

Les souris « spasmodique » et « spastique », modèles d'anomalies du récepteur du glyco-colle

Le récepteur du glyco-colle est un canal chlorure dont la strychnine est un antagoniste. Il contient des protéines transmembranaires, associées en une structure pentamérique, formant un canal ionique, composée de sous-unités α (liant la strychnine) et β (ne liant pas la strychnine). Les sous-unités α peuvent être de types $\alpha 1$, $\alpha 2$, plus rarement, $\alpha 3$. Une isoforme néonatale du récepteur ne contient que des sous-unités $\alpha 2$, l'isoforme adulte contient 3 $\alpha 1$ et 2 β . En 1993, la sous-unité $\alpha 1$ du récepteur (Glr1) a été rendue responsable d'une affection neurologique, l'hyperekplexie ou maladie des sursauts (*m/s* n°3, vol. 10, p. 354). Dans cette protéine qui possède quatre segments transmembranaires M1 à M4, deux mutations ont été trouvées, affectant le même codon Arg 271, dans une zone extracellulaire au voisinage du segment M2. Cette maladie est à transmission autosomique dominante. A la fin de cette nouvelle, nous signalions l'existence de deux mutants de souris, à transmission autosomique récessive, de phénotypes similaires, appelés « spastique » (*spa*) et « spasmodique » (*spd*). Les animaux homozygotes, normaux jusqu'à deux semaines, ont ensuite des crises de rigidité et de tremblements, avec réflexe de sursaut. La strychnine provoque un syndrome voisin. Un mutant allélique à *spd* (*oscillator*, *ot*) est léthal [1].

Les deux formes sont génétiquement différentes et leur locus n'est pas situé sur le même chromosome. Elles ont été étudiées séparément, mais l'annonce de leur élucidation a été faite dans le même numéro de *Nature Genetics* [2, 3]. Il était relativement plus facile de s'attaquer à la souris *spd* ; en effet, la région du chromosome 5q de l'hyperekplexie est homologue d'une région du chromosome 11 de la souris sur

laquelle avait été positionné le gène *spd* (figure 1A). Une équipe américaine et australienne a donc préparé un ADNc de souris codant pour la sous-unité $\alpha 1$ du récepteur du glyco-colle à partir d'ARN du tronc cérébral [2]. La séquence protéique déduite compte 421 acides aminés, plus un peptide signal. Un épissage alternatif donne une isoforme comptant 8 acides aminés supplémentaires. Une seule mutation fut trouvée dans la souche *spd* : une transversion G \rightarrow T au nucléotide 534, entraînant un changement Ala \rightarrow Ser au codon 52 du messenger de la

sous-unité $\alpha 1$. La mutation observée est proche du N-terminal, zone dont la fonction n'est pas connue. Elle n'est pas critique pour la plupart des fonctions connues du récepteur, liaison de la strychnine ou du ligand. On ne saurait donc être surpris que la maladie murine soit récessive, alors que la maladie humaine est dominante, due à une lésion moléculaire siégeant dans une région importante. Il serait intéressant d'identifier la mutation de la souris *ot*, qui paraît allélique à *spd* mais est beaucoup plus sévère. Enfin, comme il s'agit d'une atteinte de la sous-

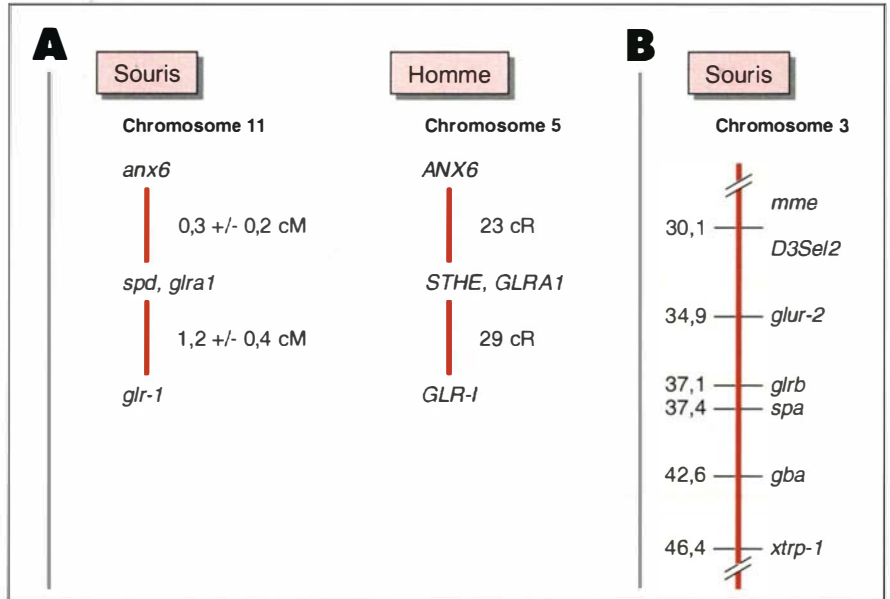


Figure 1. Localisation chromosomique des loci *spd* et *spa*. A. *spd* d'après [1]. Comparaison entre les chromosomes 11 murin et 5 humain. Glra1 : récepteur de la sous-unité $\alpha 1$ du glyco-colle. Glr1 : récepteur 1 du glutamate. STHE : startle disease. La carte de la souris est en centimorgans ; cartographie méiotique. La carte humaine est en centirays ; cartographie de radiation. B. *spa* d'après [2]. Chromosome 3 de la souris. *mme* : métallopeptidase. *Glur-2* : récepteur 2 du glutamate. *Glrb* : sous-unité β du récepteur du glyco-colle. *Gba* : glucosidase acide. *Xtrp-1* : neurotransporteur « orphelin ».

unité $\alpha 1$, on comprend qu'il n'y ait pas de symptômes à la naissance, alors que les sous-unités sont de type $\alpha 2$. En revanche, la comparaison homme-souris devrait inciter à rechercher une anomalie du récepteur du glyco-colle chez des malades présentant une hyperekplexie apparemment non familiale, qui pourrait masquer une forme récessive.

Le mutant spastique (*spa*) a son gène sur le chromosome 3 de la souris (figure 1B). Ici, c'est le nombre des récepteurs du glyco-colle qui est abaissé alors que les récepteurs résiduels semblent fonctionnels. Bien qu'on n'ait pas attribué de rôle précis aux sous-unités β (*Glr*b), une équipe de Durham, NC, USA, [3] a décidé d'en rechercher une anomalie. La séquence protéique, déduite de celle de l'ADNc, compte 496 acides aminés, dont un peptide signal de 22 acides aminés. La position du gène *Glr*b sur le chromosome 3 de la souris coïncidait avec celle du locus de *spa*. L'examen de l'ARN messager le montra très dimi-

nué en quantité, mais sans anomalie apparente. On chercha donc celle-ci sur l'ADN génomique. On découvrit alors une insertion de 7,1 kb, débutant en amont du nucléotide 179 de l'intron 6. Un séquençage partiel l'identifia comme un élément LINE-1, inséré en orientation antisens. Ces éléments ont été classés en plusieurs familles ; celui de l'insertion *spa* contient un monomère de type F. Il en existe environ cent mille copies dans le génome (*m/s* n°2, vol. 8, p. 169), et certains sont des rétrotransposons fonctionnels. Rappelons qu'on connaît des exemples de maladies génétiques humaines ayant une insertion LINE, notamment deux cas d'hémophilie [4] et un de myopathie de Duchenne. On connaît aussi l'insertion d'éléments Alu dans la neurofibromatose 1.

Le mécanisme par lequel agit l'insertion n'est pas connu. Il n'y a ni changement de phase ni épissage aberrant, mais une diminution de production du messager. Les résultats rapportés dans cette

nouvelle mettent en évidence l'importance du système glycinergique dans le contrôle de l'activité motrice. Ils soulèvent la possibilité que des anomalies de ces systèmes, notamment des sous-unités β , encore peu étudiées, puissent jouer un rôle en pathologie humaine.

J.C.D.

1. Cook SA. Mouse genome. *Res News* 1993 ; 91 : 117.

2. Ryan SG, Buckwalter MS, Lynch JW, et al. A missense mutation in the gene encoding the $\alpha 1$ subunit of the inhibitory glycine receptor in the spasmodic mouse. *Nature Genet* 1994 ; 7 : 131-5.

3. Kingsmore SF, Giros B, Suh D, Bieniarz M, Caron MG, Seldin MF. Glycine receptor β -subunit gene mutation in spastic mouse associated with LINE-1 element insertion. *Nature Genet* 1994 ; 7 : 136-42.

4. Kazazian HH Jr, Wong C, Youssoufian H, Scott AF, Phillips DG, Antonorakis SE. Hemophilia A resulting from *de novo* insertion of LINE-1 sequences represents a novel mechanism for mutation in man. *Nature* 1988 ; 332 : 164-6.

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ **Estrogènes, métabolisme de l'APP et maladie d'Alzheimer.** Le précurseur de la protéine β -amyloïde (APP : amyloid protein precursor) est clivé par au moins deux activités enzymatiques. L' α -sécrétase, qui clive la protéine dans le domaine β -amyloïde, produit une APP soluble (sAPP), identique à la protéase nexine-2. La β -sécrétase clive le domaine aminoterminal de l'APP, donnant naissance à une sAPP tronquée et à un fragment carboxyterminal qui reste associé à la cellule, potentiellement amyloïdogénique, après transformation en substance β -amyloïde. Son dépôt dans le parenchyme cérébral, phénomène accentué avec le vieillissement, est un trait marquant de la maladie d'Alzheimer. Plusieurs éléments ont fait rechercher un rôle pour les œstrogènes dans le métabolisme de l'APP : (1) le déclin chez les

femmes des hormones sexuelles dans la deuxième partie de la vie et la prépondérance des femmes atteintes par la maladie d'Alzheimer par rapport aux hommes (chez lesquels la concentration d'œstrogènes circulants est supérieure à celle des femmes ménopausées) ; (2) la distribution des récepteurs des œstrogènes dans le cerveau, qui ressemble de façon frappante à celle des anomalies histologiques dans la maladie d'Alzheimer [1] ; (3) des études épidémiologiques, qui ont montré que le traitement substitutif par les œstrogènes semblait protéger de la maladie d'Alzheimer, effet corrélé à la dose et la durée du traitement [2]. Des équipes de New York rapportent une étude sur l'effet de l'œstradiol sur le métabolisme de l'APP dans des cellules humaines en culture (ZR-75-1, cellules de car-

cinome du sein) [3]. Les résultats sont intéressants : les œstrogènes ne modifient pas la production d'APP, mais ils ont une action significative sur son métabolisme ; la forme soluble sAPP, qui n'est pas amyloïdogénique, s'accumule dans le milieu en présence d'œstradiol ($\times 1,75$), quel que soit le protocole utilisé. L'étude du mécanisme d'action des œstrogènes sur le métabolisme de l'APP permettra peut-être de mettre à jour des facteurs impliqués dans la maladie d'Alzheimer et d'envisager une parade thérapeutique ou préventive.

[1. Toran-Allerand D, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 4668-74.]

[2. Henderson VW, et al. *Arch Neurol* 1994 ; (sous presse).]

[3. Jaffe AB, et al. *J Biol Chem* 1994 ; 269 : 13065-8.]