



antagonistes des récepteurs D2. Notons à cet égard que les patients reçoivent parfois des neuroleptiques, à des stades tardifs, pour traiter les symptômes cognitifs. Nos résultats impliquent des effets précoces de la DA via la stimulation des récepteurs D2. Il serait donc intéressant d'envisager une thérapie à l'aide de cette classe d'agents pharmacologiques à des stades pré-symptomatiques de la maladie. ♦

Role of dopamine in Huntington's disease

RÉFÉRENCES

1. The Huntington's disease collaborative research group. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* 1993; 72 : 971-83.
2. Mangiarini L, Sathasivam K, Seller M, et al. Exon 1 of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice. *Cell* 1996; 87 : 493-506.
3. Davies SW, Turmaine M, Cozens BA, et al. Formation of neuronal intranuclear inclusions underlies the neurological dysfunction in mice transgenic for the HD mutation. *Cell* 1997; 90 : 537-48.
4. DiFiglia M, Sapp E, Chase KO, et al. Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. *Science* 1997; 277 : 1990-3.
5. Arrasate M, Mitra S, Schweitzer ES, et al. Inclusion body formation reduces levels of mutant huntingtin and the risk of neuronal death. *Nature* 2004; 431 : 805-10.
6. Vonsattel JP, Myers RH, Stevens TJ, et al. Neuropathological classification of Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1985; 44 : 559-77.
7. Jakel RJ, Maragos WF. Neuronal cell death in Huntington's disease: a potential role for dopamine. *Trends Neurosci* 2000; 23 : 239-45.
8. Cyr M, Beaulieu JM, Laakso A, et al. Sustained elevation of extracellular dopamine causes motor dysfunction and selective degeneration of striatal GABAergic neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100 : 11035-40.
9. Aylward EH, Codori AM, Rosenblatt A, et al. Rate of caudate atrophy in presymptomatic and symptomatic stages of Huntington's disease. *Mov Disord* 2000; 15 : 552-60.
10. Luo Y, Umegaki H, Wang X, et al. Dopamine induces apoptosis through an oxidation-involved SAPK/JNK activation pathway. *J Biol Chem* 1998; 273 : 3756-64.
11. Reiner A, Albin RL, Anderson KD, et al. Differential loss of striatal projection neurons in Huntington disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85 : 5733-7.
12. Li H, Li SH, Yu ZX, et al. Huntingtin aggregate-associated axonal degeneration is an early pathological event in Huntington's disease mice. *J Neurosci* 2001; 21 : 8473-81.
13. Charvin D, Vanhoutte P, Pages C, et al. Unraveling a role for dopamine in Huntington's disease: the dual role of reactive oxygen species and D2 receptor stimulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102 : 12218-23.

NOUVELLE

Afibrinogénémie congénitale et contrôle de qualité de la sécrétion du fibrinogène

Dung Vu, Marguerite Neerman-Arbez

► Le fibrinogène est le facteur de coagulation le plus abondant dans le plasma (2-4 g/l). Après sa conversion en fibrine sous l'action de la thrombine, il joue un rôle primordial dans le processus de coagulation puisqu'il constitue la base du caillot sanguin et permet l'agrégation plaquettaire. La molécule, principalement synthétisée par les hépatocytes, est un hexamère constitué de deux copies de trois chaînes polypeptidiques, A α , B β et γ (Figure 1A), chacune codée par un gène distinct, FGA, FGB et FGG, respectivement. Les trois gènes se situent dans une région d'approximativement 50 kb sur le chromosome 4 (Figure 1). L'assemblage des chaînes se déroule de manière séquentielle dans le réticulum endoplasmique, avec la formation

de complexes intermédiaires (A $\alpha\gamma$) ou (B $\beta\gamma$), l'ajout d'une troisième chaîne (B β ou A α , respectivement), et la dimérisation des trimères pour former l'hexamère (A α B $\beta\gamma$)₂. Celui-ci est ensuite transporté vers l'appareil de Golgi où il subit de nombreuses modifications post-traductionnelles, telles que phosphorylation, hydroxylation, etc. Les chaînes B β et γ présentent à leur extrémité carboxy-terminale un domaine globulaire homologue (β C et γ C, respectivement), conservé dans diverses protéines (telles que les angioprotéines) chez plusieurs espèces animales. Ces domaines homologues, composés d'environ 250 acides aminés, sont connus sous le nom de FReD (*fibrinogen-related domain*).

D. Vu : Département de Médecine Génétique et Développement, Centre Médical Universitaire, 1, rue Michel-Servet, 1211 Genève 4, Suisse.

M. Neerman-Arbez : Département de Médecine génétique et Développement, Centre Médical Universitaire, 1, rue Michel-Servet, 1211 Genève 4, Suisse.

Division d'Angiologie et Hémostase, Hôpitaux Universitaires de Genève, 24, rue Micheli-du-Crest, 1205 Genève, Suisse.

Marguerite.Arbez@medecine.unige.ch

Pathogénie de l'afibrinogénémie congénitale

L'afibrinogénémie congénitale (OMIM 202400) est une maladie rare à transmission autosomique récessive. Elle est due à l'absence de fibrinogène dans le plasma et est caractérisée par diverses manifestations hémorragiques ou parfois, de manière paradoxale, thrombotiques. Si la première description de la maladie remonte à 1920 [1], ce n'est que récemment, en 1999, que la première mutation responsable du déficit a été identifiée à Genève dans notre laboratoire : il s'agissait d'une délétion de 11 kb éliminant la quasi-totalité

du gène *FGA* [2]. Depuis lors, plus de 40 mutations, toutes localisées dans l'un des trois gènes du locus codant pour le fibrinogène (Figure 1), ont été décrites. Elles se trouvent soit à l'état homozygote ou hétérozygote composite chez des patients afibrinogénémiques, soit sous forme hétérozygote chez des patients hypofibrinogénémiques (présentant une concentration réduite de fibrinogène plasmatique). Nous pouvons prédire que la majorité de ces derniers seraient très probablement afibrinogénémiques dans le cas où la mutation se trouverait sous forme homozygote, car la forme variante n'est pas détectée dans le plasma dans la plupart des cas.

Ainsi, afibrinogénémie et hypofibrinogénémie ne se distingueraient l'une de l'autre au niveau moléculaire que par le niveau d'expression du fibrinogène résultant de l'état allélique du variant. La majorité des mutations sont de type nulle (non-sens, délétions, erreurs d'épissage, micro-insertions, micro-délétions). À ce jour, 14 mutations faux-sens ont été recensées, 8 dans *FGG* et 6 dans *FGB*. Parmi elles, sept substitutions ont été étudiées dans un modèle cellulaire *in vitro* : une mutation (C179R dans *FGG*) entrave l'assemblage des chaînes polypeptidiques, tandis que les six autres (L383R, G430D, G444S, W467G dans *FGB* ; W253C et G310R dans *FGG*)

inhibent spécifiquement la sécrétion de l'hexamère correctement assemblé [3-8]. Par ailleurs, deux mutations non-sens (W467X et W470X) tronquant la chaîne B β de 25 et 22 acides aminés respectivement (sur un total de 491 résidus), ont été décrites comme bloquant également la sécrétion de la protéine [9, 10]. En résumé, 6 des 8 mutations entravant la sécrétion du fibrinogène sont localisées dans la chaîne B β , et plus particulièrement dans son domaine globulaire B β C.

La sécrétion du fibrinogène est-elle soumise à un contrôle de qualité?

Notre récente étude [10] s'est portée sur le rôle joué par la chaîne B β et son domaine B β C dans le processus de sécrétion du fibrinogène. Nous avons tout d'abord démontré, à l'aide d'un modèle cellulaire (fibroblastes Cos-7 co-transfectés) et en analysant des délétions sérielles de la région carboxy-terminale, que la présence des six derniers résidus de la chaîne B β n'est nécessaire ni pour l'assemblage ni pour la sécrétion de l'hexamère. En revanche, la suppression des sept derniers acides aminés - ou plus - (à partir de R485) empêche spécifiquement la sécrétion de la protéine. Pour étudier plus en profondeur l'importance du résidu R485, nous avons engendré des mutations dont l'analyse a montré que la nature de cet acide aminé n'est pas intrinsèquement cruciale pour la sécrétion. L'analyse structurale de la protéine suggère que soit les six derniers acides aminés, qui forment une queue flexible, soit le résidu R485 seul entravent l'exposition du noyau non-polaire du domaine B β C au solvant, empêchant ainsi une déstabilisation du domaine globulaire. Ces résultats, combinés à l'analyse structurale des quatre mutations faux-sens affectant la sécrétion et toutes localisées dans ce domaine, suggèrent que la sécrétion du fibrinogène nécessite une conformation appropriée du domaine

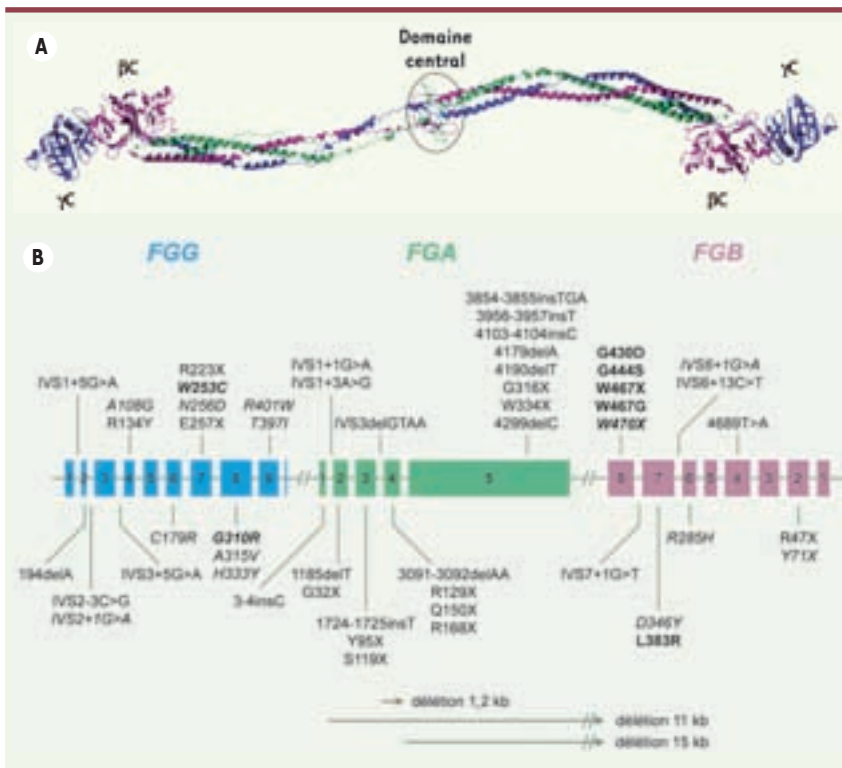


Figure 1. A. Représentation de la protéine du fibrinogène du poulet, d'après sa cristallographie à une résolution de 2,7 Å [12]. Les domaines globulaires homologues B β C et γ C sont indiqués. Les chaînes A α sont en vert, les chaînes B β en violet, et les chaînes γ en bleu. **B.** Structure du locus des gènes codant pour le fibrinogène humain, et mutations identifiées comme responsables de l'afibrinogénémie à l'état homozygote ou hétérozygote composite, et de l'hypofibrinogénémie à l'état hétérozygote (en italique). Ne figurent pas les mutations menant à une hypodysfibrinogénémie (résultant d'un défaut du fibrinogène combinant expression réduite et activité fonctionnelle altérée). Les mutations décrites comme affectant spécifiquement la sécrétion du fibrinogène sont mises en évidence en gras. La nomenclature des mutations est établie en tenant compte du A de l'ATG codant pour la méthionine initiatrice comme premier nucléotide, ou de la méthionine initiatrice comme premier résidu. Les introns ne sont pas dessinés à l'échelle.

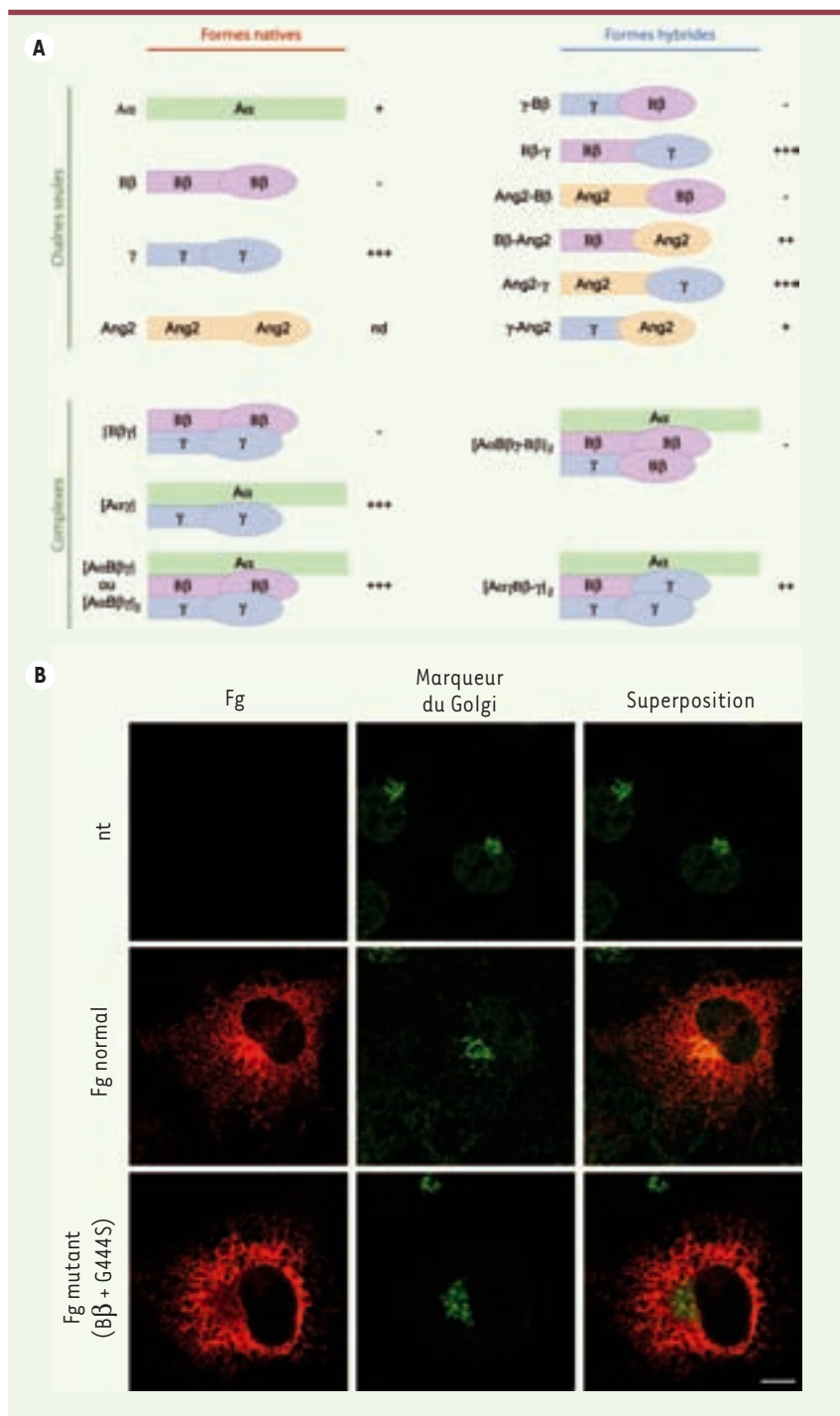


Figure 2. Le domaine βC est limitant pour la sécrétion du fibrinogène. **A.** Sécrétion des chaînes, des complexes intermédiaires, de la molécule native du fibrinogène ainsi que des chaînes ou complexes hybrides. Seules les trois différentes chaînes constituant les complexes hexamériques sont schématisées. Le domaine βC n'est pas sécrété, à moins que la chaîne $B\beta$ ne soit co-transfectée avec les chaînes $A\alpha$ et γ du fibrinogène. - : non sécrété; + : peu sécrété; ++ : sécrété; +++ : hautement sécrété; nd : non déterminé. **B.** Immunofluorescence permettant la visualisation du fibrinogène normal dans le réticulum endoplasmique et le Golgi à l'intérieur de cellules Cos-7 co-transfectées. À l'opposé, un mutant (G444S sur la chaîne $B\beta$) inhibant la sécrétion du fibrinogène, n'est localisé que dans le réticulum endoplasmique et est absent du Golgi. La protéine « giantine » est utilisée comme marqueur de l'appareil de Golgi. Fg : fibrinogène; nt : non transfecté. Barre d'échelle : 10 μm .

globulaire βC . Afin de définir l'implication de cette région dans le processus de sécrétion, nous avons construit des chaînes hybrides combinant la moitié amino-terminale de la chaîne $B\beta$, γ , ou de la protéine angiopoïétine-2 (contenant un FRED en carboxy-terminal), fusionnée à la partie carboxy-terminale de l'une ou l'autre des ces protéines (Figure 2A). L'expression, en co-transfection de ces chimères, a permis de relever trois observations principales : (1) aucun des polypeptides ou complexes contenant le domaine βC n'est sécrété, avec pour exception notable la molécule native du fibrinogène ; (2) les chaînes ou complexes avec la partie amino-terminale de $B\beta$ sont sécrétés ; (3) les chaînes ou complexes contenant le domaine γC sont fortement sécrétés. De plus, le complexe ne différant de la molécule native du fibrinogène que par l'absence du domaine γC , n'est pas sécrété. Nous pouvons dès lors conclure que le domaine βC , et non pas la partie amino-terminale de $B\beta$, est limitant pour la sécrétion, car il n'est sécrété que lorsqu'il est incorporé dans un environnement protéique approprié fourni par les chaînes $A\alpha$ et γ . À l'inverse, le domaine γC jouerait un rôle favorable, sinon nécessaire, pour la sécrétion du fibrinogène. Ces résultats mettent en lumière des rôles opposés dans la sécrétion de deux domaines pourtant structurellement homologues. Outre l'étude du rôle joué par ces domaines dans le processus sécrétoire du fibrinogène, nous nous sommes également intéressés à la localisation cellulaire des mutants de sécrétion. En utilisant les techniques d'immunofluorescence et d'immunomicroscopie électronique, nous avons pu observer que le fibrinogène normal se trouve, comme attendu, dans le réticulum endoplasmique et dans le Golgi. En revanche, trois mutants de sécrétion différents montrent une localisation dans le réticulum, mais sont exclus du Golgi, indiquant qu'ils sont retenus dans un compartiment pré-golgien (Figure 2B). ♦

Conclusions

Ces travaux mettent en évidence l'existence d'un contrôle de qualité dans un compartiment pré-golgien de la sécrétion du fibrinogène, avec un rôle limitant du domaine β C. En effet, celui-ci requiert une conformation structurale et un environnement protéique adéquats, pour ne pas entraver le processus sécrétoire. La rétention de protéines mutées s'avère être un des mécanismes importants dans la pathogénie de l'afibrinogénémie congénitale. Les résultats de cette étude pourront être élargis à la compréhension des mécanismes de nombreuses maladies, telles que la mucoviscidose ou la déficience en α 1-antitrypsine, causées notamment par des mutations aboutissant de manière similaire à des défauts de conformation protéique et à un trafic aberrant de la protéine (CFTR et α 1-antitrypsine, respectivement) [11]. ♦

**Congenital afibrinogenemia :
focusing on molecular mechanisms
controlling fibrinogen secretion**

RÉFÉRENCES

1. Rabe F, Salomon E. Ueber-faserstoffmangel im Blute bei einem Falle von Hämophilie. *Arch Intern Med* 1920 ; 95 : 2-14.
2. Neerman-Arbez M, Honsberger A, Antonarakis SE, et al. Deletion of the fibrinogen alpha-chain gene (FGA) causes congenital afibrinogenemia. *J Clin Invest* 1999 ; 103 : 215-8.
3. Terasawa F, Fujita K, Okumura N. Residue gamma153Cys is essential for the formation of the complexes Aalphagamma and Bbetagamma, assembly intermediates for the AalphaBbetagamma complex and intact fibrinogen. *Clin Chim Acta* 2005 ; 353 : 157-64.
4. Duga S, Asselta R, Santagostino E, et al. Missense mutations in the human beta fibrinogen gene cause congenital afibrinogenemia by impairing fibrinogen secretion. *Blood* 2000 ; 95 : 1336-41.
5. Vu D, Bolton-Maggs PH, Parr JR, et al. Congenital afibrinogenemia : identification and expression of a missense mutation in FGB impairing fibrinogen secretion. *Blood* 2003 ; 102 : 4413-5.
6. Spina S, Asselta R, Duga S, et al. Congenital afibrinogenemia : intracellular retention of fibrinogen due to a novel W437G mutation in the fibrinogen Bbeta-chain gene. *Biochim Biophys Acta* 2003 ; 1639 : 87-94.
7. Vu D, de Moerloose P, Batorova A, et al. Hypofibrinogenemia due to a novel FGG missense mutation (W253C) in the gamma-chain globular domain impairing fibrinogen secretion. *J Med Genet* 2005 ; 42 : e57.
8. Duga S, Braidotti P, Asselta R, et al. Liver histology of an afibrinogenemic patient with the Bbeta-L353R mutation showing no evidence of hepatic endoplasmic reticulum storage disease (ERSD) : comparative study in COS-1 cells of the intracellular processing of the Bbeta-L353R fibrinogen versus the ERSD-associated gamma-G284R mutant. *J Thromb Haemost* 2005 ; 3 : 724-32.
9. Neerman-Arbez M, Vu D, Abu-Libdeh B, et al. Prenatal diagnosis for congenital afibrinogenemia caused by a novel nonsense mutation in the FGB gene in a Palestinian family. *Blood* 2003 ; 101 : 3492-4.
10. Vu D, Di Sanza C, Caille D, et al. Quality control of fibrinogen secretion in the molecular pathogenesis of congenital afibrinogenemia. *Hum Mol Genet* 2005 ; 14 : 3271-80.
11. Welch WJ. Role of quality control pathways in human diseases involving protein misfolding. *Semin Cell Dev Biol* 2004 ; 15 : 31-8.
12. Yang Z, Kollman JM, Pandi L, Doolittle RF. Crystal structure of native chicken fibrinogen at 2.7 Å resolution. *Biochemistry* 2001 ; 40 : 12515-23.

NOUVELLE

Une myosine à contre-sens

Julie Ménétreay, Amel Bahloul, Anne Houdusse

Le mouvement dirigé au sein des cellules est assuré en grande partie par des moteurs moléculaires se déplaçant le long du cytosquelette (vaste réseau de filaments polarisés d'actine ou de microtubules). La superfamille des myosines correspond aux moteurs moléculaires se déplaçant le long de l'actine grâce à la conversion de l'énergie chimique (produite par l'hydrolyse de l'ATP) en énergie mécanique. Ces moteurs sont impliqués dans des processus cellulaires critiques comme la contraction musculaire, la cytokinèse et le transport vésiculaire. Le dysfonctionnement de ces moteurs peut entraîner des pathologies humaines graves, comme des cardio-

myopathies, des surdités, ou la maladie de Griscelli qui est un désordre héréditaire rare caractérisé par un déficit pigmentaire pouvant conduire à la mort. Les myosines sont de grosses protéines (plus de 120 kDa) constituées : (1) d'une tête, ou domaine moteur, où se situe le site d'interaction au filament d'actine et le site de fixation et d'hydrolyse de l'ATP ; (2) d'un cou, ou bras de levier, de forme allongée, variable en longueur et constitué de motifs IQ capables de recruter des chaînes légères de type calmoduline ; et (3) d'une queue permettant l'interaction spécifique avec différents partenaires cellulaires

Laboratoire de motilité structurale, Institut Curie et CNRS, UMR144, 26, rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France. anne.houdusse@curie.fr

(Figure 1). Une grande variabilité de séquence est observée au niveau des queues de myosine, ce qui correspond à une grande diversité de fonctions cellulaires associées à ces moteurs. Les différences de séquence

au niveau du domaine moteur des myosines ont permis d'identifier à ce jour 18 classes distinctes.

Certaines myosines s'assemblent pour former des filaments et produire une contraction ou un mouvement. D'autres, comme les myosines V, VI et IX, agissent en tant que molécules isolées et sont processives : elles sont capables d'effectuer plusieurs pas le long du filament d'actine avant de s'en détacher, ce qui leur permet d'être impliquées dans le transport de cargos tels que des proté-