

## **Neurotrophines : et si tous nos schémas étaient faux ?**

La famille des neurotrophines est une vieille connaissance dont les lecteurs de *médecine/sciences* suivent régulièrement les aventures. Il y a eu les naissances (NT3, puis NT4, et NT-5... qui semble être en fait NT-4) (*m/s* n° 7, vol. 6, p. 700), le mariage avec la famille trk (*m/s* n° 6 vol. 7, p. 620) et les nombreuses activités (*m/s* n° 6, vol. 7, p. 630). Il y a même eu une célébration solennelle avec le Prix Nobel de Rita Levi-Montalcini et Stanley Cohen en 1986 (*m/s* n° 9, vol. 2, p. 529).

Les schémas de base sur lesquels on s'appuyait depuis l'apparition du NGF au début des années 50 ne semblaient pas devoir bouger, malgré l'accumulation des données. Les facteurs neurotrophiques restaient, dans leur diversité et celle de leurs récepteurs, une famille de substances à effet neurotrophique potentiellement libérées par des cibles, transportées de façon rétrograde par les neurones afférents et agissant, vraisemblablement par l'intermédiaire de systèmes de seconds messagers, sur l'expression de différents gènes de structure [1].

Trois coups de boutoir très douloureux pour ce schéma viennent d'être portés au cours de ces derniers mois qui bouleversent assez nettement certaines idées jusque-là largement admises. Le premier, par ordre d'apparition, est la démonstration d'une ségrégation cellulaire précise de la forme tronquée du récepteur trkB. trkB est le récepteur de BDNF et de NT-4 essentiellement, mais il lie aussi NT-3. Il s'agit d'une glycoprotéine transmembranaire qui, sous sa forme complète,

fait 145 kDa. Le même gène code aussi, toutefois, pour une forme tronquée de 95 kDa à laquelle manque le domaine intracytoplasmique, catalytique de l'activité tyrosine kinase [2]. J. Frisén et une équipe germano-suédoise (Munich, Heidelberg et Stockholm) [3] rapportent aujourd'hui que la forme tronquée de trkB est la seule présente dans les cellules gliales *in vivo* alors que la forme complète — qui seule vraisemblablement peut jouer un rôle dans la transduction du signal — est présente dans les neurones. Les astrocytes et les oligodendrocytes (pas la microglie) ainsi que les cellules de Schwann présentent ce récepteur tronqué qui joue peut-être, lui, un rôle dans l'adhérence cellulaire. Dans ces cellules, l'expression de trkB est modulée de façon subtile par les phénomènes lésionnels et, ce qui complique encore les choses, de façon différente dans les lésions centrales et périphériques. La section d'un nerf entraîne une régulation négative dans les cellules de Schwann de la région distale dénervée alors qu'une lésion spinale provoque une augmentation de l'expression dans les astrocytes de la zone lésionnelle. Comme le concluent les auteurs, tout cela suggère que la molécule joue un rôle important... mais lequel ?

Le deuxième coup de boutoir, peut-être plus meurtrier encore pour le schéma classique, vient d'être porté par D. Bredesen et ses collaborateurs (Université de Californie, Los Angeles, USA) [4] qui se sont penchés sur l'autre récepteur des neurotrophines, dit « de basse affinité » ou

p75NGFR. Cette protéine p75 est capable de lier, apparemment, toutes les neurotrophines et elle joue un rôle reconnu dans la prévention des mécanismes de mort neuronale par les neurotrophines, le NGF en particulier. On ne connaît toutefois pas bien sa fonction et les auteurs se sont posé des questions à son sujet en remarquant une certaine similitude de séquence avec d'autres récepteurs impliqués dans la mort cellulaire comme TNFR1 et II (récepteurs du TNF $\alpha$ ), l'antigène humain Fas et l'antigène CD40 de la cellule B. Dans les trois premiers cas, la liaison du ligand déclenche la mort cellulaire mais dans le cas de CD40, comme pour la p75, la liaison est au contraire protectrice. A partir de cette observation, ils ont inversé la problématique classique et cherché à savoir si, comme pour CD40, la p75 ne pourrait pas être en fait une molécule constitutive déclenchant des mécanismes de mort cellulaire en l'absence du ligand.

L'introduction par voie rétrovirale du gène codant pour la p75 s'est en effet révélée létale dans plusieurs populations de neurones immortalisés. La mort induite est de type apoptotique. L'addition du NGF dans le milieu de culture permet non seulement la rectification de ce phénomène mais même la survie d'un nombre de cellules encore plus grand que normalement. Cet effet du NGF passe clairement par la liaison avec la p75 car son effet est minimal à des concentrations assez basses pour que seuls les récepteurs à forte affinité (trk) soient concer-

nés. Il existe donc, avec la p75, un effet paradoxal : en l'absence de NGF son expression est délétère alors qu'en présence du facteur, elle contribue, au contraire, à une neuroprotection. La p75 serait ainsi, non pas un simple récepteur, mais une espèce d'épée de Damoclès suspendue en permanence au-dessus des neurones qui, comme les neurones cholinergiques du cerveau antérieur, ont besoin du NGF pour survivre.

Les récepteurs changeant, éventuellement, de statut, on aurait pu penser que les facteurs eux-mêmes résisteraient à la vague. Las ! Deux travaux viennent remettre en cause un des éléments fondamentaux de la théorie, la libération des facteurs par une cible agissant ainsi sur des neurones afférents. Z. Kokaia et l'équipe d'O. Lindvall (Lund, Suède) [5], en même temps que l'équipe de D. Toran-Allerand (Columbia University, New York, USA) [6] révèlent en effet, grâce à l'application d'une même technique de double-marquage en hybridation *in situ*, qu'un certain nombre (pour ne pas dire la plupart) des neurones qui expriment des gènes codant pour des facteurs neurotrophiques expriment en parallèle ceux codant pour leurs récepteurs. Cette colocalisation, qui suggère très fortement que ce système pourrait fonctionner de façon autocrine ou, pour le moins, paracrine, s'observe aussi bien au cours du développement — au cours duquel les taux relatifs des transcrits appariés semblent évoluer de concert — que dans le système nerveux central adulte. Lors de conditions expérimentales pathologiques chez l'adulte — comme l'épilepsie induite par injection d'acide kaïnique ou stimulation électrique, l'ischémie ou le coma hypoglycémique — les taux d'ARNm du BDNF augmentent dans les cellules hippocampiques exactement en même temps que ceux des ARNm de *trkB*. Comme le disent les deux groupes d'auteurs, ces résultats soulèvent la question d'un rôle local des neurotrophines même si, jusqu'à présent,

ils ne remettent pas directement en cause l'éventualité d'un autre rôle, à distance, sur les neurones afférents.

Il y a trois ans, H. Thoenen — qui dirige le Département de Neurochimie du Max Planck Institute de Martinsried d'où sont sortis, entre autres choses, BDNF et NT-3 — intitulait une revue : « *The changing scene of neurotrophic factors* » [7] en rapportant alors, notamment, les derniers travaux qui indiquaient une relation étroite entre la libération des facteurs neurotrophiques et l'activité synaptique dans l'hippocampe (suggérant une participation directe de ces facteurs à des mécanismes de la signalisation neuronale). La scène continue de changer et il est vraisemblable que nous aurons encore souvent l'occasion d'en reparler dans ces colonnes.

M. P.

1. Brachet P. Le facteur de croissance nerveuse NGF : rôle dans la plasticité et la maintenance fonctionnelle de la cellule neuronale. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 854-62.
2. Klein R, Jing S, Nanduri V, O'Rourke E, Barbacid M. The *trk* proto-oncogene encodes a receptor for nerve growth factor. *Cell* 1991 ; 65 : 189-97.
3. Frisén J, Verge VM, Fried K, Risling M, Persson H, Trotter J, Hökfelt T, Lindholm D. Characterization of glial *trkB* receptors : differential response to injury in the central and peripheral nervous systems. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 4971-5.
4. Rabizadeh S, Oh J, Zhong L, Yang J, Bitler CM, Butcher LL, Bredesen DE. Induction of apoptosis by the low-affinity NGF receptor. *Science* 1993 ; 261 : 345-8.
5. Kokaia Z, Bengzon J, Metsis M, Kokaia M, Persson H, Lindvall O. Coexpression of neurotrophins and their receptors in neurons of the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 6711-5.
6. Miranda RC, Sohrabji F, Toran-Allerand CD. Neuronal colocalization of mRNAs for neurotrophins and their receptors in the developing central nervous system suggests a potential for autocrine interactions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 6439-43.
7. Thoenen H. The changing scene of neurotrophic factors. *Trends Neurosci* 1991 ; 14 : 165-70.

## ■■■■ La PCR remonte le temps.

La PCR est maintenant fréquemment utilisée par les paléontologistes qui ont pu isoler et amplifier de l'ADN datant du tertiaire (25-40 millions d'années) à partir de termites et d'abeilles incluses dans de l'ambre (*m/s* n° 8-9, vol. 9, p. 985). Ce record d'ancienneté vient d'être pulvérisé par des chercheurs américains et libanais qui ont réussi à amplifier et séquencer de l'ADN de ribosome appartenant à un charançon, fossilisé dans de l'ambre libanaise depuis au moins 120 millions d'années [1]. L'ambre libanaise se formant à partir de conifères tel que l'*Araucaria*, ce coléoptère, comme la plupart de ses descendants, vivait probablement du pollen des cônes mâles de ce type de résineux. Les séquences amplifiées sont proches de celles des charançons contemporains et les différences s'accroissent lorsqu'on les compare aux séquences d'insectes d'autres genres et classes. Les homologies de séquence et leur traitement informatique qui permet de tracer un arbre phylogénétique prouvent que l'ADN amplifié ne provient pas d'une contamination mais appartient bien au charançon fossilisé. Ces travaux montrent que l'ADN d'insectes fossilisés dans de l'ambre est suffisamment bien conservé pour être extrait et étudié. Si cela est confirmé pour d'autres animaux, l'ambre pourrait devenir le coffre aux trésors des paléontologistes moléculaires.

[1. Cano RJ, et al. *Nature* 1993 ; 363 : 536-8.]

## ■■■■ Nouvelle implication du gène *EWS* dans un mélanome malin des parties molles.

En 1992, l'équipe de Gilles Thomas (Institut Curie, Paris) a cloné le gène *EWS*, au niveau duquel passe la translocation t(11;22) caractéristique du sarcome d'Ewing (*m/s* n° 9, vol. 8, p. 994). Dans ce cas, une protéine hybride est formée entre la protéine *EWS* et le domaine de liaison à l'ADN de l'oncogène *FLI-1*. Le domaine *FLI-1* remplace, dans la protéine hybride,



une région de *EWS* ressemblant à des motifs de liaison à l'ARN. La même équipe vient maintenant de caractériser les événements moléculaires caractéristiques d'un mélanome malin des parties molles avec translocation t(12; 22). Ici, J. Zucman *et al.* [1] montrent qu'est constitué un gène hybride codant pour une protéine de fusion dont le domaine amino-terminal est, là encore, composé de séquences *EWS*, liées au domaine de liaison à l'ADN et de dimérisation du facteur ATF1 (région b Zip). ATF1 est l'un des membres d'une famille de protéines impliquées dans la réponse transcriptionnelle à l'AMP cyclique. Les auteurs suggèrent que l'addition au domaine de liaison à l'ADN de facteurs de transcription de la région amino-terminale d'*EWS* serait de nature à modifier ses propriétés régulatrices.

[1. Zucman J, *et al. Nature Genet* 1993; 4: 341-5.]

■■■ *bcl-x* et *bax*, des frères (amis ou ennemis) de *bcl-2*. L.H. Boise *et al.*, de Chicago (IL, USA) et Ann Harbor (MI, USA) [1], sont parvenus à isoler de la bourse de Fabricius de poulet les ADN complémentaires de deux types de messagers, *bcl-x<sub>L</sub>* et *bcl-x<sub>S</sub>*, *bcl-x* n'a que 56 % d'analogies avec *bcl-2* et ne constitue pas l'équivalent aviaire de ce dernier gène. En réalité, des transcrits *bcl-x* sont également notés dans pratiquement toutes les espèces de vertébrés testés. Il existe deux espèces de transcrits *bcl-x*, *bcl-x<sub>L</sub>* codant pour une protéine de 233 acides aminés et *bcl-x<sub>S</sub>* codant pour une protéine de 170 acides aminés. Il manque à la protéine Bcl-x, 63 acides aminés, conséquence d'un épissage alternatif; cette région délétée est très homologue d'un domaine de Bcl-2. Fonctionnellement, la protéine Bcl-x semble avoir le même pouvoir anti-apoptotique que Bcl-2 [2]. L'abondance du messager *bcl-x<sub>L</sub>* est grande dans des cellules quiescentes à longue durée de vie, par exemple

les neurones. La protéine Bcl-x, quant à elle, se comporte comme un inhibiteur de l'action de *bcl-2* et de *bcl-x<sub>L</sub>*, induisant l'apoptose. Le transcrit *bcl-x<sub>S</sub>* est abondant dans les cellules en prolifération rapide, par exemple des lymphocytes en cours de différenciation. Après le gène *bcl-2*, le gène *bcl-x* pourrait donc constituer un régulateur, positif ou négatif, de l'apoptose, suivant le type d'épissage de son transcrit. La famille des gènes *bcl-2* ne se limite d'ailleurs pas à *bcl-2* et à *bcl-x*. En effet, Z.N. Oltvai *et al.* (St-Louis, MO, USA) viennent d'isoler une protéine présentant des homologies avec Bcl-2, dénommée Bax. Bax est une protéine de 192 acides aminés (21 kDa) qui est susceptible de former des homodimères ou des hétérodimères avec Bcl-2. Les expériences fonctionnelles indiquent que l'homodimère Bax/Bax pourrait activer l'apoptose alors que l'homodimère Bcl-2/Bcl-2 l'inhibe, l'hétérodimère ayant une action indéterminée [3]. Ce modèle de contrôle de l'activité de protéines régulatrices par leur homo- ou hétérodimérisation rappelle ce qui est connu pour de nombreux facteurs de transcription, par exemple de la famille HLH (Myc et Max, Myo D, Id ou E2A, etc.). On ne sait pas encore si ces hétérodimères peuvent également être produits entre les protéines Bcl-x et Bcl-2 ou Bax.

[1. Boise LH, *et al. Cell* 1993; 74: 597-608.]

[2. Kahn A, Briand P. *médecine/sciences* 1993; 9: 663-5.]

[3. Oltvai ZN, *et al. Cell* 1993; 74: 609-19.]

■■■ Une anomalie de l'élastine est responsable du syndrome de Williams. Le syndrome de Williams (SW) est une anomalie du développement se manifestant par des troubles cardiaques, une hypertension, une sénescence cutanée précoce, une dysmorphie faciale et un retard intellectuel. On y observe une sténose aortique supra-avalvulaire (SVAS

en anglais), qui peut exister à l'état isolé dans certaines familles et se transmettre comme un caractère autosomique dominant. Le SW lui-même est le plus souvent sporadique, mais on en connaît quelques formes familiales. Une équipe américaine (Salt-Lake City, UT, Las Vegas et Reno, NE, USA) avait montré une liaison génétique entre SVAS et le gène de l'élastine chez deux familles en 7q11.23 [1]. En raison de l'association clinique entre SVAS et SW, les mêmes auteurs ont analysé le gène de l'élastine dans le SW. Chez tous les malades testés (4 cas familiaux et 5 sporadiques), ils ont trouvé une délétion inframicroscopique, englobant la totalité d'un des allèles de l'élastine et s'étendant au-delà dans des limites encore non précisées [2]. On peut donc considérer que le SW est dû à une hémizygotie du gène de l'élastine. Dans le cas du SVAS, le même groupe a découvert, dans deux familles, une élimination de la partie C-terminale de l'élastine, l'une par translocation sur un autre chromosome, de la portion distale, l'autre par délétion de l'extrémité 3' du gène [3, 4]. A l'heure actuelle on peut faire deux hypothèses pour expliquer la différence de gravité des deux syndromes cliniques: pour l'une, seule l'élastine est en cause dans tous les cas, mais dans le SVAS la partie proximale de la molécule est encore fonctionnelle, alors que l'allèle a disparu tout entier dans le SW; pour l'autre, l'élastine est non fonctionnelle dans les deux cas, et les symptômes extravasculaires du SW sont à mettre au compte de gènes adjacents, englobés dans la délétion et non encore identifiés. La nature de certains symptômes, comme le retard intellectuel, est en effet difficile à attribuer à l'élastine.

[1. Ewart AK, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 3226-30.]

[2. Ewart AK, *et al. Nature Genet* 1993; 5: 11-6.]

[3. Curran ME, *et al. Cell* 1993; 73: 159-68.]

[4. Morris CA, *et al. Am J Hum Genet* 1993; 53: abstr. 212.]