

TITRE DU PROJET : Pharmacodynamie dans la maladie d'Alzheimer en approche transversale humain/animal des structures anatomiques du cycle du LCR.

1) Renseignements administratifs sur la direction de thèse (1 page maximum) :

Directeur de thèse HDR :
Nom : Magnin
Prénom : Eloi

2) Descriptif du projet de thèse (devra inclure les rubriques suivantes) :

INSERM UMR 1322 - LINC
Laboratoire de recherches intégratives en neurosciences et psychologie cognitive
UFR Santé, Université de Franche-Comté, Besançon.

Directeur de thèse (HDR) : MAGNIN Eloi

Courriel du contact scientifique : eloi.magnin@univ-fcomte.fr

Description du projet (2 pages maximum)

Contexte de recherche

Les pathologies neurodégénératives constituent un enjeu majeur de société. Notre projet s'intéresse en particulier à la maladie d'Alzheimer (MA). Il s'agit d'une démence multifactorielle dont les marqueurs neuropathologiques sont la présence de plaques extracellulaires cérébrales composées d'agrégats de peptide amyloïde- β ($A\beta$) et de dépôts intracellulaires de protéine Tau hyperphosphorylée (pTau) formant des enchevêtrements neurofibrillaires. La physiopathologie de la MA est également associée à des modifications de la barrière hémato-encéphalique (BHE)^{1,2} à l'origine de l'hypothèse neurovasculaire de la MA³. L'accumulation cérébrale du peptide $A\beta$ observée dans la MA résulte en partie d'un défaut de sa clairance cérébrale¹. Le transport d' $A\beta$ à travers la BHE met en jeu différents récepteurs (RAGE, LRP-1) et transporteurs ABC (ATP-Binding Cassette) (P-gp, BCRP)^{4,5}. Récemment, nous avons montré que 2 autres transporteurs ABC, ABCG4 et ABCA2, étaient responsables de 80% de l'efflux d' $A\beta$ à la BHE chez la souris, et que l'expression d'ABCG4 était augmentée dans les microvaisseaux cérébraux des souris 3xTgAD de 3 mois (stade précoce)⁹. De plus, chez l'homme, ABCG4 et ABCA2 seraient aussi exprimés au niveau des plexus choroïdes (PC), à la barrière hémato-liquidienne (BHL)¹⁰ entre le sang et le liquide céphalo-rachidien (LCR). Or les PC semblent jouer un rôle déterminant dans le développement de la MA¹¹. Pris dans leur ensemble, ces données suggèrent que les transporteurs ABCA2 et ABCG4 pourraient participer à la clairance d' $A\beta$ à travers la BHL, et ainsi jouer un rôle dans le développement de la MA. Par ailleurs, nous avons démontré que le transporteur ABCG4 était inhibé par la L-thyroxine (T4) dès 10 pM⁶⁻⁸, suggérant que la T4

est capable d'inhiber l'efflux cérébral d'Aβ via ABCG4. Nous posons donc l'hypothèse que la concentration plasmatique de T4 chez les patients pourrait être prédictive des concentrations d'Aβ dans le LCR.

A ce jour, aucun traitement ne permet de faire régresser la MA. Cependant depuis quelques années, des biothérapies à base d'anticorps monoclonaux ciblant le peptide Aβ se développent, en particulier aux Etats Unis où le *Lecanemab* a été autorisé par la FDA en 2023. Sa commercialisation en France pourrait intervenir courant 2024 après validation par l'agence européenne des médicaments. En ciblant spécifiquement les fibrilles de peptide Aβ, le *Lecanemab* favorise l'élimination du peptide Aβ à la fois via la microglie et via le LCR¹² et donc via les plexus. Or des cellules particulières à activité macrophagique sont exprimées au niveau des PC, appelées cellules de Kolmer. L'état de réactivité de ces cellules dans le contexte de la MA est à ce jour peu documenté. Elles pourraient cependant jouer un rôle prépondérant dans l'élimination des peptides Aβ au niveau des PC.

En conclusion, ces données suggèrent que les PC pourraient être fortement impliqués dans l'élimination des peptides Aβ, à la fois via son transport actif du cerveau vers le sang à travers la BHL et via sa dégradation par les cellules de Kolmer.

Objectifs

L'objectif général du projet de thèse est d'étudier le rôle des barrières cérébrales et en particulier de la BHL dans l'élimination du peptide Aβ et dans le développement de la MA en approche transversale Homme/souris, sans et avec traitement par le *Lecanemab* (Homme) ou son équivalent murin (*NeuroMab™* (Anti-Amyloid Beta Antibody, Clone mAb158)). Le modèle murin utilisé sera le modèle 3xTg-AD qui mime à la fois la pathologie amyloïde et tau.

Objectif 1 – Caractériser l'implication d'ABCG4 et ABCA2 dans la MA, chez l'Homme et la souris 3xTg-AD en mesurant **(1)** la corrélation de leur expression à la BHE et BHL avec la concentration des peptides Aβ dans le LCR (Homme) ou dans le cerveau (souris) ; **(2)** la corrélation entre les concentrations de T4 plasmatique (T4_p) et d'Aβ₁₋₄₀/Aβ₁₋₄₂ dans le LCR, chez des patients MA, MCI (Mild Cognitive Impairment) et contrôles.

Objectif 2 – Caractériser l'intégrité des PC et des barrières cérébrales (expression et réactivité des cellules gliales, expression et fonction des transporteurs, des jonctions serrées, mesure du volume vasculaire cérébral, du volume des PC...), sans et avec traitement par *Lecanemab* chez l'Homme et par le *NeuroMab™* chez la souris 3xTg-AD.

Objectif 3 : Caractériser la charge amyloïde cérébrale et l'état émotionnel/cognitif des souris 3xTg-AD et des patients avec et sans traitement par *Lecanemab/Neuromab®* afin de les mettre en lien avec les caractéristiques anatomo-fonctionnelles des PC (cellules de Kolmer, transporteurs, jonctions serrées, volume vasculaire cérébral, volume des PC).

Approches méthodologiques

1-Expression génique et protéique au niveau des PC :

- a. Immunofluorescence (IF) : coupes de cerveau de patients MA, MCI ou contrôles, originaires du CMRR Paris-Nord et de souris 3xTg-AD (âge : 3 mois -stade précoce)
- b. droplet digital PCR (ddPCR) sur PC après microdissection laser

2- Mesures biologiques chez l'Homme dans le sang et LCR

Analyse, sur des échantillons issus de la biobanque des centres de neurologie de l'Hôpital Lariboisière et du CHU de Besançon, des concentrations de T4_p et d'Aβ₁₋₄₂/Aβ₁₋₄₀ dans le LCR de patients MA, MCI et non MA

3- Mesure de la charge amyloïde

- Homme : mesure des concentrations d'Aβ dans le LCR
- Souris 3xTg-AD (3 mois) : mesure de l'amyloïdose cérébrale *post mortem* (ELISA)

4- Mesure neuroradiologique de PC chez l'homme

- Avec évolution de la volumétrie des PC au cours du suivi des patients sous traitement

5- Caractérisation émotionnelle et cognitive

- Homme : évaluation clinique, score neuropsychologique aux échelles standard (MMSE, MOCA, RLRI16, etc...)
- Souris : batterie de tests comportementaux (Splash Test, FST, Light Dark Box, Open Field, NOR, Y-Maze)

Résultats attendus et impact sociétal

Notre travail s'inscrit dans la continuité des recherches développées au laboratoire concernant la physiopathologie de la MA et le développement de biomarqueurs. Ces travaux permettront, dans une approche transversale Homme/souris, de caractériser le rôle de deux transporteurs d'efflux du peptide Aβ au niveau de la BHL et d'identifier la T4 plasmatique comme un facteur à prendre en compte dans l'évaluation des biomarqueurs de la MA chez l'Homme. De manière plus globale, ce travail doctoral pourrait mettre en lumière l'implication des PC dans le développement et le traitement de la MA, par leur rôle dans le contrôle des échanges d'Aβ entre le sang et le cerveau.

Références bibliographiques

1. Nation, D. A. *et al.*, *Nat Med* **25**, 270–276 (2019).
2. Sweeney, M. D. *et al.*, *Alzheimers Dement* **15**, 158–167 (2019).
3. Nelson, A. R., Sweeney, M. D. *et al.*, *Biochimica et biophysica acta* **1862**, 887–900 (2016).
4. Abuznait, A. H. & Kaddoumi, A., *ACS chemical neuroscience* **3**, 820–31 (2012).
5. Deane, R., Wu, Z. & Zlokovic, B. V., *Stroke* **35**, 2628–31.. (2004).
6. Do, T. M. *et al.*, *Journal of Alzheimer's disease : JAD* **30**, 155–66 (2012).
7. Dodacki, A. *et al.*, *Scientific reports* **7**, 13393 (2017).
8. Dodacki, A. *et al.*, (2024, in preparation).
9. Do, T. M. *et al.*, *J Alzheimers Dis* **49**, 287–300 (2016).
10. Matsumoto, K. *et al.*, *Histochemistry and cell biology* **144**, 597–611 (2015).
11. Tijms, B. M. *et al.*, *Nat Aging* **4**, 33–47 (2024).
12. Yadollahikhales, G. & Rojas, J. C., *Neurotherapeutics* **20**, 914–931 (2023).

Financement du projet – partie Recherche (montants acquis, type de contrat)

Ce projet de recherche est soutenu par l'UFC et l'INSERM (financements récurrents de l'UMR). Une demande de financement (125 k€) sera déposée en 2024 auprès de l'Association France Alzheimer.

Connaissances et compétences requises

Le (la) candidat.e devra maîtriser des notions de base en neurosciences et accepter de pratiquer des expérimentations chez l'animal. Des connaissances des techniques biochimiques (Western Blot) et/ou de biologie moléculaire et/ou d'immunofluorescence seraient un plus. De base de neuroanatomie et de neuroradiologie seront aussi à acquérir.

Résumé en français et anglais (limité chacun à 1800 caractères)

La maladie d'Alzheimer (MA) est une pathologie neurodégénérative dont les marqueurs neuropathologiques sont la présence de plaques amyloïdes et de dépôts intracellulaires de protéine Tau hyperphosphorylée (pTau). L'accumulation cérébrale du peptide Aβ observée dans la MA résulte en partie d'un défaut de sa clairance cérébrale, à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE) et la barrière hémato-liquidienne (BHL). Le transport d'Aβ à travers la BHE et la BHL met en jeu différents récepteurs (RAGE, LRP-1) et transporteurs ABC

(ATP-Binding Cassette ; P-gp, BCRP, ABCG4 et ABCA2). Nous avons montré qu'ABCG4 était inhibé par la L-thyroxine (T4) dès 10 pM, chez la souris, et que son expression était augmentée dans les microvaisseaux cérébraux de souris Alzheimer (3xTg-AD) âgées de 3 mois (stade précoce). Ces données suggèrent que la concentration plasmatique de T4 chez les patients pourrait être prédictive des concentrations d'A β dans le LCR. D'autre part, des études récentes suggèrent que les plexus choroïdes pourraient jouer un rôle déterminant dans le développement de la MA. A ce jour, aucun traitement ne permet de faire régresser la MA. Cependant depuis quelques années, des biothérapies à base d'anticorps monoclonaux ciblant le peptide A β se développent, en particulier aux Etats Unis où le *Lecanemab* a été autorisé par la FDA en 2023. En ciblant spécifiquement les fibrilles de peptide A β , le *Lecanemab* favorise l'élimination du peptide A β à la fois via la microglie et via le LCR. L'objectif général du projet de thèse est d'étudier le rôle des barrières cérébrales et en particulier de la BHL dans l'élimination du peptide A β et dans le développement de la MA en approche transversale Homme/souris, sans et avec traitement par le *Lecanemab* (Homme) ou son équivalent murin (*NeuroMab*[™] (Anti-Amyloid Beta Antibody, Clone mAb158)). Le modèle murin utilisé sera le modèle 3xTg-AD qui mime à la fois la pathologie amyloïde et tau.

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative pathology whose neuropathological markers are the presence of amyloid plaques and intracellular deposits of hyperphosphorylated Tau protein (pTau). The cerebral accumulation of A β peptide observed in AD partly results from a defective cerebral clearance, across the blood-brain barrier (BBB) and the blood-cerebrospinal fluid barrier (BCSFB). The transport of A β across the BBB and BCSFB involves different receptors (RAGE, LRP-1) and transporters (P-gp, BCRP, ABCG4 and ABCA2). We showed that ABCG4 is inhibited by L-thyroxine (T4) from 10 pM in mice, and that its expression is increased in the cerebral microvessels of Alzheimer's mice (3xTg-AD) aged 3 months (early stage). These data suggest that plasma T4 concentration in patients may predict CSF A β concentrations. Besides, recent studies suggest that the choroid plexuses may play a key role in the development of AD. To date, no treatment reverses AD. However, biotherapies based on monoclonal antibodies targeting the A β peptide have been recently developed, particularly in the United States where *Lecanemab* was authorized by the FDA in 2023. Through specifically targeting A β peptide fibrils, *Lecanemab* promotes the elimination of the A β peptide via both the microglia and the CSF. The general objective of the doctoral project is to study the role of brain barriers and in particular of the BCSFB in A β peptide elimination and in the development of AD in a cross-sectional Human/mouse approach, with and without treatment with *Lecanemab* (Human) or its murine equivalent (*NeuroMab*[™] (Anti-Amyloid Beta Antibody, Clone mAb158)). The mouse model used will be the 3xTg-AD model which mimics both the amyloid and the tau pathology.

- nom et label de l'unité de recherche (ainsi que l'équipe interne s'il y a lieu)
- localisation
- nom du directeur de thèse et du co-directeur s'il y a lieu
- adresse courriel du contact scientifique
- titre du projet
- description du projet (2 pages maximum)
- Financement du projet – partie Recherche (montants acquis, type de contrat)
- connaissances et compétences requises

Préciser le domaine de compétence dans la liste ci-dessous (2 choix possibles maximum – ne pas modifier les intitulés : ils sont imposés par certains sites web) :

- Psychologie, neurosciences**
- Santé, médecine humaine, vétérinaire**

Mots clés :

Maladie d'Alzheimer – Liquide céphalo-rachidien – Plexus choroïdes – Barrière hémato-encéphalique – Transporteurs ABC. Souris 3xTg-AD