

Le peptide β A4 qui s'accumule dans la maladie d'Alzheimer provient d'une protéolyse anormale du précurseur

Au cours de la maladie d'Alzheimer, se déposent dans le cerveau des plaques dont le constituant principal est un peptide de 39 à 42 acides aminés, appelé amyloïde ou A4 (β A4) (voir *m/s* n° 5, vol. 3, p. 254 et 256 ; n° 5, vol. 4, p. 323 ; n° 9, vol. 5, p. 689). Il dérive d'une protéine précurseur (*amyloid protein precursor*, APP). Le gène APP code pour au moins trois ARN différents par épissage alternatif donnant des APP de 695, 751 et 770 acides aminés. Les deux plus longs renferment un segment de 56 acides aminés, homologue de l'inhibiteur de trypsine de Kunitz (KPI). La *figure 1* montre les trois domaines des APP : un extracellulaire de longueur variable, un transmembranaire et un C-terminal court intracytoplasmique, le peptide β A4 commence à l'extérieur et se termine à l'intérieur de la membrane. Pour que ce peptide se sépare du reste de la molécule, il faut deux coupures dans des zones précises.

L'étude du mécanisme de ces ruptures a passé d'abord par la mise en évidence de formes d'APP solubles dans les liquides extracellulaires ou dans le milieu en cultures cellulaires. Deux types de dérivés solubles ont été reconnus : des chercheurs belges [1] ont montré l'existence d'un ARNm minoritaire, plus petit que les autres, qui code pour une protéine de 563 acides aminés, d'emblée sécrétée car dépourvue de portion transmembranaire (*figure 1*). Mais il existe aussi [2, 3] des formes solubles qui dérivent des APP membranaires par scission protéolytique. On les retrouve dans différents tissus, notamment le système nerveux central de sujets normaux comme de malades atteints d'Alzheimer. Il était donc tentant de penser que c'est par

le jeu de ces coupures protéolytiques que se détache le peptide β A4, au moins du côté extra-cellulaire. Sisodia *et al.* (Baltimore MD, West Haven CT, USA et Heidelberg RFA) se sont efforcés d'en préciser les modalités [4]. Pour ce faire, ils ont transfecté des cellules COS-1 (provenant de rein de singe) avec des constructions placées sous le contrôle de séquences promotrices de SV40, et contenant le gène de l'APP 770, intact ou soumis à diverses délétions : tout d'abord un gène 770 Δ , dans lequel manquent les 105 derniers acides aminés d'APP 770 ; on réintroduit ensuite dans le gène délété des

fragments contenant la partie transmembranaire, une courte queue cytoplasmique, et des séquences extracellulaires de taille variable codant pour 5 à 35 résidus (*figure 2*). Les cellules transfectées sont incubées avec un acide aminé marqué, puis on prépare l'APP, dans les cellules entières et dans le milieu. Après immunoprécipitation la protéine est soumise à électrophorèse. Dans ces conditions l'APP 770 normale apparaît sous sa forme complète, ancrée à la membrane, puis sous forme plus courte, soluble dans le milieu, témoignant d'un processus protéolytique normal. L'APP 770 Δ , comme on pouvait s'y

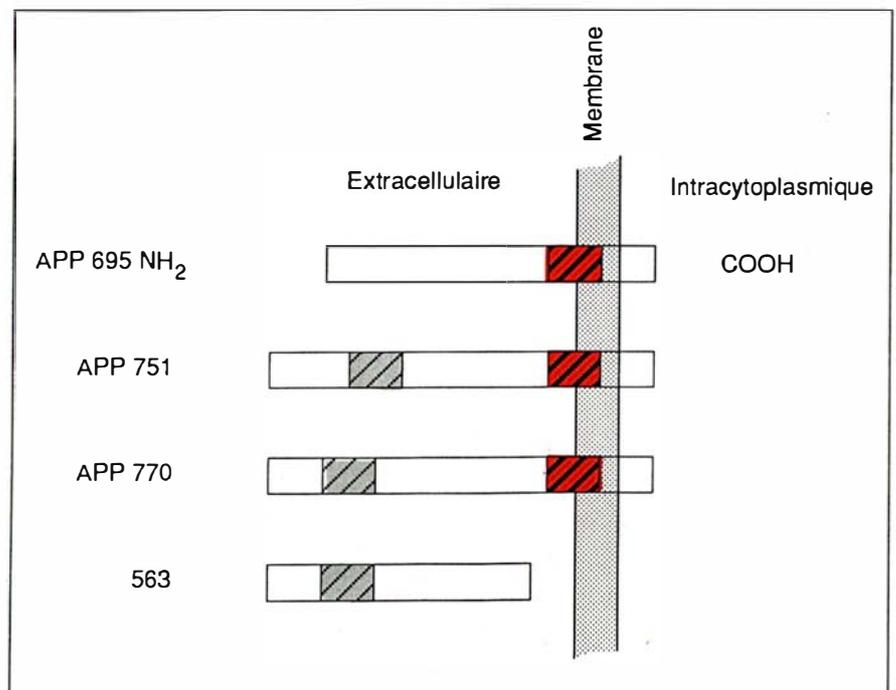


Figure 1. Structures schématiques des APP codés par des ARNm différents issus du gène APP. En gris : la membrane ; rectangles gris hachurés : domaine KPI ; rectangles rouges hachurés : la zone du peptide A4.

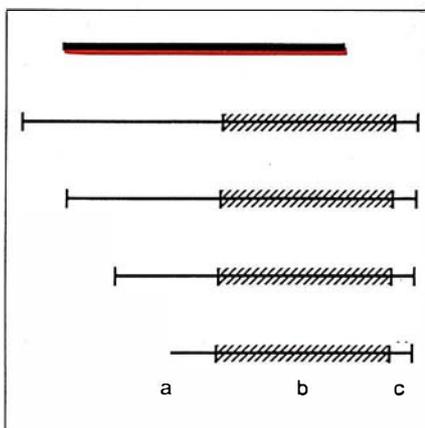
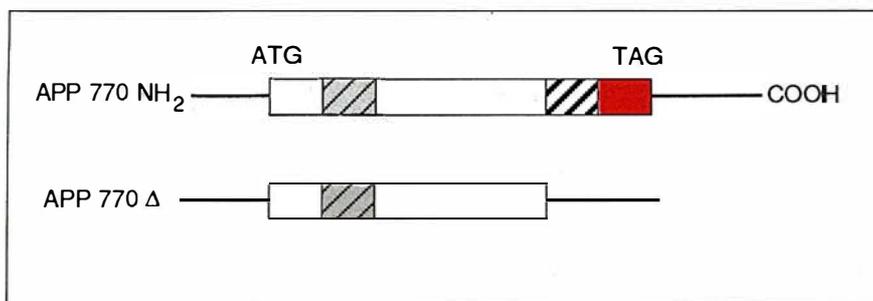


Figure 2A. **Les gènes APP 770 intacts et délétés.** ATG et TAG : codons d'initiation et de terminaison ; rectangles gris hachurés : domaine KPI ; rectangle rouge hachuré : domaine transmembranaire. (Modifiée d'après [4].)

Figure 2B. **Les séquences ajoutées à 770Δ.** a : partie extracellulaire de taille variable ; b : partie intramembranaire (rose hachurée) ; c : queue cytoplasmique ; en rouge : région correspondant au peptide A4. (Modifiée d'après [4].)

attendre, fournit d'emblée un produit soluble. Les gènes délétés auxquels on a ajouté des séquences extracellulaires de longueur variable (figure 2) donnent une protéine attachée à la membrane, clivée secondairement en un produit soluble, à condition qu'il y ait au moins 11 résidus en amont de la zone transmembranaire, l'expérience comportant seulement 5 résidus ne montrant aucune protéolyse. La zone de scission se situe à l'intérieur du peptide β A4, qui compte 24 à 28 acides aminés dans la portion extracellulaire, et environ 15 dans la portion transmembranaire de l'APP. Les auteurs concluent que la coupure protéolytique de l'APP s'effectue normalement à l'intérieur de β A4, probablement autour de 11 résidus en amont de la membrane ; ils ont vérifié que les mêmes résultats s'obtenaient avec des lignées cellulaires provenant d'autres espèces (hamster chinois, homme), et ne sont donc pas limités aux cellules COS-1. Il reste à déterminer le site exact de clivage de l'APP, car la séquence du produit solubilisé du côté C-terminal n'a pas encore été obtenue, puis à vérifier que les processus qui se passent *in vivo* sont les mêmes que ceux qui se passent en culture.

La conclusion des auteurs est claire : la scission protéolytique libérant les formes solubles de l'APP a lieu au sein de la partie extracellulaire du peptide β A4, et l'APP n'est pas, normalement, le précurseur d'un β A4 intact ; la présence et l'accumulation de ce dernier résultent donc d'une altération de la protéolyse de l'APP, aboutissant à la libération d'une molécule de β A4 et à son auto-assemblée au sein des fibrilles amyloïdes.

J.C.D.

1. De Sauvage F, Octave JN. A novel mRNA of the A4 amyloid precursor gene coding for a possibly secreted protein. *Science* 1989 ; 245 : 651-3.
2. Weidemann A, König E, Bunke D, et al. Identification, biogenesis, and localization of precursors of Alzheimer's disease A4 amyloid protein. *Cell* 1989, 57 : 115-26.
3. Palmert MR, Pondlisny MB, Witker DS, et al. The β amyloid protein precursor of Alzheimer disease has soluble derivatives found in human brain and cerebrospinal fluid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 6338-42.
4. Sisodia SS, Koo EH, Beyreuther K, Unterbec A, Price DL. Evidence that β -amyloid protein in Alzheimer's disease is not derived by normal processing. *Science* 1990, 248 : 492-5.