

Analyse génétique des systèmes GABAergiques

Le GABA est un neurotransmetteur majeur du système nerveux central dont la liaison avec un récepteur spécifique entraîne l'ouverture d'un canal permettant le passage d'ions Cl⁻. Dans la presque totalité des cas étudiés, il joue ainsi un rôle inhibiteur en provoquant un courant chlore entrant qui déclenche une hyperpolarisation membranaire. Le GABA est synthétisé à partir du glutamate grâce à l'activité d'une enzyme unique, la GAD (*glutamic acid decarboxylase*) et son récepteur majoritaire, GABA_A, est formé de plusieurs sous-unités α , β , γ et δ codées par une famille d'au moins 15 gènes différents [1]. L'analyse génétique du système GABAergique vient de progresser grâce à l'apport de divers mutants chez *Caenorhabditis elegans* et chez la souris dont l'étude débouche sur des considérations fonctionnelles importantes. L'équipe de Steven McIntire (MIT et Harvard Medical School, USA) a analysé de façon systématique des gènes dont la mutation altère les fonctions GABAergiques chez *C. elegans* [2, 3]. Chez ce nématode, qui compte en tout 305 neurones, 26 cellules nerveuses sont GABAergiques (figure 1). Des expériences de lésions neuronales au laser ont permis d'établir que ces neurones jouaient un rôle dans les mouvements de reptation (neurones DD et VD), dans les mouvements de forage (neurones RME) et dans la contraction entérique (neurones AVL et DVB). Des mutations de cinq gènes *unc* (pour « uncoordinated ») sont associées à des troubles comportementaux reproduisant les phénotypes induits par les lésions au laser et apparaissaient ainsi comme de bons candidats à un rôle dans le système GABAergique. Les auteurs

ont utilisé diverses techniques immunohistochimiques et pharmacologiques pour préciser les fonctions concernées. Une mutation nulle du gène *unc-25* supprime ainsi toute présence de GABA dans les neurones et toutes les fonctions correspondantes. La restauration des niveaux de GABA dans les neurones compense totalement le déficit ce qui suggère que c'est seulement la synthèse du neurotransmetteur qui est atteinte. *Unc-25* pourrait donc coder pour la GAD elle-même dont l'activité est effectivement très diminuée chez ces mutants. Par la même approche systématique, le gène *unc-30* a été associé spécifiquement à la différenciation GABAergique des neurones de type VD et DD, les gènes *unc-46* et *unc-47* à la libération du transmetteur — ils pourraient coder pour des transporteurs vésiculaires — enfin le gène *unc-49* à la formation du système récepteur

post-synaptique. Cette analyse, qui est évidemment un premier pas dans l'identification de protéines impliquées, a la particularité de ne pas s'appuyer simplement sur une identification de mutants répondant anormalement à des agonistes ou à des antagonistes mais sur une comparaison entre des mutations et les effets de lésions neuronales spécifiques. Elle peut ainsi, en principe, identifier tous les gènes du système qui n'ont pas une fonction redondante.

Cette analyse génétique a débouché, pour la même équipe, sur une analyse fonctionnelle du système appuyée sur le mutant *unc-25* qui présente une absence complète de synthèse de GABA. La comparaison entre les défauts comportementaux induits par cette mutation et ceux observés après lésion neuronale spécifique au laser a permis d'affirmer le rôle direct du GABA dans diver-

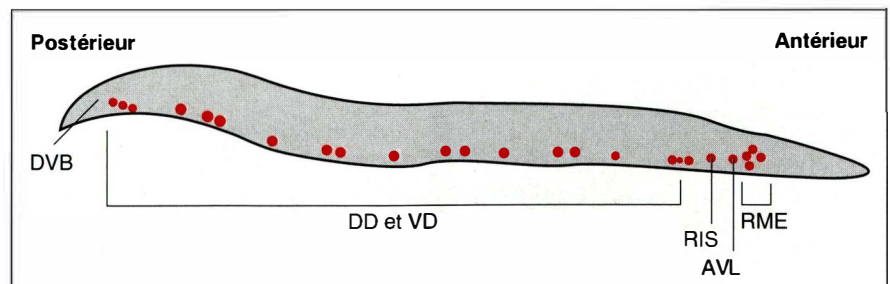


Figure 1. Localisation des 26 neurones GABAergiques chez *Caenorhabditis elegans*. Les 4 neurones du groupe RME jouent un rôle dans le mouvement de la tête au cours du forage; le neurone AVL et le neurone DVB participent à la contraction entérique; les 6 neurones DD et les 13 neurones VD contrôlent les mouvements de reptation; le rôle du neurone RIS reste inconnu.

ses fonctions de contrôle neuromusculaire... et de le nier dans une autre. Le déficit de la reptation induit par la lésion des neurones DD et VD apparaît ainsi comme le résultat d'une interruption des circuits GABAergiques inhibiteurs réciproques qui permettent à des muscles antagonistes de fonctionner de façon alternée. Dans le comportement de forage (figure 2), l'absence de GABA empêche les neurones RME d'inhiber, en réponse aux influx sensoriels, l'activité musculaire qui tend à défléchir la tête. Le mouvement de la tête s'amplifie alors par rapport à la normale. De façon intéressante, cette étude indique que la contraction entérique n'est pas soumise à une inhibition mais à une excitation par le GABA. La justification ultime de cette étude pointilleuse a été apportée par le neurone AVL qui contrôle les contractions de la région antérieure du corps. Alors qu'AVL est un neurone GABAergique — qui joue un rôle dans la contraction entérique — et que sa destruction modifie les contractions antérieures du corps, ce n'est pas le cas chez le mutant *unc-25*, ce qui suggère l'existence d'un autre neurotransmetteur et d'une régulation particulière. Toutes les activités dirigées par les neurones GABAergiques ne sont donc pas liées au GABA. Les études réalisées chez *C. elegans* permettent donc d'avancer dans le chemin qui lie les gènes et la fonction dans le système GABAergique. C'est également dans cette voie qu'avance une étude réalisée chez la souris par Murray Brilliant (*Fox Chase Cancer Center*, Philadelphie, USA) et une large équipe coopérative américaine [4]. La souris *pcp* présente une hypopigmentation, une fente palatine et des désordres neurologiques à forme de tremblements et de démarche sautillante apparaissant chez les homozygotes qui survivent à la période post-natale marquée par une forte mortalité. La délétion qui produit ce trouble intéresse une région du chromosome 7 de la souris qui présente une synténie avec la région du chromosome 15q dont la délétion, chez l'homme,

provoque le syndrome d'Angleman caractérisé, lui-aussi, par une hypopigmentation associée à des anomalies cranio-faciales et des troubles nerveux majeurs. Comme les gènes codant pour les sous-unités $\beta 3$ et $\alpha 5$ du récepteur GABA_A ont été localisés chez l'homme dans la région 15q11-13, les auteurs sont allés rechercher une déficience dans les sous-unités de ce récepteur chez la souris *pcp*. Cette analyse leur a permis d'identifier une délétion complète du gène codant pour $\alpha 5$ (et un déficit complet en sous-unité $\alpha 5$) ainsi qu'une délétion partielle de la portion 5' du gène codant pour $\beta 3$. L'étude systématique des autres sous-unités a montré que la sous-unité $\gamma 3$ était totalement absente, ce qui correspondait également à la délétion totale du gène. Cette analyse définit donc un *cluster* de trois gènes dont l'expression est, d'ailleurs, tout à fait parallèle au cours du développement. L'analyse du gène *p* chez la souris *pcp* montre une délétion partielle préservant le premier exon. La délétion s'étend donc chez cette souris du premier exon du gène *p* à la partie 3' du gène $\beta 3$ et passe par $\gamma 3$ et $\alpha 5$. Les conséquences pharmacologiques de ce déficit sont particulièrement sensibles dans la période péri-natale, comme le laissait prévoir l'expression majoritaire des gènes de ce *cluster* à ce moment, et on enregistre un déficit essentiel en récepteur GABA_A (-80 %). Les sous-unités codées par ce *cluster* jouent alors probablement un rôle, non pas tant dans la signalisation synaptique elle-même, que dans la synaptogénèse et la différenciation cellulaire. Les désordres enregistrés ensuite dépendent donc vraisemblablement d'erreurs introduites dans le câblage du système nerveux central. La participation d'une délétion de ce *cluster* de gènes dans le syndrome d'Angleman reste à vérifier mais la conservation synténique entre les deux régions et les similitudes phénotypiques soulignent l'intérêt des résultats obtenus chez la souris.

M.P.

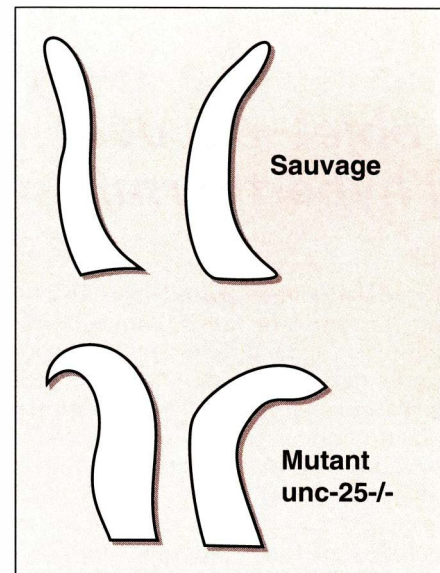


Figure 2. **Le mouvement de forage du nématode correspond à des déplacements de la tête. Ces mouvements sont habituellement (« sauvage ») d'amplitude limitée. Chez le mutant *unc-25* ^{-/-}, privé de système GABAergique, comme après lésion au laser des neurones RME, les mouvements sont très amplifiés en raison de la perte d'un contrôle inhibiteur normalement déclenché par l'étirement.**

1. Bacon E, Viennot F. Le système complexe des récepteurs GABA/benzodiazépine. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 770-7.

2. McIntire SL, Jorgensen E, Horvitz HR. Genes required for GABA function in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1993 ; 364 : 334-7.

3. McIntire SL, Jorgensen E, Kaplan J, Horvitz HR. The GABAergic nervous system of *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1993 ; 364 : 337-41.

4. Nakatsu Y, Tyndale RF, DeLorey TM, Durham-Pierre D, Gardner JM, McDanel HJ, Nguyen Q, Wagstaff J, Lalande M, Sikela JM, Olsen RW, Tobin AJ, Brilliant MH. A cluster of three GABA_A receptor subunit genes is deleted in a neurological mutant of the mouse *p* locus. *Nature* 1993 ; 364 : 448-50.