



FACULTÉ  
DE MÉDECINE



UNIVERSITÉ LIBRE DE BRUXELLES

# Cinquante nuances de tau : de la neurogenèse à la pathogenèse

**Thèse présentée par Sarah HOUBEN**

en vue de l'obtention du grade académique de docteur en Sciences  
Biomédicales et Pharmaceutiques

Année académique 2020 - 2021

Sous la direction du Professeur Jean-Pierre BRION

Laboratoire d'Histologie, de Neuroanatomie et de Neuropathologie (LHNN)

**Jury de thèse :**

Philippe LEBRUN (Université libre de Bruxelles, Président)

Jean-Pierre BRION (Université libre de Bruxelles, Secrétaire)

Alban DE KERCHOVE D'EXAERDE (Université libre de Bruxelles)

Nicolas GASPARD (Université libre de Bruxelles)

Myriam REMMELINK (Université libre de Bruxelles)

Experts extérieurs :

Laurent NGUYEN (Université de Liège)

Fadel TISSIR (Université Catholique de Louvain)

## RÉSUMÉ

Depuis sa détection par Altman et Das en 1965, l'existence d'une neurogenèse adulte universelle dans le règne animal a été l'objet de controverses. Elle a été étudiée dans de nombreuses espèces animales, en particulier chez l'un des mammifères possédant un cerveau extrêmement bien développé : l'Homme. Un cerveau bien développé ne signifie cependant pas nécessairement qu'il y existe une neurogenèse accrue, au contraire. Dans notre travail, nous avons étudié la neurogenèse hippocampique adulte dans un modèle de rongeur : la souris. Un petit cerveau, sans circonvolutions, mais présentant une neurogenèse adulte conséquente.

La neurogenèse hippocampique adulte est un processus impliqué dans le fonctionnement de la mémoire, dont le dysfonctionnement est un symptôme de plusieurs maladies neurodégénératives dont la maladie d'Alzheimer.

Le premier objectif de cette thèse est consacré à l'analyse comparative de la neurogenèse hippocampique adulte dans le cerveau de souris wild-type (WT) et de souris transgéniques modélisant une maladie neurodégénérative (Tg30) : une forme familiale de démence frontotemporale (FTLD-17) faisant partie du groupe des Tauopathies, dont fait aussi partie la maladie d'Alzheimer. Cinq modèles murins ont été étudiés : des souris WT, Tg30, Tg30/tauKO, tauKO et htau/tauKO. Ces trois dernières lignées n'expriment pas de protéines tau murines, et les souris htau/tauKO expriment uniquement les 6 isoformes WT de protéines tau humaines. Dans ces différents modèles, nos analyses immunohistochimiques ont démontré la présence de nombreuses cellules souches et de précurseurs neuronaux dans la zone sous-granulaire du gyrus denté, l'une des zones neurogéniques du cerveau murin, également présente chez l'Homme. Par comparaison avec les souris WT, la neurogenèse est augmentée dans la zone sous granulaire du gyrus denté chez les souris Tg30/tauKO, alors qu'elle est diminuée chez les souris Tg30. Nous avons démontré que le volume et le nombre de neurones granulaires sont significativement plus importants dans l'hippocampe des souris htau/tauKO et tauKO, alors que le nombre de neurones immatures y est réduit. Afin d'étudier la neurogenèse chez l'Homme, nous avons réalisé des marquages immunohistochimiques sur des coupes d'hippocampes humains de sujets contrôles et atteints de maladie d'Alzheimer. Toutefois, les conditions de fixation, les délais *post-mortem* ainsi que la variabilité intra-individuelle ne nous ont pas permis de visualiser cette neurogenèse ni de pouvoir affirmer ou réfuter son existence chez l'Homme.

Ces résultats soulignent le rôle protecteur de la réduction d'expression de tau dans les déficits de la neurogenèse hippocampique adulte dans ces modèles de tauopathies.

Le second objectif de ce travail était d'approfondir la compréhension des mécanismes de propagation et de nucléation de la protéine tau pathologique. En effet, l'injection stéréotaxique de fractions enrichies en agrégats fibrillaires (PHF) extraits du cerveau de patients atteints de la maladie d'Alzheimer dans le gyrus denté de souris exprimant uniquement les six isoformes de la protéine tau humaine (htau/tauKO) induit

la formation d'agrégats neuronaux de protéines tau et leur propagation intra- et interhémisphérique. Ces inclusions présentent de nombreuses caractéristiques similaires à celles des dégénérescences neurofibrillaires retrouvées lors de la maladie d'Alzheimer. Cependant, les inclusions formées ici correspondent vraisemblablement à des stades précoces d'agrégation, car ils ne sont pas mis en évidence par des marqueurs identifiant des modifications post-traductionnelles plus tardives des dégénérescences neurofibrillaires.

Ce modèle htau/tauKO injecté avec des PHF représente un modèle plus proche de la physiopathologie humaine et qui permettra de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la formation et la propagation des agrégats de protéines tau dans plusieurs maladies neurodégénératives.

## SUMMARY

Since its detection by Altman and Das in 1965, the existence of a universal adult neurogenesis in the animal reign remains a contentious issue. It has been studied in many animal species, particularly in mammals with an extremely well-developed brain: the human species. A well developed brain does not necessarily mean that there is a significant adult neurogenesis in this brain, on the contrary. In this work, we have studied the hippocampal adult neurogenesis in a rodent model: the mouse. A small brain without any circumvolutions but with an important adult neurogenesis.

Adult hippocampal neurogenesis is involved in memory processing, and memory disturbances are symptomatic of several neurodegenerative diseases, including Alzheimer's disease.

The first objective of this thesis was the comparative analysis of the adult hippocampal neurogenesis in the brain of wild-type (WT) mice and of transgenic mice modelizing a neurodegenerative disease: a familial form of fronto-temporal dementia (FTLD-17) belonging to Tauopathies, a group of diseases to which Alzheimer's disease belongs. Five mice models have been studied: WT, Tg30, Tg30/tauKO, tauKO and htau/tauKO mice. The three latter lines do not express any murine tau proteins, and htau/tauKO mice express only the 6 human WT tau isoforms. In these different models, our immunohistochemical analyses showed the presence of many stem cells, neuronal precursor cells, but also mature neurons in the subgranular zone of the dentate gyrus, one of the neurogenic area in the murine brain, also present in humans. Compared to the WT mice, the adult neurogenesis is increased in the subgranular zone of the dentate gyrus in Tg30/tauKO mice, whereas it is decreased in the Tg30 mice. We demonstrated that the volume and the number of granular neurons were significantly more important in the hippocampus of htau/tauKO and tauKO mice, while the number of immature neurons is decreased. In order to study the adult neurogenesis in human brain, we performed immunohistochemical analysis on human hippocampus slices from control brains and Alzheimer's brain's patients. However, the fixation conditions, *post-mortem* delays and the intra-individual variability did not allow us to visualise any adult neurogenesis, neither to affirm nor refute his existence in humans.

These results underlie the protective role of lowering tau expression in the deficits of adult hippocampal neurogenesis in these tauopathies models.

The second objective of this work was to improve the understanding of the propagation's mechanisms and the seeding properties of pathological tau protein. Indeed, the stereological injection of fractions enriched in fibrillar aggregates extracted from the brains of Alzheimer patients (PHF) in the dentate gyrus of mice expressing only the six human tau isoforms induces the formation of intra-neuronal tau aggregates and their intra- and interhemispheric propagation. These inclusions present numerous similarities to the neurofibrillary tangles observed in Alzheimer's disease. Nevertheless, the inclusions formed here seem to correspond to early aggregation stages, because they do

not react with markers identifying late post-translational modifications of neurofibrillary tangles.

This htau/tauKO model injected with PHF represents a model closer to the human pathophysiology and that will be instrumental for a better understanding of mechanisms involved in the formation and the propagation of tau protein aggregates in several neurodegenerative diseases.

# I. TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ .....	
SUMMARY .....	
I. TABLE DES MATIÈRES.....	
II. ABRÉVIATIONS.....	
III. INTRODUCTION .....	
1. TAU .....	
1.1. Le gène tau.....	
1.2. La protéine tau.....	
1.3. Modifications post traductionnelles.....	
1.4. Fonctions de la protéine.....	
1.5. La protéine tau pathogène .....	
1.6. La protéine tau dans les tissus périphériques et les fluides biologiques .....	
1.7. La protéine tau, nucléation et propagation.....	
1.8. La protéine tau chez l'humain vs chez la souris .....	
2. TAUOPATHIES ET MALADIE D'ALZHEIMER.....	
2.1. Généralités .....	
2.2. Les tauopathies.....	
2.3. La Maladie d'Alzheimer .....	
3. LA NEUROGENÈSE ADULTE.....	
3.1. Généralités .....	
3.2. Fonctions potentielles.....	
3.3. Cellules souches neurales.....	
3.4. Ventricule latéral et zone sous-ventriculaire.....	
3.5. Hippocampe, gyrus denté et zone sous-granulaire.....	
3.6. Striatum.....	
3.7. Marqueurs de la neurogenèse .....	

3.8. Niche neurogénique .....	
3.9. La neurogenèse chez l'Homme et la souris .....	
4. NEUROGENÈSE ADULTE ET MALADIES NEURODÉGÉNÉRATIVES.....	
IV. OBJECTIFS.....	
V. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	
1. MATÉRIEL.....	
1.1. Anticorps primaires .....	
1.2. Anticorps secondaires.....	
1.3. Souris transgéniques .....	
1.4. Cerveaux humains.....	
2. MÉTHODES.....	
2.1. Génotypage.....	
2.2. Injection de BrdU.....	
2.3. Injection de Dexaméthasone.....	
2.4. Injection stéréotaxique .....	
2.5. Dissection du cerveau .....	
2.6. Colorations .....	
2.7. Immunohistochimie.....	
2.8. Immunofluorescence .....	
2.9. Méthode Tunel.....	
2.10. Préparation des homogénats tissulaires.....	
2.11. Western Blotting.....	
2.12. Préparation des fractions enrichies en PHF humains (Méthode Sarkosyl)	
2.13. Analyses stéréologiques.....	
2.14. Analyses statistiques .....	
VI. RÉSULTATS .....	
PARTIE 1 : ANALYSE DE LA PATHOLOGIE TAU DANS LE GYRUS DENTÉ HUMAIN .....	

PARTIE 2 : ÉTUDE DE LA NEUROGENÈSE ADULTE DANS DEUX MODÈLES MURINS DE  
TAUOPATHIE : TG30 ET TG30/TAUKO .....

- 1.1. Analyse développementale de la protéine tau 3R .....
- 1.2. Analyse développementale de la protéine DCX.....
- 1.3. Expression développementale de la protéine tau humaine mutée dans le gyrus denté de souris Tg30 .....
- 1.4. Analyse du niveau d'expression de la protéine tau humaine dans les souris Tg30 et Tg30/tauKO .....
- 1.5. Accumulation de protéine tau phosphorylée dans les cellules granulaires du gyrus denté dans les souris Tg30 et Tg30/tauKO .....
- 1.6. Analyse du volume de la zone granulaire du gyrus denté des souris WT, Tg30 et Tg30/tauKO .....
- 1.7. Analyse du nombre total de cellules granulaire dans le gyrus denté des souris WT, Tg30 et Tg30/tauKO .....
- 1.8. Analyse du nombre total de cellules souches neurales et des progéniteurs neuronaux dans le gyrus denté des souris WT, Tg30 et Tg30/tauKO
- 1.9. Analyse de la prolifération cellulaire dans le gyrus denté des souris WT, Tg30 et Tg30/tauKO .....
- 1.10. Analyse de l'apoptose dans le gyrus denté des souris WT, Tg30 et Tg30/tauKO
- 1.11. Analyse de l'expression de la protéine tau humaine dans les cellules granulaires du gyrus denté des souris WT, Tg30 et Tg30/tauKO .....
- 1.12. Analyse de la densité astrocytaire et de la densité microgliale dans le gyrus denté des souris WT, Tg30 et Tg30/tauKO .....

PARTIE 3 : ÉTUDE DE LA NEUROGENÈSE HIPPOCAMPIQUE ADULTE DANS LES SOURIS  
TAUKO ET HTAU/TAUKO .....

- 1.1. Analyse du volume de la zone granulaire du gyrus denté des souris tauKO et htau/tauKO avec la méthode de Cavalieri.....
- 1.2. Analyse du nombre total de cellules granulaires dans le gyrus denté des souris tauKO et htau/tauKO .....
- 1.3. Analyse du nombre total de progéniteurs neuronaux dans le gyrus denté des souris tauKO et htau/tauKO.....



PARTIE 4 : INJECTION STÉRÉOTAXIQUE DE PHF HUMAINS DANS L'HIPPOCAMPE DE SOURIS HTAU/TAUKO ET TAUKO .....**Erreur ! Signet non défini.**

1.1. Extraction et caractérisation de protéines tau insolubles dans le Sarkosyl .....

1.2. Injections stéréotaxiques de fractions enrichies en PHF dans des souris htau/tauKO et tauKO .....

1.3. Analyse de la propagation ipsi et contralatérale de la pathologie tau après injection stéréotaxique .....

PARTIE 5 : ANALYSE DE LA NEUROGENÈSE DANS DES COUPES DE CERVEAUX DE PATIENTS ALZHEIMER .....

VII. DISCUSSION.....

X. CONCLUSIONS.....

XI. PERSPECTIVES .....

XII. ARTICLES.....

XIII. RÉFÉRENCES.....

XIV. ANNEXES .....

Solutions.....