

Un nouveau rôle pour l'agrine dans la régulation des communications intercellulaires au cours de la synaptogenèse

Agnès O. Martin, Gérard Alonso, Nathalie C. Guérineau

CNRS UMR5203, Inserm U.661,
Universités Montpellier I et II,
Institut de Génétique fonctionnelle,
Département d'Endocrinologie,
141, rue de la Cardonille,
34094 Montpellier Cedex 5, France.
nathalie.guerineau@igf.cnrs.fr



> L'agrine est une protéine de la matrice extracellulaire, isolée à partir d'extraits de lame basale de l'organe électrique du poisson torpille *Torpedo californica* (Figure 1) [1]. A la jonction neuromusculaire (JNM), l'agrine a pour fonction physiologique principale l'agrégation des récepteurs de l'acétylcholine et de protéines associées [2], d'où sa dénomination issue du grec *ageirein* pour « assembler ». Elle favorise ainsi la formation de la densité post-synaptique apposée à la terminaison axonale, et contribue à l'établissement d'une transmission nerf-muscle fonctionnelle.

Depuis sa purification en 1987, cette protéine a fait l'objet de très nombreuses études visant à caractériser son mode d'action et le rôle-clé qu'elle entretient dans le processus de maturation de la membrane post-synaptique de la JNM [3, 4]. La présence d'agrine dans le système nerveux central laisse supposer que cette protéine pourrait également être impliquée dans la formation et la plasticité

des connexions synaptiques interneuronales [5]. En effet, lors du développement du système nerveux central, les pics d'expression d'agrine coïncident avec des périodes de synaptogenèse importante [6, 7]. Par ailleurs, dans le cerveau mature, l'expression de la protéine reste élevée dans des structures telles que l'hippocampe ou encore le cortex, qui présentent une forte plasticité synaptique [7]. De plus, le blocage de l'expression d'agrine par des oligonucléotides antisens et/ou de sa fonction par des anticorps spécifiques entraîne d'importantes perturbations de la différenciation et la transmission synaptique ainsi que de l'exocytose [8], confirmant ainsi un rôle de cette protéine dans la formation/maturation des synapses du système nerveux central.

Durant la période de synaptogenèse, de nombreux remaniements cellulaires et moléculaires s'opèrent, conduisant *in fine* à l'établissement de contacts synaptiques fonctionnels et à la formation de réseaux neuronaux. Ces remaniements s'accompagnent notamment d'un changement du mode de communication entre cellules neuronales. En effet, très tôt au cours du développement embryonnaire, et avant même qu'apparaissent les synapses, les neurones échangent des informations électriques et chimiques *via* des structures membranaires particulières appelées jonctions gap [9]. Ces structures correspondent à des canaux transmembranaires présents au niveau d'étroites appositions des membranes plasmiques de cellules adjacentes et sont à l'origine d'interactions direc-

tes entre cellules *via* le passage d'ions et de petites molécules entre les cellules couplées. Avec la progression de l'embryogenèse, ce couplage cellulaire médié par les jonctions gap diminue à mesure de l'établissement des contacts synaptiques [10], principaux supports de la propagation d'information au sein des réseaux neuronaux matures. Jusqu'à très récemment, les facteurs impliqués dans cette transition entre communication électrique jonctionnelle et transmission synaptique observée au cours de la synaptogenèse étaient inconnus. Par ailleurs, nul n'avait envisagé jusqu'ici que l'agrine puisse exercer un rôle majeur sur une voie de communication intercellulaire autre que la transmission synaptique.

Dans un article récent [11], nous décrivons, sur le modèle de la synapse cholinergique entre le nerf splanchnique et les cellules chromaffines de la glande médullo-surrénale, un rôle nouveau et tout à fait inattendu de la protéine agrine comme facteur essentiel impliqué dans la transition entre couplage électrique et transmission synaptique. Les cellules chromaffines de la glande médullo-surrénale sont responsables de la sécrétion de catécholamines (adrénaline, noradrénaline), hormones-clés de la réponse adaptative de l'organisme face aux variations de l'environnement. Chez le rat adulte, le stimulus d'origine centrale est convoyé aux cellules chromaffines *via* le nerf splanchnique. La sécrétion de catécholamines est alors principalement régulée par l'acétylcholine libérée par les termi-

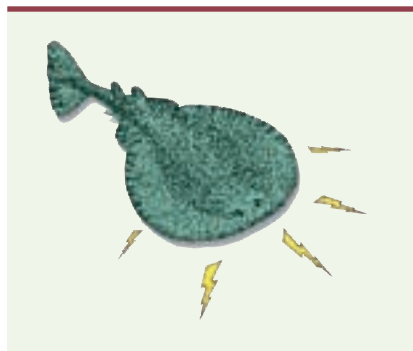


Figure 1. Poisson torpille *Torpedo californica*.

naisons du nerf splanchnique (contrôle neurogénique). Chez le rat nouveau-né, cette transmission synaptique est immature, et, de fait, le contrôle neurogénique de la libération de catécholamines n'est pas encore fonctionnel. Dans ces conditions, la communication intercellulaire par jonctions gap est prédominante et assure la propagation des informations au sein du tissu sécrétoire [12]. À l'image du système nerveux central, la période de synaptogenèse de la glande surrénale s'accompagne donc d'une transition entre couplage jonctionnel et couplage synaptique, ce qui fait du tissu médullo-surrénalien une préparation biologique de choix pour l'étude des mécanismes impliqués dans le remodelage physiologique des

communications intercellulaires. Nos travaux ont permis d'identifier l'agrine comme acteur central de ce processus. Tandis que l'agrine n'est que faiblement détectée dans la glande médullo-surrénale à la naissance, elle est fortement exprimée au niveau des lobules de cellules chromaffines chez le rat adulte [11]. De plus, l'expression d'agrine est régulée au cours du développement selon un décours temporel qui suit la période de réduction du couplage jonctionnel et d'acquisition progressive du contrôle neurogénique *via* l'établissement de contacts synaptiques matures. De manière remarquable, notre étude a surtout permis de montrer que l'agrine participe aux processus de maturation physiologique des communications

intercellulaires. Ainsi, une application exogène d'agrine *in situ* sur des tranches de glandes surrénales de rats nouveau-nés est suivie de deux effets, séquentiels et opposés sur la communication jonctionnelle et la transmission synaptique. En effet, en quelques minutes, l'agrine réduit d'environ 50 % le couplage électrique entre les cellules chromaffines, et ce *via* une activation de kinases de la famille src. Puis, dans l'heure qui suit, l'agrine favorise la transmission synaptique cholinergique en modifiant notamment la distribution des récepteurs nicotiniques insérés dans la synapse [11]. Il est à noter que ces changements reproduisent l'état des communications intercellulaires tel qu'il est observé chez le rat adulte.

L'ensemble de cette étude permet de proposer l'hypothèse suivante. Par son action double et surtout séquentielle sur le couplage jonctionnel et la transmission synaptique, l'agrine contribue à favoriser, chez le rat nouveau-né, l'acquisition du contrôle neurogénique du couplage stimulation-sécrétion de la glande médullo-surrénale : en réduisant l'échange d'informations empruntant la voie des jonctions gap, et en induisant l'agrégation des récepteurs nicotiniques post-synaptiques, l'agrine permet aux cellules chromaffines d'être sous le contrôle principal, mais néanmoins non exclusif, des neurotransmetteurs (notamment l'acé-

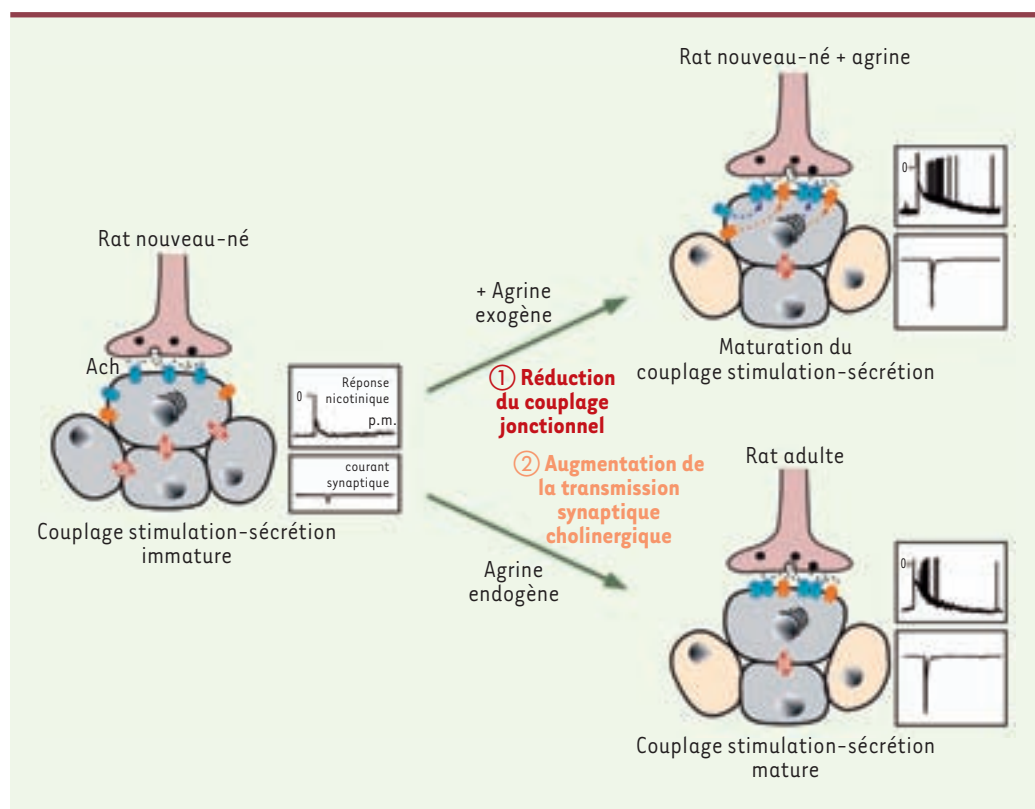


Figure 2. Effets de l'agrine sur les communications intercellulaires dans la glande surrénale de rat nouveau-né. En diminuant le couplage jonctionnel entre les cellules chromaffines puis en augmentant l'efficacité de la transmission synaptique nicotinique, l'agrine contribue fortement à la maturation du contrôle neurogénique du tissu médullo-surrénalien du rat nouveau-né qui présente alors un couplage stimulation-sécrétion comparable à celui du rat adulte. La réponse nicotinique présentée correspond à un enregistrement électrophysiologique des variations de potentiel induite par une application brève (100 ms) et localisée de nicotine, agoniste cholinergique (100 μ m) au voisinage d'une cellule chromaffine. ACh : acétylcholine ; pm : potentiel de membrane.



tylcholine) libérés par voie synaptique, à l'image de ce qui est observé chez l'animal adulte (Figure 2).

Plus généralement, nous proposons que ce nouveau rôle de l'agrine en tant que régulateur des communications intercellulaires et particulièrement du couplage électrique jonctionnel, pourrait être étendu au système nerveux central, notamment lors du développement ou chez l'adulte lors de situations physiopathologiques associées à un remodelage des connexions synaptiques. ♦

An unexpected role for agrin on cell-to-cell coupling during synaptogenesis

RÉFÉRENCES

1. Nitkin RM, Smith MA, Magill C, et al. Identification of agrin, a synaptic organizing protein from *Torpedo* electric organ. *J Cell Biol* 1987; 105 : 2471-8.
2. Wallace BG. Agrin-induced specializations contain cytoplasmic, membrane, and extracellular matrix-associated components of the postsynaptic apparatus. *J Neurosci* 1989; 9 : 1294-302.
3. Bezakova G, Ruegg MA. New insights into the roles of agrin. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4 : 295-308.
4. Lai KO, Ip NY. Central synapses and neuromuscular junction; same players, different roles. *Trends Genet* 2003; 19 : 395-402.
5. Smith MA, Hilgenberg LG. Agrin in the CNS: a protein in search of a function? *Neuroreport* 2003; 13 : 1485-95.
6. Stone DM, Nikolics K. Tissue- and age-specific expression patterns of alternatively spliced agrin mRNA transcripts in embryonic rat suggest novel developmental roles. *J Neurosci* 1995; 15 : 6767-78.
7. Cohen NA, Kaufmann WE, Worley PF, et al. Expression of agrin in the developing and adult rat brain. *Neuroscience* 1997; 76 : 581-96.
8. Böse CM, Qiu D, Bergamaschi A, et al. Agrin controls synaptic differentiation in hippocampal neurons. *J Neurosci* 2000; 20 : 9086-95.
9. Kandler K, Katz LC. Neuronal coupling and uncoupling in the developing nervous system. *Curr Opin Neurobiol* 1995; 5 : 98-105.
10. Personius KE, Balice-Gordon RJ. Loss of correlated motor neuron activity during synaptic competition at developing neuromuscular synapses. *Neuron* 2001; 31 : 395-408.
11. Martin AO, Alonso G, Guériteau NC. Agrin mediates a rapid switch from electrical coupling to chemical neurotransmission during synaptogenesis. *J Cell Biol* 2005; 169 : 503-14.
12. Martin AO, Mathieu MN, Guériteau NC. Evidence for long-lasting cholinergic control of gap junctional communication between adrenal chromaffin cells. *J Neurosci* 2003; 23 : 3669-78.

NOUVELLE

Une source unique de progéniteurs musculaires

Marie Manceau, Christophe Marcelle, Jérôme Gros

Laboratoire de Génétique et de physiologie du développement (LGPD), Institut de Biologie du développement de Marseille (IBDM), CNRS UMR 6545, Université de la Méditerranée, Campus de Luminy, case 907, 13288 Marseille Cedex 09, France. marcelle@ibdm.univ-mrs.fr

> Les muscles squelettiques de l'adulte sont composés de fibres post-mitotiques plurinucléées possédant des propriétés contractiles. À ces fibres musculaires sont associées des cellules souches musculaires adultes appelées cellules satellites. Ces cellules sont la plupart du temps quiescentes ; elles sont reconnaissables à leur localisation entre la lame basale et le sarcolemme des fibres musculaires ainsi qu'à l'expression de marqueurs moléculaires tels que Pax7 et M-cadhérine (pour revue, voir [1]). Les cellules satellites sont activées à la suite d'une lésion de la fibre musculaire provoquée par une blessure, un effort intense ou au cours de myopathies entraînant la dégénérescence des fibres. Une fois activées, les cellules satellites entrent en proliféra-

tion, se différencient et fusionnent pour régénérer les fibres endommagées. Une partie des cellules en prolifération retourne toutefois à l'état quiescent, permettant ainsi le maintien du *pool* de cellules. Ces cellules souches ont donc un rôle crucial pour la croissance et la régénération musculaire. Cependant, leur origine embryonnaire et leur mise en place au sein des muscles étaient sujettes à controverse [1].

Des expériences anciennes, réalisées dans le groupe de Madeleine Kieny, avaient analysé l'origine embryonnaire des cellules satellites chez l'oiseau [2], grâce à l'utilisation de la technique de transplantation hétérospecificque de tissus d'embryons de caille dans celui de poulet (greffe caille-poule, mise au point par Nicole le Douarin [3]). Cette technique

utilise la propriété qu'ont les cellules de caille d'être reconnaissables des cellules de poulet par leur morphologie. Cette différence permet donc d'analyser le devenir des tissus transplantés au cours du développement embryonnaire. Pour tester la capacité des somites (les somites sont des structures embryonnaires mésodermiques segmentaires situées de part et d'autre du tube neural de l'embryon) à donner naissance aux cellules satellites, Armand et al. [2] ont remplacé des somites d'embryons de poulet à 2 jours de développement par des somites de caille du même stade. Ils ont observé que de nombreuses cellules satellites présentes au sein des muscles de poulet chimère au stade fœtal présentaient des caractéristiques morphologiques de cel-