

## **p75<sup>LNTR</sup> : l'énigmatique récepteur des neurotrophines**

Yves Muller  
Jean Clos

Les neurotrophines (NGF, BDNF, NT-3, 4/5 et 6) contrôlent la prolifération, la différenciation et la survie neuronale. Elles disposent chacune de deux types de récepteurs : un membre spécifique de la famille Trk (récepteur de forte affinité) contenant un domaine cytoplasmique à activité tyrosine kinase et la p75<sup>LNTR</sup> ou récepteur de faible affinité liant toutes les neurotrophines. L'importance fonctionnelle des Trk a été rapidement mise en évidence, tandis que celle de la p75<sup>LNTR</sup> est restée longtemps énigmatique. Les premiers travaux ont montré que la p75<sup>LNTR</sup> contrôlait l'activité des Trk et participait au transport axonal rétrograde des neurotrophines. Des données récentes obtenues dans des systèmes ne synthétisant pas Trk permettent d'attribuer deux fonctions propres à la p75<sup>LNTR</sup>, s'exerçant au travers de deux voies de transduction différentes : la stimulation de la migration des cellules de Schwann qui met en jeu l'activation du facteur de transcription NFκB et l'induction de l'apoptose qui met en jeu la production de céramide. La p75<sup>LNTR</sup>, longtemps détrônée par les Trk, semble être en fait un médiateur essentiel des neurotrophines.

### ADRESSE

Y. Muller : professeur agrégé, doctorant à l'université Montpellier II. J. Clos : professeur à l'université Montpellier II. ERS 5644 du Cnrs, Plasticité cérébrale, Université Montpellier II, CP 91, place Eugène-Bataillon, 34095 Montpellier, France.

Les facteurs neurotrophiques favorisent la survie de certaines populations neuronales, notamment au cours du développement, mais ils sont également impliqués dans la prolifération et la différenciation neuronale, le développement et le fonctionnement des synapses, et les phénomènes de plasticité adaptative. Le NGF (*nerve growth factor*), premier facteur neurotrophique identifié en 1951 par R. Levi-Montalcini, V. Hamburger et S.

Cohen – prix Nobel 1986 (*m/s* n° 9, vol. 2, p. 529) [1] – favorise la survie et la neuritogenèse de certaines populations neuronales, telles que les neurones sympathiques, les neurones sensoriels et les neurones cholinergiques de la base du cerveau antérieur. Près de 40 ans après la découverte du NGF, d'autres facteurs neurotrophiques furent identifiés (BDNF, *brain-derived neurotrophic factor*, NT-3, NT-4/5, NT-6) présentant une structure proche de celle du NGF et regroupés dans la

famille des neurotrophines (*m/s* n° 7, vol. 6, p. 700; n° 6, vol. 7, p. 620).

## Les deux types de récepteurs des neurotrophines

Le premier récepteur connu du NGF est la protéine p75, appelée p75<sup>NGFR</sup> ou p75<sup>L<sup>NTR</sup></sup> [2] car elle constitue en fait le récepteur de faible affinité de toutes les neurotrophines ( $K_d = 10^{-9} M$ ). Ce récepteur est caractérisé par une vitesse rapide d'association et de dissociation du ligand. Il est formé d'une chaîne polypeptidique transmembranaire de 75 kDa. La présence dans le domaine extracellulaire de quatre régions riches en cystéine permet d'inclure la p75 dans la superfamille des récepteurs du TNF (*tumor necrosis factor*) (*figure 1*). Son domaine extracellulaire est impliqué à la fois dans la fixation des neurotrophines et dans la dimérisation du récepteur [3]. Le court domaine intracellulaire de la p75 est cependant dépourvu d'activité enzymatique et reste énigmatique sur le plan fonctionnel.

Près de dix ans après la découverte de la p75, les récepteurs de forte affinité des neurotrophines ( $K_d = 10^{-11} M$ ) appartenant à la famille Trk ont été

identifiés (*m/s* n° 6, vol. 7, p. 620). Le premier Trk isolé, ou TrkA, est spécifiquement activé par le NGF; BDNF et NT-4/5 activent spécifiquement TrkB (bien que ces deux neurotrophines puissent aussi se fixer à TrkA avec une affinité plus faible) et TrkC est spécifiquement activé par NT-3 (bien que NT-3 puisse aussi se fixer avec une affinité plus faible à TrkA et B) [4]. Exception faite de quelques isoformes non catalytiques, tous les membres de la famille Trk possèdent dans leur partie intracellulaire un domaine à activité tyrosine kinase impliqué dans la transmission du signal (*figure 1*). La liaison d'une neurotrophine sous forme homodimérique sur son Trk spécifique induit la dimérisation du Trk, puis l'autophosphorylation de ce récepteur sur des résidus tyrosine, ce qui déclenche la phosphorylation de divers substrats intracellulaires. Ainsi, la fixation du NGF sur TrkA induit une cascade d'événements de transduction impliquant les MAP kinases et aboutissant notamment à l'activation de facteurs de transcription.

L'engouement suscité par la découverte des Trk a d'abord laissé en suspens l'énigme concernant les fonctions de la p75. Pendant plusieurs

années, ce sont les rôles de la p75 en liaison avec les Trk qui ont été décrits. Cependant, un certain nombre de données récentes, obtenues dans des systèmes n'exprimant pas Trk, ont permis d'attribuer à la p75 des fonctions propres, indépendantes des Trk. Ces nouvelles données replacent la p75 à l'avant d'une scène longtemps occupée par les Trk et semblent offrir enfin à ce récepteur ses lettres de noblesse.

## La synthèse de la p75 et sa régulation

Au cours du développement, la p75 est exprimée transitoirement dans certaines structures nerveuses, telles que le cervelet ou les motoneurons médullaires. Son expression peut également persister chez l'adulte (neurones corticaux, neurones cholinergiques de la base du cerveau antérieur et neurones sympathiques et sensoriels). Des cellules non neuronales (cellules de Schwann, kératino-cytes, lymphocytes B) expriment également ce récepteur. Les cellules exprimant p75 sont donc extrêmement variées et elles coexpriment généralement p75 et Trk. Ainsi, la majorité des cellules sensibles au NGF expriment à la fois p75 et TrkA, avec un rapport p75/TrkA le plus souvent élevé. L'expression de p75 est largement plus étendue que celle de TrkA, ce qui est en parfait accord avec le fait que p75 puisse fixer toutes les neurotrophines.

Sous l'influence de diverses lésions, une réexpression de la p75 peut être observée. Ainsi, la désafférentation des cellules de Purkinje du cervelet de rat adulte induit la réapparition de ce récepteur. De même, la lésion de nerfs moteurs entraîne la réexpression de la p75 dans les motoneurons lésés, ce qui nécessite la participation d'un signal transporté dans l'axone à partir du point de lésion [5]. Après axotomie, les cellules de Schwann prolifèrent et expriment p75, ce qui pourrait limiter la diffusion du NGF qu'elles libèrent afin que cette neurotrophine puisse induire efficacement la régénération de l'axone [6]. Le facteur de transcription à doigt à zinc Zif 268/Egr-1, dont l'expression suit rapidement la lésion nerveuse et qui est capable d'activer la transcription du gène

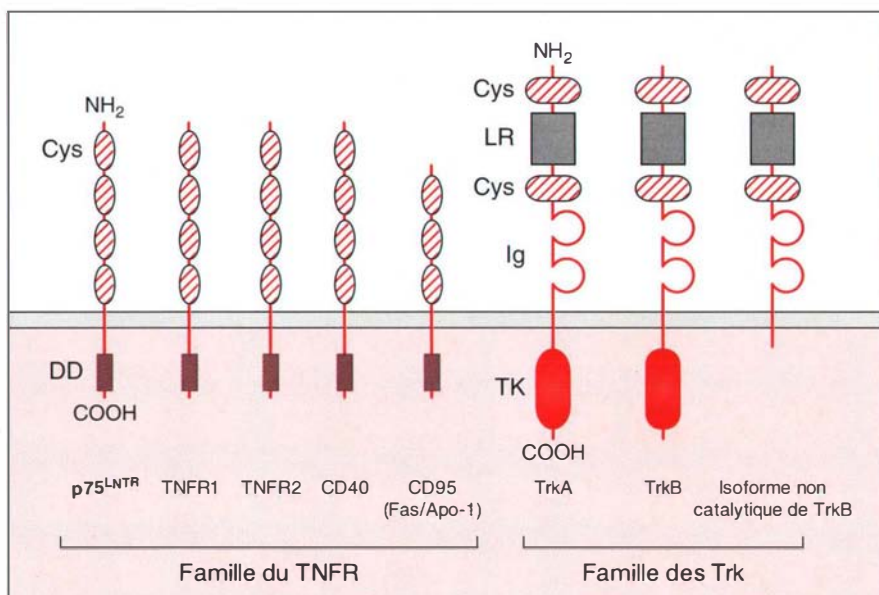


Figure 1. **Représentation schématique des récepteurs de la superfamille du TNFR et de la famille des Trk.** Quelques membres seulement ont été représentés. Cys: région riche en résidus cystéine (rouge hachuré); DD: death domain (bistre foncé); Ig: région possédant une homologie de structure avec celle des immunoglobulines; LR: région riche en résidus leucine (gris); TK: domaine catalytique à activité tyrosine kinase (rouge).



*p75*, constituerait un relais dans la signalisation qui conduit de la lésion à l'expression de *p75* par les cellules de Schwann [7].

Les hormones thyroïdiennes, l'acide rétinoïque et les neurotrophines (NGF, BDNF) peuvent également activer la synthèse de la *p75* au cours du développement.

### **Des outils d'exploration fonctionnelle de la *p75*: anticorps monoclonaux et invalidation génique**

Compte tenu que la *p75* était au départ le seul récepteur connu du NGF, de nombreux travaux visant à mettre en évidence les rôles de cette neurotrophine ont fait appel à un anticorps monoclonal anti-*p75* dirigé contre un épitope extracellulaire de ce récepteur. Nous avons été parmi les premiers à observer des effets *in vivo* de cet anticorps en montrant que l'injection intracérébroventriculaire d'anticorps anti-*p75* retarde dans le cervelet la migration des cellules granulaires et la différenciation des cellules de Purkinje [8]. Il a été également observé que cette injection entraînait la destruction des neurones sympathiques et sensoriels [9]. De plus, l'ajout de cet anticorps à des cultures de cellules PC12 empêche le NGF d'activer la poussée neuritique [10]. Nous avons également montré que l'anticorps anti-*p75* empêche le NGF d'activer la prolifération des cellules granulaires du cervelet immature de rat [11].

L'invalidation du gène *p75* par recombinaison homologue constitue une autre approche de la fonction de ce récepteur. Les souris *p75*<sup>-/-</sup> sont caractérisées non seulement par une perte importante de neurones sensoriels, laquelle se manifeste par une diminution de l'innervation sensorielle cutanée et de la sensibilité à la douleur, mais aussi par l'absence d'innervation sympathique de certaines cibles, telles que les glandes sudoripares et la glande pinéale [12]. Il est cependant à noter que le cerveau de ces souris est relativement normal (tout comme l'est aussi celui des souris homozygotes déficientes en récepteur TrkA, B ou C). On peut supposer que l'absence de *p75* se trouve compensée dans le cerveau de ces souris par la présence d'autres

récepteurs, tels que les formes non catalytiques de TrkB ou C.

### ***p75*, un auxiliaire des Trk**

Sachant que les Trk sont les seuls récepteurs des neurotrophines pourvus d'un domaine catalytique, on a d'abord naturellement supposé que l'activité potentielle de la *p75* ne pouvait s'exercer qu'au travers des Trk. Un certain nombre de travaux ont en effet montré que la *p75* pouvait régler la fonction des Trk (Tableau I) [13, 14].

#### **Les interactions fonctionnelles entre *p75* et Trk**

La co-expression de *p75* et de TrkA contribue à la formation de sites de forte affinité pour le NGF [15]. Notons que TrkA, contrairement à la *p75*, est caractérisé par une vitesse très lente de dissociation du ligand, ce qui lui confère une forte affinité potentielle pour le NGF. Cependant, l'association du NGF est également très lente sur TrkA, ce qui en réduit l'affinité. Lorsque *p75* et TrkA sont co-synthétisés, la vitesse d'association du NGF à TrkA se trouve fortement augmentée, contribuant ainsi à en accroître l'affinité [16]. Des neurones sensoriels d'embryons de souris *p75*<sup>-/-</sup>

nécessitent en culture quatre fois plus de NGF que ces mêmes neurones issus d'embryons sauvages [17]. Ces données pourraient expliquer, d'une part, la perte de neurones sensoriels observée chez les souris transgéniques *p75*<sup>-/-</sup>, et elles prouvent, d'autre part, qu'un rapport *p75*/TrkA élevé est nécessaire pour conférer aux neurones une sensibilité maximale au NGF. De même, l'activation de TrkA se trouve réduite si on empêche le NGF de se fixer à la *p75* [18]. Il faut cependant préciser que TrkA n'est pas le seul récepteur de la famille Trk à être influencé par la *p75*. L'équipe de P.A. Hantzopoulos (Regeneron, Tarrytown, NY, USA) (*m/s n° 10, vol. 10, p. 1049*) a montré en effet que la *p75* pouvait potentialiser l'activation des différents Trk par leurs neurotrophines spécifiques. Il apparaît donc que le rapport *p75*/Trk, variable dans le temps et dans l'espace, constitue un paramètre fondamental pour modifier la sensibilité d'une cellule à une quantité limitée de neurotrophines, la *p75* pouvant être considérée comme le potentialisateur universel de tous les Trk.

Un ensemble de travaux a également montré que la présence de *p75* peut améliorer la spécificité de reconnaissance entre les neurotrophines et les différents membres de la famille Trk.

Tableau I	
FONCTIONS ATTRIBUÉES AU RÉCEPTEUR <i>p75</i>	
<b>Effets biologiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Internalisation et transport rétrograde des neurotrophines</li> <li>• Contrôle de la mort cellulaire programmée de nature apoptotique</li> <li>• Migration des neurones, cellules gliales et cellules cancéreuses</li> <li>• Prolifération et maturation neuronale</li> </ul>
<b>Interactions fonctionnelles avec les Trk</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Accélération de la vitesse d'association du NGF au TrkA et création de sites de forte affinité pour le NGF</li> <li>• Contrôle de l'activité tyrosine kinase de TrkA</li> <li>• Augmentation de la sensibilité aux neurotrophines</li> <li>• Amélioration de la spécificité des interactions entre neurotrophines et Trk</li> </ul>
<b>Voies de transduction</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hydrolyse de la sphingomyéline et production de céramide</li> <li>• Activation du facteur de transcription NFκB</li> <li>• Hydrolyse du glycosyl-phosphatidylinositol en inositol phosphoglycane</li> </ul>

En effet, TrkA peut servir de récepteur à NT-3 dans des conditions où le rapport p75/TrkA est faible, une synthèse importante de p75 limitant au contraire les possibilités d'interactions croisées entre NT-3 et TrkA. De même, la synthèse de p75 pourrait rendre TrkB plus sélectif vis-à-vis de ses ligands spécifiques (BDNF et NT-4/5), minimisant ainsi les possibilités d'interactions croisées entre NT-3 et TrkB.

Les interactions fonctionnelles entre p75 et Trk peuvent aussi se manifester au sein de leurs réseaux spécifiques de transduction (figure 3A). Ainsi, l'interaction NGF-p75 peut accroître l'activité kinase de TrkA [19] et le NGF peut stimuler, par l'intermédiaire de TrkA, l'activité des MAP kinase-1 et 2 associées de façon constitutive à la p75 [20].

### Les interactions physico-chimiques entre p75 et Trk

L'existence d'interactions fonctionnelles entre p75 et Trk ayant été démontrée, la possibilité d'interac-

tions physico-chimiques entre ces deux types de récepteurs a alors été explorée, mais les résultats obtenus se sont avérés décevants en raison d'un certain nombre de difficultés d'ordre technique. Cependant, L.J. Huber (Regeneron) et M.V. Chao (Cornell University, NY, USA) ont récemment pu mettre en évidence, par des expériences d'immunoprécipitation, que des complexes p75/TrkA pouvaient se former dans des structures nerveuses où ces deux récepteurs sont abondamment synthétisés [21]. De même, l'infection de cellules d'insectes par des baculovirus recombinés codant pour p75 et TrkA permet d'obtenir rapidement une forte production de ces deux récepteurs. En présence ou non de NGF, l'existence d'un complexe p75-TrkA a pu être mise en évidence à la surface de ces cellules d'insectes transfectées. Cette association est très spécifique, puisqu'aucun des autres récepteurs à activité tyrosine kinase étudié (tels que TrkB et le récepteur Torso de la drosophile) n'est capable de former un complexe

avec la p75. Les domaines extracellulaires de p75 et TrkA sont nécessaires à la formation de complexes p75-TrkA, mais d'autres domaines peuvent également participer à l'association de ces récepteurs [22].

### Les modèles d'interaction entre p75 et Trk

Plusieurs modèles ont été proposés pour expliquer par quel mécanisme la fonction de p75 pouvait influencer celle des Trk [14, 23]. Un premier modèle stipule que la co-expression de p75 et TrkA pourrait permettre la mise en place d'interactions physiques directes entre ces récepteurs, conduisant probablement à la formation d'hétérodimères. Mais on peut aussi supposer qu'un même Trk puisse se trouver entouré par plusieurs p75 (figure 3A), ce qui permettrait d'expliquer que la fonction du Trk ne puisse être modulée par p75 qu'à condition que le rapport p75/Trk soit élevé. Au sein de tels complexes dimériques ou multimériques, le récepteur TrkA subirait un changement de conformation, ce qui conduirait à accélérer la vitesse d'association du ligand à TrkA, permettant ainsi de créer un site de forte affinité pour le NGF. Ce changement conformationnel pourrait aussi réduire la capacité de TrkA d'interagir avec NT-3, améliorant ainsi la spécificité de TrkA. Signalons, en outre, que p75 et

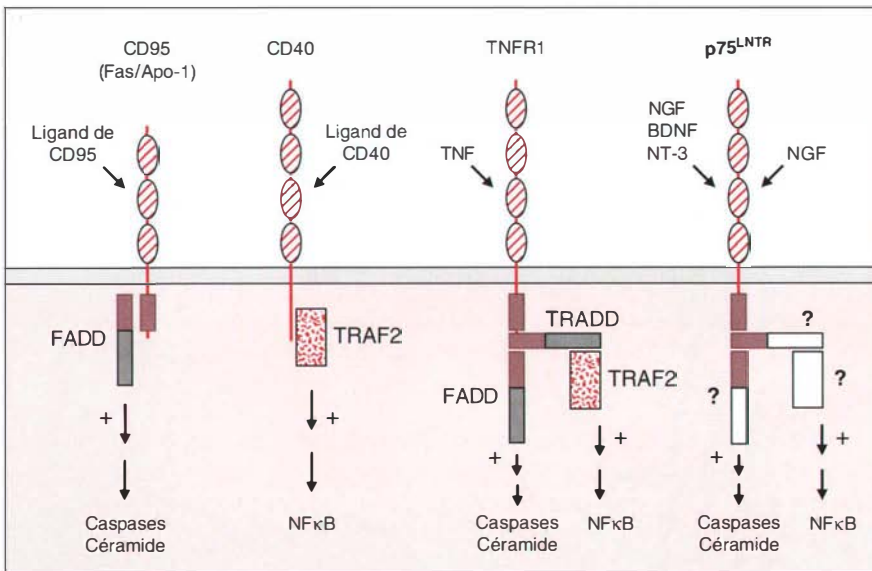


Figure 2. **Transduction du signal par quelques membres de la superfamille du TNFR.** Le modèle de transduction du signal par la p75 proposé ici est fondé sur la découverte récente des voies de transmission du signal relayé par CD95 (Fas/Apo-1), CD40 et TNFR1. Toutes les neurotrophines, après fixation à la p75, pourraient ne pas déclencher la même cascade d'événements de transduction. Ainsi, l'interaction NGF/p75 pourrait conduire à la production de céramide ou à l'activation de NFκB par des voies de transduction différentes, alors que la fixation du BDNF ou de NT-3 à la p75 ne conduirait qu'à la production de céramide par l'intermédiaire d'une seule voie de transduction. Rappelons que les caspases sont les protéases de type ICE. L'oligomérisation des récepteurs induite par la fixation du ligand n'a pas été représentée. Les motifs death domain figurent en bistre foncé. (D'après [42].)

#### \* GLOSSAIRE \*

- BDNF**: brain-derived neurotrophic factor
- CNTF**: ciliary neurotrophic factor
- EGF**: epidermal growth factor
- FGF**: fibroblast growth factor
- GDNF**: glial-derived neurotrophic factor
- ICE**: interleukin-1β-converting enzyme
- IGF**: insulin growth factor
- LIF**: leukemia inhibitory factor
- NGF**: nerve growth factor
- NT**: neurotrophine
- p75LNTR**: p75 low affinity neurotrophin receptor
- TGFβ**: transforming growth factor β
- TNF**: tumor necrosis factor
- TNFR**: récepteur du TNF
- Trk**: récepteur des neurotrophines à activité tyrosine kinase



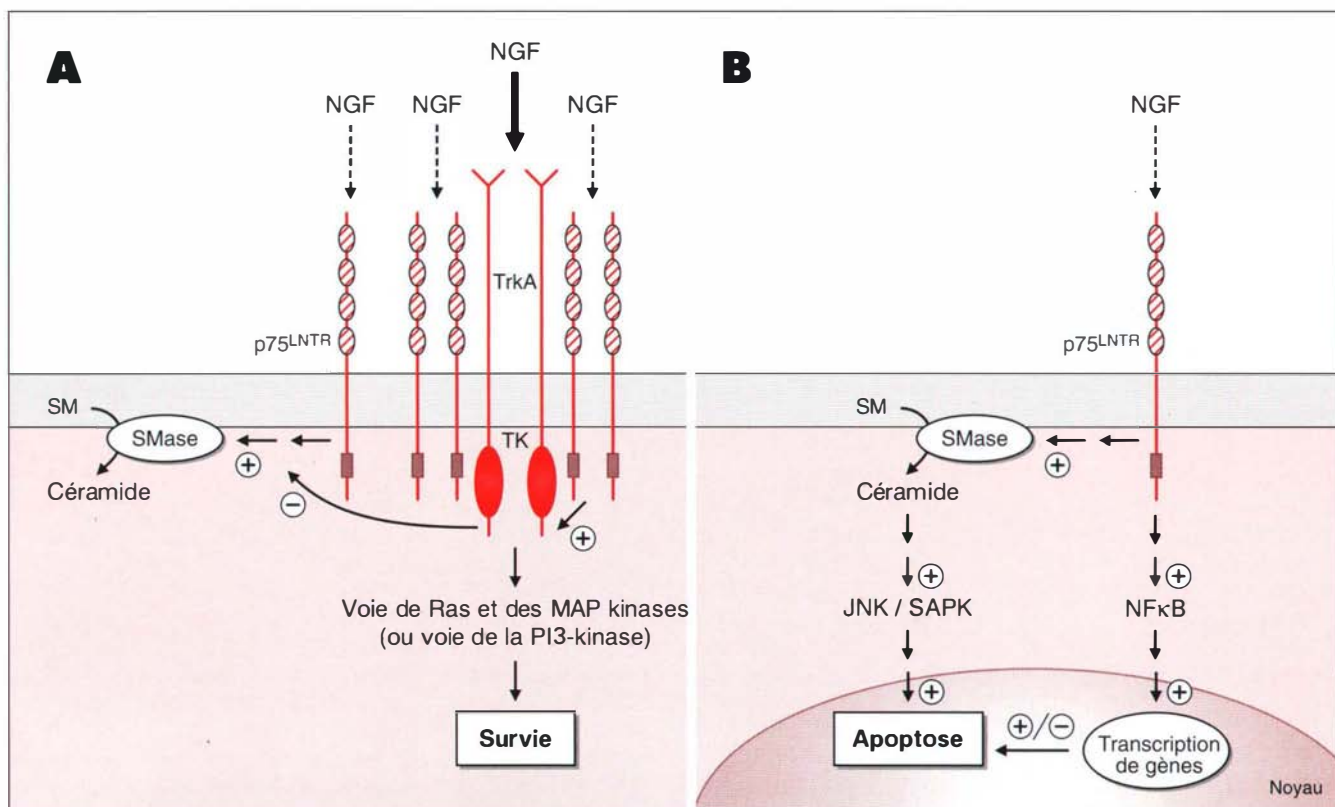


Figure 3. **Interaction NGF/p75<sup>LNTR</sup> et contrôle de la mort neuronale.** A. L'interaction p75-TrkA est impliquée dans l'effet du NGF sur la survie neuronale. Dans certaines cellules exprimant à la fois p75 et TrkA, tels les neurones sympathiques et certains neurones sensoriels [32], le NGF favorise la survie par l'intermédiaire de la voie de transduction de TrkA, mais la p75 est également impliquée. Ce récepteur permet d'augmenter l'effet de survie du NGF en favorisant la fixation du NGF au TrkA [16] et en activant la voie de transduction de TrkA [19]. Le récepteur TrkA peut également inhiber la production de céramide induite par l'interaction NGF/p75 [39]. En pointillés: liaison de faible affinité; en trait gras: liaison de haute affinité. SM: sphingomyéline; SMase: sphingomyélinase; TK: domaine catalytique à activité tyrosine kinase; MAP kinase: mitogen activated protein kinase; PI3 kinase: phosphatidyl inositol-3-kinase. B. La p75 est un récepteur possédant ses propres voies de transduction. Dans certaines cellules exprimant ce récepteur, mais n'exprimant pas TrkA, la fixation du NGF à p75 entraîne une augmentation maintenue de la production de céramide et de l'activité des JNK (c-jun N-terminal kinase)/SAPK (stress-activated protein kinase) conduisant au processus d'apoptose [40]. L'interaction NGF/p75 peut aussi conduire à l'activation de NFκB [28], lequel pourrait régler l'expression de gènes contrôlant l'équilibre entre prolifération et apoptose. L'effet du NGF sur la survie dépend en fait du type cellulaire, de la nature des récepteurs exprimés et des voies de transduction utilisées.

Trk pourraient aussi interagir en étant portés par des cellules voisines (*m/s n° 10, vol. 10, p. 1049*). Un autre modèle propose que les neurotrophines se lient d'abord très rapidement à la p75, ce qui permettrait de les concentrer localement près d'un Trk. La p75 pourrait également transférer la neurotrophine à son Trk spécifique.

### **p75, internalisation et transport axonal rétrograde des neurotrophines**

Les neurotrophines libérées par des cellules cibles (neurones postsynap-

tiques, fibres musculaires, cellules de la peau, cellules glandulaires) sont internalisées, puis transportées par voie rétrograde dans les neurones afférents. Le système septo-hippocampique constitue un modèle de choix pour la description du transport axonal rétrograde des neurotrophines: l'acétylcholine libérée par les terminaisons présynaptiques des neurones du septum induit dans les neurones de l'hippocampe la synthèse de NGF, BDNF et NT-3. Ces neurotrophines subissent une internalisation, puis un transport axonal rétrograde dans les neurones du septum dont elles favorisent le développement et

la survie. Le premier rôle physiologique de la p75 parfaitement établi concerne le transport rétrograde des neurotrophines. En effet, comme les anticorps anti-NGF, les anticorps anti-p75 et la p75 sont internalisés puis transportés par voie rétrograde de l'hippocampe au septum, mais aussi dans les neurones sympathiques et sensoriels, démontrant ainsi la participation de la p75 au transport rétrograde du NGF [24, 25]. Le NGF n'est cependant pas la seule neurotrophine dont le transport rétrograde mette en jeu la p75. En effet, l'injection d'anticorps anti-p75 affecte fortement le transport rétro-

grade du BDNF et de NT-3 de la rétine au cerveau dans l'embryon de poulet. Notons que l'injection d'anticorps anti-TrkB a aussi cet effet, ce qui montre que les deux types de récepteurs des neurotrophines peuvent être impliqués dans le transport axonal rétrograde [26].

### **p75 et migration des cellules de Schwann**

Les cellules de Schwann ont une intense activité migratoire durant le développement et la régénération des nerfs périphériques. Cette propriété joue un rôle fondamental dans la capacité de ces cellules de favoriser et guider la croissance ou la repousse axonale. Les cellules de Schwann peuvent migrer à la surface de l'axone ou sur certains composés de la matrice extracellulaire. Lors de leurs périodes d'intense activité migratoire, les cellules de Schwann synthétisent de grandes quantités de NGF et de p75, jusqu'à ce qu'un contact étroit avec l'axone en croissance soit établi. Il faut également préciser que les cellules de Schwann n'expriment pas de quantités détectables de TrkA. L'équipe de W.D. Matthew (Cambridge NeuroScience Inc., MA, USA) [27] a étudié *in vitro* la migration des cellules de Schwann sur des coupes de nerfs sciatiques normaux ou lésés. Ils observent que ces cellules gliales migrent plus rapidement sur des neurones de nerfs lésés que sur des neurones de nerfs intacts, et cette vitesse se trouve encore accrue si les préparations de nerfs lésés ont été prétraitées par le NGF. Ces effets sur la vitesse de migration sont contrecarrés par des anticorps anti-NGF ou anti-p75. Les quantités élevées de NGF d'origine gliale dans les nerfs périphériques en développement ou en régénération permettraient donc d'accélérer la migration des cellules de Schwann, cet effet mettant en jeu la p75. L'équipe de Y.A. Barde (Martinsried, Allemagne) [28] vient récemment de montrer que l'interaction NGF/p75 conduit dans les cellules de Schwann à l'activation du facteur de transcription NFκB, lequel peut, par exemple, stimuler la synthèse de la glycoprotéine membranaire L1 (impliquée dans l'adhérence et la migration cellulaire). Le NGF est incapable d'induire l'activation de NFκB dans les cellules de Schwann iso-

lées de souris *p75<sup>-/-</sup>*. L'activation du facteur de transcription NFκB, provoquée par la fixation du NGF sur la p75, pourrait donc déclencher dans les cellules de Schwann la synthèse de protéines impliquées dans la migration cellulaire. Le fait que l'interaction NGF/p75 puisse conduire à l'activation d'un facteur de transcription autorise à penser que la p75 participe à la régulation d'autres fonctions cellulaires, indépendamment des Trk.

### **p75 et apoptose**

L'apoptose est une forme particulière de mort cellulaire programmée au cours de laquelle les cellules s'autodétruisent en exécutant un programme génétique [29]. Cette mort naturelle joue un rôle fondamental dans le développement. Ainsi, lors du développement du système nerveux des vertébrés, où elle a été particulièrement étudiée, l'apoptose neuronale permet notamment d'ajuster le nombre de neurones afférents au nombre de cellules cibles. Ce suicide des neurones est particulièrement intense au cours de la période périnatale. Les neurones peuvent cependant échapper à cette mort naturelle sous l'influence des neurotrophines. Mais en raison de la quantité limitée de neurotrophines produites par les cellules cibles, seule une partie de la population neuronale est protégée et survit.

L'équipe de Bredesen (La Jolla, CA, USA) a montré dans plusieurs populations de neurones immortalisés que la synthèse constitutive de la p75, en l'absence de NGF, induit la mort neuronale par apoptose, alors que la liaison du NGF (ou d'autres neurotrophines) à la p75 empêche cette mort cellulaire (*m/s n° 11, vol. 9, p. 1266*) [30, 31]. De même, dans les neurones sensoriels d'embryons de souris, le blocage de l'expression de la p75 par l'utilisation d'un oligonuclease antisens empêche le NGF d'exercer ses effets anti-apoptotiques, confirmant ainsi que l'interaction NGF/p75 assure la protection de ces neurones. Lors de la période périnatale, ces neurones sensoriels sont au contraire protégés en l'absence de NGF, par l'utilisation de ce même antisens, ce qui montre que la p75 synthétisée de façon constitutive provoque pendant cette période et en

l'absence de neurotrophines, la mort des neurones sensoriels [32]. Nous venons également d'observer que l'ajout d'anticorps anti-p75 à des cultures de cellules granulaires de cerveau de rat mime une grande partie des effets anti-apoptotiques du NGF, du BDNF et de NT-3 [33].

La p75, par sa capacité d'induire l'apoptose, pourrait jouer un rôle dans les maladies neurodégénératives. Certains arguments laissent en effet penser que la synthèse de ce récepteur est associée à la vulnérabilité de certains neurones du cerveau. Ainsi, les neurones cholinergiques de la base du cerveau antérieur, qui produisent de très grandes quantités de p75 pendant toute la vie adulte, dégénèrent chez les patients atteints par la maladie d'Alzheimer. Par ailleurs, Bredesen *et al.* montrent que la surexpression de la p75 dans des cellules PC12 accroît leur sensibilité à la toxicité du peptide β-amyloïde [34].

La structure de la p75 a permis de rapprocher ce récepteur des autres membres de la famille du TNFR, tels que Fas/Apo-1/CD95, TNFR ou CD40 (*figure 1*) qui participent, notamment, au contrôle de la mort cellulaire programmée. La découverte du rôle joué par la p75 dans le processus d'apoptose conforte donc encore son appartenance à cette grande famille de récepteurs, et la rapprocherait d'ailleurs plutôt de CD40. En effet, le récepteur CD40 induit la mort cellulaire en l'absence de ligand, la fixation du ligand exerçant un effet anti-apoptotique.

Cependant, l'effet anti-apoptotique engendré par l'interaction NGF/p75 est contesté par les équipes de M. Bothwell (Seattle, WA, USA) et de Y.A. Barde. Le groupe de Bothwell a observé que la liaison du NGF à la p75 pouvait induire la mort de certains neurones du cerveau. Les résultats récents de l'équipe de Barde montrent que l'injection, dans de jeunes embryons de poulet, d'anticorps anti-NGF ou anti-p75 qui bloquent la liaison de cette neurotrophine à la p75, permettait de sauver un grand nombre de neurones rétinien, lesquels auraient dû mourir pendant la période de mort programmée [35]. Notons que ces neurones embryonnaires synthétisent p75 mais pas TrkA. L'interprétation de ces résultats diffère selon qu'il s'agit du groupe de



Bothwell ou de celui de Barde. D'une part, le groupe de Bothwell suppose que cet effet meurtrier du NGF ne met pas directement en jeu la fonction apoptotique de la p75. Ce groupe suggère, en fait, que la liaison du NGF à la p75 ne permettrait plus à ce récepteur de jouer son rôle d'auxiliaire des Trk. La p75 serait alors incapable de favoriser la liaison des autres neurotrophines aux Trk, ce qui entraînerait par conséquent la mort des neurones dont la survie dépend des autres neurotrophines. D'autre part, le groupe de Barde suggère que la liaison du NGF au p75 pourrait directement tuer les neurones à certains stades du développement précoce. Cette interprétation, naturellement très controversée à l'heure actuelle, notamment par l'équipe de Bredesen, rapprocherait ainsi la p75 de TNFR ou de Fas, lesquels induisent l'apoptose après interaction avec leur ligand respectif. Il semblerait que la p75, selon les conditions (notamment selon le type cellulaire et la présence ou pas de TrkA), puisse favoriser ou au contraire empêcher l'apoptose (figure 3) [36, 37].

### **p75 et transduction du signal**

Le céramide, lipide issu de l'hydrolyse de la sphingomyéline, constitue un véritable messager intra cellulaire impliqué notamment dans l'arrêt des divisions cellulaires ou dans l'induction de la différenciation et de l'apoptose (*m/s n°5, vol. 12, p. 658*). Les neurotrophines activent par l'intermédiaire de p75 l'hydrolyse de la sphingomyéline en céramide dans différentes lignées cellulaires [38, 39]. L'expression dans des cellules de gliome d'un gène hybride codant pour la région extracellulaire du récepteur de l'EGF et la région transmembranaire et intracellulaire de la p75 rend l'EGF capable d'activer la production de céramide [38], ce qui met en évidence la participation de p75 à la voie de transduction conduisant à l'hydrolyse de la sphingomyéline. Cette voie pourrait constituer un nouveau mécanisme de transmission du signal des neurotrophines, indépendant des Trk. Ainsi, l'équipe de M.W. Chao vient de montrer sur des oligodendrocytes mûrs que l'interaction p75/NGF induisait l'apoptose par l'intermédiaire d'une augmentation

maintenue de la production de céramide (figure 3B) [40]. Notons que si la p75 est capable de moduler l'activité des Trk, la relation réciproque est également possible. En effet, l'activité tyrosine kinase de TrkA, déclenchée par le NGF, exerce une influence inhibitrice sur la production de céramide induite par la fixation d'une neurotrophine à la p75 (figure 3A) [39].

La production de céramide déclenchée par l'interaction NGF/p75 pourrait conduire à l'activation du facteur de transcription NFκB au sein d'une même voie de transduction [28]. Il est cependant alors difficile de comprendre pourquoi le BDNF et la NT-3, dont l'influence sur la production de céramide est encore plus nette que celle du NGF, ne sont pas capables aussi d'activer NFκB [28]. La production de céramide et l'activation de NFκB pourraient être en fait des événements indépendants faisant partie de deux voies de transduction différentes. Les données concernant les voies de transduction utilisées par les autres membres de la famille du TNFR vont dans ce sens. Il existe en effet deux réseaux de transduction pour TNFR1 : la fixation de TNFα sur ce récepteur peut à la fois déclencher une activation de l'apoptose relayée par le céramide ou une activation de NFκB conduisant à l'expression de certains gènes. Une de ces deux voies peut prédominer : c'est le cas de la voie du céramide pour Fas, ou de celle de NFκB pour CD40. La réalisation d'une de ces deux voies de transduction va dépendre, notamment, de la nature des partenaires intracellulaires associés au récepteur (*m/s n°6, vol. 11, p. 1178; m/s n°4, vol. 12, p. 541*). Les récepteurs du TNF (TNFR1 et TNFR2), Fas et p75 possèdent en commun dans leur domaine intracellulaire un motif appelé *death-domain* (figure 1), qui se retrouve dans la protéine REAPER impliquée dans le contrôle de l'apoptose durant le développement embryonnaire de la drosophile. Le motif *death domain* (DD) de ces récepteurs peut s'associer à différentes protéines possédant elles aussi un tel domaine. Ainsi, les protéines TRADD (*TNFR associated death-domain protein*) et FADD (*Fas associated death-domain protein*) s'associent respectivement au motif DD de TNFR1 et de Fas (figure 2). La surproduction de ces protéines à DD est

capable d'induire l'apoptose. La protéine TRADD peut s'associer à son tour à un autre partenaire, tel que FADD ou TRAF-2 (*TNF receptor associated factor 2*). L'interaction Fas-FADD, ou TNFR1-TRADD-FADD aboutit à l'activation des protéases à cystéine de la famille ICE. Ces protéases sont nécessaires à la production de céramide et à l'induction de l'apoptose [41]. L'interaction CD40-TRAF-2, ou TNFR1-TRADD-TRAF-2 provoque une autre cascade d'événements au cours de laquelle le facteur de transcription NFκB est activé. On peut donc imaginer que la p75 déclenche aussi, comme le TNFR1, une double voie de transduction par l'intermédiaire de différents partenaires à DD (figure 2). Une première voie de transduction, mettant en jeu des protéines de type TRADD et FADD, serait impliquée dans l'activation des caspases, les protéines de la famille ICE, la production de céramide et l'apoptose. Une seconde voie de transduction, mettant en jeu des protéines de type TRADD et TRAF-2, conduirait à l'activation de NFκB [42-43].

Une autre voie de signalisation pour la p75 peut être celle du glycosylphosphatidylinositol/inositol phosphoglycane. En effet, aux stades précoces du développement de l'oreille interne du poulet, le NGF stimule la prolifération des cellules du ganglion stato-acoustique (lesquelles ne synthétisent à ce stade que la p75) par l'intermédiaire d'une activation de l'hydrolyse d'un glycophospholipide membranaire contenant un groupement inositol (ou glycosylphosphatidylinositol). Cette hydrolyse conduit à une accumulation rapide dans la cellule d'inositol phosphoglycane, lequel constitue un second messager relayant les effets mitogènes du NGF [44].

### **Conclusion**

Mise à l'écart par la découverte des Trk, la p75 suscite à nouveau un grand intérêt chez tous ceux qui s'intéressent aux neurotrophines. Il s'agit, en effet, d'un récepteur à part entière, pourvu non seulement d'un site de fixation pour toutes les neurotrophines, mais également doué de capacités transductionnelles. Il peut fonctionner indépendamment, ou en association (directe ou indirecte) avec les récep-

teurs de la famille Trk, les relations fonctionnelles entre ces deux types de récepteurs pouvant être réciproques. La réhabilitation du récepteur p75 ouvre désormais de nouvelles perspectives d'exploration du mode d'action des neurotrophines ■

## RÉFÉRENCES

- Levi-Montalcini R. The nerve growth factor 35 years later. *Science* 1987; 237: 1154-62.
- Johnson EM Jr, Taniuchi M. Nerve growth factor (NGF) receptors in the central nervous system. *Biochem Pharmacol* 1987; 36: 4189-98.
- Chapman BS, Kuntz ID. Modeled structure of the 75-kDa neurotrophin receptor. *Protein Sci* 1995; 4: 1696-707.
- Lamballe F. Les récepteurs tyrosine-kinases Trk: récepteurs de forte affinité des neurotrophines. *Med Sci* 1995; 11: 1071-80.
- Greeson DM, Moix L, Meier M, Armstrong DM, Wiley RG. A continuing signal maintains NGF receptor expression in hypoglossal motor neurons after crush injury. *Brain Res* 1992; 594: 351-5.
- Johnson EM Jr, Taniuchi M, Di Stefano PS. Expression and possible function of nerve growth factor receptors on Schwann cells. *Trends NeuroSci* 1988; 11: 299-304.
- Mikam SS, Tennekoon GI, Christy BA, Yoshino JE, Rutkowski JL. The zinc finger transcription factor Zif 268/Egr-1 is essential for Schwann cell expression of the p75 NGF receptor. *Mol Cell Neurosci* 1995; 6: 337-48.
- Légrand Ch, Clos J. Biochemical, immunocytochemical and morphological evidence for an interaction between thyroid hormone and nerve growth factor in the developing cerebellum of normal and hypothyroid rats. *Dev Neurosci* 1991; 13: 382-96.
- Johnson EM Jr, Osborne PA, Taniuchi M. Destruction of sympathetic and sensory neurons in the developing rat by a monoclonal antibody against the nerve growth factor (NGF) receptor. *Brain Res* 1989; 478: 166-70.
- Chandler CE, Parsons LM, Hosang M, Shooter EM. A monoclonal antibody modulates the interaction of nerve growth factor with PC12 cells. *J Biol Chem* 1984; 259: 6882-9.
- Muller Y, Duperray C, Caruso F, Clos J. Autocrine regulation of proliferation of cerebellar granule neurons by nerve growth factor. *J Neurosci Res* 1994; 38: 41-55.
- Lee KF, Bachman K, Landis S, Jaenisch R. Dependence on p75 for innervation of some sympathetic targets. *Science* 1994; 263: 1447-9.
- Chao MV. The p75 neurotrophin receptor. *J Neurobiol* 1994; 25: 1373-83.
- Chao MV, Hempstead BL. p75 and Trk: a two-receptor system. *Trends NeuroSci* 1995; 18: 321-6.
- Hempstead BL, Martin-Zanca D, Kaplan DR, Parada LF, Chao MV. High-affinity NGF binding requires coexpression of the trk proto-oncogene and the low-affinity NGF receptor. *Nature* 1991; 350: 678-83.
- Mahadeo D, Kaplan L, Chao MV, Hempstead BL. High affinity NGF binding displays a faster rate of association than p140<sup>trk</sup> binding: implications for multi-subunit polypeptide receptors. *J Biol Chem* 1994; 269: 6884-91.
- Davies AM, Lee KF, Jaenisch R. p75-deficient trigeminal sensory neurons have an altered response to NGF but not to other neurotrophins. *Neuron* 1993; 11: 565-74.
- Barker PA, Shooter EM. Disruption of NGF binding to the low affinity neurotrophin receptor p75<sup>LNTFR</sup> reduces NGF binding to TrkA on PC12 cells. *Neuron* 1994; 13: 203-15.
- Verdi JM, Birren SJ, Ibanez CF, Persson H, Kaplan DR, Benedetti M, Chao MV, Anderson DJ. p75<sup>LNGFR</sup> regulates Trk signal transduction and NGF-induced neuronal differentiation in MAH cell. *Neuron* 1994; 12: 733-45.
- Volonte C, Angelastro JM, Greene LA. Association of protein kinases ERK1 and ERK2 with p75 nerve growth factor receptors. *J Biol Chem* 1993; 268: 21410-5.
- Huber LJ, Chao MV. A potential interaction of p75 and trkA NGF receptors revealed by affinity crosslinking and immunoprecipitation. *J Neurosci Res* 1995; 40: 557-63.
- Ross AH, Daou MC, McKinnon CA, Condon PJ, Lachyankar MB, Stephens RM, Kaplan DR, Wolf DE. The neurotrophin receptor, gp75, forms a complex with the receptor tyrosine kinase trkA. *J Cell Biol* 1996; 132: 945-53.
- Barbacid M. Nerve growth factor: a tale of two receptors. *Oncogene* 1993; 8: 2033-42.
- Johnson EM Jr, Taniuchi M, Clark HB, Springer JE, Koh S, Tayrien MW, Loy R. Demonstration of the retrograde transport of nerve growth factor (NGF) receptor in the peripheral and central nervous system. *J Neurosci* 1987; 7: 923-9.
- Kiss J, Shooter EM, Patel AJ. A low affinity nerve growth factor receptor antibody is internalized and retrogradely transported selectively into cholinergic neurons of the rat basal forebrain. *Neuroscience* 1993; 57: 297-305.
- Von Bartheld CS, Williams R, Lefcort F, Clary DO, Reichardt LF, Bothwell M. Retrograde transport of neurotrophins from the eye to the brain in chick embryos: role of the p75<sup>NTR</sup> and trkB receptors. *J Neurosci* 1996; 16: 2995-3008.
- Anton ES, Weskamp G, Reichardt LF, Mathew WD. Nerve growth factor and its low-affinity receptor promotes Schwann cell migration. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 2795-9.
- Carter BD, Kaltschmidt C, Kaltschmidt B, Offenhäuser N, Böhm-Matthaei R, Baeuerle PA, Barde YA. Selective activation of NFκB by nerve growth factor through the neurotrophin receptor p75. *Science* 1996; 272: 542-5.
- Martinou J. La mort cellulaire programmée dans le système nerveux. *Med Sci* 1995; 11: 367-73.
- Rabizadeh S, Oh J, Zhong L, Yang J, Bitler CM, Butcher LL, Bredesen DE. Induction of apoptosis by the low-affinity NGF receptor. *Science* 1993; 261: 345-8.
- Rabizadeh S, Bredesen DE. Is p75<sup>NGFR</sup> involved in developmental neural cell death? *Dev Neurosci* 1994; 16: 207-11.
- Barrett GL, Bartlett PF. The p75 nerve growth factor receptor mediates survival or death depending on the stage of sensory neuron development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 6501-5.
- Muller Y, Tangre K, Clos J. Autocrine regulation of apoptosis and Bcl-2 expression by nerve growth factor in early differentiating cerebellar granule neurons involves p75<sup>LNTFR</sup>. *Neurochem Int* 1997; n° spécial apoptose (sous presse).
- Rabizadeh S, Bitler CM, Butcher LL, Bredesen DE. Expression of the low-affinity nerve growth factor receptor enhances beta-amyloid peptide toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 10703-6.
- Frade JM, Rodriguez-Tébar A, Barde YA. Induction of cell death by endogenous nerve growth factor through its p75 receptor. *Nature* 1996; 383: 166-8.
- Carter BD, Lewin GR. Neurotrophins live or let die: does p75<sup>NTR</sup> decide? *Neuron* 1997; 18: 187-90.
- Davies AL. Neurotrophins: the yin and yang of nerve growth factor. *Curr Biol* 1997; 7: R38-40.
- Dobrowsky RT, Werner MH, Castellino AM, Chao MV, Hannun YA. Activation of the sphingomyelin cycle through the low-affinity neurotrophin receptor. *Science* 1994; 265: 1596-9.
- Dobrowsky RI, Jenkins GM, Hannun YA. Neurotrophins induce sphingomyelin hydrolysis. Modulation by co-expression of p75(NTR) with Trk receptors. *J Biol Chem* 1995; 270: 22135-42.
- Casaccia-Bonnet P, Carter BD, Dobrowsky RT, Chao MW. Death of oligodendrocytes mediated by the interaction of nerve growth factor with its receptor p75. *Nature* 1996; 383: 716-9.
- Pronk GJ, Ramer K, Amiri P, Williams LT. Requirement of an ICE-like protease for induction of apoptosis and ceramide generation by REAPER. *Science* 1996; 271: 808-10.
- Bothwell M. p75<sup>NTR</sup>: a receptor after all. *Science* 1996; 272: 506-7.
- Gueydan C, Coessens E. Avancées et perspectives de la recherche sur le facteur de nécrose tumorale (TNF). *Med Sci* 1997; 13: 83-8.
- Represa J, Avila MA, Miner C, Giraldez F, Romero G, Clemente R, Mato JM, Varela-Nieto I. Glycosyl-phosphatidylinositol/inositol phosphoglycan: a signaling system for the low-affinity nerve growth factor receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 8016-9.



## Summary

### p75<sup>L<sup>NTR</sup></sup> : an enigmatic neurotrophin receptor

The neurotrophins (NGF, BDNF, NT-3, 4/5 et 6) control the proliferation, differentiation and survival of neurons. They bind to two types of receptors : a specific member of the Trk family of receptor tyrosine kinases and the p75<sup>L<sup>NTR</sup></sup>, or low-affinity neurotrophin receptor, capable of binding all the neurotrophins. The p75<sup>L<sup>NTR</sup></sup> belongs to a family of transmembrane molecules which includes TNFR (*tumor necrosis factor receptors*) and the human antigen Fas. Accumulating evidence suggests that Trk is a functionally important neurotrophin receptor, whereas the function of p75<sup>L<sup>NTR</sup></sup> remains enigmatic. The first studies showed that p75<sup>L<sup>NTR</sup></sup> controls the activity of Trk and participates in retrograde axonal transport. Some recent data obtained in systems without Trk allow to assign two specific functions to p75<sup>L<sup>NTR</sup></sup> : stimulation of Schwann cell migration involving the activation of NFκB and induction of apoptosis involving the production of ceramide. While p75<sup>L<sup>NTR</sup></sup> has long been overshadowed by Trk, it appears in fact to be an essential mediator of neurotrophin action.

## Symposium International d'Immunité Néonatale Annecy-France 17-19 novembre 1997

Contact : Betty Dodet,  
Fondation Marcel-Mérieux  
17, rue Bourgelat, BP 2021,  
69227 Lyon Cedex 02, France.  
Fax : (33) 72 73 79 93

E-mail : 100765.1401@Compuserve.Com

TIRÉS À PART

J. Clos.

# Institut Pasteur

Direction Médicale

## APPEL D'OFFRES CLINICIENS-CHERCHEURS INSTITUT PASTEUR HÔPITAL PASTEUR

L'Institut Pasteur a décidé de faire de la **recherche clinique** l'une de ses priorités. Le but est d'intégrer son potentiel de recherche fondamentale au sein de programmes développés à l'hôpital de l'Institut Pasteur et en collaboration avec des partenaires hospitalo-universitaires.

Ces programmes seront développés à l'Institut Pasteur dans le cadre d'une structure de **médecine moléculaire appliquée aux maladies infectieuses** qui comprendra à terme un centre d'investigation au sein de l'Hôpital et un centre d'investigation biologique constitué de plusieurs laboratoires à l'interface entre recherche fondamentale et recherche clinique.

Les axes définis sont la chimiothérapie des infections virales et rétrovirales, l'immuno-intervention prophylactique ou thérapeutique dans les infections bactériennes, virales, fongiques et parasitaires, et la neurobiologie infectieuse. Les travaux seront supervisés par un médecin en charge de la recherche clinique, sous la responsabilité du Chef de service de l'hôpital de l'Institut Pasteur et du responsable de l'Unité de recherche où le travail expérimental sera effectué.

La marche de ces travaux et la liaison entre recherche et clinique sera assurée par des **cliniciens-chercheurs**. Ils évolueront à l'interface entre l'Hôpital et le laboratoire de recherche pasteurien impliqué dans le projet dont ils seront responsables. Ils pourront ainsi acquérir une compétence mixte, actuellement trop rare.

Afin d'assurer ces fonctions, l'Institut Pasteur offre un contrat de trois ans à des Internes de Spécialité Médicale ou Chirurgicale, en fin d'Internat, ayant défendu ou proches de défendre leur thèse de Médecine. Les candidats devront être titulaires d'un DEA ou répondre aux conditions requises pour s'y inscrire. Dans ce dernier cas, la partie théorique en sera effectuée dans le cadre de l'un des cours de l'Institut Pasteur. Ils entameront alors une activité mixte de type MD/PhD.

- **L'activité scientifique sera dominante.** Le clinicien-chercheur effectuera un travail expérimental au sein d'une Unité de recherche de l'Institut Pasteur sur une thématique en rapport avec son sujet de recherche clinique. Ce travail devrait lui permettre à terme de défendre une thèse de Sciences.

- **L'activité clinique** du clinicien-chercheur l'amènera à suivre les investigations et/ou les thérapeutiques des patients entrant dans le cadre de son programme de recherche clinique. Il participera aussi aux activités médicales générales de l'Hôpital (grandes visites, enseignements, réunions, gardes).

Les médecins intéressés peuvent écrire au Professeur Philippe Sansonetti, Directeur médical de l'Institut Pasteur, 28, rue du Dr Roux, 75724 Paris Cedex 15, en joignant un CV accompagné de deux lettres de soutien, une liste récente de publications, et une lettre de motivation expliquant le projet de carrière ultérieure.

Date limite d'envoi : 30 novembre 1997

Pour tout renseignement complémentaire, prière de faxer (01 40 61 30 19)

ou de prendre contact par E-mail : jlorhol@pasteur.fr