

**Déchiffrer l'influence du facteur de risque APOE4 sur les signatures épigénétiques cellule-spécifiques dans la Maladie à Corps de Lewy (MCL).** Anne-Laurence BOUTILLIER, DR1 CNRS, Chef équipe: "Épigénétique et dynamique des systèmes de mémoire" UMR7364 CNRS Unistra, Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives (LNCA)

**Période du projet : 24 mois**

**Contexte.** La MCL est la deuxième pathologie neurocognitive la plus fréquente après la maladie d'Alzheimer (MA), pourtant son étiopathologie reste mal connue (1). Les neurones des patients présentant une MCL contiennent des corps de Lewy composés entre autre d' $\alpha$ -synucléine (2). S'il existe des cas familiaux de la maladie (mutations génétiques ou surexpression du gène de l' $\alpha$ -synucléine), la grande majorité des cas est d'origine sporadique - suggérant l'implication de divers facteurs de risque dans le déclenchement de la maladie : l'environnement, les agents infectieux ou la génétique. Plusieurs études récentes montrent que l'allèle e4 de l'apolipoprotéine E (APOE4), un facteur de risque génétique de la MA, est également associé à la MCL (3). APOE est une lipoprotéine majeure dans le système nerveux central jouant un rôle important dans le maintien de l'homéostasie lipidique (4). On sait que l'APOE4 n'est pas aussi efficace que la forme neutre, l'APOE3, dans l'approvisionnement des neurones en lipides par les cellules gliales. Récemment, il a été décrit que l'APOE induit des changements épigénétiques dans les neurones, un effet réduit en présence d'APOE4 (5). Les régulations épigénétiques permettent l'adaptation des programmes génétiques à l'environnement. La présence d'APOE4 serait donc capable d'influer sur un type de modification épigénétique (dans cette étude, l'acétylation des histones). Au laboratoire, nous nous intéressons au décryptage des signatures épigénétiques dans les maladies neurodégénératives, en lien avec les processus de plasticité neuronale et de consolidation de la mémoire. En effet, de nombreux travaux dont les nôtres montrent l'importance des processus épigénétiques dans la réponse adaptative des neurones aux stimuli qui sous-tendent les processus mnésiques (6). Dans ce projet, nous voulons établir si et comment ce type de régulation pourrait être altéré dans un environnement synucléinopathique. Parce qu'elles sont réversibles, les modifications épigénétiques peuvent être ciblées par des "épi-médicaments" et la compréhension de ces mécanismes ouvrira vers de nouvelles voies thérapeutiques, et de nouvelles possibilités diagnostiques, certaines modifications pouvant être dosées dans le sang.

**Objectifs du projet.** Les objectifs du projet sont i) d'établir les signatures d'acétylation/méthylation des histones dans les cellules neuronales et gliales provenant d'animaux APOE4 et APOE3 KI, et ii) d'évaluer si la présence de fibrilles préformées d' $\alpha$ -synucléine pathologique (PFFs) a un impact différentiel sur l'épigénome, que ce soit sur un fond APOE3 ou APOE4. Cette étude permettra de caractériser l'impact de l'APOE4 en présence d' $\alpha$ -synucléine sur les régulations neuronales/gliales, apportant une meilleure compréhension de son rôle en tant que facteur de risque dans la MCL.

**Méthodologie.** Nous avons les souris APOE4- et APOE3-KI (JAX) au laboratoire. Les PFFs sont produites en collaboration avec le Dr. R. Melki (CEA Paris)(7). Les PFFs (ou PBS en contrôle) seront injectées de manière bilatérale dans l'hippocampe de souris de 3 mois et les cerveaux seront prélevés après 2 mois de propagation. Les mécanismes épigénétiques sont propres aux différents types cellulaires. Nous utiliserons de nouvelles techniques mises au point au laboratoire afin d'établir ces signatures séparément dans les cellules neuronales et les cellules gliales (astrocytes, microglies...). Les noyaux neuronaux (NeuN+) et non neuronaux (NeuN-) seront triés par un méthode de tri des noyaux activés par fluorescence (FANS) (Plateforme de cytométrie IGBMC). Nous avons mis au point la nouvelle méthode de CUT&Tag (Cleavage Under Targets and Tagmentation) au laboratoire permettant d'évaluer l'état d'acétylation (H3K27ac) et de méthylation (H3K27me3/H3K4me3) des histones sur le génome entier à partir de 40-50000 cellules. Les échantillons seront séquencés et analysés (bioinformatique) par la plateforme Genomeast (IGBMC). Nous mènerons des analyses de signalisations (gene ontology) affectées par la pathologie  $\alpha$ -syn-APOE3/APOE4. Les voies ainsi déterminées seront validées au niveau transcriptomique (RT-qPCR) et protéomique (Western Blot, IHC).

**Résultats attendus.** Nos premiers résultats obtenus sur des animaux APOE3/E4-KI mettent en évidence des modifications d'enrichissement distincts en H3K27ac entre les neurones et les astrocytes. Dans les astrocytes, on observe une déplétion d'acétylation sur les gènes liés au métabolisme des lipides, démontrant pour la première fois que l'effet de APOE4 sur les lipides est détectable au niveau épigénétique. Dans les neurones, les loci génomiques les plus fortement dérégulés sont liées aux voies du métabolisme énergétique. Ainsi, notre étude permettra de déterminer la nature de ces dérèglements lorsque l'APOE4 est associé à l' $\alpha$ -synucléine pathologique et aidera à comprendre comment l'APOE4 est un facteur de risque de MCL.

**Budget demandé.** 19,500 €. Animalerie : 1500€ ; Consommables : 3000€ ; Anticorps : 3000€ ; Cytométrie IGBMC : 1000€ ; Produits et enzymes CUT&Tag : 5000€ ; Préparation de librairies : 1000€ ; Séquençages (100bp, paired-end) : 3600€ ; Participation aux frais de publication : 1000€ ; Participation à un congrès national (étudiant) : 400€.

**Références.** (1) Hemminghyth et al, 2020 Front. Aging Neurosci. PMID: 33424578 (2) Spillantini et al, 1997 Nature PMID: 9278044 (3) Dickson et al, 2018 Neurology PMID: 30143564 (4) Rebeck, 2017 J. Lipid Res. PMID: 28258087 (5) Li et al, 2021 Neuron PMID: 33503410 (6) Alcalá-Vida et al, 2021 Neurobiol Dis. PMID: 33127472 (7) Peelaerts et al, 2015 Nature PMID: 26061766.