

De nouveaux récepteurs de la Reeline : les protocadhérines

Reeline est une protéine de la matrice extracellulaire (MEC) du cerveau embryonnaire. Elle est nécessaire au développement normal de plusieurs structures cérébrales, en particulier le cortex, comme le montrent les multiples altérations du développement cortical chez les souris mutantes *reeler*, déficientes en Reeline [1, 2]. Au cours du développement, la Reeline est sécrétée par des neurones de la zone marginale, en particulier les cellules de Cajal-Retzius, et agit sur les neurones en migration de la plaque corticale (CP) sous-jacente. Ceux-ci se détachent alors des fibres gliales radiaires et prennent une disposition qui conduit à l'agencement en couches de la CP puis du cortex. Les voies de signalisation induites par la Reeline dans les neurones cibles restent encore mal connues, mais on sait cependant qu'elles nécessitent un adaptateur intracellulaire appelé *Disabled-1* (Dab1), et au moins un parmi deux récepteurs de lipoprotéines, VLDLR (*very low density lipoprotein receptor*) ou ApoER2 (*apolipoprotein E receptor type 2*) ([3, 4] et *m/s* 1999, n° 11, p. 1284). En effet, les animaux dont le gène *Dab1* ou les deux gènes *VLDLR* et *ApoER2* sont inactivés ont un phénotype en tous points semblable à celui des souris déficientes en Reeline. VLDLR et ApoER2 seraient des récepteurs de la Reeline et fixeraient Dab1 via leur séquence cytoplasmique NPXY. De plus, l'ajout de Reeline à des neurones corticaux

embryonnaires stimule la phosphorylation des résidus tyrosine de Dab1 [5], ce qui permettrait son association au domaine SH2 des tyrosine-kinases de la famille Src (par exemple Src⁻, Fyn, Yes, Abl).

Un travail récent de Sensaki *et al.* [6] complète ce schéma en montrant que Reeline est aussi capable d'engager d'autres récepteurs, les protocadhérines de la famille CNR (*cadherin-related neuronal receptors*). Les cadhérines forment une grande famille de molécules d'adhérence intercellulaire dont l'action requiert du calcium et sont impliquées dans la structure, le développement et la différenciation tissulaires. Les protocadhérines possèdent six (ou sept) ectodomaines (EC) qui ressemblent à ceux des cadhérines classiques. Leur portion cytoplasmique est cependant différente car elle contient des motifs PXXP capables de lier le domaine SH3 de tyrosine kinases de la famille Src, en particulier de Fyn. La famille CNR possède une organisation génomique exceptionnelle. Chez l'homme, il existe au moins 52 gènes différents groupés en trois complexes, α (15 gènes connus), β (15 gènes) et γ (22 gènes) sur le chromosome 5q31 [7]. La partie amino-terminale, contenant les six domaines extracellulaires EC1-6 et le segment transmembranaire de chaque CNR, est codée par un seul exon de grande taille (au moins 2400 nucléotides) spécifique de chaque gène (*figure 1*).

En revanche, un même domaine carboxy-terminal est commun aux 15 membres du complexe α , une autre à ceux du complexe γ , la situation pour le complexe β étant incertaine. Ces domaines carboxy-terminaux communs sont codés chacun par trois petits exons situés en position distale de chaque complexe (*figure 1*). C'est cette portion carboxy-terminale commune qui contient plusieurs motifs PXXP responsables des interactions avec Fyn.

Sensaki *et al.* [6] ont examiné les interactions entre Reeline et huit CNR de souris qu'ils ont préalablement clonés et qui font partie d'un complexe dont l'orthologue humain est le complexe α [7]. Par hybridation *in situ*, ils démontrent que ces CNR1 à 8 sont exprimés, comme la tyrosine-kinase Fyn, dans la plaque corticale de l'embryon de souris à 15 jours. La liaison de Reeline à CNR1, le membre le mieux connu de la famille, a été étudiée *in vitro* par immunoprécipitation de protéines de fusion produites par des cellules HEK293. Les auteurs démontrent ainsi de manière convaincante l'existence d'une interaction spécifique entre Reeline et CNR1. Cette interaction implique d'une part la partie N-terminale de Reeline, qui comprend le domaine de similarité avec la F-spondine, le segment unique et la première des huit répétitions de la protéine, et d'autre part le premier domaine extracellulaire (EC1) de CNR1, plus précisément le segment compris entre les acides aminés S68 et G97. Ce segment comprend un triplet RGD, peptide caractéristique présent dans de nombreux ligands des intégrines dans la MEC dont le résidu D est nécessaire à la liaison. Par résonance plasmon, l'affinité entre Reeline et les CNR1, 2 et 3 est estimée entre 1,6 et 1,8 nM, ce qui est comparable à d'autres interactions spécifiques ligand-récepteur. L'interaction CNR1-Reeline est inhibée par un anticorps monoclonal anti-RBD (*Reeline-binding domain*), dirigé contre les

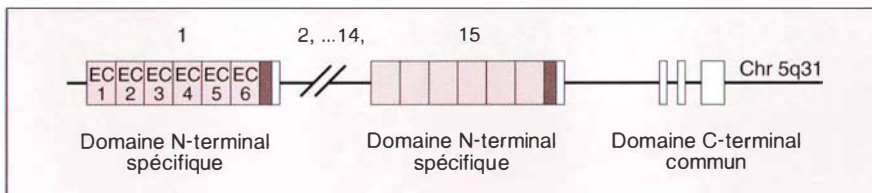


Figure 1. **Organisation génomique des gènes des protocadhérines de la famille CNR.** Le cluster α , localisé sur le chromosome 5 humain, contient quinze gènes. Un grand exon, spécifique de chaque protéine, code pour les six domaines extracellulaires cadhérine (EC) et le segment transmembranaire, alors que la partie C-terminale est la même pour les quinze membres de la famille, et codée par 3 exons [7].

séquences de CNR1 entourant le motif RGD impliqué dans la liaison à Reeline. De plus, cet anticorps empêche la phosphorylation de Dab1 induite par Reeline dans des cultures de neurones primaires et perturbe le mode d'agrégation de neurones corticaux cultivés en suspension. Un autre anticorps, anti-Reeline CR50, inhibe aussi l'interaction Reeline-CNR1 et l'agrégation des neurones, ce qui est quelque peu **surprenant** puisque l'épitope reconnu par cet anticorps n'est pas situé dans le domaine spécifique de Reeline impliqué dans la liaison.

Il apparaît donc que des protéines de la famille CNR se comportent comme des récepteurs de Reeline. Le modèle actuel propose que le récepteur de Reeline à la surface des cellules est un complexe comprenant VLDLR ou ApoER2 et un ou plusieurs CNR (figure 2). Sur leur versant cytoplasmique, ces récepteurs interagissent respectivement avec Dab1 et une ou des kinases de type Fyn. Ce complexe de surface relaie le signal Reeline dans la cellule de manière à modifier le phénotype par des voies qui restent à élucider. La réponse des neurones de la plaque corticale à Reeline pourrait impliquer le cytosquelette neuronal *via* des molécules comme Cdk5/p35, double cortine, Lis1... [8]. La présence de Reeline pourrait aussi modifier des propriétés d'adhérence comme le détachement des fibres radiaires ou l'adhérence homotypique entre les neurones de la plaque corticale.

Certaines données méritent cependant d'être confirmées afin d'imposer cette hypothèse. La principale limite du travail de Senzaki *et al.* [6] est en effet l'absence d'argument génétique. Étant donné la complexité de la famille CNR, cette preuve, attendue avec impatience, ne sera pas facile à apporter mais on peut penser qu'il sera possible d'inactiver en une fois tout un complexe de CNR en éliminant les exons 3' communs. Il faudrait également expliquer comment l'anticorps CR50 inhibe les interactions Reeline-CNR1 alors que son épitope n'est pas situé dans le domaine d'interaction. En plus de CNR1, 2 et 3, les interactions de Reeline avec les autres membres de la famille CNR doivent encore être étudiées plus en détails. Seule la partie amino-termi-

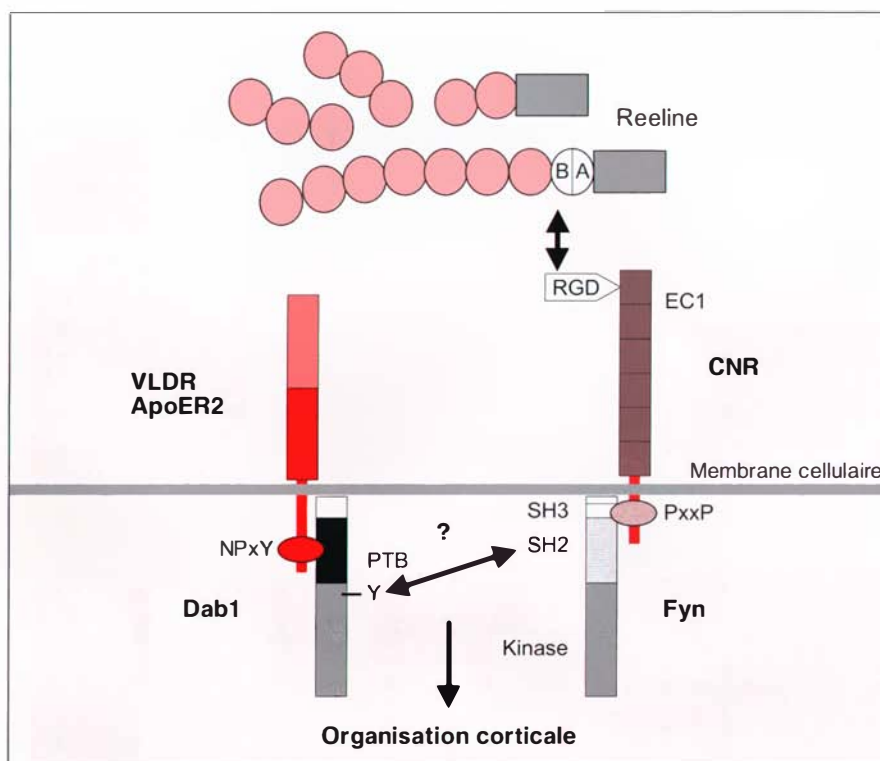


Figure 2. Voie de signalisation de la Reeline. La Reeline (ou fragment de Reeline) est un ligand des récepteurs des lipoprotéines VLDLR et ApoER2 qui interagissent avec Dab1 via leur motif cytoplasmique NPXY. La Reeline peut aussi se lier au domaine EC1 des protocadhérines CNR qui interagissent, par leur séquence PXXP avec des tyrosine-kinases comme Fyn. Ces interactions aboutiraient à la mise en place d'une organisation corticale correcte. Cependant, les interactions potentielles entre Dab1 et Fyn ainsi que les autres intermédiaires de cette voie de signalisation ne sont pas connus.

nale de Reeline a été étudiée et il est possible que d'autres sites de liaison existent à d'autres endroits de la protéine, pour des protéines CNR ou pour d'autres molécules. De même, les régions de Reeline responsables de la liaison aux récepteurs VLDLR et ApoER2 doivent encore être définies, même si l'on sait déjà qu'il ne s'agit pas de la partie amino-terminale impliquée dans l'interaction avec les CNR. Le travail ne manque pas et la saga Reeline nous réserve certainement encore bien des surprises !

1. D'Arcangelo G, Miao GG, Chen SC, Soares HD, Morgan JL, Curran T. A protein related to extracellular matrix proteins deleted in the mouse mutant reeler. *Nature* 1995; 374: 719-23.
2. Lambert de Rouvroit C, Goffinet AM. The reeler mouse as a model of brain development. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 1998; 150: 1-106.
3. Trommsdorff M, Gotthardt M, Hiesberger T, *et al.* Reeler/Disabled-like disruption of neuronal migration in knockout mice lacking the VLDL receptor and ApoE receptor 2. *Cell* 1999; 97: 689-701.

4. Hiesberger T, Trommsdorff M, Howell BW, *et al.* Direct binding of reelin to VLDL receptor and ApoE receptor 2 induces tyrosine phosphorylation of disabled-1 and modulates tau phosphorylation. *Neuron* 1999; 24: 481-9.
5. Howell BW, Herrick TM, Cooper JA. Reelin-induced tyrosine phosphorylation of disabled-1 during neuronal positioning. *Genes Dev* 1999; 13: 643-8.
6. Senzaki K, Ogawa M, Yagi T. Proteins of the CNR family are multiple receptors for reelin. *Cell* 1999; 99: 635-47.
7. Wu Q, Maniatis T. A striking organization of a large family of human neural cadherin-like cell adhesion genes. *Cell* 1999; 97: 779-90.
8. Walsh CA, Goffinet AM. Potential mechanisms of mutations that affect neuronal migration in man and mouse. *Curr Top Genet Dev Biol* 2000 (sous presse).

Isabelle Bar
Catherine Lambert de Rouvroit
André M. Goffinet

Unité de neurobiologie, Faculté de médecine, Université de Namur, B5000 Namur, Belgique.

■■■ **Récepteurs des lysophospholipides et angiogenèse.** Le gène *EDG-1* (*endothelial differentiation gene*), initialement identifié comme un gène induit au cours de la différenciation des cellules endothéliales humaines, est en fait exprimé dans divers types de cellules. La surprise fut grande lorsqu'on a démontré que les protéines de la famille EDG étaient des récepteurs membranaires pour des lysophospholipides [1] comme la sphingosine-1-phosphate (SPP) ou le LPA (acide lysophosphatidique). Les récepteurs EDG font partie de la famille des récepteurs couplés aux protéines G hétérotrimériques et activent différentes voies de signalisation dont celles des petites protéines G: Ras qui permet la survie cellulaire, Rac, connue pour régler les faisceaux d'actine corticale, et Rho impliquée dans la régulation des fibres de stress. C'est pourquoi un rôle de ces récepteurs dans la morphogenèse des cellules a été recherché. Les récepteurs EDG-1 et EDG-3 favorisent en effet l'intégrité des vaisseaux en maintenant les jonctions adhérentes des cellules endothéliales [2]. De plus, *in vitro*, SPP stimule l'angiogenèse et potentialise l'effet du facteur de croissance FGF-2 (*fibroblast growth factor*) [3]. Cet effet de la SPP sur le FGF-2, mais également sur le VEGF (*vascular endothelial growth factor*), a aussi été démontré *in vivo* [2]. Mais qu'on y prenne garde: les actions des lysophospholipides ne sont pas restreintes à l'endothélium vasculaire. Ils induisent par exemple la

rétraction des neurites [4], et le récepteur EDG-6 de la SPP vient d'être identifié dans les tissus pulmonaires et lympho-hématopoïétiques [5].

- [1. Lee MJ, et al. *Science* 1998; 279: 1552-5.]
- [2. Lee MJ, et al. *Cell* 1999; 99: 301-12.]
- [3. Wang F, et al. *J Biol Chem* 1999; 274: 35343-50.]
- [4. Van Brocklyn JR, et al. *J Biol Chem* 1999; 274: 4626-32.]
- [5. Van Brocklyn JR, et al. *Blood* 2000; 95: 2624-9.]

■■■ **Un peptide endogène inducteur d'angiogenèse.** Parmi les nombreux peptides antimicrobiens qui existent à l'état naturel, l'un d'eux, isolé à partir de l'intestin de mammifères [1], est actif sur la matrice d'héparanes sulfate par le biais d'induction des syndécans [2]; il est aussi présent au niveau des lésions tissulaires et de la membrane du myocarde endommagé. Il est sécrété par les macrophages sous forme de prépropeptide puis subit une protéolyse libérant la forme active de 39 acides aminés (PR39), qui a la particularité d'être très riche en proline et en arginine [3]. Les actions *in vivo* de ce peptide sont pour le moins originales [4]: l'injection de PR39 dans la paroi abdominale de souris augmente localement le nombre de vaisseaux d'un facteur trois. De plus, dans un modèle de

souris transgéniques pour PR39 dans lesquelles le transgène est exprimé spécifiquement dans le myocarde, on observe une augmentation du nombre de structures endothéliales dans le myocarde [4]. Cet effet est corrélé à l'induction de protéines indispensables à la croissance des cellules endothéliales, le VEGF (*vascular endothelial growth factor*) et ses récepteurs Flk-1 et Flt-1. Il serait dû à la stabilisation par PR39 du facteur de transcription HIF-1 (*hypoxia inducible factor*), un puissant inducteur du VEGF (*m/s* 1999, n° 8-9, p. 1051). Le rôle de PR39 semble toutefois plus large puisque le récepteur du FGF de type 1 et l'enzyme NO synthase sont aussi fortement induits. Le flux sanguin coronaire des souris transgéniques est augmenté sans modification de la taille des vaisseaux. PR39 induit donc la formation de nouveaux vaisseaux fonctionnels, et pourrait s'avérer efficace dans le traitement de l'infarctus du myocarde: un traitement transitoire par ce peptide augmente en effet la revascularisation de la zone ischémique sept jours après la ligature expérimentale de l'artère coronaire.

- [1. Agerberth B, et al. *Eur J Biochem* 1991; 202: 849-54.]
- [2. Gallo RL, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 11035-9.]
- [3. Gudmundsson GH, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7085-9.]
- [4. Jian L, et al. *Nat Med* 2000; 6: 49-55.]

Association Française de Lutte contre la Mucoviscidose APPEL D'OFFRES 2000

- L'AFLM souhaite contribuer au développement d'une recherche scientifique fondamentale, appliquée et clinique active en vue de déceler, améliorer et développer des thérapeutiques efficaces pour la mucoviscidose. Les projets de recherche devront concerner les thèmes suivants: infections bactériennes, inflammation, thérapie génique, fonctions, physiopathologie et pharmacologie de CFTR et protéines apparentées, transplantations, modèles animaux et investigations chez l'animal, pathologies de l'adulte.
- Les projets individuels ou en réseaux seront sélectionnés s'ils sont innovants, compétitifs dans un contexte international, spécifiques de la mucoviscidose.
- Les projets ou programmes de recherche thérapeutique et clinique seront encouragés.
- Les demandes de bourses doctorales ou postdoctorales doivent être intégrées à ces projets. La réponse est prévue fin octobre 2000.

Téléchargement des dossiers: <http://www.aflm.org>

Renseignements: Tél.: 01 40 78 91 61, Fax: 01 45 80 86 44, E-mail: scientifique@aflm.org