



**Fundació**  
La Marató de TV3

20è SIMPOSIUM  
Malalties neurodegeneratives



## **PAPER DE LA PRP<sup>C</sup> COM A *CROSS-TALK PROTEIN* ENTRE ALFA-SINUCLEÏNA/LRRK2 I P-TAU EN LA MALALTIA DE PARKINSON DE TIPUS ESPORÀDIC O FAMILIAR**

**José Antonio del Río Fernández**

Fundació Institut de Bioenginyeria de Catalunya (IBEC)

## 1. Resum del projecte

En les frases següents descrivim els objectius principals de la proposta.

Els **objectius generals** del projecte són els següents:

- i)** Ens agradaria determinar si la PrP<sup>c</sup> està involucrada en la propagació cel·lular d'α-sinucleïna i si aquesta propagació també desencadena la fosforilació de tau d'una manera dependent de PRNP segons es determina per a la malaltia d'Alzheimer. Això es farà tant *in vivo* com *in vitro*.
- ii)** Volem discriminar si la presència de p-tau a PDD + AD està intervinguda per l'α-sinucleïna o els ADDL.
- iii)** A causa d'això, sembla que la demència no està completament associada amb les mutacions LRRK2. Ens agradaria explorar si LRRK2 té un paper en paral·lel a PrP<sup>c</sup> en el control de la dinàmica de p-tau i microtúbuls. Per tant, utilitzarem models cel·lulars (és a dir, la modulació de l'expressió de PrP<sup>c</sup> en línies cel·lulars que expressen LRRK2 o el desenvolupament d'experiments similars en cèl·lules M17 que sobreexpressen α-sinucleïna) i els analitzarem.
- iv)** Per comprendre millor aquests rols en el "pacient" més proper que ens agradaria desenvolupar, es va derivar una caracterització bioquímica i cel·lular de la regulació i acumulació de p-tau en neurones diferenciades (tant neurones dopaminèrgiques com no dopaminèrgiques) derivades a partir d'IPSC de pacients amb MP (familiars i idiopàtics) i controls. En aquesta IPSC derivada de PD amb augment d'α-sinucleïna, la dosificació del gen de PRNP també es modula genèticament.
- v)** Totes aquestes dades es correlacionaran amb l'anàlisi bioquímica i histològica de PrP<sup>c</sup>, p-tau, α-sinucleïna, LRRK2 en diferents regions (és a dir, substància negra, escorça, estriat, amígdala) en PD, PDD i DLB (20 casos/grup) i pacients LRRK2 (G2019S).

Els **objectius específics del projecte** són els següents:

**Objectiu 1.** Conèixer el paper de la PrP<sup>c</sup> en la propagació neural d'  $\alpha$ -sinucleïna *in vitro* i *in vivo*.

**Objectiu 2.** Descobrir si la p-tau a PDD + AD es genera directament per  $\alpha$ -sinucleïna o indirectament per ADDL.

**Objectiu 3.** Explorar si LRRK2 té un paper en paral·lel a la PrP<sup>c</sup> en el control de la dinàmica de p-tau i microtúbuls en les alfa-sinucleïnopaties.

**Objectiu 4.** Analitzar el paper de la dosificació de PRNP en la fosforilació de p-tau i la generació d'  $\alpha$ -sinucleïna en pacients derivats de PD (esporàdics i familiars) i LRRK2 (G2019S) derivats d'IPS.

**Objectiu 5.** Fer estudis bioquímics i histològics en mostres humanes.

## 2. Resultats

**Objectiu 1.** Hem determinat que PrP<sup>c</sup> és un nou receptor per a  $\alpha$ -sinucleïna (Urrea *et al.*, 2017, 2017b; del Ríó *et al.*, 2018). Això es desenvolupa *in vitro* i *in vivo* utilitzant dues soques de ratolí diferents. Hem determinat que la regió del PrP<sup>c</sup> responsable d'unir-se a les protofibril·les d'  $\alpha$ -sinucleïna (PFF) és la regió carregada (CC) de la molècula. Això és rellevant, ja que aquesta regió també comparteix la vinculació amb A $\beta$ .

**Objectiu 2.** Hem determinat que el tractament amb  $\alpha$ -sinucleïna (PFF) indueix p-tau a les neurones corticals primàries. Aquest tractament implica l'activació de Fyn en contra d'altres pèptids que mostren estructures riques com la PrP<sub>106-126</sub>. A causa del fet que PrP<sub>106-126</sub> s'uneix a 113-133 (HR) de PrP<sup>c</sup> en contra d'  $\alpha$ -sinucleïna i  $\beta$ -amiloide, la integritat del domini HR és obligatòria per induir l'agregació de PrP<sup>c</sup> a la membrana i incrementar la p-tau. D'altra banda, la sobreexpressió d'  $\alpha$ -sinucleïna augmenta la generació de p-tau després del tractament amb ADDL.

Tot i que la generació de p-tau és molt baixa després del tractament amb fibril·les d'  $\alpha$ -sinucleïna, generem un doble mutant de ratolins que sobreexpressa 3 mutacions diferents de tau (ratolins VLW) en absència de PrP<sup>c</sup> (ratolins ZH3). Les dades actuals suggereixen que els canvis observats tant en PrP<sup>c</sup> com en tau estan relacionats amb un control epigenètic de tau en el promotor PRNP i canvis en micro-RNA (mi132p). De fet, p-tau és capaç d'induir l'activació del promotor i només neurones cultivades poden internalitzar les PPF de p-tau. La seva acció sobre el promotor està modulada pels factors de transcripció Sp1 i AP1.

**Objectiu 3.** LRRK2 s'ha implicat en la unió de microtúbuls, però malauradament LRRK2 no s'uneix a PrP<sup>c</sup>. No obstant això, competeix per la regulació de la fosforilació de Thr188 per GSK3. Hem confirmat aquestes dades negatives durant els dos últims anys utilitzant Biacore i Co-IP sense resultats positius.

**Objectiu 4.** Vam començar a diferenciar l'IPSc emprant dos protocols diferents: formació d'SNM o diferenciació directa. Fins avui no podem reproduir el transport d'  $\alpha$ -sinucleïna utilitzant IPSc en dispositius microfluídics a causa del baix nombre de neurones TH+ generades a partir de les nostres IPSc. Com a alternativa, estem desenvolupant nous cultius utilitzant poblacions directes de neurones TH+ seleccionades per FACS i sobreexpressant formes mutades de sinucleïna en aquestes cèl·lules per verificar si el transport de les formes patògenes té lloc en aquestes cèl·lules. Aquests experiments s'estan duent a terme actualment com a continuació del projecte.

**Objectiu 5.** Durant el projecte, hem recollit més de 300 mostres de PD i controls de quatre biobancs diferents (Hospital Clínic, Navarra, HUB-Bellvitge i DZNE-Alemanya). Vam començar a determinar els nivells de p-tau en aquestes mostres. Vam utilitzar 2 epítops diferents, AT8 i PFH1. Les mostres van indicar que p-tau està augmentada en el neocòrtex dels pacients amb MP. Incloem PDD (mostres de malaltia de Parkinson en l'estudi). Els resultats preliminars van demostrar que les molècules que modulen la fosforilació de tau (és a dir, la reelina) no es modifiquen en les àrees de la PD en contra d'AD. Dades similars també afecten PrP<sup>c</sup>. Les dades analitzades s'inclouen en una versió preliminar d'un article. Es van emprar més de 200 mostres de pacients, incloses mostres d'LCR d'Alemanya, Navarra, CIM, Hospital Clínic i Mútua de Terrassa.

### 3. Rellevància i implicacions futures

En aquest projecte, hem pogut descriure per primera vegada que la proteïna priònica cel·lular és un receptor per a l'  $\alpha$ -sinucleïna. A més, hem pogut determinar la regió d'unió entre les dues proteïnes, motiu pel qual creiem que s'obren noves vies terapèutiques per tractar de bloquejar aquesta unió i la disseminació de la sinucleïnopatia al cervell dels pacients. En aquest sentit, és important esmentar que la regió o àrea d'acoblament entre l'  $\alpha$ -sinucleïna i la PrP<sup>C</sup> és la mateixa que per a les ADDL en la malaltia d'Alzheimer. Això obre encara més les estratègies terapèutiques putatives centrades en la regió CC (regió d'unió) de l'PrP<sup>C</sup> per a la neurodegeneració. Aquestes estratègies se centren actualment en la immunoteràpia i l'orientació farmacològica dirigida al lloc.

### 4. Bibliografia

- (1) Franco R, Aguinaga D, Reyes I, Canela EI, Lillo J, Tarutani A, Hasegawa M, Del Ser A, **Del Río JA**, Kreutz MR, Saura C, Navarro G.  
*N-Methyl-D-Aspartate receptor link to the MAP kinase pathway in cortical and hippocampal neurons and microglia is dependent on calcium sensors and is blocked by  $\alpha$ -synuclein, Tau and phospho-Tau in non-transgenic and in the transgenic APP<sub>Sw,Ind</sub> mice.*  
Frontiers in Molecular Neuroscience. 11:273, 2018.
- (2) Mata A, Gil V, Pérez-Clausell J, Dasilva M, González-Calixto MC, Soriano E, García-Verdugo JM, Sánchez-Vives MV, **del Río JA**.  
*New functions of semaphorin 3E and its receptor PlexinD1 during developing and adult hippocampal formation.*  
Scientific Reports. 8:1381, 2018.
- (3) **Del Río JA**, Ferrer I, Gavín R.  
*Role of cellular prion protein in interneuronal amyloid transmission.*  
Progress in Neurobiology. 165-167:87-102, 2018.

- (4) Urrea L, Segura-Feliu M, Masuda-Suzukake M, Hervera A, Pedraz L, García Aznar JM, Vila M, Samitier J, Torrents E, Ferrer I, Gavín R, Hagesawa M, **del Río JA**. *Involvement of cellular prion protein in  $\alpha$ -synuclein transport in neurons*. *Molecular Neurobiology*. 55:1847-1860, 2018.
- (5) Matamoros-Angles A, Gayosso LM, Richaud-Patin Y, Di Domenico A, Vergara C, Hervera A, Sousa A, Fernández-Borges N, Consiglio A, Gavín R, López de Maturana R, Ferrer I, López de Munain A, Raya A, Castilla J, Sánchez-Pernaute R, **del Río JA**. *iPS cell cultures from a Gerstmann-Sträussler-Scheinker patient with the Y218N PRNP mutation recapitulate tau pathology*. *Molecular Neurobiology*. 55:3033-3048, 2018.
- (6) Llorens F, Thüne K, Martí E, Kanata E, Dafou D, Díaz-Lucena D, Vivancos A, Shomroni O, Zafar S, Schmitz M, Michel U, Fernández-Borges N, Andréoletti O, **del Río JA**, Díez J, Fischer A, Bonn S, Sklaviadis T, Torres JM, Ferrer I, Zerr I. *Regional and subtype-dependent miRNA signatures in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease are accompanied by alterations in miRNA silencing machinery and biogenesis*. *PLoS Pathogens*. 14(1): e1006802, 2018.
- (7) Urrea L, Ferrer I, Gavín R, **del Río JA**. *The cellular prion protein (PrP<sup>c</sup>) as neuronal receptor for  $\alpha$ -synuclein*. *Prion*. 11:226-233, 2017.
- (8) Mata A, Urrea L, Vilches S, Llorens F, Thüne K, Espinosa JC, Andréoletti O, Sevillano AM, Torres JM, Requena JR, Zerr I, Ferrer I, Gavín R, **Del Río JA**. *Reelin Expression in Creutzfeldt-Jakob Disease and Experimental Models of Transmissible Spongiform Encephalopathies*. *Molecular Neurobiology*. 54:6412-6425, 2017.
- (9) Gutiérrez-Franco A, Eixarch H, Costa C, Gil V, Castillo M, Calvo-Barreiro L, Montalban X, **Del Río JA**, Espejo C. *Semaphorin 7A as a Potential Therapeutic Target for Multiple Sclerosis*. *Molecular Neurobiology*. 54:4820-4831, 2017.

- (10) Vilches S, Vergara C, Nicolás O, Mata A, **Del Río JA**, Gavín R.  
*Domain-specific activation of death-associated intracellular signalling cascades by the cellular prion protein in neuroblastoma cells.*  
Molecular Neurobiology. 53:4438-4448, 2016.
- (11) **Del Río JA**, Gavín R.  
*Functions of the cellular prion protein, the end of Moore's law, and Ockham's razor theory.*  
Prion. 10(1):25-40, 2016.
- (12) Carulla P, Llorens F, Matamoros-Angles A, Aguilar-Calvo P, Espinosa JC, Gavín R, Ferrer I, Legname G, Torres JM, **Del Río JA**.  
*Involvement of PrP(c) in kainite-induced excitotoxicity in several mouse strains.*  
Scientific Reports. 5:11971, 2015.
- (13) Tong Z, Segura-Feliu M, Seira O, Homs-Corbera A, **Del Río JA**, Samitier J.  
*A microfluidic neuronal platform for neuron axotomy and controlled regenerative studies.*  
RSC Advances. 5:73457-73466, 2015.