

## L' $\alpha$ -synucléine et la maladie de Parkinson : le grand méchant petit chaperon

La signature histochimique de nombreuses maladies neurodégénératives est l'apparition dans le cerveau de dépôts d'agrégats protéiques insolubles intra ou extracellulaires. Ces inclusions, dont l'aspect et la localisation varient selon les maladies, contiennent des composants communs comme l'ubiquitine ou l' $\alpha$ -synucléine. L' $\alpha$ -synucléine, une petite phosphoprotéine de 14kDa, est à la fois le précurseur d'un peptide hydrophobe retrouvé dans les plaques séniles de la maladie d'Alzheimer (peptide NAC) [1] et le composant principal des corps de Lewy, les inclusions intracytoplasmiques caractéristiques de la maladie de Parkinson. Cette protéine s'accumule également dans les neurites dystrophiques des patients atteints de sclérose latérale amyotrophique. La mise en évidence de mutations ponctuelles de l' $\alpha$ -synucléine associées à de rares formes héréditaires dominantes de la maladie de Parkinson avait permis d'évoquer un rôle de cette protéine dans la physiopathologie de cette maladie (et *m/s* 1997, n° 10, p. 1218) même si, dans la grande majorité des cas, les inclusions contiennent la forme non mutée de cette protéine. Des résultats récents démontrent que l' $\alpha$ -synucléine, aussi bien dans sa forme sauvage que mutée, est une toxine qui, lorsqu'elle s'accumule, peut entraîner la mort cellulaire et pourrait donc jouer un rôle clé dans le mécanisme des neurodégénérescences.

La surexpression *in vitro* de l' $\alpha$ -synucléine sauvage ou mutée induit en effet la mort de cellules embryonnaires humaines en culture (cellules HEK) et, inversement, l'inhibition de son expression par un ARN anti-sens a des effets protecteurs vis-à-vis d'un stress toxique pour les cellules [2]. Des agrégats d' $\alpha$ -synucléine introduits dans le milieu de culture d'une lignée de neuroblastome peuvent provoquer la mort cellulaire par apoptose [3]. Ces résultats suggèrent que la libération dans le milieu

extracellulaire des inclusions contenant l' $\alpha$ -synucléine pourrait avoir des effets délétères sur les neurones.

Plus récemment, la surexpression *in vivo* de l' $\alpha$ -synucléine humaine a permis d'obtenir deux modèles génétiques de maladie de Parkinson, l'un chez la drosophile [4] et l'autre chez la souris [5]. Chez la drosophile, il est assez facile d'exprimer un transgène de façon sélective dans un tissu donné par le système UAS-GAL4, déjà utilisé pour étudier les neurodégénérescences induites par des peptides polyglutaminés [6]. La surexpression de l' $\alpha$ -synucléine humaine dans tous les neurones de la drosophile n'altère ni le développement, ni la viabilité des animaux mutants [4]. Cependant, l'expression de l' $\alpha$ -synucléine native ou mutante induit l'apparition d'inclusions intracytoplasmiques d'aspect très semblable aux corps de Lewy. On observe également au cours du vieillissement, c'est-à-dire après 30 jours, la disparition sélective de certaines sous-populations de neurones dopaminergiques du cerveau. Ces dégénérescences vont de pair avec l'apparition de troubles locomoteurs. L'ensemble de ces effets récapitulent étonnamment bien les symptômes caractéristiques et l'aspect progressif de la maladie de Parkinson. Des résultats semblables ont été obtenus par la surexpression non plus de la protéine native, mais de la protéine mutante.

L'expression ciblée de l' $\alpha$ -synucléine humaine dans tous les neurones de la souris a été obtenue en plaçant le transgène sous le contrôle du promoteur du gène *PDGF- $\beta$* , qui induit une expression pan neuronale. Comme chez la drosophile, des inclusions riches en  $\alpha$ -synucléine apparaissent dans le cerveau des souris mutantes. Ces inclusions contiennent aussi de l'ubiquitine et leur structure non fibrillaire est un peu atypique par rapport aux corps de Lewy. L'étude d'une lignée exprimant plus fortement l' $\alpha$ -synucléine révèle des pertes significa-

tives des terminaisons nerveuses dopaminergiques dans le striatum (bien que la densité des cellules positives pour la tyrosine hydroxylase ne soit pas modifiée au niveau de la substance noire). Ces souris présentent également, à l'âge d'un an, des anomalies du comportement locomoteur.

Ces résultats suggèrent fortement que l'accumulation d' $\alpha$ -synucléine dans le cerveau provoque des pertes cellulaires, en particulier celle des neurones dopaminergiques qui seraient, pour une raison encore inconnue, plus sensibles à cette toxine. Mais quelle est la fonction physiologique normale de l' $\alpha$ -synucléine? Bien que cette protéine soit abondante dans le système nerveux central des mammifères, l'inactivation de son gène chez la souris n'a aucun effet sur la survie, la fertilité ou le développement du cerveau [7]. Les souris mutantes présentent cependant des altérations de la transmission dopaminergique dans le striatum, indiquant qu'une des fonctions de l' $\alpha$ -synucléine serait de contrôler négativement la libération des transmetteurs. Cette hypothèse est en accord avec la localisation présynaptique de cette protéine et son association aux vésicules synaptiques [8].

L'analyse de la structure primaire de l' $\alpha$ -synucléine (*figure 1*) montre trois domaines distincts: une région amino-terminale présentant des variations périodiques d'hydrophobicité avec des lysines récurrentes, une région centrale hydrophobe correspondant au peptide NAC des plaques amyloïdes, et une région carboxy-terminale très acide car riche en résidus Glu et Asp et contenant un site de phosphorylation constitutive par les caséine kinases [9]. Le domaine amino-terminal serait impliqué en particulier dans la formation de dimères d' $\alpha$ -synucléine et dans l'association de la protéine à des lipides membranaires; la fonction des autres domaines n'est pas connue. Les mutations associées aux formes héréditaires de maladie de Par-

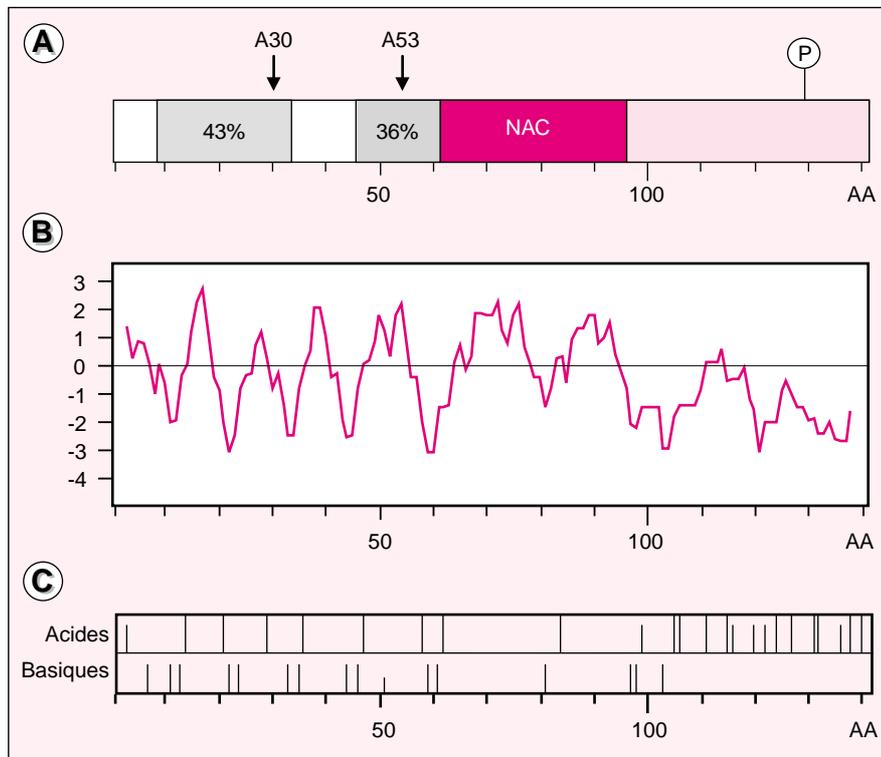


Figure 1. **Structure moléculaire de l'α-synucléine.** **A.** Représentation schématique des trois domaines de l'α-synucléine : le domaine amino-terminal (résidus 1 à 61) contient deux régions homologues aux protéines 14-3-3 (en gris), le pourcentage d'homologie est indiqué pour chacune d'elles, ainsi que la position des résidus alanine mutés dans des formes héréditaires de la maladie de Parkinson (A30 et A53); le domaine central (résidus 61 à 95) correspond au composant non-amyloïde (NAC) des plaques de la maladie d'Alzheimer; le domaine carboxy-terminal (résidus 96 à 140) est très acide et contient un site majeur de phosphorylation constitutive par les caséine kinases (indiqué en position 129). **B.** Profil d'hydrophobicité de la protéine (représentation de Kyte et Doolittle), montrant en particulier la périodicité dans le domaine amino-terminal. Les valeurs positives sur l'échelle sont les plus hydrophobes. **C.** Distribution des acides aminés acides et basiques. Grandes barres: glutamate; barres moyennes: aspartate ou lysine; petites barres: histidine. Il n'y a pas de résidu arginine dans cette protéine. Les graphes B et C ont été obtenus avec le logiciel DNA Strider.

kinson (A30P et A53T) sont localisées dans le domaine N-terminal, dans des régions dont la séquence présente une homologie d'environ 40% avec les protéines chaperons de la famille 14-3-3 (figure 1). De fait, l'α-synucléine peut se lier à la fois aux protéines 14-3-3 et à certaines protéines qui lient normalement les protéines 14-3-3, comme la protéine kinase C, la protéine pro-apoptotique Bad ou les MAP kinases ERK [2].

Les chaperons moléculaires sont des protéines ubiquitaires qui lient diverses protéines et stabilisent leur conformation tridimensionnelle, soit pour les maintenir dans un état actif ou inactif,

soit pour moduler leur trafic intracellulaire, soit encore pour prévenir l'agrégation de peptides altérés ou en cours de biosynthèse. Les plus connues sont les protéines de stress HSP (*heat shock protein*), dont l'expression est induite par un choc thermique. La conformation native des chaperons est une forme ouverte non globulaire, ce qui fait que ces protéines ont tendance à s'agréger : l'α-synucléine présente effectivement ces deux propriétés [10-12]. Les données obtenues avec les modèles transgéniques suggèrent que l'agrégation de ce petit chaperon pourrait être une cause directe des neurodégénérescences dans

la maladie de Parkinson. L'utilisation de ces modèles animaux permettra peut-être de comprendre par quels mécanismes la surexpression de l'α-synucléine humaine provoque la mort sélective des neurones dopaminergiques, et d'identifier des agents thérapeutiques ou des gènes capables d'empêcher la formation des corps d'inclusions.

1. Lavedan C. The synuclein family. *Genone Res* 1998; 8: 871-80.
2. Ostrerova N, Petrucelli L, Farrer M, et al. Alpha-synuclein shares physical and functional homology with 14-3-3 proteins. *J Neurosci* 1999; 19: 5782-91.
3. El-Agnaf OM, Jakes R, Curran MD, et al. Aggregates from mutant and wild-type alpha-synuclein proteins and NAC peptide induce apoptotic cell death in human neuroblastoma cells by formation of beta-sheet and amyloid-like filaments. *FEBS Lett* 1998; 440: 71-5.
4. Feany MB, Bender WW. A Drosophila model of Parkinson's disease. *Nature* 2000; 404: 394-8.
5. Masliah E, Rockenstein E, Veinbergs I, et al. Dopaminergic loss and inclusion body formation in alpha-synuclein mice: implications for neurodegenerative disorders. *Science* 2000; 287: 1265-9.
6. Birman S. La drosophile, un modèle génétique pour l'étude des maladies neurodégénératives. *Med Sci* 2000; 16: 164-70.
7. Abeliovich A, Schmitz Y, Farinas I, et al. Mice lacking alpha-synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system. *Neuron* 2000; 25: 239-52.
8. Murphy DD, Rueter SM, Trojanowski JQ, Lee VM. Synucleins are developmentally expressed, and alpha-synuclein regulates the size of the presynaptic vesicular pool in primary hippocampal neurons. *J Neurosci* 2000; 20: 3214-20.
9. Okochi M, Walter J, Koyama A, et al. Constitutive phosphorylation of the Parkinson's disease associated alpha-synuclein. *J Biol Chem* 2000; 275: 390-7.
10. Weinreb PH, Zhen W, Poon AW, Conway KA, Lansbury PT, Jr. NACP, a protein implicated in Alzheimer's disease and learning, is natively unfolded. *Biochemistry* 1996; 35: 13709-15.
11. Conway KA, Harper JD, Lansbury PT. Accelerated *in vitro* fibril formation by a mutant alpha-synuclein linked to early-onset Parkinson disease. *Nat Med* 1998; 4: 1318-20.
12. Narhi L, Wood SJ, Steavenson S, et al. Both familial Parkinson's disease mutations accelerate alpha-synuclein aggregation. *J Biol Chem* 1999; 274: 9843-6.

#### Serge Birman

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