

RÉFÉRENCES

- Tran DQ, Andersson J, Wang R, *et al.* GARP (LRRC32) is essential for the surface expression of latent TGF- β on platelets and activated FOXP3+ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009 ; 106 : 13445-50.
- Cuende J, Liénart S, Dedobbeleer O, *et al.* Monoclonal antibodies against GARP/TGF- β 1 complexes inhibit the immunosuppressive activity of human regulatory T cells in vivo. *Sci Transl Med* 2015 ; 7 : 284ra56.
- Piccirillo CA, Letterio JJ, Thornton AM, *et al.* CD4(+)CD25(+) regulatory T cells can mediate suppressor function in the absence of transforming growth factor β 1 production and responsiveness. *J Exp Med* 2002 ; 196 : 237-46.
- Marie JC, Liggitt D, Rudensky AY. Cellular mechanisms of fatal early-onset autoimmunity in mice with the T cell-specific targeting of transforming growth factor- β receptor. *Immunity* 2006 ; 25 : 441-54.
- Li MO, Wan YY, Flavell RA. T cell-produced transforming growth factor- β 1 controls T cell tolerance and regulates Th1- and Th17-cell differentiation. *Immunity* 2007 ; 26 : 579-91.
- Simpson TR, Li F, Montalvo-Ortiz W, *et al.* Fc-dependent depletion of tumor-infiltrating regulatory T cells co-defines the efficacy of anti-CTLA-4 therapy against melanoma. *J Exp Med* 2013 ; 210 : 1695-710.
- Siri A, de Boysson H, Boursier G. Actualité sur les lymphocytes T régulateurs CD4⁺. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 646-51.

NOUVELLE

Trafic cellulaire des récepteurs GABA_B vers la membrane : PRAF2, un nouveau point de contrôle

Stéphane Doly, Stefano Marullo

Institut Cochin, Inserm U1016, CNRS UMR8104, université Paris Descartes, 27 rue du faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

stefano.marullo@inserm.fr

► Les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG), dont on compte plusieurs centaines de membres, représentent la plus grande famille de récepteurs membranaires¹ [17]. Ils sont impliqués dans de nombreux processus pathologiques et représentent actuellement environ 30 % des cibles thérapeutiques médicamenteuses.

Les signaux résultant de l'activation des RCPG, et par conséquent leurs effets physiologiques, dépendent de leur densité à la surface cellulaire et de leur adressage dans des régions spécifiques de la membrane plasmique telles que les synapses pour les cellules neuronales. La plupart des données actuelles sur le trafic cellulaire des RCPG concernent leur internalisation (par endocytose) après qu'ils aient été activés par leurs ligands agonistes, leur recyclage ou leur orientation vers la voie de dégradation lysosomiale. En revanche, les mécanismes qui régulent l'export de ces récepteurs des compartiments de biosynthèse vers la surface cellulaire, sont beaucoup moins bien connus. En effet, il est généralement admis que les RCPG nouvellement synthétisés sont localisés dans des vésicules qui fusionnent avec la membrane plasmique sans contrôle

particulier (voie de sécrétion non régulée). Cependant, de nombreuses observations indiquent que le trafic de ces récepteurs vers la surface cellulaire pourrait être régulé par des interactions avec certaines protéines et par des signaux extra-cellulaires. Des études récentes démontrent que pour de nombreux RCPG, une proportion importante des récepteurs est retenue dans des compartiments intracellulaires comme le réticulum endoplasmique (RE) ou l'appareil de Golgi [1]. Ces « réserves » peuvent être mobilisables vers la membrane plasmique en réponse à une stimulation physiologique qui nécessite une augmentation rapide de la réceptivité cellulaire [2, 3]. De plus, dans des expériences d'expression des RCPG dans des cellules modèles ne les exprimant pas naturellement (expression hétérologue), il a été montré que beaucoup d'entre eux nécessitent une association à des protéines d'escorte ou à des chaperons moléculaires pour être correctement exprimés à la surface. Les récepteurs olfactifs en sont un des exemples les plus connus et cette caractéristique a pendant longtemps empêché leur étude fonctionnelle *in vitro* [1]. Dans plusieurs pathologies humaines, comme le diabète insipide néphrogénique, la rétinite pigmentaire, l'obésité ou l'hypogonadisme, des mutations somatiques des RCPG [4] ou

de protéines nécessaires à leur maturation [5], sont à l'origine d'un excès de rétention dans les compartiments intracellulaires. Ce défaut s'accompagne d'une altération de la réceptivité à la surface des cellules qui est directement responsable des effets pathologiques observés. Ces récepteurs séquestrés sont cependant potentiellement fonctionnels. Leur capacité de signalisation peut en effet être récupérée sous l'action de chaperons pharmacologiques, capables de franchir les membranes cellulaires et de se lier à eux pour favoriser leur adressage en surface [6, 7].

Un des RCPG les plus étudiés comme modèle de rétention intracellulaire est la sous-unité GB1 du récepteur métabotropique GABA_B. Le GABA (acide gamma-amino butyrique) est le principal neuromédiateur inhibiteur du cerveau. Il contrôle de nombreuses fonctions sensorimotrices et cognitives. Les récepteurs GABA_B sont des hétérodimères obligatoires composés de deux sous unités GB1 et GB2. Dans l'hétérodimère, GB1 lie le GABA, tandis que GB2 est responsable de l'activation de la protéine G ; en absence de formation de l'hétérodimère, il ne peut donc pas avoir de récepteurs GABA_B fonctionnels. La sous-unité GB1, exprimée seule, est retenue de manière constitutive dans le réticulum endoplasmique. Elle n'est libérée puis adres-

¹ Voir le numéro thématique consacré à ces récepteurs RCPG, *m/s* n° 10, vol. 28, octobre 2012.



sée vers la surface cellulaire que lors de son association avec GB2 [8]. Un signal de rétention de type RXR (arginine, *acide aminé indifférent*, arginine), présent au niveau de la queue cytoplasmique de GB1, doit être masqué après interaction avec GB2 pour permettre la libération de l'hétérodimère GABA_B et son adressage vers la membrane plasmique. Ainsi, la mutation ou la délétion de ce motif, induisent une expression constitutive de GB1 à la surface cellulaire, indépendamment de la présence de GB2 [9]. Cependant, un des aspects de cette mécanistique de rétention de GB1 manquait : l'identification du partenaire moléculaire retenant GB1 au niveau du réticulum endoplasmique.

Nous avons récemment identifié ce partenaire. Il s'agit de PRAF2 (*prenylated rab acceptor domain family member 2*, aussi connue sous le nom de JM4), une protéine déjà connue mais dont la fonction biologique précise n'avait pas encore été découverte [10]. PRAF2 est un membre de la famille PRAF. Ces protéines, possédant 4 domaines transmembranaires, sont locali-

sées principalement dans l'appareil de Golgi (PRAF1) ou le réticulum endoplasmique (PRAF2 et 3). PRAF1 a été caractérisée comme l'homologue de la protéine de levure Yip3, qui est impliquée dans le transport vésiculaire [11]. Dans le système nerveux central, PRAF1 interagit avec Piccolo, une protéine pré-synaptique des neurones de l'hippocampe [12]. PRAF3 (aussi connue sous les noms de JWA, GTRAP-3-18 ou Arl6-IP5) a été initialement décrite comme un régulateur négatif de l'expression de surface du transporteur du glutamate EAAC1 [13].

PRAF2 interagit avec la sous-unité GB1 de GABA_B, au niveau du motif RXR. Nous avons montré que la surexpression de PRAF2 dans les neurones de l'hippocampe empêchait l'expression des récepteurs GABA_B au niveau de la membrane plasmique. GB1 s'accumule dans le réticulum endoplasmique, PRAF2 s'opposant à sa libération induite par GB2. La variation d'expression de surface du récepteur qui en résulte, dans le cas d'une expression exogène de PRAF2, est corrélée à un effet fonctionnel marqué. Ainsi, les neu-

rones exprimant plus (par expression exogène) ou moins (par interférence ARN) de PRAF2, sont respectivement moins, ou plus, sensibles aux agonistes du GABA_B (Figure 1). De façon remarquable, la surexpression de PRAF2 dans un noyau moteur du cerveau (l'aire tegmentale ventrale) induit un comportement hyperactif chez les souris, dû à une diminution de récepteurs GABA_B à la surface des neurones dopaminergiques ; en l'absence de récepteurs GABA_B inhibiteurs, l'effet moteur dopaminergique est libéré [10]. Ce changement comportemental n'est pas sans rappeler celui observé chez les enfants hyperactifs. Il est d'ailleurs intéressant de noter que l'hyperactivité des souris surexprimant PRAF2 est également normalisée, comme chez les enfants hyperactifs, par l'amphétamine ou le méthylphénidate (Ritaline®) (données non publiées). Il est probable que les variations d'expression de PRAF2 soient associées à d'autres maladies humaines impliquant les récepteurs GABA_B. La présence de PRAF2 est notamment diminuée chez des patients alcooliques [14] ou dans un modèle de rats génétiquement sélectionnés pour leur préférence de l'alcool (données non publiées). Cette diminution a été observée dans l'hippocampe, une structure du cerveau impliquée dans la mémoire et l'apprentissage, dont le dysfonctionnement peut conduire à des comportements compulsifs. Il est donc possible que la diminution de PRAF2 dans cette structure soit à l'origine de l'augmentation de l'expression de surface des récepteurs GABA_B dans les neurones et participe aux modifications comportementales pouvant conduire à un excès de consommation d'alcool² [18] (→). Inversement, du fait de l'absence d'inhibition tonique exercée par les récepteurs GABA_B sur les neurones, la surexpression de PRAF2 dans cette même structure pourrait induire des crises spontanées d'épilepsie ou d'anxiété [15, 16]. De nombreuses mutations ponctuelles non synonymes (*i.e.* avec chan-

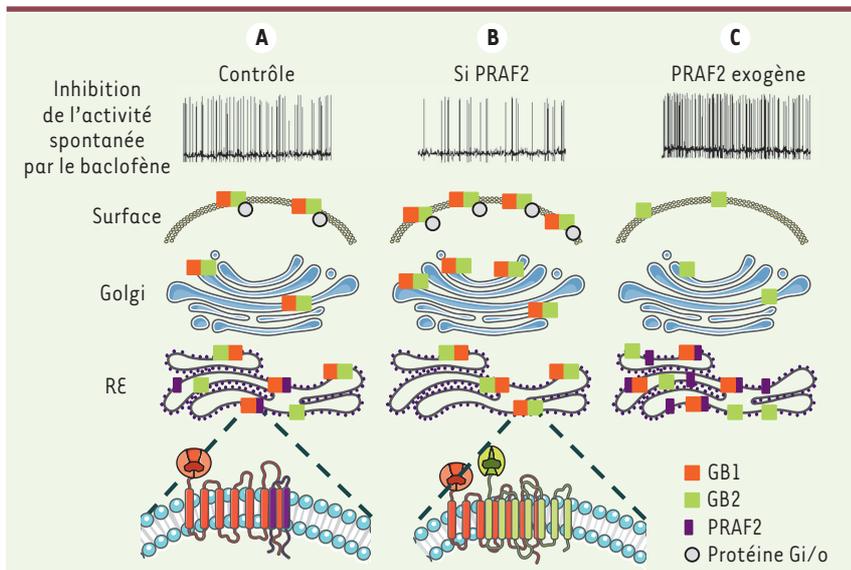


Figure 1. La rétention et la libération de GB1 sont régulées par l'expression relative de PRAF2 et de GB2. **A.** Dans les neurones de l'hippocampe, PRAF2 et GB2 sont en compétition pour la liaison à GB1. L'hétérodimérisation de GB1 avec PRAF2 maintient la sous-unité dans le réticulum endoplasmique (RE) alors que l'association avec GB2 permet l'expression de surface d'un récepteur GABA_B fonctionnel (GB1+GB2). L'inhibition de l'expression de PRAF2 par interférence ARN (siPRAF2, **B**) ou sa surexpression par production exogène (**C**) modifie la concentration des récepteurs GABA_B à la surface des neurones. Ainsi, les neurones deviennent respectivement plus sensibles (**B**) ou moins sensibles (**C**) au baclofène, un agoniste GABA_B, qui inhibe l'activité neuronale spontanée.

² Voir la série *Addictions* (en cours) dont la parution a débuté dans le n° 4, vol. 31, avril 2015 (www.medecine-sciences.org).

(→) Voir la Nouvelle d'A. Guyon, *m/s* n° 1, janvier 2014, page 9

gement d'acide aminé) de PRAF2 ont été répertoriées dans les bases de données, notamment dans les régions d'interaction avec Gβ1 (domaines amino- et carboxy-terminaux de PRAF2), mais leurs conséquences fonctionnelles ou leurs relations avec une maladie n'ont pas encore été étudiées. PRAF2 est une protéine ubiquitaire. Elle régule vraisemblablement, par le même mécanisme de rétention, d'autres récepteurs couplés aux protéines G. Il est donc possible que cette protéine soit impliquée dans des maladies humaines associées à un mauvais adressage de récepteurs à la surface cellulaire. Elle représente, de ce fait, une nouvelle cible thérapeutique. ♦

PRAF2, an endoplasmic reticulum gatekeeper, controls the cell-surface export of the GABA_B receptor in neurons

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Achour L, Labbe-Jullic C, Scott MG, Marullo S. An escort for GPCRs: implications for regulation of receptor density at the cell surface. *Trends Pharmacol Sci* 2008 ; 29 : 528-35.
- Achour L, Scott MG, Shirvani H, et al. CD4-CCR5 interaction in intracellular compartments contributes to receptor expression at the cell surface. *Blood* 2009 ; 113 : 1938-47.
- Shirvani H, Achour L, Scott MG, et al. Evidence for internal stores of CCR5 in blood cells. *Blood* 2011 ; 118 : 1175-6.
- Conn PM, Ulloa-Aguirre A, Ito J, Janovick JA. G protein-coupled receptor trafficking in health and disease: lessons learned to prepare for therapeutic mutant rescue in vivo. *Pharmacol Rev* 2007 ; 59 : 225-50.
- Metherell LA, Chapple JP, Cooray S, et al. Mutations in MRAP, encoding a new interacting partner of the ACTH receptor, cause familial glucocorticoid deficiency type 2. *Nat Genet* 2005 ; 37 : 166-70.
- Bernier V, Bichet DG, Bouvier M. Pharmacological chaperone action on G-protein-coupled receptors. *Curr Opin Pharmacol* 2004 ; 4 : 528-33.
- Mendre C, Mouillac B. Chaperons pharmacologiques. Un espoir thérapeutique pour les pathologies conformationnelles. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 627-35.
- Marshall FH, Jones KA, Kaupmann K, Bettler B. GABA_B receptors – the first 7TM heterodimers. *Trends Pharmacol Sci* 1999 ; 20 : 396-9.
- Couve A, Filippov AK, Connolly CN, et al. Intracellular retention of recombinant GABA_B receptors. *J Biol Chem* 1998 ; 273 : 26361-7.
- Doly S, Shirvani H, Gáta G, et al. GABA_B receptor cell-surface export is controlled by an endoplasmic reticulum gatekeeper. *Mol Psychiatry* 2015, June 2. doi: 10.1038/mp.2015.1072.
- Sivars U, Aivazian D, Pfeffer SR. Yip3 catalyses the dissociation of endosomal Rab-GDI complexes. *Nature* 2003 ; 425 : 856-9.
- Fenster SD, Chung WJ, Zhai R, et al. Piccolo, a presynaptic zinc finger protein structurally related to bassoon. *Neuron* 2000 ; 25 : 203-14.
- Lin CI, Orlov I, Ruggiero AM, et al. Modulation of the neuronal glutamate transporter EAAC1 by the interacting protein GTRAP3-18. *Nature* 2001 ; 410 : 84-8.
- Enoch MA, Baghal B, Yuan Q, Goldman D. A factor analysis of global GABAergic gene expression in human brain identifies specificity in response to chronic alcohol and cocaine exposure. *PLoS One* 2013 ; 8 : e64014.
- Schuler V, Luscher C, Blanchet C, et al. Epilepsy, hyperalgesia, impaired memory, and loss of pre- and postsynaptic GABA(B) responses in mice lacking GABA(B[1]). *Neuron* 2001 ; 31 : 47-58.
- Mombereau C, Kaupmann K, Froestl W, et al. Genetic and pharmacological evidence of a role for GABA(B) receptors in the modulation of anxiety- and antidepressant-like behavior. *Neuropsychopharmacology* 2004 ; 29 : 1050-62.
- Galzi JL, Ilien B. Les récepteurs couplés aux protéines G. Des régulateurs allostériques du métabolisme cellulaire. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 852-7.
- Guyon A. Le baclofène est un modulateur allostérique du récepteur CXCR4. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 9-12.

NOUVELLE

Coactivation d'AMPK et de mTORC1

Exemple d'application thérapeutique de la létalité synthétique dans les leucémies aiguës myéloïdes

Jérôme Tamburini¹, Laury Poulain¹, Didier Bouscary¹, Pierre Sujobert^{1,2}

> Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) ont pour origine la transformation de cellules souches ou de progéniteurs hématopoïétiques. Il en résulte un blocage de la différenciation et une prolifération de cellules immatures (blastes) qui provoquent un déficit de l'hématopoïèse (anémie, thrombopénie et/ou neutropénie) et/ou un syndrome tumoral. Peu de progrès ont été réalisés dans la prise en

charge thérapeutique de ces maladies. Chez les sujets les plus jeunes, plusieurs chimiothérapies intensives sont associées et, lorsqu'un donneur compatible est identifié, une greffe de cellules souches hématopoïétiques est pratiquée. Dans la majorité des cas, l'âge du patient ou la présence de comorbidités contre-indiquent les chimiothérapies intensives, le traitement est alors palliatif.

¹Inserm U1016, institut Cochin, 22, rue Méchain, 75014 Paris, France ; CNRS UMR8104, 75014 Paris, université Paris Descartes, faculté de médecine Sorbonne Paris Cité, 75005 Paris, France ; équipe labellisée ligue nationale contre le cancer (LNCC), 75013 Paris, France.

²Laboratoire d'hématologie, Hospices civils de Lyon, Université Claude Bernard, LBMC CNRS UMR 5239, 165, chemin du Grand Revoyet, 69495 Pierre-Bénite, France. jerome.tamburini@inserm.fr pierre.sujobert@chu-lyon.fr

Les LAM sont caractérisées par une grande hétérogénéité moléculaire, cytogénétique et phénotypique, ce qui complique le développement de thérapies ciblées. Cependant, elles ont en commun l'activation constitutive de voies de signalisation oncogénique, qui représentent donc une cible thérapeutique potentielle. Notre laboratoire s'intéresse plus particulièrement au complexe mTORC1 (*mammalian*