

Tau story : des démences fronto-temporales aux autres tauopathies

par Luc Buée*, Malika Hamdane, Patrice Delobel, Anne-Véronique Sambo, Séverine Bégard, Antoine Ghestem, Nicolas Sergeant & André Delacourte

INSERM U422, Place de Verdun, F-59045 Lille France

* Toute correspondance sera adressée à Luc Buée, INSERM U422, Place de Verdun, F-59045 Lille cedex France.

E-mail : Luc.Buee@lille.inserm.fr

Reçu le 10 janvier 2002

RÉSUMÉ

Les protéines tau sont des protéines associées aux microtubules. Elles sont principalement exprimées dans les neurones. Il existe six isoformes de protéines tau dans le cerveau humain adulte générées par épissage alternatif à partir d'un gène unique situé sur le chromosome 17. Ces protéines jouent un rôle dans la polymérisation et la stabilité des microtubules. Cette fonction est régulée par l'état de phosphorylation des protéines tau. Dans de nombreuses maladies neurodégénératives regroupées sous le terme tauopathies, des

formes anormalement phosphorylées d'isoformes de protéines tau s'agrègent en filaments. La phosphorylation anormale et le rapport entre les différentes isoformes de protéines tau sont primordiaux dans l'étiopathogenèse de la dégénérescence neurofibrillaire. Ces facteurs peuvent être modulés de façon directe (mutations sur le gène de tau dans certaines formes familiales de démence fronto-temporale avec syndrome parkinsonien) ou indirecte (répétitions de triplets CTG dans la dystrophie myotonique de Steinert).

SUMMARY Tau story: from frontotemporal dementia to other tauopathies

Tau proteins belong to the family of microtubule-associated proteins. They are mainly expressed in neurons where they play an important role in the assembly of tubulin monomers into microtubules to constitute the neuronal microtubules network. Tau proteins are translated from a single gene located on chromosome 17. Their expression is developmentally regulated by an alternative splicing mechanism and six different isoforms exist in the human adult brain. Tau proteins are the major constituents of fibrillar lesions described in Alzheimer's disease and numerous neurodegenerative disorders referred to as 'tauopathies'. Molecular analysis has revealed that an abnormal phosphorylation might be one of the important events in the process leading to their

aggregation. Moreover, a specific set of pathological tau proteins exhibiting a typical biochemical pattern, and a different regional and laminar distribution could characterize each of these disorders. Finally, the recent discovery of tau gene mutations in frontotemporal dementia with parkinsonism linked to chromosome 17 has reinforced the direct role attributed to tau proteins in the pathogenesis of neurodegenerative disorders, and underlined the fact that distinct sets of tau isoforms expressed in different neuronal populations could lead to different pathologies. Conversely, recent data in myotonic dystrophy has demonstrated that indirect effect (CTG repeat expansion) leading to variations in tau alternative splicing also produce neurofibrillary degeneration.

INTRODUCTION

TAU : Pour le linguiste, 19^{ème} lettre de l'alphabet grec. Pour l'héraldiste, figure de blason en forme de T encore appelée «croix de St Antoine». Pour le physicien, un type de particule élémentaire classé comme un lepton...

Pour le neurobiologiste, tau (*tubulin-associated unit*) est une protéine neuronale associée aux microtubules. Pour le moléculiste, tau est la protéine qui s'agrège dans les tauopathies. Pour le clinicien, elle est le consti-

tuant de lésions cérébrales d'un grand nombre de pathologies dont les caractéristiques cliniques et neuropathologiques diffèrent totalement.

L'histoire de tau débute en 1976 quand elle fait son entrée dans les revues scientifiques. Elle est décrite comme le facteur tau, un élément capable d'induire la polymérisation de la tubuline en microtubules (Cleveland *et al.*, 1977). En fait, elle est une protéine associée aux microtubules favorisant la polymérisation et la stabilité des microtubules. Depuis 1985, elle est aussi le consti-

tuant majeur des paires de filaments appariées en hélice qui constituent la dégénérescence neurofibrillaire dans la maladie d'Alzheimer (Brion *et al.*, 1985). Nous nous intéresserons donc à son histoire après 1985 et en particulier dans la maladie d'Alzheimer.

LA DÉGÉNÉRESCENCE NEUROFIBRILLAIRE

La maladie d'Alzheimer est caractérisée par la présence dans le cortex cérébral de deux lésions neuropathologiques particulières: les neurones en dégénérescence neurofibrillaire et des dépôts amyloïdes. La substance amyloïde est constituée de filaments qui s'accumulent dans le domaine extracellulaire sous la forme de dépôts sphériques. Le constituant majeur de ces dépôts est le peptide A β , un peptide de 40-42 acides aminés. Le peptide A β provient d'un précurseur protéique APP (*Amyloid Precursor Protein*).

Dans la maladie d'Alzheimer, tous les neurones ne dégénèrent pas. Au contraire, il semble que la pathologie n'intéresse que certains groupes particuliers de neurones. Les neurones en dégénérescence neurofibrillaire (DNF) sont principalement des neurones pyramidaux. La DNF correspond à une accumulation intraneuronale de fibrilles formées de filaments très caractéristiques, appelés les paires de filaments appariées en hélice ou PHF (*paired helical filaments* des anglo-saxons). Ces filaments pathologiques sont d'excellents marqueurs ultrastructuraux du processus dégénératif de type Alzheimer. Les PHF sont également observés dans les neurites en dégénérescence qui abondent dans le neuropile et dans les plaques neuritiques. Les PHF sont constitués par l'agrégation de protéines microtubulaires tau.

Cependant, la dégénérescence neurofibrillaire n'est pas une lésion histologique spécifique de la maladie d'Alzheimer. Des agrégats de protéines tau sont retrouvés dans la trisomie 21, la région hippocampique des personnes âgées, de nombreux syndromes parkinsoniens (dégénérescence corticobasale, la paralysie supranucléaire progressive, Parkinson post-encéphalitique, syndrome de l'île de Guam), certaines démences fronto-temporales telles que la maladie de Pick, et les démences fronto-temporales avec syndrome parkinsonien liées au chromosome 17 (DFTP-17), et une dystrophie myotonique comme la maladie de Steinert, etc... Les agrégats de protéines tau peuvent se présenter sous différentes formes (les corps de Pick de la maladie de Pick, les touffes gliales de la paralysie supranucléaire progressive et les plaques gliales de la dégénérescence corticobasale), et peuvent s'accumuler dans différents types cellulaires (neurones, astrocytes, oligodendrocytes). Chaque condition pathologique a sa propre distribution laminaire et régionale d'agrégats de tau. Cette observation laminaire et régionale d'agrégats de tau. Cette observation indique que différentes sous-populations cellulaires sont affectées dans chaque maladie neurodégénérative. Si la dégénérescence neurofibrillaire n'est pas spécifique de la maladie d'Alzheimer, il est clair que sa distribution cérébrale reflète un processus étiopatho-

génique particulier. Ainsi, il existe des liens entre la pathologie amyloïde et les neurones en dégénérescence neurofibrillaire.

BIOLOGIE ET GÉNÉTIQUE DES TAUOPATHIES

Les protéines tau sont les constituants majeurs des filaments pathologiques intraneuronaux de la dégénérescence neurofibrillaire (Brion *et al.*, 1985 ; Delacourte & Défossez, 1986). Les protéines tau de la DNF sont agrégées et anormalement phosphorylées. Leur caractérisation biochimique par la technique des immunoempreintes révèle la présence d'un triplet majeur de protéines phosphorylées (tau 60, 64 et 69), également appelé A68 ou tau-PHF, uniquement présent dans le tissu cérébral des patients atteints de la maladie d'Alzheimer.

Les protéines tau normales

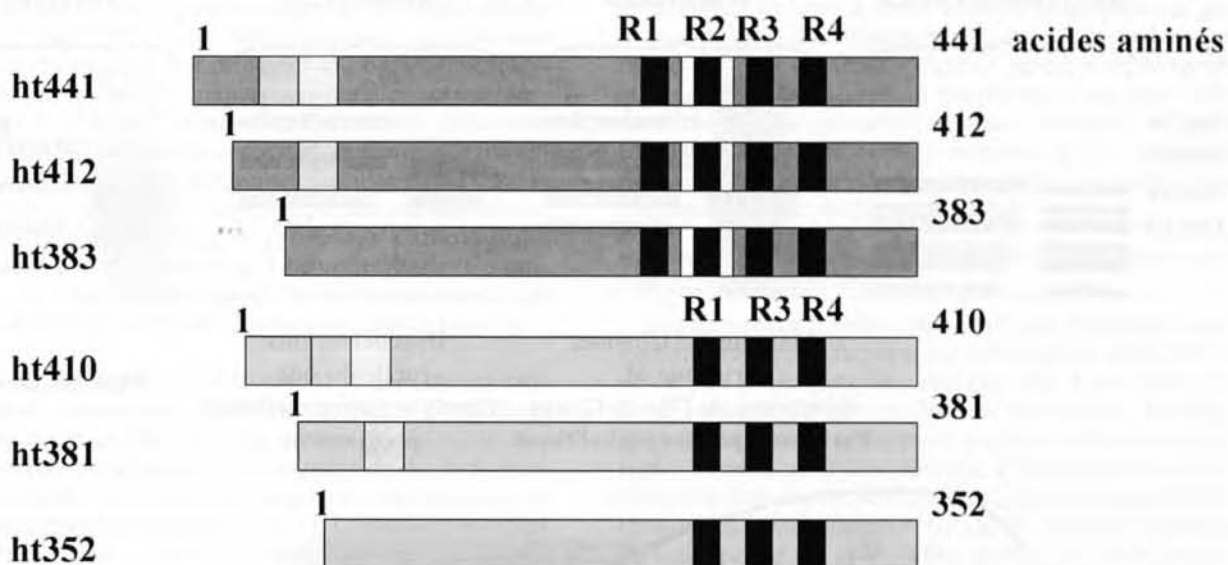
Les protéines tau appartiennent à la famille des MAP (*Microtubule-Associated Proteins*). Elles sont principalement neuronales et jouent un rôle dans la polymérisation des microtubules (pour revue, Delacourte & Buée, 1997).

Le gène des protéines tau est localisé sur le chromosome 17, à la position 17q21. Le transcrit primaire contient 16 exons. Dans le cerveau, les exons 4A, 6 et 8 ne sont pas traduits. Les exons 2, 3 et 10 sont épissés de manière alternative et sont spécifiques du tissu cérébral adulte. L'épissage alternatif de ces 3 exons produit 6 combinaisons possibles (ht352, ht381, ht383, ht410, ht412, ht441aa) (Fig. 1). Au niveau protéique, il y a donc six isoformes de protéines tau dans le cerveau adulte. Il faut noter que l'expression des protéines tau est régulée au cours du développement. Ainsi, une seule isoforme est présente à la naissance et ne comporte pas d'inserts codés par les exons 2, 3 ou 10, il s'agit de l'isoforme fœtale. Après la naissance, les autres isoformes vont apparaître au cours du développement. La longueur de leurs séquences varie de 352 à 441 acides aminés. Sur électrophorèse en gel de polyacrylamide en présence de sodium dodécyl sulfate (SDS-PAGE), les protéines tau normales migrent entre 45 et 65 kDa.

La partie amino-terminale des tau, encore appelée domaine de projection a un rôle mal connu. Il pourrait interagir avec la membrane plasmique et certains organites tels que les mitochondries. Quant au domaine carboxy-terminal des protéines tau, il contrôle la stabilité des microtubules. Les trois isoformes sans la séquence codée par l'exon 10 (ht352, ht381, ht410) possèdent trois domaines de liaison aux microtubules et les 3 isoformes avec la séquence de l'exon 10 (ht383, ht412, ht441) ont quatre régions répétitives. L'interaction avec les dimères de tubuline est alors beaucoup plus forte avec ce quatrième domaine, ce qui stabilise davantage les microtubules et peut moduler la longueur des extensions neuritiques, ainsi que la plasticité neuronale (pour revue, Buée *et al.*, 2000).

Les protéines tau régulent également la stabilité des microtubules en fonction de leur état de phosphorylation.

Domaines de liaison aux microtubules:



Epissage alternatif des exons 2, 3 and 10

FIG. 1. – Six isoformes de protéines Tau dans le cerveau humain adulte : trois isoformes à trois domaines de liaison aux microtubules (ht352, 381 et 410) et trois isoformes à quatre domaines de liaison aux microtubules (ht383, 412 et 441).

Il existe environ 80 résidus sérine et thréonine sur la protéine tau. Plus d'une vingtaine se sont révélés être phosphorylés. La phosphorylation est donc la principale modification post-traductionnelle des protéines tau. En particulier, les protéines tau sont phosphorylées de part et d'autre des domaines de liaison aux microtubules. Une phosphorylation des protéines tau, en particulier dans la région riche en proline située en amont des motifs répétés, diminue leur affinité pour les microtubules, entraînant la dépolymérisation de ces derniers. La phosphorylation des résidus Sérine 262 et 356 (selon la numérotation de l'isoforme la plus longue), situés respectivement dans le premier et quatrième domaine de liaison, modulerait également l'affinité des protéines tau aux microtubules.

Les kinases impliquées dans la phosphorylation de tau *in vitro* sont nombreuses. Parmi les plus communes, citons les cdk, la GSK3 β , les MAP kinases (erk1/2, jun kinases (JNKs et p38s)), les MARK, la phosphorylase K, la pKA, la pKC et la tau-tubuline kinase. Il est aussi clairement établi qu'il y a une balance phosphorylation-déphosphorylation médiée par les phosphatases 1, 2A et 2B.

Les protéines tau pathologiques de la maladie d'Alzheimer

Les protéines tau isolées des PHF sont anormalement phosphorylées. Après déphosphorylation, les tau-PHF

s'alignent avec les tau normales, ce qui suggère que les 6 isoformes des protéines tau soient phosphorylées. Il existe des sites de phosphorylation ou des conformations spécifiques aux tau-PHF révélés avec des anticorps tels que AP422, AT100, TG3 (Mailliot *et al.*, 1998 ; Bussièrre *et al.*, 1999).

Une analyse plus fine des variants de protéines tau de la maladie d'Alzheimer a conduit à identifier la correspondance entre isoformes et variants phosphorylés de tau. De plus, elle a permis l'identification d'un nouveau variant (Tau 74) correspondant à l'hyperphosphorylation de l'isoforme la plus longue (Sergeant *et al.*, 1997). Cette isoforme est également la moins exprimée. En effet, il faut noter que quatre isoformes de protéines tau sont dites majeures. Par contre, les deux isoformes avec les séquences codées par les exons 2 et 3 sont présentes mais en plus faible quantité (ht410 et ht441). Cette étude a permis de montrer que les six isoformes de protéines tau sont hyperphosphorylées dans la maladie d'Alzheimer et conduisent à une signature biochimique particulière caractérisée en électrophorèse par un triplet majeur à 60 (tau 60), 64 (tau 64) et 69 (tau 69) kDa et un variant mineur à 74 kDa (tau 74) (Fig. 2).

Les protéines tau des tauopathies

Dans des syndromes parkinsoniens tels que le syndrome de l'île de Guam et le Parkinson post-encéphali-

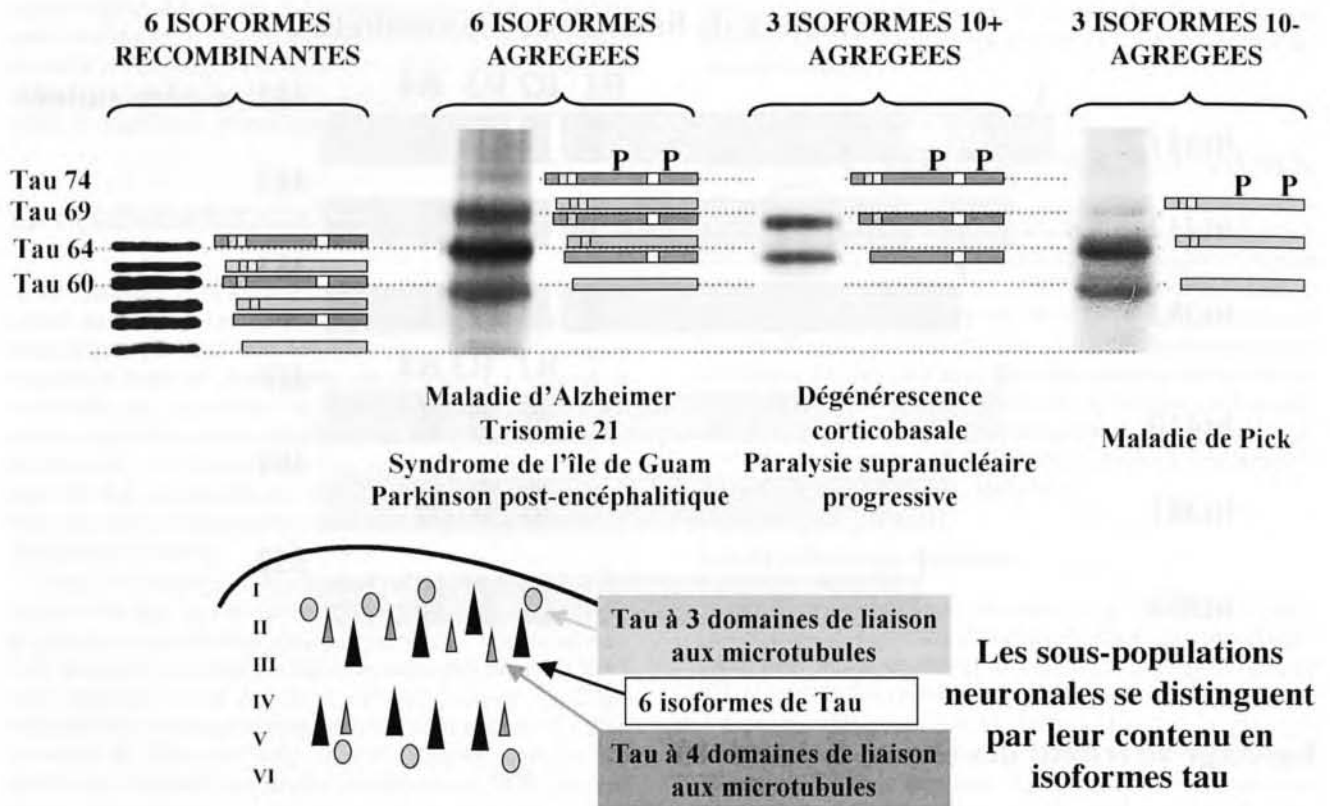


FIG. 2. – Profils électrophorétiques des isoformes de Tau et sous-populations neuronales.

tique, nous avons montré l'existence d'un triplet de protéines tau similaire à celui de la maladie d'Alzheimer. Au contraire, la PSP a révélé un autre profil électrophorétique correspondant à la présence des variants tau 64 et 69 et une forme mineure à 74 kDa. Ces variants sont également retrouvés dans la dégénérescence corticobasale. Ce profil reflète l'agrégation sélective d'isoformes de tau à quatre domaines de liaison aux microtubules dans la PSP et la dégénérescence corticobasale (Flament *et al.*, 1991 ; Buée-Scherrer *et al.*, 1996 ; Mailliot *et al.*, 1998) (Fig. 2).

Dans la maladie de Pick, deux autres variants appelés tau 60 et 64, avec une forme mineure tau 69, sont détectés. Les corps de Pick sont localisés principalement dans les couches II et VI de l'isocortex et les neurones granulaires du *gyrus dentatus*. Ces neurones ne contiennent pas les isoformes de protéines tau avec la séquence codée par l'exon 10 (Goedert *et al.*, 1989). Or, seules les isoformes de protéines tau hyperphosphorylées sans la séquence codée par l'exon 10 (trois domaines de liaison aux microtubules) présentent un tel profil électrophorétique. Il est donc clair que des isoformes sans la séquence codée par l'exon 10 s'agrègent au sein des corps de Pick (Sergeant *et al.*, 1997 ; Delacourte *et al.*, 1998 ; Mailliot *et al.*, 1998) (Fig. 2).

La dégénérescence de sous-populations neuronales conduirait à l'hyperphosphorylation et à l'agrégation de leur contenu en isoformes de protéines tau. Il est donc

possible de différencier certaines maladies neurodégénératives en fonction de leur profil électrophorétique tau. Ainsi, les différences biochimiques observées dans les maladies neurodégénératives seraient reliées à la présence de différentes combinaisons d'isoformes de protéines tau (trois ou quatre domaines de liaison aux microtubules) dans des sous-populations neuronales.

La notion de tauopathies, pathologies liées à l'agrégation spécifique d'isoformes de protéines tau, était née. Elle repose sur le fait que les isoformes de protéines tau définissent des sous-populations neuronales spécifiques.

Génétique des tauopathies

La découverte de formes familiales de démences frontotemporales résultant de mutations sur le gène Tau permet de mieux comprendre comment les protéines tau pourraient participer au mécanisme de dégénérescence neurofibrillaire.

UN LIEN DIRECT ENTRE UNE ANOMALIE GÉNÉTIQUE DE TAU ET LA PATHOLOGIE

Le cas des FTDP-17

Ces formes familiales autosomiques dominantes se caractérisent cliniquement par une démence de type frontal avec syndrome parkinsonien (FTDP-17). D'un point

de vue neuropathologique, elles sont généralement dépourvues de substance amyloïde. Cependant, de nombreux neurones en dégénérescence et de dépôts fibrillaires de type neuritique sont présents, avec, comme constituants majeurs, les protéines tau hyperphosphorylées. Des mutations introniques et exoniques ont été localisées sur le gène de la protéine tau à proximité ou au sein même des séquences codant pour les domaines de liaison aux microtubules dans différentes familles de FTDP-17. Ces résultats indiquent que les protéines tau sont directement impliquées dans le processus pathologique conduisant à la dégénérescence neurofibrillaire. Ce processus est vraisemblablement lié au métabolisme des microtubules (pour revues, Buée *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2001).

En effet, les mutations trouvées sur le gène de tau dans les régions introniques et parfois exoniques à proximité des séquences codant pour les domaines de liaison aux microtubules conduisent à la surexpression des isoformes de tau à quatre domaines de liaison aux microtubules et leur agrégation en filaments (Fig. 3). L'équilibre entre les isoformes de tau à trois et quatre domaines de liaison aux microtubules est donc fondamental pour la physiologie neuronale.

Les mutations exoniques dans les régions codantes des domaines de liaison affectent la liaison de tau aux microtubules. Les mutations dans l'exon 10 empêchent les isoformes de tau à quatre domaines de liaison de se fixer aux microtubules. Ces variants mutés s'agrègent en filaments et présentent une signature biochimique de type PSP, tau 64 et 69 avec un variant mineur à 74 kDa. Les mutations dans les autres exons conduisent à une agrégation des six isoformes de protéines tau et à une signature biochimique de type Alzheimer.

Les formes héréditaires de démences fronto-temporales non-Alzheimer non-Pick

Les démences fronto-temporales non-Alzheimer non-Pick ne présentent aucun signe histologique distinctif. Il n'y a pas d'agrégats de protéines tau. Cependant, ce groupe peut être incorporé dans les tauopathies. En effet, des résultats récents montrent que des anomalies génétiques conduisent à une absence d'expression des protéines tau dans les formes familiales des démences fronto-temporales non-Alzheimer non-Pick. Aucune anomalie particulière n'a été détectée au niveau des ARN messager alors que la diminution d'expression peut-être supérieure à 80 % (Zhukareva *et al.*, 2001).

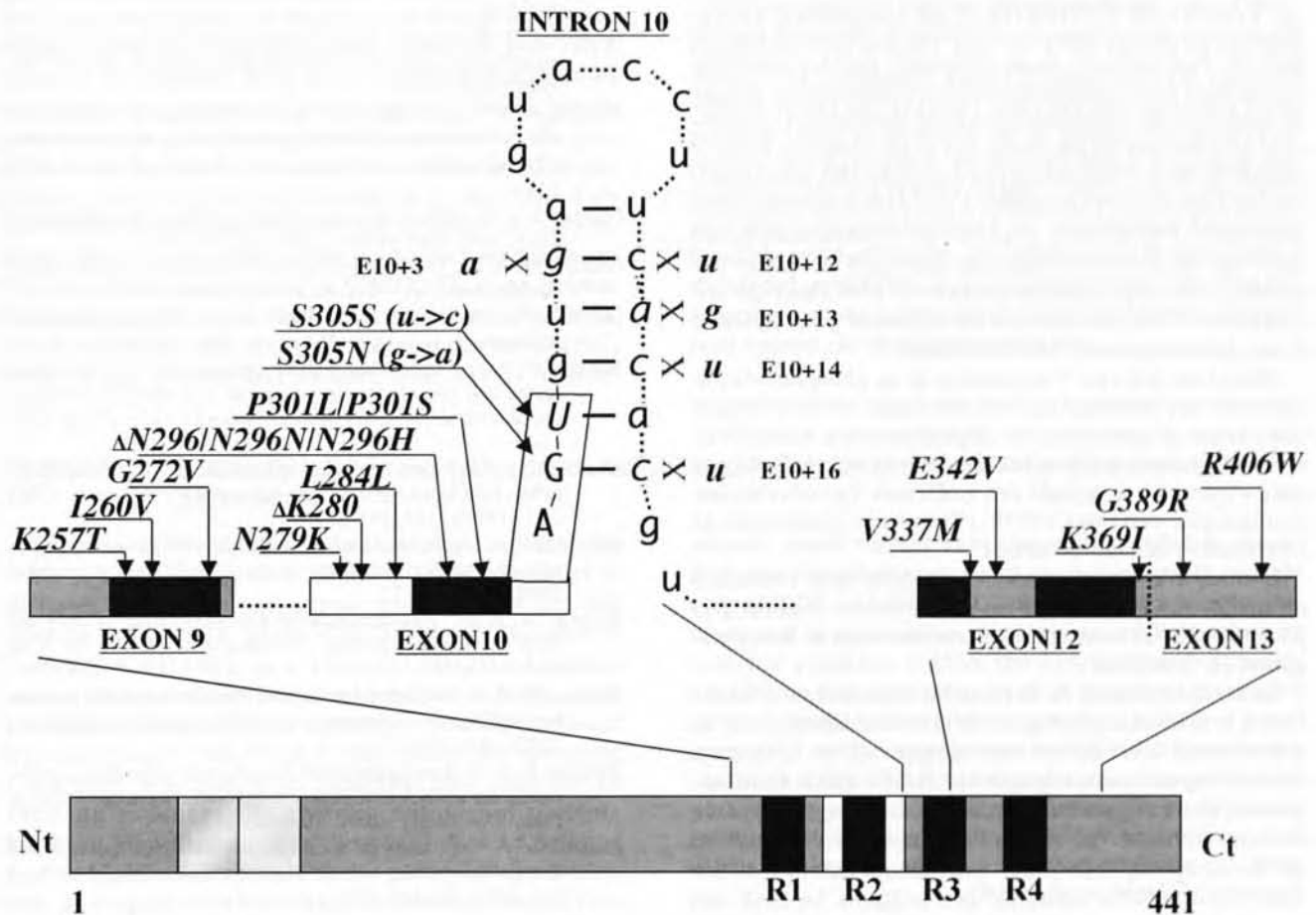


FIG. 3. – Mutations tau et FTDP-17. Les mutations sont situées dans/ou à proximité des domaines de liaison aux microtubules. Les mutations introniques (intron 10) déstabilisent une structure en épingle à cheveux.



LE LIEN INDIRECT : ÉPISSAGE ANORMAL
DANS LA DYSTROPHIE MYOTONIQUE DE STEINERT

La maladie de Steinert ou dystrophie myotonique de type 1 est une myopathie héréditaire. Elle est caractérisée par une dystrophie musculaire, une myotonie et la présence d'anomalies sur de nombreux autres organes (yeux, cœur, atteinte respiratoire, gonades). Il s'agit d'une maladie autosomique dominante (1 cas pour 7 500 naissances). L'anomalie génétique est liée à des répétitions excessives du codon CTG sur le bras long du chromosome 19, dans la partie 3' UTR de la DMPK (dystrophy myotonic protein kinase). Les répétitions de codons CTG sont transcrits mais non traduits. D'un point de vue neuropathologique, il existe une dégénérescence neurofibrillaire qui se concentre dans la formation hippocampique et le lobe temporal. Le profil biochimique des protéines tau est tout à fait particulier avec une bande majeure à 60 kDa. L'épissage de l'exon 2 de tau est altéré : les ARNm et les isoformes de tau avec la séquence codée par cet exon sont fortement diminués (Sergeant *et al.*, 2001).

CONCLUSIONS

De toutes ces observations sur les maladies neurodégénératives sporadiques et familiales regroupées sous le nom de Tauopathies, nous concluons que les protéines tau peuvent être considérées comme marqueurs et acteurs du processus de dégénérescence neurofibrillaire. L'expression d'isoformes de protéines tau et de certaines kinases permet de définir un phénotype cellulaire des sous-populations neuronales vulnérables à une pathologie neurodégénérative. Par ailleurs, il existe une composante génétique qui va modifier l'épissage alternatif de tau et par conséquent, la proportion relative d'isoformes de tau exprimées. Cette modification est suffisante pour conduire à une dégénérescence neurofibrillaire.

Dans tous les cas, l'agrégation et la phosphorylation anormale des protéines tau sont les seules caractéristiques communes au processus de dégénérescence neurofibrillaire. On notera qu'il existe également des pathologies avec expression anormale des isoformes Tau (dystrophie myotonique, certaines FTDP-17) ou une diminution de l'expression des tau normales.

L'ensemble de ces données suggère que l'absence d'interactions entre tau et les microtubules conduit à la phosphorylation anormale des protéines tau et leur agrégation en filaments.

La compréhension de la maladie d'Alzheimer a bénéficié à la fois de la génétique, de la neuropathologie et de la biochimie des maladies neurodégénératives. L'absence de modèles animaux a longtemps handicapé le développement de stratégies thérapeutiques. Les progrès récents dans ce domaine vont permettre d'avancer plus rapidement. Le meilleur exemple est sans doute la stratégie vaccinale (Schenk *et al.*, 1999).

Le diagnostic biologique de la maladie d'Alzheimer a également bénéficié de ces recherches et une quantification des protéines tau et du peptide A β est actuellement la meilleure approche. Ce diagnostic pourra sans doute être amélioré en détectant spécifiquement certaines isoformes de tau.

BIBLIOGRAPHIE

- Brion J.-P. *et al.*, Neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *J. Submicrosc. Cytol.*, 1985, 17, 89-96.
- Buée L. *et al.*, Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res. Rev.*, 2000, 33, 95-130.
- Buée-Scherrer V. *et al.*, Hyperphosphorylated tau proteins differentiate corticobasal degeneration and Pick's disease. *Acta Neuropathol.*, 1996, 91, 351-359.
- Bussièrre T. *et al.*, Phosphorylated Ser422 on tau proteins is a pathological epitope found in several diseases with neurofibrillary degeneration. *Acta Neuropathol.*, 1999, 97, 221-230.
- Cleveland D. W., Hwo S. Y. & Kirschner M. W., Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces assembly of microtubules from purified tubulin. *J. Mol. Biol.*, 1977, 116, 207-225.
- Delacourte A. & Buée L., Normal and pathological Tau proteins as factors for microtubule assembly. *Int. Rev. Cytol.*, 1997, 171, 167-224.
- Delacourte A. & Défossez A., Alzheimer's disease: Tau proteins are major components of paired helical filaments. *J. Neurol. Sci.*, 1986, 76, 173-186.
- Delacourte A. *et al.*, Vulnerable neuronal subsets in Alzheimer's and Pick's disease are distinguished by their tau isoform distribution and phosphorylation. *Ann. Neurol.*, 1998, 43, 193-204.
- Flament S. *et al.*, Abnormal tau proteins in progressive supranuclear palsy. *Acta Neuropathol.*, 1991, 81, 591-596.
- Goedert M. *et al.*, Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau. *Neuron*, 1989, 3, 519-526
- Lee V. M. Y., Goedert M. & Trojanowski J. Q., Neurodegenerative tauopathies. *Annu. Rev. Neurosci.*, 2001, 24, 1121-1159.
- Mailliot C. *et al.*, Alzheimer-specific epitope of AT100 in transfected cell lines with tau: toward an efficient cell model of tau abnormal phosphorylation. *Neurosci Lett.*, 1998a, 255, 13-16
- Mailliot C. *et al.*, Phosphorylation of specific sets of tau isoforms reflect different neurofibrillary degeneration processes. *FEBS Lett.*, 1998b, 433, 201-204.
- Schenk D. *et al.*, Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature*, 1999, 400, 173-177
- Sergeant N. *et al.*, Two-dimensional characterization of PHF-tau from Alzheimer's disease. *J. Neurochem.*, 1997a, 69, 834-884.
- Sergeant N. *et al.*, Different distribution of phosphorylated tau protein isoforms in Alzheimer's and Pick's diseases. *FEBS Lett.*, 1997b, 412, 578-582.
- Sergeant N. *et al.*, Dysregulation of human brain microtubule-associated tau mRNA maturation in myotonic dystrophy type 1. *Hum. Mol. Genet.*, 2001, 10, 2143-2155.
- Zhukareva V. *et al.*, Loss of brain tau defines novel sporadic and familial tauopathies with frontotemporal dementia. *Ann. Neurol.*, 2001, 49, 165-175.