un modèle animal : lorsque des souris déficientes en TLR3 ou TRIF ont été infectées par injection de parasites M+ dans le coussinet plantaire, elles développent une réponse hyperinflammatoire qui se traduit par le développement de lésions de taille inférieure à celle observée dans les souris contrôles exprimant TLR3 ou TRIF, et qui contiennent un plus petit nombre de parasites. Ces résultats confortent le fait que la présence de LRV dans les parasites M+ est le facteur dominant dans la réponse inflammatoire observée dans les LMC due à *L. guyanensis* et dans la pathogénicité du parasite.

En conclusion

Ce travail met en évidence le fait que la réponse immunitaire innée dirigée contre le parasite *L. guyanensis* est modulée par la présence d'un virus à l'intérieur du parasite lui-même. De plus, il semble que la présence de LRV soit un facteur favorisant la dissémination de l'infection vers des sites distants et la formation de lésions métastatiques. Cette observation est intéressante non seulement au niveau évolutif dans la relation entre le

parasite et le virus, mais aussi parce qu'elle pourrait avoir des implications importantes tant au niveau diagnostique (la présence de LRV serait un facteur aggravant) que thérapeutique puisqu'une approche associant des drogues anti-*Leishmania* et des molécules anti-inflammatoires pourrait être nécessaire pour traiter les LMC, leishmanioses qui sont souvent résistantes au traitement conventionnel par les dérivés de l'antimoine. ♦

Mucocutaneous leishmaniasis and an undesired passenger

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Emilie Fasel et P. Desjeux pour les images de lésions, Annette Ives, Slavica Masina, Haroun Zangger, Florence Prevel, Giulia Ruzzante, Silvia Fuertes-Marraco, Frederic Schutz, Haroun Zangger, Melanie Revaz-Breton, Lon-Fye Lye, Suzanne M. Hickerson, Hans Acha-Orbea et Pascal Launois, pour leur contribution au travail original et Mary-Anne Hartley, Patrik Castiglioni pour leur participation aux dernières expériences, Ce travail a été financé par le FNRS n° 3100A0-116665/1 et IZ 7020-191421 (NF) et le NIH NoAI 29646 (SMB).

CONFLIT D'INTÉRÊTS

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

RÉFÉRENCES

1. Kaye P, Scott P. Leishmaniasis: complexity at the host-pathogen interface. *Nat Rev Microbiol* 2011 ; 9 : 604-15.
2. Ives A, Ronet C, Prevel F, et al. Leishmania RNA virus controls the severity of mucocutaneous leishmaniasis. *Science* 2011 ; 331 : 775-8.
3. Travi B, Rey-Ladino J, Saravia NG. Behavior of *Leishmania braziliensis* s.l. in golden hamsters: evolution of the infection under different experimental conditions. *J Parasitol* 1988 ; 74 : 1059-62.
4. Martinez JE, Travi BL, Valencia AZ, Saravia NG. Metastatic capability of *Leishmania (Viannia) panamensis* and *Leishmania (Viannia) guyanensis* in golden hamsters. *J Parasitol* 1991 ; 77 : 762-8.
5. Martinez JE, Valderrama L, Gama V, et al. Clonal diversity in the expression and stability of the metastatic capability of *Leishmania guyanensis* in the golden hamster. *J Parasitol* 2000 ; 86 : 792-9.
6. Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity* 2011 ; 34 : 637-50.
7. Schroder M, Bowie AG. TLR3 in antiviral immunity: key player or bystander? *Trends Immunol* 2005 ; 26 : 462-8.
8. Patterson JL. The current status of Leishmania RNA virus I. *Parasitol Today* 1993 ; 9 : 135-6.
9. Widmer G, Dooley S. Phylogenetic analysis of Leishmania RNA virus and Leishmania suggests ancient virus-parasite association. *Nucleic Acids Res* 1995 ; 23 : 2300-4.

NOUVELLE

Structure tridimensionnelle du récepteur de l'adénosine A_{2A} lié à son agoniste naturel l'adénosine

Guillaume Lebon, Christopher G. Tate

MRC Laboratory of Molecular Biology, Hills Road, Cambridge CB2 0QH, Royaume-Uni.
G. Lebon (adresse actuelle) : CNRS UMR 5203, Inserm U661, Université Montpellier 1 et 2, Institut de génomique fonctionnelle, 141, rue de la Cardonille, F-34094 Montpellier Cedex 05, France.
guillaume.lebon@igf.cnrs.fr

► Les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) sont des intermédiaires-clés dans la transmission de signaux de l'extérieur à l'intérieur de la cellule. Chez l'homme, il existe environ 800 RCPG qui partagent tous une structure tridimensionnelle similaire composée de 7 hélices transmembra-

naires [1]. Leur activité est régulée par un grand nombre de messagers cellulaires : hormones, neurotransmetteurs, nucléotides, lipides et autres molécules de faible poids moléculaire. De ce fait, ils sont au cœur de processus physiologiques et pathologiques importants.

Parmi ces RCPG, le récepteur à l'adénosine comporte différents sous-types A₁, A_{2A}, A_{2B}, A₃ qui sont largement exprimés dans le corps humain avec une forte représentation pour le récepteur A_{2A} (A_{2A}R) dans le système nerveux central, le cœur, les vaisseaux sanguins, les

Figure 1. Structure du récepteur à l'adénosine lié à son agoniste, l'adénosine. L'extrémité amino-terminale du récepteur est représentée en bleu et l'extrémité carboxy-terminale en rouge. L'adénosine est représentée en mode bâtonnet (voir flèche).

poumons ainsi que dans les cellules du système immunitaire [2]. L'adénosine, agoniste naturel de ce récepteur, est de manière générale un agent cytoprotecteur qui est déversé dans le compartiment extracellulaire en condition de stress, comme lors d'anoxie ou encore d'ischémie. Par ailleurs, un antagoniste du récepteur de l'adénosine très connu pour son effet excitant est la caféine, pharmacophore le plus utilisé au monde.

Dans le système nerveux central, le récepteur de l'adénosine joue un rôle important dans la plasticité synaptique en modulant le relargage de neurotransmetteurs. $A_{2A}R$ est ainsi impliqué dans des dysfonctionnements du système nerveux comme la maladie de Parkinson ou la maladie de Huntington et représente par conséquent une cible thérapeutique attractive.

Structure cristallographique des RCPG, R et R*

En se fixant sur la surface extracellulaire des RCPG, les agonistes induisent un changement de conformation de la

forme inactive R vers la conformation active R*. Ce changement conformationnel permet le couplage du récepteur aux protéines G et donc la transmission du signal dans le compartiment cellulaire *via* des messagers secondaires dont l'AMPc et le calcium. Un modèle simplifié de la dynamique conformationnelle des récepteurs peut être représenté par un équilibre entre la conformation inactive R qui lie préférentiellement un agoniste inverse ou un antagoniste, et la conformation active R* qui lie un agoniste et correspond à la conformation capable d'interagir avec la protéine G [3].

Les structures cristallographiques de plusieurs RCPG dont le récepteur β -adrénergique humain (β_2AR), celui de la dinde (β_1AR) ainsi que le récepteur à l'adénosine ($A_{2A}R$), ont été déterminées dans leur conformation inactive R et sont très similaires [4-6]. L'opsine, dans sa conformation active R*, a été également cristallisée en complexe avec le peptide carboxy-terminal de la transducine (protéine G_t) [7]. La différence majeure entre les structures correspondant à la conformation inactive de la rhodopsine R et active de l'opsine R* réside dans des différences de mouvements des extrémités intracellulaires des hélices 5 et 6 vers l'extérieur du récepteur. Récemment, la structure du récepteur β_2AR lié à un « nanobody » [13] qui imite la fixation de la protéine G, β_2AR -Nb80, a été rapportée et est très similaire à la conformation R* de l'opsine [8]. Différents RCPG comme les récepteurs β -adrénergiques et le récepteur à l'adénosine sont couplés à la même protéine G, G_s . Il est donc raisonnable de penser que la conformation active R* pourrait être conservée pour d'autres RCPG.

La structure du $A_{2A}R$ lié à l'agoniste adénosine

Nous avons résolu la structure tridimensionnelle du récepteur humain, $A_{2A}R$ -GL31, en complexe avec son ligand naturel l'adénosine (3,0 Å) (Figure 1) et avec un dérivé synthétique 5'-N-Éthylcar-

Figure 2. Interaction du récepteur A_{2A} avec le ligand ZM241385 (A) et adénosine (B). Les liaisons hydrogènes sont représentées par un trait pointillé rouge, les liaisons polaires par un trait pointillé bleu.

boxamidoadénosine (NECA) (2,6 Å) [9]. Cette avancée a été rendue possible par l'utilisation de la stratégie de thermostabilisation par mutagenèse dirigée. L'introduction de quatre mutations dans la séquence du $A_{2A}R$ permet d'améliorer la stabilité du complexe agoniste-récepteur solubilisé en présence de détergents, facilitant ainsi sa purification et sa cristallisation [10].

Les structures $A_{2A}R$ -GL31 liées à NECA ou à l'adénosine et la conformation

inactive A_{2A}-T4L (fusion du lysozyme T4 au niveau de la 3^e boucle intracellulaire du A_{2A}R) résolue en complexe avec un agoniste inverse ZM241385, ont été comparées [6, 9]. Cette comparaison met en évidence l'existence de larges différences : un glissement de l'hélice 3 le long de son axe vers l'extrémité extracellulaire du récepteur sur une distance d'environ 2 Å, la formation d'un renflement au niveau de l'hélice 5 qui induit la réorganisation de quelques résidus autour du site de fixation du ligand, et enfin un changement conformationnel des extrémités intracellulaires des hélices 5, 6 et 7. La conformation observée dans cette étude est très proche de la forme active R*. Seule l'hélice 6 n'adopte pas la conformation attendue permettant l'ancrage de l'extrémité carboxy-terminale de la sous-unité alpha de la protéine G, comme observé dans la structure active R* de l'opsine [7]. La structure du récepteur A_{2A}R-GL31 lié à l'adénosine ou à l'agoniste synthétique NECA représente donc un état conformationnel intermédiaire entre les conformations inactive R et active R*.

Au niveau de la poche de fixation, l'agoniste inverse ZM241385 et l'adénosine interagissent tous deux avec la phénylalanine 168 (Phe168 ; EL2) et établissent des liaisons hydrogènes avec l'acide glutamique 169 (Glu169 ; EL2) et l'asparagine 253 (Asn6.55, H6) (Figure 2). La différence dans le mode de fixation de l'agoniste inverse ZM241385 et de l'adénosine réside dans l'interaction de cette dernière avec les résidus histidine 278 (His7.43) et sérine 277 (Ser7.42) localisés sur l'hélice 7 ainsi que l'établissement d'interactions hydrophobes au niveau de l'hélice 3 (Figure 2).

L'interaction entre l'agoniste et le récepteur à l'adénosine induit la contraction de la poche de fixation du ligand représentée par le mouvement de l'hélice 3, le repositionnement de l'hélice 7 vers l'intérieur du récepteur ainsi que la formation du renflement au niveau de l'hélice 5. Un réarrangement similaire est observé pour la conformation R* du récepteur β₂AR, β₂AR-Nb80 [8]. La contraction de la poche de fixation a aussi été décrite pour le β₁AR lié à différents agonistes [11]. Dans le cas de la fixation de l'agoniste sur le récepteur β-adrénergique, l'agoniste interagit avec des résidus localisés dans l'hélice 5 à la différence du récepteur à l'adénosine pour lequel, lors de la fixation de l'agoniste, l'interaction a lieu au niveau des hélices 7 et 3 [8, 9, 11]. Cependant, la fixation de l'agoniste induit dans les deux cas, β₂AR-Nb80 et A_{2A}R-GL31, la formation du renflement au niveau de l'hélice 5. Ce renflement est inhibé par la fixation de l'agoniste inverse ZM241385 dans la conformation inactive A_{2A}-T4L [9]. Bien que le mode de fixation des agonistes soit différent d'un récepteur à l'autre, le réarrangement des hélices 3, 5 et 7 correspondant à la contraction de la poche de fixation du ligand apparaît être un prérequis nécessaire à l'activation des RCPG.

Nous disposons maintenant de différentes structures du récepteur de l'adénosine humain A_{2A} : A_{2A}R-GL31 en complexe avec l'adénosine ou NECA [9], la structure A_{2A}-T4L liée à l'agoniste inverse ZM241385 [6] ainsi que la structure A_{2A}-T4L liée à l'agoniste UK432097 [12], très similaire à la structure A_{2A}R-GL31. L'étude approfondie de ces structures devrait permettre d'ouvrir de nouvelles voies pour la conception de nouveaux

composés actifs et sélectifs de cette cible thérapeutique que représente le récepteur A_{2A}. ♦

Structure of the adenosine-bound conformation of the human adenosine A_{2A} receptor

CONFLIT D'INTÉRÊTS

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

RÉFÉRENCES

1. Gloriam DE, Fredriksson R, Schiöth HB. The G protein-coupled receptor subset of the rat genome. *BMC Genomics* 2007 ; 8 : 338.
2. Jacobson KA, Gao ZG. Adenosine receptors as therapeutic targets. *Nat Rev Drug Discov* 2006 ; 5 : 247-64.
3. Yao XJ, Velez Ruiz G, Whorton MR, et al. The effect of ligand efficacy on the formation and stability of a GPCR-G protein complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009 ; 106 : 9501-6.
4. Cherezov V, Rosenbaum DM, Hanson MA, et al. High-resolution crystal structure of an engineered human beta2-adrenergic G protein-coupled receptor. *Science* 2007 ; 318 : 1258-65.
5. Warne T, Serrano-Vega MJ, Baker JG, et al. Structure of a beta1-adrenergic G-protein-coupled receptor. *Nature* 2008 ; 454 : 486-91.
6. Jaakola VP, Griffith MT, Hanson MA, et al. The 2.6 angstrom crystal structure of a human A2A adenosine receptor bound to an antagonist. *Science* 2008 ; 322 : 1211-7.
7. Scheerer P, Park JH, Hildebrand PW, et al. Crystal structure of opsin in its G-protein-interacting conformation. *Nature* 2008 ; 455 : 497-502.
8. Rasmussen SG, Choi HJ, Fung JJ, et al. Structure of a nanobody-stabilized active state of the beta(2) adrenoceptor. *Nature* 2011 ; 469 : 175-80.
9. Lebon G, Warne T, Edwards PC, et al. Agonist-bound adenosine A(2A) receptor structures reveal common features of GPCR activation. *Nature* 2011 ; 474 : 521-5.
10. Lebon G, Bennett K, Jazayeri A, Tate CG. Thermostabilisation of an agonist-bound conformation of the human adenosine A(2A) receptor. *J Mol Biol* 2011 ; 409 : 298-310.
11. Warne T, Moukhametzanov R, Baker JG, et al. The structural basis for agonist and partial agonist action on a beta(1)-adrenergic receptor. *Nature* 2011 ; 469 : 241-4.
12. Xu F, Wu H, Katritch V, et al. Structure of an agonist-bound human A2A adenosine receptor. *Science* 2011 ; 332 : 322-7.
13. Chames P, Baty D. The future of antibody fragments, made of a single immunoglobulin domain. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 1159-62.

Tarifs d'abonnement m/s - 2011

Abonnez-vous

à médecine/sciences

> Grâce à m/s, vivez en direct
les progrès des sciences biologiques
et médicales

Bulletin d'abonnement
page 952 dans ce numéro de m/s