

Structure et expression tissulaire spécifique du gène codant pour le récepteur de l'hormone parathyroïdienne

Han S. Lee
Kimberly A. McCuaig
John H. White

Le récepteur de l'hormone parathyroïdienne appartient à une vaste famille de récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G. Il peut interagir avec deux ligands, l'hormone parathyroïdienne (PTH) et l'hormone dite *PTH related peptide* (PTHrP), et contrôle ainsi des réponses physiologiques variées. La voie de signalisation impliquant PTHrP et le récepteur est essentielle au développement normal du squelette embryonnaire. Chez l'adulte, PTH interagit avec les récepteurs des cellules rénales et osseuses pour contrôler la concentration de calcium dans le milieu extracellulaire. Le récepteur de l'hormone parathyroïdienne fait partie d'une famille de récepteurs d'hormones peptidiques. L'expression du gène codant pour ce récepteur est contrôlée par au moins deux promoteurs. L'activité du promoteur amont est restreinte au rein. L'étude de la régulation de l'expression de ce gène chez la souris offre un nouveau regard sur certaines anomalies de l'homéostasie du calcium chez l'homme.

ADRESSE

H.S. Lee, K.A. McCuaig: *maîtres ès sciences, assistants de recherche*. J.H. White: *professeur adjoint*. Département de physiologie, université McGill, 3655, rue Drummond, Montréal, H3G 1Y6, Canada.

L'hormone parathyroïdienne (PTH) et l'hormone dite *PTH related peptide* (PTHrP) activent des réponses physiologiques différentes en se fixant au même récepteur, le récepteur de l'hormone parathyroïdienne. Les séquences de PTH et PTHrP ont peu d'analogies, à l'exception de 34 acides aminés à l'extrémité N-terminale. Cette région est responsable de la fixation au récepteur et une structure semblable se retrouve dans

de nombreux peptides (*m/s n° 1, vol. 8, p. 84*): la calcitonine, le glucagon, le GLP (*glucagon-like peptide*), le VIP (*vasoactive intestinal peptide*), la sécrétine, le GIP (*gastric inhibitory peptide*), le CRH (*corticotropin releasing hormone*), le PACAP (*pituitary adenylate cyclase activating peptide*), et l>IDP (*insect diuretic peptide*). Les études structurales ont suggéré que ces domaines pourraient former un motif hélice-boucle-hélice [1]. PTH est produit exclusivement par la glande parathyroïdienne, et contrôle

RÉFÉRENCES

1. Nissenson RA, Strewler GJ. Molecular mechanism of action of PTHrP. In: Halloran BP and Nissenson RA eds. *Parathyroid hormone-related peptide: normal physiology and its role in cancer*. Boca Raton: CRC Press, 1992: 145-68.
2. Jüppner H, Abou-Samra AB, Freeman MW, Kong XF, Schipani E, Richards J, Kolarowski Jr LF, Hock J, Potts Jr JT, Kronenberg HM, Segre G. A G protein-linked receptor for parathyroid hormone and parathyroid hormone related peptide. *Science* 1991; 254: 1024-6.
3. Abou-Samra AB, Jüppner H, Force T, Freeman MW, Kong XF, Schipani E, Urena P, Richards J, Bonventre J, Potts Jr JT, Kronenberg HM, Segre G. Expression cloning of a parathyroid hormone/parathyroid hormone related peptide receptor from rat osteoblast-like cells: a single receptor stimulates intracellular accumulation of both cyclic AMP, and inositol trisphosphate and increases intracellular free calcium. *Proc Nat Acad Sci* 1992; 89: 2732-6.
4. Schipani E, Karga H, Karaplis AC, Hellman P, Xie LY, Potts Jr JT, Kronenberg HM, Segre G, Abou-Samra AB, Jüppner H. Identical complementary deoxyribonucleic acids encode a human renal and bone parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide receptor. *Endocrinology* 1993; 132: 2157-65.
5. Kronenberg H. Parathyroid hormone: Mechanism of action. In: Favus MJ ed. *Primer on metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 2nd edition. New York: Raven Press 1989: 58-60.
6. Stewart AF. Humoral hypercalcemia of malignancy. In: Favus MJ ed. *Primer on metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 2nd edition. New York Raven Press, 1993: 169-173.
7. Hendy GN, Goltzman D. Molecular biology of parathyroid hormone like peptide. In: Halloran BP, Nissenson RA eds. *Parathyroid hormone-related peptide: normal physiology and its role in cancer*. Boca Raton CRC Press, 1992: 25-55.
8. Strewler GD, Nissenson RA. Parathyroid hormone-related protein. In: Favus MJ (ed) *Primer on metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 2nd edition. New York Raven Press, 1993: 61-3.
9. Karaplis AC, Luz A, Glowacki J, Bronson RT, Tybulewicz VLJ, Kronenberg HM, Mulligan RC. Lethal skeletal dysplasia from targeted disruption of the parathyroid hormone-related peptide gene *Genes Dev* 1994; 8: 277-89.
10. Silve C. *Parathyroid hormone related peptide, une nouvelle hormone*. *médecine/sciences* 1991; 7: 52-7.
11. Lanske B, Karaplis A, Luz A, Mulligan R, Kronenbourg H. Characterization of mice homozygous for the PTH/PTHrP receptor null mutation. *J Bone Min Res* 1994; 9: S121.
12. Thiede MA, Rodan GA. Expression of a calcium-mobilizing parathyroid hormone-like peptide in lactating mammary tissue. *Science* 1988; 242: 278-80.

la concentration de calcium dans le milieu extracellulaire. PTH agit de façon endocrine et son action est essentiellement restreinte aux cellules rénales et osseuses où elle interagit avec des récepteurs situés à la surface des cellules [2-5]. PTHrP, quant à lui, a été identifié comme agent responsable de l'hypercalcémie associée aux tumeurs malignes [6-10]. Des expériences d'inactivation génique menées récemment chez la souris ont montré que PTHrP et le récepteur de l'hormone parathyroïdienne sont indispensables au développement normal du squelette [11, 12]: ils permettent la prolifération et à la différenciation normale des chondrocytes, qui précèdent l'ossification du squelette. PTHrP est sécrété par plusieurs tissus, dont le cœur, le foie, les glandes mammaires, la peau, les poumons, les os, les reins, le pancréas, la vessie, les muscles vasculaires lisses, et les testicules (*Tableau I*). PTHrP agit dans la plupart des cas de façon autocrine ou paracrine [13-15]. Dans les conditions physiologiques normales, la concentration de PTHrP libre dans la circulation est indétectable. La fonction physiologique normale de PTHrP chez l'adulte est mal connue, mais il semble peu vraisemblable que PTHrP joue un rôle dans l'homéostasie du calcium sanguin.

Tout comme PTHrP, le récepteur de l'hormone parathyroïdienne est synthétisé dans de nombreux tissus (*Tableau I*) [16-20]. Dans le rein, le récepteur est présent au niveau du glomérule et à la surface apicale des tubules distaux et des tubules proximaux contournés, ainsi que dans les os, à la surface des cellules de la lignée ostéoblastique. Les ADNc codant pour les récepteurs chez l'opossum, le rat et l'homme ont été clonés et caractérisés. La protéine appartient à la grande famille de récepteurs couplés aux protéines G, et contient sept domaines transmembranaires potentiels [21]. La fixation du ligand au récepteur stimule la production d'AMP cyclique ainsi que d'inositol 1,4,5-triphosphate [3]. La contribution des deux voies de transmission du signal aux réponses physiologiques des deux hormones commence à être élucidée. Le récepteur n'est pas couplé aux deux voies de signalisation avec la même efficacité. Les études effectuées sur des cellules rénales en culture ont indiqué que l'adénylyl cyclase est stimulée par PTH avec un $K_{1/2}$ de ≈ 1 mM [22], tandis que la protéine kinase C est stimulée à des concentrations nettement plus basses (≈ 10 pM) [23, 24]. La concentration de PTH dans la circulation étant d'environ 10 pM, la stimulation de la protéine kinase C

Tableau I
DISTRIBUTION TISSULAIRE DE LA SYNTHÈSE DE L'HORMONE PARATHYROÏDIENNE (PTH), DE L'HORMONE DITE PTHrP, ET DE LEUR RÉCEPTEUR COMMUN

	PTH	PTHrP	Récepteur
Glande parathyroïde	+		
Os		+	+
Rein		+	+
Placenta		+	+
Poumon		+	+
Foie		+	+
Cœur		+	+
Cerveau		+	+
Intestin		+	+
Vessie		+	+
Testicule		+	+
Ovaire		+	+
Utérus		+	+
Rate		+	+
Peau		+	+
Glande mammaire		+	+

RÉFÉRENCES

13. Ikeda K, Mangin M, Dreyer BE, Webb AC, Posillico JT, Stewart AF, Bander NH, Weir EC, Inogna KL, Broadus AE. Identification of messenger ribonucleic acids encoding parathyroid hormone-like peptide in normal human and animal tissues with abnormal expression in human parathyroid adenomas. *J Clin Invest* 1988; 81: 2010-4.
14. Moniz C, Burton PBJ, Malik AN, Dixit M, Banga JP, Nicolaidis K, Quirke P, Knight DE, McGregor AM. Parathyroid hormone-related peptide in normal human development. *J Mol Endocrinol* 1950; 5: 259-66.
15. Kremer R, Karaplis AC, Henderson J, Gulliver W, Banville D, Hendy GN, Goltzman D. Regulation of parathyroid hormone-like peptide in cultured normal human keratinocytes. *J Clin Invest* 1991; 87: 884-93.
16. Rouleau MF, Warshawsky H, Goltzman D. Parathyroid hormone binding *in vivo* to renal, hepatic and skeletal tissues of the rat using a radioautographic approach. *Endocrinology* 1986; 118: 919-26.
17. Amizuka N, Warshawsky H, Karaplis A, Goltzman D. Localization of gene expression of PTHrP and of the PTH/PTHrP receptor in normal adult bone tissues: consequences for bone formation in PTHrP-deficient animals. *J Bone Min Res* 1994; 9: S128.
18. Rouleau MF, Mitchell J, Goltzman D. *In vivo* distribution of parathyroid hormone receptors in bone. Evidence that the primary osseus target cell is not the mature osteoblast. *Endocrinology* 1988; 123: 187-94.
19. Goltzman D, Hendy GN. Parathyroid hormone. In: Becker KL ed. *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism*. Philadelphia: J.B. Lippincott Co, 1990: 402-12.
20. Urena P, Kong XF, Abou-Samra AB, Jüppner H, Kronenberg HM, Potts Jr JT, Segre G. Parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide receptor messenger ribonucleic acids are widely distributed in rat tissues. *Endocrinology* 1993; 133: 617-23.
21. Bockaert J. Les récepteurs à sept domaines transmembranaires: physiologie et pathologie de la transduction. *médecine/sciences* 1995; 11: 382-94.
22. Rabbani SA, Mitchell J, Roy DR, Hendy GN, Goltzman D. Influence of amino terminus on *in vitro* and *in vivo* biological activity of synthetic parathyroid hormone-like peptides of malignancy. *Endocrinology* 1988; 130: 29-36.
23. Azarani A, Goltzman D, Orlowski J. Parathyroid hormone and parathyroid hormone related peptide inhibit the apical Na^+/H^+ exchanger NHE-3 isoform in renal cells (OK) *via* a dual signalling cascade involving protein kinase A and C. *J Biol Chem* 1995; sous presse.
24. Mrkic B, Forgo J, Murer H, Helmle-Kolb C. Apical and basolateral Na^+/H^+ exchange in cultured murine proximal tubule cells (MCT): effect of parathyroid hormone. *J Membr Biol* 1992; 130: 205-17.

devrait être prépondérante dans les conditions physiologiques. Cependant, les études cliniques et génétiques menées chez l'homme ont impliqué la signalisation par l'AMP cyclique dans les réponses physiologiques à PTH (*voir plus bas*). En ce qui concerne PTHrP, il est difficile d'estimer les concentrations locales de l'hormone et donc les contributions relatives des deux voies dans la transmission du signal PTHrP. En outre, il est possible que les deux voies ne soient pas toutes deux actives dans tous les tissus exprimant le récepteur. Cette hypothèse a été confortée par des expériences menées sur des cultures cellulaires. Par exemple, dans la lignée murine rénale MCT (dérivée des tubules proximaux contournés du rein), le signal relayé par PTH ne semble emprunté que par la voie impliquant l'inositol 1,4,5-triphosphate [24]. PTH et PTHrP modulent donc diverses réponses physiologiques en se fixant au même récepteur. Dans les conditions physiologiques normales, la spécificité de PTHrP est assurée par son action autocrine ou paracrine. En revanche, PTH agit de façon endocrine, mais n'a apparemment pas d'effet physiologique sur les cellules cibles de PTHrP. La spécificité de l'action de PTH sur les cellules rénales et osseuses représente donc un

paradoxe majeur qui reste à résoudre.

Clonage et structure du gène

Étant donné sa large distribution tissulaire et les nombreuses fonctions physiologiques imputées au récepteur de l'hormone parathyroïdienne, nous nous sommes intéressés aux mécanismes qui contrôlent sa synthèse. Les séquences chromosomiques du gène codant pour le récepteur de souris [25] comptent dix-sept exons, dont trois contiennent les séquences 5' non traduites (U1-U3; *figure 1*; et voir plus bas). L'exon U3 est suivi de l'exon SS qui code pour la séquence signal. Le domaine extracellulaire du récepteur est codé par quatre exons (E1-E4), et le domaine codant pour les sept domaines transmembranaires s'étend sur huit exons (T1-T8). La queue cytoplasmique C-terminale est, elle aussi, codée par un seul exon (C) qui contient, de plus, la séquence 3' non traduite. Cette organisation génique est conservée chez le rat et chez l'homme [26].

Une analyse de la structure du gène a révélé plusieurs aspects intéressants [25]. Dans la partie qui code pour la région transmembranaire, trois des huit limites exon-intron se trouvent dans les séquences transmembra-

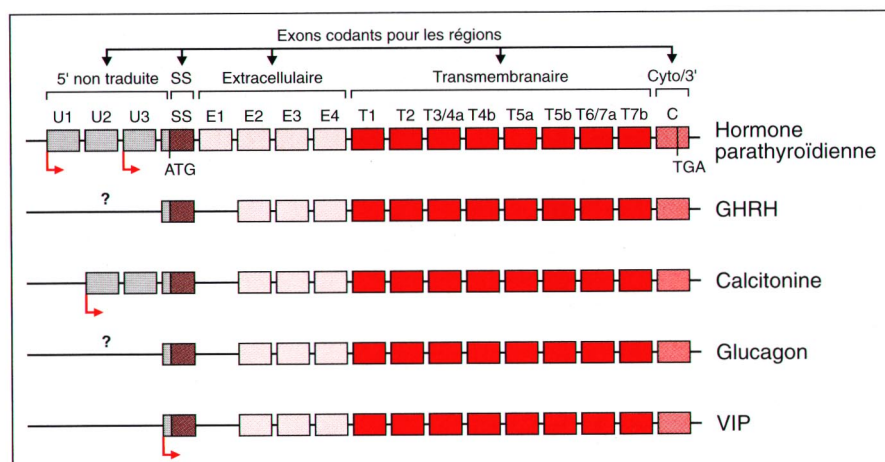


Figure 1. Représentation schématique de la structure génomique du récepteur de l'hormone parathyroïdienne, ainsi que celles des récepteurs de GHRH (growth hormone releasing hormone), de la calcitonine, de glucagon, et du VIP (vasoactive intestinal peptide). La position des promoteurs est marquée par une flèche. Les exons codant pour les séquences 5' non traduites, la séquence signal, les domaines extracellulaires, les domaines transmembranaires, et la région cytoplasmique sont indiqués respectivement par U, SS, E, T et C.

RÉFÉRENCES

25. McCuaig KA, Clarke JC, White JH. Molecular cloning of the gene encoding the mouse parathyroid hormone/parathyroid hormone related peptide receptor. *Proc Nat Acad Sci USA* 1994; 91: 5051-5.

26. Kong XF, Schipani E, Lanske B, Joun H, Karperian M, Defize LHK, Jüppner H, Potts Jr JT, Segre GV, Kronenberg HM, Abou-Samra AB. The rat, mouse and human genes encoding the receptor for parathyroid hormone and parathyroid hormone related peptide are highly homologous. *Biochem Biophys Res Comm* 1994; 200: 1290-9.

27. Lin SC, Lin CR, Gukovsky I, Lulis AJ, Sawchenko PE, Rosenfeld MG. Molecular basis of the *little* mouse phenotype and implications for cell type-specific growth. *Nature* 1993; 364: 208-13.

28. Zolnierowicz S, Cron P, Salinas-Toldo S, Fires R, Lin HY, Hemmings BA. Isolation, characterization and chromosomal localization of the porcine calcitonin receptor gene. *J Biol Chem* 1994; 269: 19530-8.

29. Maget B, Tastenoy M, Svoboda M. Sequencing of eleven exons in genomic DNA encoding rat glucagon receptor and multiple alternative splicing of its mRNA. *FEBS Lett* 1994; 351: 271-5.

30. Sreedharan SP, Huang JX, Cheung MC, Goetzl EJ. Structure, expression, and chromosomal localization of the type I human vasoactive intestinal peptide receptor gene. *Proc Nat Acad Sci USA* 1995; 92: 2939-43.

31. McCuaig KA, Lee HS, Clarke JC, Assar H, Horsford J, White JH. Parathyroid hormone/parathyroid hormone related peptide receptor gene transcripts are expressed from tissue-specific and ubiquitous promoters. *Nucleic Acids Res* 1995; 23: 1948-55.

32. Schneider H, Feyen JHM, Seuwen K, Movva NR. Cloning and functional expression of a human parathyroid hormone receptor. *Eur J Pharmacol* 1993; 246: 149-55.

33. Levine MA. Parathyroid hormone resistance syndromes. In: Favus MJ ed. *Primer on metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 2nd edition. New York, Raven Press, 1993: 194-200.

34. Chabre O. Une mutation de la protéine G α responsable d'hyper et d'hypofonctionnements endocrines. *médecine/sciences* 1995; 11: 105-8.

35. Schipani E, Weinstein LS, Bergwitz C, Whyte MP, Murray T, Schmidtke J, Kronenberg HM, Segre GV, Jüppner H. Molecular heterogeneity of the PTH/PTHrP receptor in patients with pseudohypoparathyroidism. *J Bone and Min Res* 1993; 8: S132.

36. Suarez F, Lebrun JJ, Lecossier D, Escoubet B, Coureau C, Silve C. Expression and modulation of the parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide receptor messenger ribonucleic acid in skin fibroblasts from patients with type Ib pseudohypoparathyroidism. *J Clin Endocrinol and Metab* 1995; 80: 965-70.

naires (*figure 1*). De plus, les exons sont de longueurs hétérogènes et les introns sont dans trois phases différentes. Les limites exon-intron semblent distribuées au hasard dans les séquences codant pour la région transmembranaire, indiquant que la structure des sept domaines transmembranaires du récepteur ne résulte pas de duplications géniques successives d'un domaine transmembranaire primordial. L'existence de ce genre de structure exon-intron est conforme à l'hypothèse selon laquelle l'introduction des introns est postérieure à l'évolution d'une région transmembranaire primordiale.

La séquence du gène en aval du codon de terminaison ne révèle pas de motif conforme au consensus AA-TAAA, ou aucune autre séquence similaire qui pourrait servir de signal de polyadénylation. L'extrémité 3' isolée de l'ARN messager [25] contient une queue polyA 32 paires de bases en aval d'une séquence très riche en nucléotides A, qui ne présente pas de motif de polyadénylation connu (*figure 2*). Des séquences semblables sont présentes dans les gènes du rat et de l'homme. La position de cette séquence par rapport à la queue polyA, et le fait qu'elle soit très riche en nucléotides A suggèrent qu'elle sert de signal de polyadénylation.

Le gène codant pour le récepteur de l'hormone parathyroïdienne a été le deuxième de sa famille à être cloné, après celui de la GHRH (*growth hormone releasing hormone*) [27]. La comparaison de ces deux gènes révèle une conservation frappante de leurs structures (*figure 1*). Les bordures

exon-intron sont le plus fortement conservées dans la région qui code pour les domaines transmembranaires, là où les deux séquences ont la plus forte analogie. Depuis lors, les gènes codant pour les récepteurs de la calcitonine porcine, le glucagon humain, et pour le VIP ont été caractérisés [28-30] et révèlent des structures semblables (*figure 1*). Ces données permettent de penser que ces séquences ont évolué à partir d'un même gène primordial, confortant l'hypothèse que, tout comme leurs ligands, les récepteurs sont des membres d'une famille conservée.

Région 5' du gène et régulation de l'expression

Nous avons utilisé la technique de protection à la RNase sur l'ARN total de rein pour identifier les régions promotrices du gène [25, 31]. Dans un premier temps, nous avons identifié un promoteur en amont de l'exon U3 [25]. L'exon U3 est analogue à la région 5' non traduite identifiée à partir de l'ADNc du rat. Cette région est très riche en nucléotides G et C et ne contient pas de séquence «TATA» en amont du site d'initiation de la transcription [25]. En revanche, d'une façon caractéristique des promoteurs sans boîte TATA, on trouve plusieurs sites conformes au consensus reconnu par le facteur de transcription Sp1 (*figure 3*). Considérant la distribution étendue du récepteur, et son rôle dans de nombreuses réponses physiologiques, nous avons entrepris d'identifier d'autres promoteurs [31]. Les extré-

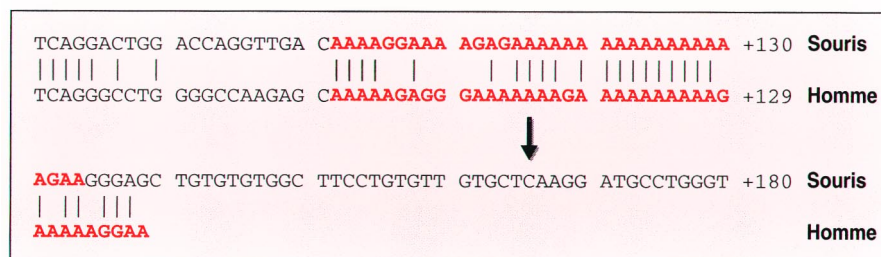


Figure 2. **Séquences génomiques des régions 3' non traduites des gènes murin et humain du récepteur de l'hormone parathyroïdienne.** Les séquences riches en nucléotides A sont indiquées par les lignes. La position du début de la queue poly A dans l'extrémité 3' de l'ADN complémentaire murin est indiquée par la flèche.

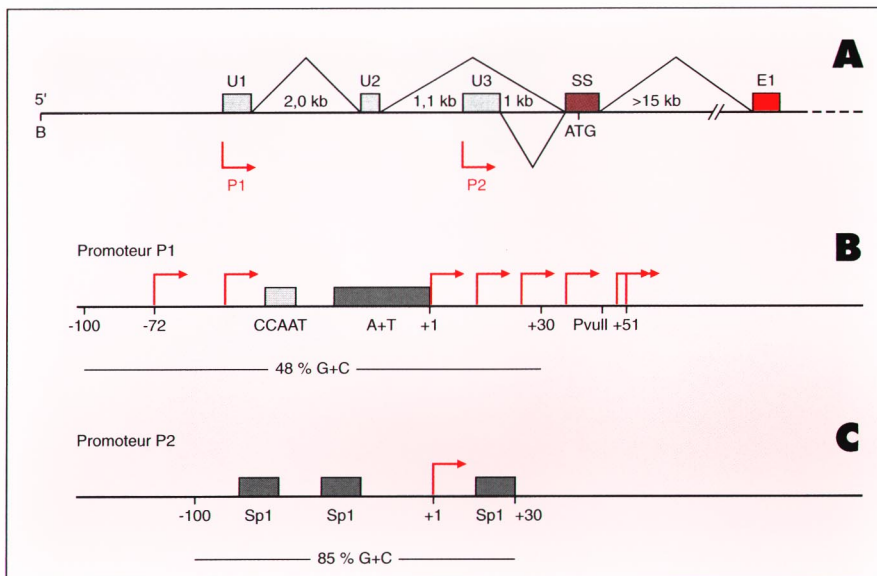


Figure 3. **A. Représentation schématique de la structure génomique de l'extrémité 5' du gène codant pour le récepteur de l'hormone parathyroïdienne.** La position des deux promoteurs P1 et P2 est indiquée par les flèches. L'épissage alternatif des exons jusqu'à l'exon E1 est indiqué. **B et C. Représentation des éléments principaux des deux promoteurs.** Le motif CCAAT et les séquences consensus du facteur de transcription Sp1 sont indiqués, et les sites de démarrage de la transcription sont marqués par des flèches.

mités 5' des transcrits codant pour le récepteur ont été amplifiées par transcription inverse, suivie de l'amplification par PCR. En bref, une amorce complémentaire des séquences de l'exon E1 a été utilisée pour démarrer la synthèse des transcrits inverses à partir de l'ARN total du rein. Après ajout de queues de poly A à leur extrémité 3', les transcrits inverses ont été amplifiés par PCR en utilisant une amorce oligo dT complémentaire de l'extrémité 3' des transcrits ainsi qu'une amorce complémentaire d'une séquence de l'exon SS du gène. Les produits de l'amplification ont été insérés dans un plasmide et plusieurs clones ont été isolés et séquencés. Tous contenaient des séquences provenant de l'exon SS fusionnées à une région 5' non traduite longue d'environ 200 paires de bases. Ces séquences ont 73 % d'identité avec la séquence 5' non traduite d'un ADNc isolé d'une banque rénale humaine [31, 32]. Il est donc fort probable que la région promotrice correspondante soit conservée chez l'homme. Chez la souris, cette région comprend deux exons (U1 et U2) situés en amont de

l'exon U3 identifié préalablement (figure 3). Ce promoteur (P1) diffère du précédent (P2) par sa composition et par sa complexité. Ainsi, des expériences de protection à la RNase ont révélé plusieurs sites de démarrage de la transcription qui s'étendent sur plus de 100 paires de bases [31]. De plus, cette région n'est pas riche en nucléotides G et C (figure 3).

Le fait que les séquences de deux promoteurs soient très différentes suggère qu'ils puissent être contrôlés de façon indépendante. Cette hypothèse a été confirmée par l'étude de la distribution de l'expression à partir de chaque promoteur. Des expériences de protection à la RNase ont été réalisées avec des ARN totaux isolés à partir de plusieurs tissus de souris [31]. Bien que la liste des tissus analysés ne soit pas exhaustive (Tableau II), il est clair que le promoteur P2 est actif dans tous les tissus examinés, alors que l'activité de P1 est beaucoup plus restreinte. L'expression de P1 est importante dans le rein, et est nettement moindre dans le foie (approximativement 1 % du niveau du rein). Tous les sites de mise en route de la transcription par

P1 identifiés dans le rein sont actifs dans le foie. Nous estimons que 90 % des ARNm détectés dans le rein résultent de l'activité du promoteur P1. En outre, nous n'avons pas réussi jusqu'à présent à détecter une activité de P1 dans les cellules osseuses ou dans des lignées cellulaires osseuses. L'étude de la régulation de l'activité des deux promoteurs est en cours dans notre laboratoire.

Expression du récepteur et syndromes de résistance à l'hormone parathyroïdienne

Le syndrome de pseudohypoparathyroïdisme (PHP) comprend un certain nombre d'anomalies dans les voies de transmission du signal PTH n'impliquant pas directement une réduction de la synthèse de l'hormone parathyroïdienne [33]. Nous avons mentionné plus haut que l'activation du récepteur entraîne l'augmentation des concentrations d'AMPc, de diacylglycérol ou d'inositol triphosphate. Les cas de PHP identifiés ne sont pas associés à une diminution de la production de diacylglycérol ou d'inositol triphosphate à la suite de l'activation du récepteur, mais plutôt

Promoteur	P1	P2
Rein	++++	++
Ostéoblastes	-	+
MC3T3	-	+
Cerveau	-	+
Cœur	-	+
Foie	+	+
Poumon	-	+
Rate	-	+
Vessie	-	+

L'activité des promoteurs a été analysée par des techniques de protection à la RNase à partir d'ARN isolé directement des tissus indiqués sauf pour les cellules osseuses, où l'on a utilisé des ostéoblastes en culture primaire, ou une lignée ostéoblastique murine MC3T3.

à un dérèglement de la voie de transmission du signal contrôlée par l'AMPc. Les cas de PHP sont divisés en deux catégories, les types I et II. Dans le syndrome de PHP de type II, aucune réponse physiologique à PTH n'est observée, bien que la fixation de l'hormone au récepteur stimule normalement la production d'AMPc. Le défaut de signalisation se trouve donc vraisemblablement en aval de l'activation de l'adénylyl cyclase. En revanche, le PHP de type I est associé à un défaut de production d'AMPc. Dans le PHP de type Ia, qui est le mieux caractérisé (*m/s n° 2, vol. 8, p. 184*), la production de la protéine G α est diminuée de 50 % par rapport à la normale [34]. La protéine G α est couplée au récepteur et elle est requise pour la stimulation de la production d'AMPc. Plusieurs mutations hétérozygotes ont été trouvées dans le gène codant pour G α chez des individus affectés par ce syndrome. Les patients atteints de PHP de type Ic sont rares et présentent une résistance à de multiples hormones. On a suggéré que le syndrome serait associé à un défaut de l'adénylyl cyclase [33].

Dans le syndrome PHP de type Ib la protéine G α est normale. Il semble que l'activité du récepteur de l'hormone parathyroïdienne soit directement affectée [33]. Les patients atteints de PHP de type Ib ont un niveau élevé de PTH et présentent des lésions du squelette semblables à celles observées chez les sujets atteints d'hyperparathyroïdisme (*m/s n° 6, vol. 11, p. 920*), indiquant que le récepteur est actif dans les cellules osseuses. En revanche, la production d'AMPc rénal n'est pas stimulée par PTH chez ces patients, ce qui suggère que le récepteur ne serait pas synthétisé ou serait inactif dans les cellules rénales. L'analyse d'ADN provenant de patients atteints de PHP de type Ib n'a pas permis de mettre en évidence de mutations ponctuelles dans la région codante du gène du récepteur [35]. En outre, des expériences récentes menées sur des fibroblastes prélevés sur ce même type de patient ont montré une corrélation entre une résistance à PTH et une diminution de l'expression de l'ARNm codant pour le récepteur [36], indiquant que, dans le PHP de type Ib, la synthèse du récepteur serait affectée plutôt que son activité.

Ces observations sont conformes à un modèle de PHP de type Ib dans lequel la synthèse du récepteur serait normale dans les cellules osseuses mais déficiente dans les cellules rénales. Nos résultats montrent que l'expression du gène de souris est sous le contrôle de deux promoteurs, dont un, P1, est spécifique du rein. L'activité de P1 produit approximativement 90 % des transcrits rénaux détectés qui codent pour le récepteur [31]. La suppression de l'activité de P1, ou de la production des transcrits intacts provenant de P1, donnerait lieu à une réduction dramatique de l'expression du gène codant pour le récepteur dans les cellules rénales, alors qu'elle ne serait pas affectée dans les cellules osseuses. Étant donné qu'il est probable que la région promotrice P1 soit conservée chez l'homme [31, 32], ces observations pourraient représenter une base génétique pour le défaut dans la transmission du signal PTH observé dans le PHP de type Ib. Nos recherches actuelles sont orientées vers l'analyse comparative de la région 5' du gène humain chez des individus normaux et chez les patients affectés par le PHP de type Ib. L'objectif de cette recherche est d'identifier des mutations génétiques qui pourraient entraîner une réduction de l'expression du gène dans les cellules rénales ■

Summary

Structure and tissue-specific expression of the parathyroid hormone receptor gene

The parathyroid hormone receptor is a member of a vast family of G protein-coupled receptors containing seven transmembrane domains. It is the primary target of two ligands, parathyroid hormone (PTH) and PTH related peptide (PTHrP), and as such controls a number of physiological responses. Signaling between PTHrP and the receptor is essential for normal skeletal development in the embryo. In the adult, PTH regulates extracellular fluid calcium levels by interacting with receptors expressed in bone and kidney. The determination of the structure of the mouse parathyroid hormone receptor gene has shown that it is a member of a subfamily of conserved peptide hormone receptors. The gene is expressed in several tissues, and its expression is controlled by at least two promoters. Activity of the upstream promoter is specific to kidney. Our studies provide evidence for the mechanisms which regulate the expression of the parathyroid hormone receptor in multiple tissues in the mouse, and may provide a genetic basis for specific defects in calcium homeostasis seen in humans.

Remerciements

Nous sommes reconnaissants aux Drs Sylvie Mader, Bernard Turcotte, et Joan Bettoun de leur lecture critique de ce manuscrit. Les travaux effectués dans le laboratoire ont été financés par le Conseil de Recherches Médicales du Canada et le Fonds de Recherche en Santé du Québec (FRSQ). JHW est un chercheur-boursier du FRSQ.

TIRÉS À PART

J.H. White.