

Des formes sécrétées du précurseur de la protéine β -amyloïde impliqué dans la maladie d'Alzheimer améliorent la mémoire des souris

La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie neurodégénérative qui se caractérise par l'apparition de troubles de la mémoire suivis de divers troubles cognitifs conduisant à une démence sénile [1]. Le diagnostic clinique de cette maladie ne peut être confirmé de manière définitive qu'après autopsie et examen du cerveau qui présente des lésions caractéristiques. En effet, les analyses histologiques *post-mortem* doivent révéler la présence simultanée de plaques séniles et d'une dégénérescence neurofibrillaire [2]. Les plaques séniles sont des lésions extracellulaires disséminées dans le parenchyme cérébral, formées d'amas protéiques insolubles entourés de prolongements nerveux anormaux et de cellules gliales impliquées dans les processus inflammatoires. La protéine β -amyloïde ($A\beta$) semble avoir un rôle primordial dans l'apparition de ces lésions car elle est le principal constituant des plaques séniles. Par ailleurs, cette protéine présente des effets neurotoxiques sur des neurones en culture [3] et peut également provoquer des amnésies lorsqu'elle est injectée dans le cerveau chez le rat [4]. L' $A\beta$ est l'un des dérivés naturels du précurseur de la protéine β -amyloïde (APP). L'APP est une protéine codée par un gène situé sur le chromosome 21 chez l'Homme [5]. L'expression de ce gène conduit à la formation de diverses isoformes dont les principales sont les APP₇₅₁ et APP₇₇₀ exprimées dans la plupart des organes, et l'APP₆₉₅ plus spécifiquement exprimée dans le cerveau. La forme membranaire de ces protéines (mAPP) consiste en un large domaine amino-terminal extracellulaire, un domaine transmembranaire et un court domaine carboxy-termi-

nal intracellulaire (figure 1). Les mAPP peuvent être métabolisés selon deux voies mutuellement exclusives. La voie dite non-amyloïdogénique résulte d'une activité enzymatique appelée α -sécrétase qui clive le mAPP au sein de la séquence de l' $A\beta$ et conduit à la libération dans l'espace extracellulaire d'une forme sécrétée particulière de l'APP, le sAPP α ; cette voie est normalement prépondérante et ne semblait pas, jusqu'à présent, impliquée dans la pathologie de la MA car elle exclut la formation de l' $A\beta$. La voie dite amyloïdogénique conduit à la production d' $A\beta$ et

d'une forme sécrétée tronquée de l'APP, le sAPP β , résultant de deux activités enzymatiques, appelées β -sécrétase et γ -sécrétase, qui clivent le mAPP de part et d'autre de la séquence de l' $A\beta$. A l'heure actuelle, les rôles physiologiques du mAPP et de ses dérivés sécrétés, ainsi que leur implication dans la MA, demeurent obscurs. Les principales études visant à caractériser les rôles de l'APP et de ses dérivés sécrétés indiquent que ceux-ci présentent des propriétés neurotrophiques, neuroprotectrices et/ou neuromodulatrices sur des cultures cellulaires [6-8]. D'autre part, il

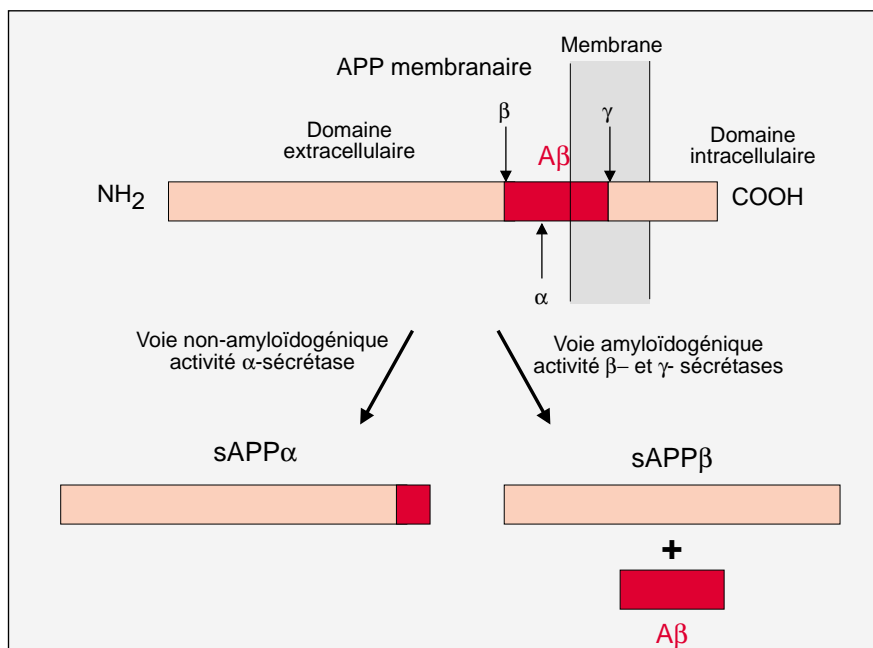


Figure 1. **Structure du précurseur de la protéine amyloïde (APP) et de ses dérivés sécrétés.** L'APP membranaire peut être sécrétée sous forme, soit de sAPP α à la suite d'une activité α -sécrétase qui clive l'APP membranaire au sein de l' $A\beta$ (voie non amyloïdogénique), soit de sAPP β et d' $A\beta$ à la suite de deux clivages de part et d'autre de la séquence de l' $A\beta$ par deux activités β -sécrétase et γ -sécrétase (voie amyloïdogénique).

semble que le mAPP pourrait avoir un rôle important au cours du développement, plus particulièrement au cours de la synaptogenèse [9]. Enfin, quelques travaux montrant des déficits mnésiques chez le rat après administration d'anticorps dirigés spécifiquement contre l'APP suggèrent que l'APP et/ou ses dérivés sécrétés pourraient avoir un rôle dans les processus mnésiques [10, 11].

Notre équipe, en collaboration avec les laboratoires Lilly d'Indianapolis (USA), s'est donc intéressée aux effets de dérivés sécrétés de l'APP sur les processus mnésiques [12]. Nous avons étudié les effets du sAPP₆₉₅ et du sAPP₇₅₁ dans diverses tâches d'apprentissage et de mémoire chez la souris. Les solutions de sAPP pour chacune de ces isoformes ont été purifiées par une équipe de recherche des laboratoires Lilly à partir du milieu de cultures de cellules exprimant des formes humaines de l'APP. Nous avons administré ces sAPP dans les ventricules cérébraux de souris soumises à une tâche de reconnaissance d'objet, de discrimination visuelle ou un apprentissage de type skinnérien consistant à appuyer sur un levier pour recevoir une récompense alimentaire. Les effets des sAPP ont également été évalués chez des souris traitées simultanément par une injection sous-cutanée de scopolamine. La scopolamine perturbe les performances de mémoire, un effet attribué au blocage de l'action d'un neurotransmetteur, l'acétylcholine, impliqué dans certains mécanismes neurochimiques mis en jeu dans les processus de mémorisation [13].

La tâche de reconnaissance d'objet est fondée sur la tendance naturelle des rongeurs à explorer un objet nouveau plutôt qu'un objet familier [14, 15]. Lors d'une première séance, les souris sont mises en présence d'un objet (une bille par exemple) qu'elles peuvent explorer à loisir pendant 10 minutes. Lors d'une seconde séance, les souris sont mises en présence de deux objets, l'objet familier (la bille) et un nouvel objet (un dé par exemple). La mesure du temps d'exploration de l'objet nouveau par rapport à celui de l'objet familier permet d'évaluer les perfor-

mances de reconnaissance d'objet de la souris. Les performances sont évaluées en terme d'indice de reconnaissance qui représente le pourcentage de temps d'exploration de l'objet nouveau par rapport au temps total d'exploration des objets. Cette tâche fait appel à la mémoire à court terme car les souris, dans des conditions normales, ne parviennent plus à différencier les deux objets lorsque le délai entre les deux séances excède 6 h. Or, des souris traitées par du sAPP₇₅₁ ou du sAPP₆₉₅ avant la première séance parviennent encore à différencier l'objet familier de l'objet

nouveau 24 h plus tard (figure 2). Lorsque le délai entre les deux séances est raccourci à 3 h, les souris témoins différencient parfaitement l'objet nouveau de l'objet familier, alors que celles traitées par la scopolamine explorent autant les deux objets. L'administration de sAPP rétablit complètement les performances de reconnaissance des souris traitées par la scopolamine. Ainsi, les sAPP bloquent les effets amnésiants de la scopolamine et prolongent l'aptitude des souris à reconnaître un objet familier dans cette tâche de mémoire à court terme.

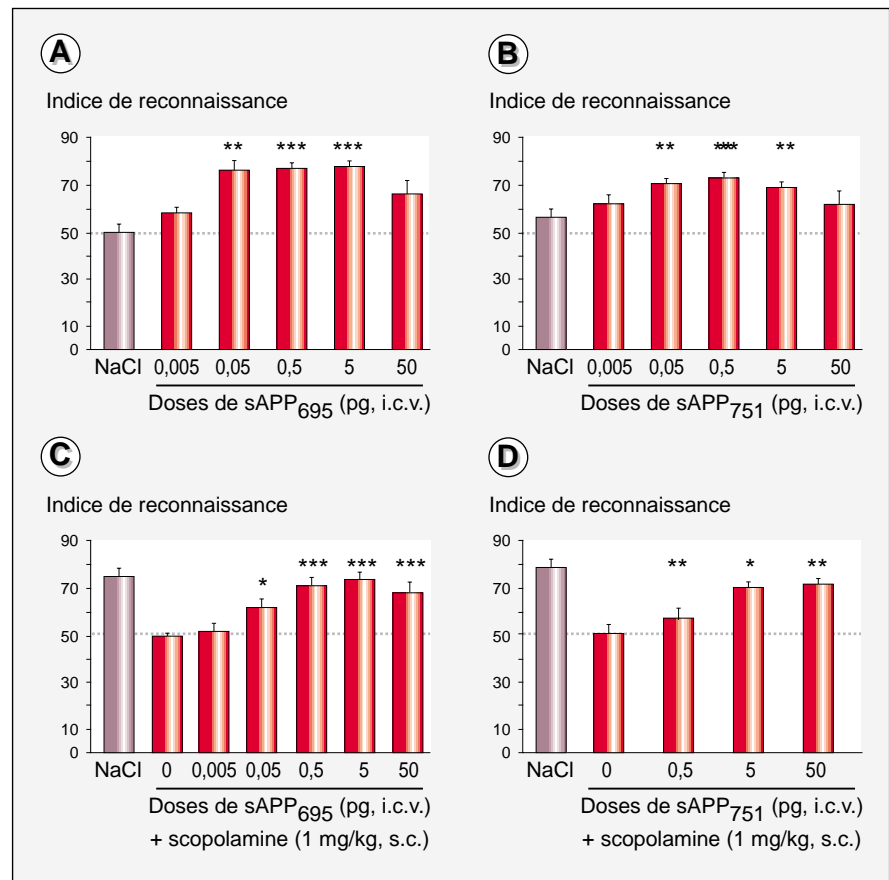


Figure 2. **Effets facilitateurs du sAPP₆₉₅ et du sAPP₇₅₁ sur les performances de reconnaissance d'objet chez la souris.** Les souris ayant reçu une injection de sAPP dans le ventricule latéral peuvent différencier un nouvel objet d'un objet familier après un délai de 24 h alors que les souris ayant reçu une injection de solution saline (souris témoins) ne différencient plus les objets à ce délai (A, B). Les souris ayant reçu conjointement des injections de sAPP et de scopolamine présentent des performances de reconnaissance d'objet comparables à celles des souris témoins après un délai de 3 h, alors que les souris traitées par la scopolamine ne différencient pas les deux objets à ce délai (C, D) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ contre NaCl. i.c.v. = intracérébro-ventriculaire.

Dans la tâche de discrimination visuelle, les souris sont entraînées pendant 3 jours à rejoindre l'extrémité d'une allée pour y trouver une récompense alimentaire. Au cours de leur séance quotidienne, elles parcourent 6 fois une allée noire et 6 fois une allée blanche, mais pour une souris donnée seule une allée (noire par exemple) est récompensée. L'apprentissage de cette tâche se caractérise par une diminution progressive du temps de parcours dans l'allée récompensée par rapport à celui dans l'allée non récompensée au cours des trois jours d'entraînement. Les souris font donc appel à leur mémoire à long terme pour améliorer leurs performances d'un jour à l'autre. L'administration du sAPP₇₅₁ immédiatement après la première séance accélère l'apprentissage lors des deux jours suivants. Les souris traitées par de la scopolamine ne présentent aucun signe d'apprentissage sur les trois jours, alors que celles qui ont reçu conjointement du sAPP₇₅₁ démontrent une progression tout à fait normale de leurs performances. Le sAPP semble donc également faciliter les processus impliqués dans la formation de la mémoire à long terme.

Les effets du sAPP₇₅₁ ont également été étudiés dans une tâche de type skinnérien pour laquelle les souris doivent apprendre à appuyer sur un levier pour obtenir une récompense alimentaire. La première séance est achevée dès que l'animal a effectué quinze fois un appui sur le levier suivi d'une prise alimentaire. Le lendemain, le sujet est replacé dans la cage de conditionnement et ses performances sont évaluées au cours d'une séance de 20 mn. Les souris témoins présentent une augmentation des performances entre la fin de la première séance et le début de la seconde séance. Cette amélioration spontanée des performances reflète vraisemblablement un processus de consolidation de la mémoire. En revanche, on note une stagnation des performances chez les souris traitées par la scopolamine immédiatement après la première séance. L'amélioration spontanée des performances entre les deux séances est rétablie lorsque du sAPP₇₅₁ est administré conjointement à la scopolamine. Le sAPP exerce donc un effet protecteur lorsque les processus impliqués dans la

formation de la mémoire sont perturbés par la scopolamine.

Les effets bénéfiques des sAPP sur la mémorisation apparaissent à des doses si faibles, de l'ordre de 0,5 pg par injection, qu'elles sont vraisemblablement très proches des concentrations normales de sAPP dans le cerveau. Par ailleurs, une analyse détaillée du comportement des sujets au cours des différentes épreuves montre, qu'à ces doses, les sAPP n'ont pas d'effet sur les phénomènes d'habituation à un nouvel environnement et ne perturbent pas le comportement général des souris.

L'action facilitatrice des sAPP sur les performances de mémoire des souris dans des apprentissages aussi variés et à des doses aussi faibles suggère une implication de ces protéines dans les mécanismes qui sous-tendent la formation de la mémoire. Outre l'intérêt fondamental de ces résultats dans la progression de nos connaissances sur le rôle des APP et de leurs dérivés dans les fonctions normales du cerveau, ce travail offre un nouvel axe de réflexion sur l'origine des perturbations de la mémoire chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Ces déficits sont fréquemment attribués à l'accumulation de l'A β dans le cerveau. Or, l'altération de la production de sAPP pourrait également participer aux perturbations des capacités mnésiques des patients. Certaines mutations génétiques associées à des formes héréditaires de la maladie entraînent une perturbation du métabolisme de l'APP en favorisant la voie amyloïdogénique (plus d'A β) au détriment de la voie non amyloïdogénique (moins de sAPP α). La caractérisation des modes d'action des sAPP dans les processus de mémorisation pourrait apporter un nouveau souffle dans la recherche d'un traitement adapté à cette maladie ■

RÉFÉRENCES

1. Campion D, Brice A, Hannequin D, Frebourg T, Martinez M, Agid Y, Clerget-Darpoux F. Les facteurs génétiques dans l'étiologie de la maladie d'Alzheimer. *Med Sci* 1996; 12: 723-31.
2. Tranchant C. Protéines TAU et maladies neurologiques. *Med Sci* 1997; 13: 989-97.
3. Li K. The role of β -amyloid in the development of Alzheimer's disease. *Drugs Aging* 1995; 7: 97-109.
4. McDonald MP, Dahl EE, Overmier JB. Effects of an exogenous β -amyloid peptide

on retention for spatial learning. *Behav Neural Biol* 1994; 62: 60-7.

5. Octave JN, Macq AF, Philippe B. Le précurseur du peptide amyloïde dans la maladie d'Alzheimer. *Med Sci* 1995; 11: 1251-9.
6. Furukawa K, Barger SW, Blalock EM, Mattson MP. Activation of K⁺ channels and suppression of neuronal activity by secreted β -amyloid-precursor protein. *Nature* 1996; 379: 74-8.
7. Mattson MP, Cheng B, Culwell AR, Esch FS, Lieberburg I, Rydel RE. Evidence for excitoprotective and intraneuronal calcium-regulating roles for secreted forms of the β -amyloid precursor protein. *Neuron* 1993; 10: 243-54.
8. Roch JM, Masliah E, Roch-Leveccq AC, Sundsmo MP, Otero DAC, Veinbergs I, Saitoh T. Increase in synaptic density and memory retention by a peptide representing the trophic domain of the amyloid β /A4 protein precursor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 7450-4.
9. Rossner S, Ueberham U, Schliebs R, Perez-Polo JR, Bigl V. The regulation of amyloid precursor protein metabolism by cholinergic mechanisms and neurotrophin receptor signaling. *Prog Neurobiol* 1998; 56: 541-69.
10. Doyle E, Bruce MT, Breen KC, Smith DC, Anderton B, Regan CM. Intraventricular infusions of antibodies to amyloid- β -protein-precursor impair the acquisition of a passive avoidance response in the rat. *Neurosci Lett* 1990; 115: 97-102.
11. Huber G, Martin JR, Löffler J, Moreau JL. Involvement of amyloid precursor protein in memory formation in the rat: an indirect antibody approach. *Brain Res* 1993; 603: 348-52.
12. Meziane H, Dodart JC, Mathis C, Little S, Clemens J, Paul SM, Ungerer A. Memory-enhancing effects of secreted forms of the β -amyloid precursor protein in normal and amnesic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 12683-8.
13. Fibiger HC. Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia: a review of recent evidence. *Trends Neurosci* 1991; 14: 220-3.
14. Dodart JC, Mathis C, Ungerer A. Scopolamine-induced deficits in a two-trial object recognition task in mice. *NeuroReport* 1997; 8: 1173-8.
15. Ennaceur A, Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats.1: Behavioral data. *Behav Brain Res* 1988; 31: 47-59.

Jean-Cosme Dodart

Chantal Mathis

Arielle Ungerer

Laboratoire d'éthologie et de neurobiologie, URA 1295 Cnrs, Université Louis-Pasteur, 7, rue de l'Université, 67000 Strasbourg, France.

TIRÉS À PART

J.C. Dodart.