

## Protéine-tyrosine kinases de la famille Src dans le système nerveux central

Remi Fagard  
Cyril Benes  
Guillaume Allée  
Huynh Van Tan

Les protéine-tyrosine kinases (PTK) de la famille de la p60<sup>c-Src</sup> (PTK<sup>Src</sup>) ont été découvertes dans des tumeurs. Elles sont cependant synthétisées à un niveau très élevé dans des tissus où il n'y a pas de division cellulaire, comme les plaquettes ou le système nerveux central (forme neuronale de la p60<sup>c-Src</sup>). L'étude des PTK<sup>Src</sup> dans le système nerveux central a permis de leur assigner deux grands rôles. Le premier concerne la différenciation ; il est mis en évidence par : (1) la localisation de la p60<sup>c-Src</sup> et de la p59<sup>Fyn</sup> dans les cônes de croissance ; (2) l'inhibition de la croissance des neurites sur support défini en l'absence de la p60<sup>c-Src</sup> ; (3) la modulation de la différenciation de lignées de neuroblastomes par transfection du gène codant pour la p60<sup>c-Src</sup>. Le second rôle, de découverte plus récente, est la phosphorylation de résidus tyrosines de récepteurs d'acides aminés excitateurs et de canaux ioniques, ce qui les met dans une situation idéale pour agir sur la plasticité synaptique.

### ADRESSE

R. Fagard : maître de conférences-praticien hospitalier, CHU Cochin. C. Benes : étudiant en thèse, Paris VI, boursier MRT. G. Allée : chercheur postdoctorant, boursier ANRS. H. Van Tan : chargé de recherche à l'Inserm. Laboratoire signalisation cellulaire et parasites, UFR Cochin, Université René-Descartes, 27, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75674 Paris Cedex 14, France.

Les protéine-tyrosine kinases de la famille Src (PTK<sup>Src</sup>) ont été découvertes initialement dans des tumeurs et leur activité a longtemps été associée aux processus prolifératifs. En réalité, elles sont également synthétisées dans des tissus très différenciés, et notamment dans le système nerveux central. A moins qu'il ne s'agisse d'enzymes vestigiales, ces kinases devraient donc avoir d'autres fonctions, non associées à la prolifération cellulaire. Les recherches sur

la fonction des PTK<sup>Src</sup> dans le système nerveux central sont longtemps restées difficiles. Cela vient, d'une part, de l'hétérogénéité cellulaire du tissu et, d'autre part, du chevauchement des fonctions de plusieurs PTK<sup>Src</sup> synthétisées dans une même cellule. Des résultats récents ouvrent un nouveau champ d'investigation très prometteur en montrant que des canaux ioniques subissent une régulation par phosphorylation sur tyrosine et que l'association de PTK<sup>Src</sup> à certains canaux ioniques contrôle

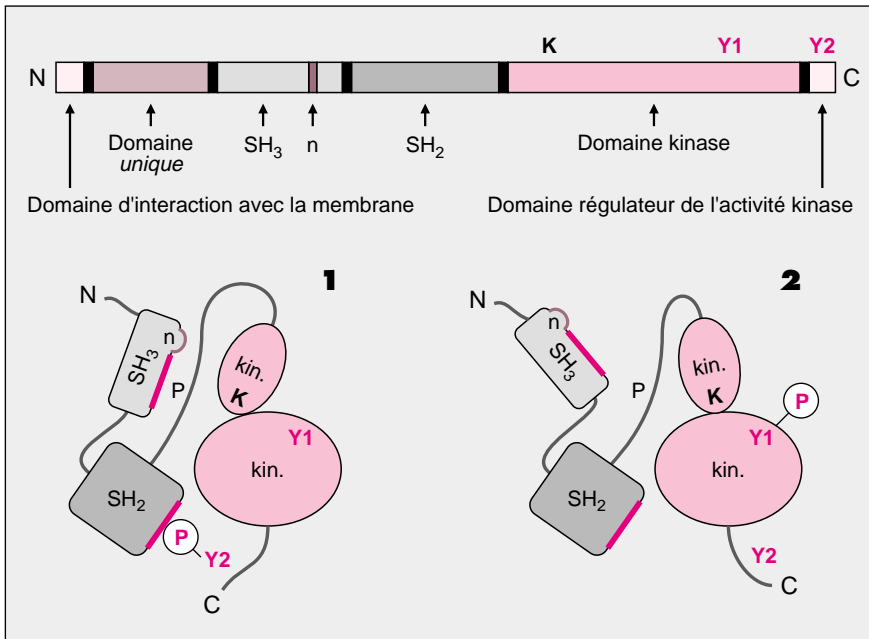


Figure 1. **Organisation moléculaire des PTKSrc.** Le domaine kinase comporte un site de fixation de l'ATP (K) et un site d'autophosphorylation sur tyrosine (Y1). SH3: domaine d'interaction avec des séquences riches en proline (P); n représente la « boucle n », une séquence de six acides aminés présente uniquement dans la protéine Src neuronale. SH2: domaine d'interaction avec des séquences Y(P) X1 X2 X3, où X3 est un acide aminé hydrophobe. Les zones d'interaction des domaines SH2 et SH3 sont représentées par un trait rouge épais. La tyrosine (Y2) du domaine régulateur interagit avec le domaine SH2 lorsqu'elle est phosphorylée par la p50<sup>CSK</sup>; elle inhibe alors l'activité kinase de la PTKSrc. L'activité kinase est réglée par un changement de conformation, récemment démontré par cristallographie [39]. Dans la conformation inactive (1) le domaine SH2 interagit avec Y2 phosphorylé et le domaine SH3 avec une séquence riche en proline (P), ce qui maintient le domaine kinase dans une conformation contrainte. Dans la conformation active (2) le SH2 et le SH3 n'interagissent plus avec des domaines intramoléculaires; le domaine kinase est dans une conformation ouverte et peut s'autophosphoryler et phosphoryler des substrats.

ainsi leur fonction. Ces observations, dans un contexte où les PTKSrc semblent associées à des fonctions d'apprentissage et de mémorisation [1], relancent l'intérêt pour ces enzymes.

La sous-famille des PTKSrc appartient à un vaste ensemble de PTK qui comprend notamment: les PTK récepteurs de facteurs de croissance, les PTK à localisation nucléaire et cytoplasmique et enfin les PTK associées aux foyers d'adhérence cellulaire [2]. Les PTKSrc sont au nombre de neuf et proviennent de neuf, gènes: *Src*, *Fgr*, *Lck*, *Fyn*, *Lyn*, *Hck*, *Blk*, *Yes* et *Yrk*. Elles ont une structure moléculaire très similaire, avec plusieurs domaines structuraux impor-

tants pour leurs fonctions (figure 1); la résolution récente de la structure de la p60<sup>c-Src</sup> par cristallographie [3] est une avancée fondamentale pour comprendre son mode d'activation (voir modèle, figure 1). Dans la cellule, les PTKSrc sont associées, dans certaines conditions, à la membrane plasmique par leur extrémité aminotermine. Cette localisation suggère un rôle dans les mécanismes initiaux de réponse cellulaire au milieu extérieur. De fait, on les trouve souvent associées à des récepteurs transmembranaires, comme le récepteur T ou le récepteur du PDGF.

Les PTKSrc semblent assurer des rôles clés, d'une part, dans la régulation de la différenciation neuronale et la

synaptogenèse et, d'autre part, dans le fonctionnement des neurones à maturité. Avant d'analyser les fonctions connues de ces PTK dans le système nerveux central, nous passerons brièvement en revue les particularités de leur synthèse dans ce tissu.

## PTKSrc synthétisées dans le tissu nerveux

On trouve la p60<sup>c-Src</sup> dans les tissus nerveux périphériques, les cellules neuroendocrines comme la médullorénaire, et dans le système nerveux central, surtout dans des régions riches en terminaisons nerveuses; il existe une forme de p60<sup>c-Src</sup> spécifique du système nerveux central: la p60<sup>c-Src+</sup> [4]. Cette forme, plus active, comporte une séquence de six acides aminés supplémentaires résultant d'un épissage alternatif dans le

domaine SH3 (figure 1); sa répartition dans le système nerveux central est différente de celle de la p60<sup>c-Src</sup> [5]. On trouve la p62<sup>Yes</sup> dans toutes les structures du système nerveux central, où sa synthèse recouvre en partie celle de la p60<sup>c-Src</sup> et de la p60<sup>c-Src+</sup>; cependant, la *pars reticulata* synthétise la p62<sup>Yes</sup> et pas la p60<sup>c-Src+</sup>, alors que la situation est inverse dans la *pars compacta* [6]; la synthèse de la p62<sup>Yes</sup> dans les neurones de Purkinje du cervelet est très élevée [7]. La p59<sup>Yrk</sup>, dont la séquence est très proche de celle de la p62<sup>Yes</sup>, est présente dans le système nerveux central de poulet.

La p59<sup>Fyn</sup> existe sous deux formes: la forme Fyn T spécifique des lymphocytes T, et la forme Fyn B synthétisée dans le cerveau et dans tous les tissus sauf les lymphocytes T. La différence entre ces deux formes résulte d'un épissage différentiel de l'exon 7. Dans ce cas, la séquence de fixation de l'ATP (domaine kinase, voir figure 1) est remaniée mais l'activité kinase n'est pas modifiée. Dans le cerveau, la p59<sup>Fyn</sup> est présente dans la glie (oligodendrocytes), dans les neurones du bulbe olfactif, de l'hypothalamus et de l'œil (photorécepteurs et cellules amacriennes).

La p56<sup>Lyn</sup> est synthétisée principalement dans l'hippocampe et dans le cervelet.

La p56<sup>Lck</sup> représente un cas particulier: bien que détectée dans des tissus fœtaux non lymphoïdes et dans certaines lignées humaines de carci-

nome de côlon et de poumon, elle était consid r e comme spécifique des lymphocytes. On a récemment mis en évidence sa synthèse dans les neurones du système nerveux central [8, 9], où elle est présente principalement dans le cortex, l'hippocampe, le bulbe olfactif et le cervelet [8]. La forme d tect e dans les neurones n'est cependant pas compl tement identique à la forme lymphocytaire : la séquence amino-terminale semble modifi e [9]. Il pourrait s'agir, soit d'un épissage alternatif, comme pour la p60<sup>c-Src</sup>, la p59<sup>Fyn</sup> et la p56<sup>Lyn</sup>, soit de points de départ de transcription différents. Deux codons initiateurs différents induisent la formation de deux ARNm distincts dans les lymphocytes [10]. En outre, ce gène a un promoteur distal et un promoteur proximal ; le promoteur distal est préférentiellement utilisé dans les lymphocytes normaux, tandis que les deux promoteurs sont fonctionnels dans les tumeurs lymphoïdes.

En ce qui concerne la localisation subcellulaire des PTKSrc, la p62<sup>Yes</sup> est concentr e dans les dendrites des cellules de Purkinje, la p60<sup>c-Src+</sup> est très abondante dans les terminaisons des dendrites [5], et la p60<sup>c-Src</sup> et la p59<sup>Fyn</sup> sont concentr es dans les cônes de croissance des neurites en cours d'extension [11].

### Rôle dans la différenciation neuronale

Le rôle des PTKSrc dans la différenciation a été le premier identifié, grâce à la localisation de plusieurs PTKSrc à l'extrémité des terminaisons nerveuses et surtout dans les cônes de croissance. Cette notion a encore été renforc e par la variation de la synthèse de ces kinases au cours du développement : la synthèse de la p60<sup>c-Src</sup> et de la p59<sup>Fyn</sup> augmente lors de la différenciation neuronale et reste ensuite  lev e dans le tissu adulte. La synthèse de la p62<sup>Yes</sup> augmente un peu plus tardivement au cours du développement, et continue à augmenter dans le cervelet après la naissance. L'étude de la croissance des neurites sur des supports définis, en utilisant des neurones provenant de souris dont les gènes codant pour les PTKSrc sont délétés, a permis de préciser le rôle des PTKSrc dans la différenciation. Ainsi, la croissance

G�ne	ARNm	Protéine	Régions d'expression �lev�e	Conséquence de l'invalidation du gène
<i>Src</i>	<i>Src</i>	p60 <sup>c-Src</sup>	Tout le SNC	Défaut de croissance sur support avec L1
	<i>Src+</i>	p60 <sup>c-Src+</sup>	(spécifique du SNC) mésencéphale, cervelet, pons, medulla	
<i>Yes</i>	<i>Yes</i>	p62 <sup>Yes</sup>	cervelet. Cellules de Purkinje	
<i>Fyn</i>	<i>Fyn B</i>	p59 <sup>Fyn</sup>	bulbe olfactif hypothalamus, �cil	Inhibition de la LTP Trouble de mémorisation et orientation Défaut de croissance sur support N-CAM
<i>Yrk</i>	<i>Yrk</i>	p62 <sup>Yrk</sup>		
<i>Lyn</i>	<i>Lyn</i>	p59 <sup>Lyn</sup>	hippocampe, cervelet	
<i>Lck</i>	<i>nLck (?)</i>	p56 <sup>Lck</sup>		

LTP : long term potentiation ; N-CAM : neuron-cell adhesion molecule ; L1 : protéine de surface L1.

des neurites sur des fibroblastes synthétisant N-CAM (*neuron-cell adhesion molecule*) est inhib e si les neurones proviennent de souris *Fyn*<sup>-/-</sup> [12]. Dans des neurones de cervelet de souris *Src*<sup>-/-</sup>, la croissance des neurites est ralentie si le support de culture est recouvert de la protéine de surface L1 ; en revanche, il n'y a pas de ralentissement de la croissance si le support est recouvert de laminine, ni si les neurones proviennent de souris *Fyn*<sup>-/-</sup> ou *Yes*<sup>-/-</sup> [13].

Ce rôle des PTKSrc dans la différenciation a pu être précisé par transfert de leurs gènes dans des lignées de neuroblastomes. De façon inattendue, alors que dans les cellules de phéochromocytome PC12 le transfert du gène codant pour l'analogie virale de la p60<sup>c-Src</sup>, la p60<sup>v-Src</sup>, provoque la différenciation en neurones [14], dans les cellules P19 (cellules de tératocarcinome qui se différencient en neurones) le transfert du gène codant pour la p60<sup>v-Src</sup>, ou la p60<sup>c-Src+</sup>, inhibe la croissance des neurites [15]. Pourtant, dans les P19, le récepteur de l'EGF active la croissance des neurites [16] et, dans les fibroblastes, la p60<sup>c-Src</sup> est indispensable à la réponse à l'EGF [17]. L'effet du transfert du gène de la p60<sup>c-Src</sup> sur la différenciation appar it donc claire-

ment conditionné par le contexte cellulaire ; les P19 étant des cellules très peu diff renci es, on peut penser que la p60<sup>c-Src</sup> est incapable d'induire la différenciation en neurones du fait de l'absence de facteurs interagissant spécifiquement avec elle. A l'appui de cette hypothèse, on notera que le transfert, dans les P19, du gène codant pour la protéine-tyrosine phosphatase RPTP  permet la différenciation en neurones tout en activant la p60<sup>c-Src</sup> par déphosphorylation de la tyrosine carboxy-terminale [18]. Une protéine-tyrosine kinase, la p50<sup>CSK</sup>, inhibe l'activité des PTKSrc par phosphorylation de leur tyrosine carboxy-terminale. L'importance de la régulation à ce niveau est soulign e par le fait que l'invalidation du gène codant pour la p50<sup>CSK</sup> est létale et provoque l'hyperactivation des PTKSrc. Les embryons de souris *CSK*<sup>-/-</sup> présentent, entre autres, un défaut de fermeture du tube neural et chez ces embryons [19], ou dans des lignées qui en sont d riv es [20], la p60<sup>c-Src</sup>, la p62<sup>Yes</sup> et la p59<sup>Fyn</sup> sont activ es. En outre, on observe une augmentation de la phosphorylation sur tyrosine de plusieurs protéines associ es aux intégrines comme la tensine, la cortactine et la p125<sup>FAK</sup> (*m/s n  3, vol 11, p. 391*).

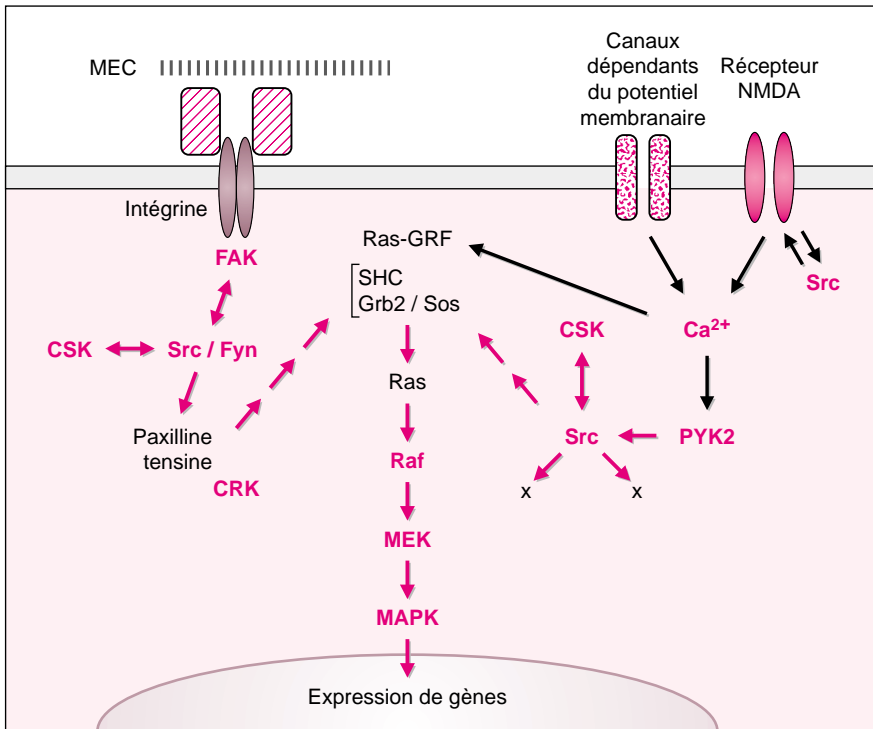


Figure 2. **Schéma spéculatif du rôle de la p60<sup>c-Src</sup> dans la différenciation neuronale.** La p60<sup>c-Src</sup> associée à la protéine-tyrosine kinase PYK2, est activée par l'élévation de la concentration cytoplasmique de calcium et active plusieurs effecteurs dont la voie Ras/MAP-kinase, conduisant à l'expression de gènes. Les PTKSrc, p59<sup>Fyn</sup> et p60<sup>c-Src</sup> sont également en aval du complexe intégrines/p125<sup>FAK</sup> stimulé par la matrice extracellulaire (MEC), cette voie met également en jeu le système Ras/MAPkinase (m/s, n° 10, vol 8, p. 1097). Ce dernier est activé par SHC, Grb2/Sos. Le facteur Ras-GRF (guanine-nucleotide release factor) activé par le calcium est spécifique des neurones [25]. SHC et Grb2 sont des adaptateurs à domaines SH2 et SH3; Sos : facteur d'échange.

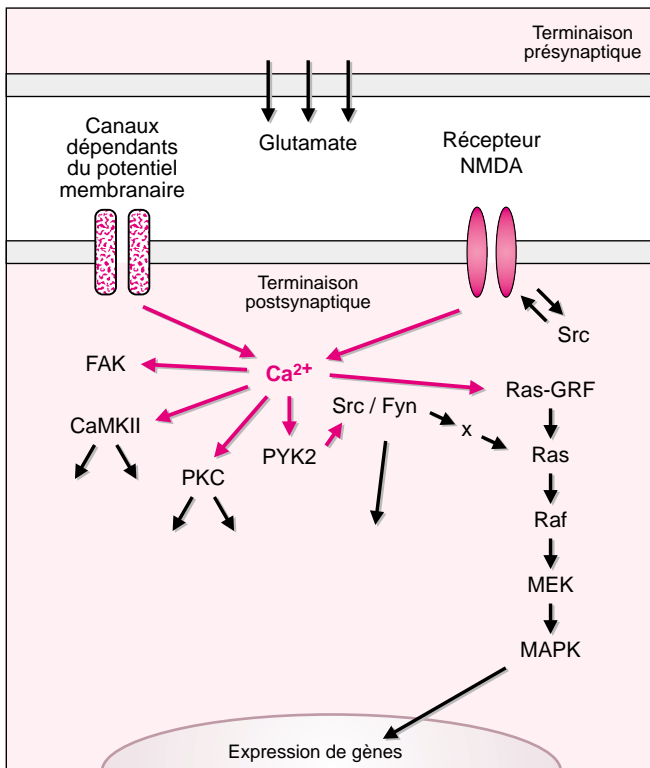
Grâce à l'inactivation du gène *CSK*, on a pu préciser le rôle respectif de chaque PTKSrc. Ainsi, l'arrêt du développement d'embryons *CSK*<sup>-/-</sup> peut être partiellement corrigé par délétion de *Src* mais pas de *Fyn* [21]; par ailleurs, la cortactine et la tensine sont des substrats privilégiés de la p60<sup>c-Src</sup>, alors que la p125<sup>FAK</sup> et la paxilline seraient les substrats de la p60<sup>c-Src</sup> et de la p59<sup>Fyn</sup>. Il y aurait donc dans le même temps redondance partielle des PTKSrc et spécificité; cela expliquerait que, bien que l'inactivation de leur gène ne soit pas létale, elles ne soient pas interchangeables. Dans des neurones en culture, l'entrée de calcium par des canaux dépendants du potentiel induit la différenciation en activant la p60<sup>c-Src</sup> [22]. Cette activation, probablement indirecte (figure 2), met en jeu la kinase PYK2/CAKβ activée indirectement par le calcium [23] et qui

forme un complexe avec la p60<sup>c-Src</sup> et l'active [24], déclenchant ensuite la voie des MAP-kinases [25] (m/s n° 1, vol. 13, p. 104). La stimulation de la croissance des neurites par le calcium est donc un processus qui met en jeu les PTKSrc.

### Récepteurs d'acides aminés excitateurs et PTKSrc

Le deuxième rôle-clé des PTKSrc est de découverte plus récente, il s'agit de la phosphorylation sur tyrosine et de la régulation de récepteurs d'acides aminés excitateurs et de canaux transmembranaires. Les récepteurs de neurotransmetteurs sont en effet des cibles des PTK: dans les zones postsynaptiques, on note la présence d'une protéine de 180 kDa phosphorylée sur des résidus tyrosine qui n'est autre que la sous-unité 2B

du récepteur NMDA [26], un des récepteurs du glutamate (m/s n° 6/7, vol. 10, p. 722). La phosphorylation de ce récepteur a été également observée en immunofluorescence sur des neurones d'hippocampe en culture primaire au niveau des synapses excitatrices. On y voit que les sous-unités NR2A et NR2B sont phosphorylées, mais pas la NR1 ni les récepteurs AMPA et kaïnate [27]. Les PTKSrc modulent les courants NMDA et les réponses calciques intracellulaires: le traitement par des inhibiteurs des PTK bloque ces courants, alors que l'injection intracellulaire de la p60<sup>c-Src</sup> les stimule [28]. Enfin, récemment, des expériences de *patch-clamp* en présence du peptide interagissant avec le domaine SH2 de la p60<sup>c-Src</sup> (figure 1) ont montré que le récepteur NMDA est modulé par la p60<sup>c-Src</sup> à laquelle il semble associé [29]. Les récepteurs GABA pourraient également être des cibles des PTKSrc, la p60<sup>v-Src</sup> phosphoryle le récepteur GABA<sub>A</sub> purifié *in vitro* et les inhibiteurs de PTK bloquent certaines fonctions du récepteur comme l'incorporation du chlorure dans des vésicules membranaires obtenues à partir de cerveau de souris ou dans des ovocytes synthétisant des sous-unités de ce récepteur [30]. Dans une autre étude, la co-expression des gènes de la p60<sup>v-Src</sup> et du récepteur GABA<sub>A</sub> (sous-unités α1, β1 et γ2L) provoque une stimulation des courants induits par le récepteur, stimulation abolie si on supprime les résidus tyrosine phosphorylables de la chaîne γ2L; cette observation a pu être reproduite dans des neurones en culture primaire [31]. Enfin, la phosphorylation sur tyrosine du récepteur GABA<sub>A</sub> purifié sur colonne d'affinité suggère que ce récepteur serait associé à une PTK [32]. Les PTKSrc ne sont pas les seules PTK pouvant régler l'activité des canaux récepteurs d'acides aminés excitateurs: l'insuline, *via* son récepteur, potentialise le récepteur NMDA [33] alors que le PDGF inhibe le récepteur GABA<sub>A</sub> [34]. La diversité des effets observés indique l'existence de régulations spécifiques de chaque récepteur et de chaque condition physiologique. Enfin, des canaux ioniques sont également associés et modulés par les PTKSrc: le canal



(*m/s* n° 10, vol. 8, p. 1097). Les voies déclenchées par PKC et CaMKII ne sont pas détaillées. Ras-GRF: Ras-guanine-nucleotide release factor. CaMKII: kinase dépendante du  $Ca^{2+}$  et de la calmoduline; PKC: protéine-kinase C.

potassium hKv1.5 est phosphorylé sur tyrosine et inhibé par coexpression avec le gène de la  $p60^{c-Src}$  [35]. Les PTKSrc sont donc des modulateurs de canaux ioniques et de récepteurs d'acides aminés excitateurs. De plus, leur régulation par le calcium les place dans une situation idéale pour agir sur la plasticité synaptique dans le système nerveux central.

### Rôle dans la potentialisation à long terme

On considère que des changements d'efficacité synaptique, étudiés principalement dans l'hippocampe, constituent le support des processus d'apprentissage et de mémorisation. Ces modifications ont un équivalent expérimental en électrophysiologie, la potentialisation à long terme, qui correspond à un renforcement de l'efficacité synaptique (*m/s* n° 8, vol. 6, p. 824). De nombreuses expériences suggèrent l'implication de

protéine-kinases comme la PKC (protéine-kinase C) et la CaMKII (kinase dépendante du  $Ca^{2+}$  et de la calmoduline), dans la potentialisation à long terme [36], qui est inhibée par l'invalidation des gènes codant pour ces kinases. Au sujet des PTKSrc, on a montré que les inhibiteurs de PTK inhibent la potentialisation à long terme: l'invalidation de *Fyn* inhibe la potentialisation à long terme, celle de *Src* ou de *Yes* est sans effet; de plus, cette inhibition est corrélée à une altération de l'apprentissage [1]. En outre, un des substrats préférentiels de la  $p60^{c-Src}$  dans les cônes de croissance est la synaptophysine [37], protéine qui contrôle la libération des vésicules synaptiques; cela indique que la  $p60^{c-Src}$  pourrait régler localement la libération de neurotransmetteur au niveau présynaptique. Ces résultats indiquent donc un rôle des PTKSrc dans la potentialisation à long terme: la  $p60^{c-Src}$  ou une autre PTKSrc, placée en aval d'un récepteur du glutamate et associée à

Figure 3. **Schéma spéculatif du rôle que pourraient jouer la  $p60^{c-Src}$  ou la  $p59^{Fyn}$  dans la plasticité synaptique.** L'activation des canaux calciques provoque l'entrée de calcium qui active des protéines kinases dont *Src* et *Fyn*. Les PTK PYK2 et FAK sont activées de concert et cette activation s'effectue en partie directement par le calcium (*m/s* n° 1, vol. 13, p. 104). L'activation de ces kinases déclenche la voie Ras/MAP-kinase

PYK2 serait activée par le calcium, activant à son tour des voies en aval comme la voie Ras/MAP-kinase (figure 3).

### Conclusion

Les PTKSrc sont donc impliquées à la fois dans le développement du système nerveux central puis dans son fonctionnement lorsqu'il est à maturité. Grâce aux invalidations doubles ou triples des gènes codant pour les PTKSrc, ou encore à l'invalidation de gènes des PTKSrc combinée à celle du gène de CSK, on a pu montrer que même si les champs d'action de ces kinases se recouvrent partiellement, on peut définir des fonctions spécifiques. Par exemple, un déficit nouveau comme la sensibilité à l'infection à *Listeria*, associée à une déficience de la phagocytose, apparaît chez les souris *Hck<sup>-/-</sup> Fgr<sup>-/-</sup>*. Mais l'étude par l'invalidation de gènes codant pour des protéines impliquées à la fois dans le développement et dans le fonctionnement d'un tissu adulte pose des problèmes. Par exemple, chez les souris *Fyn<sup>-/-</sup>* la potentialisation à long terme est inhibée, mais l'hippocampe n'a pas un développement normal [1]. Pour analyser leur rôle, il faudrait donc pouvoir bloquer ces kinases sélectivement à certains stades de développement (délétion inducible) et seulement dans certaines cellules. Cette dernière approche a été tout récemment réalisée avec le gène codant pour le récepteur NMDA, invalidé spécifiquement dans les neurones pyramidaux d'une partie de l'hippocampe (CA1) (*m/s* n° 5, vol. 13, p. 698) [38], inhibant la potentialisation à long terme et la mémoire spatiale. Ce type d'expérimentation, réalisé avec les PTKSrc, devrait permettre de mieux comprendre leur rôle dans un tissu dont la complexité et l'infinité des interactions entre cellules rendent difficile l'extrapolation d'observations faites sur des lignées cellulaires ■

### Remerciements

Ce travail a été réalisé grâce à l'Inserm, l'ANRS, l'ARC, la FRM et le CHU Cochin-Port-Royal.

## RÉFÉRENCES

1. Grant SGN, O'Dell TJ, Karl KA, Stein PL, Soriano P, Kandel ER. Impaired long-term potentiation, spatial learning, and hippocampal development in *Fyn* mutant mice. *Science* 1992; 258: 1903-10.
2. Bolen J. Nonreceptor tyrosine protein kinases. *Oncogene* 1993; 8: 2025-31.
3. Xu W, Harrison SC, Eck MJ. Three-dimensional structure of the tyrosine kinase c-Src. *Nature* 1997; 385: 595-602.
4. Brugge JS, Cotton PC, Queral AE, Barrett JN, Nonner D, Keane RW. Neurons express high levels of a structurally modified activated form of pp60<sup>c-Src</sup>. *Nature* 1985; 316: 554-7.
5. Sugrue MM, Brugge JS, Marshak DR, Greengard P. Immunocytochemical localization of the neuron-specific form of the c-Src gene product, p60<sup>c-Src</sup>, in rat brain. *J Neurosci* 1990; 10: 2513-27.
6. Zhao YU, Baker H, Walaas SI, Sudol M. Localization of p62<sup>Yes</sup> protein in mammalian neural tissues. *Oncogene* 1991; 6: 1725-33.
7. Sudol M, Kuo CF, Shigemitsu L, Alvarez-Buylla A. Expression of the *Yes* proto-oncogene in cerebellar purkinje cells. *Mol Cell Biol* 1989; 9: 4545-9.
8. Omri B, Crisanti P, Marty MC, Alliot F, Fagard R, Molina T, Pessac B. The Lck tyrosine kinase is expressed in brain neurons. *J Neurochem* 1996; 67: 377-85.
9. Huynh VT, Allée G, Benes C, Barnier JV, Vincent JD, Fagard R. Expression of a novel form of the p56<sup>Lck</sup> proto oncogene in rat cerebellar neurons. *J Neurochem* 1996; 67: 2306-15.
10. Rouer E, Benarous R. Alternative splicing in the human *LCK* gene leads to the deletion of exon 1' and results in a new type II *LCK* transcript. *Oncogene* 1992; 7: 2535-8.
11. Maness PF, Aubry M, Shores CG, Frame L, Pfenninger KH. c-Src product in developing rat brain is enriched in nerve growth cone membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 5001-5.
12. Beggs HE, Soriano P, Maness PF. NCAM-dependent neurite outgrowth is inhibited in neurons from *Fyn*-minus mice. *J Cell Biol* 1994; 127: 825-33.
13. Ignelzi MA, Miller DR, Soriano P, Maness PF. Impaired neurite outgrowth of *Src*-minus cerebellar neurons on the cell adhesion molecule L1. *Neuron* 1994; 12: 873-84.
14. Alema S, Casabore P, Agostini E, Tato F. Differentiation of PC12 pheochromocytoma cells induced by v-Src oncogene. *Nature* 1985; 316: 557.
15. Schmidt JW, Brugge JS, Nelson WJ. pp60<sup>Src</sup> tyrosine kinase modulates P19 embryonal carcinoma cell fate by inhibiting neuronal but not epithelial differentiation. *J Cell Biol* 1992; 116: 1019-33.
16. Den Hertog J, de Laat SW, Schlessinger J, Kruijer W. Neuronal differentiation in response to epidermal growth factor of transfected murine P19 embryonal carcinoma cells expressing human epidermal growth factor receptors. *Cell Growth Diff* 1991; 2: 155-64.
17. Twamley-Stein GM, Pepperkok R, Ansoorge W, Courtneidge SA. The Src family tyrosine kinases are required for platelet-derived growth factor-mediated signal transduction in NIH 3T3 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7696-700.
18. Den Hertog J, Pals CEGM, Peppelenbosch MP, Tertoolen LGJ, de Laat SW, Kruijer W. Receptor protein tyrosine phosphatase a activates pp60<sup>c-Src</sup> and is involved in neuronal differentiation. *EMBO J* 1993; 12: 3789-98.
19. Imamoto A, Soriano P. Disruption of the *Csk* gene, encoding a negative regulator of Src family tyrosine kinases, leads to neural tube defects and embryonic lethality in mice. *Cell* 1993; 73: 1117-24.
20. Nada S, Yagi T, Takeda H, Tokunaga T, Nakagawa S, Ikawa Y, Okada M, et al. Constitutive activation of Src family kinases in mouse embryos that lack Csk. *Cell* 1993; 73: 1125-35.
21. Thomas SM, Soriano P, Imamoto A. Specific and redundant roles of Src and Fyn in organizing the cytoskeleton. *Nature* 1995; 376: 267-71.
22. Rusanescu G, Qi H, Thomas SM, Brugge JS, Haleboua S. Calcium influx induces neurite growth through a Src-Ras signaling cassette. *Neuron* 1995; 15: 1415-25.
23. Lev S, Moreno H, Martinez R, Canoll P, Peles E, Musacchio JM, Plowman GD, et al. Protein tyrosine kinase PYK2 involved in Ca<sup>2+</sup>-induced regulation of ion channel and MAP kinase functions. *Nature* 1995; 376: 737-45.
24. Dikic I, Tokiwa G, Lev S, Courtneidge SA, Schlessinger J. A role for Pyk2 and Src in linking G-protein-coupled receptors with MAP kinase activation. *Nature* 1996; 383: 547-50.
25. Finkbeiner S, Greenberg ME. Ca<sup>2+</sup> dependent routes to Ras: mechanisms for neuronal survival, differentiation, and plasticity? *Neuron* 1996; 16: 233-6.
26. Moon IS, Apperson M, Kennedy M. The major tyrosin-phosphorylated protein in postsynaptic density fraction is N-methyl-D-aspartate receptor subunit 2B. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 3954-8.
27. Lau LF, Haganir RL. Differential tyrosine phosphorylation of N-methyl-D-aspartate receptor subunits. *J Biol Chem* 1995; 270: 20036-41.
28. Wang YT, Salter MW. Regulation of NMDA receptors by tyrosine kinases and phosphatases. *Nature* 1994; 369: 233-5.
29. Yu XM, Askalan R, Keil II GJ, Salter MW. NMDA channel regulation by channel-associated protein tyrosine kinase Src. *Science* 1997; 275: 674-8.
30. Valenzuela CF, Machu TK, McKernan RM, Whiting P, VanRenterghem BB, McManaman JL, Brozowski SJ, et al. Tyrosine kinase phosphorylation of GABAA receptors. *Mol Brain Res* 1995; 31: 1-2.
31. Moss SJ, Gorrie GH, Amato A, Smart TG. Modulation of GABA<sub>A</sub> receptors by tyrosine phosphorylation. *Nature* 1995; 377: 344-8.
32. Bureau MH, Laschet JJ. Endogenous phosphorylation of distinct gamma-aminobutyric acid type A receptor polypeptides by ser/thr and tyr kinase activities associated with the purified receptor. *J Biol Chem* 1995; 270: 26482-7.
33. Chen C, Leonard JP. Protein tyrosine kinase-mediated potentiation of currents from cloned receptors. *J Neurochem* 1996; 67: 194-200.
34. Valenzuela CF, Kazlauskas A, Brozowski SJ, Weiner JL, Demali KA, McDonald BJ, Moss SJ, et al. Platelet-derived growth factor receptor is a novel modulator of type A gamma-aminobutyric acid-gated ion channels. *Mol Pharmacol* 1995; 48: 1099-107.
35. Holmes TC, Fadool DA, Ren R, Levitan IB. Association of Src tyrosine kinase with a human potassium channel mediated by SH3 domain. *Science* 1996; 274: 2089-91.
36. Schwartz JH. Cognitive kinases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 8310-3.
37. Barnekow A, Jahn R, Scharl M. Synaptophysin: a substrate for the protein tyrosine kinase pp60<sup>c-Src</sup> in intact synaptic vesicles. *Oncogene* 1990; 5: 1019.
38. McHugh TJ, Blum KI, Tsien JZ, Tonegawa S, Wilson MA. Impaired hippocampal representation of space in CA1-specific NMDAR1 knockout mice. *Cell* 1996; 88: 1339-49.
39. Moarefi I, LaFevre-Bernt M, Sicheri F, Huse M, Lee CH, Kuriyan J, Miller WT. Activation of the Src-family tyrosine kinase Hck by SH3 domain displacement. *Nature* 1997; 385: 650-3.

**Symposium International  
d'Immunité Néonatale  
Annecy-France  
17-19 novembre 1997**

Contact : Betty Dodet,  
Fondation Marcel-Mérieux  
17, rue Bourgelat, BP 2021,  
69227 Lyon Cedex 02, France.  
Fax : (33) 72 73 79 93  
E-mail : 100765.1401@Compuserve.Com

TIRÉS À PART

R. Fagard.

## Summary

### Protein tyrosine kinases of the Src family in the central nervous system

The protein tyrosine kinases of the Src family (PTK $_{Src}$ ) are non-receptor tyrosine kinases. They share common structural features, are located in the cytoplasm and are associated to the plasma membrane. Several PTK $_{Src}$  are expressed simultaneously in tissues. The survival, and apparent absence of defect in mice following the knock-out of the different PTK $_{Src}$ , together with high homology and previous implication in several key cellular functions, raised the question of their possible redundancy. In the central nervous system (CNS), p60 $^{c-Src}$ , p62 $^{Yes}$  and p59 $^{Fyn}$  are highly expressed and one form (p60 $^{c-Src+}$ ) is specifically found. Various strategies have been used to analyze the specific role of PTK $_{Src}$  in the CNS. Analysis of their subcellular distribution in neurons showed that they are abundant in dendrites, axons and growth cones. At the cellular level, the knock-outs allowed to detect subtle defects such as the impairment of neurite outgrowth of  $Src^{-/-}$  cells on a defined matrix. On the other hand, the knock-out of p50 $^{CSK}$ , a PTK that inactivates several (and possibly all) PTK $_{Src}$ , was lethal, indicating that tight regulation of the PTK $_{Src}$  is important. Depending on the intracellular context or the differentiation state of cells, activation of p60 $^{c-Src}$  could result in a different cell response. indeed, overexpression of p60 $^{c-Src}$  inhibited neuronal differentiation in the teratocarcinoma P19 and activated it in the PC12 pheochromocytoma. A role of PTK $_{Src}$  in the nervous system was also indicated by the phosphorylation of excitatory amino acid receptors such as the NMDA and GABA $_A$  receptors, probably due to p60 $^{c-Src}$ . This points to a role of PTK $_{Src}$  in synaptic plasticity, a role which was also suggested by the impairment of long term potentiation (LTP) in p59 $^{Fyn}$  knock-out mice; although these mice have a severe developmental defect of the hippocampus. In conclusion, several PTK $_{Src}$  are expressed at high level in the CNS; their function appears to be related to the differentiation process of neurons at two main levels: formation of interneuronal connections, and modulation of these connections (synaptic plasticity).

## BIBLIOTHÈQUE

### L'INTERNET ET LA MÉDECINE

M. Godard, Ph. Godard

Le développement d'Internet offre de nombreuses opportunités en médecine, en terme de pédagogie, de formation continue, d'échanges d'information, de relations avec le patient. Cet ouvrage réalise un travail pédagogique sur l'utilisation d'Internet par les médecins, et ne se contente pas d'un relevé de sites, rapidement obsolète. La première partie répond à un certain nombre de questions d'ordre technique et pratique : comment se connecter à Internet ? Quel est le matériel indispensable ? Quel est le minimum de connaissances requis ? Quel est le prix de revient pour l'individu ? La seconde partie analyse un certain nombre de serveurs sélectionnés pour leur intérêt.



Éd. Masson,  
1997, 460 pages, 235 F