

l'adressage des protéines), et (3) les endosomes sont nécessaires à l'exécution normale des fonctions métaboliques hépatiques. Cette approche multi-échelles nous a permis de proposer un lien causal entre ces trois résultats, ainsi que de mettre en évidence des résultats inattendus, tels que le lien entre endocytose et fonctions métaboliques hépatiques. Cette dernière observation est à rapprocher des résultats récents issus du criblage à haut débit du génome humain sur les fonctions endocytiques qui révèle que 13 % des protéines régulant l'endocytose ont des fonctions métaboliques [9], mettant en évidence un mécanisme de régulation réciproque.

De façon plus générale, l'analyse des mécanismes par une approche multi-échelles permet d'intégrer la fonc-

tion des modules cellulaires dans leur contexte physiologique au sein des tissus, de l'organe et de l'organisme. Par exemple, nos résultats suggèrent que l'altération de la voie de l'endocytose peut être à l'origine de certaines pathologies métaboliques hépatiques. De plus, la technologie que nous avons utilisée pour inhiber l'expression des trois isoformes de Rab5 pourrait être employée à des fins thérapeutiques pour réduire l'expression de protéines cibles dans certaines pathologies du foie, telles que le diabète ou l'hypercholestérolémie. ♦

### Key role of Rab5: from endosome biogenesis to liver metabolism

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

## RÉFÉRENCES

1. Platta HW, Stenmark H. Endocytosis and signaling. *Curr Opin Cell Biol* 2011 ; 23 : 393-403.
2. Zerial M, McBride H. Rab proteins as membrane organizers. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001 ; 2 : 107-17.
3. Christoforidis S, McBride HM, Burgoyne RD, Zerial M. The Rab5 effector EEA1 is a core component of endosome docking. *Nature* 1999 ; 397 : 621-5.
4. Ohya T, Miaczynska M, Coskun U, et al. Reconstitution of Rab- and SNARE-dependent membrane fusion by synthetic endosomes. *Nature* 2009 ; 459 : 1091-7.
5. Akinc A, Querbes W, De S, et al. Targeted delivery of RNAi therapeutics with endogenous and exogenous ligand-based mechanisms. *Mol Ther* 2010 ; 18 : 1357-64.
6. Zeigerer A, Gilleron J, Bogorad RL, et al. Rab5 is necessary for the biogenesis of the endolysosomal system *in vivo*. *Nature* 2012 ; 485 : 465-70.
7. Wang L, Boyer JL. The maintenance and generation of membrane polarity in hepatocytes. *Hepatology* 2004 ; 39 : 892-9.
8. Wakabayashi Y, Dutt P, Lippincott-Schwartz J, Arias IM. Rab11a and myosin Vb are required for bile canalicular formation in WIF-B9 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102 : 15087-92.
9. Collinet C, Stoter M, Bradshaw CR, et al. Systems survey of endocytosis by multiparametric image analysis. *Nature* 2010 ; 464 : 243-9.

## NOUVELLE

### Comment les interneurons perdent la cadence dans le cerveau des souris modèles d'Alzheimer

Laure Verret<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Gladstone Institute of Neurological Disease, San Francisco, États-Unis ;

<sup>2</sup>Department of Neurology, University of California, 1650 Owens Street, San Francisco, CA 94158, États-Unis. [laure.verret@gladstone.ucsf.edu](mailto:laure.verret@gladstone.ucsf.edu)

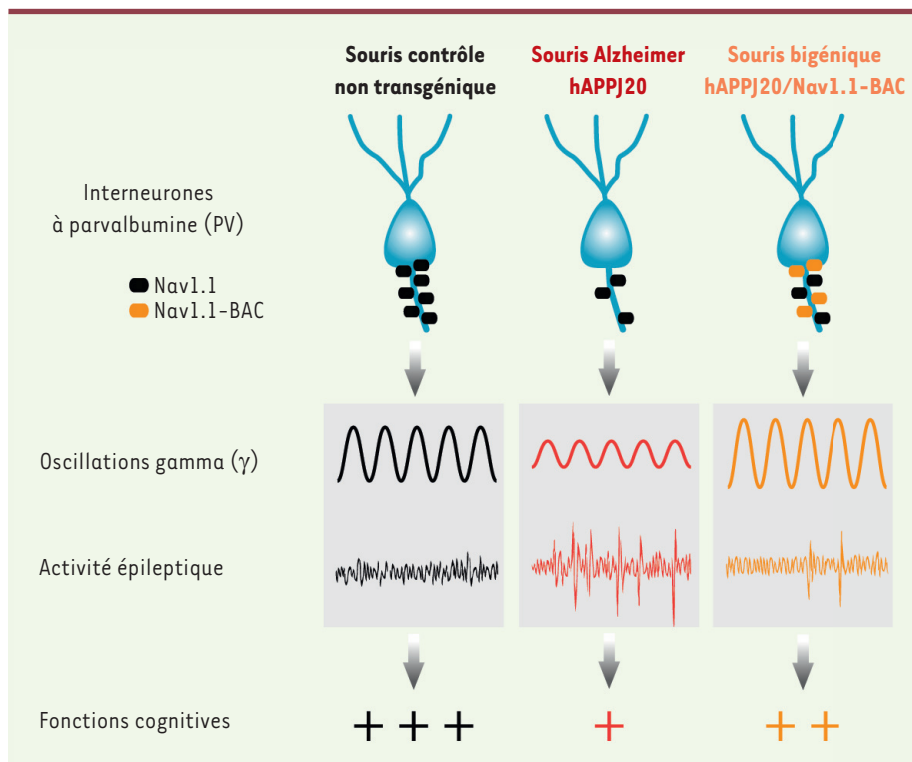
► La maladie d'Alzheimer est une maladie dégénérative du système nerveux central qui a pour conséquences de graves troubles du comportement et de la mémoire. Outre son aspect dramatique pour les personnes atteintes ainsi que pour leurs proches, cette pathologie constitue un problème majeur de santé publique. Or, il n'existe à ce jour ni traitements ni soins préventifs efficaces contre la maladie d'Alzheimer, et sa prévalence ne cesse d'augmenter parallèlement au vieillissement global de la population mondiale et à l'allongement de l'espérance de vie. On estime à plus de 30 millions le nombre

de personnes souffrant de cette maladie dans le monde en 2012.

#### Peptides $\beta$ -amyloïde, hypersynchronie cérébrale et activités épileptiques

Nous savons aujourd'hui que la présence des peptides  $\beta$ -amyloïdes ( $A\beta$ ) joue un rôle crucial dans la pathologie d'Alzheimer [1]. Jusqu'à récemment, les efforts de recherche se sont essentiellement concentrés sur l'étude des effets néfastes des peptides  $A\beta$  sur le fonctionnement des neurones ou des synapses. Ainsi, au niveau synaptique, le niveau anormalement élevé des peptides  $A\beta$  provoque une dépression de l'activité

des synapses excitatrices ainsi qu'une détérioration de leur plasticité [2, 3]. Cependant, l'impact des peptides  $A\beta$  sur de grandes assemblées de neurones, ainsi que sur l'activité cérébrale globale, reste largement incompris, tant chez l'homme que chez les modèles animaux. Des études récentes ont néanmoins développé l'idée que la présence des peptides  $A\beta$  perturbe le fonctionnement cérébral bien au-delà de la synapse et, qu'en réciproque, l'accumulation des peptides  $A\beta$  serait accélérée par l'activité neuronale. Ainsi, chez les patients Alzheimer comme les sujets âgés non déments, les dépôts de peptides  $A\beta$



**Figure 1. Implication des interneurons à parvalbumine (PV) dans le contrôle de l'activité cérébrale et conséquences comportementales.** Chez les souris contrôles non transgéniques (noir, gauche), l'activation des interneurons PV via les canaux sodium Nav1.1 contrôle l'intensité des oscillations  $\gamma$ . Aucune activité épileptique ou pointe-onde n'est observée sur l'EEG de ces animaux qui ne présentent pas de trouble cognitif. Chez les souris hAPPJ20 modèles de la maladie d'Alzheimer (rouge, centre), la pathologie  $\beta$ -amyloïde entraîne une perte spécifique des canaux sodium Nav1.1 des interneurons PV. Ces derniers sont alors moins réactifs et engendrent des oscillations  $\gamma$  d'intensité réduite, associées à la présence d'activités épileptiques sur l'EEG et de troubles comportementaux sévères. L'augmentation de Nav1.1 chez les souris hAPPJ20/Nav1.1-BAC bigéniques (orange, droite) s'accompagne d'effets bénéfiques sur les oscillations cérébrales et les fonctions cognitives des animaux.

se localisent principalement dans les régions cérébrales où l'activité est intense [4, 5]. Ceci suggère que l'activité cérébrale joue un rôle crucial dans le développement de la pathologie. De plus, les souris transgéniques modèles de la maladie d'Alzheimer, qui surexpriment la forme pathologique humaine de la protéine précurseur de l'amyloïde (*human amyloid precursor protein* ou hAPP) induisent des taux d'A $\beta$  anormalement élevés. Elles présentent des perturbations de l'activité neuronale et une hyperexcitabilité de certaines aires cérébrales, pouvant induire des activités épileptiques spontanées [6]. De la même manière, chez l'homme, la prévalence des activités épileptiques est plus

importante dans la population atteinte par la forme sporadique de la maladie d'Alzheimer que chez les individus du même âge non atteints par la pathologie. Elle est même très anormalement élevée dans les cas familiaux précoces [7]. De ce fait, les activités cérébrales anormales, qui entraînent et/ou sont entraînées par l'accumulation des peptides A $\beta$ , représenteraient un événement précoce au cours de la pathologie d'Alzheimer et contribueraient aux déficits cognitifs observés.

Certaines anomalies du fonctionnement cérébral associées à la présence des peptides A $\beta$  sont facilement observables sur un électroencéphalogramme (EEG), notamment par la présence de

pointes-ondes (Figure 1) traduisant l'hypersynchronisation subite et anormale d'une assemblée de neurones. Nous avons enregistré l'EEG de souris adultes modèles de la maladie d'Alzheimer (hAPPJ20) et avons observé que toutes les souris présentaient un type d'activité épileptique [8]. Environ 10 % des souris hAPPJ20 manifestaient également des crises d'épilepsie spontanées et généralisées, le plus souvent tonico-cloniques [6, 8]. Ces activités épileptiques semblent être un trait commun à la pathologie  $\beta$ -amyloïde puisqu'elles ont également été décrites dans d'autres lignées de souris modèles de la maladie d'Alzheimer [9].

#### Pathologie $\beta$ -amyloïde et perturbation des oscillations cérébrales

D'autres modifications de l'activité cérébrale, plus subtiles à la seule lecture de l'EEG, peuvent être mises en évidence par l'analyse des différentes oscillations cérébrales. Parmi celles-ci, les oscillations gamma ( $\gamma$ ) sont les plus rapides (20-80 Hz). Ce rythme cérébral est fortement associé aux fonctions cognitives

et des perturbations des oscillations  $\gamma$  sont observées dans le cadre de plusieurs maladies neuropsychiatriques [9]. Chez l'homme comme chez le rongeur, l'exposition à la nouveauté, les comportements exploratoires et les processus d'apprentissage sont généralement associés à une augmentation de l'intensité des oscillations  $\gamma$ , générées par les interneurons inhibiteurs à parvalbumine (PV) du cortex [10].

Nous avons observé que l'intensité des oscillations  $\gamma$  chez les souris hAPPJ20 est en moyenne plus faible que celle des souris non transgéniques, traduisant potentiellement une réduction de l'activité des interneurons PV chez ces animaux. Les oscillations  $\gamma$  des souris

hAPPJ20 présentent également des fluctuations anormales et aberrantes, avec des épisodes successifs de creux et de pics d'intensité (les activités épileptiques apparaissent préférentiellement au cours des creux d'activité  $\gamma$ ). Les oscillations  $\gamma$  étant générées par les interneurons PV, nous avons émis l'hypothèse que les perturbations de l'activité cérébrale des souris hAPPJ20 pourraient refléter un dysfonctionnement de ces interneurons inhibiteurs.

### **Pathologie $\beta$ -amyloïde et dysfonctionnements des interneurons inhibiteurs à parvalbumine**

Afin de déterminer si la fonction inhibitrice impliquant les interneurons PV est altérée chez les souris hAPPJ20, nous avons enregistré les courants postsynaptiques inhibiteurs des neurones pyramidaux excitateurs sur des tranches de cortex préparées à partir du tissu cérébral de ces animaux. En absence de potentiel d'action, les courants inhibiteurs postsynaptiques miniatures (mIPSC) des neurones pyramidaux des souris hAPPJ20 sont de mêmes fréquences et même amplitudes que ceux des souris non transgéniques. Cette observation indique que le nombre de connexions synaptiques inhibitrices est similaire, et donc que l'altération de la transmission inhibitrice n'est pas le résultat d'une diminution du nombre de synapses entre interneurons inhibiteurs PV et neurones excitateurs, ni d'une perte des interneurons PV. En revanche, en présence d'activité synaptique, la fréquence des courants inhibiteurs postsynaptiques spontanés (sIPSC) est réduite chez les souris hAPPJ20. Ainsi, le défaut de la fonction inhibitrice chez les souris modèles de la maladie d'Alzheimer est dépendante de l'activation, ce qui suggère que les propriétés physiologiques intrinsèques des interneurons PV seraient altérées. Nous avons donc effectué des enregistrements en *patch-clamp* des interneurons PV et avons observé une diminution du potentiel de repos des interneurons PV des souris hAPPJ20 par rapport aux souris non transgéniques. De

plus, les potentiels d'action des interneurons PV des souris hAPPJ20 ont une amplitude plus faible. Ces perturbations des propriétés intrinsèques des interneurons PV des souris hAPPJ20 entraîneraient une diminution de la transmission synaptique inhibitrice en réponse à une stimulation [8].

### **Pathologie $\beta$ -amyloïde et réduction des canaux sodium dépendants du voltage Nav1.1**

Parmi les différents canaux ioniques membranaires qui contrôlent l'excitabilité neuronale, les canaux sodium dépendants du voltage sont essentiels dans la génération des potentiels d'action, et modulent donc en amont la réponse synaptique. Nous avons donc mesuré les niveaux d'expression des différentes sous-unités de canaux sodium exprimées dans le système nerveux central : Nav1.1, Nav1.2, Nav1.3 et Nav1.6. Nous avons observé une diminution du niveau d'expression de la sous-unité Nav1.1 dans le cortex pariétal des souris hAPPJ20. Ce résultat est d'autant plus remarquable qu'il a été également observé à partir de tissus cérébraux de patients atteints de maladie d'Alzheimer. Or, cette sous-unité Nav1.1 est exprimée préférentiellement dans les interneurons PV [8]. De plus, les mutations qui entraînent la perte de fonction de cette sous-unité Nav1.1 sont responsables de formes d'épilepsies chez l'homme [11]. Ainsi, une diminution du niveau de Nav1.1 des interneurons PV pourrait être à l'origine du dysfonctionnement de ces neurones inhibiteurs chez les souris hAPPJ20 (Figure 1). Nous avons donc souhaité déterminer s'il était possible de restaurer l'activité des interneurons PV de ces animaux en augmentant l'expression de Nav1.1.

### **Restaurer Nav1.1 permet de normaliser l'activité cérébrale et de restaurer certaines fonctions cognitives**

Nous avons croisé nos souris hAPPJ20 avec des souris transgéniques Nav1.1-

BAC qui surexpriment Nav1.1 afin d'obtenir des souris bigéniques, c'est-à-dire des souris hAPPJ20 qui surexpriment Nav1.1 dans les interneurons PV. Les animaux obtenus de ce croisement recouvrent un niveau d'expression de Nav1.1 comparable à celui des souris non transgéniques. Conformément à notre hypothèse, la restauration de l'expression de Nav1.1 chez les souris hAPPJ20 améliore la transmission synaptique inhibitrice et augmente l'intensité des oscillations  $\gamma$  (Figure 1). Outre l'augmentation de l'intensité d'activité  $\gamma$ , l'analyse de l'activité épileptique de ces souris bigéniques a mis en évidence une nette réduction du nombre de pointes-ondes par rapport aux souris hAPPJ20 (Figure 1). Enfin, l'analyse comportementale des souris dans des tests de mémoires spatiale et contextuelle a également permis de révéler que la restauration de l'expression de Nav1.1-BAC améliore significativement les performances cognitives des souris hAPPJ20 (Figure 1).

### **Conclusion**

Notre étude a ainsi mis en évidence le rôle critique de la sous-unité Nav1.1 des canaux sodium des interneurons PV dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer. L'altération de l'expression de Nav1.1 participerait donc au dysfonctionnement de l'activité cérébrale et aux troubles cognitifs qui en découlent. Nous avons montré que la restauration d'une expression basale de Nav1.1 s'accompagne d'effets bénéfiques sur l'activité synaptique inhibitrice, les oscillations cérébrales, les fonctions cognitives et, bien au-delà, sur le taux de mortalité des souris hAPPJ20. Ces résultats révèlent ainsi que les canaux sodium et/ou les interneurons PV peuvent être utilisés comme nouvelles cibles thérapeutiques afin d'augmenter les oscillations  $\gamma$  et restaurer certaines fonctions mnésiques dans la maladie d'Alzheimer.  $\diamond$

### **Repairing rhythms in the brain of Alzheimer's mouse models**



## REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée grâce à l'appui de Stephen D. Bechtel Jr Foundation, du National Institutes of Health, de la fondation Philippe, ainsi que grâce au soutien du Dr Jorge J. Palop (Gladstone Institute of Neurological Disease, University of California, San Francisco, États-Unis). Je tiens à remercier le Dr Stéphanie Trouche pour sa relecture et ses commentaires sur ce manuscrit.

## LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

## RÉFÉRENCES

- Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002 ; 297 : 353-6.
- Hsieh H, Boehm J, Sato C, et al. AMPAR removal underlies A $\beta$ -induced synaptic depression and dendritic spine loss. *Neuron* 2006 ; 52 : 831-43.
- Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, et al. Naturally secreted oligomers of amyloid  $\beta$  protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation *in vivo*. *Nature* 2002 ; 416 : 535-9.
- Buckner RL, Snyder AZ, Shannon BJ, et al. Molecular, structural, and functional characterization of Alzheimer's disease: evidence for a relationship between default activity, amyloid, and memory. *J Neurosci* 2005 ; 25 : 7709-17.
- Sperling RA, Laviolette PS, O'Keefe K, et al. Amyloid deposition is associated with impaired default network function in older persons without dementia. *Neuron* 2009 ; 63 : 178-88.
- Palop JJ, Chin J, Roberson ED, et al. Aberrant excitatory neuronal activity and compensatory remodeling of inhibitory hippocampal circuits in mouse models of Alzheimer's disease. *Neuron* 2007 ; 55 : 697-711.
- Palop JJ, Mucke L. Epilepsy and cognitive impairments in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2009 ; 66 : 435-40.
- Verret L, Mann EO, Hang GB, et al. Inhibitory interneuron deficit links altered network activity and cognitive dysfunction in Alzheimer model. *Cell* 2012 ; 149 : 708-21.
- Herrmann CS, Demiralp T. Human EEG gamma oscillations in neuropsychiatric disorders. *Clin Neurophysiol* 2005 ; 116 : 2719-33.
- Cardin JA, Carlen M, Meletis K, et al. Driving fast-spiking cells induces gamma rhythm and controls sensory responses. *Nature* 2009 ; 459 : 663-7.
- Catterall WA, Kalume F, Oakley JC. NaV1.1 channels and epilepsy. *J Physiol* 2010 ; 588 : 1849-59.

## NOUVELLE

### Rôle crucial des protéines Polycomb d'origine maternelle dans le développement précoce de l'embryon de souris

Juliette Salvaing<sup>1,2</sup>, Eszter Posfai<sup>3</sup>, Antoine H.F.M. Peters<sup>3</sup>, Nathalie Beaujean<sup>1,2</sup>

> Lors de la fécondation chez les mammifères, la fusion des gamètes paternel et maternel engendre un embryon 1-cellule dans lequel les génomes parentaux forment deux pronoyaux distincts. Ces génomes sont initialement transcriptionnellement inactifs, et le développement précoce est contrôlé par les protéines et les ARN présents dans le cytoplasme ovocytaire. Les expériences de clonage par transfert de noyau ont permis de mettre en évidence la capacité du cytoplasme ovocytaire à reprogrammer les noyaux somatiques afin de reconstituer un embryon capable de se développer à terme. Cependant, l'efficacité de cette reprogrammation apparaît à la fois relativement faible et très variable : les noyaux des cellules germinales ou des cellules embryonnaires souches sont en effet bien plus faciles à reprogrammer que ceux des

cellules somatiques [1], d'où l'idée que la chromatine des cellules germinales est plus compétente pour la reprogrammation, qu'elle est en quelque sorte « préparée » pour le développement embryonnaire.

Dans une étude récente que nous avons réalisée avec E. Posfai, A.H.F.M. Peters et leurs collègues, nous nous sommes intéressés au rôle des protéines du groupe Polycomb (PcG) dans la transmission des états chromatiniques de l'ovocyte vers l'embryon [2]. Les protéines PcG sont impliquées dans la répression de nombreux gènes, notamment des gènes de développement. Elles agissent sous forme de complexes appelés *polycomb-group repressive complex 1* (PRC1) et PRC2 capables, respectivement, de mono-ubiquitiner l'histone H2A (H2AK119ub1) et de triméthyliser l'histone H3 (H3K27me3) [3]. Il est

<sup>1</sup>INRA, UMR 1198 biologie du développement et reproduction,

78350 Jouy-en-Josas, France ;

<sup>2</sup>École nationale vétérinaire d'Alfort (ENVA), 94700 Maisons Alfort, France ;

<sup>3</sup>Friedrich Miescher institute for biomedical research (FMI), 4058 Basel, Suisse.

nathalie.beaujean@jouy.inra.fr

important de noter que, dans les cellules de la masse cellulaire interne (ICM) du blastocyste, H3K27me3 est localisée sur des gènes de développement, qui sont alors réprimés [4]. Or, cette marque est déjà présente aux mêmes locus dans les spermatozoïdes [5], ce qui suggère que la répression des gènes cibles pourrait être préétablie dans les cellules germinales et transmise ensuite à l'embryon.

### Rôle du complexe PRC1 dans l'ovogenèse et le développement embryonnaire précoce

Les protéines Ring1 (*ring finger protein 1*, Ring1a) et Rnf2 (Ring1b) sont deux paralogues appartenant aux complexes PRC1. Dans l'ovocyte, la composante maternelle de Rnf2 ne semble en effet pas jouer de rôle [6], suggérant une redondance de fonction entre Ring1 et Rnf2, comme c'est le cas dans les