condition neuroinflammatoire dans la MA. Ces résultats confortent d'autre part notre hypothèse que la dérégulation synaptique dans la MA comporte un fort volet présynaptique.

— Production scientifique et valorisation

- ▶ Viana da Silva, S. et al., 2019. Journal of Neuroscience 2868–18–13.
- ▶ *Viana da Silva, S., et al., (2016). Nature Communications 7, 11915.
- ▶ Maingret, V., et al., (2017). Neubiology of Aging 50, 13–24.

Le projet SynFIAD est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en avril 2011 et a duré 36 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 297 000 €.

Partenaires : IHU-A-ICM (INSERM), ICM (CNRS).

COORDINATEUR

Christophe Mulle : christophe.mulle@u-bordeaux.fr
CNRS UMR5091

www.bordeaux-neurocampus.fr/team/synaptic-circuits-of-memory/

Interaction des protéines Tau et FKBP52 ; applications aux Tauopathies

— Rappel des objectifs

La protéine FKBP52 : un régulateur du fonctionnement de la protéine Tau

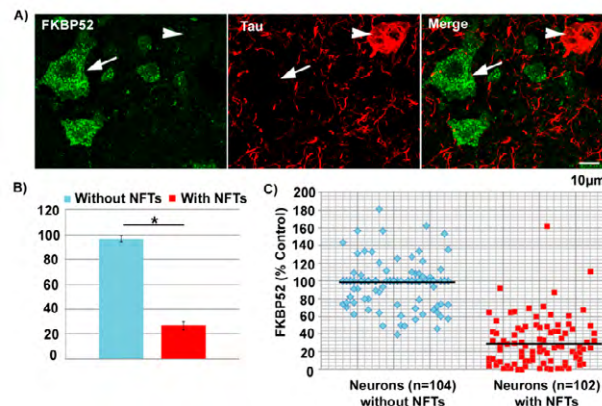
Implications de l'interaction de FKBP52 avec Tau en physio-pathologie. La perturbation du bon fonctionnement de la protéine Tau, dont le rôle est de favoriser la polymérisation et la stabilité du réseau de microtubules dans les cellules neuronales, peut avoir des conséquences dramatiques entraînant la mort de la cellule. Des formes pathologiques de Tau ont été identifiées comme constituants majeurs des agrégats qui mènent à la dégénérescence neurofibrillaire dans les Tauopathies dont fait partie la maladie d'Alzheimer (MA). La MA constitue un enjeu médical, scientifique, social et économique majeur et est, au jour d'aujourd'hui, sans traitement efficace. Nous avons mis en évidence que la protéine FKBP52, une enzyme découverte au laboratoire, interagit physiquement et de façon fonctionnelle avec Tau. Comprendre quelle est l'implication physiologique et pathologique exacte de FKBP52 sur le métabolisme, l'expression et la fonction des protéines Tau, et par conséquent dans l'évolution des tauopathies, ouvre la perspective originale d'identification d'une nouvelle cible thérapeutique dans ces pathologies.

Caractérisation *in vitro* de l'interaction Tau/FKBP52 par des méthodes biochimiques et biophysiques, et *in vivo* sur un modèle de poisson-zèbre.

Dans ce projet TAF, nous avons développé une activité de recherche pluridisciplinaire alliant à la fois des approches en biochimie, en biologie cellulaire, en biophysique (RMN : Résonance Magnétique Nucléaire), nous permettant de caractériser *in vitro* et *in cellulo* l'interaction Tau/FKBP52, d'étudier la modulation *in vivo* de l'expression de FKBP52 dans un modèle de tauopathie chez le poisson-zèbre et d'analyser la localisation subcellulaire et le niveau d'expression de FKBP52 à partir d'échantillons de cerveau humain tauopathique, incluant la MA. L'analyse par RMN permet biophysiquement d'obtenir des informations très précises quant à la nature des acides aminés impliqués dans une interaction protéine-protéine. L'imagerie du cerveau humain a été réalisée par microscopie confocale (Leica Sp8), apportant des données à haute résolution sur la localisation cellulaire et subcellulaire de Tau et de FKBP52.

— Résultats majeurs

Ce projet nous a permis de caractériser un rôle physio-pathologique de FKBP52 dans les tauopathies: 1) Implication *in vitro* de FKBP52 sur l'oligomérisation de Tau ; 2) Identification des acides aminés de Tau impliqués dans l'association avec FKBP52 ; 3) Rétablissement de certaines fonctions neuronales en modulant l'expression de FKBP52 dans le modèle de poisson-zèbre ; 4) Effondrement de l'expression de FKBP52 dans les cerveaux des malades décédés de la MA ou de démences fronto-temporales (FTLD-Tau) ; 5) Localisation d'une forme pathologique de Tau avec FKBP52 au niveau du système autophagie-endolysosomale dans les neurones « malades » suggérant une implication de FKBP52 dans la clairance de Tau. Nous avons donc confirmé un rôle éminent de FKBP52 sur le fonctionnement de la protéine Tau.



A) Analyse confocale de l'immunomarquage de FKBP52 (vert) et des agrégats de Tau (NFTs, rouge) sur une coupe de cortex frontal de patient atteint de la maladie d'Alzheimer (MA). Certains neurones contiennent des NFTs et présentent un niveau bas de FKBP52 (pointe de flèche), tandis que d'autres dépourvus de NFTs présentent des taux normaux de FKBP52 (flèche). B) Quantification du marquage FKBP52 dans les cerveaux de MA (n=8; 13 neurones par cas). C) Diagramme de point montrant le niveau de FKBP52 de chacun des neurones étudiés.

Figure issue de la publication Meduri G *et al.* Caspase-cleaved Tau-D(421) is colocalized with the immunophilin FKBP52 in the autophagy-endolysosomal system of Alzheimer's disease neurons. *Neurobiology of aging*. 2016 Oct; 46:124-37.

— Production scientifique et valorisation

Des avancées significatives ont été obtenues faisant l'objet de 5 publications multipartenaires internationales (Giustiniani *et al.* 2012, JAD ; Giustiniani *et al.* 2014, PNAS ; Giustiniani *et al.* 2015, Faseb J ; Meduri *et al.* 2016, Neurobiol Aging ; Kamah *et al.* 2016, J Mol Biol) et de différentes communications dans des congrès internationaux (Madrid, Espagne en octobre 2013 ; Halle, Allemagne en septembre 2013 ; Paris, France en avril 2015 ; Lille, France en avril 2018).

Le projet TAF est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en mars 2012 et a duré 42 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 589 918 €.

Partenaires : CNRS Laboratoires U8576, INSERM U975 / CEA.

COORDINATEUR

Étienne-Émile Baulieu : etienne.baulieu@inserm.fr
Institut national de la santé et de la recherche médicale U788
<http://institut-baulieu.org/>

TaumiRNA

MicroARNs comme modulateurs de la pathologie Tau

— Rappel des objectifs

L'implication des micro-ARNs dans les maladies neurodégénératives

Les Tauopathies

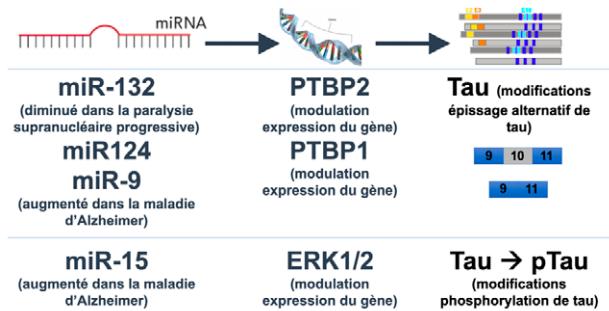
La maladie d'Alzheimer est caractérisée au niveau neuropathologique par deux types de lésions cérébrales : les dépôts amyloïdes et les neurones en dégradation neurofibrillaire. Cette dernière résulte de l'agrégation intraneuronale de protéines associées aux microtubules, les protéines Tau. Ces protéines subissent des modifications post-transcriptionnelles, comme l'épissage alternatif, ou post-traductionnelles, comme la phosphorylation, qui peuvent conduire à leur agrégation. La maladie d'Alzheimer est une pathologie dont le risque est lié non seulement à des facteurs d'ordre génétique, comme l'ont démontré les récentes études pan-génomiques, mais également à des facteurs épigénomiques et environnementaux.

Les micro-ARNs dans les Tauopathies

Maintenant impliqués dans plusieurs maladies humaines, dont les maladies neuro-dégénératives, les microARNs (miARNs) constituent une nouvelle famille d'ARNs non-codants qui joue un rôle majeur dans la régulation des voies biologiques. Des études chez plusieurs modèles animaux démontrent que les miARNs sont essentiels au développement du cerveau ainsi qu'à la formation des synapses et la mémoire. De plus, des études récentes chez l'homme ont établi que des changements spécifiques de miARNs existent dans plusieurs maladies neurodégénératives. Notre programme de recherche avait pour objectif principal d'étudier l'hypothèse qu'une perte de fonction des miARNs avec l'âge puisse contribuer de façon importante aux Tauopathies. Les miARNs sont impliqués dans le réseau de régulation transcriptionnelle dans le cerveau. Leur étude permettrait de comprendre avec plus de précision les mécanismes neurologiques pouvant mener à la mort neuronale et la démence.

— Résultats majeurs

Au cours de ce projet, il nous a été possible de démontrer, entre autres, qu'une suppression de l'enzyme Dicer dans le cerveau adulte de souris mène à une dégénérescence neuronale et une mort prématurée. Dicer est nécessaire à la maturation (et fonction) des microARNs dans la cellule. Curieusement, chez les souris Dicer mutantes, on observe une hyperphosphorylation anormale de la protéine Tau, ainsi qu'un changement de l'épissage alternatif de l'ARN messager de Tau, tels qu'observés chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer ou de Steele-Richardson. Nos études en cellules ont permis d'identifier des microARNs spécifiques, dont miR-15a, miR-132 et miR-124, qui peuvent réguler le métabolisme de Tau. Diverses études bioinformatiques, biochimiques, et fonctionnelles nous ont permis d'identifier ces miARNs comme responsables de la régulation *in vivo* du métabolisme de Tau. Ces observations servent comme point de départ pour étudier en détail la contribution des microARNs dans la maladie d'Alzheimer et autres Tauopathies. Notre vœu est maintenant d'utiliser la souris pour mieux comprendre le rôle des microARNs candidats dans un contexte normal et pathologique du cerveau de mammifère. Nos projets de recherche seront donc axés sur l'étude de la souris sauvage et mutante (c.à.d. avec une pathologie Tau).



Crédit : © Luc Buée.

— Production scientifique et valorisation

Ce travail a été présenté dans différents congrès internationaux sur la maladie d'Alzheimer et syndromes apparentés et a fait l'objet de 7 publications dont 3 communes aux deux partenaires. Il s'est poursuivi dans le cadre du LabEx DISTALZ et le projet « GWAS in AD: focus on miRNA » financé par CoEN Pathfinder 2015 (fiche présentée en page 74 de ce cahier).

Publications :

- ▶ Dorval V, Nelson PT, Hébert SS (2013) Circulating microRNAs in Alzheimer's disease: the search for novel biomarkers. *Front Mol Neurosci* 6:24.
- ▶ Dorval V, Smith PY, Delay C, Calvo E, Paniel E, Zommer N, Buée L, Hébert SS (2012) Gene network and pathway analysis of mice with conditional ablation of Dicer in post-mitotic neurons. *PLoS One* 7(8):e44060.
- ▶ Hébert SS, Sergeant N, Buée L (2012) MicroRNAs and the Regulation of Tau Metabolism. *Int J Alzheimers Dis* 2012:406561.
- ▶ Delay C, Mandemakers W, Hébert SS (2012) MicroRNAs in Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* 46(2):285-90.
- ▶ Hébert SS, Nelson PT (2012) Studying microRNAs in the brain: technical lessons learned from the first ten years. *Exp Neurol* 235(2):397-401.
- ▶ Delay C, Hébert SS (2011) MicroRNAs and Alzheimer's Disease Mouse Models: Current Insights and Future Research Avenues. *Int J Alzheimers Dis* 2011:894938.
- ▶ Smith PY, Delay C, Girard J, Papon MA, Paniel E, Sergeant N, Buée L, Hébert SS (2011) MicroRNA-132 loss is associated with tau exon 10 inclusion in progressive supranuclear palsy. *Hum Mol Genet* 20(20):4016-24.

Le projet TaumiRNA est un projet collaboratif international de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2011 et a duré 36 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 216 000 €.

Partenaires : Univ. Laval, QC, Canada.

COORDINATEUR

Luc Buée : luc.buee@inserm.fr

Inserm, UMRs 1172 (ex U837) « Alzheimer & Tauopathies »

<http://lucbuee.fr/>

VADAD

Rôle du dysfonctionnement cérébro-vasculaire lié à l'hypertension artérielle dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer : mécanismes cellulaires et moléculaires

— Rappel des objectifs

Des anomalies cérébro-vasculaires, comprenant une angiopathie amyloïde cérébrale (AAC), et des anomalies microvasculaires sont constamment observées au cours de la maladie d'Alzheimer (MA). Ces facteurs aggravent la maladie et pourraient contribuer à son déclenchement.

L'hypertension artérielle (HT) est un facteur de risque vasculaire majeur qui augmente le risque de développer une MA. Nous avons mis au point des modèles expérimentaux de MA (souris APPS1) associés à une hypertension artérielle provoquée par une injection continue d'angiotensine II pendant 4 semaines.

Les objectifs spécifiques de ce projet étaient :

1. Mise au point de nouveaux modèles expérimentaux de double pathologie (HT & MA).
2. Caractérisation de la neuropathologie et du dysfonctionnement cérébro-vasculaire dans ces modèles, en liaison avec des études comportementales.
3. Élucidation du rôle de l'angiogenèse dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer.

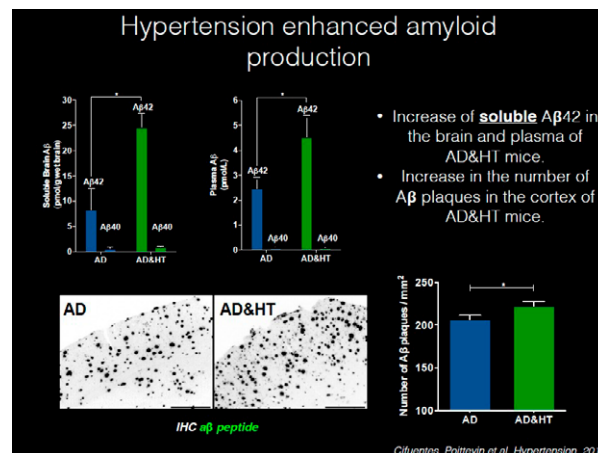
— Résultats majeurs

1 - À l'âge de 4,5 mois, stade précoce de la MA, seules les souris APPS1 hypertendues présentaient un déficit de performances mémorielles associé à plus de dépôts amyloïdes corticaux (223 ± 5 vs. 207 ± 5 plaques/mm², $P < 0.05$) et à un doublement des concentrations plasmatiques et cérébrales de protéine β -amyloïde soluble. Les souris APPS1 hypertendues avaient une réduction de 25 % de la densité capillaire corticale, et une augmentation de 40 % des dépôts amyloïdes péri-vasculaires. L'expression cérébrale du VEGFA, des NO synthases 1 and 3 et les niveaux de nitrites/nitrites était diminués chez les souris APPS1 hypertendues ($P < 0.05$). Dans ce modèle expérimental, l'hypertension artérielle accélère le développement des altérations structurales et fonctionnelles de la MA en relation avec une raréfaction microvasculaire et une diminution de la production de NO.

2 - Nous avons ensuite étudié les rôles différentiels du déficit en NO et du niveau de pression artérielle dans ce modèle APPS1. Nos résultats suggèrent que la biodisponibilité diminuée du NO accélère la progression de la MA, la charge amyloïde et le déficit cognitif indépendamment du niveau de pression artérielle. Seule l'angiopathie amyloïde cérébrale semble être dépendante du niveau de pression artérielle.

3 - Nous avons ensuite montré que, dans ce modèle murin APPS1, la dysfonction vasculaire est également systémique avec un retard majeur de revascularisation post-ischémique de la patte.

4 - Nous avons enfin réalisé, en collaboration avec une équipe de Montréal, un modèle de constriction chirurgicale de l'aorte thoracique horizontale qui induit une hypertension dans la carotide droite donc de l'hémi-cerveau droit alors que le gauche reste soumis à une pression normale. Chez la souris témoin, l'HT induit une diminution de la vasodilatation endothéliale dépendante, une altération de la barrière hémato-encéphalique, de microhémorragies, et une réduction de la densité microvasculaire d'où résulte une hypo perfusion sévère et une sénescence des cellules parenchymateuses. Ces dommages étaient associés à une inflammation hémi-cérébrale, et des altérations majeures de l'apprentissage et de la mémoire spatiale. Chez la souris APP/PS1, la constriction aortique aggrave les lésions cérébro-vasculaires, l'accumulation de β -amyloïde et le déficit d'apprentissage.



Crédit : © Cifuentes, Poittevin et al., Hypertension, 2015.

— Production scientifique et valorisation

- Cifuentes D, Poittevin M, Dere E, Broquères-You D, Bonnin P, Benessiano J, Pocard M, Mariani J, Kubis N, Merkulova-Rainon T, Lévy BI. Hypertension Accelerates the Progression of Alzheimer-like Pathology in a Mouse Model of the Disease. Hypertension 2015 ;65:218-24.
- Cifuentes D, Poittevin M, Bonnin P, Ngkelo A, Kubis N, Merkulova-Rainon T, Lévy BI. Inactivation of Nitric Oxide Synthase Exacerbates the Development of Alzheimer Disease Pathology in APPS1 Mice (Amyloid Precursor Protein/Presenilin-1). Hypertension. 2017;70:613-623.
- Merkulova-Rainon T, Mantsounga CS, Broquères-You D, Pinto C, Vilar J, Cifuentes D, Bonnin P, Kubis N, Henrion D, Silvestre JS, Lévy BI. Peripheral post-ischemic vascular repair is impaired in a murine model of Alzheimer's disease. Angiogenesis. 2018;21:557-569.
- de Montgolfier O, Pinçon A, Pouliot P, Gillis MA, Bishop J, Sled JG, Villeneuve L, Ferland G, Lévy BI, Lesage F, Thorin-Trescases N, Thorin É. High Systolic Blood Pressure Induces Cerebral Microvascular Endothelial Dysfunction, Neurovascular Unit Damage, and Cognitive Decline in Mice. Hypertension. 2019;73:217-228.

Le projet VADAD est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en octobre 2012 et a duré 40 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 566 269 €.

Partenaires : Inserm Délégation Paris 7 UMR 965, CNRS Île-de-France Paris B UMR 7102.

COORDINATEUR

Bernard Lévy : bernard.levy@inserm.fr
Institut des Vaisseaux et du Sang

VGLUTAD

La transmission glutamatergique dans la maladie d'Alzheimer

— Rappel des objectifs

VGLUT Biomarqueur des fonctions cognitives dans la maladie d'Alzheimer

Le projet VGLUTAD avait pour objectif de valider un nouveau biomarqueur lié au déclin cognitif dans la MA et de développer des outils pharmacologiques pour le suivi de ce biomarqueur. Ce projet était basé sur des travaux antérieurs sur une petite cohorte de patients montrant une corrélation entre la baisse du taux d'un transporteur (VGLUT) dans une région du cortex préfrontal et la baisse de cognition chez ces patients.

Le glutamate étant le principal neurotransmetteur exciteur du cerveau, il est impliqué dans la plupart des fonctions normales du système nerveux central notamment dans les fonctions cognitives supérieures mais également dans un grand nombre de pathologies neurologiques ou psychiatriques. Il est notamment le transmetteur utilisé par les cellules pyramidales du cortex cérébral et de l'hippocampe. Plus de 70 % des synapses corticales sont glutamatergiques. Un déficit de la transmission glutamatergique lié à une perte des cellules pyramidales et de leurs terminaisons contribue à la pathophysiologie de la MA. Avant sa libération et permettant la transmission synaptique, le glutamate est accumulé dans des vésicules synaptiques par le transporteur VGLUT qui se présente sous 3 formes VGLUT1-3. VGLUT1 est exprimé principalement par les neurones du cortex et de l'hippocampe, VGLUT2 dans les régions sous-corticales et VGLUT3 est dispersé. Dans une cohorte de 17 patients décédés à différents stades de la MA, le taux de VGLUT1-2 avait été mesuré post-mortem dans le cortex préfrontal (aire BA9). Avant leur décès, leur statut cognitif avait été évalué, ce qui a permis d'établir une forte corrélation entre la baisse de VGLUT1 et l'évolution du score de démence au cours de la progression de la maladie. Ces résultats ont conduit à proposer le transporteur **VGLUT1** comme **biomarqueur de la MA**.

Le projet VGLUTAD comportait 3 volets : 1) confirmation de l'hypothèse du biomarqueur VGLUT sur une large cohorte de patients, 2) une étude mécanistique de la disparition de VGLUT1 chez la souris, 3) le développement de ligands de VGLUT.

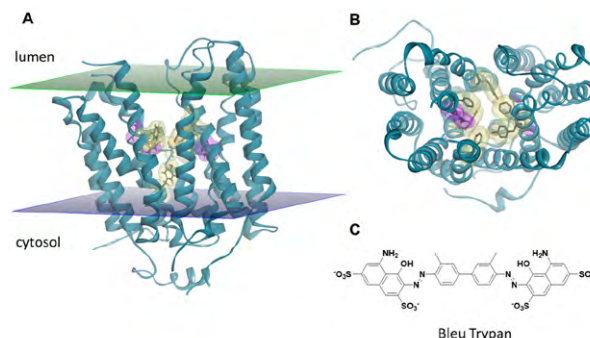
— Résultats majeurs

Analyse des échantillons (BA9) de 171 patients provenant du Mount Sinai Hospital, à New York

Parmi les différents marqueurs de la neurotransmission (VGLUT1-3, VIAAT, somatostatine, ChAT, α -tubuline, synaptophysine et PSD95) analysés sur des échantillons de la région préfrontale, BA9, VGLUT1 est le plus fortement corrélé à l'état de démence mais on n'a pas pu démontrer la corrélation avec les niveaux cognitifs des patients. Les résultats de cette étude n'ont donc pas pu valider VGLUT1 dans le cortex préfrontal comme biomarqueur de la MA. Des résultats récents montrent une baisse de glutamate et glutamine dans des prélèvements de Liquide Cérébro-Spinal (LCS) de patients potentiels de MA, ce qui incite à poursuivre l'analyse de marqueurs glutamatergiques dans d'autres régions du cerveau comme l'hippocampe.

Développement de ligands des VGLUT

Parallèlement, l'équipe de chimistes a travaillé sur la conception et la synthèse d'inhibiteurs compétitifs de VGLUT dans le but d'obtenir des outils pharmacologiques pour l'imagerie des VGLUT. Cette étude a porté sur la préparation d'analogues du Bleu Trypan (BT), connu pour inhiber efficacement les VGLUT. Les modulations autour de la structure du BT n'ont conduit qu'à



Structure par cryo microscopie électronique du transporteur VGLUT2 (code PDB 6V4D, Li *et al.* Science 2020). A) vue de profil, les résidus aromatiques (jaune) et basiques (violet) situés dans le canal où se lient les inhibiteurs, sont représentés. La membrane est schématisée par les deux plans. B) vue de dessus. C) Structure du Bleu Trypan. La représentation 3D a été réalisée avec Discovery Studio (Biovia Dassault Systèmes, Velizy-Villacoublay). Crédit : © F. Acher.

un seul composé environ 2 fois plus efficace. Le modèle 3D du canal de VGLUT1 où se fixe l'inhibiteur a révélé les contraintes stériques. Les marqueurs d'imagerie et du LCS ont permis des avancées dans le diagnostic de la MA, mais des biomarqueurs complémentaires sont encore attendus. Dans ce cadre, la transmission glutamatergique reste une piste à poursuivre.

— Production scientifique et valorisation

- Poirel O *et al.*, Sci Rep. 2018 Jan 17;8(1):938.
- Favre-Besse FC *et al.*, Eur J Med Chem. 2014 May 6;78:236-47.
- Poirel O *et al.*, Neuropharmacology. 2020 Mar 1;164:107902.

Le projet VGLUTAD est un projet collaboratif international de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2011 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 419 354 €.

Partenaires : Consortium Franco-Canadien avec une équipe de l'université McGill de Montréal et de l'université Pierre et Marie Curie, et deux équipes de l'université Paris Descartes CNRS-INSERM.

COORDINATRICE

Francine Acher : francine.acher@parisdescartes.fr
Université Paris Descartes CNRS

<http://lcbpt.biomedicale.parisdescartes.fr/biological-chemistry/metabolism-pharmacology-and-neurochemistry/francine-acher>

ViAGeCo

Vieillesse pathologique et non-pathologique, Activité physique, Génotype et Cognition

— Rappel des objectifs

Les effets positifs d'un exercice chronique sur le vieillissement cognitif ne sont aujourd'hui plus contestés aussi bien chez l'homme que chez l'animal. En revanche, les mécanismes biologiques, neurophysiologiques et psychologiques qui sous-tendent ces effets font l'objet d'un débat animé dans la communauté scientifique. L'objectif principal du présent projet consistait à étudier les effets de la pratique régulière d'une activité physique sur les fonctions cognitives et la santé cérébrale de personnes âgées de plus de 60 ans.

L'établissement que la pratique régulière d'une activité physique peut entraîner des effets bénéfiques sur la santé cérébrale et cognitive de personnes âgées passe obligatoirement par la mise en place d'une étude interventionnelle comprenant un groupe contrôle qui subit un traitement inopérant (programme de marche légère ou maintien d'un style de vie sédentaire) versus un groupe d'intérêt qui subit un traitement supposé efficace (programme de marche vigoureuse et de renforcement musculaire). La compréhension des mécanismes neurophysiologiques qui sous-tendent de tels effets positifs ne peut quant à elle se faire qu'en utilisant des techniques d'imagerie cérébrale telle que l'imagerie par résonance magnétique qui permet de quantifier les volumes de matière grise (cellules nerveuses) et de matière blanche (grands faisceaux de fibres nerveuses entourées de myéline) dans différentes régions cérébrales d'intérêt. Par exemple, l'exercice chronique peut entraîner une augmentation du volume de matière grise de l'hippocampe, une structure nerveuse impliquée dans le stockage en mémoire à long terme des souvenirs de la vie de tous les jours.

— Résultats majeurs

Les premiers résultats obtenus dans le cadre d'une étude transversale préliminaire à l'étude interventionnelle montrent que nous ne sommes pas tous aussi sensibles aux effets de l'activité physique et de l'exercice chronique. Ainsi les femmes âgées (Fagot *et al.*, 2019), d'une part, et les seniors porteur d'un gène du facteur neurotrophique dérivé du cerveau ayant une configuration valine-valine (Canivet *et al.*, 2015, 2017), d'autre part, seraient plus sensibles aux effets négatifs de la sédentarité sur la santé cognitive. La sédentarité serait ainsi un facteur de risque accélérant le vieillissement cognitif. Inversement, la pratique de l'activité physique telle que la marche vigoureuse combinée à du renforcement musculaire serait un bon moyen de ralentir le vieillissement cognitif, de stimuler les fonctions exécutives et en retour de faciliter l'adhésion à la pratique régulière de l'activité physique sur du plus long terme (Audiffren & André, 2015, 2019). L'étude interventionnelle proprement dite nous a permis d'inclure 138 participants randomisés dans trois groupes d'interventions : 47 participants dans le groupe « marche vigoureuse et renforcement musculaire », 48 participants dans le groupe « Marche légère et étirements » et 40 dans le groupe contrôle « Pas de changement dans les habitudes de vie ». L'analyse principale, en intention de traiter (ITT), nous a permis de comparer les trois groupes d'intervention. Les premières analyses ont consisté à faire des Analyses Univariées ou Multivariées de la Variance contrastant les résultats des groupes expérimentaux. Les analyses n'ont pas montré d'impact significatif du programme d'activités physiques sur la mesure des fonctions exécutives à 6 mois ou à 12 mois. L'analyse des critères secondaires concernant les performances physiques n'a pas non plus montré d'effet significatif à 6 mois. Ces résultats suggèrent que les instructions données aux différents groupes ont

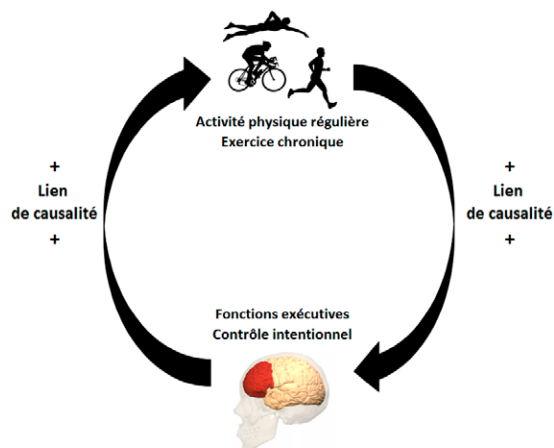


Illustration de la relation bidirectionnelle entre exercice chronique et fonctions exécutives. La flèche de droite indique le lien de causalité entre exercice chronique et fonctions exécutives ; c'est-à-dire le fait que la pratique régulière d'une activité physique entraîne une amélioration significative des fonctions exécutives. La flèche de gauche indique le lien de causalité entre les fonctions exécutives et la pratique régulière de l'activité physique ; c'est-à-dire qu'un haut niveau d'efficacité des fonctions exécutives conduit à une meilleure adhésion à la pratique régulière d'exercices physiques. Crédit : © Michel Audiffren.

été faiblement respectées. Des analyses complémentaires et plus poussées sont actuellement en cours.

— Production scientifique et valorisation

- Audiffren, M., & André, N. (2015). The strength model of self-control revisited: Linking acute and chronic effects of exercise on executive functions. *Journal of Sport and Health Science*, 4, 30-46.
- Audiffren, M., & André, N. (2019). The exercise-cognition relationship: A virtuous circle. *Journal of Sport and Health Science*, 8, 339-347.
- Canivet, A., Albinet, C. T., André, N., Pylouster, J., Rodríguez-Ballesteros, M., Kitzis, A., & Audiffren, M. (2015). Effects of BDNF polymorphism and physical activity on episodic memory in the elderly: a cross sectional study. *European Review of Aging and Physical Activity*, 12, 15.
- Canivet, A., Albinet, C. T., Rodríguez-Ballesteros, M., Chicherio, C., Fagot, D., André, N., & Audiffren, M. (2017). Interaction between BDNF polymorphism and physical activity on inhibitory performance in the elderly without cognitive impairment. *Frontiers in Human Neuroscience*, 11, 541.
- Fagot, D., Chicherio, C., Albinet, C. T., André, N., & Audiffren, M. (2019). The impact of physical activity and sex differences on intraindividual variability in inhibitory performance in older adults. *Aging, Neuropsychology, and Cognition*, 26, 1, 1-23.

Le projet ViAGeCo est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en octobre 2012 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 387 764 €.

Partenaires : CHU de Bordeaux – Université de Bordeaux, Centre de Recherche Epidémiologique et Biostatistique.

COORDINATEUR

Michel Audiffren : michel.audiffren@univ-poitiers.fr
CNRS CeRCA / Université de Poitiers

Maladie d'Huntington

ACTIVASTRO	p. 93
FOXODIRECT	p. 94
HDeENERGY	p. 95
HexpanD	p. 96
HUGE	p. 97
HURIT	p. 98
ModelPolyQ	p. 99

ACTIVASTRO

Modulation sélective des astrocytes réactifs : Suivi *in situ* par résonance magnétique et contribution à la mort neuronale dans la maladie de Huntington

— Rappel des objectifs

Les astrocytes sont des partenaires indispensables pour les neurones dans le cerveau. En conditions pathologiques, y compris au cours des maladies neurodégénératives, les astrocytes changent et deviennent réactifs. Cette réponse se visualise principalement par des changements morphologiques, mais ses conséquences fonctionnelles restent mal connues. Etant donné l'importance des astrocytes dans l'homéostasie cérébrale, tout changement de leur fonctionnement pourrait avoir des effets majeurs sur les neurones et leur survie. Les astrocytes réactifs constituent donc des cibles thérapeutiques potentielles pour les maladies neurodégénératives. De plus, les astrocytes réactifs accompagnent toute situation pathologique dans le cerveau, et représentent donc des biomarqueurs potentiels pour suivre l'évolution des maladies cérébrales.

Dans ce projet, nous avons développé des outils moléculaires basés sur des vecteurs viraux pour manipuler sélectivement l'état des astrocytes réactifs dans le cerveau. Nous avons pu ensuite évaluer des techniques d'imagerie cérébrale pour suivre l'état des astrocytes *in situ* et étudier le rôle des astrocytes réactifs dans certaines maladies neurodégénératives *in vivo*.

— Résultats majeurs

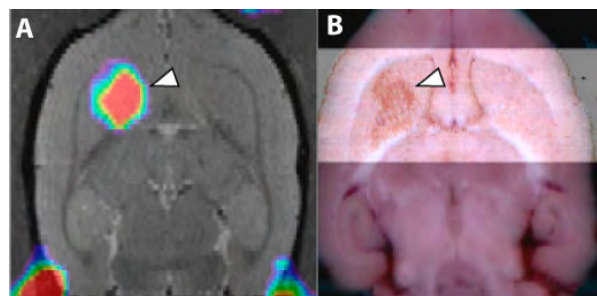
Nous avons développé des vecteurs viraux qui permettent l'activation ou la désactivation contrôlée des astrocytes dans le cerveau de rongeur en ciblant la voie de signalisation JAK-STAT3 dans ces cellules (Ben Haim *et al.*, 2015). Après validation de ces vecteurs, nous avons évalué différentes techniques d'imagerie cérébrale pour détecter la réactivité astrocytaire *in situ*. Nous avons en particulier montré que certains radiotraceurs utilisés en tomographie par émission de positons, qui étaient utilisés comme des traceurs de l'activation microgliale, détectent en réalité aussi les astrocytes réactifs (Lavisse *et al.*, 2012). Nous avons également montré que l'état réactif des astrocytes conduisait à des changements de plusieurs métabolites cérébraux détectables par spectroscopie par résonance magnétique (Carrillo de Sauvage *et al.*, 2015). Enfin, nous avons étudié le rôle des astrocytes réactifs dans des modèles murins de la maladie de Huntington, une maladie neurodégénérative chronique (Ben Haim *et al.*, 2015 ; Abjean *et al.*, en préparation). L'efficacité et la versatilité de ces outils moléculaires nous a aussi permis d'étudier les astrocytes réactifs dans différents modèles de maladies neurodégénératives, notamment de maladie d'Alzheimer (Ceyzériat *et al.*, 2018, Guillemaud *et al.*, 2019).

L'ensemble de nos résultats souligne que les astrocytes changent de manière significative quand ils deviennent réactifs, non seulement au niveau morphologique mais aussi moléculaire et peuvent directement influencer plusieurs aspects pathologiques des maladies neurodégénératives. Néanmoins, leurs réponses sont complexes et contexte-dépendants. Elles doivent être étudiées précisément, avec des approches moléculaires et fonctionnelles de pointe, pour in fine pouvoir cibler ces cellules à des fins thérapeutiques.

— Production scientifique et valorisation

Imagerie des astrocytes réactifs :

- Lavisse S., *et al.* Reactive astrocytes overexpress TSPO and are detected by TSPO PET imaging. *J. Neurosci.* 2012. 32(32):10809-18.



La tomographie par émission de positons permet de détecter les astrocytes réactifs *in vivo* (flèche en A), ce qui est confirmé par un marquage immunohistologique *post-mortem* (flèche en B). Image modifiée de Lavisse *et al.*, *J. Neuroscience*, 2012.

- Carrillo-de Sauvage M.-A., *et al.* The neuroprotective agent CNTF decreases neuronal metabolites in the rat striatum : an *in vivo* multimodal magnetic resonance imaging study. *J Cereb Blood Flow Meta.* 2015. 35:917-21.

Astrocytes réactifs et maladie de Huntington :

- Ben Haim L., *et al.* The JAK/STAT3 pathway is a common inducer of astrocyte reactivity in Alzheimer's and Huntington's disease *J Neurosci.* 2015. 35(6):2817-29.

Astrocytes réactifs et maladie d'Alzheimer :

- Ceyzériat K., *et al.* Modulation of astrocyte reactivity improves functional deficits in mouse models of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica Communications.* 2018. 16:6(1):104.
- Guillemaud O., *et al.* (2019). Complex roles for reactive astrocytes in the triple transgenic mouse model of Alzheimer disease. *BioRxiv.* doi:https://doi.org/10.1101/797662

Notre travail a aussi conduit à la publication de 3 revues, dont 2 invitées :

- Ben Haim L., *et al.* Elusive roles for reactive astrocytes in neurodegenerative diseases. *Front. Cell. Neurosci.* 2015. 9: 278.
- Ceyzériat K., *et al.* The complex STATes of astrocyte reactivity: How are they controlled by the JAK-STAT3 pathway? *Neuroscience.* 2016. 330:205-18.
- Escartin C*, Guillemaud O., Carrillo-de Sauvage M., Questions and (some) answers on reactive astrocytes. *Glia.* 2019. 67: 2221-47.

Le projet **ACTIVASTRO** est un projet Jeunes Chercheurs, Jeunes Chercheuses de recherche fondamentale. Le projet a commencé en octobre 2010 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 228 252 €.

COORDINATRICE

Carole Escartin : carole.escartin@cea.fr
MIRcen, unité mixte CNRS CEA, Univ. Paris Sud Paris
Saclay UMR9199
<http://jacob.cea.fr/drf/francoisjacob/english/Pages/Departments/MIRcen/ResearchThemes/Reactive-astrocytes.aspx>

FOXODIRECT

Mécanismes impliqués dans la répression directe de FOXO par des facteurs développementaux et les déficits de la survie neuronale

— Rappel des objectifs

Les systèmes de réponse au stress cellulaire sont largement conservés au travers des espèces, permettant de réparer les composants cellulaires et de maintenir l'activité cellulaire dans plusieurs tissus et dans plusieurs types cellulaires. Ces systèmes de compensation sont notamment sous contrôle des protéines FOXO, une famille de facteurs de transcription qui contribuent à la résilience cellulaire et tissulaire mais qui peuvent aussi contribuer à la mort cellulaire si les conditions de stress sont trop fortes.

À ce titre, les protéines FOXO montrent des effets neuroprotecteurs dans plusieurs modèles des phases précoces des maladies neurodégénératives comme la maladie de Huntington. Cependant, les protéines FOXO ne sont pas de bonnes cibles thérapeutiques du fait de leur activité large spectre. En effet, elles agissent sur plusieurs mécanismes de compensation cellulaire, régulent l'expression de plusieurs centaines de gènes.

Par ailleurs, les protéines FOXO n'agissent pas seules et mobilisent plusieurs protéines partenaires. Enfin le catalogue des gènes cibles des FOXO dans la maladie de Huntington est inconnu. Pour comprendre comment les FOXO fonctionnent dans ce contexte, et pour exploiter cette information à des fins thérapeutiques, nous avons intégré analyses de la signalisation, du transcriptome et de la viabilité cellulaire. Cette approche a permis des avancées sur un plan fondamental et sur un plan translationnel.

— Résultats majeurs

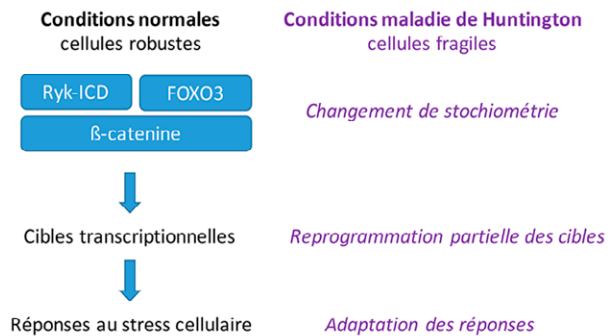
FOXODIRECT a réalisé une analyse fine des régulateurs de l'activité des FOXO, en interrogeant les régulateurs amont, les co-facteurs et les effecteurs aval grâce à plusieurs modèles de la maladie de Huntington, chez le nématode *C. elegans*, dans des cellules murines et dans des cellules humaines (cellules pluripotentes induites).

Cette approche a permis de mettre en lumière un modèle de régulation de l'activité des FOXO et d'expression de leurs cibles transcriptionnelles dans lequel la cellule reprogramme une grande partie des cibles de FOXO en réponse au stress chronique qui est induit par la huntingtine, le gène muté dans la maladie de Huntington. Ce modèle a aussi permis d'identifier avec précision les mécanismes pathogéniques auxquels les FOXO s'opposent permettant d'identifier un nouveau rationnel thérapeutique.

— Production scientifique et valorisation

► Farina F, Lambert E, Commeau L, Lejeune FX, Roudier N, Fonte C, Parker JA, Boddaert J, Verny M, Baulieu EE and Neri C. (2017) The stress response factor daf-16/FOXO is required for multiple compound families to prolong the function of neurons with Huntington's disease. *Nature Scientific Reports* 2017, 7:4014. doi: 10.1038/s41598-017-04256-w.

► Vazquez-Manrique RV, Farina F, Cambon K, Sequedo MD, Parker AJ, Milan JM, Weiss A, Deglon N and Neri C. (2015) AMPK activation protects from neuronal dysfunction and vulnerability across nematode, cellular and mouse models of Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 25 :1043-58 doi: 10.1093/hmg/ddv513.



Modèle explicatif des stratégies cellulaires de résistance à la maladie de Huntington qui mobilisent les facteurs FOXO et leurs protéines partenaires comme la β-caténine ou le domaine intracellulaire du récepteur Wnt Ryk (Ryk-ICD). La connaissance des réponses adaptatives (en mauve) permet de définir de nouvelles approches thérapeutiques visant à prolonger leur efficacité. Crédit : © Inserm ERL U1164.

► Tourette C, Francesca F, Vazquez-Manrique RV, Orfila AM, Voisin J, Hernandez S, Offner O, Parker JA, Menet S, /.../, Lu W & Neri C. (2014) The Wnt Receptor Ryk reduces neuronal and cell Survival capacity by repressing FOXO Activity during the early Phases of mutant huntingtin pathogenicity. *PLoS Biology*, doi: 10.1371/journal.pbio.1001895.

Les résultats ont donné lieu à divers produits de diffusion et de valorisation, notamment plusieurs communications dans des congrès internationaux, des communications auprès des associations, ainsi qu'une demande de brevet sur une méthode de traitement de la maladie de Huntington.

Le projet FOXODIRECT est un projet Jeunes Chercheurs, Jeunes Chercheuses de recherche fondamentale. Le projet a commencé en février 2013 et a duré 34 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 240 557 €.

Partenaires : Inserm APHP-Pitié Salpêtrière.

COORDINATEUR

Christian Neri : christian.neri@inserm.fr

Institut National de la Santé et de la recherche Médicale / CNRS UMR 8256

<https://www.ibps.upmc.fr/fr/Recherche/umr-8256/brainc>

HDeENERGY

Validation de marqueur d'imagerie moléculaire dans la maladie de Huntington en vue d'essais thérapeutiques ciblant le cycle de Krebs

— Rappel des objectifs

Le projet HDeENERGY se fonde sur diverses observations montrant que des défauts énergétiques sont souvent associés aux maladies neurodégénératives, en particulier dans la MH. La MH est une maladie neurodégénérative génétique liée à la mutation du gène HTT, pour laquelle il n'existe aucune thérapie efficace. Les déficits métaboliques pourraient être détectés par RMN, ce qui constituerait une méthode non-invasive de choix pour caractériser l'atteinte fonctionnelle du cerveau chez les patients au cours de leur maladie.

L'objectif principal du projet HDeENERGY a donc été de développer de nouvelles méthodes d'exploration par IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) et par spectroscopie par résonance magnétique (SRM) visant à détecter et quantifier des atteintes du métabolisme au niveau cérébral. La stratégie du projet était de développer ces méthodes extrêmement pointues dans des modèles animaux de la MH, et lorsque cela était approprié, de porter ces méthodes à une étape exploratoire en clinique chez des porteurs du gène muté HTT.

— Résultats majeurs

Sur le plan méthodologique, le projet a conduit à l'optimisation des méthodes d'investigation en utilisant des champs magnétiques élevés (3 tesla chez l'homme et 11.7 tesla pour les études animales). Les chercheurs de HDeENERGY ont développé et optimisé la détection, la quantification et les vitesses de synthèse de différents métabolites cérébraux liés au métabolisme énergétique. Plusieurs défis méthodologiques ont été abordés avec succès. En particulier, la MRS du phosphore 31 et l'imagerie gluCEST (glutamate Chemical Exchange Saturation Transfer). D'autres méthodes d'IRM ou MRS ont également été développées pour parfaire le suivi des modèles animaux ou sujets humains par une approche globale, multiparamétrique.

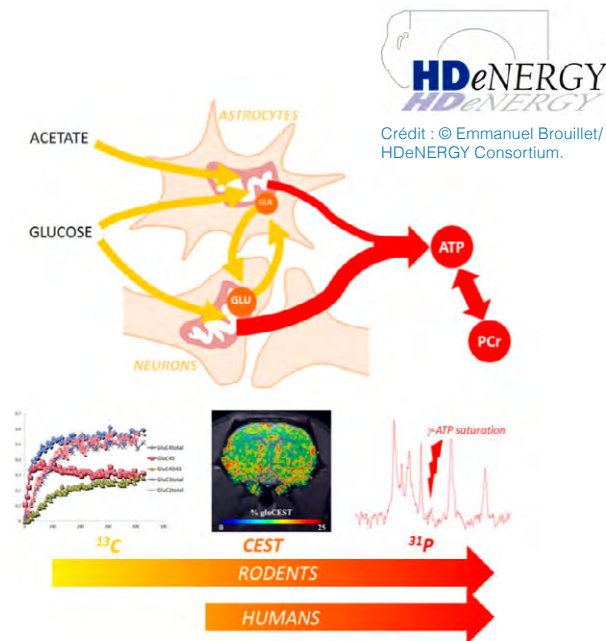
Sur le plan préclinique, HDeENERGY s'est focalisé sur deux modèles génétiques de la maladie, les souris « Ki140CAG » et les rats « BACHD ».

Les analyses par ^{31}P -SRM, ^1H -SRM et gluCEST ont montré l'existence d'une réorganisation du métabolisme énergétique chez les modèles rongeurs non suspectée jusqu'alors. La méthode gluCEST, grâce à sa grande résolution spatiale, a montré des anomalies des niveaux de glutamate dans les régions cérébrales connues pour être les plus atteintes dans la MH mais également, de manière très inattendue, dans le corps calleux. Ces observations ont conduit le consortium à modifier l'essai clinique pour étudier le corps calleux chez les patients porteurs du gène.

Sur le plan clinique, la ^1H -MRS a montré une baisse de glutamate dans le striatum des patients, même peu avancés dans la pathologie, en accord avec les observations faites sur les modèles animaux. La ^{31}P -MRS a identifié une baisse d'activation métabolique dans le cortex dans un test d'activation visuelle chez les patients. D'autres modalités d'IRM ont permis de mettre en évidence des anomalies de la matière blanche, dont le corps calleux et l'atteinte des réseaux neuronaux fonctionnels.

HDeENERGY a permis aux acteurs du consortium d'aller plus loin dans leur exploration de la MH. En particulier, ces recherches ont permis aux chercheurs de lancer de nouveaux projets financés par des appels à projet compétitifs (e.g. un projet européen eRARE ERA-NET et une ANR JCJC).

Enfin, grâce à son approche translationnelle, le projet HDeENERGY a contribué à l'amélioration du spectre des outils non-invasifs pour mieux suivre les porteurs du gène au cours de leur maladie.



Étude du métabolisme cérébral impliquant les neurones et les astrocytes dans la maladie de Huntington en utilisant différentes méthodes d'IRM et de spectroscopie RMN. Crédit : © UMR9199/MIRcen/CEA.

De plus l'optimisation des méthodes de SRM et d'IRM laisse entrevoir une amélioration du suivi de l'efficacité de nouveaux traitements thérapeutiques pour la MH, et possiblement pour d'autres maladies neurodégénératives.

— Production scientifique et valorisation

- ▶ Tiret B *et al.*, *Neurochem Res.*, 2015, 40(12):2482-92.
- ▶ Tiret B *et al.*, *J Cereb Blood Flow Metab*, 2016, 36(9):1513-8.
- ▶ Pépin *et al.*, *NeuroImage*, 2016, 139:53-64.
- ▶ Liot G. *et al.*, *J Cereb Blood Flow Metab*. 2017, 37(6):1927-1943.
- ▶ Adanyeguh IM *et al.*, *NMR Biomed*. 2018 Mar;31(3).
- ▶ Adanyeguh IM *et al.*, *Neurology*. 2015 Feb 3;84(5):490-5.
- ▶ Adanyeguh IM *et al.*, *Microstructural alterations in early stage Huntington disease*. Submitted.

Le projet HDeENERGY est un projet collaboratif de recherche translationnelle. Le projet a commencé en janvier 2015 et a duré 42 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 302 824 €.

Partenaires : Département de Génétique de l'Hôpital de la Salpêtrière, ICM (Paris).

COORDINATEUR

Emmanuel Brouillet : emmanuel.brouillet@cea.fr
Laboratoire des Maladies Neurodégénératives, CEA-CNRS-
Université Paris-Saclay
<http://jacob.cea.fr/drif/francoisjacob/Pages/Departements/MIRcen/UMR9199.aspx>

HexpanD

Mécanismes de l'instabilité des expansions de trinuécléotides CAG dans la maladie de Huntington

— Rappel des objectifs

Mécanismes responsables de l'instabilité de la répétition CAG dans la maladie de Huntington

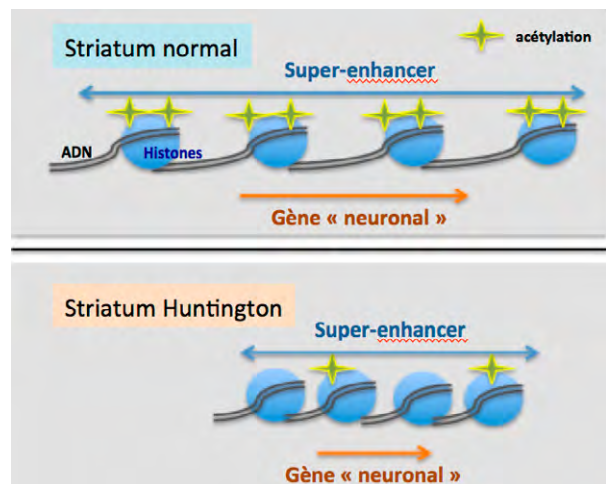
La maladie de Huntington (MH) est une maladie neurodégénérative causée par une mutation particulière, une expansion de répétitions CAG dans le gène de la Huntingtine (HTT). La mutation entraîne la production d'une protéine HTT mutée, qui possède une queue de polyglutamine particulièrement toxique pour les neurones du striatum dans le cerveau. Le mécanisme de la sélectivité tissulaire dans la MH n'est pas clair, mais implique vraisemblablement l'instabilité de la mutation, qui est particulièrement élevée dans le striatum : la taille de la répétition augmente dans le striatum des patients avec le temps, ce qui conduit à la production de HTT mutée de toxicité croissante et accélère la progression de la maladie. Il est donc essentiel de comprendre les mécanismes fondamentaux associés à l'instabilité des répétitions CAG dans la MH. Cela pourrait permettre de développer de nouvelles approches thérapeutiques. Nous avons examiné le rôle de la réparation par excision de base, des processus épigénétiques et de la transcription dans le mécanisme de sélectivité tissulaire de l'instabilité de l'expansion CAG à partir de modèles murins de la maladie et en comparant des tissus montrant des degrés importants et faibles d'instabilité (le striatum et le cervelet, respectivement). Dans l'ensemble, nos résultats suggèrent qu'une combinaison de mécanismes impliqués dans le contrôle de la physiologie de l'ADN et de l'ARN contribuent à la grande instabilité de l'expansion CAG dans le striatum des patients Huntington.

Des tests de réparation de l'ADN et des expériences d'immunoprécipitation de la chromatine pour étudier l'instabilité de l'expansion CAG associée à la MH

Différentes méthodes ont été utilisées pour examiner le mécanisme d'instabilité des expansions CAG à partir de tissus murins, y compris des tests de réparation de l'ADN et des expériences d'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP). Les tests de réparation de l'ADN ont été effectués en vue de comparer les activités de réparation par excision de base (BER) du striatum et du cervelet. A cette fin, des tests ont été réalisés à partir de protéines recombinantes ou à partir d'extraits protéiques provenant de striatum et de cervelet murins. Des expériences de ChIP associées à des analyses d'expression ont été effectuées à partir de striatum et de cervelet de souris Huntington afin d'étudier le rôle des mécanismes épigénétiques dans l'instabilité de l'expansion CAG. Des approches permettant à la fois une analyse centrée sur le locus Huntington (ChIP-PCR) et à l'échelle du génome (ChIP-seq, RNA-seq) ont été entreprises.

— Résultats majeurs

- La séquence nucléotidique, le lieu du dommage à l'ADN et la stoechiométrie des protéines influencent la réparation de répétitions CAG/CTG par le BER. La réparation de répétitions CAG/CTG nécessite la voie longue du BER, qui est moins efficace dans le striatum comparé au cervelet.
- La dynamique de transcription du gène de la HTT est variable selon les tissus et influence l'instabilité de l'expansion CAG associée à la MH.
- La MH entraîne des dérégulations transcriptionnelles importantes, particulièrement dans le striatum, qui résultent d'une altération préférentielle des super-enhancers, une classe d'enhancers impliquée dans la régulation des gènes de l'identité cellulaire.



Dans un striatum normal (en haut), l'hyperacétylation au niveau du super-enhancer provoque un relâchement de la chromatine et une forte activation transcriptionnelle du gène sous son contrôle. Dans le striatum Huntington (en bas), la chromatine est moins acétylée au niveau du super-enhancer, ce qui entraîne une baisse d'activité du gène associé.
Figure issue de Goula AV, Festenstein R, Merienne K. *Transcription*. 2013 Jul-Aug; 4(4):172-6. doi: 10.4161/trns.25971. Epub 2013 Aug 2. PMID: 23989661.

— Production scientifique et valorisation

- Neuronal Identity Genes Regulated by Super-Enhancers Are Preferentially Down-Regulated in the Striatum of Huntington's Disease Mice. Mayada Achour, Stéphanie Le Gras, Céline Keime, Frédéric Parmentier, François-Xavier Lejeune, Anne-Laurence Boutillier, Christian Néri, Irwin Davidson and Karine Merienne. *Human Molecular Genetics* 2015 ddv009.
- Tissue-dependent regulation of RNAP II dynamics: The missing link between transcription and trinucleotide repeat instability in diseases? Goula AV, Festenstein R, Merienne K. *Transcription*. 2013 2;4(4).
- Abnormal Base Excision Repair at Trinucleotide Repeats Associated with Repeats : A tissue-selective Mechanism. Goula AV, Merienne K. *Genes*. 2013 4 :375-387.
- Transcription Elongation and Tissue-Specific Somatic CAG Instability. Goula AV, Stys A, Chan JP, Trottier Y, Festenstein R, Merienne K. *PLoS Genetics*. 2012 8:e1003051.
- The nucleotide sequence, DNA damage location, and protein stoichiometry influence the base excision repair outcome at CAG/CTG repeats. Goula AV, Pearson CE, Della Maria J, Trottier Y, Tomkinson AE, Wilson DM 3rd, Merienne K. *Biochemistry*. 2012 8;51:3919-32.

Le projet HexpanD est un projet Jeunes Chercheurs, Jeunes Chercheuses de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2012 et a duré 24 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 239 000 €.

COORDINATRICE

Karine Merienne : karine.merienne@unistra.fr
Centre Européen de Recherche en Biologie et en Médecine

HUGE

Huntingtin in neurogenesis

— Rappel des objectifs

Comprendre comment une protéine d'échafaudage telle que la huntingtine (HTT) – dont la mutation est à l'origine de la maladie de Huntington – coordonne les mécanismes cellulaires et moléculaires gouvernant la division de progéniteurs neuronaux et leur différenciation au cours de la neurogenèse développementale et adulte en situation physiologique, ou physiopathologique de la maladie de Huntington.

— Résultats majeurs

Nous avons travaillé autour des axes de recherche suivants:

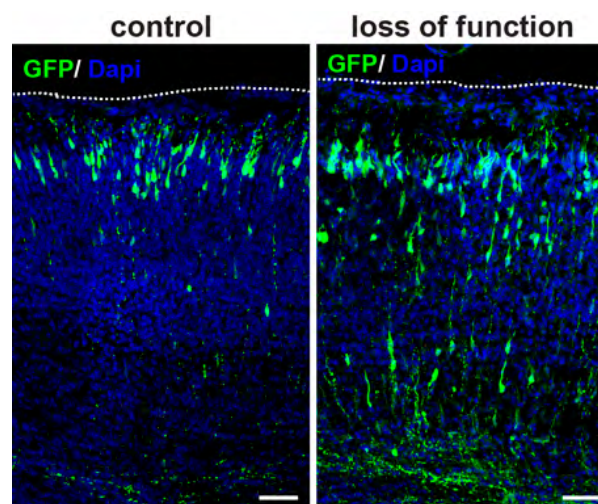
1. La HTT normale et mutante régule le développement du cortex de la souris.

Au cours du développement cortical, les neurones de projection produits dans la zone ventriculaire subissent une transition multipolaire-bipolaire et migrent le long des fibres gliales pour atteindre leur destination finale où ils arrivent à maturité. Nous avons montré que la HTT régule la division des progéniteurs neuronaux puis la polarisation et la migration des neurones nouvellement générés. Il est intéressant de noter que l'altération de ces fonctions de la HTT dans des modèles murins de la maladie de Huntington a des conséquences sur le cerveau adulte avec notamment une diminution de l'épaisseur corticale.

2. Le stress chronique supprime la neurogenèse de l'hippocampe adulte par une voie impliquant la HTT.

L'exposition chronique au stress est un facteur de risque majeur des troubles neuropsychiatriques. Une corticostérone plasmatique élevée (CORT) entraîne une réduction des taux du facteur neurotrophique BDNF et inhibe la neurogenèse hippocampique. En reconstituant un réseau cortico-hippocampique sur une puce, nous avons montré que la dexaméthasone (DXM), un agoniste des récepteurs glucocorticoïdes, réduit le transport vésiculaire du BDNF dans les axones corticaux. La DXM médie son effet par la phosphorylation de la HTT aux sérines 1181 et 1201 (S1181/1201) par la kinase CDK5, cyclin-dépendent kinase 5. La CORT induit une phosphorylation de la HTT sur les sérines S1181/1201 in vivo. L'absence constitutive de phosphorylation sur ces sérines chez la souris protège contre la diminution de la neurogenèse induite par le stress et prévient ainsi le comportement anxio-dépressif induit par la CORT.

Nos travaux ont donc permis de montrer que la HTT est importante pour la division et la maturation de cellules neuronales de différentes origines: les progéniteurs corticaux pendant le développement cérébral et les cellules de l'hippocampe lors de la neurogenèse adulte. Ces mécanismes sont altérés dans la maladie de Huntington.



La huntingtine régule la migration pendant le développement cortical.

Au stade embryonnaire E18.5, la majorité des neurones contrôles marqués à E14.5 par électroporation in utero (GFP) ont atteint les couches superficielles (gauche) alors que de nombreux neurones dépourvus de la HTT ne sont pas capables de le faire (droite). Barre d'échelle, 100 µm.

Crédit : © S Humbert/M Barnat.

— Production scientifique et valorisation

- ▶ Barnat M, Le Fric J, Benstaali C and Humbert S (2017) Huntingtin-Mediated Multipolar-Bipolar Transition of Newborn Cortical Neurons Is Critical for Their Postnatal Neuronal Morphology *Neuron* 93: 99.
- ▶ Lopes C, Aubert S, Bourgeois-Rocha F, Barnat M, Rego AC, Deglon N, Perrier AL and Humbert S (2016) Dominant-Negative Effects of Adult-Onset Huntingtin Mutations Alter the Division of Human Embryonic Stem Cells-Derived Neural Cells *PLoS One* 11: e0148680.
- ▶ Molina-Calavita M, Barnat M, Elias S, Aparicio E, Piel M and Humbert S (2014) Mutant huntingtin affects cortical progenitor cell division and development of the mouse neocortex *J Neurosci* 34: 10034.

Le projet HUGE est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en octobre 2012 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 431 119 €.

Partenaires : Université Paris Sud, Faculté de Pharmacie.

COORDINATRICE

Sandrine Humbert : sandrine.humbert@inserm.fr
Institut Curie / Inserm

https://neurosciences.univ-grenoble-alpes.fr/fr/recherche/equipes-de-recherche/equipe-progeniteurs-neuraux-et-pathologies-cerebrales--637944.htm?RH=NEUROFR_RECHEQUI

HURIT

Huntingtine et régulation du trafic intracellulaire

— Rappel des objectifs

Comprendre les mécanismes moléculaires qui régulent l'efficacité du trafic intracellulaire dans les neurones : Focus sur la protéine huntingtine impliquée dans la maladie de Huntington.

Le transport intracellulaire est un mécanisme cellulaire clé hautement régulé qui permet le transport sélectif de cargos à l'intérieur des cellules. Ce transport sélectif est essentiel pour réguler la signalisation, la survie des neurones.

Le but de ce projet était de mieux comprendre ces mécanismes fondamentaux en nous concentrant sur la protéine huntingtine (htt) dont le rôle de régulateur crucial du trafic intracellulaire est en train d'émerger. Notre laboratoire et d'autres ont montré que la htt, la protéine qui, lorsque mutée, cause la maladie de Huntington, contrôle le transport du facteur neurotrophique BDNF, et pourrait interagir avec l'enzyme GAPDH, une enzyme clé de la glycolyse. Nous avons cherché à comprendre la nature des sources énergétiques nécessaires pour promouvoir le transport dans les axones. Nous avons cherché à déterminer les mécanismes par lesquels la huntingtine et sa mutation altère les dynamiques intracellulaires. Enfin, nous avons cherché à déterminer comment des altérations du transport induisent un dysfonctionnement du réseau corticostriatal dans la MH par le développement de puces microfluidiques.

— Résultats majeurs

La glycolyse vésiculaire joue un rôle majeur dans la facilitation du transport axonal.

Nous avons montré suite à des travaux antérieurs (Zala *et al.*, *Cell*, 2013) que la totalité de la glycolyse se trouve sur les vésicules et est nécessaire et suffisante pour promouvoir la motilité des vésicules in vitro et in vivo. Ces travaux montrent que la glycolyse vésiculaire est la machinerie minimale pour apporter l'énergie nécessaire au transport axonal (Hickelmann *et al.*, *Nat Comm*, 2016).

La protéolyse de la Huntingtine dérégule la dynamique du réticulum endoplasmique.

Nous avons montré que la protéolyse de la htt qui a lieu lors de la pathologie génère un fragment qui inactive la dynamine 1 et induit la mort des cellules via l'induction d'un stress du réticulum endoplasmique. Ces résultats étendent les défauts de dynamiques intracellulaires induits par la htt mutante (El Daher *et al.*, *Embo J*, 2015).

Reconstitution du circuit corticostriatal dans la maladie de Huntington sur puces microfluidiques.

Grâce à l'approche microfluidique qui consiste à fabriquer dans un matériau biocompatible et transparent des chambres de culture et des canaux à l'échelle des cellules, les chercheurs ont pu contrôler la pousse et l'orientation des axones dans des canaux micrométriques pouvant atteindre jusqu'à 500 microns de longueur afin de reconstituer le circuit corticostriatal qui est altéré dans la MH. Cette étude a permis de montrer le rôle fondamental du transport du BDNF dans les axones corticaux et le rôle du cortex dans la genèse des dysfonctions au niveau du circuit entier (Virlogeux *et al.*, *Cell Reports*, 2018).

— Production scientifique et valorisation

- ▶ El-Daher MT, Hangen E, Bruyère J, Poizat G, Al-Ramah I, Pardo R, Bourg N, Souquere S, Mayet C, Pierron G, Lévêque-Fort S, Botas J, Humbert S, Saudou F. (2015) Huntingtin proteolysis releases non-polyQ fragments that cause toxicity through dynamin 1 dysregulation. *EMBO J*. 2015 Jul 12. pii: e201490808.
- ▶ Hinckelmann MV, Virlogeux A, Niehage C, Poujol C, Choquet D, Hoflack B, Zala D and Saudou F. (2016) Self-propelling vesicles define glycolysis as the minimal energy machinery for neuronal transport *Nature Communications*, 7:13233. doi: 10.1038/ncomms13233.
- ▶ Virlogeux A, Moutaux E, Christaller W, Genoux A, Bruyère J, Fino E, Charlot B, Cazorla M, Saudou F. Reconstituting Corticostriatal Network On-a-Chip Reveals the Contribution of the Presynaptic Compartment to Huntington's Disease. *Cell Reports*, Jan 2;22(1):110-122. doi: 10.1016/j.celrep. 2017.12.013.

Le projet HURIT est un projet Jeunes Chercheurs, Jeunes Chercheuses de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2013 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 465 938 €.

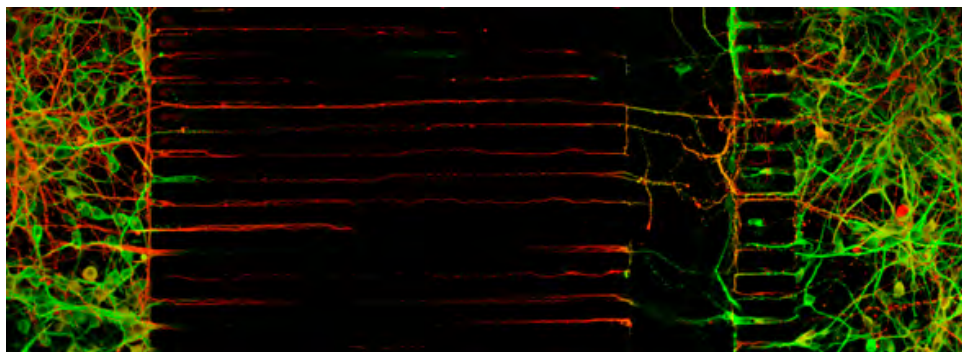
COORDINATEUR

Frédéric Saudou : frederic.saudou@inserm.fr

Institut Curie/ Inserm

https://neurosciences.univ-grenoble-alpes.fr/en/research/research-teams/team-intracellular-dynamics-and-neurodegeneration--693724.htm?RH=NEUROEN_RECHEQUI

Réseau neuronal de la maladie de Huntington dans une puce microfluidique. Les neurones de gauche étendent des prolongements appelés axones (en rouge) qui vont atteindre la chambre centrale. Les axones vont alors se connecter et former des synapses avec les dendrites (extensions plus courtes, en vert) provenant des neurones de droite et ainsi former un circuit neuronal fonctionnel. Ce circuit est atteint dans la maladie de Huntington. Crédit : © F. Saudou/M. Cazorla.



ModelPolyQ

Modèles avancés de maladies par expansion de polyglutamine (HD, SCA3, SCA7)

— Rappel des objectifs

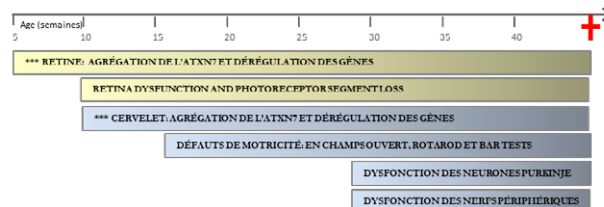
Les maladies à expansion de polyglutamine (polyQ) sont un groupe de neuf maladies neurodégénératives. Ces maladies neurologiques héréditaires sont dues à la répétition du codon CAG codant une séquence polyQ dans une protéine spécifique pour chaque maladie. Malgré d'importants progrès réalisés dans la compréhension des mécanismes pathologiques de ces maladies, des thérapies efficaces font encore défaut. Les progrès dans ce domaine découleront d'études mécanistiques et précliniques qui dépendent de modèles de ces pathologies à la fois prédictifs et simple à mettre en place.

Le projet ModelpolyQ se concentre sur trois troubles neurologiques à polyQ : La maladie de Huntington (HD), les ataxies spinocérébelleuses de type 3 (SCA3) et de type 7 (SCA7). L'objectif est de produire de nouveaux modèles de ces trois maladies qui seront comparés aux modèles existant et de développer des procédures standardisés pour l'étude des mécanismes pathologiques communs à ces trois maladies à polyQ. ModelpolyQ se focalise sur le développement de deux types de modèles innovants, ceux basés sur l'utilisation de cellules souches pluripotentes induites (iPS) de patient (modèle *in cellulo*) et ceux basés sur l'utilisation d'animaux génétiquement modifiés.

— Résultats majeurs

Modèles *in vivo* de SCA7 : L'expansion de polyQ dans l'ATXN7 mène progressivement à des altérations de motricité (l'ataxie) et une cécité chez les patients SCA7. ModelpolyQ a établi un nouveau modèle souris SCA7 et déterminé la séquence des anomalies moléculaires, histologiques, fonctionnelles et comportementales caractérisant les défauts de motricité et de vision chez la souris. Ces phénotypes sont robustes, reproductibles dans différents laboratoires et pourront ainsi servir à développer des stratégies thérapeutiques pour SCA7 (manuscrit en préparation). Par ailleurs, pour élucider la fonction normale de l'ATXN7, ModelpolyQ a étudié les conséquences de son inactivation chez le poisson zèbre et découvert que l'ATXN7 joue un rôle essentiel dans la différenciation des photorécepteurs de l'œil -une des cibles principales de SCA7- suggérant que ce rôle serait altéré par l'expansion de polyQ de l'ATXN7 (Carrillo-Rosas *et al.* 2018). De plus, la délétion de l'ATXN7 chez le poisson entraîne un colobome oculaire, une malformation structurelle responsable de la déficience visuelle chez les nouveaux nés.

Modèle *in cellulo* humain de HD pour l'évaluation de produit de thérapie génique : Le consortium ModelpolyQ a développé un modèle cellulaire de neurones striataux dérivés de cellules iPS de patients HD, qui a permis de tester deux types de thérapie génique. Une première approche par ARN interférence ciblant les ARN messenger du gène HTT a été évaluée. Le niveau de réduction de l'expression de la HTT, la spécificité du ciblage et les conséquences transcriptionnelles de ce vecteur de thérapie génique ont été mesurés dans des neurones humains dérivés de cellules iPS de patient (Cambon *et al.* 2017). ModelpolyQ a également développé une nouvelle approche de thérapie génique de HD par édition du gène HTT en utilisant la technologie CRISPR-Cas9 (Merienne *et al.* 2017). L'originalité de cette approche est le développement d'une stratégie permettant de désactiver l'enzyme CRISPR-Cas9 après l'édition du gène HTT. Ce système permet de réduire les effets indésirables d'une activation prolongée de l'enzyme CRISPR/Cas9 tels que l'édition non spécifique de gènes autres que la HTT ou le déclenchement d'une réaction immunitaire.



Début et progression des altérations phénotypiques des souris SCA7. La figure montre qu'une atteinte de la rétine (en vert), responsable des défauts visuels de la souris, précède une atteinte du cervelet et des défauts de motricité (en bleu). Aussi, des défauts moléculaires (***) précèdent des atteintes fonctionnelles, comportementales et histologiques. Les souris SCA7 décèdent prématurément à environ 1 an. Crédit : © DR.

Modèle *in cellulo* humain de HD pour le criblage à haut débit de nouveaux médicaments :

ModelpolyQ a exploité le modèle cellulaire de neurones striataux dérivés de cellules iPS de patients HD pour identifier de nouvelles molécules capables de diminuer le niveau de HTT mutante dans les cellules cérébrales de patient. ModelpolyQ a développé un test de criblage et établi la pertinence de cette approche en criblant avec succès une chimiothèque de repositionnement de médicaments déjà sur le marché.

— Production scientifique et valorisation


- S. Carrillo-Rosas *et al.*, Hum Mol Genet , 28 (6), 912-927 2019 Mar 15 DOI: 10.1093/hmg/ddy401s: 15
- Niewiadomska-Cimicka A, Trottier Y. Neurotherapeutics. 2019 Aug 20. doi: 10.1007/s13311-019-00778-5.
- Cambon K *et al.*, Mol Ther Methods Clin Dev. 2017 May 11;5:259-276. doi: 10.1016/j.omtm.2017.05.001. eCollection 2017 Jun 16.
- Merienne N *et al.*, Cell Rep. 2017 Sep 19;20(12):2980-2991. doi: 10.1016/j.celrep.2017.08.075.
- B. Baldo *et al.*, eNeuro. 2018 Jul-Aug; 5(4): ENEURO.0234-18.2018. Doi: 10.1523/ENEURO.0234-18.2018.

Le projet ModelpolyQ est un projet collaboratif international de recherche translationnelle. Le projet a commencé en octobre 2015 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 479 912 €.

Partenaires : Inserm/UEVE U861, I-Stem (Evry, France), IGBMC/CNRS/INSERM/UNISTRA (Illkirch, France), University of Tuebingen (Allemagne), Lausanne University Hospital - CHUV (Suisse), University of Milan (Italie).

COORDINATEUR

Luís Pereira de Almeida
University of Coimbra (Portugal)
<http://www.uc.pt/en/iii/ModelPolyQ/project>



Démences Fronto-Temporales

MAD CHMP2B

p. 101

RiMOD-FTD

p. 102

ToFU

p. 103

MAD CHMP2B

Pathogenèse des démences fronto-temporales : effets post-synaptiques de la protéine CHMP2B

— Rappel des objectifs

Démence fronto-temporale et protéine CHMP2B

Démence la plus prévalente après la maladie d'Alzheimer, la démence fronto-temporale (DFT) provient d'une dégénérescence de neurones du cortex cérébral, dont les causes ne sont que très partiellement élucidées, notamment à cause de l'hétérogénéité de ses caractéristiques biochimiques et génétiques. L'une des formes familiales de DFT est due à une mutation pathogène de la protéine CHMP2B (Charged Multivesicular body Protein 2B). Celle-ci appartient à un complexe supra-moléculaire appelé ESCRT-III (Endosomal Sorting Complex Required for Transport-III), capable au sein des cellules de remodeler localement la membrane périphérique ou celle de compartiments internes (endo-lysosomes). Ces propriétés nous ont menés à l'hypothèse que la CHMP2B pouvait jouer, via ESCRT-III, un rôle inédit dans les épines dendritiques (partie post-synaptique des synapses excitatrices), rôle qui serait perturbé par la mutation pathogène dans une phase précoce de la DFT. Nos objectifs étaient donc de caractériser les effets de CHMP2B (normal et mutant) sur la structure et la fonction des épines post-synaptiques, en corrélation avec les interactions moléculaires entre CHMP2B, ESCRT-III, et les protéines synaptiques.

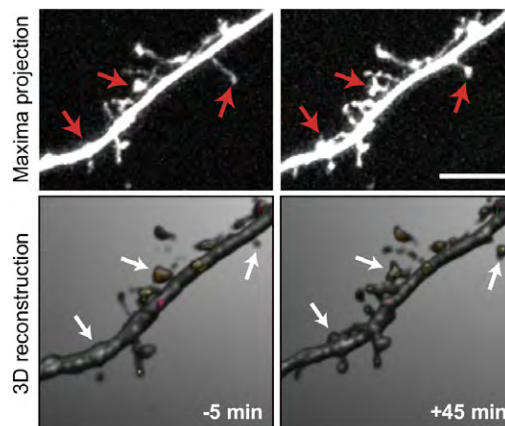
— Résultats majeurs

Une fonction synaptique pour CHMP2B

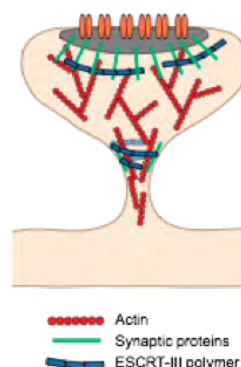
Nous avons découvert qu'au sein des synapses, la protéine CHMP2B était liée à une forme stabilisée du complexe ESCRT-III, associée au cytosquelette post-synaptique et à des récepteurs NMDA (NR2B). La CHMP2B se concentrait sous la surface des épines dendritiques, autour de la densité post-synaptique (structure de support des récepteurs). Nous avons montré que le complexe CHMP2B / ESCRT-III jouait un rôle indispensable dans le maintien de dendrites complexes et dans la maturation et la plasticité des synapses excitatrices. L'extinction (par shRNA) de CHMP2B normale entraînait un phénotype dendritique comparable à celui induit par l'expression du mutant pathogène. De plus, le complexe ESCRT-III synaptique contenait la protéine Alix, activatrice connue d'ESCRT-III. L'utilisation de souris KO a indiqué qu'Alix était indispensable au développement des prolongements neuronaux dans le cerveau. Le complexe CHMP2B / ESCRT-III pourrait contribuer directement à structurer et compartimenter la membrane de l'épine dendritique, affectant notamment la diffusion de récepteurs synaptiques.

— Production scientifique et valorisation

- Chassefeyre, R., Hernandez, M.J., Bertaso, F., Bouquier, N., Blot, B., Martinelli, N., Weissenhorn, W., Sadoul, R., Fagni, L., Goldberg, Y., 2012. Effects of the frontotemporal dementia-associated Charged Multivesicular Protein 2B (CHMP2B) on dendritic spines. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders* 33, 65–66.
- Chassefeyre, R., Martinez-Hernandez, J., Bertaso, F., Bouquier, N., Blot, B., Laporte, M., Fraboulet, S., Coute, Y., Devoy, A., Isaacs, A.M., Pernet-Gallay, K., Sadoul, R., Fagni, L., Goldberg, Y., 2015. Regulation of Postsynaptic Function by the Dementia-Related ESCRT-III Subunit CHMP2B. *Journal of Neuroscience* 35, 3155–3173.
- Laporte, M.H., Chatellard, C., Vauchez, V., Hemming, F.J., Deloulme, J.-C., Vossier, F., Blot, B., Fraboulet, S., Sadoul, R., 2017. Alix is required during development for normal growth of the mouse brain. *Scientific Reports* 7, 1–16.



Dendrite d'un neurone *in vitro*, avant (-5 min) et après (+45 min) une courte stimulation des récepteurs NMDA synaptiques. Au-dessus : microscopie de fluorescence (longueur de la barre : 15 µm). Au dessous : reconstructions en 3D. Les protubérances indiquées par des flèches sont des épines dendritiques agrandies suite au renforcement synaptique induit par la stimulation. Ce phénomène nécessite la présence de la protéine CHMP2B. Voir R. Chassefeyre *et al.*, 2015, *J. Neuroscience* 35, 3155–3173.



Ci-contre : schéma de la configuration proposée pour ESCRT-III (filaments bleus) au sein des épines. Crédit : © DR.

- Mercier, V., Laporte, M.H., Destaing, O., Blot, B., Blouin, C.M., Pernet-Gallay, K., Chatellard, C., Saoudi, Y., Albiges-Rizo, C., Lamaze, C., Fraboulet, S., Petiot, A., Sadoul, R., 2016. ALG-2 interacting protein-X (Alix) is essential for clathrin-independent endocytosis and signaling. *Scientific Reports* 6, 1–15.
- Sadoul, R., Laporte, M.H., Chassefeyre, R., Chi, K.I., Goldberg, Y., Chatellard, C., Hemming, F.J., Fraboulet, S., 2018. The role of ESCRT during development and functioning of the nervous system. Seminars in Cell & Developmental Biology, *The multiple facets of the ESCRT machinery* 74, 40–49.

Le projet MAD CHMP2B est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en novembre 2011 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 500 000 €.

Partenaires : Inserm Institute for Advanced Biosciences CRI U823, CNRS, Institut de Génétique Fonctionnelle.

COORDINATEUR

Yves Goldberg : yves.goldberg@univ-grenoble-alpes.fr
Inserm Grenoble Institut des Neurosciences CRI U836

RiMOD-FTD

Risk and Modifying factors in Fronto Temporal Dementia

— State of the art and scientific aims

Fronto-Temporal-Dementia (FTD) is a devastating progressive early onset dementia with a strong genetic influence. Currently, seven genes have been identified but how they lead to a very similar clinical phenotype is still an unanswered question. Currently, there is no cure for FTD. We need to determine whether a common target for a single therapy can be identified that can be applied to all patients or whether distinct genetic, clinical and pathological subgroups each need specific treatments. We therefore investigated common and distinctly affected processes in different groups of FTD patients using a combination of genetic, genomic and cell biological approaches.

— Main Results

We identified new candidate genes for FTD and pathways common for all patients groups and pathways corresponding to specific genetic mutations or neuropathological characteristics. For several new candidate genes we obtained evidence from our multi-omic characterization of human, mouse and iPSC based multi-omics data and they are being investigated in our cellular and animal models.

The RiMod-FTD project has generated a wealth of data and the further integration with genome-wide functional experiments for the key pathways of FTD will allow us to interpret genetic mutations and expression changes to the core upstream mechanisms and prioritize genes for detailed functional analysis.

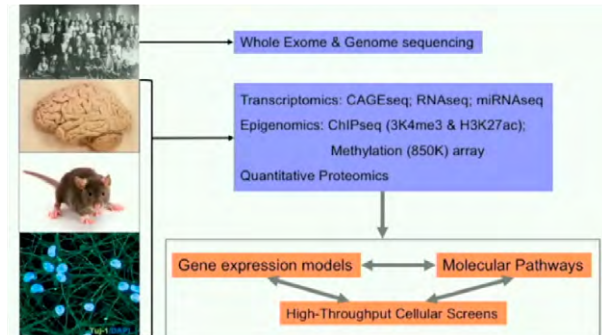
The data is being used to elucidate how pathogenic mutations and altered gene expression converge towards common pathways in FTD and allow us to refine our current theoretical disease models so that our findings have immediate translational impact.

— Scientific outcomes

We generated a RiMOD-FTD data warehouse at the DZNE ownCloud. We are building an integrated data platform funded by the BMBF IDSN project. Variant data and RNAseq data will be deposited in public data repositories upon publication as far as permitted by the EU General Data Protection Regulation (GDPR).

Publications:

- ▶ Andersson, R. *et al.*, (2014) Nat Commun. Nov 12;5:5336.
- ▶ Appocher C. *et al.*, (2017) Nucleic Acids Research, 45:8026-804.
- ▶ Arner E. *et al.*, FANTUM consortium, (2015) Science, Feb 27;347 (6225):1010-4.
- ▶ Beel S. *et al.*, (2017) Human Molecular Genetics, 26 (15), 2850-2863.
- ▶ Blauwendraat C. *et al.*, (2016) Genome Med., Jun 10, 8 (1) :65.
- ▶ Bento-Abreu A. *et al.*, (2018). Human Molecular Genetics, 27 (7), 1276.
- ▶ Blauwendraat C *et al.*, (2016) . Neurobiol Aging. Jan;37:208.e11-7.
- ▶ Budini M. *et al.*, (2015) Hum Mol Genet., 24:9-20.
- ▶ Dardis A. *et al.*, (2016) Acta Neuropathologica Communications, 4: 52.
- ▶ De Conti L. *et al.*, (2015) Nucleic Acids Research, 43: 8990-9005.
- ▶ Dislich B *et al.*, (2015) Mol Cell Proteomics 14, 2550-2563.
- ▶ Ferrari R *et al.*, (2016) Mol Neurodegener. Feb 24;11:21.
- ▶ Gaweda-Walerych K. *et al.*, (2016) Neurobiology of Aging, 47: 127-138.
- ▶ Guo W. *et al.*, (2017) Nature Commun, 8 (1), 861.



Using a range of genomic approaches we have studied the genetic subtypes of FTD: MAPT, GRN, C9ORF72 mutation carriers, sporadic cases and carriers of new genes that were identified using post-mortem brain material. These samples were complemented with mouse brain tissue of matching models at different time points and human and mouse derived iPSC in undifferentiated and differentiated state. Crédit : © DR.

- ▶ Kerimoglu C *et al.*, (2017) Cell Rep. Jul 18;20(3):538-548.
- ▶ Kuhn PH *et al.*, (2015) Mol Cell Proteomics 14, 1584-1592
- ▶ Laurent SA *et al.*, (2015) Nat Commun. 6, 7333.
- ▶ Li S *et al.*, (2015). J Immunol 195, 4244-4256.
- ▶ Mihevc S.P. *et al.*, (2016) Scientific Reports, 6: 33996.
- ▶ Mishra A *et al.*, (2017). Brain, 140 1437-1446.
- ▶ Mohagheghi F. *et al.*, (2015) Human Molecular Genetics, 25: 534-545.
- ▶ Mompeán M. *et al.*, (2016) Frontiers in Molecular Neuroscience, 9: 125.
- ▶ Mompeán M. *et al.*, (2016) PLOS Biology, 14: e1002447
- ▶ Mompeán M. *et al.*, (2015) Chemistry Letters, 6: 2608-2615.
- ▶ Mompeán M. *et al.*, (2017) Journal of Biological Chemistry, 292:11992-12006.
- ▶ Mompeán M. *et al.*, (2016) FEBS Journal, 283: 1242-1260.
- ▶ Poesen K. *et al.*, (2017) Neurology, 88 (24).
- ▶ Ratti A. and Buratti E. (2016) J Neurochem, 138 Suppl, 1: 95-111.
- ▶ Rizzu P *et al.*, (2016) Acta Neuropathol Commun. Apr 14;4(1):37.
- ▶ Saftig P, Lichtenthaler SF (2015). Prog Neurobiol 135, 1-20.
- ▶ Schulz AM *et al.*, (2015) J Cell Biol 211, 553-567.

Reviews:

- ▶ Buratti E. (2015) Advances in Genetics, 91: 1-53.
- ▶ Spalloni A, Longone P. (2015) Neurosci Biobehav Rev. Nov 19;60:12-25.
- ▶ Van Damme P. *et al.*, (2017) Disease Models and Mechanisms, 10 (5), 537-549.

Le projet RiMOD-FTD est un projet collaboratif international de recherche fondamentale. Le projet a commencé en mars 2014 et a duré 46 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 312 000 €.

Partenaires : University College London (Royaume-Uni), Erasmus University Medical Center (Pays-Bas), Santa Lucia Foundation (Italie), Vesalius Research Center (Belgique), Copenhagen University (Danemark), University of Göttingen (Allemagne), Technical University Munich (Allemagne), Inserm UMR-S1127 / ICM.

COORDINATEUR

Prof. dr. Peter Heutink : German Center For Neurodegenerative Diseases- Tuebingen (Allemagne)
<https://www.dzne.de/en/research/research-areas/fundamental-research/research-groups/heutink/research-areasfocus/>

Interactions between TAU, FUS and TDP-43 in neurodegenerative diseases

— Rappel des objectifs

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) et la démence fronto-temporale (DFT) sont deux maladies neurodégénératives fatales avec un risque de 1/1000 sur l'ensemble de la vie. Ces maladies sont toutes deux de très mauvais pronostic, et les options thérapeutiques restent très limitées. La SLA et la DFT sont parfois familiales et elles peuvent survenir dans les mêmes familles et être causées par des mutations dans les mêmes gènes.

Chez les patients SLA et DFT, trois types d'inclusions protéiques mutuellement exclusives sont principalement observées, et sont immuno-réactives pour les protéines TDP-43 (protéinopathie TDP-43), TAU (TAUopathie) ou FUS (FUSopathie). Des mutations dans les gènes codant pour TDP-43 et FUS sont associées à des formes familiales de SLA, tandis que des mutations de TAU sont associées à des cas familiaux de DFT. Les données anatomopathologiques et génétiques convergent donc pour attribuer un rôle central à ces trois protéines dans la pathogénèse de la SLA et de la DFT.

TDP-43 et FUS sont des protéines de liaison à l'ARN, qui régulent les différentes étapes du métabolisme de l'ARN, de la transcription au transport subcellulaire. Il est connu que les mutations de FUS provoquent une délocalisation de la protéine, essentiellement nucléaire, vers le cytoplasme. TAU est une protéine du cytosquelette, qui régule la structure des microtubules. Des données précédentes ont déjà démontré que TDP-43 et FUS faisaient partie d'une même voie pathogénique. De façon intéressante, l'épissage de l'ARNm de TAU est régulé par FUS, et une perte de fonction de FUS augmente l'inclusion de l'exon 10, mimant l'effet de certaines mutations familiales de TAU associées à la DFT. Par ailleurs, une étude protéomique récente a suggéré une interaction directe TAU et FUS. FUS et TAU pourraient donc interagir dans une même voie génétique, mais l'importance éventuelle de ces relations sur la progression de la SLA/DFT reste totalement inconnue.

Objectifs :

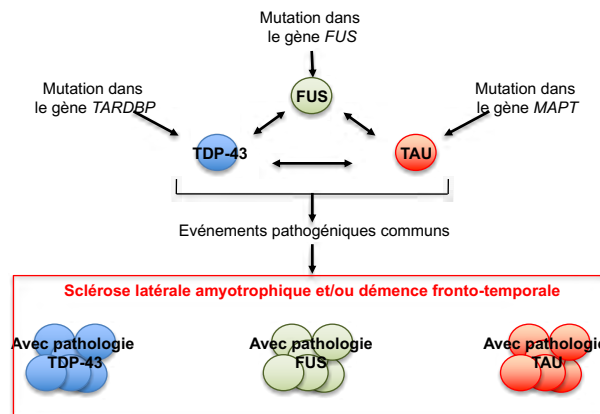
Au cours de ce projet, nous étudions les interactions génétiques entre TAU et les protéines de liaison à l'ARN associées à la SLA/DFT grâce à deux organismes modèles, la souris et le poisson zèbre. L'interaction entre TAU et FUS étant plus documentée, nous nous focalisons principalement sur celle-ci.

Nous répondrons aux questions suivantes :

- 1) La délocalisation de FUS dans le cytoplasme, telle qu'elle a lieu au cours de la SLA liée à FUS, altère-t-elle le métabolisme de TAU et provoque-t-elle des symptômes de DFT ?
- 2) Les TAUopathies sont-elles associées à des modifications de fonction de FUS et/ou de TDP-43 ?
- 3) TAU contribue-t-il à la neurodégénérescence causée par les mutations de TDP-43, FUS ou d'autres protéines de liaison à l'ARN ? La réalisation de ce projet permettra une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques de ces deux maladies, grâce à des approches de transgénèse modernes et proches de la situation génétique chez l'homme. Notre objectif principal est de dégager un schéma cohérent sur la pathogénèse de ces maladies en unifiant des causes actuellement considérées comme disparates.

— Résultats majeurs

Le projet est actuellement encore en cours, et nous avons franchi plusieurs étapes majeures. Nous avons notamment mis au point et validé le nouveau modèle conditionnel murin FUS, ainsi que



Crédit : © DR.

plusieurs modèles de poisson zèbre. Nous avons collecté les données d'interaction génétique entre FUS et TAU. Les résultats sont en cours de finalisation.

— Production scientifique et valorisation

Nous finalisons actuellement plusieurs manuscrits directement issus de ToFU.

- Picchiarelli G, Demestre M, Zuko A, Been M, Higelin J, Dieterlé S, Goy MA, Mallik M, Sellier C, Scekcic-Zahirovic J, Zhang L, Rosenbohm A, Sijlmans C, Aly A, Mersmann S, Sanjuan-Ruiz I, Hübers A, Messaddeq N, Wagner M, van Bakel N, Boutilier AL, Ludolph A, Lagier-Tourenne C, Boeckers TM#, Dupuis L#, Storkebaum E#. FUS-mediated regulation of acetylcholine receptor transcription at neuromuscular junctions is compromised in amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Neurosci.* 2019 Nov;22(11):1793-1805. # co-senior authors.
- Boutilier AL, Tzeplaff L, Dupuis L. The dark side of HDAC inhibition in ALS. *EBioMedicine.* 2019 Mar;41:38-39.
- Vercausse P, Vieau D, Blum D, Petersén Á, Dupuis L. Hypothalamic Alterations in Neurodegenerative Diseases and Their Relation to Abnormal Energy Metabolism. *Front Mol Neurosci.* 2018 Jan 19;11:2. doi: 10.3389/fnmol.2018.00002.
- Scekcic-Zahirovic J, Oussini HE, Mersmann S, Drenner K, Wagner M, Sun Y, Allmeroth K, Dieterlé S, Sinniger J, Dirrig-Grosch S, René F, Dormann D, Haass C, Ludolph AC, Lagier-Tourenne C, Storkebaum E, Dupuis L. Motor neuron intrinsic and extrinsic mechanisms contribute to the pathogenesis of FUS-associated amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol.* 2017 Jun;133(6):887-906.

Le projet ToFU est un projet collaboratif de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2017 et a duré 36 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 679 980 €.

Partenaires : Centre de Recherche Jean-Pierre Aubert UMR-S1172, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale UMR-S1127.

COORDINATEUR

Luc Dupuis : ldupuis@unistra.fr

Inserm UMR-S1118 Mécanismes centraux et périphériques de la neurodégénérescence



Sclérose en Plaque

COHEN 3020

p. 105

EOL (ELY-SLA)

p. 106

I-CKAIRE

p. 107

NeuroInflamDyn

p. 108

COEN 3020

BAFF/APRIL in the central nervous system

— State of the art and scientific aims

Two clinical trials in neurodegenerative diseases, multiple sclerosis and optica neuritis, aimed at antagonizing the two B-cell targeting molecules, BAFF and APRIL, showed a clear positive biological response with a profound B-cell reduction but an unfortunate negative clinical response with an exacerbation of the disease. These trials revealed a neuroprotective role for BAFF and/or APRIL. The “inside of the box” thinking part of this project was to postulate the presence of regulatory B cells dependent on BAFF and/or APRIL. The “outside of the box” thinking part of this project was to postulate that BAFF and/or APRIL act on non-immune brain resident cells to mediate a neuroprotective action.

— Main results

We have shown that APRIL is expressed in lesions from experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), an animal model of MS. In its absence, the disease was worst. Lesions from MS patients also showed APRIL expression upon infiltration of macrophages. Notably, all the APRIL secreted by these macrophages specifically targeted astrocytes, arguing in favor of the “outside of the box” hypothesis. The upregulation of chondroitin sulfate proteoglycan (CSPG), binding to APRIL, in reactive astrocytes explained the latter selectivity. Astrocytes responded to APRIL by producing sufficient amount of IL-10 to dampen antigen-specific T-cell proliferation and pathogenic cytokine secretion. Finally, delivery either intraspinal or intravenous of recombinant APRIL significantly delayed/reduced symptoms in EAE mice. Taken together, our data show that APRIL mediates an anti-inflammatory response from astrocytes in MS lesions. This protective activity is not shared with BAFF. Notably, the finding that APRIL is a new ligand of CSPG in the central nervous system opens new perspective for the use of recombinant APRIL to counteract the inhibitory role played by CSPG on the regeneration process during brain injury.

— Scientific outcomes

Peer-reviewed articles:

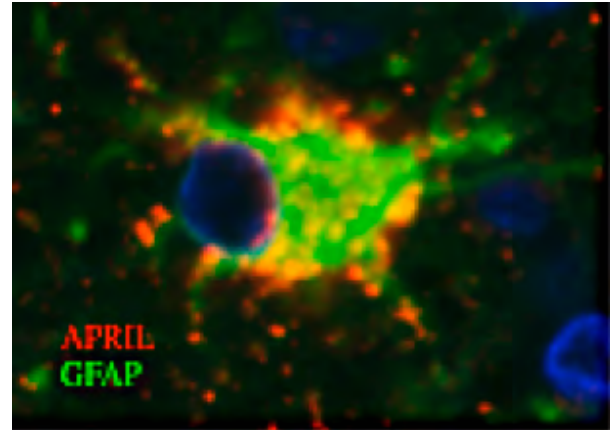
- ▶ L. Baert, M. Benkhoucha, N. Popa, M. C. Ahmed, B. Manfroi, J. Boutonnat, N. Sturm, G. Raguenez, M. Tessier, O. Casez, R. Marignier, M. Ahmadi, A. Broisat, C. Ghezzi, C. Rivat, C. Sonrier, M. Hahne, D. Baeten, R. R. Vives, H. Lortat-Jacob, P. N. Marche, P. Schneider, H. P. Lassmann, J. Boucraut, P. H. Lalive, B. Huard, A proliferation-inducing ligand-mediated anti-inflammatory response of astrocytes in multiple sclerosis, *Ann. Neurol.* 2019.
- ▶ C. M. Fehres, N. O. van Uden, N. G. Yeremenko, L. Fernandez, G. Franco Salinas, L. M. van Duivenvoorde, B. Huard, J. Morel, H. Spits, M. Hahne, D. L. P. Baeten, APRIL Induces a Novel Subset of IgA+ Regulatory B Cells That Suppress Inflammation via Expression of IL-10 and PD-L1, *Front Immunol* 2019.

Reviews:

- ▶ L. Baert, B. Manfroi, O. Casez, N. Sturm, B. Huard, The role of APRIL - A proliferation inducing ligand - In autoimmune diseases and expectations from its targeting, *J. Autoimmun.* 2018.

Patent :

- ▶ 2014 Huard B, Lalive P., University Grenoble-Alpes and University of Geneva: New pharmaceutical compositions and their use for the treatment of autoimmune diseases. EP14305362.7 (March, 2014)



Binding of APRIL onto a GFAP⁺ reactive astrocyte in lesions from multiple sclerosis. Crédit : © Bertrand HUARD.

Le projet COEN 3020 est un projet collaboratif international de recherche translationnelle. Le projet a commencé en juin 2016 et a duré 43 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 206 833 €.

Partenaires : Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen, Germany.

COORDINATEUR

Bertrand Huard : bertrand.huard@univ-grenoble-alpes.fr
Institut Albert Bonniot - Université Grenoble Alpes

EOL (ELY-SLA)

Étude de faisabilité et de sécurité d'emploi du dispositif d'écriture avec les yeux chez des sujets atteints de Sclérose Latérale Amyotrophique (Étude ELY-SLA)

— Rappel des objectifs

Le projet ELY-SLA visait à évaluer si des personnes atteintes de SLA seraient en mesure d'acquérir la maîtrise d'un dispositif d'écriture avec le regard, appelé EOL (Eye-On-Line). Les personnes atteintes de SLA perdent progressivement l'usage de leurs membres, de leurs mains et de la parole, tout en conservant pour certains des compétences cognitives intactes. En particulier, les mouvements oculaires sont souvent épargnés par la maladie, offrant ainsi une voie pour le développement d'activités motrices volontaires.

Dix-huit patients ont été entraînés à l'usage du dispositif pendant 5 séances d'une heure, avec l'objectif qu'au terme de l'entraînement une majorité des sujets puissent écrire des traces (chiffres) avec les yeux, reconnaissables par un tiers.

Écrire en cursive avec le regard

Le dispositif EOL repose sur l'observation qu'un stimulus visuel constitué de disques papillotants et statiques peut s'accompagner de la perception d'une illusion visuelle produite par les mouvements des yeux. Lorsque c'est le cas, le stimulus donne l'impression de se déplacer avec le regard, offrant un support mobile sur lequel il est possible de réaliser des mouvements de poursuite lisse à volonté, dans toutes les directions. Maîtriser la boucle mouvement des yeux/génération de poursuite lisse demande souvent un apprentissage comportant 3 étapes :

- Percevoir l'illusion de mouvement induite par le mouvement des yeux lors de l'observation du stimulus inducteur présenté sur un écran ;
- Générer à volonté des mouvements de poursuite oculaire lisse en s'appuyant sur cette illusion visuelle de mouvement ;
- Projeter le plan moteur de l'écriture, appris à l'école pendant de longues années, sur les muscles oculomoteurs, de façon à générer des chiffres, des lettres, des mots et des dessins avec la poursuite oculaire lisse.

— Résultats majeurs

Après des séances d'initiation et de familiarisation, il était demandé aux sujets d'écrire les chiffres avec les yeux. La qualité de leur production a été évaluée par un test de lecture de ces chiffres par des personnes extérieures (N=18) et n'ayant pas suivi d'entraînement. Le score de reconnaissance de chaque sujet a été utilisé comme mesure du succès de l'apprentissage.

Les résultats obtenus par les patients sont très comparables à ceux des sujets sains. Les comparaisons quantitatives sont cependant difficiles, à la fois parce que le nombre de sujets est faible, qu'ils ne sont pas appariés, et que le lieu de test et le déroulement des sessions n'ont pas strictement les mêmes. Malgré ces limitations, le pattern général est le même : des patients ayant facilement appris à écrire des chiffres avec les yeux, des patients ayant rencontré des difficultés, mais réalisant des progrès constants, et des patients n'ayant pas ou peu progressé. Chacun de ces « groupes » représente environ 30 % des sujets, répartition semblable à celle observée pour les sujets sains. Le taux de reconnaissance des chiffres écrits par les patients est de 80 % et a une distribution similaire à celle de sujets sains. Les algorithmes d'analyse automatique des traces, utilisant le modèle bayésien ont été adaptés et testés sur des alphabets écrits avec les yeux. Ces alphabets écrits par des sujets entraînés ont permis de montrer que la reconnaissance automatique était fiable et permettait de reconnaître le scripteur qui avait écrit ces alphabets.

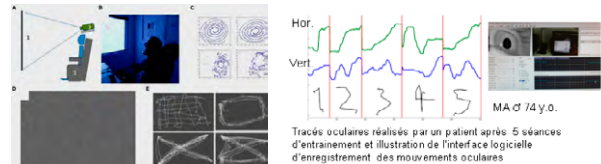


Figure 1 : Illustration du dispositif EOL et exemples de figures réalisées avec le regard par les patients. Exemples de tracés oculaires réalisés par un patient après entraînement

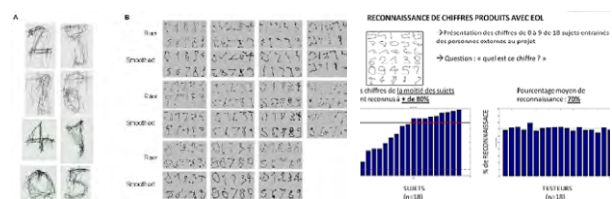


Figure 2 : Exemples de chiffres écrits avec le regard et résultats du test de lisibilité de chiffres oculo-écrits par des patients SLA après 5 séances d'entraînement. Le pourcentage de chiffres reconnus varie beaucoup d'un sujet à l'autre et est en moyenne de 80 %. Les résultats ne dépendent pas des testeurs. Crédit : © DR.

Cette modélisation indique qu'il est possible de traduire directement l'écriture avec les yeux en caractères imprimés, et de savoir qui a écrit.

ELY-SLA a démontré l'innocuité et la faisabilité d'un apprentissage avec le système EOL. La plupart des patients atteints de SLA pouvaient apprendre à utiliser ce système, et obtenaient des résultats comparables à ceux de sujets sains. Ceci indique que le système oculomoteur des patients reste fonctionnel. Malgré ces résultats encourageants, il reste qu'une partie des participants échouent à maîtriser le dispositif, sans que l'on ait une explication des origines de ces différences interindividuelles.

— Production scientifique et valorisation

Publications :

- M. Chanceaux *et al.*, 36th Annual Conference of the Cognitive Science Society, Jul 2014, Québec, pp.2014–2019.
- Lenglet, T. *et al.*, (2019). *Frontiers in neuroscience*, 13, 538.
- Diard, J. *et al.*, *Frontiers in psychology*, 4, 843.
- Lenglet, T. *et al.*, (2016). *European Journal of Neurology*, 23.

Brevets/valorisation :

- Lorenceau, J. *System comprising an oculometer, method implemented on such a system and corresponding computer program product*. U.S. Patent No 14/122,412, 2014.

Le projet EOL (ELY-SLA) est un projet collaboratif public-privé de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2013 et a duré 33 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 402 701 €.

Partenaires : AP-HP – Hôp. Pitié-Salpêtrière, LNCP (Grenoble), Pertech (Mulhouse).

COORDINATEUR

Jean Lorenceau : jean.lorenceau@upmc.fr
CNRS Paris
<http://eol.scicog.fr/actualites/actualite.html>

I-CKAIRE

Inhibiteurs des récepteurs de chimiokines comme agents anti-inflammatoires dans les pathologies oculaires

— Rappel des objectifs

I-CKAIRE : contrôler l'inflammation dans la Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age (DMLA)

La DMLA est la maladie neuro-dégénérative qui est la première cause de cécité chez les personnes âgées. Sa prévalence serait actuellement de 5 % dans la population générale et de plus 10 % pour les personnes âgées de plus de 55 ans. Les thérapies actuelles ne traitent pas l'aspect neuro-dégénératif de la pathologie, mais seulement les symptômes angiogéniques. Il y a donc urgence à développer de nouvelles thérapies ciblant les causes de la DMLA.

Des études récentes montrent que certains médiateurs de la réponse inflammatoire sont impliqués dans la pathogénèse de la DMLA, sous ses deux formes humide et sèche. Il s'agit notamment des cytokines chimiotactiques appelées chimiokines. Ainsi, notre équipe avait précédemment montré que les récepteurs de chimiokine CX3CR1 et CCR2 sont des médiateurs centraux de la pathologie aussi bien chez l'homme que chez la souris. Cependant, leur rôle précis dans le développement de la DMLA restait inconnu. A partir d'un concept original d'inhibition allostérique, nous avons identifié un peptide de 7 résidus appelé ECL1i qui a une forte activité antagoniste sur CCR2. Les grands objectifs de notre projet consistaient à (i) optimiser ce peptide, (ii) déterminer la pharmacodynamique *in vivo* d'un peptide « chef de file » et (iii) de le tester dans des modèles murins de dégénérescence rétinienne.

— Résultats majeurs

I-CKAIRE : limiter l'infiltration monocytaire en contrôlant les chimiokines inflammatoires

Dans un premier travail (1), nous avons montré que la DMLA est associée, chez les patients, à une augmentation des niveaux intraoculaire de la chimiokine CCL2 et à une infiltration sous-rétinienne de monocytes inflammatoires exprimant le récepteur CCR2. Dans divers modèles murins, nous avons montré que les macrophages sous-rétiniens produisent le CCL2 et entraîne le recrutement de monocytes, l'accumulation de macrophages et la dégénérescence des photorécepteurs *in vivo*. Nos données suggèrent que le blocage de l'inflammation en inhibant l'axe CCR2/CCL2 serait un outil puissant de contrôle du développement de la DMLA.

Nous avons montré que le peptide ECL1i présente une activité sélective d'inhibition de la migration dépendante de CCR2, sans affecter d'autres fonctions. Dans des modèles murins, un traitement avec ECL1i limite le recrutement de monocytes et le développement de deux maladies inflammatoires, l'une aiguë comme

la péritonite et l'autre chronique comme la sclérose en plaque (2). Malheureusement, nous n'avons pas pu mettre en évidence d'effet bénéfique de ce peptide dans la DMLA.

Plus récemment, nous avons pu montrer que ce peptide, lorsqu'il est couplé à un agent d'imagerie nucléaire, est un excellent traceur des sites inflammatoires de par sa capacité à se fixer aux cellules exprimant CCR2. Cette découverte a permis d'initier un processus de maturation de ce peptide par la Satt-Lutech.

— Production scientifique et valorisation

► Sennlaub F., Auvynet C., Calippe B., Hu S.H., Lavalette S., Dominguez E., Camelo S. Poupel L., Levy O., Guyon E., Saederup N., Charo I.F., Van Rooijen N., Nandrot E., Bourges J.-L., Behar-Cohen F., Sahel J.-A., Guillonnet X., Raoul W. and Combadère C. CCR2+ monocytes infiltrate atrophic lesions in age-related macular disease and mediate photoreceptor degeneration in a model of experimental subretinal inflammation. *EMBO Mol. Med* 2013 Nov;5(11):1775-93.

► Auvynet C, Baudesson de Chanville C, Hermand P, Dorgham K, Piesse C, Pouchy C, Carlier L, Poupel L, Barthélémy S, Felouzis V, Lacombe C, Sagan S, Salomon B, Deterre P, Sennlaub F and Combadère C. ECL1i, d(LGTFKLC), a novel, small peptide that specifically inhibits CCL2-dependent migration. *FASEB J.* 2016 Jun;30(6):2370-81.

Les travaux réalisés dans le cadre de ce projet étaient basés sur un dépôt de brevet décrivant ECL1i comme produit anti-inflammatoire. La SATT-Lutech a décidé de se saisir de la valorisation du peptide et d'investir par une étape de prématurité (WO201300922A9). Un autre brevet décrivant ECL1i comme marqueur d'inflammation a été déposé en juillet 2015 et est intitulé "Novel CCR2 Imaging Agent for Inflammation". L'ensemble donne lieu à un projet de valorisation de la SATT-Lutech déposé en juin 2017.

Le projet I-CKAIRE est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2013 et a duré 24 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 250 000 €.

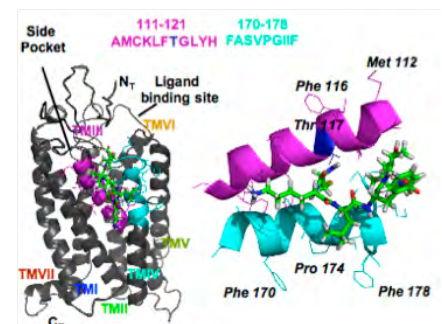
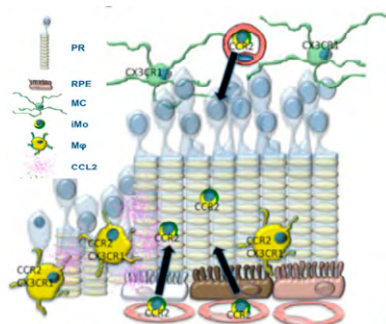
Partenaires : Institut de la Vision (Paris), DGRIT UPMC (Paris).

COORDINATEUR

Christophe Combadère : christophe.combadiere@upmc.fr
Centre d'Immunologie et des Maladies Infectieuses UMR-S945 (Paris)

Figure 1 (gauche) : Modèle d'infiltration monocytaire au cours de la DMLA. La chimiokine CCL2, libérée au niveau de la lésion rétinienne, recrute des monocytes inflammatoires (iMo) qui se différencient en macrophages (MP). Les photorécepteurs (PR) dégénèrent et la lésion s'agrandit. (RPE : retinal pigment epithelium ; MC : microglial cell).

Figure 2 (droite) : Visualisation en 3D de l'interaction du peptide antagoniste sur CCR2. Le peptide antagoniste est représenté en bâtonnet alors que CCR2 est en ruban (FASEB J. 2016).



NeuroInflamDyn

Étude par imagerie biphonique intravitale et cytométrie multiparamétrique de la dynamique de la neuroinflammation dans un modèle murin de sclérose en plaque

— Rappel des objectifs

La sclérose en plaque (SEP) est une maladie impliquant des attaques immunitaires du cerveau et de la moelle épinière. L'objectif de NeuroInflamDyn était d'analyser l'interdépendance de l'inflammation, de la neurodégénérescence et de la progression de la maladie. Pour cela nous avons combiné l'imagerie biphonique in vivo, la cytométrie multiparamétrique et la génétique de la souris pour caractériser la dynamique de la neuroinflammation, aussi appelée réponse immunitaire innée, jusqu'ici peu étudiée. Nous avons démontré que la méthodologie développée est adéquate pour effectuer des tests de candidats médicaments, en analysant l'effet du blocage du facteur VEGF sur la réponse immunitaire et l'évolution de la maladie.

Pour cette étude, l'encéphalomyélite auto-immune expérimentale (EAE), qui récapitule les caractéristiques de la SEP, est induite dans des souris Thy1-CFP // LysM-EGFP // CD11c-EYFP triple transgéniques dans lesquelles les axones dorso-spinaux, la microglie résidente et les monocytes circulants et leur progénie fluorescent dans différentes couleurs.

L'imagerie biphonique intravitale récurrente non invasive de la moelle épinière du même animal, après installation d'une fenêtre dorsale vitrée, permet d'obtenir, des chronologies précises -de l'activation de la microglie (CD11c-EYFP) – du recrutement de cellules myéloïdes (LysM-EGFP) dans le parenchyme, de leur répartition spatiale, de leurs changements de morphologie, ainsi que de - la conséquence de leurs interactions avec les neurones (Thy1-CFP). En complément, la cytométrie multiparamétrique identifie de manière non équivoque la fréquence de sous-populations des cellules immunitaires impliquées lors des étapes critiques identifiées de la progression de la maladie. Une corrélation entre les événements cellulaires, la dégénération des axones et les scores cliniques peut donc être établie par l'imagerie lors de la progression de la maladie.

— Résultats majeurs

Nous avons identifié les différentes étapes d'un programme immunitaire inné. Dans une première étape, des neutrophiles et des monocytes circulants envahissent la moelle épinière depuis les méninges. Le développement des « plaques » se produit selon un gradient à partir de la partie externe de la matière blanche de la moelle vers une zone plus profonde. En revanche, l'activation microgliale a lieu dans tout le parenchyme puis se concentre dans les plaques. La maturation des monocytes en cellules dendritiques (mo-DC) se produit au sein des plaques. L'apparition des mo-DCs doublement marquées (YEFP/EGFP) caractérise la stabilisation de la dégradation des axones et des signes cliniques et la prédominance de la microglie qui phagocyte les débris d'axones. Nous avons ensuite observé que le blocage du facteur VEGF par immunothérapie (injection de Bevacizumab) dès le début des signes cliniques, résulte en une amélioration de ces signes qui peut s'expliquer par une modification de la réponse immunitaire innée.

— Production scientifique et valorisation

► Caravagna C, El Waly B, Rougon G, Debarbieux F. Single-Cell RNA Sequencing of parenchyma immune cells throughout mouse EAE reveals complex cell-state changes following VEGF blockade (*soumis*).

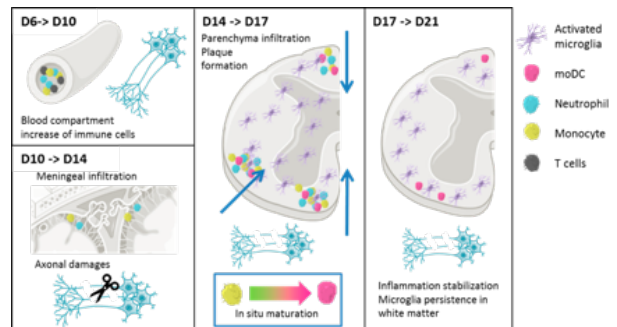


Schéma de la dynamique des événements de recrutements cellulaires au cours de la maladie. Crédit : © DR.

- Jaouen A, Caravagna C, Desplat-Jégo S, Fenrich K, Luche H, Rougon G, Malissen M & Debarbieux F. Dynamics and distribution of microglia and myeloid cells infiltrating the central nervous system during MOG-induced EAE *Scientific Reports*. 2018 23;8(1):5146. doi: 10.1038.
- Rougon G., Brasselet S., Debarbieux F. Advances in intravital optical imaging of the central nervous system in rodents. *Brain Plasticity* 2017 Dec 21;2(1):31-48. doi: 10.3233. Review.
- Chrobok NL, Jaouen A, Fenrich KK, Bol JG, Wilhelmus MM, Drukarch B, Debarbieux F, van Dam AM (2016) Monocyte behaviour and tissue transglutaminase expression during EAE in transgenic CX3CR1(gfp/gfp) mice. *Amino Acids*. 2016Nov9.
- Caravagna C., Jaouen A., Debarbieux F., Rougon G.(2016) Innovative mouse models for Imaging neuroinflammation *Current Protocols in Mouse Biology* 6(2):131-47. doi: 10.1002. Review
- Ricard C, Lamasse L, Jaouen A, Rougon G, Debarbieux F. Combination of an optical parametric oscillator and quantum-dots 655 to improve imaging depth of vasculature by intravital multicolor two-photon microscopy. *Biomed Opt Express*. 2016 May 24;7(6):2362-72. doi: 10.1364.

Les résultats ont donné lieu à des communications invitées dans des congrès (Bordeaux 2017, San Diego 2018) des conférences annuelles pour des associations de patients, la formation d'étudiants (Thèse Jaouen) et l'obtention de nouveaux contrats : bourse retour Marie-Curie (C. Caravagna), la mise au point d'une approche en imagerie permettant d'observer la dynamique de la myéline (ANR MyDeepCARS) et la participation au projet FET Neurofibre (ECC 2017-2022) (F. Debarbieux).

Le projet NeuroInflamDYN est un projet collaboratif de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2016 et a duré 57 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 435 000 €.

Partenaires : Inserm UMS12, CIML, Université de la Méditerranée Aix-Marseille 2, AMU-INT Institut de Neurosciences de la Timone.

COORDINATEUR

Franck Debarbieux : franck.debarbieux@univ-amu.fr
Université d'Aix-Marseille INT UMR7289
<http://www.int.univ-amu.fr/spip.php?page=equipe>



Maladies à Prions

PrPC&PDK1

p. 110

UNMASKINGBLOODPRIONS

p. 111

PrPC&PDK1

L'axe de signalisation PrP^C-PDK1-TACE au carrefour des maladies neurodégénératives amyloïdes

— Rappel des objectifs

PrPC&PDK1 : vers une cible thérapeutique commune à plusieurs maladies neurodégénératives amyloïdes ?

En 2013, nous avons identifié une cascade de signalisation pathologique commune aux maladies à prions et d'Alzheimer. Les prions pathogènes (PrP^{Sc}) ou les peptides Ab de l'Alzheimer suractivent une kinase, PDK1, qui vient neutraliser une enzyme protectrice, l' α -sécrétase TACE. TACE ne peut plus cliver (i) la protéine prion cellulaire PrP^C non pathologique, favorisant sa conversion en PrP^{Sc} dans les maladies à prions, (ii) la protéine précurseur des peptides amyloïdes APP, amplifiant la production des peptides Ab dans la MH, et (iii) les récepteurs au TNF α , qui s'accumulent à la surface des neurones malades les rendant hypervulnérables au stress inflammatoire. Inhiber PDK1 contre la toxicité de PrP^{Sc} et Ab, réduit les déficits moteurs et prolonge la survie des souris infectées par les prions, et corrige les défauts cognitifs et de mémoire des souris « Alzheimer ». Confortés par la mesure d'une augmentation d'activité PDK1 dans le cerveau post-mortem des patients Alzheimer, nos travaux posent PDK1 comme une cible thérapeutique face aux maladies à prions et d'Alzheimer.

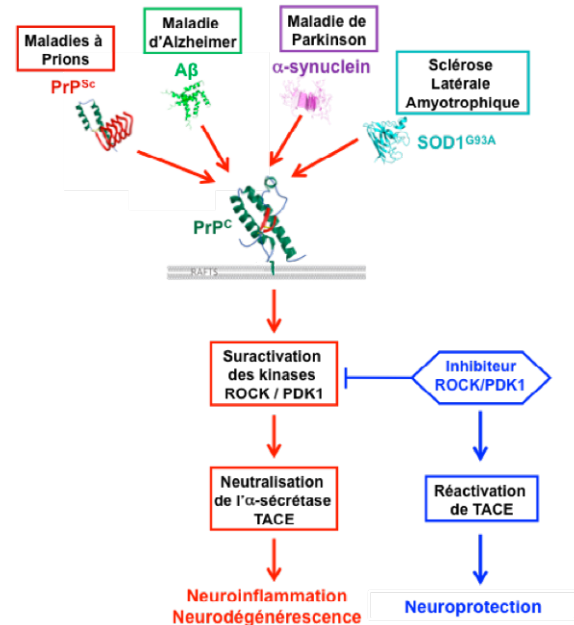
L'objectif du projet PrPC&PDK1 est de cerner si la dérégulation de l'axe de signalisation PDK1-TACE constitue un trait de neurodégénérescence partagé par d'autres maladies neurodégénératives amyloïdes.

— Résultats majeurs

Le projet PrPC&PDK1 montre que la dérégulation de l'axe PDK1-TACE dans les maladies à prions ou d'Alzheimer dépend de l'interaction de PrP^{Sc} ou d'Ab avec la PrP^C à la surface des neurones et d'une déviation de la fonction de signalisation protectrice de la PrP^C. Nos travaux identifient la kinase ROCK comme un régulateur positif de PDK1 qui contribue à la suractivation de PDK1 dans un contexte neurodégénératif.

Le projet PrPC&PDK1 révèle que la déviation de l'axe PDK1-TACE par PrP^{Sc} provoque aussi l'accumulation des peptides Ab dans les maladies à prions. Les peptides Ab n'impactent ni la réplication ni l'infectiosité de PrP^{Sc}. Ils peuvent toutefois former des plaques amyloïdes dans le cerveau des souris infectées par les prions si et seulement si un « noyau » constitué de trimères d'Ab est co-transmis avec la PrP^{Sc}. Le dépôt d'Ab corrèle avec une mort accélérée de ces souris.

La PrP^C émerge aujourd'hui comme un senseur membranaire capable de reconnaître différentes protéines amyloïdes. Les travaux en cours visent à montrer que l' α -synucléine pathologique (maladie de Parkinson) ou des formes mutantes de la superoxyde dismutase 1 (SLA) interagissent avec la PrP^C et modifient sa fonction de signalisation menant à l'activation de la pathocascade PDK1-TACE. Cette partie du projet pourrait permettre de définir PDK1 comme une cible thérapeutique à spectre large pour lutter contre plusieurs maladies neurodégénératives non-apparentées sur le plan clinique, mais convergentes sur le plan mécanistique.



Projet PrPC&PDK1: L'axe de signalisation PrP^C-PDK1-TACE au carrefour des maladies neurodégénératives amyloïdes.

Crédit : © Mathéa Pietri (MCU Université de Paris) et Benoit Schneider (DR CNRS).

— Production scientifique et valorisation

- ▶ Ezpeleta J *et al.*, (2019) Nat Commun. 10(1):3442.
- ▶ Ezpeleta J *et al.*, (2017) Sci Rep. 7(1):7671.
- ▶ Alleaume-Butaux A *et al.*, (2015) PLoS Pathog. 11(8):e1005073.

Les résultats ont donné lieu à des communications dans des congrès sur les maladies neurodégénératives amyloïdes (Alzheimer/Parkinson 2015, France; 2nd Zing Conference 2015, Mexique; Neuropathologie 2016, France; Prion2017, Ecosse; CoEN 2017, France; Prion2019, Canada; 8th and 9th Iberian Congress on Prion diseases, 2018 Espagne, 2019 Portugal).

Le projet PrPC&PDK1 est un projet collaboratif international de recherche fondamentale. Le projet a démarré en décembre 2014 et a duré 60 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR à hauteur de 355 640 €.

Partenaires : McGill University (Canada), VIB Center for the Biology of Disease (Belgique), DZNE Tübingen (Allemagne), University of Sherbrooke (Canada), University of Oslo (Norvège).

COORDINATEUR

Benoit Schneider : benoit.schneider@parisdescartes.fr
University Paris Descartes - Inserm UMR-S 1124
<https://t3s-1124.biomedicale.parisdescartes.fr/nos-equipes-de-recherche/equipe-5/>

UNMASKINGBLOODPRIONS

Développement de nouveaux outils pour l'identification de prions cryptiques dans le sang

— Rappel des objectifs

En dépit d'une large exposition de la population du Royaume Uni, et dans une moindre mesure de la population française, à l'agent de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB, maladie dite de la « vache folle », pour laquelle plus de 2 millions de bovins infectés non diagnostiqués seraient entrés dans la chaîne alimentaire humaine) le nombre de cas de transmission à l'homme (v-MCJ - variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob) n'a connu qu'un pic limité dans les années 2000 et un nombre total de 206 cas humains observés dans ces 2 pays les plus touchés au monde. Cependant avec des périodes d'incubation silencieuses de plusieurs dizaines d'années chez l'homme, de nombreuses interrogations subsistent notamment pour les risques de transmission secondaires au travers des actes médico-chirurgicaux dont la transfusion sanguine. Ainsi, à titre de précaution, les citoyens britanniques et français sont exclus du don du sang aux Etats-Unis et au Canada.

Dans ce contexte la réévaluation récente du nombre de porteurs asymptomatiques, par ailleurs donneurs de sang potentiels, au Royaume-Uni à près de 1/2000 (sur la base de la positivité de pièces d'appendicectomie pour la protéine du prion, ou PrP, anormale), soit près de 200 fois plus que le nombre de cas cliniques observés, remet en cause la maîtrise apparente de l'impact de l'ESB sur la santé humaine. Cette situation épidémiologique, possiblement liée à une exposition hétérogène des consommateurs, pose les questions de l'évolution clinique potentielle de ces porteurs asymptomatiques (risque primaire d'exposition orale à de faibles doses) et du risque infectieux qu'ils représentent en termes de transmissions secondaires.

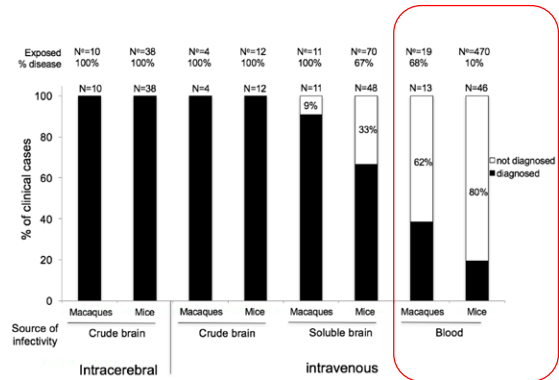
— Résultats majeurs

Dans le cadre d'un projet précédent dédié à ces questions et financé par l'ANR (projet LowPrion), nous avons observé chez des primates exposés expérimentalement à ces mêmes agents l'apparition, après de très longues périodes d'incubation, de maladies neurologiques fatales transmissibles par transfusion sanguine qui ne seraient pas identifiées comme maladies à prions sur la base des critères actuels de diagnostic (notamment absence apparente de l'accumulation de PrP anormale). Ces formes atypiques correspondent à une atteinte ciblée de la moelle épinière.

Dans le cadre du présent projet, de nouvelles techniques de démasquage d'épitope nous ont permis d'augmenter la sensibilité de détection des maladies à prions classiques et également de mettre en évidence de nouvelles formes de PrP anormale, jamais observées avec les techniques classiques les plus sensibles, dans les organes périphériques des individus exposés à l'agent de l'ESB y compris ceux développant ces maladies atypiques. La distribution tissulaire et cellulaire de ces nouvelles formes suggère une physiopathologie périphérique différente de celle classiquement décrite.

L'analyse extensive des organes périphériques d'une trentaine de macaques infectés a souligné une hétérogénéité importante, intra- et inter-individuelle, de la distribution des prions détectables par les différentes techniques utilisées. Le risque de transmission secondaire de la « forme classique » de vMCJ par transfusion serait proportionnel à l'accumulation périphérique de PrP anormale classiquement détectée, et principalement concentré sur la période clinique du donneur. En revanche, le risque de transmission des formes atypiques semble en être décorrélé, soit un risque aujourd'hui non quantifié de transmission

Une majorité des animaux transfusés développent une maladie fatale non diagnostiquée comme liée aux prions sur la base des tests classiques



Crédit : © DR.

secondaire à partir de donneurs pendant tout ou partie de la période d'incubation silencieuse de la maladie et plus généralement à partir de porteurs asymptomatiques.

Nous pensons ainsi que le champ des maladies à prions chez l'homme dépasse très largement celui délimité par les techniques classiques de détection de la PrP anormale et qu'il est impératif d'explorer de nouvelles pistes technologiques susceptibles d'aboutir à une évaluation rationnelle du risque lié aux porteurs asymptomatiques et à des tests utilisables à grande échelle s'il s'avère nécessaire de prévenir le risque de contamination secondaire notamment par transfusion.

— Production scientifique et valorisation

Ces travaux ont fait l'objet de 3 publications scientifiques et de 7 communications au cours de congrès scientifiques internationaux. Sur la base de ces observations, la Direction Générale de la Santé a mis en place une surveillance neurologique des patients atteints de trouble de la coagulation en tant que population à risque.

- Comoy E, Mikol J, Jaffré N et al. (2017) Experimental transfusion of variant CJD-infected blood reveals novel class of prion disorder in mice and macaque. *Nat. Comm.* 8:1268. Doi:10.1038/s41467-017-01347-01
- Levavasseur E, Biacabe AG, Comoy E et al. (2017) Detection and partial discrimination of atypical and classical bovine spongiform encephalopathies in cattle and primates using real-time quaking-induced conversion assay. *PLoS One.* 12(2):e0172428.
- Huor A, Douet JY, Lacroux C et al (2017) Infectivity in bone marrow from sporadic CJD patients. *J Pathol.* 243 : 273-278.

Le projet UNMASKINGBLOODPRIONS est un projet collaboratif de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2016 et a duré 45 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 655 720 €.

Partenaires : INSERM La Pitié-Salpêtrière (Paris), Les Hospices civils de Lyon, EFS-TransDiag (Montpellier), UMR 1225 IHAP INRA-Ecole Vétérinaire (Toulouse).

COORDINATEUR

Emmanuel Comoy : emmanuel.comoy@cea.fr
CEA Service d'Etude des Prions et de Infections Atypiques (Fontenay-aux-Roses)



Innovations technologiques

MicroDeg

p. 113

Neuroscreen

p. 114

MicroDeg

Neuronal Networks in microfluidic chips for the study of propagative neuronal disorders

— Rappel des objectifs

Les syndromes neurodégénératifs comme la maladie d'Alzheimer, les démences à corps de Lewis, ou la sclérose amyotrophique latérale, partagent le point commun de provoquer l'agrégation progressive de protéines neuronales spécifiques de chaque pathologie et d'enclencher des phénomènes de dégénérescence axonale et synaptique précoce qui aboutissent à la déstructuration des réseaux de neurones. Les données récentes de la littérature indiquent que les stigmates neuropathologiques sont initiés dans des zones précises du cerveau et progressent le long des voies nerveuses dans le cerveau des patients atteints, chaque pathologie semblant suivre un patron de dissémination non aléatoire et spécifique. Ceci suggère que certaines structures cérébrales puissent agir comme des « épices » dégénératifs irradiant la pathologie vers des zones distantes selon des mécanismes cellulaires et moléculaires qui restent à décrypter. Parmi les hypothèses permettant d'expliquer ce type de phénomène, la dissémination des agrégats de protéines selon un mode « prion like » quasi infectieux semblait séduisante. Dans ce scénario s'apparentant aux maladies à prions, une graine d'agrégat protéique se dissémine d'un neurone à l'autre et provoque son auto-amplification en recrutant un conformère de la même protéine produite par le neurone. Au lancement du projet MicroDeg, quelques observations réalisées sur des modèles animaux vulnérabilisés semblaient étayer cette hypothèse. Cependant tant les modalités cellulaires et moléculaires de la propagation « Prion Like » le long des réseaux de neurones que la validité de ce scénario chez l'humain demeurait inconnue.

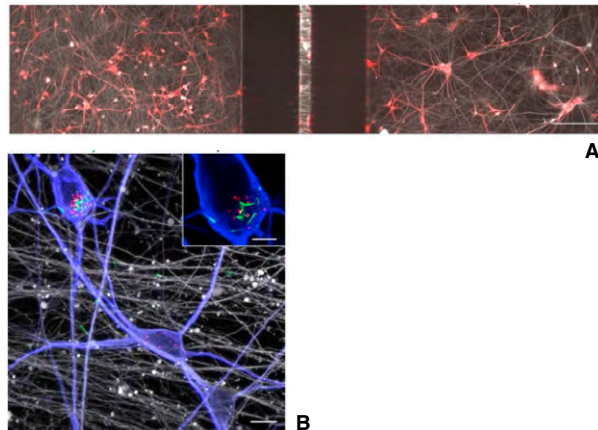
Dans ce contexte, l'objectif du projet MicroDeg était donc de développer de nouveaux modèles expérimentaux permettant d'aborder spécifiquement ces questions. Ainsi, le premier objectif du projet MicroDeg était de développer des approches technologiques de type « brain on chip » et permettant de reconstruire des réseaux de neurones sur puce, d'en caractériser les propriétés neurophysiologiques et d'entreprendre à l'aide des technologies de différenciation des cellules souches pluripotentes induites la reconstruction de modèles de voies neuroanatomiques humaines. Le second objectif de MicroDeg était de valider l'hypothèse Prion like au niveau humain et des modalités de la propagation des agrégats de Synucléine, une protéine impliquée dans la maladie de Parkinson, dans ces micro-modèles de réseaux de neurones.

— Résultats majeurs

Les principaux résultats obtenus sont de 3 ordres.

1) Création de nouvelles plateformes de cultures microfluidiques permettant la reconstruction de réseaux de neurones complètement orientés. Les systèmes de cultures microfluidiques permettent de manipuler les cellules dans des micro-environnements contrôlés. La reconstruction de réseaux de neurones dans ce type d'environnement requiert de contrôler la direction de la croissance des axones pour qu'un neurone en connecte un suivant sans que l'inverse ne soit vrai. En développant des techniques de micro-patterning et de microfabrication originale le projet MicroDeg a permis de mettre au point des micro-dispositifs qui permettent la connexion 100% orientée des neurones entre eux.

2) Reconstruction de voies neuroanatomiques humaines sur puce. À l'aide de ces dispositifs, des réseaux de neurones de rongeurs mais aussi dérivés de cellules souches pluripotentes induites humaines ont été reconstruits et leur propriété



A) Réseaux de neurones humains reconstruit dans un dispositif de culture microfluidique. Deux populations neuronales sont ensemencées dans des chambres de cultures interconnectées par des microstructures (zones noires) ne laissant passer les axones que dans une direction unique. **B) Propagation « prion-like » de la synucléine dans des réseaux de neurones humains.** Neurones corticaux humains exposés indirectement à des agrégats recombinants de synucléine (rouge) et présentant des signes de nucléation de la synucléine neuronale (vert). Crédit : © Simona Griboudo, Stem cell Rep.

neurophysiologique caractérisés. Les réseaux de neurones ainsi fabriqués présentent une connectivité structurale et fonctionnelle permettant d'étudier et de manipuler le dialogue entre des neurones de sous-types différents.

3) Démonstration du caractère Prion Like de la synucléine dans les réseaux de neurones humains. Les modèles de réseaux de neurones humains ont été empoisonnés localement par des agrégats de synucléine. Ceci a permis de montrer que les graines de synucléine se dispersent rapidement d'un neurone vers l'autre et provoquent une nucléation sur un mode prion dans les neurones humains, en provoquant par ailleurs des altérations mitochondriales et des rythmes neuronaux.

— Production scientifique et valorisation

Les résultats obtenus par les membres du consortium international ont donné lieu à 30 publications scientifiques dans des journaux à comité de lecture et une vingtaine de communications sous forme de présentation orale ou poster. Un brevet portant sur la conception de nouveaux microsystèmes permettant la reconstruction de réseaux de neurones orientés a par ailleurs été déposé.

Le projet MicroDeg est un projet collaboratif international de recherche fondamentale. Le projet a commencé en novembre 2013 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 654 966 €.

Partenaires : Laboratoire maladie Neurodégénératives, ISTEM (Evry), Laboratoire Macromolécules et microsystèmes en Biologie, Institut Curie (Paris), CIC bioGUNE (Espagne), Institute of Complex Systems, FZ Jülich (Allemagne).

COORDINATEUR

Jean-Michel Peyrin : jean-michel.peyrin@upmc.fr
Laboratoire Neurosciences Paris Seine UMR8246, Sorbonne Université Paris

Neuroscreen

Microfluidic platform for cell culture, *in vitro* construction of complex neuronal networks and the screening of neuroprotective molecules

— Rappel des objectifs

Des puces microfluidiques à l'assaut des maladies neuro-dégénératives.

Avec le vieillissement de la population, la maladie d'Alzheimer et les autres maladies neurodégénératives deviennent des enjeux majeurs de santé publique. La recherche pharmaceutique et clinique dans ce domaine progresse à un rythme relativement lent, et ce rythme est notamment lié aux limites des modèles expérimentaux actuels.

Des systèmes de cultures neuronales utilisés en routine dans les laboratoires académiques et les industries pharmaceutiques ne permettent que l'étude (ou le criblage) des mécanismes à l'échelle du neurone unique et ne respectent absolument pas la connectique cérébrale et l'organisation en voies neuro-anatomiques orientées, qui sous-tendent le fonctionnement normal du cerveau. L'objectif de ce projet était de recréer à l'aide de méthodologies alliant micro-technologies et culture cellulaire, des modèles intégrés de réseaux de neurones orientés permettant d'étudier les phénomènes neurodégénératifs et le potentiel de molécules pharmaceutiques. Ce projet nous a permis de faire fructifier nos résultats de recherche fondamentale et de proposer une plateforme microfluidique conviviale (ou facile à utiliser) qui permet l'évaluation de molécules à visées thérapeutiques dans un contexte physiopathologique intégré et complexe.

Plateforme microfluidique de neurones en réseaux permettant l'évaluation de molécules à visées thérapeutiques.

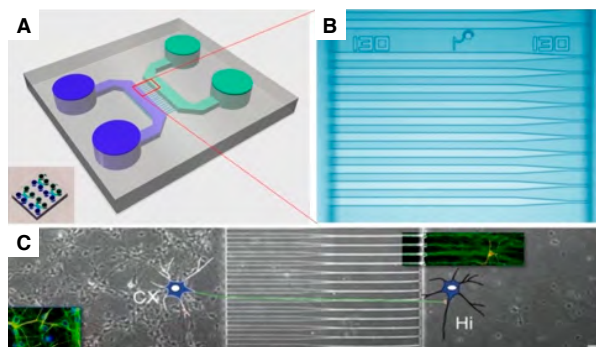
En combinant des preuves de concepts que nous avons déjà acquises dans le domaine de la microfluidique et des neurosciences, nous disposons actuellement d'une plateforme expérimentale permettant l'étude sérialisée, à l'échelle des réseaux de neurones, des événements précoces observés au cours de la maladie d'Alzheimer mais également d'autres maladies neuro-dégénératives. Au cours de ce projet nous avons optimisé les puces microfluidiques au niveau de leur layout (capacité de filtration et guidage axonales) et de leur fabrication (reproductibilité, fiabilité). En conséquence nous avons pu augmenter la capacité de production des puces microfluidiques permettant de mener à bien des études précliniques. En parallèle nous avons développé différents « read-outs », qui nous permettent de suivre l'effet d'un stress neuronal mais également d'un agent synapto- et axo-protecteur en temps réel et sur des neurones fixés.

— Résultats majeurs

L'optimisation de cette plateforme microfluidique nous a permis d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques pour contrer la dégénérescence axonale et synaptique dans des modèles de syndromes neurodégénératifs chroniques tels que les maladies d'Alzheimer et de Parkinson, mais également dans des modèles d'ischémies associées à des syndromes neurologiques aigus. La validation de cette plateforme comme outil de criblage de molécule à visée thérapeutique a permis la création de la startup MicroBrain Biotech qui a pris en charge la transition d'un outil de laboratoire vers des produits industriels.

— Production scientifique et valorisation

► Deleglise B, Lassus B, Soubeyre V, Doulazmi M, Brugg B, Vanhoutte P, Peyrin JM. Dysregulated Neurotransmission induces Trans-synaptic degeneration in reconstructed Neuronal Networks. *Sci Rep*. 2018 Aug 2;8(1):11596.



Les diodes microfluidiques et leur application pour modéliser des maladies neurodégénératives. A) Puce microfluidique comportant quatre dispositifs. Chaque dispositif possède deux chambres de culture reliées par une série de micro-canaux. B) Les micro-canaux en forme d'entonnoir entre les deux chambres ne sont pas visibles à l'œil nu et laissent passer les axones uniquement dans un sens. C) Culture d'un réseau cortico (CX) - Hippocampique (HI) vert : axones, bleu : somas. Les axones corticaux (vert) sortent des micro-canaux et projettent sur les dendrites (en bleu) des neurones hippocampiques et forment des connexions synaptiques. Crédit : © DR.

- Vaur P, Brugg B, Mericskay M, Li Z, Schmidt MS, Vivien D, Orset C, Jacotot E, Brenner C, Duplus E. Nicotinamide riboside, a form of vitamin B3, protects against excitotoxicity-induced axonal degeneration. *FASEB J*. 2017 Dec;31(12):5440-5452.
- Deleglise B, Magnifico S, Duplus E, Vaur P, Soubeyre V, Belle M, Vignes M, Viovy JL, Jacotot E, Peyrin JM, Brugg B. β -amyloid induces a dying-back process and remote trans-synaptic alterations in a microfluidic-based reconstructed neuronal network. *Acta Neuropathol. Commun*. 2014 Sep 25;2:145.
- Deleglise B, Lassus B, Soubeyre V, Alleaume-Butaux A, Hjorth JJ, Vignes M, Schneider B, Brugg B, Viovy JL, Peyrin JM. Synapto-protective drugs evaluation in reconstructed neuronal network. *PLoS One*. 2013 Aug 16;8(8):e71103.

Cette plateforme microfluidique, modélisant un certain nombre de conditions pathologiques associées à des syndromes neurodégénératifs chroniques, a donné lieu à dix publications dans des revues internationales et trois brevets. Le projet a en outre permis la création de l'entreprise MicroBrain Biotech incubée au sein de l'IPGG, à Agoranove et à la Station F. L'institut Curie, le CNRS et l'UPMC ont concédé (2015) un contrat de licence exclusive à la société MicroBrainBiotech pour le brevet PCT/FR2009/001198 (WO2010040920A2) intitulé "DEVICE FOR CELL CULTURE".

Le projet Neuroscreen est un projet collaboratif public-privé se situant à la frontière entre la recherche fondamentale et industrielle (RPIB). Le projet a commencé en février 2012 et a duré 54 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 815 000 €.

Partenaires : UMR 168 Institut Curie, société Fluigent.

COORDINATEUR

Bernard Brugg : bernard.brugg@upmc.fr
CNRS UMR 8256 - Adaptation Biologique et Vieillescence
www.microbrainbiotech.com

Les données et analyses présentées dans ce cahier sont issues du Bilan interne ANR sur les Maladies Neurodégénératives 2010-2018, réalisé en 2019 par Morgane Bourdonnais, Kiri Couchman, Hayet Pigeon, Geneviève Rougon, Catherine Heurteaux et Sheyla Mejia-Gervacio.

Conception et coordination éditoriale :

Catherine Heurteaux, Morgane Bourdonnais, Sheyla Mejia Gervacio, Hayet Pigeon et Kiri Couchman en collaboration avec la Direction de l'Information et de la Communication

Conception et réalisation graphique :

www.ba-ba.fr

Crédits photos :

Adobe Stock

« Gratuit ne peut être vendu »

anr[©]

Nous suivre sur :  @agencerecherche  ANR  ANR

www.anr.fr - www.anr.fr/en