

Diversité de signalisation par les récepteurs couplés aux protéines G

Delphine S. Dupuis
Peter J. Pauwels

L'étude de l'activation des récepteurs couplés aux protéines G a révélé qu'il s'agit d'un phénomène plus complexe qu'originellement admis par le passé. Contrairement à la théorie classique, il est maintenant établi qu'un même récepteur peut moduler des voies distinctes de signalisation, et que la réponse induite par l'activation d'un récepteur peut varier en fonction du ligand utilisé. Chaque agoniste pourrait induire ou stabiliser une ou plusieurs conformations actives du récepteur. La pharmacologie d'un récepteur est donc hétérogène, et peut varier en fonction de la voie de signalisation étudiée. Il est ainsi envisageable d'activer un récepteur de manière sélective, en utilisant des ligands qui modulent une seule voie de signalisation, et par conséquent de diminuer les effets secondaires dus à l'activation d'autres voies. La découverte récente de l'existence de plusieurs isoformes pour un même récepteur implique l'existence d'un niveau de complexité supplémentaire dans sa réponse biologique. Ces isoformes présentent des états d'activation différents, et ne possèdent pas la même sensibilité vis-à-vis des agonistes, des agonistes inverses, et par conséquent des médicaments.

ADRESSES

D.S. Dupuis : Department of Medical Physiology, The PANUM Institute, University of Copenhagen, Blegdamsvej 3, DK-2200 Copenhagen N, Danemark ; Département de biologie cellulaire et moléculaire, Centre de recherche Pierre-Fabre, 17, avenue Jean-Moulin, 81106 Castres Cedex, France. P.J. Pauwels : Département de biologie cellulaire et moléculaire, Centre de recherche Pierre-Fabre.

La liaison d'un agoniste à un récepteur couplé aux protéines G (RCPG) conduit à son activation et à la modulation d'une voie de signalisation, qui produit *in fine* un effet biologique au niveau de la cellule. Plusieurs exemples démontrent sans ambiguïté qu'un RCPG peut être couplé à plus d'un système effecteur [1]. Le couplage du RCPG à une ou plusieurs voies de signalisation passe par l'activation des protéines G hétérotri-

mériques. La multiplicité des voies de signalisation peut résulter du couplage du récepteur à plusieurs sous-types de protéines G différentes, mais elle peut aussi découler de l'activation d'un seul sous-type de protéine G, notamment grâce à la dissociation de ses sous-unités α et $\beta\gamma$, ayant chacune la possibilité d'agir sur des effecteurs différents [2].

Trois modèles de signalisation couplés à un sous-type de RCPG sont schématisés dans la figure 1. Le

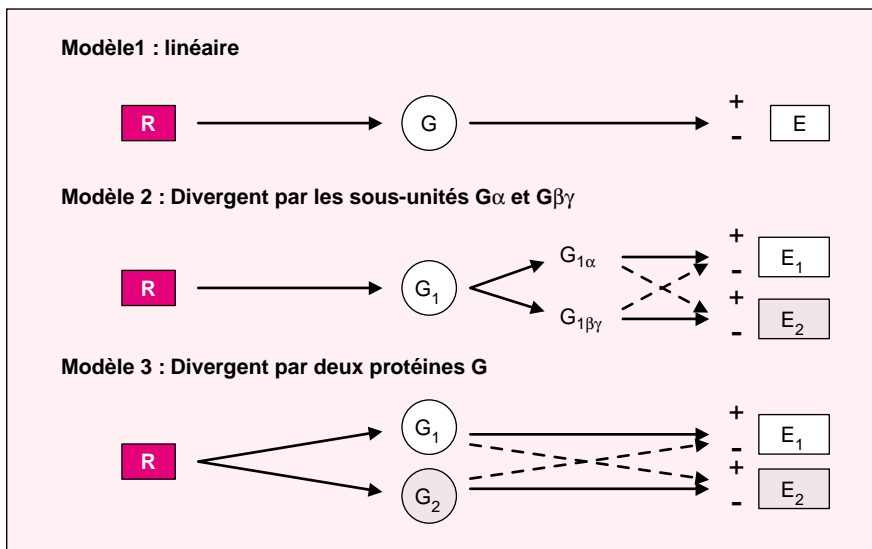


Figure 1. **Diversité de signalisation d'un sous-type de récepteur couplé à une ou plusieurs protéines G.** Trois modèles peuvent être schématisés. Le modèle 1 représente une voie de transduction simple, constituée par le couplage du récepteur (R) à une seule protéine G (G) qui module un effecteur (E) unique. Néanmoins, un récepteur peut être couplé à plusieurs voies de signalisation distinctes dans une même cellule, par l'activation soit des sous-unités α et $\beta\gamma$ d'une protéine G (modèle 2), soit de plusieurs sous-types de protéines G différentes (modèle 3). Dans les modèles 2 et 3, il s'agit d'une signalisation divergente. Néanmoins, il n'est pas exclu qu'en définitive le même effecteur puisse être activé.

modèle 1 représente une voie de transduction simple, constituée par le couplage du récepteur (R) à une seule protéine G (G) qui module un effecteur (E) unique. Néanmoins, une cellule contient plus d'un sous-type de RCPG, et certains d'entre eux peuvent être couplés à un même sous-type de protéine G, conduisant à la même voie effectrice. Lorsque plusieurs RCPG sont couplés à une même voie de signalisation, celle-ci est qualifiée de convergente. Inversement, lorsqu'un sous-type de RCPG est couplé à plusieurs voies de transduction distinctes, on parle de signalisation divergente. Un récepteur peut activer un seul sous-type de protéine G ; la signalisation passera alors par les sous-unités α et $\beta\gamma$ (modèle 2) ou bien activer plusieurs sous-types de protéines G différentes (modèle 3). Dans ces deux modèles, l'activation du RCPG peut moduler différentes voies effectrices. Néanmoins, il n'est pas exclu que le même effecteur soit activé. L'étude des voies de signalisation est relativement délicate au niveau cellulaire, car une même cellule exprime généralement une

population hétérogène de RCPG. Cette difficulté peut être en partie contournée grâce à l'utilisation de systèmes d'expression recombinants, dans lesquels un seul sous-type de récepteur est exprimé. Comme nous l'avons mentionné ci-dessus, l'étude de tels modèles a permis de montrer que les différents signaux produits par l'activation d'un récepteur peuvent provenir des sous-unités α et $\beta\gamma$ d'une protéine G ou bien de protéines G différentes.

Afin de mieux comprendre les relations structure-fonction de certains domaines du récepteur potentiellement impliqués dans la liaison des ligands ou dans le couplage aux protéines G, un certain nombre de mutations des RCPG ont été créées. Pour une série de RCPG, les modifications introduites ont permis de modifier sélectivement l'une des voies de signalisation auxquelles ils sont couplés. Ceci est notamment le cas pour le récepteur α_{2A} -adrénergique : ce récepteur peut être couplé négativement et positivement à l'adénylyl cyclase. La mutation des résidus Asp¹³⁰ en Asn et Ser²⁰⁴ en Ala, respec-

tivement localisés dans la deuxième boucle intracellulaire et dans le cinquième domaine transmembranaire (TM V), entraîne uniquement la perte de capacité du récepteur à stimuler l'adénylyl cyclase [3]. Ainsi, le récepteur muté serait incapable d'interagir efficacement avec la protéine $G_{\alpha s}$, alors qu'il serait toujours susceptible de recruter et d'activer la protéine $G_{\alpha i}$. L'activation du récepteur α_{2A} -adrénergique peut non seulement inhiber l'adénylyl cyclase mais aussi stimuler les courants K^+ et inhiber les courants Ca^{2+} [4]. La mutation du résidu Asp⁷⁹ (situé dans le domaine TM II) en Asn entraîne la perte de capacité du récepteur à moduler les canaux K^+ , tandis que ses effets sur l'adénylyl cyclase et les courants Ca^{2+} sont conservés [4, 5]. Il est possible que l'effet de la mutation de l'Asp⁷⁹ soit la conséquence d'un changement subtil de conformation du récepteur, aboutissant à la perte d'effet sur les canaux K^+ , mais permettant le maintien de la signalisation calcique et de l'inhibition de l'adénylyl cyclase [3].

Outre l'extinction sélective d'une voie de transduction, certaines études ont aussi montré que la mutation ponctuelle d'un RCPG peut activer de manière constitutive l'une des voies de signalisation. Ainsi, la stimulation du récepteur α_{1B} -adrénergique conduit à l'activation des phospholipases C et A_2 . La mutation de la Cys¹²⁸ (située dans le domaine TM III) en Ala provoque l'activation constitutive de la voie de la phospholipase C, tandis que celle de la phospholipase A_2 n'est pas affectée [6]. Un résultat similaire est obtenu avec le récepteur β_2 -adrénergique lorsque le résidu équivalent Cys¹¹⁶ est muté en Ala. Alors que le récepteur β_2 -adrénergique sauvage peut activer l'échangeur Na^+/H^+ et stimuler la production d'AMPc, le récepteur muté provoque l'activation constitutive de l'échangeur Na^+/H^+ mais pas celle de l'adénylyl cyclase [7].

Ces études de mutagenèse dirigée suggèrent que certains domaines des RCPG sont responsables de leur couplage aux différentes formes de protéines G. La spécificité de couplage peut provenir de résidus localisés dans les boucles intracellulaires, mais la nature et la position des acides aminés impliqués peuvent largement

différer d'un sous-type de récepteur à l'autre. Les mutations d'un RCPG peuvent également affecter le site de liaison et par voie de conséquence modifier l'interaction des agonistes avec le récepteur. L'altération de la conformation qui en découle pourra selon le cas augmenter ou diminuer son couplage à une voie de signalisation. La conformation active d'un RCPG semble être fonction de l'agoniste choisi. Il pourrait ainsi exister plusieurs points d'ancrage du ligand qui conduiraient à des niveaux d'activation différents du récepteur [8]. Il existerait ainsi pour un sous-type de RCPG plusieurs profils de réponses des systèmes effecteurs en fonction du ligand utilisé.

Il est généralement admis que l'amplitude de la réponse produite par un agoniste est le reflet du degré d'activation du RCPG [9]. Si cette activation est indépendante de la voie effectrice à laquelle il est lié, les effets produits par différents agonistes peuvent varier quantitativement mais pas qualitativement. La capacité intrinsèque d'un agoniste à stimuler un RCPG est alors une propriété unique de l'agoniste pour un RCPG donné, mais cette capacité est indépendante de la voie de signalisation [9]. Ce paramètre a longtemps été utilisé pour identifier et classer les différentes familles de RCPG et leurs ligands. Néanmoins, plusieurs études ont récemment montré que la réponse induite par l'activation d'un récepteur peut varier en fonction du ligand utilisé (figure 2). Des études concernant le récepteur PACAP ont montré que la pharmacologie de ce RCPG est différente selon que l'on considère son couplage à G_{os} ou à $G_{\alpha q}$ [10]. Le peptide PACAP-27 se révèle en effet plus puissant que le peptide PACAP-38 lorsque l'accumulation d'AMPc est mesurée. Or cette hiérarchie est inversée lorsque c'est l'accumulation des inositols phosphates qui est considérée. Les propriétés de liaison de ces deux molécules étant identiques quelle que soit la réponse mesurée, on doit donc admettre que les deux agonistes possèdent des activités intrinsèques différentes pour chacune des voies de transduction.

Afin de mieux comprendre ces observations expérimentales, Kenakin [11] a proposé un nouveau concept

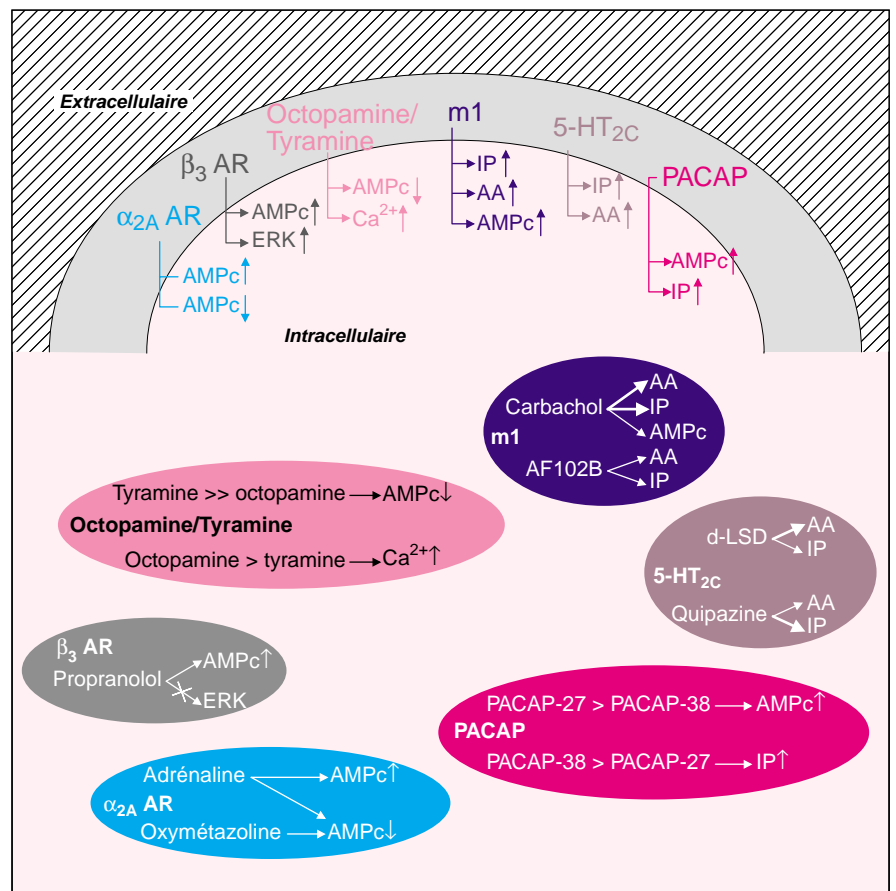


Figure 2. **Impact des agonistes naturels et synthétiques sur le couplage de récepteurs à plusieurs voies de signalisation.** La pharmacologie des récepteurs varie selon la voie effectrice mesurée. Ainsi pour les récepteurs adrénergiques α_{2A} et β_3 , muscarinique m_1 et sérotoninergique $5-HT_{2C}$, l'amplitude des réponses maximales des agonistes est modifiée en fonction de la voie effectrice considérée [37-40]. L'ordre de la puissance des agonistes peut aussi varier avec l'effecteur mesuré, comme cela est le cas pour les récepteurs de l'octopamine/tyramine et du PACAP [10, 41]. α_{2A} AR: récepteur adrénergique α_{2A} ; AA: acide arachidonique; β_3 AR: récepteur adrénergique β_3 ; ERK: extracellular signal-regulated kinase; IP: inositols phosphates; m_1 : récepteur muscarinique 1; PACAP: pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide; $5-HT_{2C}$: récepteur sérotoninergique 2C.

d'action d'un agoniste, selon lequel celui-ci est défini comme un « *agonist trafficking of receptor signal stimulus* ». Le terme de « *trafficking* » est sans doute mal choisi dans la mesure où il fait référence au transport et à la compartimentation des protéines. L'utilisation de « *differential signalling* » serait plus appropriée pour définir l'activation différentielle d'un système effecteur par un agoniste. Selon ce concept, les agonistes peuvent préférentiellement induire ou sélectionner une des conformations du RCPG,

favorisant ainsi l'activation d'une voie effectrice au détriment d'une autre [11]. Des expériences de simulations d'interaction de ligands avec le récepteur $5-HT_{2A}$ [12], ainsi que des résultats expérimentaux obtenus avec le récepteur β_2 -adrénergique [13, 14], sont également en faveur de ce concept. Néanmoins, le nombre de conformations actives possibles pour un RCPG demeure inconnu [15]. Les modèles courants d'activation sont fondés sur le fait qu'il existe, pour un RCPG donné, un équilibre

entre deux conformations (*two state model*), l'une inactive R et l'autre active R* [16-18]. La forme active du récepteur R* est capable d'interagir avec une protéine G en l'absence d'agoniste, provoquant ainsi l'activation de la voie effectrice. Dans ce modèle, la forme active R* est capable d'activer différemment plusieurs effecteurs. Les agonistes à haute activité intrinsèque peuvent activer différents sous-types de protéines G et plusieurs voies de transduction de façon maximale, tandis que les agonistes à faible activité intrinsèque n'activeront que la voie effectrice couplée le plus efficacement au récepteur (*figure 3A*, [11]). Les agonistes partiels possèdent une efficacité inférieure à celle des agonistes complets, car ils sont incapables d'induire ou de sélectionner la conformation optimale du récepteur capable d'interagir avec la totalité des protéines G disponibles. En conséquence, les agonistes partiels produisent une réponse plus sélective, en activant plutôt un seul système effecteur par l'intermédiaire d'une partie des protéines G, contrairement aux agonistes complets qui peuvent induire différentes voies de signalisation.

Leff *et al.* [15] ont élargi le modèle des deux états du récepteur (*two state model*) à un modèle dans lequel il existerait deux conformations actives du récepteur R* et R** (*three state model*), chacune d'elles se couplant à une protéine G qui peut moduler une ou plusieurs voies de transduction spécifiques. Ce modèle permet de différencier les activités intrinsèques d'agonistes de manière dépendante de la voie de transduction (*figure 3B*). L'activation ou l'inhibition de différents systèmes effecteurs par des agonistes sont possibles par le couplage du récepteur à différents sous-types de protéines G. L'influence du sous-type de protéine G sur l'activité intrinsèque d'un ligand ne peut être exclue [19-22]. Chaque agoniste pourrait induire ou sélectionner une ou plusieurs conformations actives du récepteur [15]. Il reste toutefois à déterminer si les différentes conformations actives du récepteur sont suffisamment distinctes pour modifier de façon mesurable l'interaction entre le récepteur et la protéine, et déterminer le type

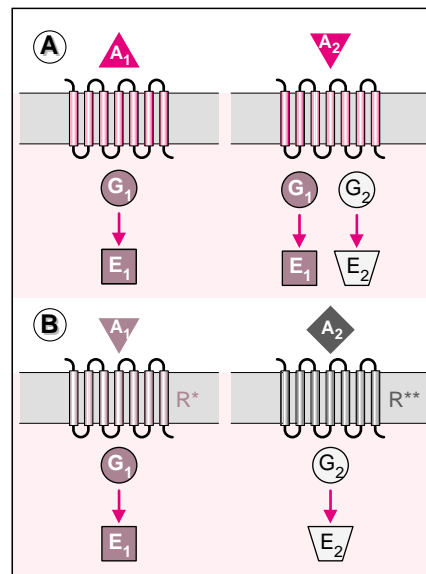


Figure 3. **Modèles hypothétiques d'activation d'un récepteur par deux agonistes.** A. Un agoniste partiel (A_1) induirait l'activation sub-maximale d'un sous-type de protéine G, tandis qu'un agoniste complet (A_2) à haute activité intrinsèque entraînerait un couplage plus efficace du récepteur à ces protéines G et provoquerait également l'activation de différents types de protéines G (d'après [11]). En conséquence, les agonistes partiels produiraient une réponse plus sélective, en activant plutôt un seul système effecteur par l'intermédiaire d'un seul type de protéines G contrairement aux agonistes complets qui pourraient induire diverses signalisations. B. Le modèle de deux états d'un récepteur a été élargi en incluant deux conformations actives du récepteur R* et R**. Chaque agoniste (A_1 ou A_2) pourrait induire ou sélectionner une conformation active du récepteur qui pourrait interagir différemment avec les protéines G. Ceci peut induire des réponses effectrices distinctes en fonction de l'agoniste utilisé (d'après [15]). A: agoniste; R: récepteur; G: protéine G; E: effecteur.

d'agoniste en présence, au simple vu du couplage entre le récepteur et un sous-type de protéine G [23]. La pharmacologie des récepteurs peut ainsi varier en fonction de la voie effectrice mesurée; les réponses maximales ou les puissances des agonistes peuvent être modifiées

(*figure 2*). Ces résultats ont été obtenus avec les agonistes naturels des récepteurs, mais également avec des agonistes synthétiques.

Il est aujourd'hui prématuré de conclure que les agonistes d'un RCPG sont capables de sélectionner ou d'induire un état conformationnel actif d'un récepteur, et de contrôler ainsi son couplage avec un sous-type donné de protéine G. Cependant, il n'en demeure pas moins que l'intensité de la réponse biologique finale, consécutive à l'activation d'un RCPG, est fonction d'interactions étroites et spécifiques entre agoniste, récepteur et protéine G, conduisant à la modulation de voies effectrices distinctes.

Il existe un degré de complexité supplémentaire dans la réponse biologique observée, lié au fait que la séquence en acides aminés de tel ou tel sous-type de RCPG est susceptible de varier. Ces variations résultent de la synthèse de différents ARN_m, selon les mécanismes d'épissage alternatif (variant d'épissage) ou d'édition (variant d'édition). L'existence de mutations ponctuelles dans le gène codant pour un RCPG, produit des variants alléliques dans la population, et confère un degré de variabilité supplémentaire. Ces RCPG, qui diffèrent dans leur séquence protéique, sont appelés isoformes. En outre, des variants d'épissage pour les ARN_m codant pour certaines sous-unités des protéines G ont également été décrits, mais à ce jour, leur rôle respectif dans la transduction du signal n'a pas été clairement établi.

La majorité des transcrits alternatifs, ou variants d'épissage décrits diffèrent dans leur région C-terminale. Ces variations peuvent également affecter la partie amino-terminale et les boucles intracellulaires. En revanche, les variants des boucles extracellulaires ou des domaines transmembranaires sont moins fréquents, il correspondent à des pseudogènes souvent inactifs.

Les isoformes d'un RCPG peuvent présenter des différences de sélectivité et d'efficacité de couplage avec les diverses voies de signalisation. Ils peuvent également diverger en termes de régulation. Il n'existe pas pour l'instant, d'exemple connu de modification du profil de liaison de ligands lié à la nature de l'isoforme.

Or, cela n'a rien d'étonnant dans la mesure où la majorité des régions d'épissage sont localisées dans des séquences non impliquées dans la liaison des ligands. La liaison n'étant pas affectée, la caractérisation de ligands spécifiques d'une isoforme est rendue difficile. Un ligand peut néanmoins avoir une action sélective. En effet, l'existence de différentes isoformes d'un RCPG pourrait conduire à des modifications dans le couplage à une voie de transduction [24]. Trois possibilités ont été décrites. Dans la première, tout type de couplage est aboli; c'est le cas du variant du récepteur de l'endothéline ET_B qui, contrairement aux autres récepteurs de l'endothéline, n'active plus la phospholipase C [25]. La deuxième situation peut conduire au maintien du couplage à un système effecteur, mais avec une efficacité réduite. Ainsi, le variant du récepteur de l'adénosine A_{31} , qui possède une insertion de 17 acides aminés dans la deuxième boucle intracellulaire, inhibe l'adénylyl cyclase de manière moins efficace que le récepteur sauvage [26]. Dans le troisième cas, il peut y avoir modification de l'état d'activation du récepteur en l'absence d'agoniste, aboutissant à une activation constitutive. Cette réponse peut être liée à la longueur de la partie C-terminale du récepteur et varier en fonction de l'isoforme du RCPG. Une telle situation a été mise en évidence dans le cas du récepteur 5-HT₄, pour lequel quatre variants d'épissage, différents à l'extrémité C-terminale, sont activés de manière constitutive [27]. Le mécanisme d'édition de l'ARNm peut conduire à l'expression de récepteurs fonctionnellement différents, comme cela est le cas pour la sous-unité GluRB des récepteurs AMPA [28]. Le récepteur 5-HT_{2C} existe sous 7 isoformes, exprimées dans le cerveau de rat et codées par 11 ARNm différents [29]. L'édition des ARNm codant pour le récepteur 5-HT_{2C} induit une altération de la séquence en acides aminés dans la deuxième boucle intracellulaire du récepteur, conduisant à une diminution de l'efficacité de couplage aux protéines G [29], et à une éventuelle atténuation de la voie de transduction sérotoninergique. Une telle

diminution a d'ailleurs été observée avec des isoformes provenant de l'édition de l'ARNm codant pour le récepteur 5-HT_{2C} en présence de LSD [30]. L'édition des ARNm codant pour le récepteur 5-HT_{2C} modifie aussi l'activité basale du récepteur [31]. L'isoforme non éditée induit une production basale d'inositols phosphates 4 fois supérieure à celle obtenue avec l'isoforme provenant de l'édition complète de l'ARNm. D'autre part, l'affinité et la puissance des agonistes pour l'isoforme éditée sont également diminuées. Ces résultats suggèrent que le mécanisme d'édition des ARNm peut conduire à l'expression d'isoformes du récepteur 5-HT_{2C} susceptibles de moduler de façon différente les fonctions cellulaires, en réponse à un même ligand. Il existe différents niveaux d'activité sérotoninergique basale selon la région considérée du cerveau. A la lumière des résultats précédents, ces différences pourraient être dues à la présence d'isoformes d'un même récepteur, ces isoformes pouvant ne pas posséder la même sensibilité de réponse d'une part vis-à-vis de la 5-HT endogène libérée à partir des terminaisons nerveuses, et d'autre part peut-être, vis-à-vis de certains médicaments.

Certains RCPG, tels ceux de la 5-HT, peuvent présenter une plus grande hétérogénéité, due à une variabilité génétique individuelle pouvant entraîner une modification de la séquence en acides aminés d'un sous-type de RCPG d'un individu à un autre [32]. L'impact de ces mutations sur la fonction d'un RCPG n'est pas clairement établi. Dans certains cas, des différences ont été observées au niveau de la réponse fonctionnelle [32]. Par ailleurs, aucune relation n'a été clairement établie entre l'existence de ces variants génétiques et l'incidence de maladies, telles que la dépression ou la schizophrénie. La plupart des études établissant des corrélations entre une pathologie et un variant de récepteur demeurent controversées [33]. Il est probable que les progrès dans le domaine de la pharmacogénomique contribueront à mettre en évidence de nouveaux variants alléliques de RCPG. Ces découvertes pourraient éventuelle-

ment conduire à la synthèse de ligands ayant des effets secondaires atténués. Cette approche devrait permettre de mieux cibler les traitements en fonction du profil génétique des patients, ainsi qu'en fonction de leur susceptibilité à développer des effets secondaires ou une résistance au traitement.

L'ensemble de ces résultats introduit la notion de variants d'un sous-type de RCPG dans la diversité de signalisation d'un récepteur. Ces différents variants peuvent s'exprimer de manière spécifique dans une cellule ou un tissu. La possibilité de moduler une neurotransmission aberrante, par l'utilisation de différents ligands, doit également prendre en compte la notion de diversité de signalisation par un sous-type de RCPG. L'expression d'un variant de RCPG ouvre la possibilité d'étudier les caractéristiques de liaison de ses ligands, son efficacité de couplage à différentes protéines G et différents systèmes effecteurs. A ce jour, les caractérisations de ces variants de récepteur ont été réalisées après surexpression *in vitro* dans des systèmes cellulaires. Peu d'études ont été réalisées concernant l'expression des protéines G, par rapport à l'étude de l'expression des récepteurs. A cet égard, l'approche utilisant des protéines de fusion entre un récepteur et une protéine G [34, 35] pourrait être bénéfique pour étudier précisément le couplage de ces variants avec différents sous-types de protéines G. L'utilisation de ces protéines chimériques permettent la comparaison entre l'activation et la pharmacologie d'un sous-type de RCPG dans des conditions d'expression contrôlée. Le rapport entre l'expression du récepteur et celle de la protéine G_α étant en effet de 1 dans une protéine de fusion, l'activité intrinsèque d'un ligand peut ainsi être déterminée, en éliminant les variations du rapport récepteur/protéine G. En effet, il n'est pas exclu que ce rapport varie d'un système à l'autre, or l'activité intrinsèque d'un ligand est fortement dépendante du rapport récepteur/protéine G [36]. La caractérisation fonctionnelle de ces variants de RCPG pourrait faciliter le choix d'un ligand pour moduler la neurotransmission dans le cadre de certaines pathologies ■

RÉFÉRENCES

- Gudermann T, Kalkbrenner F, Schultz G. Diversity and selectivity of receptor-G protein interaction. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1996; 36: 429-59.
- Clapham DE, Neer EJ. New roles for G-protein beta gamma-dimers in transmembrane signalling. *Nature* 1993; 365: 403-6.
- Wang CD, Buck MA, Fraser CM. Site-directed mutagenesis of α_{2A} -adrenergic receptors: identification of amino acids involved in ligand binding and receptor activation by agonists. *Mol Pharmacol* 1991; 40: 168-79.
- Surprenant A, Horstman DA, Akbarali H, Limbird LE. A point mutation of the alpha 2-adrenoceptor that blocks coupling to potassium but not calcium currents. *Science* 1992; 257: 977-80.
- Lakhlani PP, Lovinger DM, Limbird LE. Genetic evidence for involvement of multiple effector systems in alpha2A-adrenergic receptor inhibition of stimulus-secretion coupling. *Mol Pharmacol* 1996; 50: 96-103.
- Perez DM, Hwa J, Gaivin R, Mathur M, Brown F, Graham RM. Constitutive activation of a single effector pathway: evidence for multiple activation states of a G protein-coupled receptor. *Mol Pharmacol* 1996; 49: 112-22.
- Zuscik MJ, Porter JE, Gaivin R, Perez DM. Identification of a conserved switch residue responsible for selective constitutive activation of the β_2 -adrenergic receptor. *J Biol Chem* 1998; 273: 3401-7.
- Pauwels PJ, Colpaert FC. Heterogenous ligand-mediated Ca^{++} responses at wt and mutant α_{2A} -adrenoceptors suggest multiple ligand activation binding sites at the α_{2A} -adrenoceptor. *Neuropharmacol* 2001; 39: 2101-11.
- Furchgott RF. The use of β -haloalkylamines in the differentiation of receptors and in the determination of dissociation constants of receptor-agonist complexes. *Adv Drug Res* 1966; 3: 21-55.
- Spengler D, Waeber C, Pantaloni C, et al. Differential signal transduction by five splice variants of the PACAP receptor. *Nature* 1993; 365: 170-5.
- Kenakin T. Agonist-receptor efficacy II: agonist trafficking of receptor signals. *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16: 232-8.
- Zhang D, Weinstein H. Signal transduction by a 5-HT₂ receptor: a mechanistic hypothesis from molecular dynamics stimulations of the three-dimensional model of the receptor complexed to ligands. *J Med Chem* 1993; 36: 934-8.
- Gether U, Lin S, Kobilka BK. Fluorescent labeling of purified β_2 adrenergic receptor: evidence for ligand-specific conformational changes. *J Biol Chem* 1995; 270: 28268-75.
- Krumins AJ, Barber R. The stability of the agonist β_2 -adrenergic receptor-G_s complex: evidence for agonist-specific receptor states. *Mol Pharmacol* 1997; 52: 144-54.
- Leff P, Scaramellini C, Law C, McKechnie K. A three-state model of agonist action. *Trends Pharmacol Sci* 1997; 18: 355-62.
- Costa T, Ogino Y, Munson PJ, Onaran HO, Rodbard D. Drug efficacy at guanine nucleotide-binding regulatory protein-linked receptors: thermodynamic interpretation of negative antagonism and of receptor activity in the absence of ligand. *Mol Pharmacol* 1992; 41: 549-60.
- Samama P, Cotecchia S, Costa T, Lefkowitz RJ. A mutation-induced activated state of the β_2 -adrenergic receptor: extending the ternary complex model. *J Biol Chem* 1993; 268: 4625-36.
- Leff P. The two-state model of receptor activation. *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16: 89-97.
- Gettys TW, Fields TA, Raymond JR. Selective activation of inhibitory G-protein α -subunits by partial agonists of the human 5-HT_{1A} receptor. *Biochemistry* 1994; 33: 4283-90.
- Dupuis DS, Tardif S, Wurch T, Colpaert FC, Pauwels PJ. Modulation of 5-HT_{1A} receptor signalling by point-mutation of cysteine³⁵¹ in the rat G_{oo} protein. *Neuropharmacol* 1999; 38: 1035-41.
- Yang G, Lanier SM. Influence of G protein type on agonists efficacy. *Mol Pharmacol* 1999; 56: 651-6.
- Pauwels PJ, Tardif S, Wurch T, Colpaert FC. Facilitation of constitutive α_{2A} -adrenoceptor activity by both single amino acid mutation (Thr³⁷³Lys) and G_{oo} protein co-expression: evidence for inverse agonism. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 292: 654-63.
- Colquhoun D. Binding, gating, affinity and efficacy: the interpretation of structure-activity relationships for agonists and of the effects of mutating receptors. *Br J Pharmacol* 1998; 25: 924-47.
- Kilpatrick GJ, Dautzenberg FM, Martin GR, Eglen RM. 7TM receptors: the splicing on the cake. *Trends Pharmacol Sci* 1999; 20: 294-301.
- Elshourbagy NA, Adamou JE, Gagnon AW, Wu HL, Pullen M, Nambi P. Molecular characterization of a novel human endothelium receptor splice variant. *J Biol Chem* 1996; 271: 25300-7.
- Sajjadi FG, Boyle DL, Domingo RC, Firestein GS. cDNA cloning and characterization of A_{3b}, an alternatively rat A₃ adenosine receptor variant. *FEBS Lett* 1996; 382: 125-9.
- Claeyssen S, Sebben M, Becamel C, Boccaert J, Dumuis A. Novel brain-specific 5-HT₄ receptor splice variants show marked constitutive activity: role of the C-terminal intracellular domain. *Mol Pharmacol* 1999; 55: 910-20.
- Simpson L, Emeson RB. RNA editing. *Annu Rev Neurosci* 1996; 19: 27-52.
- Burns CM, Chu H, Rueter SM, et al. Regulation of serotonin-2C receptor G-protein coupling by RNA editing. *Nature* 1997; 387: 303-9.
- Niswender CM, Copeland SC, Herrick-Davis K, Emeson RB, Sanders-Bush E. RNA editing of the human serotonin 5-hydroxytryptamine 2C receptor silences constitutive activity. *J Biol Chem* 1999; 274: 9472-8.
- Herrick-Davis K, Grinde E, Niswender CM. Serotonin 5-HT_{2C} receptor RNA editing alters receptor basal activity: implications for serotonergic signal transduction. *J Neurochem* 1999; 73: 1711-7.
- Göthert M, Propping P, Bönisch H, Brüss M, Nöthen MM. Genetic variation in human 5-HT receptors: potential pathogenetic and pharmacological role. *Ann NY Acad Sci* 1998; 861: 26-30.
- Peroutka SJ. Serotonin receptor variants in disease: new therapeutics opportunities? *Ann NY Acad Sci* 1998; 861: 16-25.
- Seifert R, Wenzel-Seifert K, Kobilka BK. GPCR-G_s fusion proteins: molecular analysis of receptor-G-protein coupling. *Trends Pharmacol Sci* 1999; 20: 383-9.
- Milligan G. Insights into ligand pharmacology using receptor-G-protein fusion proteins. *Trends Pharmacol Sci* 2000; 21: 24-32.
- Pauwels PJ, Finana F, Tardif S, Colpaert FC, Wurch T. Agonist efficacy at the α_2 -adrenoceptor: G_{o15} fusion protein: an analysis based on Ca⁺⁺ responses. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2000; 361: 672-9.
- Gurwitz D, Haring R, Heldman E, Fraser CM, Manor D, Fisher A. Discrete activation of transduction pathways associated with acetylcholine M1 receptor by several muscarinic ligands. *Eur J Pharmacol* 1994; 267: 21-31.
- Airriess CN, Rudling JE, Midgley JM, Evans PD. Selective inhibition of adenylyl cyclase by octopamine via a human cloned α_{2A} -adrenoceptor. *Br J Pharmacol* 1997; 122: 191-8.
- Berg KA, Maayani S, Goldfarb J, Scaramellini C, Leff P, Clarke WP. Effector pathway-dependent relative efficacy at serotonin type 2A and 2C receptors: evidence for agonist-directed trafficking of receptor stimulus. *Mol Pharmacol* 1998; 54: 94-104.
- Gerhardt CC, Gros J, Strosberg AD, Issad T. Stimulation of the extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway by human β -adrenergic receptor: new pharmacological profile and mechanism of activation. *Mol Pharmacol* 1999; 55: 255-62.
- Robb S, Cheek TR, Hannan FL, Hall LM, Midgley JM, Evans PD. Agonist-specific coupling of a cloned *Drosophila* octopamine/tyramine receptor to multiple second messenger systems. *EMBO J* 1994; 13: 1325-30.

Summary

Diversity of signalling by G protein-coupled receptors

Recent discoveries about signalling *via* G protein-coupled receptors have revealed the complexity of this process. Two key factors contribute principally to this complexity: the possibility that one single receptor subtype may govern multiple effector pathways, and the fact that a receptor subtype may be expressed as a mutant form, or an isoform, due to alternative splicing and RNA editing of the transcript. Whereas it is well established that different agonists do not necessarily elicit the same magnitude of response, it is likely that different ligands may also select between several potential signal transduction pathways. The diversity of receptor signalling *via* a single receptor subtype may be a consequence of specific agonist: receptor: G protein interactions. A better understanding of the activation state(s) of the G protein-coupled receptor appears to be essential in order to develop new ligands, which may either enhance, attenuate, block or reverse a response mediated by a given receptor: effector pathway. Future efforts should not be limited to the study of a receptor under normal conditions, but also to its behaviour under pathophysiological conditions. Particularly, further investigation is required to understand the relevance of the recently discovered receptor isoforms.

TIRÉS À PART

P.J. Pauwels.