

LRP4 : le co-récepteur de l'agrine enfin identifié ?

Jean Cartaud, Annie Cartaud

Laboratoire
de Biologie Cellulaire des Membranes,
Institut Jacques Monod, UMR 7592,
CNRS, Université Paris 7,
2, place Jussieu,
75251 Paris Cedex 05, France.
cartaud@ijm.jussieu.fr



► La formation de la jonction neuromusculaire (JNM) - la synapse cholinergique qui transmet le signal du motoneurone au muscle - est un processus qui requiert la coordination de multiples interactions entre le nerf moteur et la fibre musculaire. Ce dialogue précoce entre nerf et muscle conduit à la différenciation locale de la membrane de la fibre musculaire en un domaine post-synaptique où sont concentrés les récepteurs de l'acétylcholine (RACH), ainsi qu'à la formation, exactement en regard de ceux-ci, des zones actives de la terminaison nerveuse, sites de libération du neuromédiateur, l'acétylcholine. Une telle organisation spatiale assure une transmission synaptique rapide et efficace. Les mécanismes moléculaires conduisant à la différenciation de la JNM sont de plus susceptibles d'intervenir dans la formation des synapses du système nerveux central. Ainsi, comprendre comment se forme la JNM revêt un intérêt considérable pour la neurobiologie. Malgré des décennies d'efforts, les signaux et les mécanismes responsables de la synaptogenèse sont encore largement inconnus.

La voie de signalisation agrine-MuSK

Une voie majeure de signalisation conduisant à la différenciation synaptique met en jeu des isoformes d'agrine sécrétées par le nerf et accumulées dans la fente synaptique, ainsi qu'un récepteur à activité tyrosine kinase spécifiquement exprimé dans le muscle au niveau de la membrane post-synaptique : MuSK [1]. Agrine et MuSK sont deux organisateurs de la JNM puisque l'inactivation de ces gènes chez la souris abolit

la différenciation synaptique. MuSK est le composant majeur du complexe récepteur de l'agrine ; il est rapidement phosphorylé par l'agrine et celle-ci n'est plus capable d'induire l'agrégation du RACH dans les myotubes issus de souris *MuSK*^{-/-} [2, 3]. Ces observations suggèrent que l'agrine agisse à travers la stimulation de MuSK. Des mutations dans ces molécules sont la cause directe de pathologies de la JNM (syndromes myasthéniques congénitaux) caractérisées par une réduction du nombre des RACH [3]. Un problème majeur dans la cascade de signalisation agrine-MuSK est de comprendre comment l'agrine active MuSK, puisque MuSK ne lie pas directement l'agrine. Cette ambiguïté a conduit à proposer l'hypothèse de l'existence d'un (ou de plusieurs) partenaire(s) de MuSK spécifique(s) du myotube, assurant à la fois la liaison de l'agrine et l'activation de MuSK [4]. En dépit de nombreuses tentatives, ce composant nommé MASC (*myotube-associated specific component*) n'était à ce jour pas identifié [5].

Identification d'un co-récepteur de l'agrine : Lrp4

Deux publications simultanées semblent résoudre la question, en montrant que LRP4, un membre de la famille des récepteurs des LDL (*low density lipoproteins*) (RLDL), est un co-récepteur de l'agrine [6, 7]. Ces recherches découlent d'observations récentes issues d'un criblage génétique de gènes régulant le développement précoce de la souris. Des souris mutées dans *Lrp4* montrent, entre autres défauts, des perturbations sévères de la JNM [8]. Comme les

mutants de *MuSK*, ces souris ont des anomalies de la différenciation pré- et post-synaptique. *Lrp4* est de plus préférentiellement transcrit dans les noyaux sous neurax de la fibre musculaire, comme le sont les gènes codant pour les protéines post-synaptiques en général. Ces observations ont conduit les groupes des Professeurs Steven Burden, de la *New York University Medical School* [6] et Lin Mei, du *Medical College of Georgia* [7] à tester l'hypothèse que *Lrp4* soit impliqué dans la signalisation agrine-MuSK. Les résultats publiés par ces deux groupes sont convergents et démontrent que *Lrp4* est un co-récepteur de l'agrine, qu'il forme un complexe avec MuSK et qu'il est nécessaire à la signalisation de MuSK, conduisant au recrutement du RACH à la JNM.

Lrp4 contient un domaine extracellulaire amino-terminal composé de multiples répétitions de motifs EGF (*epidermal growth factor*) et de motifs RLDL, un domaine transmembranaire et une courte région carboxy-terminale sans aucun motif catalytique identifiable. Dans les fibres musculaires où il est spécifiquement exprimé, *Lrp4* est co-localisé à la JNM avec le RACH et MuSK. Dans les lignées de cellules musculaires issues de souris mutantes pour *Lrp4*, l'agrine n'est plus capable d'activer MuSK, ceci montrant que *Lrp4* est nécessaire à la stimulation de la phosphorylation de MuSK. Les deux groupes ont mis en évidence que le domaine extracellulaire de *Lrp4* lie sélectivement et à haute affinité les isoformes d'agrine nerveuse. Dans des cellules non musculaires (BaF3 ou HEK) co-exprimant *Lrp4* et MuSK, des expériences d'immuno-précipitation

montrent que l'agrine stimule la phosphorylation de MuSK et augmente leur interaction. Ces dernières observations suggèrent que Lrp4 et MuSK forment un complexe même en l'absence du ligand, et que la liaison de l'agrine à Lrp4 potentialise l'interaction (Figure 1). Enfin, la suppression de l'expression de Lrp4 dans les myotubes C2C12 diminue à la fois la liaison de l'agrine nerveuse, l'activation de MuSK par l'agrine, et la formation d'agrégats de RACH. En conclusion, l'ensemble de ces observations indique que Lrp4 est un co-récepteur de l'agrine nécessaire à la signalisation de MuSK et au recrutement du RACH.

Nouvelles perspectives

Les résultats de ces deux études sont importants à plusieurs titres ; non seulement ils confirment l'existence d'un co-récepteur de l'agrine nécessaire à la différenciation synaptique, mais ils rendent compte d'un certain nombre d'observations jusqu'ici difficiles à interpréter. En effet, durant le développement, quand l'axone moteur entre en contact avec la fibre musculaire, MuSK est activé indépendamment de l'agrine dans la future zone neurale où les premiers agrégats de RACH apparaissent [9]. Ce « pré-patterning » est sensible à la quantité de MuSK dans la fibre ainsi qu'à Lrp4. L'auto-association de Lrp4 et de MuSK, qui conduit à leur *trans*-phosphorylation et à l'activation de MuSK en l'absence de ligand explique pourquoi la présence de

l'agrine n'est pas requise dans les premières étapes de recrutement du RACH. L'identification de Lrp4 apporte aussi des clés pour comprendre le mécanisme par lequel l'agrine agrège les RACH. Lrp4 peut en effet réguler l'activité de MuSK en favorisant son auto-dimérisation. Lrp4 pourrait aussi, *via* son motif NPXY juxta-membranaire, être impliqué dans le recrutement d'adaptateurs cytoplasmiques contenant un domaine PTB (*phosphotyrosine binding*) tel DOK-7, essentiel à la différenciation synaptique [10].

Enfin, la découverte de Lrp4 soulève la possibilité d'une participation de la voie Wnt dans la formation de la JNM. Les lipoprotéines Wnt sont des molécules de signalisation sécrétées qui sont impliquées dans l'embryogenèse, en particulier dans la formation de la JNM chez la drosophile et le vers *C. elegans*. Les protéines Wnt lient les récepteurs Frizzled et Lrp5/6, puis mettent en jeu la protéine adaptatrice Dishevelled (Dvl) [11] qui interagit avec Frizzled pour déclencher la signalisation. De plus, plusieurs molécules de signalisation de la cascade Wnt, telles que APC (*adenomatous polyposis coli*) et β -caténine sont aussi, ainsi que Dvl, partenaires de la voie de signalisation de MuSK. Ainsi, bien qu'il ne soit pas établi que la voie Wnt soit directement impliquée dans la différenciation synaptique chez les mammifères et bien que Lrp4 ne lie pas Wnt-1, il demeure possible que la voie

de signalisation Agrine-Lrp4-MuSK soit régulée par un ligand de la voie Wnt qui pourrait interagir avec Lrp4 ou MuSK (qui contient un motif Frizzled). Ces questions ouvrent de nouvelles voies de recherches non seulement dans le mécanisme de recrutement du RACH à la JNM, mais aussi dans le cadre des synapses du système nerveux central. ♦

LRP4: the coreceptor for Agrin identified at last?

RÉFÉRENCES

1. Sanes JR, Lichtman JW. Induction, assembly, maturation and maintenance of a postsynaptic apparatus. *Nat Rev Neurosci* 2001 ; 2 : 791-805.
2. Gautam M, Noakes PG, Moscoso L, et al. Defective neuromuscular synaptogenesis in agrin-deficient mutant mice. *Cell* 1996 ; 85 : 525-35.
3. Glass DJ, Bowen DC, Stitt TN, et al. Agrin acts via a MuSK receptor complex. *Cell* 1996 ; 85 : 513-23.
4. Engel AG, Shen XM, Selcen D, Sine SM. Further observations in congenital myasthenic syndromes. *Ann NY Acad Sci* 2008 ; 1132 : 104-13.
5. Strohlic L, Cartaud A, Cartaud J. The synaptic muscle-specific kinase (MuSK) complex: new partners, new functions. *Bioessays* 2005 ; 27 : 1129-35.
6. Kim N, Stiegler AL, Cameron TO, et al. Lrp4 is a receptor for agrin and forms a complex with MuSK. *Cell* 2008 ; 135 : 334-42.
7. Zhang B, Luo S, Wang Q, et al. LRP4 serves as a coreceptor of agrin. *Neuron* 2008 ; 60 : 285-97.
8. Weatherbee SD, Anderson KV, Niswander LA. LDL-receptor related protein 4 is crucial for formation of the neuromuscular junction. *Development* 2006 ; 133 : 4993-5000.
9. Kummer TT, Misgeld T, Sanes JR. Assembly of the postsynaptic membrane at the neuromuscular junction: paradigm lost. *Curr Opin Neurobiol* 2006 ; 16 : 74-82.
10. Okada K, Inoue A, Okada M, et al. The muscle protein DOK-7 is essential for neuromuscular synaptogenesis. *Science* 2006 ; 312 : 1802-5.
11. Luo Z, Wang Q, Zhou J, et al. Regulation of AChR clustering by dishevelled interacting with MuSK and PAK1. *Neuron* 2002 ; 35 : 489-505.

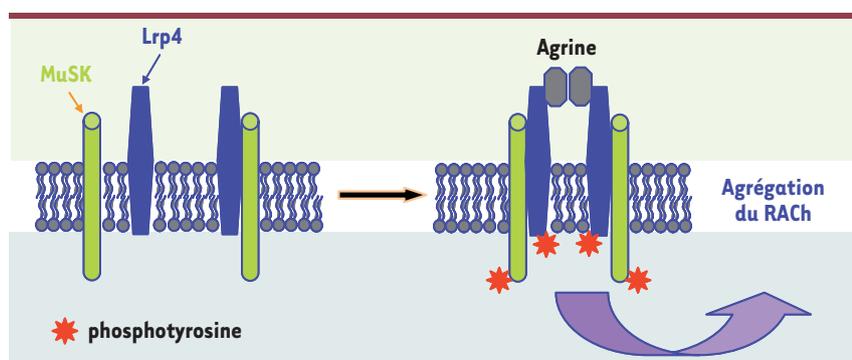


Figure 1. Modèle illustrant les interactions entre Lrp4, MuSK et agrine. En l'absence d'agrine, MuSK et Lrp4 sont capables de s'associer. L'interaction est accrue par l'agrine, ce qui entraîne leur *trans*-phosphorylation (*). Une fois phosphorylé, MuSK active une cascade de signalisation [5] conduisant au recrutement des RACH et à la différenciation synaptique. La représentation dimérique de MuSK est hypothétique, une oligomérisation du complexe est aussi possible (modifié d'après [6, 7]).