

De la promiscuité chez les hormones glycoprotéiques : hyperthyroïdie gestationnelle familiale par mutation du récepteur de la TSH

Le récepteur de la TSH (TSH-R) est un récepteur à sept domaines transmembranaires, couplé aux protéines G (Gs, et Gq dans l'espèce humaine) [1]. Il comporte un grand domaine extracellulaire similaire à celui des récepteurs de la LH/CG et de la FSH, qui permet d'individualiser, au sein des récepteurs couplés aux protéines G, le sous-groupe de récepteurs des hormones glycoprotéiques [2].

Les analogies de structure entre TSH-R, LH/CG-R et FSH-R avoisinent 70 % pour le domaine transmembranaire et intracellulaire et 40 % à 45 % pour le domaine extracellulaire [2]. L'étude de récepteurs chimériques LH-R/TSH-R échangeant les domaines extracellulaires a permis de montrer que ce domaine extracellulaire est le site de liaison du ligand et le siège de sa spécificité de liaison [3]. L'existence dans le domaine extracellulaire de motifs répétés, riches en leucines, dont on sait qu'ils sont impliqués dans des liaisons protéine-protéine, est en accord avec ces données. Un modèle tri-dimensionnel du domaine extracellulaire du TSH-R, fondé sur l'alignement de ces motifs répétés (*figure 1*), par analogie avec l'inhibiteur de la ribonucléase, a été élaboré par Kajava *et al.* [4]. Une structure en fer à cheval est proposée, le site de liaison présumé de l'hormone étant situé dans la concavité de la structure délimitée par des feuillettes β , la convexité de la structure étant formée d'hélices α . Les similitudes de structure entre TSH-R et LH/CG-R, autorisent une activation illicite du TSH-R par l'hCG, à concentration

élevée de l'hormone. En effet, s'il existe des similitudes de structure entre les récepteurs, il existe également des similitudes entre les différentes hormones glycoprotéiques qui partagent la même sous-unité alpha et ne diffèrent que par la sous-unité β , responsable de la spécificité [5]. La proximité de ces différentes hormones comme de leurs récepteurs indique une origine ancestrale commune.

Les variations de la fonction thyroïdienne au cours de la grossesse

En conditions normales, les concentrations plasmatiques des différentes hormones glycoprotéiques n'autorisent pas les réactions croisées. Au cours de la grossesse, en revanche, la concentration d'hCG atteint des valeurs 1000 fois plus élevées que celles de la LH au cours d'un pic ovulatoire. Cette concentration élevée d'hCG au cours de la grossesse, avec un pic vers la 10^e-12^e semaine d'aménorrhée, explique l'augmentation de la concentration de la thyroxine plasmatique, accompagnée d'une décroissance de la TSH observée à ce moment, et due à la stimulation de la thyroïde par l'hCG [6]. Ces modifications restent habituellement modestes, et les concentrations d'hormones restent dans les valeurs normales. Pour une minorité de femmes enceintes (moins de 1 %), il existe une authentique hyperthyroïdie biologique et clinique. Cette hyperthyroïdie est généralement de courte durée et se résout spontanément avec la diminution du taux d'hCG plasmatique.

Une hyperthyroïdie sévère, prolongée, récidivante et familiale de la grossesse

Nous avons pu observer, et rapporter [7], l'évolution, au cours de deux grossesses successives chez la même patiente, d'une hyperthyroïdie sévère et persistant pendant toute la grossesse, en l'absence de maladie thyroïdienne sous-jacente. La normalisation de la fonction thyroïdienne entre les deux grossesses et à distance de la deuxième grossesse a fait suspecter une relation de causalité entre la gravidité et l'hyperthyroïdie chez cette patiente. La concentration plasmatique d'hCG, lors de la survenue de l'hyperthyroïdie, ainsi que l'activité thyrotrope du sérum de la patiente étant normales, on devait alors évoquer une anomalie de la sensibilité thyroïdienne à la stimulation par l'hCG. Enfin, la mère de la patiente rapportant une histoire comparable, il était logique de suspecter une cause génétique.

Une anomalie mineure responsable d'un phénotype spectaculaire

Le séquençage génomique des 10 exons du gène du TSH-R a mis en évidence, chez la patiente et sa mère, une mutation faux-sens hétérozygote dans l'exon 7, mutation absente chez 100 sujets européens témoins. Cette mutation, Lys183Arg, affecte un résidu situé dans le domaine extracellulaire du TSH-R. Dans le modèle proposé par Kajava, la lysine 183 est localisée dans la partie concave du « fer à cheval » et donc potentiellement en contact avec le

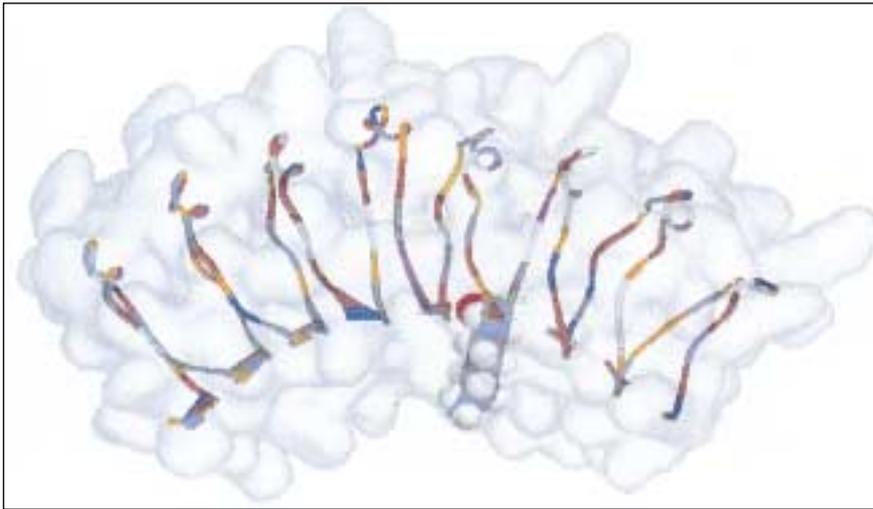


Figure 1. **Modèle tri-dimensionnel du domaine extracellulaire du récepteur de la TSH (résidus 54 à 254), avec représentation de la lysine 183.**

ligand, ce qui est en accord avec le phénotype clinico-biologique : une anomalie de la spécificité pour le ligand (figure 2). Il faut noter, cependant, que la substitution d'une arginine à une lysine est un changement peu important qui conserve, en particulier, la charge électrique.

Par ailleurs, le résidu correspondant, dans le LH-R à la Lys 183 est également une lysine, laquelle est conservée dans les différentes espèces pour lesquelles la séquence du LH-R et du TSH-R est connue (figure 2). La caracté-

risation *in vitro* du mutant s'imposait donc.

Caractérisation du mutant

L'expression du mutant à la membrane plasmique est normale : l'expression transitoire dans les cellules COS-7 du mutant et du récepteur sauvage a permis de vérifier en analyse par FACS à l'aide d'un anticorps monoclonal [8] que l'expression à la surface de la cellule est voisine pour les deux récepteurs. La

mesure de l'AMPc montre que l'activité basale du récepteur n'est pas modifiée (on se souviendra que le récepteur de la TSH est doté d'une activité constitutive supérieure, *in vitro*, à celle du récepteur LH/CG). Il ne s'agit donc pas d'un mutant à activité constitutive, comme cela a déjà été décrit dans les adénomes toxiques, et dans les cas d'hyperthyroïdie familiale non auto-immune [9, 10]. L'affinité pour la TSH n'est pas modifiée, non plus que la réponse à la TSH. En revanche, la réponse à l'hCG est supérieure, avec, grossièrement, une réponse identique à celle du récepteur sauvage, en termes de synthèse d'AMPc, pour une concentration d'hCG 50 à 100 fois plus faible (figure 3). Par ailleurs, la comparaison du TSH-R mutant et du récepteur de la LH/CG sauvage montre que le TSH-R mutant reste 500 à 1 000 fois moins sensible à l'hCG que le récepteur LH/CG.

En d'autres termes, l'anomalie génétique modeste donne *in vitro* un gain de sensibilité modeste. En revanche, *in vivo*, dans le contexte privilégié de la grossesse, le phénotype est celui d'une maladie grave qui, en l'absence de traitement, peut mettre en danger la vie de la mère et de l'enfant. Ce gain de fonction modeste du récepteur mutant explique l'absence d'anomalie clinique en dehors de la grossesse, y compris lors de la ménopause (chez la mère de la patiente) au cours de laquelle la concentration plasmatique de LH peut atteindre de façon prolongée une valeur de 100 UI/l et plus, concentration très en deçà des valeurs observées pour l'hCG au cours de la grossesse (50 à 100 000 UI/l).

Cette mutation conduit donc à définir une entité nosologique et physiopathologique nouvelle, l'hyperthyroïdie gestationnelle familiale, dont la prévalence, probablement faible, reste à déterminer.

TSH-R	Chien	AFQGLCNETLTL	K LYNNGFTS	I QGHAFNGT
	Souris	AFQGLCNETLTL	K LYNNGFTS	V QGHAFNGT
	Rat	AFQGLCNETLTL	K LYNNGFTS	I QGHAFNGT
	Bœuf	AFQGLCNETLTL	K LYNNGFTS	I QGHAFNGT
	Homme	AFQGLCNETLTL	K LYNNGFTS	V QGYAFNGT
	Mouton	AFQGLSNETLTL	K LYNNGFTS	I QGHAFNGT
LH-R	Rat	AFQGMNNE SVTL	K LYGNGFEE	V QSHAFNGT
	Bœuf	AFQGMNNE ITL	K LYGNGFEE	I QSHAFNGT
	Porc	AFQGMNNE ITL	K LYGNGFEE	I QSHAFNGT
	Souris	AFQGMNNE ITL	K LYGNGFEE	V QSHAFNGT
	Homme	AFQGMNNE SVTL	K LYGNGFEE	V QSHAFNGT
	Singe	AFQGMNNE ITL	K LYGNGFEE	V QSHAFNGT

Figure 2. **Alignements des séquences peptidiques du récepteur de la TSH et de la LH dans différentes espèces.** Les séquences entourant la lysine 183 (en rouge) sont extrêmement conservées dans toutes les espèces de mammifères étudiées. Noter, de même, la conservation des séquences entre TSH-R et LH-R. Code à une lettre des acides aminés : A : Ala ; C : Cys ; D : Asp ; E : Glu ; F : Phe ; G : Gly ; H : His ; I : Ile ; K : Lys ; L : Leu ; M : Met ; N : Asn ; P : Pro ; Q : Gln ; R : Arg ; S : Ser ; T : Thr ; V : Val ; W : Trp ; Y : Tyr.

Perspectives et spéculations

• Du côté des récepteurs

C'est la première fois, en pathologie humaine, qu'une mutation spontanée d'un récepteur couplé aux protéines G élargit la spécificité de ce

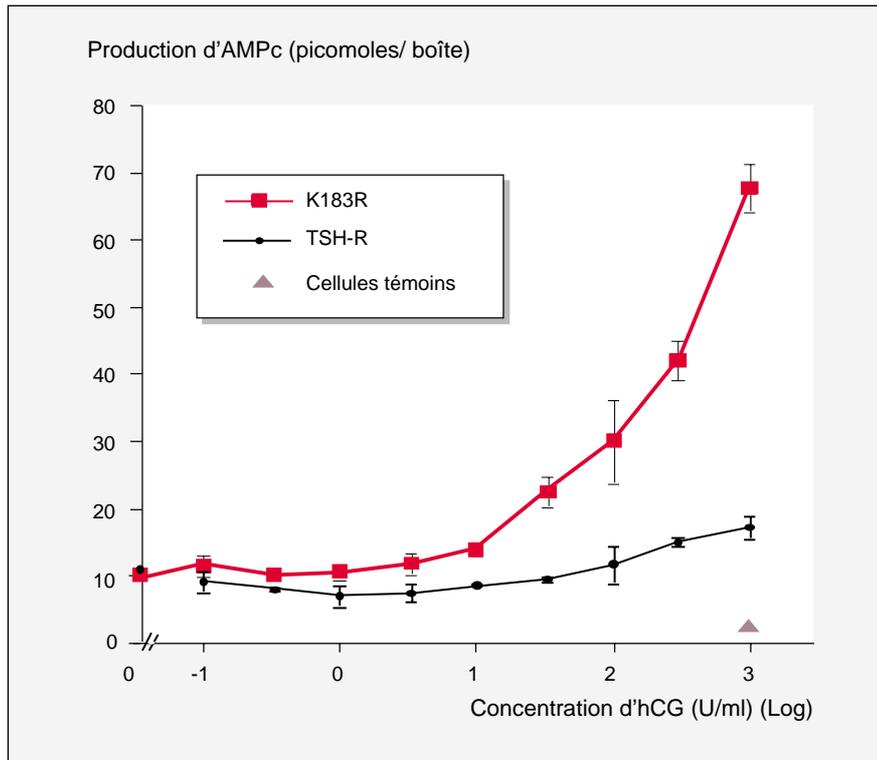


Figure 3. **Réponse à l'hCG du récepteur muté (Lys183Arg) et du récepteur normal (TSH-R).** Cellules COS transfectées avec le gène normal et le gène muté. Les cellules témoins, non transfectées, sont insensibles à l'hCG. Les cellules transfectées par un vecteur codant pour le gène du récepteur de TSH augmentent de quelques pour cent leur production d'AMP cyclique sous l'effet de 1 000 U/ml d'hCG. En revanche, les cellules transfectées avec le gène du récepteur muté sont sensibles à l'hCG, multipliant par 7 leur synthèse d'AMP cyclique en présence de 1 000 U/ml d'hCG.

récepteur. Des mutations activatrices, germinales ou somatiques, dotant le récepteur d'une activité constitutive avaient pu être décrites [9-11], ainsi que des mutations inactivatrices le rendant partiellement résistant ou totalement inactif [12, 13]; un nouveau mécanisme pathogénique est ici démontré. Compte tenu des grandes analogies de structure au sein des différents sous-groupes de récepteurs couplés aux protéines G, on peut spéculer sur l'existence d'autres maladies relevant du même mécanisme. Dans la famille des récepteurs nucléaires, un élargissement de spécificité de ligand avait déjà été décrit pour le récepteur des androgènes, qui devient sensible aux œstrogènes, dans certains cas de cancer de la prostate [14].

Un cas d'hypersensibilité surrénalienne à l'ACTH a été décrit [15] et

associé à l'existence de deux mutations du récepteur de l'ACTH, cependant sans caractérisation fonctionnelle des mutants. De tels cas, de découverte quasi fortuite, ne peuvent théoriquement pas avoir d'expression clinique, en raison des rétrocontrôles.

Une pathologie d'élargissement de spécificité peut en revanche s'exprimer à loisir, puisque les rétrocontrôles n'opèrent pas. Par exemple, la multiplicité des récepteurs des mélanocortines et de leurs ligands permettrait, en théorie, de telles stimulations croisées. Récemment, une spécificité de ligand variable pour un même récepteur a pu être démontrée [16], qui relève d'un autre mécanisme. Une maturation différente (en particulier une glycosylation différente) d'un type cellulaire à l'autre, dépendant de

l'expression sélective de molécules impliquées dans la maturation différentes (RAMP1 et RAMP2, pour *receptor associated modifying protein*), explique la double spécificité, pour l'adrénomédulline et le CGRP, d'un seul récepteur apparenté au récepteur de la calcitonine. Si cette acquisition post-traductionnelle de la spécificité de ligand devait être montrée pour d'autres récepteurs, une expression aberrante de ces molécules de type RAMP pourrait conduire à des réponses illégitimes de certains tissus à un stimulus donné, de la même façon que l'expression hétérotopique, dans la corticosurrénale, d'un récepteur du GIP peut conduire à un syndrome de Cushing dépendant de l'alimentation [17-19].

Les récepteurs couplés aux protéines G peuvent donc être le support d'une pathologie d'hyperfonctionnement d'organe par des mécanismes de plus en plus variés : mutations activatrices, mutation élargissant la spécificité de ligand, expression aberrante d'un récepteur et, peut-être, maturation aberrante d'un récepteur (figure 4).

• Du côté des ligands

On l'a vu, la grande similitude de structure entre TSH, LH, hCG, FSH permet, à forte concentration, des stimulations croisées illicites. La mutagenèse dirigée des sous-unités α et β de TSH et d'hCG, pratiquée dans le but d'obtenir des superagonistes a permis d'identifier des régions et des résidus de ces deux hormones responsables de la spécificité pour leurs récepteurs respectifs. Des molécules à tropisme et activité élargis ont pu être obtenues par mutations de ces résidus [20]. On peut imaginer que de telles mutations aient pu survenir spontanément. En particulier, la production d'hCG hyperactive, habituellement imputée à des variations de glycosylation [21, 22], pourrait, dans certains cas, relever de mutations des gènes de l'hCG.

• Sélectivité positive et négative

Le résidu Lys183 est présent dans le TSH-R et dans le LH-R. La mutation en arginine n'affecte pas la liaison et la réponse à la TSH. Ce résidu ne

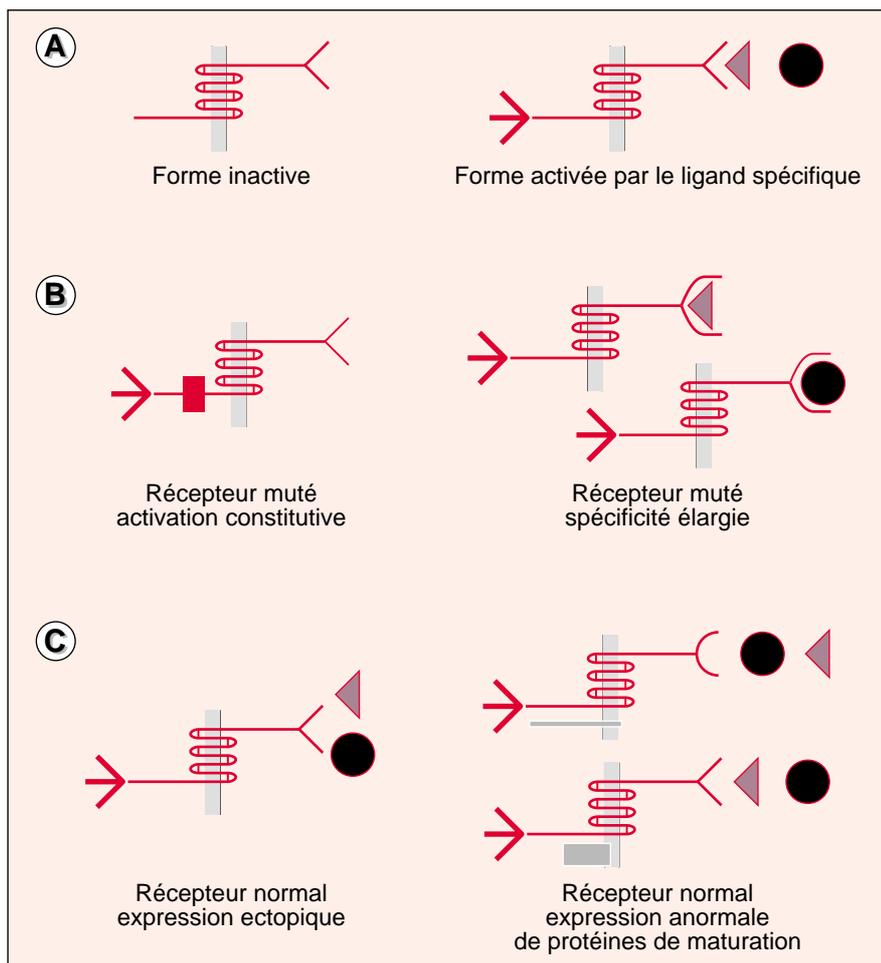


Figure 4. **Mécanismes possibles d'activation anormale d'un organe cible via un récepteur couplé aux protéines G.** **A.** Récepteur normal, expression orthotopique. En l'absence du ligand spécifique, le récepteur est inactif. **B.** Récepteur muté actif: une mutation peut entraîner une activation constitutive (en l'absence de ligand) ou être responsable d'un élargissement de la spécificité. **C.** Expression ectopique d'un récepteur normal: la présence de ligands non spécifiques mais susceptibles d'interagir avec le récepteur s'exprimant dans un tissu aberrant peut entraîner son activation; l'activation peut aussi être due à une maturation anormale du récepteur dans une localisation aberrante.

semble donc pas important pour la spécificité « positive ». En revanche, il joue certainement un rôle dans la sélectivité négative en agissant, au sein du TSH-R, comme un repoussoir pour l'hCG, alors qu'il n'en est rien pour le LH-R. Des résultats préliminaires [23] montrent que la mutation expérimentale Lys158Arg dans le LH-R, équivalente de la Lys183Arg du TSH-R aboutit à une diminution d'expression membra-

naire du LH-R, sans modification de l'affinité pour hCG, tandis que la mutation de cette lysine en glutamate conduit à une perte de fonction. Ces résultats, préliminaires, discordants pour des récepteurs apparentés soulignent la difficulté des extrapolations et des modélisations à partir des résultats obtenus pour d'autres récepteurs plus éloignés tels que les récepteurs adrénériques ■

RÉFÉRENCES

1. Parmentier M, Libert F, Maenhaut C, Lefort A, Gerard C, Perret J, *et al.* Molecular cloning of the thyrotropin receptor. *Science* 1989; 246: 1620-2.
2. Vassart G, Parmentier M, Libert F, Dumont J. Le récepteur de la thyrotropine: un membre pas comme les autres de la famille des récepteurs couplés aux protéines G. *Med Sci* 1990; 6: 985-90.
3. Nagayama Y, Russo D, Chazenbalk GD, Wadsworth HL, Rapoport B. Extracellular domain chimeras of the thyrotropin and lutropin/CG receptors reveal the mid-region (amino acids 171-260) to play a vital role in high affinity thyrotropin binding. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 173: 1150-6.
4. Kajava AV, Vassart G, Wodak SJ. Modeling of the three-dimensional structure of proteins with the typical leucine-rich repeats. *Structure* 1995; 3: 867-77.
5. Grossmann M, Weintraub BD, Szkulinski MW. Novel insights into the molecular mechanisms of human thyrotropin action: structural, physiological, and therapeutic implications for the glycoprotein hormone family. *Endocrinol Rev* 1997; 18: 476-501.
6. Glinoeir D. The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology. *Endocrinol Rev* 1997; 18: 404-33.
7. Rodien P, Brémont C, Raffin-Sanson ML, Parma J, Van Sande J, Costagliola S, Luton JP, *et al.* Familial gestational hyperthyroidism caused by a mutant thyrotropin receptor hypersensitive to human chorionic gonadotropin. *N Engl J Med* 1998; 339: 1823-6.
8. Costagliola S, Rodien P, Many MC, Ludgate M, Vassart G. Genetic immunization against the human thyrotropin receptor causes thyroiditis and allows production of monoclonal antibodies recognizing the native receptor. *J Immunol* 1998; 160: 1458-65.
9. Parma J, Duprez L, Van Sande, Cochaux P, Gervy C, Mockel J, *et al.* Somatic mutations in the thyrotropin receptor gene cause hyperfunctioning thyroid adenomas. *Nature* 1993; 365: 649-51.
10. Duprez L, Parma J, Van Sande J, Allgeier A, Leclere J, Schwartz C, *et al.* Germ-line mutations in the thyrotropin receptor gene cause non-autoimmune autosomal dominant hyperthyroidism. *Nat Genet* 1994; 7: 396-401.
11. Ledent C, Parma J, van Sande J, Vassart G. Génétique moléculaire des affections thyroïdiennes. *Med Sci* 1995; 11: 215-21.
12. Sunthornthepvarakul T, Gottschalk M, Hayashi Y, Refetoff S. Resistance to thyrotropin caused by mutations in the thyrotropin receptor gene. *N Engl J Med* 1995; 323: 155-60.

RÉFÉRENCES

13. Abramowicz MJ, Duprez L, Parma J, Vassart G, Heinrichs C. Familial congenital hypothyroidism due to inactivating mutation of the thyrotropin receptor causing profound hypoplasia of the thyroid gland. *J Clin Invest* 1997; 99: 3018-24.
14. Elo JP, Kvist L, Leinonen K, Isomaa V, Henttu P, Lukkarinen O, *et al.* Mutated human androgen receptor gene detected in a prostatic cancer patient is also activated by estradiol. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 3494-500.
15. Hiroi N, Yakushiji F, Shimojo M, *et al.* Human ACTH hypersensitivity syndrome associated with abnormalities of the ACTH receptor gene. *Clin Endocrinol* 1998; 48: 129-34.
16. McLatchie LM, Fraser NJ, Main MJ, Wise A, Brown J, Thompson N, *et al.* RAMPs regulate the transport and ligand specificity of the calcitonin-receptor-like receptor. *Nature* 1998; 393: 333-9.
17. Reznik Y, Allali-Zerah V, Chayvialle JA, *et al.* Food-dependent Cushing's syndrome mediated by aberrant adrenal sensitivity to gastric inhibitory polypeptide. *N Engl J Med* 1992; 327: 981-1024.
18. Lacroix A, Bolte E, Tremblay J, Hamet P. Syndrome de Cushing induit par le GIP: expression clinique d'un récepteur ectopique. *Med Sci* 1993; 9: 706-15.
19. Bertagna X. Le cortisol vient en mangeant. *Med Sci* 1992; 8: 980-2.
20. Grossmann M, Leitolf H, Weintraub BD, Szkudlinski MW. A rational design strategy for protein hormone superagonists. *Nat Biotechnol* 1998; 18: 871-5.
21. Tsuruta E, Tada H, Tamaki H, *et al.* Pathogenic role of asialo human chorionic gonadotropin in gestational thyrotoxicosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 350-5.
22. Hoermann R, Keutmann HT, Amir SM. Carbohydrate modifications transform human chorionic gonadotropin into a

potent stimulator of adenosine 3',5'-monophosphate and growth responses in FRTL-5 thyroid cells. *Endocrinology* 1991; 128: 1129-35.

23. Bhowmick N, Narayan P, Puett D. Probing the role of ionizable amino acid residues in the molecular recognition of human chorionic gonadotropin by the

lutropin receptor extracellular domain. *80th annual meeting of the Endocrine society*, June 1998, New Orleans, p. 3-15.

TIRÉS À PART

P. Rodien.

Patrice Rodien

Docteur en médecine, docteur ès sciences, chef de clinique assistant.

Catherine Brémont

Docteur en médecine, attachée.

Jean-Pierre Luton

Docteur en médecine, professeur des universités, praticien hospitalier, Clinique des maladies endocriniennes et métaboliques, Hôpital Cochin, 27, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

Marie-Laure Raffin-Sanson

Docteur en médecine, docteur ès sciences, ancien chef de clinique assistant, attachée, GEPE, Cnrs UPR 1524, Faculté de médecine Cochin-Port-Royal, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

Jasmine Parma

Docteur ès sciences.

Laurence Duprez

Docteur en médecine, docteur ès sciences, aspirant FNRS.

Gilbert Vassart

Docteur en médecine, docteur ès sciences, professeur, IRIBHN, ULB, 808, route de Lenick, Bruxelles, Belgique.

IRBM

ISTITUTO DI RICERCHE DI BIOLOGIA MOLECOLARE P. ANGELETTI



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI
DI ROMA "LA SAPIENZA"