



loges périphériques [2]. Ce modèle s'appuie notamment sur le fait que la lésion des NSC entraîne une perte des rythmes périphériques, que l'activité rythmique des neurones des NSC s'amortit très peu en comparaison de celle de cellules ou tissus périphériques en culture, ou encore que la phase des oscillateurs périphériques est retardée par rapport à celle des oscillateurs des NSC.

En utilisant une approche génétique originale, une étude récente vient de remettre en cause ce concept de subordination des oscillateurs périphériques aux NSC, qui était progressivement devenu un dogme en chronobiologie [3]. Pour déterminer si la persistance de la rythmicité circadienne diffère fondamentalement entre les tissus périphériques et les NSC, l'équipe de J.S. Takahashi (USA) a produit des souris transgéniques dites «*knock-in*», en intégrant dans la région 3' du gène clé de l'horloge circadienne *Period2*, la séquence codante de la luciférase de manière à obtenir des animaux exprimant une protéine de fusion PERIOD2::LUCIFERASE dont l'expression rythmique permet de suivre l'activité de l'horloge par mesure de la luminescence en temps réel [4]. Les auteurs montrent que non seulement les NSC isolés à partir de ces souris, mais également des explants de tissus périphériques en culture, présentent une expression rythmique du gène rapporteur lucifé-

rase qui persiste pendant plus de 20 jours. Ces expériences ont de plus révélé des différences de période dans les tissus allant de 22 h pour la cornée à 25 h pour l'hypophyse, ainsi qu'une spécificité tissulaire de la phase. Les horloges périphériques seraient donc beaucoup plus autonomes qu'on ne le pensait. Afin de tester la possibilité de la persistance d'un signal émis par les NSC agissant sur les tissus mis en culture, les mêmes mesures ont été effectuées sur des tissus isolés à partir de souris ayant subi une lésion des NSC puis maintenues en obscurité constante pendant plusieurs semaines afin de supprimer toute perception de la rythmicité circadienne. L'équipe de J.S. Takahashi a ainsi fait une découverte surprenante en observant une rythmicité de la bioluminescence dans des organes cultivés *ex vivo* persistant pendant près de deux semaines aussi bien chez les souris lésées que chez les souris témoins. Dans les deux groupes, l'oscillation peut être stimulée après 14 jours par un simple changement de milieu. Cependant un phénomène de désynchronisation a été observé, entre les différents organes d'un même animal lésé ainsi qu'entre les cultures d'un même organe provenant de différents individus lésés. La contradiction entre ces résultats et ceux ayant montré la perte d'expression rythmique dans des conditions expérimentales similaires [5, 6] n'est probablement qu'apparente et peut

en grande partie s'expliquer par le fait que, dans cette étude, la stratégie utilisée permet une mesure longitudinale en temps réel, avec une très haute résolution temporelle, tandis que dans les travaux classiques, l'expression génique est mesurée de manière transversale chez des souris différentes sacrifiées toutes les quatre heures. Les auteurs postulent donc que les organes périphériques possèdent des oscillateurs auto-entretenus synchronisés de manière spécifique et que les NSC auraient finalement pour principal rôle de coordonner les oscillateurs des différents tissus périphériques plutôt que de les commander. ♦

No hierarchy in mammalian circadian system

RÉFÉRENCES

1. Delaunay F, Laudet V. Rythme circadien: des horloges périphériques dans les organes périphériques et dans des fibroblastes en culture. *Med Sci* 1998; 14:1114-7.
2. Hastings MH, Reddy AB, Maywood ES. A clockwork web: circadian timing in brain and periphery, in health and disease. *Nat Rev Neurosci* 2003; 4: 649-61.
3. Reppert SM, Weaver DR. Coordination of circadian timing in mammals. *Nature* 2002; 418:935-41.
4. Yoo SH, Yamazaki S, Lowrey P, et al. PERIOD2::LUCIFERASE real-time reporting of circadian dynamics reveals persistent circadian oscillations in mouse peripheral tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 5339-46.
5. Akhtar RA, Reddy AB, Maywood ES, et al. Circadian cycling of the mouse liver transcriptome, as revealed by cDNA microarray, is driven by the suprachiasmatic nucleus. *Cur Biol* 2002; 12: 540-50.
6. Terazono H, Mutoh T, Yamaguchi S, et al. Adrenergic regulation of clock gene expression in mouse liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 6795-800.

NOUVELLE

La sortiline : une protéine associée à de multiples fonctions

Jean Mazella, Jean-Pierre Vincent

> La sortiline est une protéine d'environ 100 kDa qui possède un seul domaine transmembranaire. Le nombre de partenaires auxquels cette protéine est capable de s'associer est impressionnant : d'abord la RAP (*receptor associated protein*), une

protéine de 40 kDa qui a servi à purifier et à cloner pour la première fois le gène codant pour la sortiline [1]. Puis, la neurotensine (NT), un neuropeptide de 13 acides aminés grâce auquel nous avons purifié par chro-

Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS UMR 6097, 660, route des Lucioles, Sophia Antipolis, 06560 Valbonne, France. mazella@ipmc.cnrs.fr

matographie d'affinité l'un des récepteur de la NT, le NTR3, qui s'avéra être identique à la sortiline [2]. Vient ensuite la lipoprotéine lipase (LpL), une protéine de 50 kDa que la sortiline est capable de lier et d'internaliser [3], puis le propeptide de 44 acides aminés libéré par la furine lors de la maturation de la prosortiline [4]. Enfin, le proNGF (précurseur du NGF, *nerve*

growth factor, une protéine de 31kDa) interagit lui aussi avec la sortiline pour délivrer un signal de mort cellulaire [5]. La structure primaire de la sortiline, et notamment la petite taille de sa queue carboxyterminale cytoplasmique, lui interdit toute possibilité de transmettre seule un signal intracellulaire. La recherche de ses activités à la surface cellulaire passait donc obligatoirement par l'identification de partenariats avec d'autres protéines membranaires. C'est dans ce contexte que se situent les résultats obtenus par A. Nykjaer *et al.* qui montrent que les effets proapoptotiques du proNGF passent par une interaction directe entre le p75NTR, l'un des récepteur du NGF, et la sortiline [5]. Alors que le NGF était connu comme un facteur de survie, de croissance et de différenciation des neurones, le proNGF, libéré comme tel [6], était décrit comme un facteur de mort cellulaire. L'action positive du NGF sur la survie et la croissance cellulaires requiert son association physique à deux récepteurs des neurotrophines, le récepteur p75NTR et TrkA, un autre récepteur du NGF. Le problème était que la mise en jeu du p75NTR semblait aussi responsable de la mort de plusieurs types de cellules dont les neurones. Cette contradiction est résolue par A. Nykjaer, qui démontre clairement que la sortiline est le co-récepteur du p75NTR pour l'action proapoptotique activée par le proNGF alors que l'association du NGF au complexe TrkA-p75NTR conduit à la survie cellulaire. De façon remarquable, l'effet proapoptotique du proNGF lié au complexe sortiline-p75NTR peut être inhibé par la NT, ce qui prouve sans ambiguïté l'importance de la sortiline dans cette fonction. Ainsi le NGF et son précurseur sont capables de moduler l'équilibre entre la survie et la mort cellulaire selon le complexe moléculaire auquel ils se lient. Cette association fonctionnelle de la sortiline avec un autre récepteur membranaire n'est pas la première décrite. En effet, la sortiline forme également un complexe avec le récepteur 1 de la NT (NTR1, un récepteur à sept domaines transmembra-

naires) dans les cellules d'adénocarcinome de côlon humain HT29 [7]. Dans ce cas, la sortiline module l'intensité du signal induit par la NT puisque l'interaction sortiline-NTR1 diminue l'activité de la voie de signalisation intrinsèque du NTR1, activité qui fait intervenir les MAP kinases et la phospholipase C. D'autre part, dans les cellules

microgliales humaines qui expriment la sortiline, la NT est capable d'activer la migration cellulaire par un mécanisme qui emprunte la voie de la protéine-kinase B (PI3-kinase) [8]. Le partenaire éventuel de la sortiline impliqué dans cet effet n'a pas encore été identifié (Figure 1).

Les propriétés décrites ci-dessus sont la conséquence de la présence de la sortiline à la surface cellulaire. Cependant, cette expression membranaire ne correspond qu'à environ 10 % du contenu cellulaire en sortiline, le reste de la protéine étant localisé au niveau du Golgi [1]. C'est cette fraction intracellulaire d'environ 90 % qui est responsable de l'autre fonction de la sortiline : la régulation du trafic intracellulaire. En effet, l'extrémité cytoplasmique de la sortiline interagit avec le domaine VHS de la protéine de tri cytosolique GGA2 (Golgi-localizing, γ -adaptin ear homology domain, ADP-ribosylation factor-binding protein) [9]. Cette interaction permet en outre à la sortiline de contribuer à l'adressage des SAP (sphingolipid activator proteins) dans les lysosomes [10]. La sortiline, en tant que protéine « cargo », ferait partie intégrante d'une machinerie intracellulaire, située principalement au niveau du réseau transgolgien, qui servirait à l'adressage de multiples protéines vers les lysosomes et autres compartiments vésiculaires (Figure 2). La localisation de la sorti-

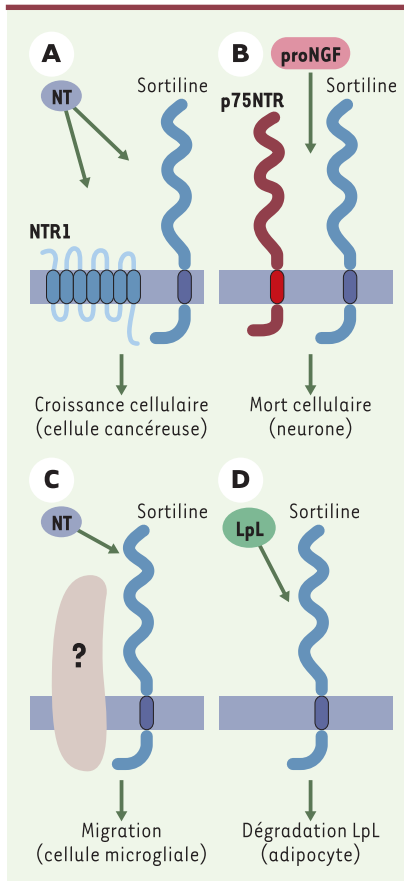


Figure 1. La sortiline, un co-récepteur associé à de multiples fonctions. A. La sortiline est associée avec le NTR1 pour induire les effets de prolifération de la NT dans les cellules cancéreuses (HT29). B. A l'inverse, le complexe p75NTR/sortiline formé dans les neurones est responsable de la mort cellulaire provoquée par le proNGF. C. Dans les cellules microgliales humaines, la NT active la migration cellulaire par l'intermédiaire de la sortiline, probablement en association avec une protéine non identifiée capable de transduire le signal. D. Dans les adipocytes, la sortiline internalise la LpL (lipoprotéine lipase) et permet ainsi sa dégradation. Cette fonction ne nécessite pas forcément l'association avec un partenaire.

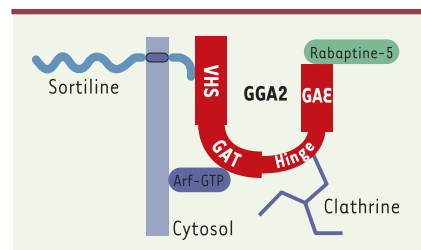


Figure 2. Modèle d'un exemple de « cargo » d'adressage. Le cœur de cette machinerie, située au niveau du TGN (trans-Golgi network), serait la protéine GGA2 (rouge) dont chaque domaine (VHS, GAT, Hinge et GAE) peut interagir avec différents partenaires. La sortiline reconnaît le domaine VHS. L'ensemble de ces interactions faciliterait la formation des vésicules en réponse à l'échange de GTP sur Arf (ADP-ribosylation factor).



line dans des vésicules contenant des transporteurs de réserve comme le transporteur de glucose Glut4 [11] conforte cette fonction de tri intracellulaire.

Le double rôle de la sortiline comme co-récepteur membranaire et comme protéine impliquée dans le tri cellulaire est donc en parfait accord avec sa double localisation. Tous les partenaires de la sortiline ont-ils été identifiés? Rien n'est moins sûr. Par exemple, nous avons montré que la sortiline était impliquée dans les effets de la NT sur la croissance de cellules cancéreuses d'origine prostatique, pancréatique ou colanique [12]. Plusieurs de ces cellules n'expriment pas le NTR1, le partenaire éventuel de la sortiline reste à identifier. La liste des fonctions de cette protéine à multiples facettes n'est donc probablement pas close. ♦

Sortilin is essential for proNGF-induced neuronal cell death

RÉFÉRENCES

- Petersen CM, Nielsen MS, Nykjaer A, et al. Molecular identification of a novel candidate sorting receptor purified from human brain by receptor-associated protein affinity chromatography. *J Biol Chem* 1997 ; 272 : 3599-3605.
- Mazella J, Zsürger N, Navarro V, et al. The 100-kDa neurotensin receptor is gp95/sortilin, a non-G-protein-coupled receptor. *J Biol Chem* 1998 ; 273 : 26273-6.
- Nielsen MS, Jacobsen C, Olivecrona G, et al. Sortilin/neurotensin receptor-3 binds and mediates degradation of lipoprotein lipase. *J Biol Chem* 1999 ; 274 : 8832-6.
- Munck Petersen C, Nielsen MS, Jacobsen C, et al. Propeptide cleavage conditions sortilin/neurotensin receptor-3 for ligand binding. *EMBO J* 1999 ; 18 : 595-604.
- Nykjaer A, Lee R, Teng KK, et al. Sortilin is essential for proNGF-induced neuronal cell death. *Nature* 2004 ; 427 : 843-8.
- Dicou E, Lee J, Brachet P. Synthesis of nerve growth factor mRNA and precursor protein in the thyroid and parathyroid glands of the rat. *Proc Natl Acad Sci* 1986 ; 83 : 7084-8.
- Martin S, Navarro V, Vincent JP, Mazella J. Neurotensin receptor-1 and -3 complex modulates the cellular signaling of neurotensin in the HT29 cell line. *Gastroenterology* 2002 ; 123 : 1135-43.
- Martin S, Vincent JP, Mazella J. Involvement of the neurotensin receptor-3 in the neurotensin-induced migration of human microglia. *J Neurosci* 2003 ; 23 : 1198-1205.
- Nielsen MS, Madsen P, Christensen EI, et al. The sortilin cytoplasmic tail conveys Golgi-endosome transport and binds the VHS domain of the GGA2 sorting protein. *EMBO J* 2001 ; 20 : 2180-90.
- Lefrançois S, Zeng J, Hassan AJ, et al. The lysosomal trafficking of sphingolipid activator proteins (SAPs) is mediated by sortilin. *EMBO J* 2003 ; 22 : 6430-7.
- Lin BZ, Pilch PF, Kandror KV. Sortilin is a major protein component of Glut4-containing vesicles. *J Biol Chem* 1997 ; 272 : 24145-7.
- Dal Farra C, Sarret P, Navarro V, et al. Involvement of the neurotensin receptor subtype NTR3 in the growth effect of neurotensin on cancer cell lines. *Int J Cancer* 2001 ; 92 : 503-9.

NOUVELLE

Le ranélate de strontium, nouvel agent thérapeutique dans l'ostéoporose post-ménopausique

Pierre J. Meunier

► Le strontium est un élément chimique de numéro atomique 38 qui a été originellement découvert en 1808 dans des mines de plomb proches du village écossais de Strontian. Dans les années 1950, des observations thérapeutiques ponctuelles, lors d'essais ouverts¹ évaluant les effets du lactate ou du gluconate de strontium [1], ont suggéré que le strontium pouvait avoir des propriétés anaboliques osseuses, donc une utilité potentielle pour le traitement de l'ostéoporose. Ces observations ont incité les chimistes des Laboratoires

Servier à synthétiser une nouvelle molécule organique contenant deux atomes de strontium stable, le ranélate de strontium (RS). Plusieurs études précliniques systématiques des effets osseux du RS ont été conduites *in vitro* et chez l'animal. Elles ont montré que le RS, après fixation sur le cristal osseux, avait un double effet de stimulation de l'ostéoformation ostéoblastique et d'inhibition de la résorption ostéoclastique, améliorant les propriétés biomécaniques de l'os, sans altérer sa minéralisation [2, 3]. Des études pharmacocinétiques du RS ont montré qu'il contenait 34 % de strontium élément et procurait un taux d'absorption du strontium de 27 %. Une étude dose-réponse de phase 2,

Faculté de Médecine
Laennec, Inserm U403,
rue Guillaume Paradin,
69372 Lyon Cedex 08, France.

conduite chez 353 femmes ostéoporotiques a montré que la dose orale quotidienne de deux grammes de RS représentait la dose optimale en termes d'augmentation en deux ans de la densité minérale osseuse lombaire (+ 7,3%/ an) et par sa capacité à réduire de 44 % le nombre de patientes présentant un nouveau tassement vertébral pendant la deuxième année de l'étude [4]. On notait parallèlement une augmentation de 11 % du taux sérique de la phosphatase alcaline osseuse et une baisse de 20 % du télo-peptide NTX urinaire (voir Encadré), ces variations confirmant la conjonction d'un effet stimulant de l'ostéoformation et d'une réduction de la résorption. Par la

1. Un essai est dit «ouvert» lorsque le médicament, étudié au de référence, pris par le malade ou le sujet sain, est connu d'eux et du médecin.