

M/S : médecine sciences



***Rod-derived cone viability factor* : un espoir de thérapie des dégénérescences rétiniennes ?**

Rod-derived cone viability factor : a clue for therapy of retinitis pigmentosa?

Thierry Lévillard, Saddek Mohand-Saïd, Olivier Poch et José-Alain Sahel

Volume 21, numéro 1, janvier 2005

URI : <https://id.erudit.org/iderudit/009983ar>

[Aller au sommaire du numéro](#)

Éditeur(s)

SRMS: Société de la revue médecine/sciences
Éditions EDK

ISSN

0767-0974 (imprimé)
1958-5381 (numérique)

[Découvrir la revue](#)

Citer cet article

Lévillard, T., Mohand-Saïd, S., Poch, O. & Sahel, J.-A. (2005). *Rod-derived cone viability factor* : un espoir de thérapie des dégénérescences rétiniennes ? *M/S : médecine sciences*, 21(1), 22–24.

Tous droits réservés © M/S : médecine sciences, 2005

Ce document est protégé par la loi sur le droit d'auteur. L'utilisation des services d'Érudit (y compris la reproduction) est assujettie à sa politique d'utilisation que vous pouvez consulter en ligne.

<https://apropos.erudit.org/fr/usagers/politique-dutilisation/>

érudit

Cet article est diffusé et préservé par Érudit.

Érudit est un consortium interuniversitaire sans but lucratif composé de l'Université de Montréal, l'Université Laval et l'Université du Québec à Montréal. Il a pour mission la promotion et la valorisation de la recherche.

<https://www.erudit.org/fr/>

cours du développement [7-9]. Les analyses phénotypiques des souris invalidées pour CDK4/6 et les cyclines D ayant été réalisées à des stades tardifs du développement, des phénomènes compensatoires ont pu se produire. L'étude de stades plus précoces du développement ainsi que l'inactivation ciblée dans le temps de ces gènes devraient permettre de préciser les fonctions et les spécificités tissulaires de ces acteurs du cycle cellulaire. ♦

Cycling without D-type cyclin

REMERCIEMENTS

Je remercie le Pr B. Ducommun pour son aide à la rédaction du manuscrit.

RÉFÉRENCES

1. Sherr CJ, Roberts JM. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev* 1999; 13: 1501-12.
2. Rane SG, Dubus P, Mettus RV, et al. Loss of Cdk4 expression causes insulin-deficient diabetes and Cdk4 activation results in β -islet cell hyperplasia. *Nat Genet* 1999; 22: 44-52.
3. Tsutsui T, Hesabi B, Moons DS, et al. Targeted disruption of CDK4 delays cell cycle entry with enhanced p27(Kip1) activity. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 7011-9.
4. Malumbres M, Sotillo R, Santamaria D, et al. Mammalian cells cycle without the D-type cyclin-dependent kinases Cdk4 and Cdk6. *Cell* 2004; 118: 493-504.
5. Ciemerych MA, Kenney AM, Sicinska E, et al. Development of mice expressing a single D-type cyclin. *Genes Dev* 2002; 16: 3277-89.
6. Kozar K, Ciemerych MA, Rebel VI, et al. Mouse development and cell proliferation in the absence of D-cyclins. *Cell* 2004; 118: 477-91.
7. Lobjois V, Benazeraf B, Bertrand N, et al. Specific regulation of cyclins D1 and D2 by FGF and Shh signaling coordinates cell cycle progression, patterning, and differentiation during early steps of spinal cord development. *Dev Biol* 2004; 273: 195-209.
8. Wianny F, Real FX, Mummery CL, et al. G1-phase regulators, cyclin D1, cyclin D2, and cyclin D3: up-regulation at gastrulation and dynamic expression during neurulation. *Dev Dyn* 1998; 212: 49-62.
9. Aguzzi A, Kiess M, Ruedi D, Hamel PA. Cyclins D1, D2 and D3 are expressed in distinct tissues during mouse embryogenesis. *Transgenics* 1996; 2: 29-39.
10. Pagano M, Jackson PK. Wagging the dogma: tissue-specific cell cycle control in the mouse embryo. *Cell* 2004; 118: 535-8.

NOUVELLE

Rod-derived cone viability factor : un espoir de thérapie des dégénérescences rétinienne ?

Thierry Lévillard, Saddek Mohand-Saïd, Olivier Poch, José-Alain Sahel

> Les rétinoopathies pigmentaires, qui affectent 40 000 personnes en France, font partie d'une large liste d'affections orphelines jusqu'ici incurables. Chez les personnes atteintes, les bâtonnets sont détruits et, en conséquence, les premiers signes cliniques sont une cécité nocturne et un champ visuel qui se rétrécit en périphérie. Le champ visuel diminue progressivement jusqu'à rendre la vision «tubulaire», traduisant la perte secondaire des cônes qui assurent non seulement la vision colorée, mais aussi la vision à contraste élevé, l'acuité visuelle et toutes les fonctions visuelles en atmosphère lumineuse normale. À mesure que la maladie progresse, la vision centrale se réduit, menaçant le sujet de cécité. L'hétérogénéité génétique des rétinoopathies pigmentaires (<http://www.sph.uth.tmc.edu/Retnet>) et le mode autosom-

me dominant de certaines formes représentent une limitation importante à la thérapie génique corrective. Nous avons privilégié une approche par neuroprotection des cônes, plus à même d'être généralisable à de nombreux gènes et modes de transmission. Les mutations décrites depuis 1990 dans les dystrophies héréditaires rétinienne humaines affectent, dans une très grande proportion, des gènes codant pour des protéines localisées dans le segment externe des bâtonnets [1]. Le lien entre la perte des bâtonnets et la raréfaction des cônes a été étudié sur un modèle murin, la souris *rd1*, qui porte une mutation sur le gène codant pour la phosphodiesterase

T. Lévillard,
S. Mohand-Saïd, J.A. Sahel :
Inserm U.592, Laboratoire de
Physiopathologie cellulaire
et moléculaire de la rétine,
Université Pierre et Marie
Curie, Hôpital Saint-Antoine,
Bâtiment Kourilsky, 184, rue
du Faubourg Saint-Antoine,
75571 Paris Cedex 12,
France.
O. Poch : Institut de
Génétique et de biologie
moléculaire et cellulaire,
BP 163, 67404 Illkirch Cedex,
CU de Strasbourg, France
leveilla@st-antoine.inserm.fr

des bâtonnets [2]. Il s'agit d'une forme récessive de dégénérescence séquentielle bâtonnets-cônes retrouvée chez l'homme. Nos travaux ont montré que, lorsque des couches pures en photorécepteurs étaient transplantées dans l'espace sous-rétinien de souris *rd1* âgées de 5 semaines (à cet âge, il reste très peu de bâtonnets [$< 0,02\%$] mais encore la plupart des cônes), le transplant induit la survie d'un nombre de cônes significativement supérieur (en moyenne 40% , $p < 0,001$) à celui relevé dans la rétine de l'œil congénère, non traitée [3]. Cet effet trophique, constaté à distance du transplant, suggérait l'existence de facteurs diffusibles libérés par les cellules greffées. Des tests effectués *in vitro* par coculture de rétines *rd1* et de rétines normales, ont confirmé cette hypothèse [4, 5]. Des travaux de purification partielle ont montré que l'activité de viabi-

lité est de nature protéique [6]. Ces facteurs protéiques présomptifs ont été désignés sous le nom de *rod-derived cone viability factors* (RdCVF) [7]. La dégénérescence des bâtonnets chez la souris *rd1* – et probablement chez les humains souffrant de rétinopathie pigmentaire – aboutirait à la raréfaction de ces facteurs de viabilité et ainsi, progressivement, à la perte des cônes. Pour identifier les RdCVF, nous avons développé une approche systématique par clonage d'expression fondée sur un test de viabilité des cônes (Figure 1) [8]. Le modèle utilisé est une culture de cellules rétiniennes d'embryons de poulet, cultivées à faible densité et en l'absence

d'agents inducteurs, ce qui conduit à une différenciation en photorécepteurs par défaut de signal [9]. Ces photorécepteurs sont majoritairement des cônes, contrairement à ce qui est observé dans des cultures de cellules de mammifères. Une dégénérescence des cellules post-mitotiques est observée sur une période de plusieurs jours, dégénérescence qui est ralentie lorsque ces cultures sont réalisées en présence de milieu conditionné préparé à partir d'explants rétiniens de souris normales. Une banque d'expression de rétines de souris a été construite. Les plasmides de cette banque ont été transfectés dans des cellules COS et les milieux conditionnés issus de ces cellules

transfectées ont ensuite été récoltés et transférés dans les puits des cultures de cônes dont la viabilité a été mesurée. Un clone qui présentait le plus grand effet a été isolé ; il contenait une phase codante correspondant à une nouvelle protéine sécrétée de 109 acides aminés, que nous avons nommé *rod-derived cone viability factor* [8].

RdCVF présente une homologie avec la famille des thiorédoxines. Le polypeptide isolé est un variant d'épissage d'un nouveau gène (*Txn16*), tronquée dans le motif thiorédoxine et ne possédant pas l'activité thiol-oxydoréductase [10]. L'expression du messenger de RdCVF, qui est restreint à la rétine, est perdue après la perte des bâtonnets. La protéine est retrouvée dans les segments externes des bâtonnets et dans l'espace extracellulaire entourant les photorécepteurs. À plus haute résolution, un marquage plus intense, colocalisant avec la surface des cônes, suggère l'existence d'un site d'affinité pour RdCVF à la surface des cônes [8]. Sur le plan fonctionnel, l'injection de RdCVF purifié dans l'espace sous-rétinien de souris *rd1* après dégénérescence des bâtonnets, aboutit à une protection significative des cônes, sur une période d'une quinzaine de jours. *In vitro*, l'élimination par immunodéplétion de RdCVF résulte en une forte diminution de l'effet protecteur induit par le milieu conditionné.

RdCVF possède les caractéristiques d'un facteur sécrété par les bâtonnets, nécessaire à la survie des cônes, et représente une nouvelle piste thérapeutique pour les rétinites pigmentaires. RdCVF est le second membre d'une famille de protéines représentant des formes tronquées des thiorédoxines avec les caractéristiques des facteurs de croissance [11]. Il semble que, durant l'évolution, le motif protéique thiorédoxine, une protéine sécrétée, ait évolué pour assurer de nouvelles fonctions de communication intercellulaire. ♦

Rod-derived cone viability factor: a clue for therapy of retinitis pigmentosa?

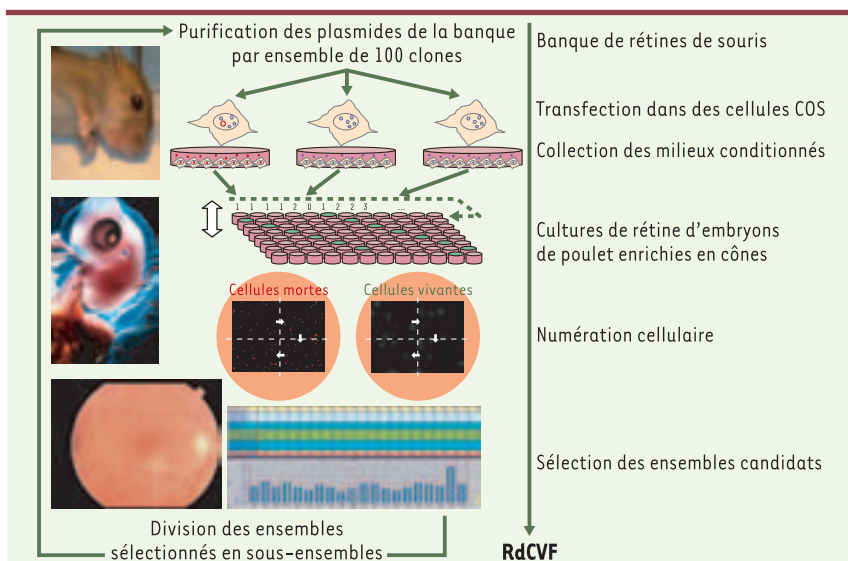


Figure 1. Procédure du clonage par expression, utilisée pour mettre en évidence le rod-derived cone viability factor (RdCVF). Les cellules rétiniennes d'embryons de poulet, cultivées à faible densité et en l'absence d'agents inducteurs, se différencient en photorécepteurs par défaut de signal. Ces cellules sont majoritairement des cônes, contrairement à ce qui est observé dans des cultures de cellules de mammifères. En quelques jours, une dégénérescence des cellules post-mitotiques est observée, dégénérescence qui est ralentie en présence de milieu conditionné préparé à partir d'explants rétiniens de souris normales. Une banque d'expression de rétines de souris a été réalisée et les plasmides transfectés par ensembles de 100 clones dans des cellules COS. Les milieux conditionnés issues de ces cellules transfectées ont été ensuite récoltés et transférés dans les puits des cultures de cônes. Après huit jours, la viabilité des cellules a été mesurée par des sondes fluorescentes grâce à une plate-forme de comptage automatisé. Les ensembles (100 clones) présentant une activité de survie ont été divisés en sous-ensembles de 10 clones, testés à nouveau. Dans un troisième temps, les clones individuels ont été testés afin d'identifier l'ADNc responsable de l'effet de survie observé. Cette procédure a conduit au criblage de 210 000 clones individuels ; elle a permis d'isoler un clone qui contenait une phase codante correspondant à une nouvelle protéine sécrétée, le *rod-derived cone viability factor* (RdCVF).

RÉFÉRENCES

1. Rivolta C, Sharon D, DeAngelis MM, Dryja TP. Retinitis pigmentosa and allied diseases: numerous diseases, genes, and inheritance patterns. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 1219-27.
2. Carter-Dawson LD, La Vail MM, Sidman RL. Differential effect of the rd mutation on rods and cones in the mouse retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1978; 17: 489-98.
3. Mohand-Saïd S, Hicks D, Lèveillard T, et al. Selective transplantation of rods delays cone loss in a retinitis pigmentosa model. *Arch Ophthalmol* 2000; 118: 807-11.
4. Mohand-Saïd S, Deudon-Combe A, Hicks D, et al. Normal retina releases a diffusible factor stimulating cone survival in the retinal degeneration mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 8357-62.
5. Sahel JA., Mohand-Saïd S, Lèveillard T, et al. Rod-cone interdependence: Implications for therapy of photoreceptor cell diseases. *Prog Brain Res* 2001; 131: 649-61.
6. Fintz AC, Audo I, Hicks D, et al. Partial characterization of retina-derived cone neuroprotection in two culture models of photoreceptor degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 818-25.
7. Lèveillard T, Mohand-Saïd S, Fintz AC, et al. The search for rod-dependent cone viability factors, secreted factors promoting cone viability. *Novartis Found Symp* 2004; 255: 117-27.
8. Lèveillard T, Mohand-Saïd S, Lorentz O, et al. Identification and characterization of rod-derived cone viability factor. *Nat Genet* 2004; 36: 755-9.
9. Adler R, Hatlee M. Plasticity and differentiation of embryonic retinal cells after terminal mitosis. *Science* 1989; 243: 391-3.
10. Arner ES, Holmgren A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Eur J Biochem* 2000; 267: 6102-9.
11. Pekkari K, Avila-Carino J, Gurunath R, et al. Truncated thioredoxin (Trx80) exerts unique mitogenic cytokine effects via a mechanism independent of thiol oxido-reductase activity. *FEBS Lett* 2003; 539: 143-8.

NOUVELLE

Un nouveau rôle pour l'aquaporine 3

Gaëlle Bellemère, Otto Von Stetten, Thierry Oddos

Laboratoire de pharmacotoxicologie, Johnson & Johnson Consumer France, Campus de Maigremont, 27100 Val-de-Reuil, France. GBelleme@jacfr.JNJ.com

> Depuis la découverte de l'aquaporine 1 par l'équipe de P. Agre [1], récompensée par le Prix Nobel de chimie en 2003, plus de 200 aquaporines ont été identifiées dans le monde vivant, dont 11 chez les mammifères [2]. Les aquaporines sont constituées de six domaines transmembranaires qui délimitent un canal central présentant une structure typique en sablier [3]. La perméabilité de ce canal permet de distinguer deux grands groupes d'aquaporines: les aquaporines dites «classiques», perméables à l'eau *stricto sensu*, et les aquaglycéroporines, perméables à l'eau, au glycérol ainsi qu'à d'autres solutés de petite taille [4]. Localisées dans de nombreux épithéliums, les aquaporines contribuent essentiellement aux mécanismes d'absorption/excrétion de l'eau et participent à son homéostasie. À titre d'exemple, citons l'aquaporine 2, impliquée dans l'absorption rénale de l'eau et dont les mutations sont à l'origine de 10 % des diabètes néphrogéniques insi-

pides héréditaires [5]. Cependant, des études récentes indiquent que les aquaporines ne seraient pas cantonnées au seul rôle de «passeuses d'eau» des cellules.

L'aquaporine 3 est une aquaglycéroporine présente dans les couches basales des épithéliums de nombreux organes tels que le rein, le poumon ou l'intestin [2]. Dans la peau, l'aquaporine 3 est localisée dans les kératinocytes [6]. Les souris dont le gène de l'aquaporine 3 a été invalidé présentent une perte d'élasticité de l'épiderme, une altération de la barrière cutanée ainsi qu'une diminution de la quantité d'eau contenue dans le *stratum corneum* à l'origine d'une sécheresse prononcée de la peau [7]. L'ensemble de ces observations plaide en faveur d'un rôle de l'aquaporine 3 dans l'homéostasie hydrique de l'épiderme. Cependant, une étude menée par X. Zheng et W. Bollinger-Bollag suggère que l'aquaporine 3, par sa perméabilité au glycérol et en interagissant avec la phospholipase D, pourrait

également intervenir dans les mécanismes de prolifération et de différenciation des kératinocytes [8].

Les auteurs ont démontré, dans des kératinocytes en culture, que l'aquaporine 3 est détectée dans des fractions enrichies en cavéoline 1. Les cavéoles sont impliquées dans la signalisation cellulaire. En particulier, elles contribuent à la régulation de la NO synthase endothéliale et jouent un rôle dans la signalisation calcique [9]. La localisation de l'aquaporine 3 dans les cavéoles permet donc d'envisager une contribution éventuelle de ce canal à certains mécanismes de transduction du signal. À l'appui de cette hypothèse, les auteurs montrent que l'aquaporine 3 coprécipite avec la phospholipase D2, et ce même en présence de détergent, ce qui suggère l'existence d'une interaction protéique directe entre les deux protéines dans les cavéoles. La phospholipase D2 hydrolyse la phosphatidylcholine et engendre l'acide phosphatidique et la choline. En pré-