

médecine/sciences 1997; 13: 104-6

Neurobiologie: signaux et maladies

Tous les processus de transmission des signaux sont à l'œuvre dans le fonctionnement du plus complexe des organes, le cerveau. Des tyrosine kinases jouent ainsi un rôle important, au cours du développement, dans la plasticité et les fonctions du système nerveux. La FAK (focal adhesion kinase) semble, par exemple, couplée à la stimulation des récepteurs inhibant l'adénylyl cyclase (tel le récepteur des cannabinoïdes) ou stimulant la protéine kinase C (tels les récepteurs du glutamate). Stimulée, cette kinase va transmettre le signal d'activation par l'intermédiaire de plusieurs voies, dont celle des MAP kinases, Erk1 et Erk2, qui phosphorylent, notamment, la sérine-thréonine kinase p90^{sk}; le déficit de celle-ci est la cause du syndrome de Coffin-Loury, caractérisé par un retard mental et des malformations. L'action de la p90° semble, en partie, relayée par la formation d'un complexe avec les co-activateurs transcriptionnels CBP/p300. Or, le gène CBP est muté dans la maladie de Rubinstein-Taybi, associant elle aussi malformations et retard mental. Un autre exemple d'affection neurologique liée probablement à une anomalie de signalisation est la maladie d'Alzheimer familiale avec mutation d'un des gènes de préséniline; ces protéines pourraient régler le cheminement et la maturation intracellulaire du précurseur du peptide βamyloïde, aboutissant à son accumulation.

Activité nerveuse, neurotransmetteurs et phosphorylation de protéines sur tyrosine: un rôle pour FAK et PYK2/CAKβ dans le cerveau ?

La stimulation de la phosphorylation de protéines sur tyrosine est le mode d'action maintenant bien établi de nombreux facteurs de croissance, hormones et cytokines. Les récepteurs de ces polypeptides possèdent un domaine intracytoplasmique doté d'activité tyrosine kinase, ou capable d'interagir avec des tyrosine kinases cytoplasmiques. L'autophosphorylation de ces kinases permet le recrutement de nombreuses protéines de transmission du signal possédant des domaines SH2 (Src homology 2) ou PTB (phosphotyrosine binding), capables de se lier spécifiquement à certaines régions peptidiques phosphorylées sur tyrosine (m/s n° 6-7, vol. 10, p. 709) [1]. L'activation directe ou indirecte de plusieurs voies de transmission du signal en découle, impliquant, par exemple, la phospholipase C, la phosphatidyl-inositol-3-kinase (PI3-kinase) ou la cascade Ras/Raf/MAP-kinase: elle aboutit, notamment, à l'activation de la transcription de certains gènes. Ces signaux contrôlent la différenciation et la division des cellules eucaryotes, et leur dérèglement est impliqué dans la cancérogenèse. De ce fait, l'étude de la phosphorylation de protéines sur tyrosine a été longtemps négligée dans les neurones mûrs qui sont des cellules différenciées ayant définitivement cessé de se diviser. Toutefois, des travaux récents ont montré que la phosphorylation des protéines sur tyrosine, outre son

rôle clé dans la régulation de la différenciation neuronale, de la croissance neuritique et de la synaptogenèse, joue également un rôle important dans les neurones différenciés. En effet, l'activité de plusieurs protéines neuronales bien caractérisées est modulée par phosphorylation sur tyrosine. Il s'agit des canaux K+ Kv 1.2 [2] et Kv 1.3 [3], des récepteurs GABA-A [4] et des récepteurs du glutamate de type NMDA [5]. De plus la phosphorylation de protéines sur tyrosine semble nécessaire à l'établissement de la potentialisation à long terme (LTP), un modèle très étudié de plasticité synaptique (m/s n° 8, vol. 6, p. 824) [6]. En revanche, les mécanismes de régulation des tyrosine kinases et des tyrosine phosphatases dans les neurones sont très mal connus.

Nous avons mis en évidence la régulation de deux tyrosine kinases cytoplasmiques par des stimulus liés à l'activité nerveuse dans l'hippocampe, une région du cerveau impliquée dans les processus de mémorisation. Ces deux tyrosine kinases, la focal adhesion kinase (FAK*) et la proline-rich tyrosine kinase 2 (PYK2), aussi appelée cell adhesion kinase β (CAK β), présentent des séquences très voisines [7-10]. La première, FAK, transmettrait aux cellules non neuronales

^{*} Aussi appelée pp125-FAK ou p125-FAK.

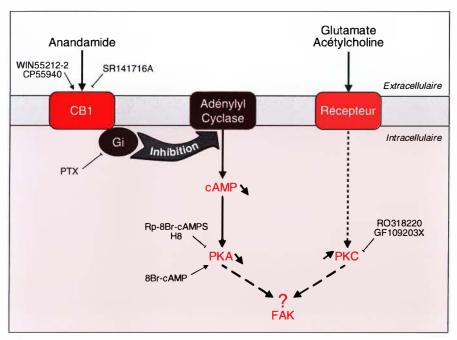


Figure 1. Interprétation schématique des effets de l'anandamide et du glutamate sur l'augmentation de phosphorylation de FAK. L'anandamide stimule les récepteurs CB1 des cannabinoïdes. Cette stimulation est mimée par des agonistes spécifiques de ces récepteurs tels que le WIN 55212-2 ou le CP 55940, et supprimée en présence d'un antagoniste spécifique, le SR 141716A. L'activation des récepteurs CB1 stimule une protéine G inhibitrice de l'adénvlvl cyclase (Gi) sensible à la toxine de Bordetella pertussis (PTX). La diminution de production d'AMP cyclique qui en résulte diminue l'activité de la protéine kinase A (PKA). Cette interprétation repose sur le fait que le 8BrcAMP, un analogue de l'AMP cyclique capable de pénétrer dans les cellules, inhibe les effets de l'anandamide. De plus, deux inhibiteurs de la PKA, le Rp-8Br-cAMPS et le H8, miment les effets de l'anandamide sur la phosphorylation de FAK. Le mécanisme par lequel la PKA règle la phosphorylation de FAK reste à élucider, il pourrait impliquer la stimulation d'une tyrosine phosphatase ou, alternativement, l'inhibition d'une tyrosine kinase. Le glutamate et l'acétylcholine stimulent eux aussi la phosphorylation sur tyrosine de FAK, mais par un mécanisme différent. Ces deux neurotransmetteurs semblent agir par l'intermédiaire d'une activation de la protéine kinase C (PKC) puisque leurs effets sont bloqués par deux inhibiteurs de cette enzyme, le RO318220 et le GF109203X. Le point d'interrogation symbolise notre ignorance des mécanismes par lesquels la PKA et la PKC modifient la phosphorylation de FAK.

les signaux engendrés par le contact des intégrines avec la matrice extracellulaire (m/s n° 3, vol. 11, p. 391) [11]. La tyrosine autophosphorylée de FAK interagit fortement avec le domaine SH2 de Src et de Fyn, deux autres tyrosine kinases cytoplasmiques, qui phosphorylent à leur tour des résidus tyrosine de la région carboxy-terminale de FAK, permettant le recrutement de protéines de transmission intracellulaire du signal, comme PI3-kinase et Grb2. Ainsi,

FAK pourrait, d'une part, moduler les interactions entre les microfilaments d'actine et certaines protéines membranaires et, d'autre part, entraîner certains effets proches de ceux observés en réponse aux facteurs de croissance. La deuxième tyrosine kinase dont la phosphorylation est augmentée dans les tranches d'hippocampe par certains traitements pharmacologiques, PYK2/CAKβ, a été précédemment mise en évidence dans les cellules PC12 [9]. Dans ces cel-

lules, PYK2/CAKβ, qui est stimulée par la dépolarisation, l'acétylcholine et la bradykinine, peut phosphoryler les canaux K⁺ Kv 1.2 et activer la cascade des MAP-kinases [9].

Dans les tranches d'hippocampe de rat, nous avons montré que la phosphorylation sur tyrosine de FAK est fortement augmentée par plusieurs neurotransmetteurs et par l'anandamide (figure 1), un messager intercellulaire récemment découvert, probablement impliqué dans la neurotransmission. L'anandamide est, en effet, un dérivé lipidique de l'éthanolamine (arachidonyléthanolamide) libéré par les neurones sous l'effet de l'influx de calcium [12]. Cette molécule est un ligand endogène des récepteurs cannabinoïdes centraux CB1 qui sont le site d'action du principe actif du haschisch et de la marijuana, le Δ-9-tétrahydrocannabinol $(m/s \ n^{\circ}8, \ vol. \ 12, \ p. \ 824)$ [13]. Les récepteurs CB1 sont couplés négativement à l'adénylyl cyclase par une protéine Gi. L'anandamide stimule la phosphorylation de FAK sur tyrosine dans les tranches d'hippocampe, et cet effet est relayé par l'inhibition de l'adénylyl cyclase et de la protéine kinase activée par l'AMP cyclique [14]. La phosphorylation de FAK sur tyrosine, dans les tranches d'hippocampe, est également augmentée par la stimulation des récepteurs ionotropiques et métabotropiques du glutamate [15], ainsi que par celle des récepteurs muscariniques de l'acétylcholine (résultats non publiés). Dans ce cas, les voies d'activation mettent en jeu essentiellement la protéine kinase C. En revanche, aucun des récepteurs capables de stimuler la phosphorylation de FAK dans les tranches d'hippocampe n'a d'effet sur celle de PYK2/CAKβ, qui répond électivement à la dépolarisation et à l'influx calcique qui en résulte [15].

La régulation spécifique de la phosphorylation de ces deux tyrosine kinases pourrait constituer une étape importante dans la régulation des canaux et des récepteurs qui sont phosphorylés sur tyrosine dans le système nerveux. Elle pourrait également être impliquée dans les cascades de transmission du signal contrôlant la différenciation et la survie neuro-

BRÈVES BREVES

nale. L'anandamide, les acides aminés excitateurs ou d'autres neurotransmetteurs, entraînant tous une augmentation de la phosphorylation de FAK, celle-ci pourrait constituer un mécanisme commun permettant à ces facteurs de moduler la plasticité synaptique et la trophicité neuronale.

M.T. P.D. J.-A.G.

1. Pawson T. Protein modules and signalling networks. *Nature* 1995; 373: 573-80.

2. Huang XY, Morielli AD, Peralta EG. Tyrosine kinase-dependent suppression of a potassium channel by the G protein-coupled m1 muscarinic acetylcholine receptor. *Cell* 1993; 75: 1145-56.

3. Holmes TC, Fadool DA, Levitan DA. Tyrosine phosphorylation of the Kv1.3 potassium channel. *J Neurosci* 1996; 16: 1581-90.

4. Moss SJ, Gorrie GH, Amato A, Smart TG. Modulation of GABA-A receptors by tyrosine phosphorylation. *Nature* 1995; 377: 344-8.

5. Wang YT, Salter MW. Regulation of NMDA receptors by tyrosine kinases and phosphatases. *Nature* 1994; 369: 233-5.

6. O'Dell TJ, Kandel ER, Grant SGN Long-term potentiation in the hippocampus is blocked by tyrosine kinase inhibitors. *Nature* 1991; 353: 558-60.

7. Schaller MD, Borgman CA, Cobb BS, Vines RR, Reynolds AB, Parsons JT. pp125-FAK, a structurally distinctive protein-tyrosine kinase associated with focal adhesions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 5192-6.

8. Hanks SK, Calalb MB, Harper MC, Patel SK. Focal adhesion protein-tyrosine kinase phosphorylated in response to cell attachment to fibronectin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 8487-91.

9. Lev S, Moreno H, Martinez R, Canoll P, Peles E, Musachio JM, Plowman GD, Rudy B, Schlessinger J. Protein tyrosine kinase PYK2 involved in Ca²⁺-induced regulation of ion channel and MAP kinase functions. *Nature* 1995; 376: 737-45.

10. Sasaki H, Nagura K, Ishino M, Tobioka H, Kotani K, Sasaki T. Cloning and characterization of cell adhesion kinase β , a novel protein-tyrosine kinase of the focal adhesion kinase subfamily. *J Biol Chem* 1995; 270: 21206-19.

11. Schaller MD. The focal adhesion kinase. *J Endocrinol* 1996; 150: 1-7.

12. Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, Schinelli S, Cimino G, Schwartz JC, Piomelli D. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature* 1994; 372: 686-91. 13. Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 1992; 258: 1946-9.

14. Derkinderen P, Toutant M, Burgaya F, Le Bert M, Siciliano JC, de Franciscis V, Gelman M, Girault JA. Regulation of a neuronal form of focal adhesion kinase by anandamide. *Science* 1996; 273: 1719-22. 15. Siciliano JC, Toutant M, Derkinderen P, Sasaki T, Girault JA. Differential regulation of PYK2/CAKβ and ppl25-FAK by glutamate and depolarization in rat hippocampus. *J Biol Chem* 1996 (sous presse).

Pathogénie de la maladie d'Alzheimer avec mutation de la préséniline-l: accumulation accélérée du peptide β-amyloïde. Les plaques séniles, caractéristiques de la maladie d'Alzheimer, sont avant tout formées d'un dépôt de peptide amyloïde lié à un clivage particulier du précurseur, aboutissant au peptide Aβ42 [1]. Par ailleurs, il existe des formes familiales de maladie d'Alzheimer, de survenue précoce, liées à des mutations touchant les gènes des présénilines 1 et 2, protéines à sept passages transmembranaires et aux fonctions inconnues $(m/s \ n^{\circ} 11, vol. 11, p. 1610)$. Quelles relations y a-t-il entre l'accumulation du peptide β-amyloïde de type Aβ42 et ces mutations de protéines membranaires? Deux articles récemment publiés dans Nature Medicine et dans Nature s'accordent sur une même réponse: la préséniline-1 mutante semble se comporter comme une protéine capable de favoriser l'accumulation du peptide amyloïdogène Aβ42. Dans le premier article, Lemere et al. montrent, par des techniques immunohistologiques classiques, que quatre malades avec la mutation transformant l'acide glutamique 280 en alanine dans la préséniline-l accumulent des dépôts de peptide Aβ42 [2]. De manière encore plus démonstrative, K. Duff et al. confirment que ce mutant est doué par lui-même d'un pouvoir amyloïdogène [3]. En effet, ces auteurs ont créé des souris transgéniques exprimant, sous le contrôle des régions régulatrices du gène du PDGF, des

constructions codant pour des présénilines normales ou mutées. Ici, les deux mutations testées touchent la méthionine 146, remplacée une fois par une leucine et une autre fois par une valine [3]. Les lignées de souris transgéniques exprimant le gène muté accumulent de manière anormale le peptide Aβ42 alors que la quantité du peptide Aβ40, non lié à la maladie d'Alzheimer, n'est pas modifiée. La mutation de la préséniline-1 semble donc aboutir à une augmentation de la production de Aβ42 qui pourrait être la cause directe du développement de la maladie d'Alzheimer. Les relations entre les présénilines et la maturation protéolytique du précurseur APP du peptide amyloïde ne sont pas connues. Cependant, les présénilines, qui sont associées aux membranes de l'appareil de Golgi, semblent similaires à deux protéines de C. elegans, Sel-12 et Spe-4. Cette dernière protéine paraît jouer un rôle dans l'acheminement des protéines entre les différents compartiments du Golgi au cours de la spermatogenèse du nématode *C. elegans*. Les présénilines interviennent-elles également dans le «routage» de la protéine APP et de ses dérivés protéolytiques dans le Golgi?

[1. Octave J, et al. Med Sci 1995; 11: 1251-9.]

[2. Lemere CA, et al. Nature Med 1996; 2: 1146-50.]

[3. Duff K, et al. Nature 1996; 383: 710-3.]





Institut fédératif de recherche Cellules épithéliales Inserm – Université Paris 7 Denis Diderot – CHU X. Bichat

Interactions structurales et fonctionnelles entre les cellules épithéliales et la matrice extracellulaire : rôle des protéines d'adhésion

Paris, 23-24 avril 1997

Pour plus d'information, contacter E. Giesen au 01 44 85 63 97, télécopieur: 01 44 85 63 98, e-mail: colloque@bichat.inserm.fr.