

L **La mutation staggerer du récepteur nucléaire ROR α , ou comment un phénotype peut en cacher un autre**

Une lignée de souris présentant une mutation spontanée pour le gène *staggerer* (*sg*) a été identifiée il y a une trentaine d'années. Les mutants homozygotes présentent des troubles de l'équilibre, de la posture et du mouvement, d'où leur nom de *staggerer* (du verbe anglais *to stagger*: tituber). Ces troubles s'expliquent par une ataxie cérébelleuse sévère due à un défaut du développement des cellules de Purkinje (*figure 1*) [1]. En effet, chez ces animaux, les cellules de Purkinje sont ectopiques, très peu nombreuses et présentent des corps cellulaires atrophiques et des troncs dendritiques dépourvus de leurs épines tertiaires [2]. Cette quasi-absence de cellules de Purkinje entraîne une dégénérescence de leurs afférences, cellules granulaires et neurones de l'olive inférieure. Enfin, il faut noter, dans le cervelet des animaux hétérozygotes *staggerer*^{+/sg}, dont l'apparence clinique est normale, une perte progressive de cellules de Purkinje au cours du vieillissement, associée à une atrophie progressive des dendrites des cellules survivantes [3].

Staggerer code pour ROR α

Le gène *sg* n'a été identifié que très récemment, en 1996. Il code pour un récepteur nucléaire, ROR α (*retinoic acid receptor related orphan receptor*), appartenant à la superfamille des récepteurs hormonaux nucléaires orphelins [4]. L'étude comparative de sa séquence primaire et de celle d'autres récepteurs a permis de l'associer à la classe des récepteurs de

l'acide rétinoïque [5]. Comme tous les récepteurs nucléaires, ROR α est un facteur de transcription dont l'activité est probablement modulée par la présence d'un ligand spécifique. La structure des récepteurs nucléaires comporte classiquement un site de fixation du ligand (*ligand binding domain*, LBD), un site de fixation à l'ADN (*DNA binding domain*, DBD), une région charnière reliant les deux, et, dans la région amino-terminale, un site de fixation pour un modulateur. L'épissage alternatif du transcrit primaire du gène *sg* produit quatre isoformes de ROR α , qui diffèrent uniquement dans la zone de fixation du modulateur [5]. Cette spécificité permet à chaque isoforme de ROR α de reconnaître un élément de réponse particulier, bien que leur DBD soit commun [6]. Le centre de séquençage du génome de la souris à Boston (Pr E. Lander) a identifié la

lésion génomique du mutant *sg*. Il s'agit d'une délétion de 122 paires de bases au niveau du LBD [4].

Bien que le(s) ligand(s) spécifique(s) de ROR α reste(nt) à ce jour inconnu(s), il a été proposé que ROR α puisse être activé par la mélatonine, ainsi que par une famille de ligands synthétiques dérivés de thiazolidines diones [7]. Toutefois, l'action de la mélatonine comme ligand de ROR α est encore très controversée. La distribution du gène *ROR α* est relativement diffuse dans l'organisme: dans le cerveau, il s'exprime au niveau des cellules de Purkinje, du thalamus, du noyau suprachiasmatique de l'hypothalamus, du bulbe olfactif, et de la rétine; le gène s'exprime également dans de nombreux autres organes comme le thymus (qui est d'ailleurs atrophique chez ce mutant), la peau, le poumon, etc. Son expression débute chez l'embryon et persiste chez l'adulte.

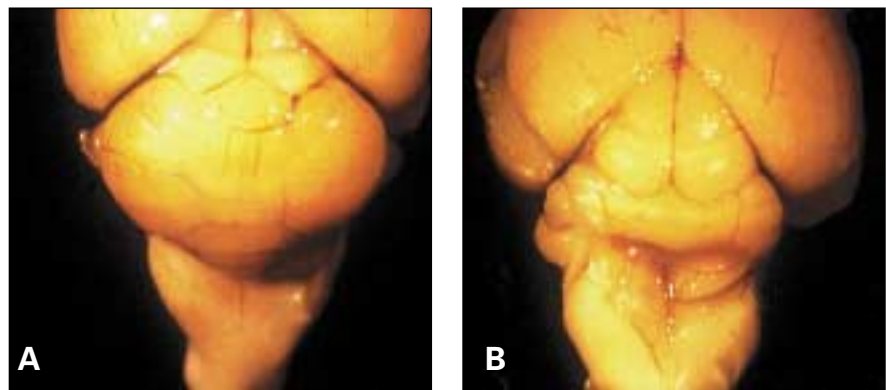


Figure 1. **L'altération principale des mutants homozygotes staggerer: une neurodégénérescence massive au niveau du cervelet. A: normal. B: mutant sg/sg.**

ROR α intervient dans le contrôle de la réaction inflammatoire

Des anomalies de production des cytokines pro-inflammatoires ont été décrites chez les souris *sg*^{-/-}. Les macrophages de ces mutants, stimulés par le LPS (lipopolysaccharide), surexpriment à la fois l'ARNm et la protéine de l'interleukine-1, aussi bien dans le cerveau [8] qu'en périphérie [9]. D'autres cytokines inflammatoires, l'IL-6 et le TNF α , sont également surexprimées chez les mutants *sg*^{-/-}. Par ailleurs, il existe un élément de réponse pour ROR α 1 sur le promoteur de la 5-lipoxygénase [10], enzyme-clé de la réponse inflammatoire, qui catalyse les deux premières étapes de la biosynthèse des leucotriènes à partir de l'acide arachidonique [11].

ROR α semble également impliqué dans le contrôle de l'athérogenèse

L'implication de ROR α dans le contrôle de l'inflammation nous a conduits à envisager son rôle dans le développement de l'athérosclérose. En effet, il est maintenant acquis que l'inflammation joue un rôle majeur dans la pathogénie et l'évolution de la maladie athéroscléreuse vers la rupture de la plaque [12]. Les macrophages représentent une proportion significative des cellules présentes dans la plaque d'athérome [13], où ils côtoient des lymphocytes T, témoignant d'une réponse immune au site de la lésion. S'y associent des cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL-1, IL-8, IL-12) [12].

En fait, le développement des lésions athéroscléreuses est multifactoriel, et les lipoprotéines ont un rôle déterminant. Des études épidémiologiques ont montré que les dyslipidémies sont fortement corrélées aux maladies cardiovasculaires [14]. Des concentrations élevées de lipoprotéines de faible densité (*low density lipoprotein*, LDL) favorise le développement de l'athérosclérose, tandis que de faibles concentrations de lipoprotéines de haute densité (*high density lipoprotein*, HDL), pour un même niveau de LDL, ont des effets très délétères [15]. Les LDL qui s'oxydent dans l'intima, où elles s'accu-

mulent [16], accentuent la réponse inflammatoire au niveau de la paroi artérielle et contribuent à la pathogénie de l'athérosclérose en raison de leur grande affinité pour les récepteurs *scavenger* des macrophages présents au niveau des lésions athéromateuses [17]. En se chargeant de LDL oxydées, les macrophages se transforment en cellules spumeuses, à l'origine de la plaque d'athérome.

La mutation *sg* est associée à une forte susceptibilité à l'athérosclérose (figure 2). Nous avons montré que les souris homozygotes *sg*/*sg* soumises à un régime riche en matières grasses développent des lésions d'athérosclérose 4 ou 5 fois plus importantes que celles des animaux témoins [18] et ont des concentrations plasmatiques de HDL fortement diminuées. Cette chute de la concentration de HDL chez les homozygotes *sg*^{-/-} est corrélée à une diminution de l'expression de l'ARNm de l'apo A-I au niveau de l'intestin [18]. Il existe en effet un élément de réponse à ROR α sur le promoteur de l'apo A-I, et ROR α règle positivement l'expression de ce gène [19].

Ces résultats montrent qu'un déficit en ROR α peut influencer différentes étapes de l'athérogenèse, que ce soit le processus inflammatoire ou l'infiltration lipidique. Si l'étiologie et la pathogénie de l'athérosclérose commencent à être mieux appréhendées, les facteurs génétiques qui contrôlent

le processus athéromateux sont encore très peu connus, si l'on excepte les gènes impliqués dans le métabolisme lipidique. A cet égard, un résultat particulièrement intéressant vient d'être publié: les souris dont deux gènes impliqués dans l'athérosclérose (ceux du récepteur des VLDL, *very low density lipoproteins*, et du récepteur R2 de l'ApoE, apolipoprotéine E), ont été invalidés présentent un phénotype neurologique très comparable à celui de la souris mutante *reeler* avec, en particulier, des anomalies du cerveau et du cortex cérébral (*m/s* 1999, n° 11, p. 1284) [20].

ROR α pourrait jouer un rôle essentiel dans l'ensemble des maladies dégénératives liées à l'âge

Il n'est plus possible de considérer le mutant *sg* comme un simple modèle animal d'ataxie et de neurodégénérescence cérébelleuse. Les anomalies observées sont beaucoup plus diffuses et touchent plusieurs organes et fonctions physiologiques, certaines de ces altérations étant caractéristiques de maladies dégénératives majeures liées à l'âge: troubles moteurs, réponses immuno-inflammatoires exagérées et athérosclérose. Il sera très intéressant de rechercher ces phénotypes chez la souris dont le gène *ROR α* a été inactivé, récemment

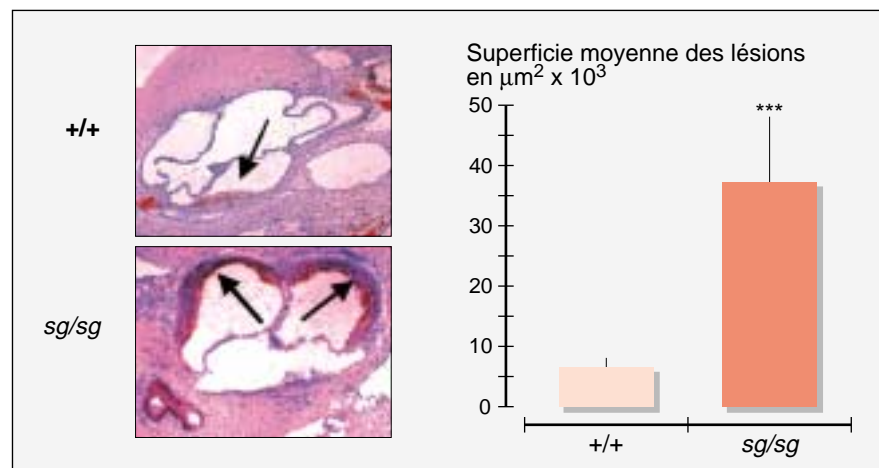


Figure 2. **Mutation staggerer et vulnérabilité à l'athérosclérose.** Lésions athéromateuses développées après quatre mois de régime hypercholestérolémiant. Les coupes sont réalisées au niveau du sinus aortique et colorées à l'huile rouge. *** : $p < 0,01$.

décrite, qui présente des anomalies du cervelet quasi identiques à celle du mutant homozygote *staggerer* [21]. C'est aussi dans ces diverses affections qu'il faudra rechercher des anomalies ou un éventuel polymorphisme du gène *ROR α* chez l'homme.

Sandrine Besnard

Inserm U.141, Hôpital Lariboisière, 41, boulevard de la Chapelle, 75475 Paris Cedex 10, France.

Jean Mariani

Cnrs UMR 7624, Université Pierre-et-Marie-Curie, Boîte 14, 9, quai Saint-Bernard, 75005 Paris, France.

Bart Staels

Inserm U.325, Institut Pasteur, 1, rue du Professeur-Calmette, BP 245, 59019 Lille Cedex, France.

Alain Tedgui

Inserm U.141, Hôpital Lariboisière, 41, boulevard de la Chapelle, 75475 Paris Cedex 10, France.

1. Sidman RL, Lane PW, Dickie MM. Staggerer, a new mutation in the mouse affecting affecting the cerebellum. *Science* 1962 ; 136: 610-2.
2. Sotelo C, Changeux JP. Transsynaptic degeneration « en cascade » in the cerebellar cortex of staggerer mutant mice. *Brain Res* 1974 ; 67 : 519-26.
3. Zanjani HS, Mariani J, Delhaye-Bouchaud N, Herrup K. Neuronal cell loss in heterozygous staggerer mutant mice: a model for genetic contributions to the aging process. *Dev Brain Res* 1992 ; 67: 153-60.
4. Hamilton BA, Frankel WN, Kerrebrock AW, *et al.* Disruption of the nuclear hormone receptor *ROR α* in *staggerer* mice. *Nature* 1996 ; 379: 736-9.
5. Giguère V, Tini M, Flock G, Ong E, Evans RM, Otulakowski G. Isoform-specific amino-terminal domains dictate DNA-binding properties of *ROR α* , a novel family of orphan hormone nuclear receptors. *Genes Dev* 1994 ; 8: 538-53.
6. McBroom LD, Flock G, Giguere V. The non-conserved hinge region and distinct amino-terminal domains of the ROR alpha orphan nuclear receptor isoforms are required for proper DNA binding and ROR alpha-DNA interactions. *Mol Cell Biol* 1995 ; 15: 796-808.
7. Wiesenberg I, Missbach M, Kahlen JP, Schröder M, Carlberg C. Transcriptional activation of the nuclear receptor *RZR α* by the pineal gland hormone melatonin and identification of CGP 52608 as a synthetic ligand. *Nucleic Acids Res* 1995 ; 23: 327-33.
8. Vernet-der Garabedian B, Lemaigre-Dubreuil Y, Delhaye-Bouchaud N, Mariani J. Abnormal IL-1 beta cytokine expression in the cerebellum of the ataxic mutant mice staggerer and lucher. *Mol Brain Res* 1998 ; 62: 224-7.
9. Kopmels B, Wollman E, Guastavino J, Delhaye-Bouchaud N, Fradelizi D, Mariani J. IL-1 hyperproduction by *in vitro* activated peripheral macrophages from cerebellar mice. *J Neurochem* 1990 ; 55: 1980-5.
10. Steinhilber D, Brungs M, Werz O, *et al.* The nuclear receptor for melatonin represses 5-lipoxygenase gene expression in human B lymphocytes. *J Biol Chem* 1995 ; 270: 7037-40.
11. Samuelsson B, Dahlén SE, Lindgren JA, Rouzer CA, Serhan CN. Human leukocyte 5-lipoxygenase: an enzyme possessing dual enzymatic activities and a multicomponent regulatory system. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukotr Res* 1987 ; 17A: 1-11.
12. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999 ; 340: 115-26.
13. Jonasson L, Holm J, Skalli O, Bondjers G, Hansson G. Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Atherosclerosis* 1986 ; 6: 131-8.
14. Cabin HS, Roberts WC. Relation of serum total cholesterol and triglyceride levels to the amount and extent of coronary arterial narrowing by atherosclerotic plaque in coronary heart disease. *Am J Med* 1982 ; 73: 227-34.
15. Lewis B, Katan M, Merckx I, *et al.* Towards an improved lipid-lowering diet: additive effects of changes in nutrient intake. *Lancet* 1981 ; ii: 1310-3.
16. Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991 ; 88 : 1785-92.
17. März W. Accumulation of «small dense» low lipoproteins (LDL) in a homozygous patient with familial defective apolipoprotein B-100 results from heterogenous interaction of LDL subfractions with the LDL receptor. *J Clin Invest* 1993 ; 92: 2922-33.
18. Mamontova A, Séguret-Macé S, Esposito B, *et al.* Severe atherosclerosis and hypoalphalipoproteinemia in the *staggerer* mouse, a mutant of *ROR α* gene. *Circulation* 1998 ; 98: 2738-43.
19. Vu-Dac N, Gervois P, Grötzinger T, *et al.* Transcriptional regulation of apolipoprotein A-I gene expression by the nuclear receptor *ROR α* . *J Biol Chem* 1997 ; 272: 22401-4.
20. Trommsdorff M, Gotthardt M, Hiesberger T, *et al.* Reeler/disabled-like disruption of neuronal migration in knockout mice lacking the VLDL receptor and Apo-E receptor 2. *Cell* 1999 ; 97: 689-701.
21. Steinmayr M, André E, Conquet F, *et al.* Staggerer phenotype in retinoid-related orphan receptor α -deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95: 3960-5.