

Des modifications post-traductionnelles de la protéine tau soluble distinguent la maladie d'Alzheimer des autres tauopathies

Nathalie Kyalu Ngoie Zola^{1, 2}, Clémence Balty²,
Didier Vertommen³, Bernard Jimmy Hanseeuw^{1, 4, 5, 6}

¹ Université catholique de Louvain (UCLouvain), Institut de neurosciences (IONS), Bruxelles, Belgique.

² Université catholique de Louvain (UCLouvain), Institut de Duve (DDUV), Phosphorylation des protéines (PHOS), Bruxelles, Belgique.

³ Université catholique de Louvain (UCLouvain), Institut de Duve (DDUV), Plateforme MASSPROT, Bruxelles, Belgique.

⁴ Cliniques universitaires Saint-Luc, département de neurologie, Bruxelles, Belgique.

⁵ Université catholique de Louvain (UCLouvain), département WELBIO, Institut de recherche WEL, Wavre, Belgique.

⁶ Harvard medical school, Massachusetts general hospital, Department of radiology, Gordon center for medical imaging, Boston, États-Unis.

bernard.hanseeuw@saintluc.uclouvain.be

➤ La protéine tau, physiologiquement présente dans les neurones, stabilise les microtubules de leur cytosquelette axonal. Cependant, il importe également de conserver une flexibilité de ce cytosquelette afin d'assurer des capacités d'apprentissage tout au long de la vie. Deux processus sont impliqués dans cet équilibre entre stabilité et flexibilité des connexions neuronales (*Figure 1A*) : 1) la proportion variable des isoformes de la protéine tau possédant trois (tau 3R) ou quatre (tau 4R) domaines se liant aux microtubules ; par exemple, le fœtus n'exprime que des isoformes tau 3R, privilégiant ainsi la flexibilité à la stabilité ; 2) la protéine tau va être modifiée, notamment phosphorylée, après sa traduction, ce qui va la détacher des microtubules ; l'équilibre entre phosphorylation et déphosphorylation de cette protéine permet de maintenir les connexions neuronales importantes, et de réorganiser celles qui le nécessitent lors d'apprentissages [1].

Les tauopathies représentent une vingtaine de maladies neurodégénératives caractérisées par l'accumulation anormale de la protéine tau sous forme d'agrégats insolubles à l'intérieur des neurones et des cellules gliales du cerveau. Ces agrégats entraînent la mort des neurones atteints, aboutissant à un déclin cognitif irréversible. Bien qu'elles aient en commun l'agrégation de la protéine tau, les tauopathies diffèrent considérablement quant aux caracté-

ristiques des agrégats (conformation, localisation tissulaire et subcellulaire, etc.) et des régions cérébrales où la maladie prend naissance [1]. En fonction des régions cérébrales touchées, les symptômes cliniques varient, et vont souvent se superposer aux stades tardifs de la maladie, ne permettant que difficilement de différencier ces tauopathies du vivant des personnes qui en sont atteintes.

Le traitement des tauopathies nécessiterait des médicaments empêchant l'agrégation de la protéine tau, ou qui induiraient l'élimination des protéines tau anormales. Or, les mécanismes biochimiques à l'origine de l'agrégation de la protéine tau ne sont toujours pas élucidés [2]. Néanmoins, ils sont vraisemblablement divers, car la conformation de la protéine dans les agrégats diffère selon la tauopathie [3]. Les médicaments ciblant un mécanisme hypothétique d'agrégation devront être administrés à des patients dont la maladie est déterminée avec précision, une condition difficile à remplir pour les tauopathies dites primaires (i.e., autres que celle de la maladie d'Alzheimer) en raison de l'absence actuelle de biomarqueurs spécifiques. Le succès des essais thérapeutiques dépend donc d'un diagnostic différentiel non-biaisé des tauopathies, à l'échelle moléculaire et *in vivo*, ce qui permettrait de classer les patients de manière appropriée et de déterminer l'efficacité biologique de chaque médicament testé.

La maladie d'Alzheimer peut être diagnostiquée *in vivo* par la détection d'une diminution de la concentration en peptide amyloïde β et d'une augmentation des concentrations en protéine tau et en protéine tau phosphorylée sur son résidu thréonine en position 181 (P-T₁₈₁) dans le liquide cébrospinal. Dans les autres tauopathies, l'augmentation des concentrations en protéine tau dans le liquide cébrospinal est variable [5], et le diagnostic final repose actuellement sur l'examen neuropathologique du cerveau *post mortem*. À l'autopsie, les tauopathies sont classifiées en fonction des isoformes de la protéine tau présentes dans les agrégats. En effet, le cerveau humain adulte présente six isoformes différentes de cette protéine, dont trois sont qualifiées de « tau-3R » et trois autres de « tau-4R » [6] selon le nombre de répétitions du domaine de liaison aux microtubules. Dans la maladie d'Alzheimer, les agrégats sont constitués d'isoformes 3R et 4R : elle est donc classifiée comme tauopathie 3R/4R. La dégénérescence cortico-basale et la paralysie supra-nucléaire progressive sont des tauopathies 4R, tandis que la maladie de Pick est une tauopathie 3R. Enfin, dans les démences fronto-temporales dues à la protéine tau, les agrégats sont le plus souvent soit 3R, soit 4R [7]. Plusieurs chercheurs ont tenté de différencier les tauopathies par la mesure des isoformes 3R et 4R de la protéine tau dans le liquide cébrospinal, mais

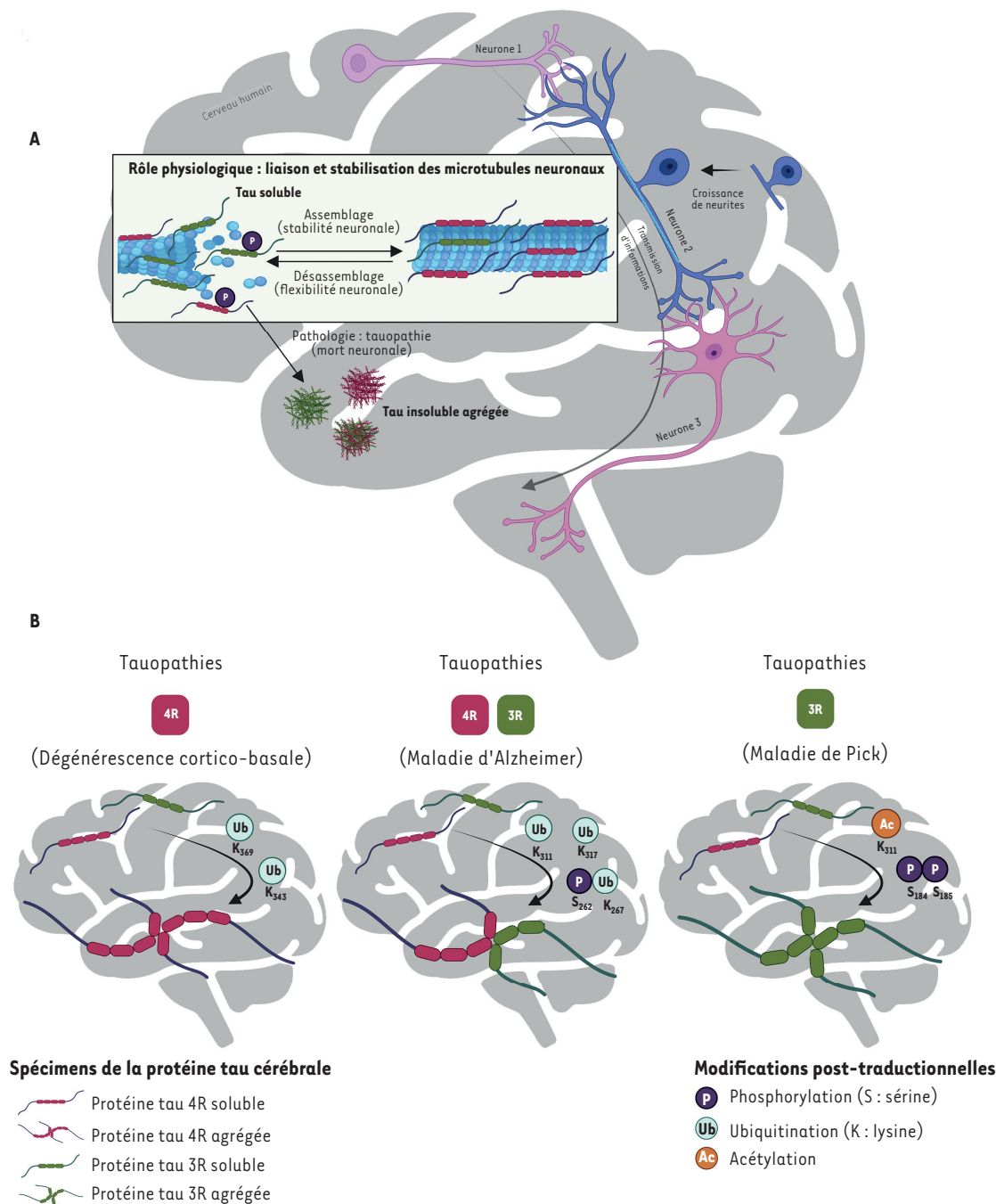


Figure 1. Modifications post-traductionnelles de la protéine tau cérébrale soluble spécifiques du type d'agrégats dans les tauopathies. **A.** La protéine tau est physiologiquement présente dans les neurones, où elle est directement impliquée dans la stabilisation et la polymérisation des microtubules, nécessaire à la croissance des neurites établissant des connexions inter-neurales pour la transmission des influx nerveux. Il existe deux groupes d'isoformes de la protéine, 4R et 3R, les isoformes 4R étant plus affines pour le microtubule, qu'elles stabilisent davantage, tandis que les isoformes 3R favorisent la flexibilité axonale. Une tauopathie implique le détachement de la protéine tau des microtubules, suivi de l'accumulation de celle-ci sous la forme d'agrégats insolubles, qui provoquent la mort des neurones. **B.** Les tauopathies sont classifiées en fonction des isoformes de la protéine tau qui s'agrègent : 4R-exclusives, mixtes 4R/3R ou 3R-exclusives. L'analyse post mortem, par spectrométrie de masse, des protéines tau solubles et agrégées après leur isolement et ségrégation à partir de cerveaux de personnes atteintes de tauopathies a montré que certaines modifications post-traductionnelles de la protéine tau soluble étaient spécifiques des tauopathies 4R (Ub-K₃₆₉ et Ub-K₃₄₃), 3R (Ac-K₃₁₁ et P-S₁₈₄+P-S₁₈₅) et mixte 3R/4R (Ub-K₂₆₇+P-S₂₆₂, Ub-K₃₁₇ et Ub-K₃₁₁), malgré des quantités d'isoformes 4R et 3R de la protéine soluble similaires dans tous les types de tauopathies.

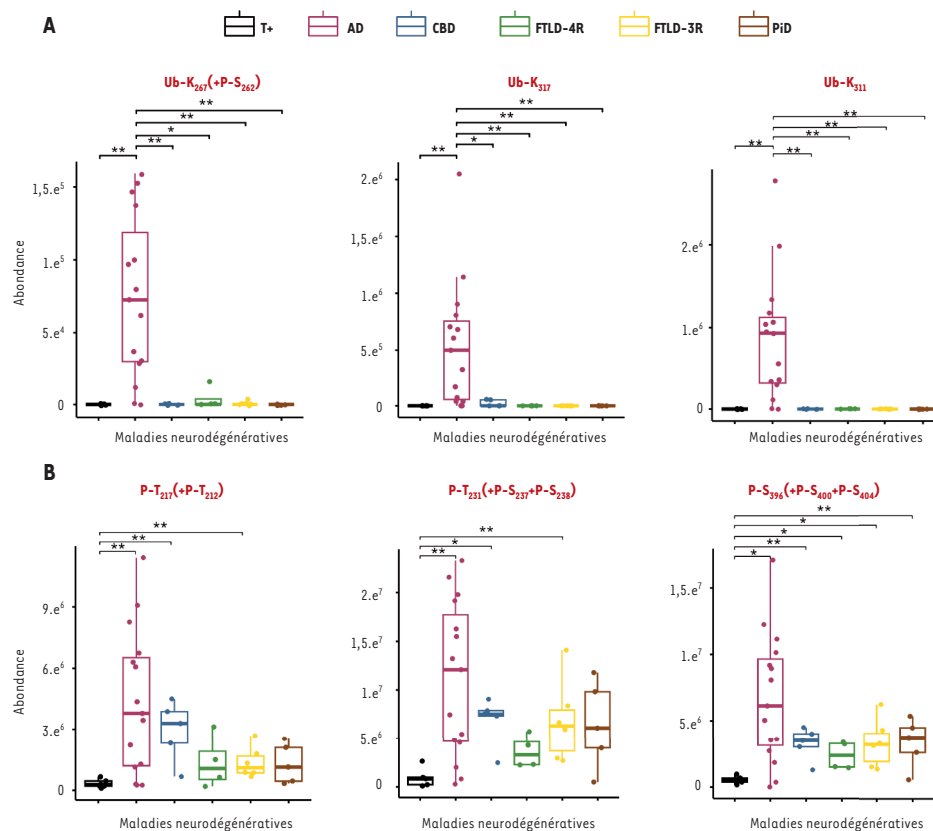


Figure 2. Biomarqueurs spécifiques et non-spécifiques de la maladie d'Alzheimer dans la protéine tau soluble. Les modifications post-traductionnelles de la protéine tau cérébrale soluble spécifiques de la maladie d'Alzheimer (A) et celles ne permettant pas de distinguer cette maladie des autres tauopathies (B) sont numérotées en fonction de l'isoforme de protéine tau ayant la séquence d'acides aminés la plus longue (2N4R). Chaque « boîte à moustaches » représente une maladie neurodégénérative. La ligne horizontale au sein de la boîte marque la valeur médiane (50^e percentile), tandis que la boîte est délimitée par les 25^e et 75^e percentiles des données (abondances des modifications post-traductionnelles correspondant à l'aire sous la courbe des chromatogrammes d'ions extraits par la technique de chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem [LC-MS/MS]). Les « moustaches » marquent les 5^e et 95^e percentiles des données, et les valeurs situées en dehors de ces limites sont considérées comme aberrantes. **A.** Les modifications post-traductionnelles Ub-K₂₆₇ (lorsqu'associée à P-S₂₆₂), Ub-K₃₁₇ et Ub-K₃₁₁ de la protéine tau soluble étaient présentes exclusivement dans le groupe « maladie d'Alzheimer » (AD) et absentes dans tous les autres groupes de tauopathies (CBD, PiD, FTLD). **B.** Les modifications post-traductionnelles de la protéine tau soluble P-T₂₁₇ (associée à P-T₂₁₂), P-T₂₃₁ (associée à P-S₂₃₈ et/ou P-S₂₃₇) et P-S₃₉₆ (associée à P-S₄₀₀ et/ou P-S₄₀₄) étaient significativement plus abondantes dans toutes les tauopathies par rapport aux témoins, mais ne permettaient pas de distinguer la maladie d'Alzheimer des autres tauopathies. Les données ont été analysées par un test de Wilcoxon non-pairé (* : P < 0,05 ; ** : P < 0,005 ; *** : P < 0,0005). Tous les tests statistiques étaient bilatéraux. S : sérine ; T : thréonine ; K : lysine ; Ub- : ubiquitination ; P- : phosphorylation ; Ac- : acétylation ; Me- : mono-méthylation ; AD : maladie d'Alzheimer (n = 15 échantillons biologiquement indépendants) ; CBD : dégénérescence cortico-basale (n = 5 échantillons biologiquement indépendants) ; PiD : maladie de Pick (n = 5 échantillons biologiquement indépendants) ; FTLD : dégénérescence du lobe fronto-temporal (n = 10 échantillons biologiquement indépendants comprenant des FTLD-4R, n = 4 et des FTLD-3R, n = 6) ; T+ : sujets témoins (n = 5 échantillons biologiquement indépendants).

cette stratégie s'est avérée inopérante [8, 9]. De plus, depuis la découverte de la protéine tau, les seuls travaux ayant mis en évidence des différences moléculaires entre les tauopathies ont été réalisés sur la protéine tau insoluble (*i.e.*, sur les agrégats) provenant

du cerveau des personnes après leur décès. En faisant l'hypothèse que ce sont les caractéristiques moléculaires de la protéine tau cérébrale soluble, et non des agrégats, qui représenteraient le mieux celles de la protéine tau dans le liquide cébrospinal, et que les

processus pathologiques conduisant à l'agrégation sont à rechercher sur la protéine soluble, nous avons analysé des échantillons de tissu cérébral prélevés *post mortem* sur des sujets témoins et des sujets atteints de tauopathie mixte 3R/4R (maladie d'Alzhei-



mer), 3R (maladie de Pick), 4R (dégénérescence cortico-basale), ou de démence fronto-temporale due à la protéine tau, en utilisant la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) pour la distinction des protéines tau soluble et insoluble. Après ségrégation des protéines solubles et insolubles, ces fractions ont été analysées par spectrométrie de masse, et nous y avons déterminé les quantités des isoformes 3R et 4R, et les modifications post-traductionnelles de la protéine tau [10].

Cette analyse a d'abord montré que la différence de quantités des isoformes 3R et 4R de la protéine tau dans les agrégats selon les tauopathies, que nous avons confirmée, n'existe pas pour la protéine soluble (Figure 1B). Pour celle-ci, il n'y avait pas de différence significative entre les tauopathies, ni avec le groupe témoin, ce qui explique l'échec des tentatives précédentes de différenciation 3R/4R des tauopathies par l'analyse du liquide cébrospinal (qui ne contient pas d'agrégats de la protéine). Nous nous sommes alors intéressés aux modifications post-traductionnelles de la protéine tau, principalement dans la fraction soluble, afin de déterminer si elles pouvaient permettre de prédire le type d'iso-

formes retrouvées dans les agrégats, et donc de caractériser la maladie. Nous avons ainsi mis en évidence l'existence de modifications post-traductionnelles de la protéine tau soluble spécifiques des tauopathies 4R (ubiquitination sur les résidus lysine 343 [Ub-K₃₄₃] et 369 [Ub-K₃₆₉]) et des tauopathies 3R (acétylation sur le résidu lysine 311 [Ac-K₃₁₁] et double-phosphorylation sur les résidus sérine 184 et 185 [P-S₁₈₄+P-S₁₈₅]). Cette analyse a également révélé qu'il existe des modifications post-traductionnelles de la protéine tau soluble spécifiques de la maladie d'Alzheimer, et qu'on ne retrouve pas dans d'autres tauopathies (Figure 2A), contrairement à d'autres modifications post-traductionnelles récemment utilisées comme biomarqueurs de cette maladie (P-T₂₁₇, P-T₂₃₁, P-S₃₉₆), qui permettent effectivement de distinguer les personnes atteintes de la maladie des personnes qui ne le sont pas, mais pas des personnes atteintes d'autres tauopathies (Figure 2B). Toutes ces modifications post-traductionnelles de la protéine tau nouvellement identifiées constituent donc autant de marqueurs moléculaires à analyser dans le liquide cébrospinal des patients pour un diagnostic différentiel *in vivo* des tauopathies, incluant la maladie d'Alzheimer. ♦

Specific modifications of the soluble tau protein distinguish Alzheimer's disease from other tauopathies

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Arendt T, Stieler JT, Holzer M. Tau and tauopathies. *Brain Res Bull* 2016 ; 126 : 238-92.
2. Seidler PM, Boyer DR, Rodriguez JA, et al. Structure-based inhibitors of tau aggregation. *Nat Chem* 2018 ; 10 : 170-6.
3. Shi Y, Zhang W, Yang Y, et al. Structure-based classification of tauopathies. *Nature* 2021 ; 598 : 359-63.
4. Jack CR, Jr., Bennett DA, Blennow K, et al. NIA-AA Research framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2018 ; 14 : 535-62.
5. Skillback T, Farahmand BY, Rosen C, et al. Cerebrospinal fluid tau and amyloid-β1-42 in patients with dementia. *Brain* 2015 ; 138 : 2716-31.
6. Lebouvier T, Pasquier F, Buee L. Update on tauopathies. *Curr Opin Neurol* 2017 ; 30 : 589-98.
7. Spillantini MG, Goedert M. Tau protein pathology in neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci* 1998 ; 21 : 428-33.
8. Luk C, Compta Y, Magdalinou N, et al. Development and assessment of sensitive immuno-PCR assays for the quantification of cerebrospinal fluid three- and four-repeat tau isoforms in tauopathies. *J Neurochem* 2012 ; 123 : 396-405.
9. Barthelemy NR, Fenaille F, Hirtz C, et al. Tau protein quantification in human cerebrospinal fluid by targeted mass spectrometry at high sequence coverage provides insights into its primary structure heterogeneity. *J Proteome Res* 2016 ; 15 : 667-76.
10. Kyalu Ngoie Zola N, Balty C, Pyr D, Ruys S, et al. Specific post-translational modifications of soluble tau protein distinguishes Alzheimer's disease and primary tauopathies. *Nat Commun* 2023 ; 14 : 3706.

Bon de commande

À retourner à EDP Sciences, 17 avenue du Hoggar, 91944 Les Ulis Cedex, France
Tél. : 01 69 18 75 75 - E-mail : francois.flori@edpsciences.org

NOM : Prénom :

Adresse :

Code postal : Ville :

Pays :

Fonction :

Je souhaite recevoir l'ouvrage **L'imagerie dans la prise en charge des cancers des voies aérodigestives supérieures** : 35 € + 3 € de port = **38 € TTC**

en exemplaire, soit un total de €

☐ Par chèque, à l'ordre de **EDP Sciences**

☐ Par carte bancaire : ☐ Visa ☐ Eurocard/Mastercard

Carte n° |

Signature :

Date d'expiration : | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | |

