

De FK506 à la maladie de Refsum... les surprises du double hybride

Le macrolide FK506, un antibiotique produit par *Streptomyces tsukubaensis*, est un puissant agent immunosuppresseur très utilisé en transplantation et lors du traitement de certaines maladies du système immunitaire [1]. Le FK506, la rapamycine et la ciclosporine A (CsA) deux autres immunosuppresseurs, se lient à des protéines cellulaires, les immunophilines, responsables de l'activité pharmacologique de ces agents. Le FK506 et la rapamycine se lient aux FKBP (*FK506 binding proteins*), et la CsA à d'autres immunophilines, les cyclophilines. FKBP et cyclophilines, bien que ne présentant aucune homologie de structure, ont en commun une activité peptidyl-prolyl-*cis*-trans-isomérase ou rotamase (*m/s* 1990, n° 10, p. 1022) qui facilite probablement le repliement et le transport des protéines cibles des immunophilines. Cette activité est inhibée par la fixation de leurs ligands respectifs, mais cette inhibition de l'activité enzymatique n'explique pas l'effet immunosuppresseur des produits [2].

Plusieurs FKBP ont été identifiées au cours des dix dernières années, dans les organismes procaryotes et eucaryotes. Initialement identifiées chez l'homme dans les lymphocytes T, ces protéines ont en fait une distribution tissulaire, cellulaire et subcellulaire très variée. Elles partagent un domaine commun de fixation au FK506, mais différent par leur affinité pour le FK506, par la structure des autres régions et par leur localisation subcellulaire, ce qui évoque une fonction propre pour chaque FKBP [3]. La FKBP12 a été isolée en premier et le mécanisme d'inhibition de la prolifération des cellules T par le complexe FKBP12-FK506 est maintenant bien compris. Le FK506 stabilise la liaison

de la FKBP12 à la protéine-phosphatase calcineurine. Cette association entraîne une inhibition de l'activité de la calcineurine nécessaire à l'étape initiale de l'activation des lymphocytes T via leur récepteur spécifique [4]. Les immunophilines sont aussi largement représentées dans le système nerveux et, par le biais de la calcineurine, le FK506 a une action neuroprotectrice. Mais le FK506, et plusieurs de ses analogues sans pouvoir immunosuppresseur, pourraient se lier à d'autres FKBP [5-7] et induire, indépendamment de la calcineurine, un effet sur la régénération nerveuse (*m/s* 1997, n° 6/7, p. 902).

La FKBP52 (également appelée FKBP59, HSP56, HBI) initialement découverte dans la structure hétéro-oligomérique des récepteurs des hormones stéroïdes, est organisée en trois domaines globulaires : un domaine amino-terminal (acides aminés 1-149) qui présente une activité rotamase et fixe le FK506 (*figure 1*), une région TPR (*tetratricopeptide repeat*) qui se lie à la HSP90, et un domaine de liaison à la calmoduline. Cependant, contrairement à la FKBP12, le complexe FK506-FKBP52 ne se lie pas à la calcineurine et sa (ses) fonction(s) physiologique(s) reste(nt) à établir [8].

Beaucoup de travaux sur les immunophilines indiquent que leur rôle biologique pourrait être dicté par les partenaires protéiques qu'elles reconnaissent et avec lesquels elles interagissent. Au moins deux ont été caractérisés par l'approche du double-hybride dans la levure : FAP48 (*FKBP associated protein*), protéine sans homologie avec des protéines déjà répertoriées, et qui interagit aussi bien avec la FKBP52 qu'avec la FKBP12, association que bloque le FK506 [9]. L'autre, qui fait l'objet d'un

article récent [10], est l' α -hydroxylase du phytanoil-CoA, appelée PAHX (*phytanoil-CoA α -hydroxylase*) [11, 12]. Cette enzyme peroxisomale est ciblée dans le peroxisome par la protéine PEX7, protéine réceptrice du signal cible PTS2 (*peroxisomal targeting signal 2*) et participe au catabolisme de l'acide phytanique. Cet acide monocarboxylique à 20 atomes de carbones a une structure qui le rapproche des prényl-protéines, et, chez l'homme, est d'origine exclusivement alimentaire. La présence en position 3 d'un radical méthyl empêche la première réaction de β -oxydation habituelle qui déclenche la dégradation des acides gras linéaires, et seule une α -oxydation par PAHX rend possible sa dégradation par la voie classique. L'absence d'activité de cette enzyme entraîne une accumulation de l'acide phytanique dans le sérum et les tissus, responsable chez l'homme de la symptomatologie ophtalmologique et neurologique sévère qui caractérise la maladie de Refsum, maladie rare, autosomique et récessive qui se déclare généralement dans la deuxième décennie de la vie [13]. D'après nos résultats, le domaine de liaison au FK506 de la FKBP52 est suffisant pour permettre une association directe de la FKBP52 avec PAHX. FK506 stabilise le complexe PAHX/FKBP52, du moins chez la levure [10]. Cet effet n'a pourtant pas été confirmé lors des expériences réalisées *in vitro* utilisant des protéines pures. Peut-être un troisième partenaire, présent dans la levure, serait-il nécessaire pour promouvoir les effets du FK506 sur ce complexe? Il est séduisant de penser que PEX7 pourrait être ce troisième partenaire, mais cela reste aujourd'hui encore spéculatif [10]. Enfin il faut sou-

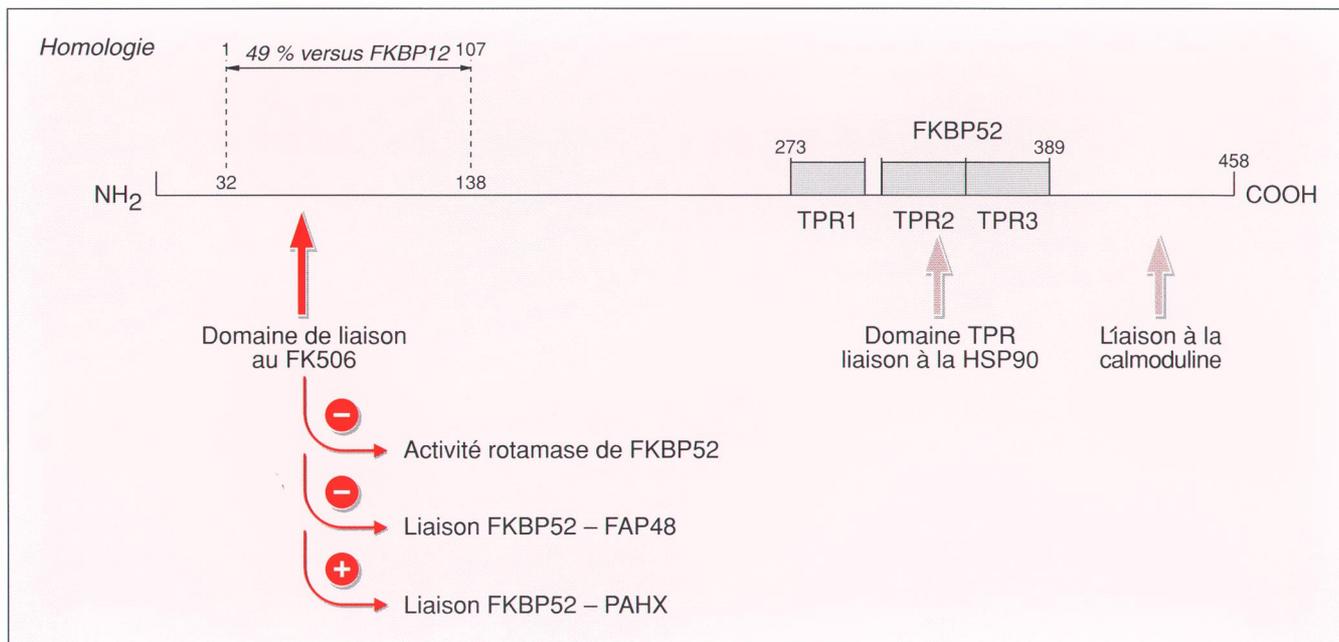


Figure 1. **Représentation schématique de la structure de la FKBP52 et des effets du FK506.** Le FK506 se fixe dans la partie amino-terminale de la FKBP52; ce même domaine contient l'information nécessaire pour l'activité rotamase et l'activité de liaison de la FKBP52 avec FAP48 et PAHX qui est modulée différemment par le FK506 comme indiqué. Trois TPR (tetratricopeptide repeat) situés entre les acides aminés 273 et 389 permettent l'interaction de la FKBP52 avec la HSP90; un domaine de liaison à la calmoduline est localisé dans la partie carboxy-terminale de la protéine.

ligner que malgré la grande homologie structurale entre le domaine amino-terminal de la FKBP52 et la FKBP12, aucune interaction entre la FKBP12 et PAHX n'a pu être observée suggérant donc que PAHX est une cible spécifique de la FKBP52.

La consultation des banques de données a révélé que PAHX avait été préalablement cloné et identifié parce que son expression dans le cortex rénal des souris *MRL-lpr/lpr* diminuait à un stade précoce de la néphrite lupique que développent ces souris [14]. Cette protéine pourrait donc être impliquée dans la progression de cette maladie auto-immune. La corrélation de cette observation d'une part avec la fonction connue de PAHX et d'autre part avec la capacité de PAHX d'interagir avec FKBP52 est actuellement difficile à établir. Il faut cependant noter que le traitement de ces souris *MRL-lpr/lpr* par le FK506 ralentit la progression de la néphrite; faut-il y voir une conséquence de la stabilisation du complexe FKBP52/PAHX par le FK506 ?

Si l'on ignore encore la signification physiologique du complexe PAHX-FKBP52, plusieurs hypothèses sont

envisageables: (1) par son activité rotamase, la FKBP52 pourrait être impliquée dans le repliement et/ou le transport de PAHX lors de sa migration dans le peroxisome; (2) l'interaction de PAHX avec le complexe FKBP52-FK506 pourrait modifier son activité enzymatique, par analogie avec l'inactivation de la phosphatase du complexe FKBP12/calcineurine qu'entraîne la fixation du FK506 sur la FKBP12.

Béatrice Chambraud
Étienne-Émile Baulieu

Inserm U. 488, Bâtiment Inserm Grégory-Pincus, 80, rue du Général-Leclerc, 94276 Le Kremlin-Bicêtre, France.

1. Baumann G, Borel JF. Mécanismes moléculaires de l'action des agents immunosuppresseurs. *Med Sci* 1992; 8: 366-71.
2. Fruman DA, Burakoff SJ; Bierer BE. Immunophilins in protein folding and immunosuppression. *FASEB J* 1994; 8: 391-400.
3. Galat A, Metcalfe SM. Peptidylproline *cis/trans* isomerases. *Prog Biophys Mol Biol* 1995; 63: 67-118.
4. Schreiber SL. Immunophilin-sensitive protein phosphatase action in cell signaling pathways. *Cell* 1992; 70: 365-8.

5. Snyder SH, Lai MM, Burnett PE. Immunophilins in the nervous system. *Neuron* 1998; 21: 283-94.
6. Gold BG. FK506 and the role of immunophilins in nerve regeneration. *Mol Neurol* 1998; 15: 285-306.
7. Hamilton GS, Steiner JP. Immunophilins: beyond immunosuppression. *J Med Chem* 1998; 41: 5119-42.
8. Lebeau MC, Massol N, Herrick J, et al. P59, an hsp90-binding protein. *J Biol Chem* 1992; 267: 4281-4.
9. Chambraud B, Radanyi C, Camonis JH, Shazand K, Rajkowski K, Baulieu EE. FAP48, a new protein that forms specific complexes with both immunophilins FKBP59 and FKBP12: prevention by the immunosuppressant drugs FK506 and rapamycin. *J Biol Chem* 1996; 271: 32923-9.
10. Chambraud B, Radanyi C, Camonis JH, Rajkowski K, Schumacher M, Baulieu EE. Immunophilins, Refsum disease, and lupus nephritis: the peroxisomal enzyme phytanoyl-CoA α -hydroxylase is a new FKBP-associated protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 2104-9.
11. Mihalik SJ, Morrell JC, Kim, D, Sacksteder KA, Watkins PA, Gould SJ. Identification of PAHX, a Refsum disease gene. *Nat Genet* 1997; 17: 185-9.
12. Jansen GA, Ofman R, Ferdinandusse S, et al. Refsum disease is caused by mutations in the phytanoyl-CoA hydroxylase gene. *Nat Genet* 1997; 17: 190-3.
13. Steinberg D. The metabolic and molecular basis of inherited disease, 7th ed. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. New York: McGraw-Hill, 1995: 2351-69.
14. Iwano M, Ueno S, Miyazaki M, et al. Molecular cloning and expression of a novel peptide (LN1) gene: reduced expression in the renal cortex of lupus nephritis in MRL/lpr mouse. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 229: 355-60.