



**HAL**  
open science

## **Protéasomopathies neurodéveloppementales : une nouvelle classe de maladies du neurodéveloppement causées par une dysfonction du protéasome**

Silvestre Cuiat, Stéphane Bézieau, Wallid Deb, Sandra Mercier, Virginie Vignard, Bérénice Toutain, Bertrand Isidor, Sébastien Küry, Frédéric Ebstein

### ► To cite this version:

Silvestre Cuiat, Stéphane Bézieau, Wallid Deb, Sandra Mercier, Virginie Vignard, et al.. Protéasomopathies neurodéveloppementales : une nouvelle classe de maladies du neurodéveloppement causées par une dysfonction du protéasome. *Médecine/Sciences*, 2024, 40 (2), pp.176-185. 10.1051/med-sci/2023221 . hal-04481137

**HAL Id: hal-04481137**

**<https://hal.science/hal-04481137>**

Submitted on 27 Feb 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

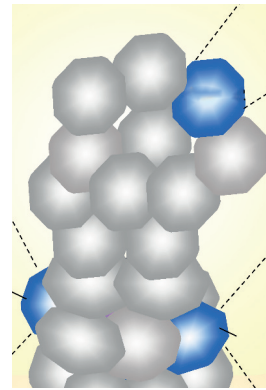
L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

► Le système ubiquitine-protéasome (UPS) est une voie conservée chez les eucaryotes qui permet la dégradation, par les protéasomes, des protéines modifiées par l'ubiquitine. Récemment, une corrélation entre des variants pathogènes de gènes codant le protéasome et l'émergence de nouvelles maladies avec troubles neurodéveloppementaux, dénommés « protéasomopathies neurodéveloppementales », a été mise en évidence. Ces maladies rares se manifestent par des retards psychomoteurs, des troubles du comportement, des dysmorphies faciales et des anomalies multi-systémiques. Dans cette synthèse, nous répertorions les biomarqueurs spécifiques d'une dysfonction protéasomale et nous discutons de leur pertinence pour le diagnostic et les traitements de ces troubles neurodéveloppementaux. ◀

# Protéasomopathies neurodéveloppementales

## Une nouvelle classe de maladies du neurodéveloppement causées par une dysfonction du protéasome

Silvestre Cuinat<sup>1,2</sup>, Stéphane Béziau<sup>1,2</sup>, Wallid Deb<sup>1,2</sup>, Sandra Mercier<sup>1,2</sup>, Virginie Vignard<sup>1,2</sup>, Bérénice Toutain<sup>2</sup>, Bertrand Isidor<sup>1,2</sup>, Sébastien Küry<sup>1,2</sup>, Frédéric Ebstein<sup>2</sup>



<sup>1</sup>Nantes Université, CHU Nantes, Service de génétique médicale, Nantes, France  
<sup>2</sup>Nantes Université, CNRS, Inserm, Institut du thorax, IRS-UN, Nantes, France.  
[frederic.ebstein@univ-nantes.fr](mailto:frederic.ebstein@univ-nantes.fr)

La compréhension du système ubiquitine-protéasome (UPS) remonte à il y a plus de 40 ans, avec la découverte que la modification de protéines intracellulaires par le polypeptide d'ubiquitine entraînait leur dégradation [1]<sup>1</sup>. Depuis, nos connaissances de ce système se sont considérablement améliorées et il est aujourd'hui bien établi que les molécules d'ubiquitine, liées entre elles par la lysine en position 48 (K48) de la protéine, correspondent à un signal de dégradation pour les protéasomes 26S, des complexes enzymatiques constitués d'une particule catalytique 20S surmontée d'une particule régulatrice 19S [2].

La particule 19S est formée de 19 sous-unités distinctes. Elle peut être subdivisée en deux parties : le couvercle et la base [2]. Comme l'illustre la *Figure 1*, le couvercle se compose de huit sous-unités d'échafaudage (*scaffold*) et d'une enzyme de dé-ubiquitination [2]. La base est, quant à elle, constituée de six sous-unités ATPase

AAA+ (*ATPase associated with diverse cellular activities*) différentes et de quatre sous-unités non-ATPases, dont deux récepteurs de l'ubiquitine [2]. La fonction principale de la particule 19S est de capter les protéines qui ont été modifiées par l'ubiquitine (ou ubiquitinées), de les dé-ubiquitiner et de les déplier pour permettre leur translocation dans la particule catalytique 20S [2].

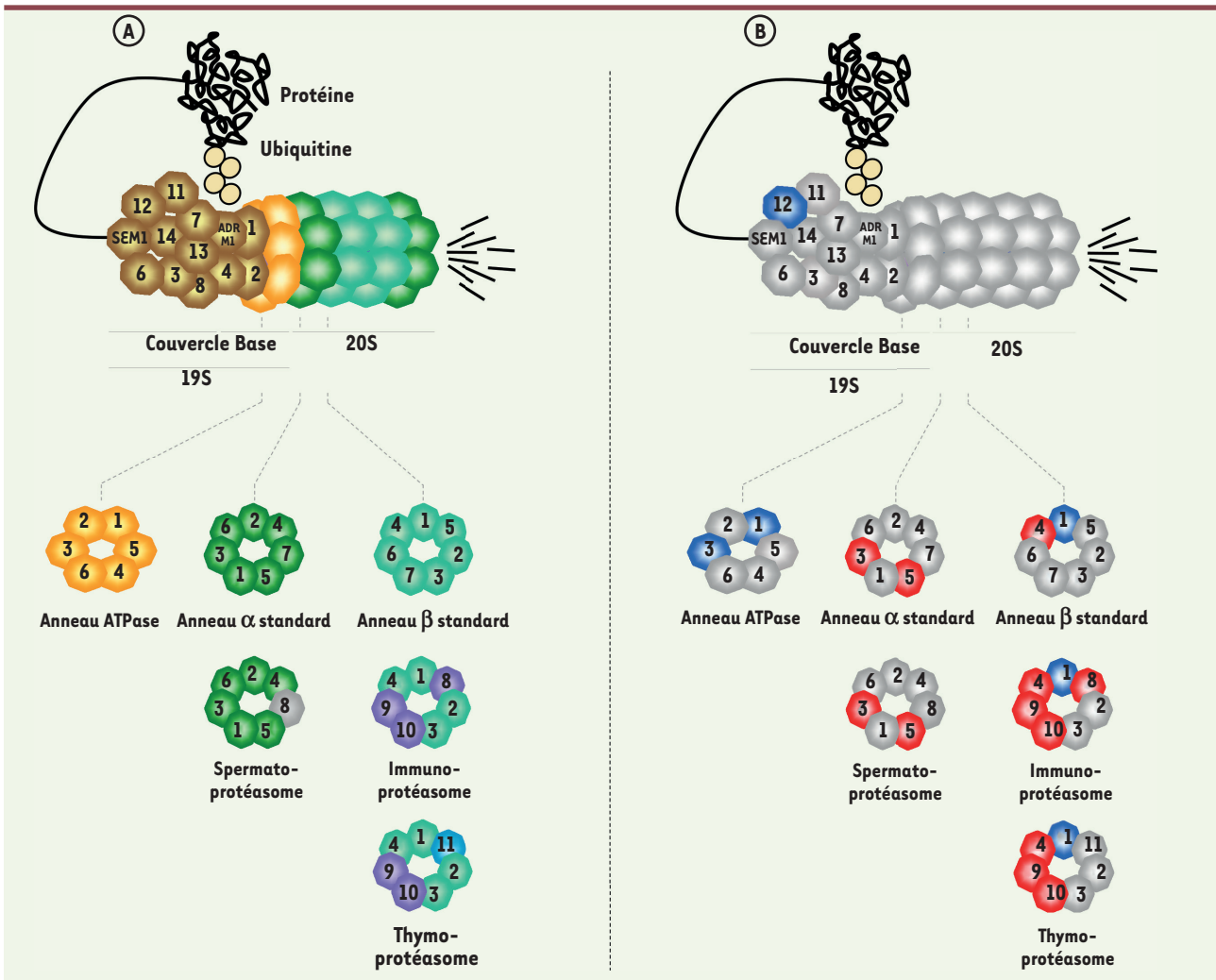
La particule 20S est formée par la juxtaposition de quatre anneaux constitués de deux anneaux  $\alpha$  externes et de deux anneaux  $\beta$  internes, chacun composé de sept sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  différentes [2] (*Figure 1*). C'est au sein de cette particule 20S que se déroule la dégradation des substrats protéiques en peptides grâce à l'action des sous-unités catalytiques PSMB5 (*proteasome 20S subunit beta5*), PSMB6 et PSMB7 [2]. Du fait de sa capacité à cibler spécifiquement les protéines intracellulaires en réponse à divers stimulus, l'UPS joue un rôle crucial dans de nombreux processus essentiels, notamment l'homéostasie des protéines intracellulaires, le contrôle de l'expression génique, ainsi que la régulation d'un grand nombre de voies de signalisation.

### Génétique des protéasomopathies primaires

Les protéasomopathies primaires constituent un groupe émergent de maladies rares. Les altérations génomiques en cause concernent les gènes dont les produits sont impliqués dans la structure et la fonction du protéasome. Les premiers variants pathogènes dans les gènes protéasomiaux ont été découverts récemment, et moins de 120 cas

Vignette (© Frédéric Ebstein).

<sup>1</sup> Prix Nobel de chimie de 2004 attribué à Aaron Ciechanover, Avram Hershko et Irwin Rose (for the discovery of ubiquitin-mediated protein degradation).



**Figure 1. Représentation schématique du protéasome 26S ainsi que des sous-unités responsables du développement de protéasomopathies suite à des variants perte de fonction.** A. Illustration d'un protéasome 26S composé de ses particules catalytique 20S et régulatrice 19S reconnaissant un substrat modifié par l'ubiquitine. La particule 20S se compose de deux anneaux internes  $\beta$  et de deux anneaux externes  $\alpha$ , chacun comprenant 7 sous-unités standards PSMA1-7 et PSMB1-7, respectivement. L'incorporation de la sous-unité  $\alpha$  alternative PSMA8 permet la formation du spermatoprotéasome, tandis que l'incorporation des trois sous-unités  $\beta$  dites « inductibles », PSMB8, PSMB9 et PSMB10, permet la formation de l'immunoprotéasome. Le thymoprotéasome, quant à lui, est un immunoprotéasome au sein duquel la sous-unité  $\beta$  inductible PSMB8 est remplacée par la sous-unité  $\beta$  PSMB11. La particule 19S est constituée d'une base composée de six ATPases différentes (PSMC1-6), ainsi que des sous-unités PSMD1, PSMD2, PSMD4 et ADRM1. Ces deux dernières sont responsables de la reconnaissance de l'ubiquitine. Un couvercle (*lid*) est formé par les sous-unités PSMD3, PSMD6, PSMD7, PSMD8, PSMD11, PSMD12, PSMD13, PSMD14 et SEM1. Certaines de ces sous-unités permettent la dé-ubiquitination des substrats avant leur translocation dans la particule 20S. B. Représentation des sous-unités pour lesquelles des variants responsables de protéasomopathies auto-inflammatoires (en rouge) ou neurodéveloppementales (en bleu) ont été décrits.

de protéasomopathies primaires ont été rapportés. En fonction de la sous-unité impactée, les dysfonctions du protéasome peuvent entraîner deux phénotypes cliniques très distincts : une auto-inflammation systémique ou un trouble du neurodéveloppement (Figure 1).

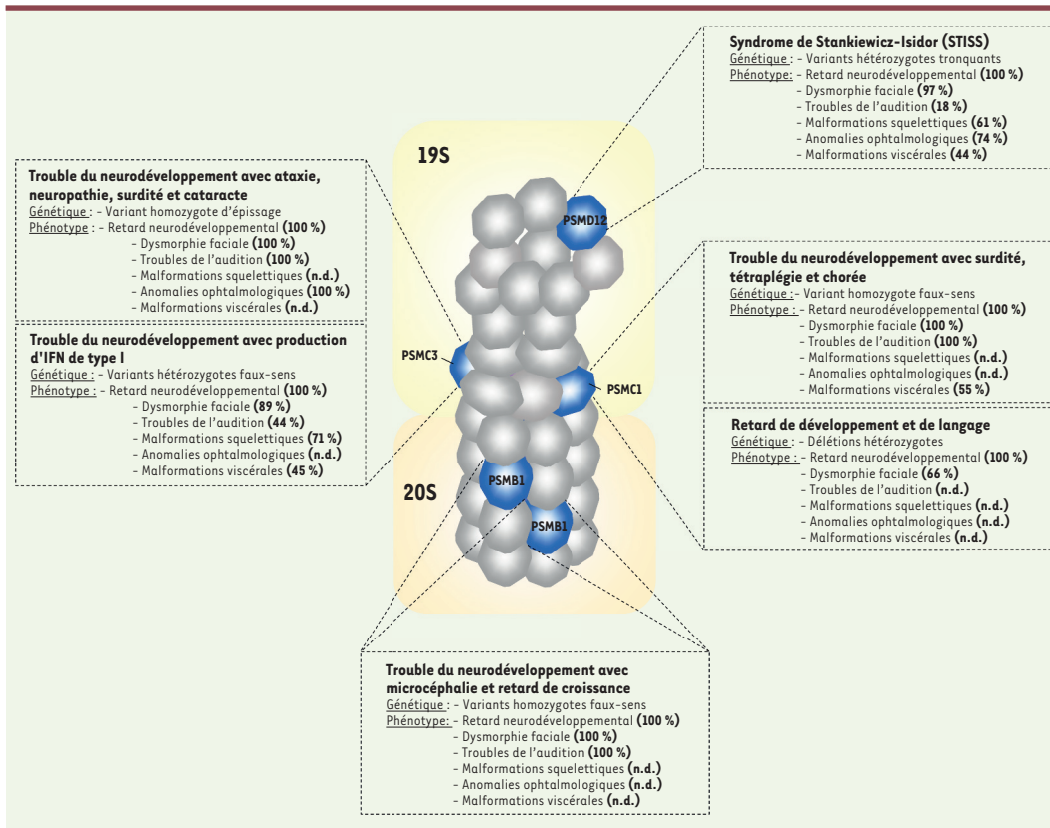
### Les protéasomopathies auto-inflammatoires (CANDLE/PRAAS)

C'est en 2010 que le premier variant pathogène dans un des gènes codant le protéasome a été identifié, chez des patients présentant des signes inflammatoires. Il s'agissait d'un variant faux-sens

homozygote p.(Thr75Met)<sup>2</sup> du gène *PSMB8* codant la sous-unité PSMB8/ $\beta$ 5i de la particule catalytique 20S [3]. Le syndrome auto-inflammatoire provoqué par ce variant se caractérise par des rétractions articulaires, une amyotrophie, une anémie microcytaire<sup>3</sup> et une

<sup>2</sup> P. pour mutation dans la séquence de la protéine : Thr en position 75 mutée en Met.

<sup>3</sup> Anémie caractérisée par une diminution du volume globulaire moyen (VGM).



**Figure 2. Description génétique et phénotypique des six protéasomopathies neurodéveloppementales connues à ce jour.**

Six protéasomopathies neurodéveloppementales résultent de variants perte de fonction dans les sous-unités protéasomales PSMD12, PSMC1, PSMC3 et PSMB1. Bien que ces sous-unités fassent partie du même complexe enzymatique, les phénotypes cliniques qui leur sont associés ne se superposent que partiellement.

panniculite<sup>4</sup> avec lipodystrophie. Depuis, 36 variants pathogènes distincts ont été mis en évidence dans sept gènes du protéasome chez 38 individus souffrant d'une atteinte auto-inflammatoire, désormais appelée dermatose neutrophilique atypique chronique avec lipodystrophie et fièvre persistante (CANDLE), ou syndrome auto-inflammatoire associé au protéasome (PRAAS) [4]. Les sous-unités du protéasome impliquées dans le CANDLE/PRAAS se trouvent exclusivement dans la particule catalytique 20S (Figure 1), notamment les sous-unités spécifiques de l'immunoprotéasome<sup>5</sup>.

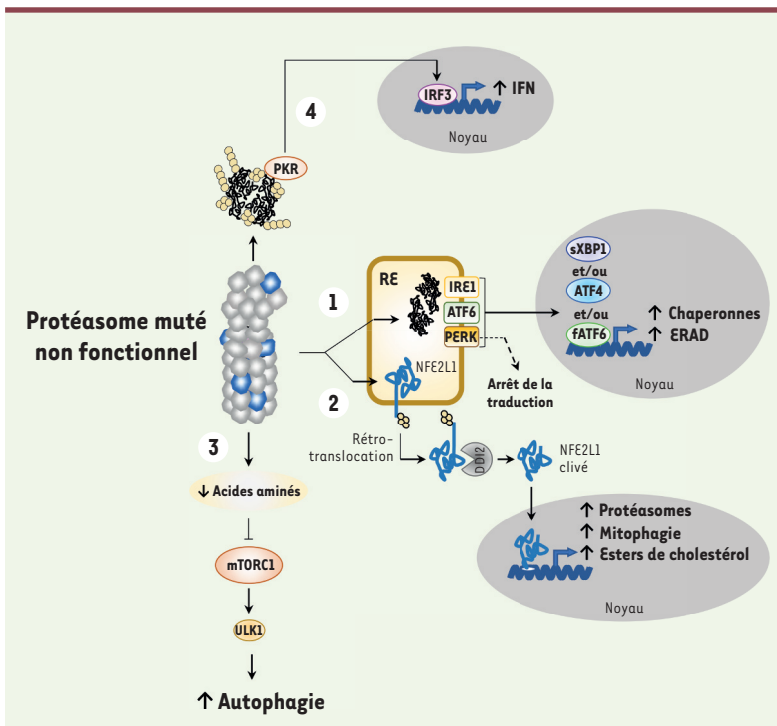
### Les protéasomopathies neurodéveloppementales

Il aura fallu attendre 2017 pour découvrir que des variants de gènes protéasomiaux pouvaient induire un phénotype totalement différent du phénotype auto-inflammatoire décrit dans le CANDLE/PRAAS. Des variants hétérozygotes perte de fonction du gène *PSMD12*, codant une sous-unité de la particule régulatrice 19S du protéasome, ont en effet été associés à un syndrome rare avec trouble du neurodéveloppement (TND), le syndrome de Stankiewicz-Isidor (STISS) [5]. Depuis, le concept de protéasomopathies neurodéveloppementales a été considérablement renforcé par l'identification de variants situés

dans d'autres gènes du protéasome chez des patients présentant des manifestations neurologiques comparables. À ce jour, 46 variants pathogènes différents de gènes codant le protéasome ont été identifiés, chez 78 individus présentant des TND. Six protéasomopathies neurodéveloppementales ont ainsi été décrites. Elles impliquent trois sous-unités de la particule régulatrice 19S du protéasome, PSMC1 (*proteasome 26S subunit, ATPase 1*)/Rpt2, PSMC3 (*proteasome 26S subunit, ATPase 3*)/Rpt5 et PSMD12 (*proteasome 26S subunit, non-ATPase 12*)/Rpn5, ainsi qu'une sous-unité de la particule catalytique 20S, PSMB1/β6 [5-10] (Figure 2). Ces maladies se caractérisent toutes par un retard de développement léger à sévère, comprenant le plus souvent un retard d'acquisition du langage (dans 97 % des cas) et des troubles cognitifs (dans 85 % des cas) (Tableau 1). Ces manifestations s'accompagnent très fréquemment d'autres troubles du neurodéveloppement (dans 66 % des cas), tout particulièrement de troubles du spectre autistique (TSA) ou de troubles déficitaires de l'attention avec ou sans hyperactivité (TDAH). La plupart des patients présentent des anomalies morphologiques (plus de 95 % des cas) et, de façon variable, des malformations touchant le cerveau, le cœur, les reins, le système reproducteur et le squelette.

<sup>4</sup> Une panniculite est une inflammation de la graisse sous-cutanée.

<sup>5</sup> Les principaux complexes de protéasomes comprennent les protéasomes standard (sp), les immunoprotéasomes (IP) et les protéasomes hybrides (HP) qui se distinguent par la nature de leurs sous-unités catalytiques. L'immunoprotéasome, formé en réponse à l'interféron-γ, génère des peptides dont la taille est plus appropriée pour la présentation des antigènes par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I.



**Figure 3. Illustration des mécanismes cellulaires mis en place en réponse à une dysfonction protéasomale.**

La perte d'activité des protéasomes s'accompagne de la genèse d'un certain nombre de signaux de danger dont la reconnaissance par des systèmes spécialisés permet la mise en place de mécanisme de compensation destinés à combattre le déséquilibre de l'homéostasie protéique. Ainsi, une dysfonction protéasomale s'accompagne d'un défaut de rétro-translocation des protéines en voie de synthèse qui sont mal repliées. L'accumulation de ces protéines dans le réticulum endoplasmique (RE) conduit au déclenchement de la *unfolded protein response* (UPR) après activation des 3 récepteurs membranaires IRE1 (*inositol-requiring protein 1*), ATF6 (*activating transcription factor 6*) et PERK (*PRKR-like endoplasmic reticulum kinase*) (1). L'UPR permet alors un arrêt transitoire de la synthèse protéique ainsi que l'augmentation de la transcription de chaperonnes moléculaires et de composants du système de rétro-translocation (ERAD). Des protéasomes défectueux conduisent aussi à la stabilisation de la protéine à

courte durée de vie NFE2L1 (*nuclear factor erythroid 2-related factor 1*) qui va ainsi subir un clivage protéolytique par la protéase DDI2 (*DNA-damage inducible 1 homolog 2*). La région C-terminale, issue du clivage, est un facteur de transcription dont la translocation dans le noyau induit l'expression des gènes des sous-unités de protéasome, de la mitophagie et de l'estérification de cholestérol (2). Une dysfonction protéasomale résulte également en une réduction de fragments peptidiques et, par conséquent, d'acides aminés dont la carence est perçue par le complexe mTORC1 (*mammalian target of rapamycin complex 1*) qui va alors activer les mécanismes de l'autophagie en diminuant la phosphorylation d'ULK1 (*Unc-51-like kinase 1*) (3). Enfin, l'accumulation anormale de protéines modifiées par l'ubiquitine entraîne une activation de la protéine kinase R (PKR) qui induit une voie de signalisation conduisant au développement d'une réponse IFN de type I (4).

### Des biomarqueurs potentiels spécifiques des protéasomopathies neurodéveloppementales

Tous les variants pathogènes ayant un impact sur le protéasome induisent un stress protéotoxique qui se manifeste d'abord par l'agrégation de protéines modifiées par l'ubiquitine dans le cytosol. De multiples systèmes de contrôle, capables de détecter et de corriger les perturbations de l'homéostasie protéique, existent. Autant de systèmes qui peuvent constituer des biomarqueurs potentiels des protéasomopathies neurodéveloppementales (Figure 3).

### Agrégation cytosolique accrue de protéines modifiées par l'ubiquitine

Des inclusions positives en immunohistochimie pour l'ubiquitine ont été régulièrement observées dans le cytoplasme de différents types de cellules chez des individus porteurs de variants de gènes codant le protéasome, indépendamment de leur phénotype clinique [5, 7, 11-14]. Ces agrégats de protéines modifiées par l'ubiquitine proviennent principalement de produits ribosomiaux défectueux (DRiP, pour *defective ribosomal products*), c'est-à-dire de protéines nou-

vellement synthétisées mais qui n'ont pas atteint leur conformation tridimensionnelle native et fonctionnelle [15]. On estime que 20 à 30 % des produits de traduction sont des DRiP, qui sont donc destinés à être dégradés [15]. Les tissus ayant une forte demande de synthèse protéique sont ainsi plus sensibles au dysfonctionnement du protéasome ce qui les rend susceptibles d'être soumis à un stress protéotoxique potentiellement plus important.

### Induction de l'autophagie

Le dysfonctionnement du protéasome stimule la deuxième voie de dégradation principale des cellules eucaryotes, la voie autophagique-lysosomale [16]. L'autophagie est un processus intracellulaire hautement conservé qui séquestre les substrats cytosoliques dans des vacuoles à double membrane, appelées autophagosomes, avant leur dégradation dans les lysosomes [16]. Nos études sur le STISS suggèrent que l'induction de l'autophagie dans des cellules déficientes en protéasome impliquerait probablement la voie mTOR (*mammalian*

	<b>Syndrome de Stankiewicz-Isidor (STISS)</b>	<b>Trouble du neurodéveloppement avec production d'IFN de type I</b>	<b>Trouble du neurodéveloppement avec ataxie, neuropathie, surdité et cataracte</b>	<b>Trouble du neurodéveloppement avec surdité, tétraplégie et chorée</b>	<b>Retard de développement et de langage</b>	<b>Trouble du neurodéveloppement avec microcéphalie et retard de croissance</b>
<b>Gène impliqué</b>	PSMD12	PSMC3	PSMC1	PSMC1	PSMB1	PSMB1
<b>Mode de transmission</b>	(33/45) <i>De novo</i> (9/45) Dominante (3/45) n.d	(21/22) <i>De novo</i> (1/22) n.d	(3/3) Récessive	(3/3) Récessive	(1/3) <i>De novo</i> (1/3) Dominante (1/3) n.d	(2/2) Récessive
<b>Références</b>	[5]	[6]	[7]	[9]	[10]	[8]
<b>Caractéristiques génétiques</b>						
<b>Nombre de cas publiés</b>	45	22	3	3	3	2
<b>Sexe (âge lors de la dernière évaluation)</b>	24 H / 21 F (1 à 42 ans)	13 H / 9 F (âge n.a)	3 H (7 à 16 ans)	3 H (3 à 20 ans)	3 H (3 à 6 ans)	2 F (22 à 35 ans)
<b>Type(s) de variant(s)</b>	Hétérozygotes tronquants	Hétérozygotes faux-sens	Homozygote d'épissage	Homozygote faux-sens	Délétions hétérozygotes	Homozygote faux-sens
<b>Retard de développement</b>	100 % (45/45)	100 % (21/21)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (2/2)
<b>Retard de langage</b>	94 % (32/34)	100 % (18/18)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (2/2)
<b>Retard moteur</b>	50 % (17/34)	78 % (14/18)	n.d	100 % (3/3)	0 % (0/3)	100 % (2/2)
<b>Déficience intellectuelle Sévérité</b>	85 % (34/40) légère à sévère	88 % (15/17) n.d	100 % (3/3) légère à sévère	100 % (3/3) sévère	33 % (1/3) légère	100 % (2/2) sévère
<b>Caractéristiques neurologiques</b>						
<b>Comportement anormal</b>	67 % (25/37)	53 % (9/17)	66 % (2/3)	n.d	100 % (3/3)	100 % (2/2)
<b>- traits autistiques</b>	31 % (13/42)	n.d	66 % (2/3)	n.d	33 % (1/3)	0 % (0/2)
<b>- troubles de l'attention</b>	12 % (5/42)	n.d	0 % (0/3)	n.d	33 % (1/3)	50 % (1/2)
<b>- épilepsie</b>	13 % (6/45)	25 % (5/20)	0 % (0/3)	0 % (0/3)	0 % (0/3)	0 % (0/2)
<b>IRM cérébral anormal</b>	21 % (4/19) Kyste pinéal, Atrophie cérébrale, Hypomyélinisation, Hétérotopie nodulaire périventriculaire	79 % (11/14) n.d	0 % (0/3)	100 % (2/2) Ventriculomégalie	0 % (0/1)	n.d

<b>Caractéristiques neurologiques</b>	n.d	n.d	Ataxie 100 % (3/3) Polyneuropathie périphérique des membres inférieurs : 66 % (2/3)	Tétraplégie spastique : 100 % (3/3) Chorée : 100 % (3/3) Hypotonie centrale : 100 % (3/3)	n.d	Hypotonie : 100 % (2/2)
<b>Troubles de l'audition</b>	18 % (6/34)	8/18 (44 %)	100 % (3/3)	100 % (3/3)		100 % (2/2)
<b>Caractéristiques sensorielles</b>	74 % (20/27) y compris strabisme, colobome, anomalie de Peters, opacité cornéenne	n.d	Cataracte précoce : 100 % (3/3) Strabisme : 66 % (2/3)	n.d	n.d	n.d
<b>Retard de croissance intra-utérine</b>	37 % (9/24)	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
<b>Défaut de croissance</b>	40 % (4/10)	50 % (9/18)	n.d	n.d	n.d	100 % (2/2)
<b>Dysmorphie faciale</b>	97 % (44/45)	89 % (17/19)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	66 % (2/3)	100 % (2/2)
<b>Microcéphalie</b>	21 % (9/42)	38 % (6/16)	n.d	100 % (3/3)	n.d	100 % (2/2)
<b>Macrocéphalie</b>	7 % (3/42)	13 % (2/16)	n.d	0 % (0/3)	n.d	0 % (0/2)
<b>Anomalies squelettiques</b>	61 % (21/34) y compris les anomalies du pouce : 29 % (10/34)	71 % (10/14)	n.d	n.d	n.d	n.d
<b>Cardiaque</b>	44 % (15/34)	59 % (10/17)	n.d	33 % (1/3)	n.d	n.d
<b>Rénales</b>	50 % (15/30)	29 % (4/14)	n.d	33 % (1/3)	n.d	n.d
<b>Génitales</b>	40 % (12/30)	n.d	n.d	100 % (3/3)	n.d	n.d
<b>Autres constatations</b>	Pancytopenie congénitale : 2 % (1/45) Fente palatine : 2 % (1/45)	Tumeurs : 11 % (2/18) Craniopharyngiome et neuroblastome Fentes orofaciales : 10 % (2/19)	Malformations du canal semi-circulaire 33 % (1/3) Poils dépigmentés des membres inférieurs 66 % (2/3)	n.d	Troubles du sommeil : 66 % (2/3)	n.d
<b>Engelures</b>	5 % (2/36)	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
<b>Éruptions cutanées urticantes</b>	3 % (1/36)	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
<b>Uvêite congénitale</b>	3 % (1/36)	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
<b>Calcifications sous-cutanées</b>	n.d	n.d	100 % (3/3)	n.d	n.d	n.d

Tableau 1. Caractéristiques cliniques des protéosomopathies neurodéveloppementales. H : homme ; F : femme ; n.d. : non déterminé.

target of rapamycin)<sup>6</sup>, dont l'activité est diminuée suite à une réduction de l'approvisionnement en peptides et en acides aminés causée par des protéasomes défectueux [14]. La réduction de la signalisation mTOR se traduit par une diminution de la phosphorylation de ULK1 (*Unc-51-like kinase 1*), ce qui active alors le processus d'autophagie [17]. Le spectre des substrats de l'autophagie est cependant bien plus large que celui de l'UPS. Il intègre en effet des organites intracellulaires, tels que les mitochondries défectueuses, un processus autophagique appelé, dans ce cas, mitophagie [16]. Ce sont précisément des taux élevés de dégradation des mitochondries par mitophagie que nous avons observés dans les cellules de patients présentant un STISS [18].

### Activation du facteur de transcription NFE2L1

Les protéasomes défectueux stimulent leur propre synthèse, selon un processus impliquant la protéine NFE2L1 (*nuclear factor erythroid 2-like 1*) qui est localisée dans la membrane du réticulum endoplasmique (RE). NFE2L1 est un facteur de transcription hautement glycosylé de courte durée de vie. En cas de perturbation du protéasome, NFE2L1 se stabilise et subit un clivage protéolytique par la protéase DDI2 (*DNA damage inducible 1 homolog 2*) [19]. La partie C-terminale de NFE2L1 alors libérée, est transloquée dans le noyau de la cellule et induit la transcription des gènes codant le protéasome (*Figure 3*) [19]. Or l'axe NFE2L1-DDI2 est activé de manière persistante chez des individus porteurs de variants du gène *PSMC3*, créant ainsi un cercle vicieux dans lequel les protéasomes défectueux s'autorégulent [7]. Les gènes cibles de NFE2L1 comprennent également des gènes liés à la mitophagie et à l'estérification du cholestérol [20, 21], suggérant ainsi une régulation croisée entre la fonction du protéasome et le métabolisme énergétique de la cellule.

### Induction de la *unfolded protein response*

L'homéostasie des protéines est continuellement contrôlée au niveau du RE. Les protéines défectueuses, destinées à être relarguées dans le compartiment extracellulaire, sont en effet acheminées vers le RE puis le cytosol. Ce processus de rétro-translocation, appelé ERAD pour *endoplasmic reticulum-associated degradation*, est assuré par un mécanisme reposant sur un système ubiquitine-protéasome spécialisé et dédié au RE. Tout déclin de l'activité du protéasome s'accompagne d'un dysfonctionnement de l'ERAD et donc d'une accumulation simultanée de protéines mal repliées et/ou endommagées dans le RE. Cela active alors trois récepteurs membranaires, ATF6 (*activating transcription factor 6*), PERK (*PKR-related endoplasmic reticulum kinase*), et IRE1 (*inositol requiring enzyme 1*) [22], à l'origine d'une réponse de stress appelée *unfolded protein response* (UPR), ou stress du réticulum. Ce programme transcriptionnel compensatoire vise principalement à induire l'expression de chaperonnes moléculaires [22]. IRE1 activé, élimine un intron de 26 nucléotides de l'ARNm de la protéine uXBP1 (*X-box binding protein 1*) cytoplasmique. Cet épissage

donne naissance à une forme activée de XBP1, sXBP1 (s pour *spliced*). sXBP1 est un facteur de transcription qui induit la transcription de gènes qui participent à l'augmentation de la capacité de repliement protéique du RE et favorisent l'ERAD des protéines non repliées. La fiabilité de ces biomarqueurs de l'UPR, tels que sXBP1 (*spliced X-box binding protein 1*) ou encore BiP (ou GRP78, pour *glucose-regulated protein 78*), qui se lie et inhibe IRE1 mais est libéré lors d'un stress du RE, pour évaluer le dysfonctionnement du protéasome, a récemment été démontrée dans les protéosomopathies auto-inflammatoires et neurodéveloppementales [4].

### Acquisition d'une signature moléculaire interféron de type I

Qu'elles soient auto-inflammatoires ou neurodéveloppementales, les protéosomopathies semblent systématiquement associées à des signatures transcriptionnelles persistantes d'interférons (IFN) de type I dans les leucocytes [23]. Ces réponses seraient initiées par la protéine kinase R (PKR) en réponse à l'agrégation accrue de protéines cytosoliques, perçue alors comme un signal de danger [24]. Bien que la mise en évidence d'une signature moléculaire auto-inflammatoire ne soit pas surprenante chez les patients présentant un CANDLE/PRAAS, il n'était pas attendu de la retrouver à des niveaux similaires chez les patients atteints de protéosomopathies neurodéveloppementales sans manifestation inflammatoire clinique. Une telle discordance n'est pas totalement nouvelle. Des observations similaires avaient été faites chez des patients présentant des troubles du spectre autistique, ou des troubles bipolaires (ou schizophrénie), qui sont en effet sujets à une inflammation biologique chronique (ou inflammation de bas grade) sans symptômes inflammatoires. Les patients porteurs d'une trisomie 21, ou syndrome de Down<sup>7</sup>, par exemple, présentent ce type d'inflammation infraclinique, avec une production élevée d'interféron de type I [25].

### Vers un diagnostic des protéosomopathies neurodéveloppementales

Avec la mise en place progressive du séquençage du génome entier dans la pratique clinique courante, on s'attend à ce que le nombre de nouveaux patients atteints de protéosomopathie neurodéveloppementale identifiés par ces méthodes augmente dans les années

<sup>6</sup> La protéine kinase mTOR est l'acteur central du contrôle de l'induction de l'autophagie. Lorsqu'elle est active, mTOR inhibe la voie de l'autophagie. La diminution en nutriments est un inducteur important de l'autophagie.

<sup>7</sup> Les troubles du spectre autistique (TSA) sont fréquents chez les personnes présentant une trisomie 21.



à venir. L'identification de nouveaux variants et la constitution de cohortes de patients plus importantes permettront sans aucun doute de mieux comprendre la corrélation existant entre génotype et phénotype dans ces maladies. Cependant, le plus grand défi pour l'établissement du diagnostic restera la reclassification des variants de signification incertaine (ou VSI) soit comme variants pathogènes, soit comme variants bénins, ce qui nécessitera une multiplicité de tests fonctionnels.

À ce jour, la seule méthode pour étudier la pathogénicité d'un VSI dans les gènes du protéasome consiste à évaluer la fonction du protéasome dans des échantillons biologiques. Idéalement, des tests fonctionnels de routine permettraient une quantification reproductible et fiable de l'activité du protéasome, ainsi que des biomarqueurs associés à son dysfonctionnement, tels que l'augmentation de l'agrégation des protéines, de la mitophagie et des réponses IFN dans des échantillons sanguins. Cependant, le coût et la nature chronophage de ces approches, qui reposent sur des méthodes comme l'analyse de protéines et de leur antigénicité par électrophorèse suivie de *western-blot*, rendent ces investigations difficiles à adapter à des fins de diagnostic rapide.

Le développement récent des sondes ABP (*activity based probe*), des petites molécules qui se lient de manière covalente aux sites actifs des enzymes et révèlent leur activation, peut offrir une alternative intéressante pour étudier ces VSI. L'utilisation d'ABP fluorescentes permet désormais de quantifier directement l'activité enzymatique de ces protéines par analyse des cellules en cytométrie en flux [26]. Un grand nombre d'ABP fluorescentes ont été conçues pour surveiller l'activité de diverses protéases, y compris des protéasomes [26]. Bien que leur pertinence pour la validation des VSI n'ait pas encore été explorée, des ABP spécifiques des protéasomes semblent être adaptées au diagnostic des protéasomopathies neurodéveloppementales à partir d'échantillons sanguins. Idéalement, cette stratégie devrait inclure la quantification simultanée de biomarqueurs pertinents du dysfonctionnement du protéasome, en utilisant la même approche de cytométrie en flux, au sein d'une plateforme analytique qui serait « tout-en-un ». Cet objectif pourrait être atteint en utilisant deux sondes fluorescentes spécifiques, PROTEOSTAT® et MtPhagy, qui permettent d'évaluer, respectivement, l'agrégation des protéines et le niveau de mitophagie [14, 27]. L'utilisation d'anticorps monoclonaux fluorescents ciblant des protéines de surface cellulaire spécifiquement induites par l'IFN permettrait également une évaluation simultanée de l'activité de signalisation *via* l'IFN dans les mêmes échantillons, par cytométrie en flux. Parmi ces marqueurs, citons notamment Siglec-1 (*sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin*, ou CD169), une molécule d'adhérence dont l'expression dépend de la signalisation par les IFN- $\lambda$ , pour laquelle la pertinence pour le diagnostic des interféronopathies a déjà été établie [28]. Ces approches expérimentales devraient fournir une procédure diagnostique complémentaire pour évaluer la signification fonctionnelle des VSI touchant les gènes codant le protéasome, nouvellement identifiés par séquençage haut débit.

## Les thérapeutiques potentielles

Bien que les troubles neurologiques associés aux protéasomopathies neurodéveloppementales semblent souvent présents dès la naissance, il existe un espoir raisonnable de développer des stratégies thérapeutiques capables d'améliorer la symptomatologie dans un avenir proche. La difficulté de concevoir de tels traitements résulte du manque de cibles moléculaires pertinentes, une limitation due à notre compréhension encore partielle de la pathogenèse de la maladie.

Même si la contribution des réponses IFN persistantes dans le développement du handicap neurologique reste à prouver, l'auto-inflammation – considérée infraclinique à tort – peut être contrôlée pharmacologiquement. Le ciblage de l'inflammation est une approche thérapeutique déjà utilisée dans d'autres interféronopathies, comme le syndrome d'Aicardi-Goutières (AGS), une encéphalopathie inflammatoire causée par des variants pathogènes de gènes dont les produits participent au catabolisme des acides nucléiques [29]. Le traitement de ce syndrome repose sur l'utilisation d'inhibiteurs spécifiques de la kinase Janus (JAK), comme le baricitinib, visant à bloquer la signalisation chronique de l'IFN [30-32]. Bien que ces thérapies aient prouvé leur efficacité pour atténuer les manifestations cutanées dues à l'inflammation chronique, elles ont été associées à des effets indésirables graves, notamment des infections récurrentes [31]. Cela est probablement dû à la perte de réponse IFN, essentielle pour activer le système immunitaire contre les agents pathogènes. Notons que l'amélioration objective de la fonction cognitive, qui pourrait résulter de la suppression de l'IFN, reste encore à déterminer [31].

Les futures stratégies de traitement devront se concentrer sur des cibles en amont des réponses IFN et sur la recherche de la restauration de la fonction du protéasome. Une approche visant à rétablir l'activité des protéasomes dont les sous-unités sont mutées pourrait, par exemple, cibler les processus physiologiques qui régulent l'activité des protéasomes *in vivo*. En phosphorylant des sous-unités spécifiques du protéasome, la protéine kinase A (PKA), dépendante de l'AMP cyclique (AMPC), et la protéine kinase G (PKG), dépendante du GMP cyclique (GMPc), accélèrent le renouvellement des protéines mal repliées [33, 34]. Les traitements fondés sur l'utilisation d'inhibiteurs de la phosphodiesterase (PDE), qui dégrade l'AMPC, ou de stimulateurs de la guanylate cyclase (GC), qui catalyse la formation de GMPc à partir du GTP, ont été associés à une augmentation de la fonction du protéasome dans plusieurs types de cellules, y compris les neurones [33, 34]. L'activité

du protéasome peut également être augmentée en inhibant la MAPK (*mitogen-activated protein kinases*) p38, dont une des fonctions physiologiques est de réguler négativement l'activité du protéasome [35, 36]. Une autre possibilité repose sur l'inhibition, par la petite molécule IU1<sup>8</sup>, de l'enzyme de dé-ubiquitination USP14, un régulateur négatif de l'activité protéasomale, pour augmenter les trois activités catalytiques du protéasome [37].

Certains activateurs du protéasome décrits jusqu'à présent comprennent des composés chimiques utilisés pour le traitement de troubles psychiatriques, notamment la chlorpromazine [38], un neuroleptique utilisé pour traiter certains troubles, tels que la schizophrénie, le trouble maniaque et les problèmes de comportement. Le mode d'action de la chlorpromazine sur les protéasomes n'a cependant pas encore été entièrement exploré. L'ouverture du complexe 20S (*gate opening*) [39] peut également représenter une stratégie prometteuse pour induire la dégradation des protéines dans les cellules dans lesquelles les protéasomes sont défectueux. Quelques substances naturelles se sont également révélées capables d'augmenter l'activité du protéasome *in vitro*, notamment la curcumine, qui empêche la phosphorylation de PMSC3/Rpt5 en ciblant la kinase DYRK2 (*dual specificity tyrosine phosphorylation regulated kinase 2*) [40].

Il existe donc une grande variété d'options pour restaurer la fonction du protéasome et lutter contre l'agrégation des protéines dans les protéasomopathies neurodéveloppementales. Les recherches futures devront examiner la pertinence de ces stratégies dans les cellules isolées des patients, ainsi que dans les modèles précliniques.

## Conclusion

Les protéasomopathies neurodéveloppementales représentent un groupe émergent de maladies rares dont les descriptions cliniques et moléculaires restent incomplètes. La compréhension de leur physiopathologie est rendue complexe par la multiplicité des processus cellulaires essentiels dans lesquels les protéasomes sont impliqués, de même que par l'hétérogénéité phénotypique et génotypique de ces protéasomopathies. Il est possible que certaines différences cliniques au sein des protéasomopathies découlent de rôles distincts joués par les sous-unités des protéasomes dans la régulation de leur stabilité, leur localisation, les modifications post-traductionnelles qu'ils subissent, et/ou dans leur interactome. Les biomarqueurs associés au dysfonctionnement du protéasome, dont le nombre ne cesse de croître, restent cependant à exploiter avant de pouvoir être utilisés à des fins diagnostiques et thérapeutiques. ♦

## SUMMARY

### Neurodevelopmental proteasomopathies : New disorders caused by proteasome dysfunction

The ubiquitin-proteasome system (UPS) is a conserved degradation pathway in eukaryotes, playing a central role in various cellular

processes, including maintaining protein homeostasis, regulating the cell cycle and signaling pathways, as well as orchestrating cell survival and death. Proteins targeted for UPS-mediated degradation undergo ubiquitin chain modification before being degraded by 26S proteasomes. Recently, a correlation has emerged between pathogenic proteasome variants and the onset of neurodevelopmental disorders. Termed "neurodevelopmental proteasomopathies", these syndromes are rare and characterized by delayed psychomotor development, behavioral disorders, facial dysmorphism, and multisystemic anomalies. In this review, we examine current knowledge on proteasomal dysfunctions and assess their relevance in the search for biomarkers for the diagnosis and potential treatment of these syndromic proteasomopathies. ♦

## REMERCIEMENTS

Nous remercions le Programme commun européen sur les maladies rares (EJP RD) pour son soutien au projet UPS-NDDiag, ainsi que l'Agence nationale de la recherche (ANR) et la Région Pays de la Loire pour son soutien au projet UPS-NDDecipher (ANR-21-CE17-0005). Nous remercions également les mutuelles AXA pour leur généreux soutien. FE est bénéficiaire d'un I-SITE NExT Junior Talent.

## LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

## RÉFÉRENCES

- Ciechanover A, Hod Y, Hershko A. A heat-stable polypeptide component of an ATP-dependent proteolytic system from reticulocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1978 ; 81 : 1100-5.
- Bard JAM, Goodall EA, Greene ER, et al. Structure and Function of the 26S Proteasome. *Annu Rev Biochem* 2018 ; 87 : 697-724.
- Agarwal AK, Xing C, Demartino GN, et al. PSMB8 Encoding the  $\beta$ 5i Proteasome Subunit Is Mutated in Joint Contractures, Muscle Atrophy, Microcytic Anemia, and Panniculitis-Induced Lipodystrophy Syndrome. *Am J Hum Genet* 2010 ; 87 : 866-72.
- Ebstein F, Poli Harlowe MC, Studencka-Turski M, et al. Contribution of the Unfolded Protein Response (UPR) to the Pathogenesis of Proteasome-Associated Autoinflammatory Syndromes (PRAAS). *Front Immunol* 2019 ; 10 : 2756.
- Küry S, Besnard T, Ebstein F, et al. De Novo Disruption of the Proteasome Regulatory Subunit PSMD12 Causes a Syndromic Neurodevelopmental Disorder. *Am J Hum Genet* 2017 ; 100 : 352-63.
- Ebstein F, Küry S, Most V, et al. PSMB3 proteasome subunit variants are associated with neurodevelopmental delay and type I interferon production. *Sci Transl Med* 2023 ; 15 : eabo3189.
- Kröll-Hermi A, Ebstein F, Stoetzel C, et al. Proteasome subunit PSMB3 variants cause neurosensory syndrome combining deafness and cataract due to proteotoxic stress. *EMBO Mol Med* 2020 ; 12 : e11861.
- Ansar M, Ebstein F, Özkoç H, et al. Biallelic variants in PSMB1 encoding the proteasome subunit  $\beta$ 6 cause impairment of proteasome function, microcephaly, intellectual disability, developmental delay and short stature. *Hum Mol Genet* 2021 ; 29 : 1132-43.
- Aharoni S, Proskorovski-Ohayon R, Krishnan RK, et al. PSMB1 variant causes a novel neurological syndrome. *Clin Genet* 2022 ; 102 : 324-32.
- Eno CC, Graakjaer J, Svaneby D, et al. 14q32.11 microdeletion including CALM1, TTC7B, PSMB1, and RPS6KA5 : A new potential cause of developmental and language delay in three unrelated patients. *Am J Med Genet A* 2021 ; 185 : 1519-24.

<sup>8</sup> 1- (1- (4-fluorophenyl)-2, 5-dimethyl-1H-pyrrol-3-yl)-2- (pyrrolidin-1-yl) ethanone, 1- (1- (4-Fluorophenyl)-2, 5-dimethylpyrrol-3-yl)-2-pyrrolidin-1-ylethanone.

## RÉFÉRENCES

11. Brehm A, Liu Y, Sheikh A, et al. Additive loss-of-function proteasome subunit mutations in CANDLE/PRAAS patients promote type I IFN production. *J Clin Invest* 2015 ; 125 : 4196-211.
12. Poli MC, Ebstein F, Nicholas SK, et al. Heterozygous Truncating Variants in POMP Escape Nonsense-Mediated Decay and Cause a Unique Immune Dysregulatory Syndrome. *Am J Hum Genet* 2018 ; 102 : 1126-42.
13. Ebstein F, Küry S, Most V, et al. De novo variants in the PSMC3 proteasome AAA-ATPase subunit gene cause neurodevelopmental disorders associated with type I interferonopathies. *medRxiv* 2021 ; 2021.12.07.21266342.
14. Isidor B, Ebstein F, Hurst A, et al. Stankiewicz-Isidor syndrome : expanding the clinical and molecular phenotype. *Genet Med* 2022 ; 24 : 179-91.
15. Yewdell JW, Nicchitta C V. The DRiP hypothesis decennial : support, controversy, refinement and extension. *Trends Immunol* 2006 ; 27 : 368-73.
16. Kocaturk NM, Gozuacik D. Crosstalk between mammalian autophagy and the ubiquitin-proteasome system. *Front Cell Dev Biol* 2018 ; 6 : 128.
17. Feng Y, Yao Z, Klionsky DJ. How to control self-digestion : transcriptional, post-transcriptional, and post-translational regulation of autophagy. *Trends Cell Biol* 2015 ; 25 : 354-63.
18. Wu M, Chen P, Liu F, et al. ONX0912, a selective oral proteasome inhibitor, triggering mitochondrial apoptosis and mitophagy in liver cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2021 ; 547 : 102-10.
19. Steffen J, Seeger M, Koch A, et al. Proteasomal degradation is transcriptionally controlled by TCF11 via an ERAD-dependent feedback loop. *Mol Cell* 2010 ; 40 : 147-58.
20. Sha Z, Schnell HM, Ruoff K, et al. Rapid induction of p62 and GABARAPL1 upon proteasome inhibition promotes survival before autophagy activation. *J Cell Biol* 2018 ; 217 : 1757-76.
21. Widenmaier SB, Snyder NA, Nguyen TB, et al. NRF1 Is an ER Membrane Sensor that Is Central to Cholesterol Homeostasis. *Cell* 2017 ; 171 : 1094-1109.e15.
22. Hetz C. The unfolded protein response : controlling cell fate decisions under ER stress and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012 ; 13 : 89-102.
23. Papendorf JJ, Krüger E, Ebstein F. Proteostasis Perturbations and Their Roles in Causing Sterile Inflammation and Autoinflammatory Diseases. *Cells* 2022 ; 11 : 1422.
24. Davidson S, Yu CH, Steiner A, et al. Protein kinase R is an innate immune sensor of proteotoxic stress via accumulation of cytoplasmic IL-24. *Sci Immunol* 2022 ; 7 : eabi6763.
25. Waugh KA, Araya P, Pandey A, et al. Mass Cytometry Reveals Global Immune Remodeling with Multi-lineage Hypersensitivity to Type I Interferon in Down Syndrome. *Cell Rep* 2019 ; 29 : 1893-908.e4.
26. Hewings DS, Flygare JA, Wertz IE, et al. Activity-based probes for the multicatalytic proteasome. *FEBS J* 2017 ; 284 : 1540-54.
27. Moudio S, Rodin F, Jamal Albarqohty N, et al. Exposure of  $\alpha$ -Synuclein Aggregates to Organotypic Slice Cultures Recapitulates Key Molecular Features of Parkinson's Disease. *Front Neurol* 2022 ; 13 : 826102.
28. Orak B, Ngoumou G, Ebstein F, et al. SIGLEC1 (CD169) as a potential diagnostic screening marker for monogenic interferonopathies. *Pediatr Allergy Immunol* 2021 ; 32 : 621-5.
29. Crow YJ, Shetty J, Livingston JH. Treatments in Aicardi-Goutières syndrome. *Dev Med Child Neurol* 2020 ; 62 : 42-7.
30. Cattalini M, Galli J, Zunica F, et al. Case Report : The JAK-Inhibitor Ruxolitinib Use in Aicardi-Goutières Syndrome Due to ADAR1 Mutation. *Front Pediatr* 2021 ; 9 : 725868.
31. Vanderver A, Adang L, Gavazzi F, et al. Janus Kinase Inhibition in the Aicardi-Goutières Syndrome. *N Engl J Med* 2020 ; 383 : 986-9.
32. Casas-Alba D, Darling A, Caballero E, et al. Efficacy of baricitinib on chronic pericardial effusion in a patient with Aicardi-Goutières syndrome. *Rheumatology (United Kingdom)* 2022 ; 61 : e87-9.
33. Myeku N, Clelland CL, Emrani S, et al. Tau-driven 26S proteasome impairment and cognitive dysfunction can be prevented early in disease by activating cAMP-PKA signaling. *Nat Med* 2016 ; 22 : 46-53.
34. VerPlank JJS, Tyrkalska SD, Tyrkalska SD, et al. CGMP via PKG activates 26S proteasomes and enhances degradation of proteins, including ones that cause neurodegenerative diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020 ; 117 : 14220-30.
35. Leestemaker Y, Jong A de, Witting KF, et al. Proteasome Activation by Small Molecules. *Cell Chem Biol* 2017 ; 24 : 725-36.e7.
36. Huang ZN, Chen JM, Huang LC, et al. Inhibition of p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Ameliorates HAP40 Depletion-Induced Toxicity and Proteasomal Defect in Huntington's Disease Model. *Mol Neurobiol* 2021 ; 58 : 2704-23.
37. Lee BH, Lee MJ, Park S, et al. Enhancement of proteasome activity by a small-molecule inhibitor of USP14. *Nature* 2010 ; 467 : 179-84.
38. Jones CL, Njomen E, Sjögren B, et al. Small Molecule Enhancement of 20S Proteasome Activity Targets Intrinsically Disordered Proteins. *ACS Chem Biol* 2017 ; 12 : 2240-7.
39. Trader DJ, Simanski S, Dickson P, et al. Establishment of a suite of assays that support the discovery of proteasome stimulators. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 2017 ; 1861 : 892-9.
40. Banerjee S, Ji C, Mayfield JE, et al. Ancient drug curcumin impedes 26S proteasome activity by direct inhibition of dual-specificity tyrosine-regulated kinase 2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2018 ; 115 : 8155-60.

TIRÉS À PART

F. Ebstein



**Avec m/s, vivez en direct  
 les progrès et débats  
 de la biologie et de la médecine**

CHAQUE MOIS / AVEC LES ARTICLES DE RÉFÉRENCE DE M/S  
 CHAQUE JOUR / SUR WWW.MEDECINESCIENCES.ORG

Abonnez-vous sur  
**www.medecinesciences.org**

