



La drosophile, un modèle génétique pour l'étude des maladies neurodégénératives

► Pour progresser dans la compréhension et le traitement des maladies neurodégénératives, il apparaît nécessaire de disposer de modèles animaux permettant d'étudier le mécanisme des neurodégénérescences *in vivo* et dans des contextes génétiques variés. La drosophile est sans doute l'un des organismes les plus utiles pour ce type de recherche, mais existe-t-il des neurodégénérescences chez la mouche ? De fait, il s'avère que des atteintes comparables à celles observées lors des maladies neurodégénératives apparaissent spontanément avec l'âge dans certaines lignées mutantes de drosophile ou peuvent être induites chez cet animal par l'expression ciblée de fragments de protéines humaines polyglutaminées. Ces résultats ouvrent la voie à l'analyse génétique de ces maladies chez un organisme invertébré, c'est-à-dire à la recherche des gènes de neurodégénérescences et à l'étude de leurs interactions fonctionnelles. Outre l'intérêt de ce modèle pour l'essai de diverses stratégies, comme l'expression ciblée de transgènes ou les cribles pharmacologiques, l'étude des adaptations fonctionnelles propres à la drosophile pourrait suggérer de nouvelles approches thérapeutiques. ◀

Les maladies neurodégénératives se caractérisent par la destruction progressive de populations spécifiques de neurones du système nerveux central. Les progrès en génétique humaine et moléculaire ont permis de caractériser des gènes dont la mutation provoque ou facilite l'apparition de certaines de ces maladies [1, 2]. Néanmoins, aucun traitement connu ne retarde la progression des dégénérescences. L'une des difficultés est qu'un tel traitement devrait être appliqué avant l'apparition des premiers symptômes, car ces maladies se révèlent en général lorsque les dommages cellulaires sont déjà très étendus. D'où la nécessité de développer des modèles *in vivo* permettant d'étudier le processus pathologique dès son origine. Des modèles animaux de ces maladies ont été obtenus par une approche génétique chez la souris et plus récemment chez la drosophile. La drosophile présente de nombreux avantages pour les études génétiques, tels que sa facilité d'élevage, son cycle de vie relativement court (12 jours) et son taux élevé de reproduction. Surtout, il

Serge Birman

S. Birman : Génétique de la neurotransmission, Laboratoire de neurobiologie cellulaire et fonctionnelle, Cnrs, 31, chemin Joseph-Aiguier, 13009 Marseille, France.

est assez aisé chez cet animal de rechercher des mutants présentant un phénotype particulier ou de cibler l'expression d'un transgène *in vivo* dans un tissu souhaité. On peut ajouter le fait que son génome est quasiment séquencé et que la collection des mutants disponibles s'accroît régulièrement, ce qui permet d'espérer avoir au moins un mutant pour chaque gène d'ici quelques années.

La question primordiale est de s'assurer de la validité d'un modèle insecte pour l'étude des pathologies humaines. La drosophile est certainement un bon modèle si l'on accepte l'hypothèse fondamentale selon laquelle les maladies neurodégénératives sont des maladies cellulaires. En effet, les observations des biologistes du développement ont montré la forte conservation des mécanismes de la communication entre les cellules ou des voies de signalisation au cours de l'évolution des métazoaires. Dans cet esprit, la drosophile est utilisée aujourd'hui comme modèle pour la recherche des protéines-cibles du système nerveux responsables de la sensibilité à l'alcool [3] (voir *m/s* 1998, n° 11, p. 1265-6) ou de la sensibilisation à la cocaïne [4].

Les travaux déjà réalisés chez la drosophile en rapport avec les maladies neurodégénératives seront présentés en trois parties : premièrement, l'étude de mutants développant spontanément des neurodégénérescences ; deuxièmement, l'induction de phénotypes de dégénérescence par transgénèse et les modèles de maladies à expansion de triplets ; et troisièmement, les applications possibles des recherches effectuées dans notre groupe sur la neurotransmission chez la drosophile.

Étude de mutants de drosophile développant des neurodégénérescences

Dégénérescences rétinienne

La rétinopathie pigmentaire (*retinitis pigmentosa*) est un ensemble de maladies dégénératives de la rétine qui peuvent être liées à des mutations inactivant des protéines impliquées dans la transduction du signal lumineux. On estime qu'1 personne sur 80 est porteuse d'un gène risquant d'induire cette maladie. Un cas fréquent est la mutation du gène de la rhodopsine, la protéine photoréceptrice des bâtonnets, qui provoque une forme autosomale dominante de la maladie. Environ une douzaine de mutants présentant des dégénérescences de la rétine progressives ou induites par la lumière ont été isolés chez la drosophile, certains depuis très longtemps [5]. Les gènes affectés par ces mutations ont été dans l'ensemble clonés et caractérisés, comme par exemple *ninaE*, qui correspond à la forme majeure de rhodopsine de drosophile. Le fait que des mutations du gène de la rhodopsine peuvent provoquer une dégénérescence de la rétine [6] a d'abord été découvert chez la drosophile [7]. Les homologues humains de trois autres de ces gènes ont été isolés récemment. De façon remarquable, il apparaît que leur localisation chromosomique coïncide à chaque fois avec celle d'un locus lié à plusieurs formes de rétinopathie pigmentaire. Il est donc possible que des mutations de ces gènes entraînent une dégénérescence de la rétine chez l'homme comme c'est le cas chez la mouche.

Ainsi, l'homologue humain du gène de drosophile *rdgA* (*retinal degeneration A*), qui code pour une diacylglycerol kinase, est localisé en 7q32, un site rétinopathique, et exprimé uniquement dans la rétine et le cerveau [8]. Le gène *rdgB* est une protéine de 1 054 acides aminés contenant un domaine aminoterminal de transfert du phosphatidylinositol. Son homologue humain est localisé sur 12 kb en 11q13, une région chromosomique présentant quatre locus de rétinopathies héréditaires, comme la maladie de Best ou le syndrome 1 de Bardet-Biedl [9, 10]. Enfin, *rdgC* correspond à une nouvelle forme de sérine-thréonine phosphatase liant le calcium. L'un des deux homologues humains de *rdgC* est exprimé uniquement dans la rétine et la glande pinéale [11, 12] et le gène correspondant est aussi localisé dans une région

chromosomique (Xp21.1) associée à différentes formes de rétinopathies pigmentaires.

Un des avantages de la drosophile est de permettre l'expression ciblée de transgènes de façon sélective dans un tissu donné (par le système UAS-GAL4) (figure 1). Il est donc possible d'étudier *in vivo* le mécanisme des dégénérescences. Dans les mutants *rdgC* et *ninaE*, les cellules rétinienne qui meurent présentent des traits morphologiques caractéristiques de l'apoptose. L'expression *in vivo* dans la rétine de la protéine baculovirale anti-apoptotique p35, un anti-caspase à large spectre, bloque les dégénérescences et permet aux drosophiles mutantes de conserver une vision fonctionnelle [13]. Cette observation expérimentale est en faveur de l'utilisation de la thérapie génique avec des agents anti-apoptotiques pour traiter la

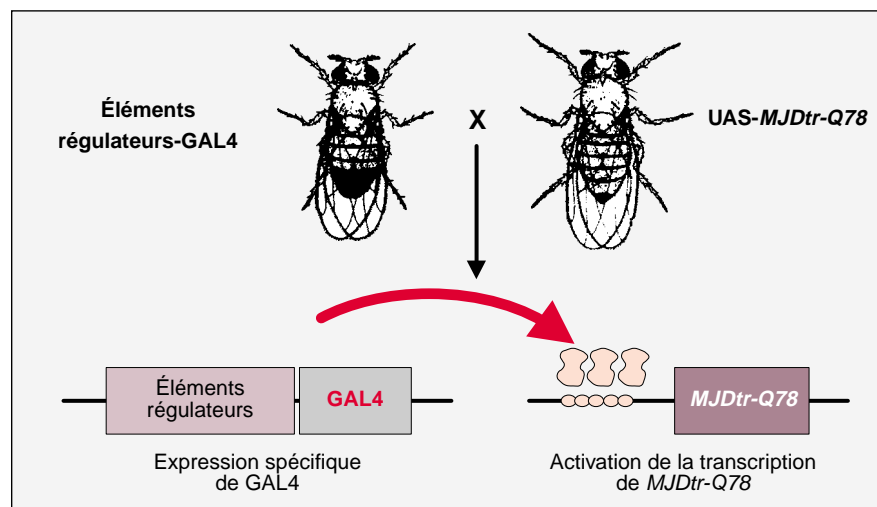


Figure 1. **Principe de l'expression ciblée d'un fragment de l'ataxine-3 contenant une expansion de polyglutamine.** L'expression du fragment polyglutaminé MJDtr-Q78 a été effectuée par Warrick et al. [30] en utilisant le système UAS-GAL4 [31]. GAL4 est un activateur de transcription de la levure, qui agit après s'être fixé sur des séquences d'ADN spécifiques appelées UAS (upstream activating sequence). Des lignées de drosophiles transgéniques sont obtenues par l'insertion dans leur génome d'un gène chimérique composé du fragment MJDtr-Q78 fusionné en aval de séquences UAS. Pour obtenir l'expression ciblée, une lignée UAS-MJDtr-Q78 est croisée avec une autre lignée transgénique contenant le gène du facteur GAL4. L'expression de GAL4 varie selon la lignée utilisée car elle est déterminée par les séquences d'ADN régulatrices placées en amont du gène GAL4 ou bien situées à proximité du site d'insertion du transgène GAL4 dans le génome (effets de position). Chez les descendants directs de ce croisement, les deux transgènes sont présents dans le génome mais le fragment MJDtr-Q78 est transcrit uniquement dans les cellules dans lesquelles GAL4 est exprimé.

rétinopathie pigmentaire ou d'autres neurodégénérescences [14].

Dégénérescences dans le système nerveux central

On connaît aujourd'hui environ une dizaine de mutants de drosophile dont le phénotype évoque les maladies neurodégénératives du système nerveux central. Des cribles systématiques sont en cours pour en découvrir davantage, en particulier par le groupe de Seymour Benzer. Le principe général de ces cribles consiste à sélectionner les mouches mutantes de longévité adulte réduite et de rechercher des signes patents de dégénérescences comme une vacuolisation du tissu cérébral sur des coupes histologiques [15]. Pour l'instant, on ignore s'il existe des maladies humaines associées à la mutation de gènes homologues puisque les gènes inactivés chez ces mutants de drosophile n'ont en général pas encore été identifiés.

Une liste des principaux mutants neurodégénératifs de drosophile est présentée dans le *Tableau I*. Par exemple, les mutants *spongecake* et *eggroll* se caractérisent par une forte diminution de la durée de vie

adulte. Sur des coupes de cerveau, les drosophiles *spongecake* présentent des vacuoles provenant du gonflement et de la coalescence de terminaisons axonales, qui évoquent les dégénérescences spongiformes de la maladie de Creutzfeldt-Jakob. Le mutant *eggroll* montre également des vacuoles ainsi que des structures intracellulaires enroulées et multilamellaires comparables cette fois aux inclusions observées dans la maladie de Tay-Sachs [16]. Le mutant *pirouette* a été isolé dans un crible de défaut d'audition [17]: le phénotype montre des neurodégénérescences massives souvent asymétriques dans le cerveau et un comportement de rotation qui évoque les modèles lésionnels unilatéraux de la maladie de Parkinson chez le rat. Citons encore le mutant *bubblegum* [18], qui présente des dégénérescences axonales et un taux anormalement élevé d'acides gras très longs, comme dans le cas d'une maladie dégénérative humaine, l'adrénoleucodystrophie (ALD).

L'identification des gènes correspondants à ces différentes mutations devrait conduire à une meilleure compréhension des mécanismes des dégénérescences dans le système nerveux central. Un cas où le gène a été caractérisé est le mutant *swiss*

cheese, dont le phénotype se traduit par la formation de nombreuses vacuoles dans le cerveau associées à des dégénérescences neuronales et gliales et une diminution de la durée de vie [19]. L'homologue humain du gène *swiss cheese* a été isolé récemment: il s'agit de la *neuropathy target esterase* (NTE) [20], une enzyme connue de longue date car sa modification covalente après un empoisonnement par certains dérivés organo-phosphorés entraîne à long terme des dégénérescences axonales [21].

Induction de dégénérescences par transgénèse: la drosophile comme modèle des maladies à expansion de triplets

La chorée de Huntington est une maladie neurodégénérative héréditaire de type autosomique dominant qui se déclare en général après 30 ou 40 ans et se traduit d'abord par des mouvements involontaires, puis mène à la démence et à la mort [21bis]. Cette maladie affecte cliniquement environ 1 personne sur 10 000. La mutation consiste en l'insertion d'une expansion de triplets répétés CAG de taille variable

Tableau I		
MUTANTS DE DROSOPHILE NEURODÉGÉNÉRATIFS		
Mutant (symbole)	Phénotype	Gène correspondant
<i>Blackpatch</i> (Bpt)	dégénérescence des lobes optiques	?
<i>bubblegum</i> (bgm)	dégénérescence dans les lobes optiques	?
<i>drop dead</i> (drd)	formation de vacuoles dans le cerveau	?
<i>eggroll</i>	formation de structures enroulées multilamellaires et de corps d'inclusions dans le cytoplasme des neurones et cellules gliales	?
<i>mushroom body miniature</i> (mbm)	dégénérescence des cellules de Kenyon des corps pédonculés (chez la femelle uniquement)	?
<i>pirouette</i> (pir)	déficient pour l'audition, dégénérescences dans le cerveau associées à un comportement de rotation	?
<i>small optic lobes</i> (sol)	dégénérescence dans les lobes optiques de type calpaïne	protéine avec un domaine
<i>spongecake</i>	formation de vacuoles dans les lobes optiques	?
<i>swiss cheese</i> (sws)	formation de nombreuses vacuoles dans le cerveau	homologue de la <i>neuropathy target esterase</i> (NTE)
<i>vacuolar medulla</i> (vam)	formation de vacuoles dans les lobes optiques	?
<i>vacuolar peduncle</i> (vap)	formation de vacuoles dans les corps pédonculés et le corps central du cerveau	?

dans la partie codante du gène de la huntingtine, une protéine de 3 144 acides aminés à la fonction encore inconnue. La protéine mutante contient de ce fait une longue séquence homopeptidique de polyglutamine (jusqu'à 150 résidus au lieu de moins de 36 normalement) insérée dans sa partie amino-terminale. Un trait caractéristique de cette maladie est la formation d'inclusions nucléaires contenant des fragments polyglutaminés de la huntingtine mutante et de l'ubiquitine dans les neurones. Ces inclusions nucléaires sont considérées soit comme la cause des dégénérescences, soit au contraire comme une réaction de défense de la cellule contre d'autres processus cellulaires moins visibles [22-24].

Plusieurs autres maladies neurodégénératives dominantes chez l'homme sont provoquées par des expansions de polyglutamine dans une séquence spécifique et caractérisées par la formation d'inclusions nucléaires. Bien que le gène portant la mutation soit différent pour chaque maladie à polyglutamine, les mécanismes pathogènes semblent être néanmoins identiques [25]. Ces maladies touchent souvent le cervelet, comme les ataxies spino-cérébelleuses (SCA1 et SCA3). Dans le cas de SCA3, ou maladie de Machado-Joseph, le gène affecté est MJD1, qui code pour l'ataxine-3, une protéine cytoplasmique de fonction inconnue. Dans l'ataxine-3 mutée, la séquence de polyglutamine se trouve insérée près de l'extrémité carboxy-terminale.

Il a été estimé en 1996 [26] que 12 % des protéines de drosophile contiennent des séquences homopeptidiques, et en particulier de la polyglutamine, contre 1,7 % des séquences humaines. Aucune de ces protéines n'est connue à ce jour pour causer de façon dominante des phénotypes de neurodégénérescence. Curieusement, une grande majorité des séquences de drosophile à homopeptides sont des protéines qui jouent un rôle dans la formation du système nerveux. La drosophile semble donc être un organisme adapté pour étudier la fonction physiologique ou patho-

logique de ces homopeptides dans le système nerveux.

Des modèles des maladies à expansion de triplets ont été développés chez la souris [27, 28] et la drosophile [29, 30]. Chez la souris, l'expression de l'exon 1 de la huntingtine humaine fortement polyglutaminé (115-156 résidus) induit l'apparition d'inclusions nucléaires [27] mais sans provoquer de neurodégénérescence. Au contraire, chez la drosophile, l'expression de fragments amino-terminaux de la huntingtine humaine contenant des séquences de polyglutamine de tailles diverses (2, 75 ou 120 résidus) dans les photorécepteurs de la rétine induit à la fois la formation d'inclusions nucléaires et la dégénérescence de ces cellules [29]. Plus la taille du segment de polyglutamine augmente, plus la dégénérescence est sévère et apparaît précocement, comme c'est le cas pour la maladie humaine. Il semble donc dans ce cas que le modèle drosophile soit plus proche des conditions de la maladie humaine que le modèle souris. Dans le modèle drosophile, les cellules en dégénérescence présentent certaines des caractéristiques morphologiques de l'apoptose. Cependant, à l'inverse de ce qui a été observé pour les dégénérescences rétinopathiques, l'expression du gène anti-apoptotique p35 ne protège pas contre la mort cellulaire induite par la polyglutamine. Dans le cas de la maladie de Huntington, la mort cellulaire pourrait donc résulter d'une forme d'apoptose différente de celle induite par la cascade des caspases.

Un modèle comparable a été développé chez la drosophile pour la maladie de Machado-Joseph (SCA3) [30]. Ces auteurs ont exprimé un segment polyglutaminé du gène MJD1 (MJDtr-Q78) dans différents tissus et de façon sélective en utilisant le système d'expression ciblée UAS-GAL4 [31] (figure 1). L'expression de MJDtr-Q78 dans l'œil provoque, comme pour le modèle de maladie de Huntington, des dégénérescences rétinienne associées à des inclusions intranucléaires. Les neurones photorécepteurs sont les plus affectés. Un point important est que la mort cellulaire se produit

plusieurs jours après l'apparition des inclusions nucléaires, ce qui montre l'aspect progressif du modèle, un peu comme pour la maladie humaine mais à une échelle de temps accélérée. La protéine anti-apoptotique p35 n'a pas d'effet marqué sur la progression des dégénérescences. De façon remarquable, les conséquences de l'expression du segment d'ataxine polyglutaminé varient suivant le type cellulaire concerné. L'expression ciblée dans tous les neurones ou les muscles est létale à plus ou moins long terme, mais la cause de cette mortalité induite n'a pas été déterminée. En revanche, l'expression dans les cellules épithéliales des disques imaginaires, progéniteurs de structures adultes diverses comme les ailes, les pattes ou les antennes, n'a aucun effet délétère sur ces structures (Tableau II).

Les modèles drosophile des maladies à expansion de triplets devraient permettre de comprendre pourquoi certains types cellulaires sont plus sensibles que d'autres à la présence de ces homopeptides. Ils devraient également être utiles pour rechercher des gènes fonctionnellement impliqués dans le mécanisme des dégénérescences. En effet, la dégénérescence rétinienne est un phénotype immédiatement visible chez la drosophile, ce qui rendra aisée la recherche de mutants réduisant ou au contraire exacerbant l'expression de ce phénotype. Enfin, une caractéristique des maladies à expansion de triplets est l'anticipation génétique: la longueur des séquences de triplets peut augmenter à chaque génération, provoquant une apparition plus précoce de la maladie et augmentant parfois la gravité des symptômes. Il serait intéressant de voir si un phénomène comparable pourra être mis en évidence dans ces lignées de drosophiles transgéniques.

Applications possibles de l'étude de la neurotransmission chez la drosophile

Certains des résultats obtenus dans notre groupe pourraient avoir des applications dans le domaine des maladies neurodégénératives.

Tableau II

CONSÉQUENCES DE L'EXPRESSION CIBLÉE D'UN FRAGMENT POLYGLUTAMINE DE L'ATAXINE-3 DANS DIFFÉRENTS TISSUS DE DROSOPHILE

Lignée GAL4	Tissu d'expression	Phénotype
<i>gmr</i> -GAL4	rétine	formation d'inclusion nucléaires, dégénérescence progressive des photorécepteurs
<i>elav</i> -GAL4	neurones	longévité très réduite des mouches adultes, absence de signes patents de neurodégénérescence dans le cerveau
lignée 24B <i>dpp</i> -GAL4	muscles cellules épithéliales des disques imaginaires	mortalité au stade larvaire aucun effet

Les données proviennent de [28]. Une même lignée transgénique UAS-MJDr-Q78 a été croisée avec plusieurs lignées exprimant GAL4 dans différents tissus. Les conséquences phénotypiques de l'expression du fragment d'ataxine-3 polyglutaminé sont variables selon le type cellulaire concerné.

Tyrosine hydroxylase de drosophile et maladie de Parkinson

Chez les insectes, la dopamine est à la fois un neurotransmetteur dans le système nerveux central et un pré-curseur de composants de la cuticule (l'exosquelette) synthétisé massivement dans l'épithélium externe sécrétoire (« l'épiderme »). Nous avons montré que la drosophile possède deux isoformes différentes de tyrosine hydroxylase, l'enzyme limitante de biosynthèse de la dopamine. L'une, DTH I, est spécifiquement exprimée dans le système nerveux central dans les neurones dopaminergiques ; l'autre, DTH II, se trouve dans l'épiderme sécrétoire ainsi que dans quelques autres tissus non-nerveux [32]. Ces deux enzymes proviennent d'un épissage alternatif du pré-messager tyrosine hydroxylase et diffèrent uniquement par la structure de leur domaine régulateur amino-terminal : DTH II contient dans ce domaine un segment spécifique très acide de 71 acides aminés qui n'a pas d'équivalent chez les vertébrés (figure 2). De fait, nous avons observé que DTH II présente des propriétés de régulation originales [33]. Cette isoforme de tyrosine hydroxylase propre aux insectes est très stable et adopte spontanément une conformation partiellement activée. Elle est moins sensible que la tyrosine hydroxylase des vertébrés à la rétroinhibition par la dopamine et dépend moins de l'activation par la protéine kinase A. Les symptômes de la maladie de

Parkinson (akinésie, rigidité et tremblements de repos), proviennent de la destruction spécifique des neurones dopaminergiques nigro-striés. La localisation intracérébrale très précise de ces dégénérescences a permis d'envisager d'en traiter les symptômes par une stratégie de thérapie génique. En effet, des expériences effectuées chez le rat montrent qu'il est possible de compenser en partie les pertes en dopamine et les déficits comportementaux résultant de la destruction des neurones dopaminergiques nigro-striés par l'introduction dans le striatum d'un vecteur adénoviral contenant le gène de la tyrosine hydroxylase [34, 35]. Cependant, l'effet bénéfique est de durée limitée sans doute à cause de la stabilité et de l'activité intrinsèques de l'enzyme. Pour obtenir une enzyme plus stable et plus active, nous pensons qu'il devrait être possible de modifier la tyrosine hydroxylase humaine à l'image de la forme épidermique de tyrosine hydroxylase de drosophile, en insérant un segment riche en résidus acides dans le domaine régulateur. Cette forme « activée » de tyrosine hydroxylase pourrait ensuite être utilisée dans le traitement par thérapie génique de la maladie de Parkinson.

Vers un modèle drosophile d'excitotoxicité ?

Les propriétés excitotoxiques des neurotransmetteurs excitateurs (glutamate et aspartate) seraient impliqués dans l'éthiopathologie de plu-

sieurs maladies neurodégénératives et la mort neuronale secondaire à une ischémie [36]. L'excitotoxicité du glutamate et de l'aspartate serait due à une activation prolongée des récepteurs glutamatergiques, en particulier ceux de type NMDA, qui provoque un influx d'ions calcium et en conséquence la production de radicaux libres [21bis]. L'accumulation d'acides aminés excitateurs dans l'espace extracellulaire est donc dangereuse pour les neurones et est normalement contrôlée par les transporteurs Na/K-dépendants de haute affinité du glutamate, en particulier les transporteurs astrocytaires GLAST et GLT-1. En effet, l'inactivation de ces transporteurs entraîne des dégénérescences neuronales, comme cela semble être le cas par exemple dans la sclérose latérale amyotrophique (SLA), une maladie dégénérative du motoneurone sporadique ou héréditaire (voir *m/s* 1998, n° 8-9, p. 968-70). Dans un travail récent, nous avons recherché s'il existait des homologues des transporteurs des acides aminés excitateurs chez la drosophile. Deux homologues distincts ont été identifiés, appelés dEAAT1 et dEAAT2, qui sont exprimés spécifiquement dans le système nerveux mais suivant un patron différent [37]. dEAAT1 a également été identifié par un autre groupe [38]. Ces transporteurs de drosophile présentent de 35% à 42% d'identité en acides aminés avec les transporteurs humains. Chez la drosophile, le glutamate est un neurotransmetteur excitateur, en particulier à la jonc-

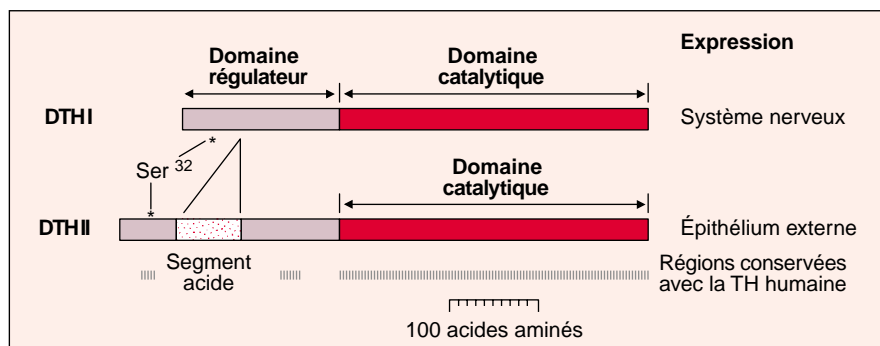


Figure 2. **Structure et expression des deux isoformes de tyrosine hydroxylase de drosophile.** La tyrosine hydroxylase (TH) est l'enzyme limitante de la biosynthèse de la dopamine chez les vertébrés et les invertébrés. Chez la drosophile, deux isozymes différents, DTH I et DTH II, proviennent d'un épissage alternatif du même transcrite primaire. Leur structure est comparable à celle de la tyrosine hydroxylase de l'homme, avec un domaine régulateur amino-terminal et un domaine catalytique carboxy-terminal. La partie la mieux conservée par l'évolution est le domaine catalytique. Cependant, deux courts segments ont été également bien conservés dans le domaine régulateur, en particulier un site de phosphorylation par la protéine kinase A (Ser³²). DTH I est une chaîne de 508 acides aminés; c'est l'isoforme du système nerveux. DTH II en diffère par l'insertion d'un segment très acide de 71 acides aminés dans le domaine régulateur. DTH II est exprimée dans des tissus non nerveux et en particulier dans l'épithélium externe qui sécrète la cuticule. La barre d'échelle indique une longueur de 100 acides aminés.

tion neuro-musculaire et des homologues des différents récepteurs du glutamate, comme le récepteur NMDA, ont également été identifiés. Notre hypothèse est que l'inhibition de l'expression des gènes des transporteurs aux acides aminés excitateurs chez la drosophile devrait permettre d'étudier *in vivo* les neurodégénérescences induites par l'excitotoxicité du glutamate sur un modèle invertébré.

Conclusions et perspectives

L'étude des mécanismes des neurodégénérescences chez la drosophile n'en est encore qu'au commencement. Il reste à connaître la nature des nombreux gènes dont la mutation entraîne des dégénérescences spontanées et progressives dans le cerveau de mouche et à voir si des gènes humains homologues sont impliqués dans les maladies neurodégénératives. L'exemple des dégénérescences de la rétine est encourageant dans ce sens. Ces recherches devraient être encore plus aisées d'ici quelques mois avec la séquence complète du génome de drosophile. Par la suite, la gé-

né- nétique de la drosophile permettra d'analyser les interactions entre ces différents gènes et d'essayer diverses stratégies thérapeutiques. C'est ainsi qu'a été démontrée l'efficacité d'un agent anti-apoptotique pour prévenir une dégénérescence héréditaire de la rétine chez la drosophile. Des modèles transgéniques comme celui de la maladie de Huntington ou de Machado-Joseph sont d'ores et déjà des outils génétiques puissants pour comprendre la physiopathologie de ces maladies et pour identifier des cibles thérapeutiques éventuelles. Enfin, même s'il y a forcément des différences entre la physiologie de l'homme et celle de la mouche, l'étude des adaptations fonctionnelles propres à la drosophile pourrait suggérer de nouvelles applications thérapeutiques pour l'homme, comme l'indique l'exemple des isoformes de tyrosine hydroxylase ■

Remerciements

Je remercie chaleureusement Hervé Chneiweiss pour ses commentaires sur le manuscrit ainsi que le Cnrs et la Fondation pour la Recherche Médicale pour leur soutien financier.

RÉFÉRENCES

- Hardy J, Gwinn-Hardy K. Genetic classification of primary neurodegenerative disease. *Science* 1998; 282: 1075-9.
- Price DL, Sisodia SS, Borchelt DR. Genetic neurodegenerative diseases: the human illness and transgenic models. *Science* 1998; 282: 1079-83.
- Moore MS, DeZazzo J, Luk AY, Tully T, Singh CM, Heberlein U. Ethanol intoxication in *Drosophila*: genetic and pharmacological evidence for regulation by the cAMP signaling pathway. *Cell* 1998; 93: 997-1007.
- McClung C, Hirsh J. Stereotypic behavioral responses to free-base cocaine and the development of behavioral sensitization in *Drosophila*. *Curr Biol* 1998; 8: 109-12.
- Hotta Y, Benzer S. Genetic dissection of the *Drosophila* nervous system by means of mosaics. *Proc Natl Acad Sci USA* 1970; 67: 1156-63.
- Dryja TP, McGee TL, Reichel E, et al. A point mutation of the rhodopsin gene in one form of retinitis pigmentosa. *Nature* 1990; 343: 364-6.
- O'Tousa JE, Leonard DS, Pak WL. Morphological defects in oraJK84 photoreceptors caused by mutation in R1-6 opsin gene of *Drosophila*. *J Neurogenet* 1989; 6: 41-52.
- Ding L, Traer E, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM. The cloning and characterization of a novel human diacylglycerol kinase, DGK α . *J Biol Chem* 1998; 273: 32746-52.
- Chang JT, Milligan S, Li Y, et al. Mammalian homolog of *Drosophila* retinal degeneration B rescues the mutant fly phenotype. *J Neurosci* 1997; 17: 5881-90.
- Guo J, Yu FX. Cloning and characterization of human homologue of *Drosophila* retinal degeneration B: a candidate gene for degenerative retinal diseases. *Dev Genet* 1997; 20: 235-45.
- Sherman PM, Sun H, Macke JP, Williams J, Smallwood PM, Nathans J. Identification and characterization of a conserved family of protein serine/threonine phosphatases homologous to *Drosophila* retinal degeneration C. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 11639-44.
- Huang X, Honkanen RE. Molecular cloning, expression, and characterization of a novel human serine/threonine protein phosphatase, PP7, that is homologous to *Drosophila* retinal degeneration C gene product (rdgC). *J Biol Chem* 1998; 273: 1462-8.
- Davidson FF, Steller H. Blocking apoptosis prevents blindness in *Drosophila* retinal degeneration mutants. *Nature* 1998; 391: 587-91.
- Jacobson MD. Anti-apoptosis therapy: a way of treating neural degeneration? *Curr Biol* 1998; 8: R418-21.

RÉFÉRENCES

15. Mutsuddi M, Nambu JR. Neural disease: *Drosophila* degenerates for a good cause. *Curr Biol* 1998; 8: R809-11.

16. Min KT, Benzer S. Spongecake and eggroll: two hereditary diseases in *Drosophila* resemble patterns of human brain degeneration. *Curr Biol* 1997; 7: 885-8.

17. Eberl DF, Duyk GM, Perrimon N. A genetic screen for mutations that disrupt an auditory response in *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 14837-42.

18. Min KT, Benzer S. Preventing neurodegeneration in the *Drosophila* mutant bubblegum. *Science* 1999; 284: 1985-8.

19. Kretschmar D, Hasan G, Sharma S, Heisenberg M, Benzer S. The swiss cheese mutant causes glial hyperwrapping and brain degeneration in *Drosophila*. *J Neurosci* 1997; 17: 7425-32.

20. Lush MJ, Li Y, Read DJ, Willis AC, Glynn P. Neuropathy target esterase and a homologous *Drosophila* neurodegeneration-associated mutant protein contain a novel domain conserved from bacteria to man. *Biochem J* 1998; 332: 1-4.

21. Lotti M. The pathogenesis of organophosphate polyneuropathy. *Crit Rev Toxicol* 1991; 21: 465-87.

21bis. Brouillet E, Peschanski M, Hantraye P. Du gène à la maladie: la mort neuronale dans la maladie de Huntington. *Med Sci* 2000; 16: 57-63.

22. Ross CA. Intranuclear neuronal inclusions: a common pathogenic mechanism for glutamine-repeat neurodegenerative diseases? *Neuron* 1997; 19: 1147-50.

23. Kim TW, Tanzi RE. Neuronal intranuclear inclusions in polyglutamine diseases: nuclear weapons or nuclear fallout? *Neuron* 1998; 21: 657-9.

24. Sisodia SS. Nuclear inclusions in glutamine repeat disorders: are they pernicious, coincidental, or beneficial? *Cell* 1998; 95: 1-4.

25. Kakizuka A. Protein precipitation: a common etiology in neurodegenerative disorders? *Trends Genet* 1998; 14: 396-402.

26. Karlin S, Burge C. Trinucleotide repeats and long homopeptides in genes and proteins associated with nervous system disease and development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 1560-5.

27. Davies SW, Turmaine M, Cozens BA, et al. Formation of neuronal intranuclear inclusions underlies the neurological dysfunction in mice transgenic for the HD mutation. *Cell* 1997; 90: 537-48.

28. Burrell EN, Clark HB, Servadio A, et al. SCA1 transgenic mice: a model for neurodegeneration caused by an expanded CAG trinucleotide repeat. *Cell* 1995; 82: 937-48.

29. Jackson GR, Salecker I, Dong X, et al. Polyglutamine-expanded human huntingtin transgenes induce degeneration of *Drosophila* photoreceptor neurons. *Neuron* 1998; 21: 633-42.

30. Warrick JM, Paulson HL, Gray-Board GL, et al. Expanded polyglutamine protein forms nuclear inclusions and causes neural degeneration in *Drosophila*. *Cell* 1998; 93: 939-49.

31. Brand AH, Perrimon N. Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes. *Development* 1993; 118: 401-15.

32. Birman S, Morgan B, Anzivino M, Hirsh J. A novel and major isoform of tyrosine hydroxylase in *Drosophila* is generated by alternative RNA processing. *J Biol Chem* 1994; 269: 26559-67.

33. Vié A, Cigna M, Toci R, Birman S. Differential regulation of *Drosophila* tyrosine hydroxylase isoforms by dopamine binding and cAMP-dependent phosphorylation. *J Biol Chem* 1999; 274: 16788-95.

34. Kang UJ. Potential of gene therapy for Parkinson's disease: neurobiologic issues and new developments in gene transfer methodologies. *Mov Disord* 1998; 13: 59-72.

35. Barkats M, Bilang-Bleuel A, Buc-Caron MH, et al. Adenovirus in the brain: recent advances of gene therapy for neurodegenerative diseases. *Prog Neurobiol* 1998; 55: 333-41.

36. Doble A. The role of excitotoxicity in neurodegenerative disease: implications for therapy. *Pharmacol Ther* 1999; 81: 163-221.

37. Besson MT, Soustelle L, Birman S. Identification and structural characterization of two genes encoding glutamate transporter homologues differently expressed in the nervous system of *Drosophila melanogaster*. *FEBS Lett* 1999; 443: 97-104.

38. Seal RP, Daniels GM, Wolfgang WJ, Forte MA, Amara SG. Identification and characterization of a cDNA encoding a neuronal glutamate transporter from *Drosophila melanogaster*. *Receptors Channels* 1998; 6: 51-64.

Summary

***Drosophila* as a genetic model to study neurodegenerative diseases**

In recent years, the genetic causes of several inherited neurodegenerative diseases have been identified. However, no entirely effective treatments are yet available for these disorders. Modeling these human diseases in the fruitfly *Drosophila*, a powerful model organism for genetic studies, would allow to investigate the progression of the diseases from the earliest stages and test novel treatment strategies. Study of retinal degeneration mutants in *Drosophila* resulted in the identification of several genes that were shown or are likely to be involved in hereditary forms of human retinal degenerative diseases. In addition, it has been demonstrated in these fly mutants that expression of an apoptosis inhibitor in the retina can prevent the occurrence of neurodegeneration. A number of isolated *Drosophila* mutants show spontaneous and progressive neurodegeneration in the brain. Candidate genes for similar human diseases could be found by identifying the human homologues of fly genes affected in these mutants. Specific human diseases can also be modeled in *Drosophila* by transgenic methods. Thus, targeted expression of fragments of human pathogenic proteins with expanded polyglutamine tracts induces neurodegeneration in flies, as has been demonstrated in the case of Huntington and Machado-Joseph diseases. Finally, study of species-specific variations in model organisms may suggest novel therapeutic approaches for human syndromes, as exemplified by the study of the dopamine biosynthesis pathway in *Drosophila*.

TIRÉS À PART

S. Birman.