

> Pour la quatrième année, dans le cadre du module d'enseignement « Physiopathologie de la signalisation » proposé par l'université Paris-sud, les étudiants du Master « Biologie Santé » de l'université Paris-Saclay se sont confrontés à l'écriture scientifique. Ils ont sélectionné 15 articles scientifiques récents dans le domaine de la signalisation cellulaire présentant des résultats originaux, *via* des approches expérimentales variées, sur des thèmes allant des relations hôte-pathogène aux innovations thérapeutiques, en passant par la signalisation hépatique et le métabolisme. Après un travail préparatoire réalisé avec l'équipe pédagogique, les étudiants, organisés en binômes, ont ensuite rédigé, guidés par des chercheurs, une Nouvelle soulignant les résultats majeurs et l'originalité de l'article étudié. Ils ont beaucoup apprécié cette initiation à l'écriture d'articles scientifiques et, comme vous pourrez le lire, se sont investis dans ce travail avec enthousiasme ! Deux de ces Nouvelles sont publiées dans ce numéro, les autres le seront dans des prochains numéros. <

## Partenariat médecine/sciences - Écoles doctorales - Masters (24)

**L'actualité scientifique  
vue par les étudiants  
du Master Biologie Santé,  
module physiopathologie  
de la signalisation,  
Université Paris-Saclay**



### Équipe pédagogique

Karim Benihoud (professeur, université Paris-Sud)  
Sophie Dupré (maître de conférences, université Paris-Sud)  
Boris Julien (maître de conférences, université Paris-Sud)  
Philippe Robin (maître de conférences, université de Paris-Sud)  
Hervé Le Stunff (professeur, université Paris-Sud)  
[karim.benihoud@u-psud.fr](mailto:karim.benihoud@u-psud.fr)

Série coordonnée par Sophie Sibénil.

## NOUVELLE

### Les peptides D-énantiomériques pourraient représenter une nouvelle piste thérapeutique dans la maladie d'Alzheimer

Amandine Hippolyte<sup>1</sup>, Laurence Vernis<sup>2</sup>

#### Signalisation toxique et rôle des peptides D-énantiomériques

La maladie d'Alzheimer (MA) est une pathologie neurodégénérative entraînant la perte progressive et irréversible des fonctions cognitives de l'individu (mémoire, langage, raisonnement, etc.). Au niveau cellulaire, elle est caractérisée

par la formation d'agrégats de peptide bêta-amyloïde en oligomères solubles ou en fibrilles insolubles et par la présence d'enchevêtrements neurofibrillaires de protéine Tau.

Les oligomères de peptide bêta-amyloïde (oligomères A- $\beta$ ) semblent être l'espèce présentant le plus de toxicité au

niveau cérébral [1, 2], *via* leur liaison aux protéines prions (PrP) associées à la membrane des cellules. En effet, cette interaction permet l'activation du récepteur métabotropique du glutamate de type 5 (mGluR5) qui, s'associant aux PrP, active la kinase Fyn, responsable en aval d'une signalisation, appelée

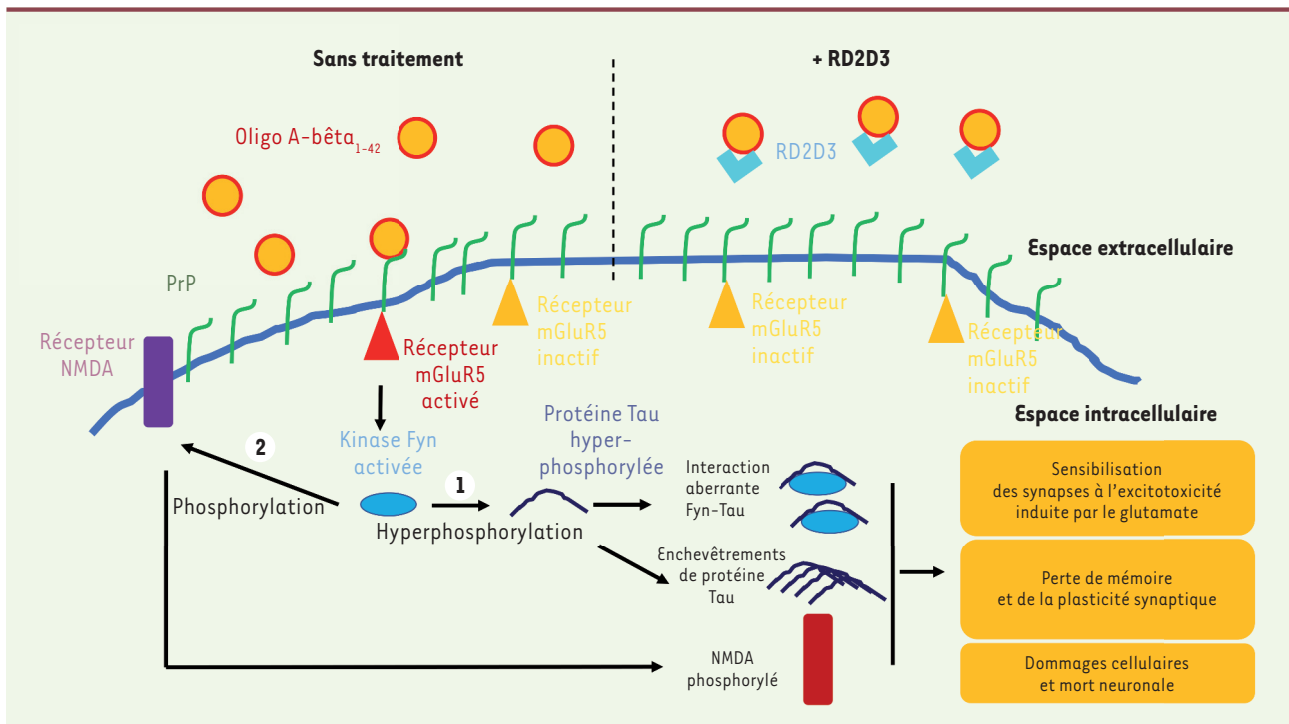
<sup>1</sup>M1 Biologie Santé, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay, France.

<sup>2</sup>Institut Curie, PSL Research University, CNRS UMR3348, Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, 91400 Orsay, France.

[amandine.hippolyte@u-psud.fr](mailto:amandine.hippolyte@u-psud.fr)

[laurence.vernis@curie.fr](mailto:laurence.vernis@curie.fr)





**Figure 1. Représentation schématique de la signalisation toxique induite par l'interaction entre l'oligomère A-bêta et PrP dans la cellule.** Sur la partie gauche de la figure, en absence de traitement, l'interaction de l'oligomère A-bêta<sub>1-42</sub> avec la protéine prion PrP conduit à une signalisation toxique dans la cellule. L'activation de la kinase Fyn par mGluR5 (récepteur métabotrope du glutamate de type 5) activé entraîne **1**- l'hyperphosphorylation de la protéine Tau, entraînant la formation d'enchevêtrements de cette dernière, caractéristiques de la maladie d'Alzheimer, et une sensibilisation des synapses à l'excitotoxicité induite par le glutamate, entraînant des dommages neuronaux et **2**- la phosphorylation du récepteur NMDA (N-méthyl-D-aspartate) qui est alors délocalisé de la membrane du neurone, perdant sa capacité de signalisation et son rôle dans la mémoire et la plasticité synaptique. Sur la partie droite de la figure, le peptide RD2D3 interagit avec l'oligomère A-bêta<sub>1-42</sub>. Cette interaction perturbe la liaison PrP - A-bêta<sub>1-42</sub>, et permet de prévenir la signalisation toxique.

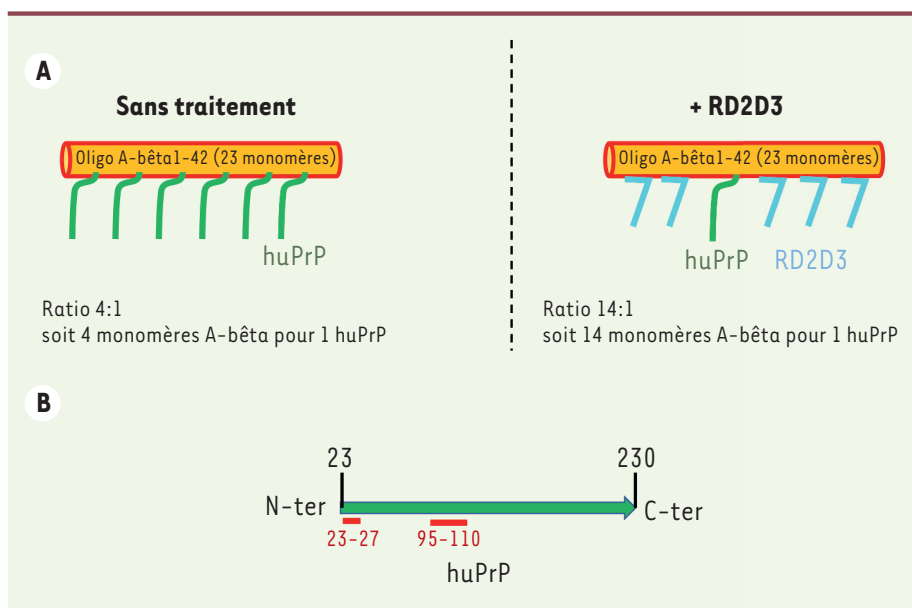
« signalisation toxique », dont les effets sont toxiques pour la cellule (Figure 1) [3, 4]. La kinase Fyn entraîne en effet une hyperphosphorylation de la protéine Tau et la formation d'enchevêtrements de cette protéine caractéristiques de la MA. Une interaction aberrante entre Fyn et Tau est alors à l'origine d'une sensibilisation des synapses à l'excitotoxicité (phénomène d'amplification de l'excitation d'un neurone conduisant à son autodestruction) induite par le glutamate [3]. En conséquence, des dommages neuronaux apparaissent. La kinase Fyn conduit également à une phosphorylation des récepteurs NMDA, impliqués dans les phénomènes de mémoire et de plasticité synaptique. Cette modification va induire leur disparition de la surface des neurones par internalisation [3] et donc bloquer leur

rôle physiologique. Cette perte de signalisation est à l'origine des pertes de capacités cognitives observées dans la MA.

Il a été suggéré que les peptides D-énantiomériques pouvaient éliminer les oligomères A-bêta [6-11]. Ces peptides sont plus résistants à la dégradation que les peptides naturels en configuration L et possèdent de ce fait une demi-vie plus longue, ce qui les rend particulièrement adaptés à une utilisation thérapeutique.

Le peptide RD2D3 est un hétérodimère linéaire qui a été créé par l'association des composés D3 et RD2 mis bout-à-bout [11]. D3, qui est le composé principal parmi les peptides D-énantiomériques, permet la conversion des espèces A-bêta toxiques en espèces non toxiques par la formation d'importants

amas de peptides A-bêta ne possédant plus les propriétés des structures A-bêta classiques (fibrilles, particules sphériques) [6, 9]. Son administration induit une réduction du nombre de plaques amyloïdes [6] et une amélioration de la cognition [9] dans un modèle de souris atteintes de la MA. RD2 est un dérivé de D3 présentant une meilleure capacité d'interaction avec l'oligomère A-bêta. L'étude menée par Nadine S. Rösener et ses collaborateurs a eu pour objectif d'analyser la capacité des peptides D-énantiomériques à inhiber l'interaction entre les oligomères d'A-bêta et PrP, et l'effet thérapeutique de ces peptides. Pour cela, l'interaction entre l'oligomère A-bêta<sub>1-42</sub> (oligomère de A-bêta de 42 acides aminés, caractéristiques de la MA) utilisé par les auteurs et la protéine PrP a été caractérisée en détail,



**Figure 2.** Interaction entre l'oligomère A- $\beta$ 1-42 et la protéine prion huPrP. **A.** RD2D3 entre en compétition avec huPrP pour sa liaison avec l'oligomère A- $\beta$  in vitro. Chaque oligomère A- $\beta$ 1-42 contenant 23 monomères de A- $\beta$ , le ratio monomères A- $\beta$ /PrP passe de 4:1 à 14:1 en présence de RD2D3, ce qui pourrait diminuer la signalisation toxique in vivo. **B.** Résidus de PrP [huPrP(23-230)] impliqués dans l'interaction avec l'oligomère A- $\beta$ . Les sites fondamentaux pour l'interaction avec A- $\beta$  sont situés en N-terminal, au niveau des résidus 23-27 et 95-110.

puis le peptide RD2D3 a été testé pour sa capacité à interférer avec cette interaction et à réduire la dégénérescence neuronale dans la MA [12].

### Caractérisation de l'interaction oligomère A- $\beta$ 1-42 - PrP

Pour cette étude, quatre constructions de protéines prions recombinantes humaines (huPrP) ont été utilisées : la protéine complète huPrP(23-230), la protéine tronquée huPrP(23-144) ne possédant que la partie N-terminale et les protéines tronquées huPrP(90-230) et huPrP(121-230) ayant perdu certains résidus de la partie N-terminale. Les chercheurs ont utilisé différentes méthodes dans le but de caractériser les complexes entre l'oligomère A- $\beta$ 1-42 et les différentes formes de huPrP : ils ont d'abord utilisé la chromatographie en gradient de densité (DGC) afin de séparer plusieurs fractions selon leur poids moléculaire. Les fractions récupérées ont été analysées en gel d'électrophorèse (SDS-PAGE) afin d'évaluer leur pureté. Ils ont également effectué une analyse par la méthode d'HPLC (*high performance liquid chromatography*) en phase inverse, permettant notamment la quantification des molécules présentes dans chaque fraction.

Ces expériences ont d'abord été faites avec les oligomères A- $\beta$ 1-42 et les différents peptides huPrP séparément, afin de vérifier que les molécules étaient solubles et non-agrégées dans les conditions expérimentales utilisées. En effet, la formation de fibrilles ou d'agrégats d'oligomères A- $\beta$ 1-42 ou de huPrP ne permettrait pas de tester ensuite l'interaction entre les deux. Ces molécules ont bien été retrouvées dans les fractions légères, confirmant leur maintien sous forme soluble dans les conditions testées. Les mêmes expériences ont ensuite été réalisées en mélangeant les oligomères A- $\beta$ 1-42 et les différentes formes de huPrP (en utilisant une forme de huPrP par test). Les oligomères A- $\beta$ 1-42 et les formes huPrP(23-230) ou huPrP(23-144) se sont retrouvés cette fois dans les fractions lourdes. Les molécules étant présentes sous forme soluble non-agrégée lorsqu'elles sont seules, leur présence dans des fractions lourdes est donc due à une interaction entre l'oligomère A- $\beta$ 1-42 et huPrP, mettant en évidence la formation de complexes impliquant ces deux molécules. L'analyse de ces complexes par la méthode d'HPLC en phase inverse a révélé qu'à saturation de l'oligomère A- $\beta$ 1-42,

formé de 23 monomères d'A- $\beta$ , l'interaction se fait avec 4 monomères d'A- $\beta$  pour 1 protéine prion (ratio 4:1), soit environ 6 molécules prion par oligomère d'A- $\beta$ 1-42 (Figure 2A). De plus, l'utilisation des constructions de huPrP tronquées pour la partie N-terminale a permis d'identifier les sites fondamentaux pour l'interaction entre l'oligomère A- $\beta$  et PrP au niveau de la partie N-terminale de la protéine (résidus 23-27 et 95-110 de la protéine prion) (Figure 2B).

### Le peptide RD2D3 entre en compétition avec la protéine prion pour l'interaction avec l'oligomère A- $\beta$ 1-42

Les mêmes expériences ont ensuite été réalisées en ajoutant le peptide RD2D3 afin de tester l'effet de ce peptide sur l'interaction A- $\beta$  - PrP. L'ajout du peptide RD2D3 augmente le ratio A- $\beta$ /PrP mis en évidence précédemment, passant de 4:1 à 14:1 ; il faut donc 14 monomères A- $\beta$  pour lier 1 protéine prion en présence du peptide RD2D3. Cette expérience montre que ce dernier sature des sites d'interaction sur les oligomères A- $\beta$ 1-42 et entre ainsi en compétition avec huPrP pour l'interaction avec A- $\beta$  (Figure 2A). Il

faut noter que l'ordre d'introduction des différents peptides a une importance. En effet, l'ajout de RD2D3 après huPrP ne modifie pas le ratio (qui reste de 4:1) donc les protéines prions PrP restent attachées à A- $\beta$  même en présence de RD2D3. Ainsi, le peptide RD2D3 ne déstabilise pas l'interaction PrP-oligomère A- $\beta$ <sub>1-42</sub> préexistante.

### Utilisation du peptide RD2D3 dans le cadre d'une stratégie thérapeutique pour la maladie d'Alzheimer

Le peptide RD2D3 est donc un bon candidat pour tenter d'inhiber la signalisation toxique liée aux oligomères d'A- $\beta$ <sub>1-42</sub> dans le cadre d'une stratégie de prévention de la MA (Figure 1). Il a été précédemment montré que ce peptide RD2D3 permettait de stopper la toxicité cellulaire induite par l'oligomère A- $\beta$ <sub>1-42</sub> sur des cellules PC-12 *in vitro* [11] et d'améliorer les performances cognitives de souris atteintes de la MA lors de tests d'apprentissage en piscine de Morris [13]. L'utilisation du peptide RD2D3 pourrait donc représenter une stratégie de prévention

de la progression de la MA en limitant de nouvelles interactions entre l'oligomère A- $\beta$ <sub>1-42</sub> et les protéines prions. Ces résultats restent maintenant à confirmer par de nouvelles études *in vivo*, qui permettront d'observer si ces mêmes mécanismes d'interférence avec la signalisation toxique induite par les oligomères A- $\beta$  permettent une amélioration des symptômes de la MA. ♦

### D-enantiomeric peptides could be a new therapeutic approach in Alzheimer's disease

#### LIENS D'INTÉRÊT

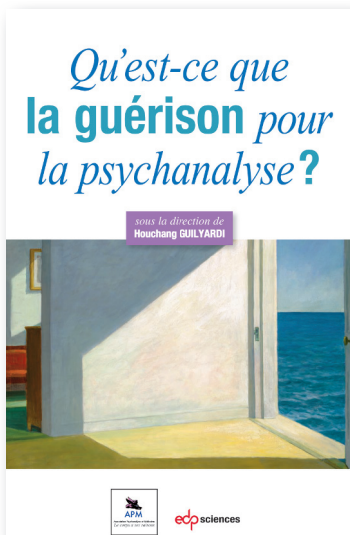
Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

- Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, et al. Amyloid- $\beta$  oligomers: their production, toxicity and therapeutic inhibition. *Biochem Soc Trans* 2002 ; 30 : 552-7.
- 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.
- Um JW, Nygaard HB, Heiss JK, et al. Alzheimer amyloid- $\beta$  oligomer bound to postsynaptic prion protein activates Fyn to impair neurons. *Nat Neurosci* 2012 ; 15 : 1227-35.
- Um J, Kaufman A, Kostylev M, et al. Metabotropic glutamate receptor 5 is a coreceptor for Alzheimer A $\beta$  oligomer bound to cellular prion protein. *Neuron* 2013 ; 79 : 887-902.
- Larson M, Sherman MA, Amar F, et al. The complex PrPc-Fyn couples human oligomeric A $\beta$  with pathological Tau changes in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2012 ; 32 : 16857-71.
- Brener O, Dunkelmann T, Gremer L, et al. QIAD assay for quantitating a compound's efficacy in elimination of toxic A $\beta$  oligomers. *Sci Rep* 2015 ; 5 : 13222.
- Van Groen T, Wiesehan K, Funke SA. Reduction of Alzheimer's disease amyloid plaque load in transgenic mice by D3, a Denantiomeric peptide identified by mirror image phage display. *ChemMedChem* 2008 ; 3 : 1848-52.
- Wiesehan K, Buder K, Linke RP, et al. Selection of D-amino-acid peptides that bind to Alzheimer's disease amyloid peptide A $\beta$ 1-42 by mirror image phage display. *ChemMedChem* 2003 ; 4 : 748-53.
- Funke SA, Van Groen T, Kadish I, et al. Oral treatment with the D-enantiomeric peptide D3 improves the pathology and behavior of Alzheimer's disease transgenic mice. *ACS Chem Neurosci* 2010 ; 1 : 639-48.
- Leithold LHE, Jiang N, Post J, et al. Pharmacokinetic properties of a novel D-peptide developed to be therapeutically active against toxic  $\beta$ -amyloid oligomers. *Pharm Res* 2016 ; 33 : 328-36.
- Kutzsche J, Schemmert S, Tusche M, et al. Large-scale oral treatment study with the four most promising D3-derivatives for the treatment of Alzheimer's disease. *Molecules* 2017 ; 22 : 1693.
- Rösener NS, Gremer L, Reinartz E, et al. A D-enantiomeric peptide interferes with hetero-association of amyloid- $\beta$  oligomers and prion protein. *J Biol Chem* 2018 ; 293 : 15748-764.
- Cavini IA, Munte CE, Erlach MB, et al. Inhibition of amyloid Abeta aggregation by high pressures or specific d-enantiomeric peptides. *Chem Commun* 2018 ; 54 : 3294-7.

Qu'est-ce que la guérison ? Des réponses, il y en a. De toutes sortes et de tout temps. Chacun y va de son savoir, religieux, scientifique, médical... Et de quoi est-on supposé guérir ? D'un symptôme, d'une douleur, d'une maladie, d'une répétition mortifère, d'un destin mélancolique ? Pour la psychanalyse, la guérison s'insère dans un système imaginaire et a, comme point de mire, un idéal. « La guérison, c'est une demande... » précise Lacan. Les auteurs nous invitent ici à découvrir, au-delà du semblant et à partir de la clinique, les liens entre guérison et vérité du sujet.

Comité éditorial de l'Association Psychanalyse et Médecine (APM) : Martine Dombrosky, Sophie Dunoyer de Segonzac, Houchang Guilyardi, Josette Olier, Betty Testud



BON DE COMMANDE

À retourner à EDP Sciences, 17, avenue du Hoggar, 91944 Les Ulis Cedex  
Tél. : 01 49 85 60 69 - Fax : 01 49 85 03 45 - E-mail : francois.flori@edpsciences.org

NOM : ..... Prénom : .....

Adresse : .....

Code postal : ..... Ville : .....

Pays : .....

Fonction : .....

Je souhaite recevoir

Qu'est-ce que la guérison pour la psychanalyse ? : 24 € + 3 € de port = 27 € TTC

en ..... exemplaire, soit un total de ..... €

Par chèque, à l'ordre de EDP Sciences

Par carte bancaire :  Visa  Eurocard/Mastercard

Carte n° \_\_\_\_\_

Date d'expiration : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ N° de contrôle au dos de la carte : \_\_\_\_/\_\_\_\_ Signature :