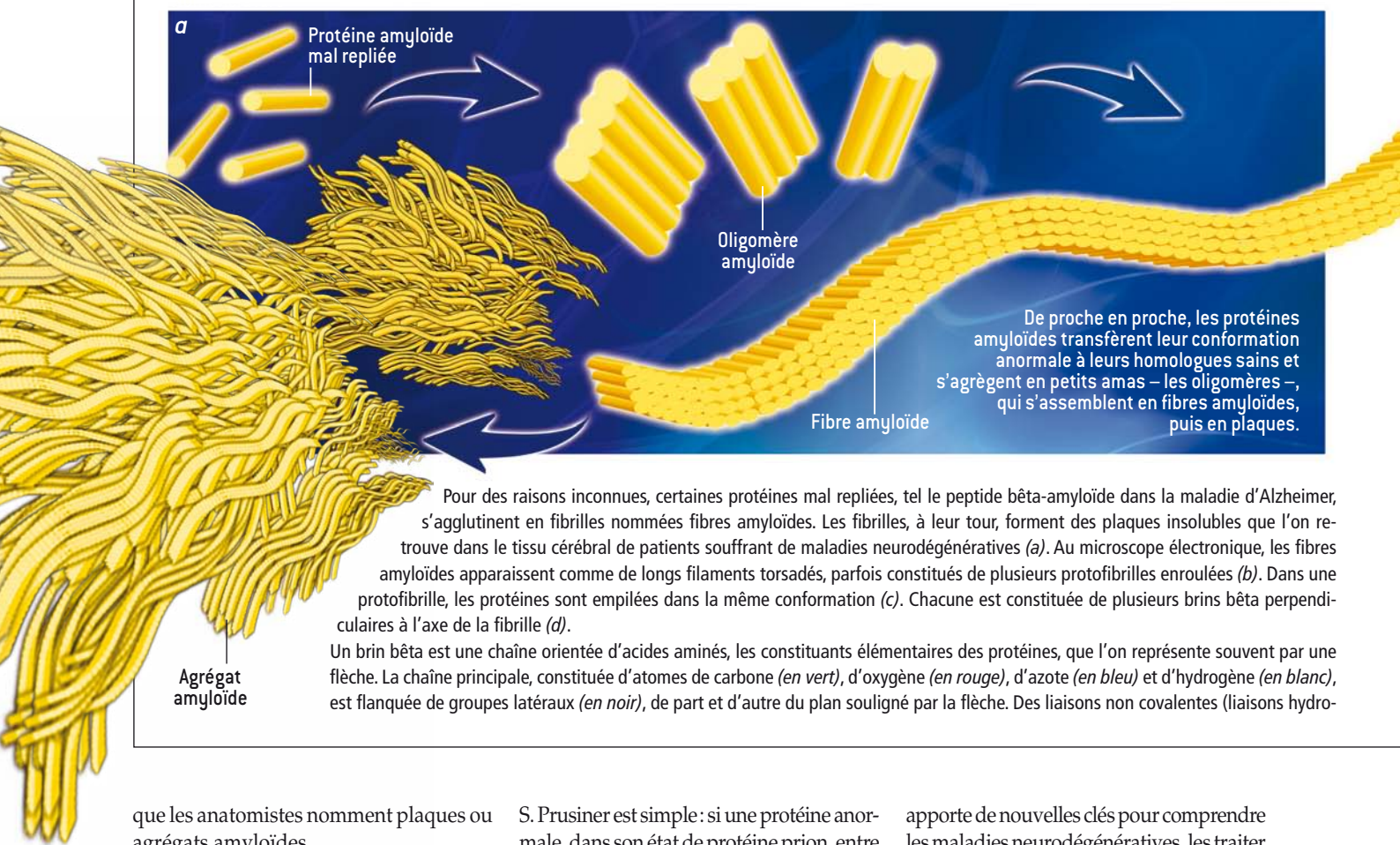


LA FORMATION DES PLAQUES AMYLOÏDES



que les anatomistes nomment plaques ou agrégats amyloïdes.

Ces plaques sont formées de fibrilles de protéines nommées fibres amyloïdes. Dans chaque maladie neurodégénérative, une protéine spécifique, devenue anormale, s'agglutine en fibres amyloïdes. Par exemple, les fibres amyloïdes associées à la maladie d'Alzheimer sont composées de peptides bêta-amyloïde, fragments d'une protéine nommée APP (protéine précurseur de l'amyloïde); chez les patients atteints de la maladie de Huntington, c'est la protéine huntingtine qui est impliquée, alors que chez les personnes ayant la maladie de Parkinson s'accumulent des fibrilles constituées de la protéine alpha-synucléine.

En outre, un phénomène inattendu a été mis en évidence: les fibrilles amyloïdes de certaines protéines sont « infectieuses ». Ce phénomène a été découvert en 1982 par le biochimiste américain Stanley Prusiner, qui a obtenu le prix Nobel pour cette découverte. Pour désigner ces protéines, il a proposé le nom prion (issu du terme particule protéique infectieuse en anglais). Le principe du mécanisme moléculaire de l'infection proposé par

S. Prusiner est simple: si une protéine anormale, dans son état de protéine prion, entre en contact avec ses homologues normaux dans les cellules, ceux-ci se transforment à leur tour en prions en changeant de structure. De cette façon, la protéine prion agit comme un agent infectieux qui contamine la molécule normale. Dans leur nouvelle conformation, les protéines devenues prions s'agrègent en structure fibrillaire, délétère pour le tissu cérébral.

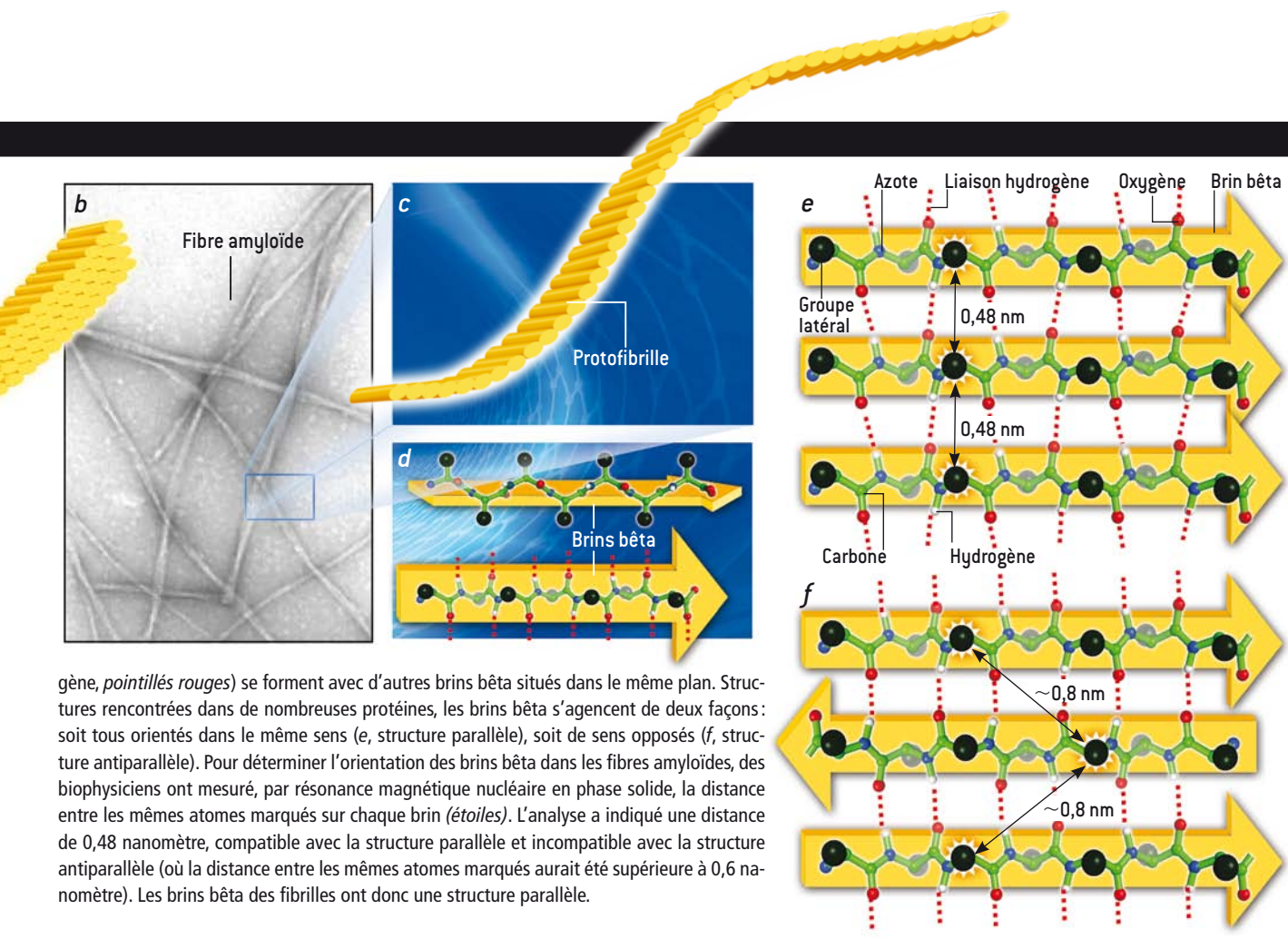
Pourquoi les protéines anormales de type prion s'agrègent-elles? Pourquoi des protéines aussi variées forment-elles toutes les mêmes structures, des fibres amyloïdes, puis des plaques? Existe-t-il un point commun aux structures des différentes protéines qui s'agrègent en fibres amyloïdes? Depuis que l'on s'est rendu compte que les maladies neurodégénératives sont presque toujours associées à la présence d'agrégats amyloïdes dans le tissu cérébral, la structure des fibres amyloïdes fait l'objet de nombreuses recherches. Les premiers résultats sont encourageants. Grâce à diverses techniques de biophysique moléculaire, une structure commune des fibres amyloïdes se dessine et

apporte de nouvelles clés pour comprendre les maladies neurodégénératives, les traiter ou, mieux, les prévenir.

Des fibres similaires d'une maladie à l'autre

Molécules essentielles à la vie, les protéines assurent la majorité des fonctions dans une cellule: elles lui donnent sa forme, servent de moteurs, de catalyseurs, de régulateurs... Elles sont toutes fabriquées selon le même principe: ce sont des chaînes de constituants élémentaires, les acides aminés, dont la séquence est codée par le génome de l'organisme. Au fil de sa synthèse, chaque protéine acquiert une structure donnée: la séquence d'acides aminés produite détermine la structure de la protéine en lui conférant une organisation tridimensionnelle – un repliement – qui lui est propre.

La structure normale – native – de la protéine est compacte et dense. La protéine ressemble à une boule (on parle de protéine globulaire). Par sa stabilité, cette structure confère à la protéine une fonction biologique spécifique. C'est aussi grâce à la stabilité

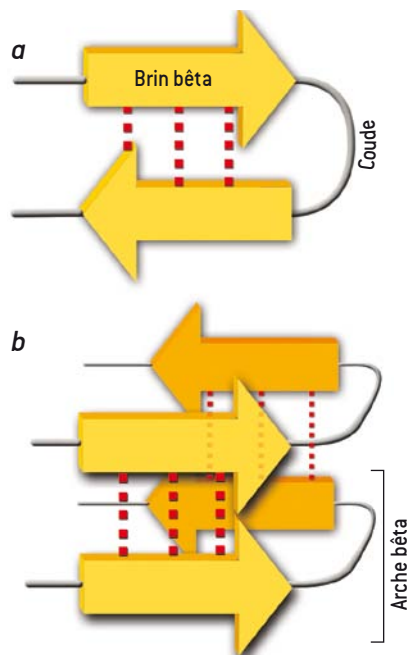


gène, *pointillés rouges*) se forment avec d'autres brins bêta situés dans le même plan. Structures rencontrées dans de nombreuses protéines, les brins bêta s'agencent de deux façons : soit tous orientés dans le même sens (e, structure parallèle), soit de sens opposés (f, structure antiparallèle). Pour déterminer l'orientation des brins bêta dans les fibres amyloïdes, des biophysiciens ont mesuré, par résonance magnétique nucléaire en phase solide, la distance entre les mêmes atomes marqués sur chaque brin (*étoiles*). L'analyse a indiqué une distance de 0,48 nanomètre, compatible avec la structure parallèle et incompatible avec la structure antiparallèle (où la distance entre les mêmes atomes marqués aurait été supérieure à 0,6 nanomètre). Les brins bêta des fibrilles ont donc une structure parallèle.

relativement faible de leur structure que les « vieilles » protéines sont reconnues et détruites par l'organisme, tandis que de nouvelles protéines synthétisées prennent la relève. Les fibres amyloïdes apparaissent lorsque certaines protéines, pour une raison encore inconnue, perdent leur structure normale : en raison d'un mauvais repliement, les protéines commencent à s'agglutiner en agrégats insolubles et très stables.

L'étude structurale des fibres amyloïdes a débuté dès les années 1960. Les premières analyses, par microscopie électronique, ont montré que toutes les fibres amyloïdes sont linéaires et ne présentent pas de ramifications (*voir l'encadré ci-dessus*). L'épaisseur de chaque fibrille est constante, mais varie en fonction de la protéine qui la constitue (entre deux et dix nanomètres). Puis la méthode de diffraction des rayons X a permis de déterminer que, dans les fibres amyloïdes, les chaînes d'acides aminés adoptent une conformation étirée nommée conformation bêta et sont positionnées perpendiculairement à l'axe des fibrilles.

Dans une même protéine, les parties en conformation bêta, reliées par des



2. DANS UNE PROTÉINE NORMALE, les brins bêta sont stabilisés par des liaisons hydrogène (*en rouge*) entre deux brins successifs, formant une épingle bêta [a]. Dans les fibres amyloïdes, en revanche, les liaisons hydrogène associent des brins bêta de structures distinctes nommées arches bêta (ici deux), formant une succession d'arches nommée arcade bêta [b].

coudes, interagissent par des liaisons non covalentes (sans partage d'électron) – des liaisons hydrogène –, formant une association de brins (brins bêta), en une structure nommée feuillet bêta. La conformation bêta est omniprésente dans les structures habituelles des protéines normales : elle fait partie, avec la conformation en « hélice alpha », des motifs les plus courants dans les protéines.

Pourquoi des structures si fréquentes au sein des protéines deviennent-elles pathologiques lorsqu'elles apparaissent chez certaines protéines ? À l'époque, les techniques ne permettaient pas de répondre. Il aurait fallu déterminer avec précision la structure atomique des fibres amyloïdes. Or les principales méthodes expérimentales utilisées pour déterminer la structure atomique des protéines n'étaient pas applicables aux fibres amyloïdes, insolubles : la résonance magnétique nucléaire nécessitait des molécules en solution (donc solubles), et l'analyse par les rayons X ne pouvait être effectuée que sur des cristaux tridimensionnels de protéines – impossibles à obtenir avec des fibrilles.

En l'absence de données expérimentales convaincantes, les biophysiciens ont abordé le problème par le calcul théorique. Les modélisations ont indiqué que la forme la plus stable – et donc la plus probable – était celle où les brins en conformation bêta étaient disposés de façon antiparallèle, tête-bêche. Cette hypothèse a été dominante jusqu'à la fin du XX^e siècle. Mais récemment, grâce au développement d'une nouvelle méthode expérimentale applicable aux protéines insolubles, la résonance magnétique nucléaire en phase solide, des biophysiciens ont montré que dans la majorité des fibres amyloïdes, l'arrangement des brins bêta est parallèle (tous les brins sont orientés de la même façon) et non antiparallèle.

Tout d'abord, en 1998, grâce au marquage d'un même atome dans les fragments

du peptide bêta-amyloïde (de la maladie d'Alzheimer), Stephen Meredith, de l'Université de Chicago aux États-Unis, et ses collègues ont déterminé la distance qui sépare, dans les fibres, les mêmes acides aminés de deux brins bêta voisins. Cette distance de 0,48 nanomètre implique que les brins bêta sont en registre, c'est-à-dire exactement les uns au-dessus des autres. Cette découverte a été suivie par une avalanche de travaux utilisant la même technique ou la toute récente résonance électronique de spin. Ces études ont confirmé la présence de feuilletts parallèles dans les fibres amyloïdes obtenues avec une douzaine de protéines associées à différentes maladies neurodégénératives.

Cependant, les méthodes spectrales ne peuvent enregistrer qu'un signal total

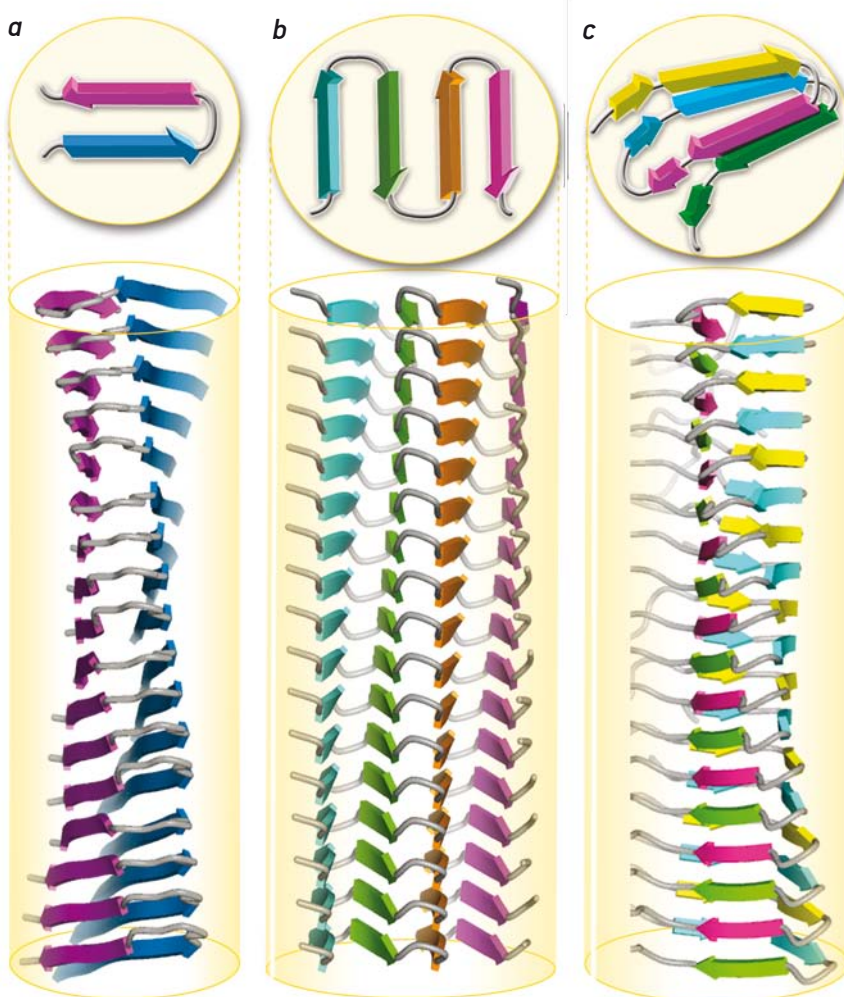
moyen sur l'ensemble des fibres d'un tube à essai. Les mêmes conditions expérimentales pouvant conduire à la formation de différents types de fibres, il était indispensable de développer de nouvelles techniques expérimentales permettant d'étudier des fibres isolées. Parmi ces méthodes, la cryomicroscopie électronique a permis de déterminer avec précision le diamètre et la forme de fibrilles, et la microscopie électronique à balayage par transmission, de définir le nombre de protéines dans une section de fibre.

L'application de ces méthodes à l'étude des fibres amyloïdes durant les dix dernières années a clarifié certains détails des structures amyloïdes associées à des maladies neurodégénératives majeures (voir la figure 3) : les structures formées par le peptide bêta-amyloïde, associées à la maladie d'Alzheimer ; les fibres constituées de chaînes à un acide aminé répété, la glutamine, retrouvées chez les patients présentant une ataxie (perte de coordination des mouvements), notamment ceux atteints de la maladie de Huntington ; ou les fibres d'alpha-synucléine identifiées chez les personnes souffrant de la maladie de Parkinson.

Un même noyau structurel

Les biophysiciens se sont ainsi aperçus que, d'une maladie à l'autre, la structure interne des fibres varie. D'autres différences ont aussi été observées. Par exemple, une fibre peut être l'assemblage de une à plusieurs protofibrilles enroulées. Néanmoins, en réexaminant les fibres amyloïdes connues, ils ont observé que, malgré leur diversité, les fibres associées aux maladies ont toutes un noyau structurel similaire, qui a été nommé arcade bêta (voir la figure 2). Fait remarquable, ces arcades bêta sont absentes dans la structure des protéines normales. Quelle est donc cette structure délétère ?

La brique d'une arcade bêta, nommée arche bêta, présente une conformation bêta courbée en son milieu à 180 degrés. À première vue, des milliers de protéines inoffensives ont des structures bêta pliées de façon similaire. Toutefois, une différence essentielle sépare ces deux types de structures : dans la protéine normale, la chaîne forme une épingle stabilisée par des liaisons hydrogène entre deux brins bêta



3. TROIS MODÈLES DE PROTOFIBRILLES AMYLOÏDES. Dans le premier, celui du peptide bêta-amyloïde de la maladie d'Alzheimer, deux brins bêta séparés par un coude sont répétés (a). Dans le deuxième, identifié dans la maladie de Parkinson, des ataxies et plusieurs prions de levure, l'unité répétée est une suite de plusieurs brins séparés par des coudes (b). Dans le troisième, trouvé dans le prion d'un champignon filamenteux, l'unité répétée est formée de deux boucles contenant plusieurs brins bêta séparés par des coudes (c).

adjacents, alors que dans les arches bêta, les deux brins bêta adjacents interagissent non par des liaisons hydrogène entre des groupes peptidiques, mais majoritairement par des interactions de plus courte portée, dites de van der Waals, entre les groupes latéraux des acides aminés. Des liaisons hydrogène existent, mais entre les arches bêta. En d'autres termes, les fibres amyloïdes sont des empilements axiaux d'arches bêta scellées par des liaisons hydrogène.

Pour former l'arche bêta, une chaîne doit comporter au moins une douzaine d'acides aminés. *In vitro*, à des concentrations très élevées, il est possible de former des fibres amyloïdes avec des chaînes plus courtes, mais à notre connaissance, aucun cas de maladie n'est causé par des peptides courts. Cela suggère que seuls les peptides longs, capables de former des arches bêta, sont dangereux pour la santé humaine.

Des arches fragiles, mais des fibres stables

Aucune des dizaines de milliers de structures de protéines identifiées n'est semblable à l'arche bêta. Quelles propriétés différencient cette structure des protéines normales ? En premier lieu, les arcades bêta présentent l'incomparable pouvoir de croître indéfiniment ; elles sont toujours prêtes à se joindre comme les blocs d'un jeu de construction, alors que les protéines natives ont une taille bien définie. Autre différence majeure, alors que la structure des protéines normales est stabilisée par un noyau hydrophobe (des acides aminés hydrophobes, dits non polaires), les arcades bêta sont stabilisées non seulement par des acides aminés hydrophobes, mais aussi par des acides aminés à groupes latéraux hydrophiles (polaires), l'asparagine et la glutamine. Les fibrilles étant des empilements non décalés d'arcades, les liaisons hydrogène entre ces groupes latéraux hydrophiles forment une sorte de pilier à l'intérieur des fibrilles, jouant un rôle similaire à la structure d'acier qui stabilise le béton armé.

Enfin, la troisième différence entre les arches bêta et les protéines natives réside dans le polymorphisme des fibres. Habituellement, si la séquence de la protéine est capable de former une structure stable, elle est unique. Dans le cas des arcades bêta, la même séquence peut former un grand nombre de fibrilles différentes. Par

exemple, le coude de l'arche bêta n'est pas toujours au même endroit. Et selon la localisation du coude, les fibrilles auront des morphologies différentes (chaque fibrille s'assemble uniquement à partir de la même arche bêta). Ces fibrilles se distinguent soit en nombre de protofibrilles enroulées, soit en degrés d'enroulements. Une seule séquence protéique peut donner plusieurs types de fibrilles différents selon l'environnement et l'amorce de la réaction de polymérisation.

De nombreuses protéines portent à la fois des acides aminés polaires et non polaires, et seraient donc susceptibles de former des arcades bêta. Pourquoi de telles structures ne se déposent-elles pas dans tout l'organisme ? La raison envisagée est qu'une arche bêta isolée est une structure très fragile, qui se forme accidentellement et disparaît sous la seule influence du mouvement thermique. Pour s'agréger, l'arche bêta a besoin d'un noyau stable, ce qui nécessiterait d'associer plusieurs de ces « fragiles » arches bêta – un événement peu probable. Déchiffrer le mécanisme qui préside à la formation de ces briques constitue une étape essentielle pour comprendre l'origine des maladies associées aux structures amyloïdes. Dans le cas des maladies à prions, de telles structures en provenance d'une personne atteinte, par contact, ingestion ou injection, pénètrent dans le corps sain et l'infectent.

Déjà, ces résultats ouvrent de nouvelles pistes de diagnostic et de traitement. La découverte de la structure de base universelle des fibrilles devrait aider au développement de médicaments ciblés qui ralentiront ou bloqueront la formation de fibres amyloïdes. En outre, la connaissance des structures délétères permettrait de déterminer la prédisposition des personnes aux maladies neurodégénératives et aux démences par l'analyse informatique de leur génome. Des méthodes sont en cours de développement pour prédire quelles séquences de protéines peuvent former des arcades. Toutefois, un tel dépistage n'aura d'intérêt que le jour où l'on disposera d'un traitement efficace de ces maladies.

Les recherches actuelles se concentrent sur les structures intermédiaires qui conduisent aux fibrilles. Composées de seulement quelques protéines anormales, elles présentent une toxicité élevée, fatale aux cellules de l'organisme. Elles pourraient être la clé pour comprendre l'apparition des fibrilles amyloïdes. ■

■ LES AUTEURS



Andrey KAJAVA est directeur de recherche du CNRS au sein du Centre de recherche de biochimie macromoléculaire (CRBM, UMR 5237), à Montpellier.

Jean-Pierre LIAUTARD est directeur de recherche INSERM à la retraite. Il poursuit ses travaux au Centre d'études d'agents pathogènes et biotechnologies pour la santé, à l'Université Montpellier 2.

■ BIBLIOGRAPHIE

A. Ahmed et A.V. Kajava, **Breaking the amyloidogenicity code: methods to predict amyloids from amino acid sequence**, *FEBS L.*, vol. 587, pp. 1089-1095, 2013.

A. V. Kajava *et al.*, **Beta-arcades: recurring motifs in naturally occurring and disease-related amyloid fibrils**, *FASEB J.*, vol. 24, pp. 1311-1319, 2010.

R. Nelson et D. Eisenberg, **Structural models of amyloid-like fibrils**, *Adv. Protein Chem.*, vol. 73, pp. 235-282, 2006.

A. V. Kajava *et al.*, **A model for Ure2p prion filaments and other amyloids: the parallel superpleated beta-structure**, *PNAS*, vol. 101, pp. 7885-7890, 2004.

T. L. Benzinger *et al.*, **Propagating structure of Alzheimer's beta-amyloid (10-35) is parallel beta-sheet with residues in exact register**, *PNAS*, vol. 95, pp. 13407-13412, 1998.

Les Des agrégats

Simon Dujardin, Laetitia Troquier, Morvane Colin et Luc Buée

Il est aujourd'hui établi que le premier facteur de risque de certaines démences neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer est l'âge. Néanmoins, à l'heure actuelle, aucun marqueur fiable de ces pathologies n'existe. Elles ne sont réellement diagnostiquées qu'*a posteriori*, avec la mise en évidence, lors d'un examen d'autopsie du cerveau, de lésions caractéristiques. Ces lésions étaient connues et étudiées dès le début du XX^e siècle, mais leurs constituants n'ont commencé à être identifiés que dans les années 1980.

Parmi eux, la protéine tau suscite un intérêt particulier depuis que, en 1985, le neuropathologiste Jean-Pierre Brion, de la Faculté de médecine de Bruxelles, a montré que cette protéine est le principal constituant des neurones en dégénérescence neurofibrillaire dans la maladie d'Alzheimer. Ces neurones sont envahis d'amas protéiques en forme de filaments qui bloquent le fonctionnement neuronal. Grâce à des anticorps spécifiques de la protéine tau, des agrégats de cette protéine ont aussi été identifiés dans diverses maladies neurodégénératives, rassemblées désormais

L'ESSENTIEL

- **Maladie d'Alzheimer, démence du boxeur, dystrophie myotonique de type 1 : d'origines diverses, ces maladies sont toutes caractérisées par l'agrégation d'une protéine, tau, dans les neurones.**
- **Des formes anormales de la protéine se propagent entre les neurones et contaminent le cerveau à la façon des prions.**
- **Plusieurs pistes thérapeutiques sont en cours de développement. Elles visent à éviter que la protéine devienne anormale, à détruire les formes anormales ou à assurer les fonctions de tau perturbées.**

sous le nom de tauopathies (étymologiquement maladies de tau), proposé à la fin des années 1990 par l'équipe de Michel Goedert, de l'Université de Cambridge, en Grande-Bretagne.

Aujourd'hui, les mécanismes qui aboutissent à l'agrégation de tau et à la formation de ces lésions demeurent inconnus. Néanmoins, des hypothèses se dessinent, issues de l'étude structurale et fonctionnelle de la protéine tau et des agrégats de tau. Cette meilleure compréhension de la protéine tau et de ses dysfonctionnements pourrait ouvrir de nouvelles pistes thérapeutiques.

Contrairement au peptide bêta-amyloïde qui compose les plaques séniles (l'autre lésion typique de la maladie d'Alzheimer), la protéine tau était déjà connue lorsque son implication dans cette maladie a été découverte, et l'on avait même une idée assez précise de son rôle. Tau est un acronyme désignant une protéine neuronale associée aux microtubules (*tubulin associated unit* en anglais), de longs polymères dynamiques qui contribuent à l'architecture des cellules. Se prolongeant jusqu'aux extrémités des bras cellulaires, ils servent aussi de rails