Journal de la Société de Biologie, 197 (4), 367-373 (2003)

Les récepteurs Tyrosine kinases de *Schistosoma mansoni* : à la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques

Par Jérôme Vicogne & Colette Dissous

U547 INSERM, Institut Pasteur de Lille, 1, rue du Pr Calmette, 59019 Lille Cedex
Correspondance : colette.dissous@pasteur-lille.fr

Reçu le 2 juin 2003

RÉSUMÉ

Malgré les efforts entrepris pour contrôler sa transmission, la schistosomose reste la seconde endémie parasitaire mondiale et représente toujours un véritable problème de santé publique ainsi qu'un handicap pour la croissance économique de bon nombre de pays en voie de développement. Dans le cas de l'infection à *Schistosoma mansoni*, l'apparition de cas de résistance au praziquantel, drogue de choix actuelle pour le traitement de la maladie, représente une menace importante pour la santé des populations et motive la poursuite de recherches visant à la découverte de nouvelles molécules. Les récents succès obtenus en chimiothérapie anticancéreuse avec l'utilisation d'inhibiteurs spécifiques de récepteurs tyrosine kinases (RTK), tel que le récepteur EGF, nous ont conduits à considérer que, d'une manière analogue, les récepteurs aux facteurs de croissance du parasite pourraient être des cibles thérapeutiques potentielles. Trois RTK ont été identifiés chez *S. mansoni* : un récepteur de l'EGF, un récepteur de l'insuline et un récepteur complètement original appartenant probablement à une classe de RTK qui n'avait pas été encore identifiée. Les études structurales et fonctionnelles ont démontré la conservation et les divergences de ces RTK parasitaires et en font des candidats privilégiés en tant que nouvelles cibles chimiothérapeutiques.

SUMMARY *Schistosoma mansoni* Receptor tyrosine kinases: towards new therapeutic targets

In spite of numerous efforts towards the control of its transmission, schistosomiasis still remains an important parasitic disease and represents a serious public health concern and a major economical problem in a lot of developing countries. The detection in different *S. mansoni* endemic areas of resistance to Praziquantel, the only drug currently used against the parasite, was sufficient to motivate actively further research for the discovery of novel drug treatments. Specific inhibitors for tyrosine kinase receptors (such as EGF receptor) are currently used with success as anti-tumor drugs. As cell proliferation and differentiation are essential events in the complex life cycle of the schistosome, we have attempted to consider parasite growth factor receptors as potential targets for a new generation of anti-parasitic agents. Three RTK have been identified in *S. mansoni*: an EGF receptor, an insulin receptor and a third receptor with an original structure probably belonging to a new class of RTK never identified. Structural and functional analyses of the parasite receptors demonstrated the conservation but also the divergences with their vertebrate counterparts, which are therefore excellent candidates for strategies of specific parasite RTK inhibition.

LA SCHISTOSOMOSE : UNE ENDÉMIE MAJEURE QUI S'ÉTEND

En ce début de XXIe siècle, même si de nombreuses épidémies ont été contrôlées, voire éradiquées, les maladies infectieuses constituent toujours un problème majeur de santé publique. Parmi ces infections, les parasitoses, loin d'être en passe d'être maîtrisées, semblent prendre de l'ampleur.

Dans ce contexte, la schistosomose, avec 600 millions de personnes exposées, 200 millions de personnes infestées et près de 200 000 décès directs et indirects par an, reste la deuxième endémie parasitaire mondiale après le paludisme (Hirst & Stapley, 2000).

Cette pathologie particulièrement invalidante est provoquée par un Trématode du genre *Schistosoma* dont la particularité essentielle est d'être gonochorique, c'est-à-dire que les deux sexes sont morphologiquement distincts et portés par des individus différents.

Paradoxalement, la maladie n'est pas directement liée à la présence des adultes dans l'organisme, mais à la dispersion dans l'organisme des œufs pondus par la femelle et

aux lésions qu'ils induisent. Ces lésions sont provoquées par l'activation du système immunitaire lui-même qui cherche à éliminer les œufs, et non par des toxines ou des facteurs de virulence, contrairement à de nombreuses infections.

Les schistosomoses humaines se localisent essentiellement dans des pays en voie de développement ou dans des secteurs où la population est particulièrement défavorisée. La transmission exclusivement aquatique des schistosomoses est favorisée par un sous-équipement sanitaire, les coutumes locales et l'absence d'information des populations exposées.

L'évolution actuelle des aires de répartition des schistosomoses est directement liée aux grands mouvements de population, à l'accroissement démographique et au développement économique des pays concernés. Les modifications écologiques et hydrologiques provoquées par l'Homme, telles que la construction de barrages et l'extension des zones humides (irrigation, aquaculture...), créent, déplacent ou étendent les régions infestées. En effet, ces zones humides offrent un nouvel habitat à l'hôte intermédiaire, mollusque vecteur des formes transmettant le parasite à l'Homme. La menace qui pèse alors sur la population environnante ne concerne pas uniquement la schistosomose, mais également toutes les autres parasitoses à transmission d'origine hydrique telles que le paludisme et les filarioses.

Ainsi, même si dans certaines régions la schistosomose a pu être contrôlée puis éradiquée (Japon, Tunisie, île Maurice...), globalement, la situation s'aggrave, particulièrement en Afrique.

DES TRAITEMENTS, MAIS POUR COMBIEN DE TEMPS ?

La grande force des schistosomes réside principalement dans leur capacité à détourner le système immunitaire. Pour ce faire, deux grandes stratégies sont employées par le parasite : le « mimétisme » moléculaire qui lui permet d'échapper à la reconnaissance par l'hôte, et l'immunosuppression qui paralyse les mécanismes de défense de l'hôte.

De plus, le tégument enveloppant les parasites adultes est lui-même un véritable bouclier face aux attaques du système immunitaire. Le syncytium cellulaire composant ce tégument possède une membrane apicale dite « heptalaminée », c'est-à-dire formée de la superposition de deux feuillets phospholipidiques qui se renouvellent en continu, et empêchent toute adhésion prolongée d'anticorps et de cellules. On comprend dès lors que l'immunité naturelle seule, notamment lors d'une primo-infection, reste quasiment inefficace contre le parasite.

Depuis 1975, l'utilisation de la chimiothérapie a permis de diminuer de manière très significative la morbidité liée à la schistosomose. Néanmoins l'arsenal thérapeutique aujourd'hui disponible reste très limité et semble se restreindre.

Des dérivés de l'antimoine, aux effets secondaires importants, mais aussi des produits comme l'oltipraz®, ou le métrifonate® (Bayer) qui avait été largement utilisés ne sont plus commercialisés également à cause d'effets secondaires graves (OMS, 1998). Actuellement, les deux molécules les plus couramment employées et surtout les plus efficaces sont l'oxamniquine® (Vansil™, Mansil™) et le praziquantel® (Bayer).

L'oxamniquine n'est active que sur *S. mansoni*. Son action paralyse les adultes qui refluent vers la veine porte hépatique où ils sont dégradés. Cette molécule, comme toutes les autres, permet l'élimination des parasites mais n'empêche pas la réinfection.

Le praziquantel (Biltricide™) est la molécule la plus utilisée à l'heure actuelle puisqu'elle est efficace sur de nombreux Trématodes et sur toutes les espèces de schistosomes pathogènes pour l'Homme. Il est utilisable en dose unique et ses effets secondaires sont minimes.

Il s'agit d'une pyrazinoisoquinoline utilisée à l'origine comme anxiolytique et qui a un effet quasi immédiat sur les parasites : il provoque un violent influx calcique dans le tégument et les muscles sous-jacents. Des études récentes ont montré que le praziquantel favorisait l'association entre les sous-unités α et β d'un canal calcique et provoquait son ouverture (Kohn *et al.*, 2001). Le parasite se contracte alors fortement, puis reste paralysé. Les réserves énergétiques s'appauvrissent également très vite (ATP, glucose, glycogène) et le tégument est véritablement décapé. Il s'ensuit une mort rapide du parasite accompagnée d'un relargage massif d'antigènes qui stimulent le système immunitaire et favorisent l'immunité à la réinfection (Stelma *et al.*, 1995).

Mais tout comme l'oxamniquine, le praziquantel ne prévient aucunement la réinfection. De plus, des études épidémiologiques font état d'une résistance du parasite dans certaines régions d'endémie telles que le Sénégal ou l'Egypte (Ernould *et al.*, 1999). Cette notion de résistance reste à préciser puisqu'elle dépend d'autres facteurs tels que le statut immunitaire du malade, sa charge parasitaire, et la variabilité génétique des souches de parasites (Gryseels *et al.*, 2001 ; Picquet *et al.*, 1998). Néanmoins, des expériences réalisées sur des animaux traités avec des doses sub-létales répétées de praziquantel, ont montré que l'on pouvait obtenir rapidement des souches de parasites résistants aux doses couramment utilisées (Pereira *et al.*, 1998). Il est donc à craindre que l'utilisation massive de cette molécule ne provoque l'émergence de souches de parasites résistants dans les années à venir (Doenhoff *et al.*, 2002).

Récemment, de nouvelles molécules (Artesunate, Artemeter) qui présentent l'avantage d'être efficaces contre le paludisme et la schistosomose, deux infections fréquemment associées, viennent d'être découvertes (De Clercq *et al.*, 2000).

L'ESPOIR D'UN VACCIN

Comme nous venons de le voir, même les molécules les plus efficaces ne protègent pas contre la réinfection. Par conséquent, la meilleure alternative possible dans les zones d'endémie serait bien entendu la vaccination.

Les approches classiques, telles que l'injection de cercaires irradiées ou d'extraits parasitaires, n'ont pas été retenues par l'OMS, ces méthodes étant soit inefficaces chez l'Homme, soit inacceptables pour des raisons d'éthique. La caractérisation de protéines recombinantes à visée vaccinale est donc devenue une des voies de recherche depuis 15 ans.

Parmi une vingtaine d'antigènes recombinants, 6 candidats ont été sélectionnés par l'OMS :

la triose phosphate isomérase (Shoemaker *et al.*, 1992a), la paramyosine (Sm97) (Pearce *et al.*, 1988), IrV5 (Irradiated-associated vaccine antigen) (Soisson & Strand, 1993 ; Soisson *et al.*, 1992), Sm23 (Wright *et al.*, 1991), Sm 14 (FABP14, Fatty Acid Binding Protein) (Tendler *et al.*, 1996) et la protéine 28GST (Boulanger *et al.*, 1991).

La glutathion S-transférase de 28 kDa (Balloul *et al.*, 1987) de *S. mansoni* (Sm28 GST) a été caractérisée au laboratoire et c'est la protéine homologue de *S. haematobium* (Sh28 GST) qui fait actuellement l'objet d'essais vaccinaux au Sénégal et au Niger dans le cadre du programme ESPOIR (European Special Program for Operational and Integrated Research). Cette vaccination, dont les phases I et II se sont déjà déroulées avec succès, reste originale dans le sens où elle ne protège pas de l'infestation, mais elle est dite « anti-pathologique ». En effet, les anticorps produits bloquent l'activité enzymatique de la 28 GST qui semble indispensable à la production des œufs et à leur viabilité. Cette vaccination reste associée au traitement chimiothérapeutique (le praziquantel) pour des raisons évidentes d'éthique. Par ailleurs, cette association accroît l'efficacité du vaccin en augmentant la protection à la réinfection.

Par conséquent, l'utilisation de ce vaccin anti-pathologique (Capron, 1998) nécessite, pour une efficacité optimale, l'association d'une chimiothérapie anthelminthique. On comprend dès lors que la recherche de nouvelles molécules contre le parasite reste plus que jamais d'actualité.

LES RÉCEPTEURS TYROSINE KINASES : DE NOUVELLES CIBLES ?

Les RTK sont des récepteurs membranaires qui composent une large famille de molécules régulant les processus-clés du développement embryonnaire, de la différenciation cellulaire et des voies métaboliques.

Les RTK, et les Tyrosines kinases (TK) plus généralement, constituent actuellement des cibles thérapeutiques particulièrement prometteuses, notamment en chimiothérapie anti-cancéreuse.

Une des approches vise à inhiber les TK, très fréquemment impliquées dans les phénomènes de tumorisation, par de petites molécules qui peuvent interférer de manière sélective sur l'activité kinase. Elles permettent ainsi de bloquer la cascade de phosphorylation initiée par les RTK ou, en aval, la transmission et l'amplification de celle-ci par les TK. Ces inhibiteurs de TK (TKIs), appartiennent à la famille des quinazolines et des pyrimidopyrimidines. Ils inhibent l'activité kinase le plus souvent en entrant en compétition avec l'ATP au niveau de son site de liaison situé dans le domaine catalytique, ou plus rarement, en mimant le substrat tyrosine (Blum *et al.*, 2000).

Le développement grandissant de ces molécules très spécifiques a été rendu possible grâce aux progrès et aux informations issues de la cristallographie, de la chimie combinatoire et du screenning à haut débit (Zwick *et al.*, 2001). Les récentes mises en essai clinique de plusieurs molécules extrêmement efficaces suscitent d'énormes espoirs dans le traitement de nombreux cancers. Parmi ces nouveaux composés chimiques, le Glivec/STI571 est probablement le plus populaire puisqu'il a montré son efficacité dans le traitement de certaines leucémies myéloïdes chroniques et aigues, très fréquentes chez l'enfant et provoquées par la surexpression de la TK recombinée Bcr-ABL, ou de mastocytoses dans le cas de mutations ponctuelles du RTK cKIT (Drevs *et al.*, 2003). De même, l'Iressa™ (ZD1839), actuellement en phase III d'essai clinique est capable d'inhiber spécifiquement l'EGF-R humain. La spécificité de ce composé est telle qu'il inhibe l'EGFR à des doses 100 fois inférieures à celles qui sont efficaces sur les autres TK. Par ailleurs, interférant directement sur le domaine tyrosine kinase intracellulaire, ces TKIs permettent d'agir efficacement même sur des récepteurs dont le domaine extracellulaire est muté ou tronqué, c'est-à-dire inaccessible aux anticorps ou autres inhibiteurs agissant à ce niveau (Nahta *et al.*, 2003).

Au regard des découvertes récentes réalisées sur les RTK de divers invertébrés, nous envisageons que ce type de récepteurs puisse être, chez le schistosome, la cible de composés inhibiteurs extrêmement spécifiques capables de discriminer les activités kinases de l'hôte et du parasite. Les cibles potentielles chez *S. mansoni* sont vraisemblablement multiples et déjà quelques protéines TK ont été caractérisées.

LA DIVERSITÉ DES RTK CHEZ LES INVERTÉBRÉS

Les RTK sont présents dans la totalité du règne animal, mais seules quelques familles ont été identifiées chez les espèces les plus primitives telles que l'éponge (Muller & Schacke, 1996) et l'hydre (Miller & Steele, 2000 ; Reidling *et al.*, 2000).

Le nématode *Caenorhaditis elegans* a été le premier organisme multicellulaire à avoir son génome complètement séquencé. Aujourd'hui d'autres génomes, tels que celui de l'Homme et de la Souris, ont été découverts. La comparaison du génome de *C. elegans*, très éloigné d'un point de vue évolutif de ces derniers, a permis de révéler que quelques familles de protéines étaient en fait bien plus diversifiées et complexes chez cet organisme dit « primitif », que chez les vertébrés supérieurs. Parmi ces protéines à la fois conservées et très diversifiées chez *C. elegans*, on distingue la famille des RTK qui com-

prend une quarantaine de membres alors qu'aujourd'hui on estime que leur nombre n'excède pas une soixantaine chez l'Homme (Plowman *et al.*, 1999). Ce chiffre est impressionnant quand on considère qu'il n'existe aucun RTK ou même TK « classique » chez la levure.

Parmi ces RTK, une quinzaine appartient à la famille KIN-15 spécifique de *C. elegans* ; treize possèdent un orthologue (EGFR, IR, etc.) chez les vertébrés, couvrant ainsi 10 des 20 classes de RTK existant chez les vertébrés, et enfin, une dizaine d'autres ne trouvent aucun équivalent chez les vertébrés.

Par conséquent, il semble que le nombre et la complexité de ces RTK n'ont cessé de s'accroître au cours de l'évolution des métazoaires (King & Carroll, 2001), probablement suite à l'acquisition de fonctions régulatrices de plus en plus nombreuses telles que la régulation de l'homéostasie tissulaire et cellulaire, les communications intercellulaires, etc. (Manning *et al.*, 2002). Mais il semble aujourd'hui que cette diversification a probablement eu lieu très précocement, dès l'émergence des premiers Eumétazoaires (Cnidaires, Cténaires, et organismes bilatéraux) (Pires-daSilva & Sommer, 2003).

Les RTK chez les invertébrés sont donc probablement beaucoup plus nombreux et diversifiés que ce qui était attendu. Néanmoins, certaines grandes familles de RTK (EGF-R, IR, FGFR, etc.), ainsi que les fonctions biologiques qu'ils médient, semblent avoir été particulièrement bien conservées au cours de l'évolution, et sont présentes chez *S. mansoni*.

LES RTK DE *SCHISTOSOMA MANSONI*

Le premier RTK identifié chez *S. mansoni* est un orthologue de l'EGFR, SER (*S. mansoni* EGF Receptor) (Shoemaker *et al.*, 1992b). Récemment, nous avons caractérisé deux autres RTK, SmRTK-1 et SmRTK-2, qui présentent un domaine catalytique homologue à celui du récepteur de l'insuline (IR) et de l'Insulin Growth Factor1 (IGF1-R) (Vicogne *et al.*, 2003). Ces trois récepteurs ont été isolés par technique PCR à partir d'oligonucléotides complémentaires des régions les plus conservées du domaine tyrosine kinase et caractéristiques de chacune des deux familles de récepteurs, EGFR et IR. En effet, la structure primaire des RTK se caractérise principalement par la présence d'un domaine extracellulaire contenant le site de liaison au ligand, d'un unique domaine transmembranaire et d'une région intracellulaire contenant le domaine tyrosine kinase ainsi que les sites de liaison aux différents partenaires impliqués dans la transduction du signal initié par le récepteur. Alors que le domaine extracellulaire des RTK est très variable en longueur et dans la nature des sous-domaines qui le composent (ceci définissant les différentes classes de RTK), le domaine catalytique tyrosine kinase, parfois scindé en deux parties, est lui extrêmement bien conservé entre les différentes classes de récepteurs. (Grassot *et al.*, 2003).

Les études structurales des récepteurs parasitaires ont été réalisées et, grâce à l'utilisation de modèles d'expression adaptés, nous avons pu aborder récemment leur caractérisation fonctionnelle et leur mode d'activation au niveau cellulaire.

Un des obstacles majeurs rendant délicate l'étude fonctionnelle des protéines parasitaires est qu'il n'existe actuellement aucun moyen pour transfecter les schistosomes. Par conséquent, les protéines d'intérêt de *S. mansoni* doivent être impérativement exprimées en système hétérologue, mais non sans difficultés. En effet, le génome des schistosomes comprend un net excès de bases A/T (environ 66 %) et les codons utilisés lors de la traduction protéique sont très peu représentés chez les vertébrés, qui eux favorisent les codons riches en G/C. Par conséquent, le niveau d'expression des protéines recombinantes exprimées en système hétérologue est extrêmement faible, surtout si la taille de ces protéines est élevée (Hamdan *et al.*, 2002).

Pour pallier ces difficultés, deux systèmes d'expression sensibles ont dû être développés. Le premier système, relativement classique, consiste à exprimer les récepteurs parasitaires dans une lignée cellulaire épithéliale (MDCK) en présence d'un gène rapporteur, la luciférase, placé sous la dépendance d'un promoteur sensible à l'activation de la voie Ras/MAPK. En effet, la voie d'activation Ras-dépendante est une des voies principales induites par les RTK. Ce système permet de tester l'activité des récepteurs avec une très grande sensibilité puisqu'une très faible quantité de récepteurs est suffisante pour induire l'activation de la transcription du gène rapporteur.

Le deuxième système d'expression tire avantage du modèle biologique de l'ovocyte de Xénope. Ces cellules « géantes » sont naturellement bloquées en prophase de première division de méiose. La reprise de cette méiose, caractérisée par l'apparition d'une tache blanche au pôle animal de l'ovocyte (éjection du premier globule polaire), est dépendante de l'activation de la voie des MAPK. Ces cellules possèdent en plus l'avantage notable de n'exprimer aucun RTK hormis une isoforme du récepteur de l'insuline. Il s'agit donc d'un modèle de choix pour l'expression et l'étude fonctionnelle des récepteurs d'origine parasitaire (Browaeys-Poly *et al.*, 2000).

SER , un récepteur de l'EGF très bien conservé

L'analyse de la séquence en amino-acides de SER montre que l'ensemble des motifs nécessaires à la liaison de l'EGF ainsi que le domaine tyrosine kinase sont présents, même si le degré de conservation reste globalement faible (Shoemaker, Ramachandran, Landa, dos Reis & Stein, 1992b). Les auteurs ont pu démontrer l'activité kinase du récepteur mais pas sa capacité de liaison à l'EGF car les modèles d'expression utilisés étaient inadaptés. Les analyses immunohistochimiques ont également montré que SER était exprimé essentiellement dans les muscles chez le parasite adulte (Ramachandran *et al.*, 1996).

Grâce aux deux systèmes d'expression que nous avons développés, nous avons pu démontrer récemment que

SER était capable de lier l'EGF humain et que cette liaison permettait l'activation classique de la voie Ras/MAPK dans les cellules MDCK et dans les ovocytes de Xénope. À notre connaissance, ces résultats démontrent pour la première fois au niveau moléculaire la liaison possible d'une hormone de l'hôte à un récepteur de schistosome et soulèvent la question du rôle de SER dans la relation du parasite avec son hôte.

SmRTK-2 : un récepteur de l'insuline

Dans le cadre des études visant à l'identification de facteurs impliqués dans la relation hôte-parasite, le rôle de l'insuline sur le développement de *S. mansoni* a été largement débattu, et les résultats obtenus ont été souvent très controversés. Afin de clarifier ces observations, nous avons entrepris de caractériser un éventuel récepteur de l'insuline chez *S. mansoni*. Une molécule, SmRTK-2, comportant l'ensemble des domaines caractéristiques des récepteurs de l'insuline et des IGF a pu être isolée (Vicogne *et al*, GenBank AF314754). En particulier, le domaine N-terminal de la protéine renferme deux séquences de liaison à l'insuline relativement conservées séparées par une région riche en résidus cystéine qui est spécifique des IR.

Des études immunohistochimiques ont montré que SmRTK-2 s'exprimait principalement au niveau de la membrane basale du tégument chez les parasites adultes. Il est intéressant de noter que deux transporteurs de glucose, SGTP1 et SGTP4, sont également exprimés de façon asymétrique au niveau de ce tégument (Skelly & Shoemaker, 1996). SGTP4 est localisé au niveau de la membrane apicale du tégument alors que SGTP1 est situé au niveau de la membrane basale. Le glucose est sans conteste le métabolite le plus consommé par le parasite puisqu'il en absorbe journellement près de 5 fois l'équivalent de son poids sec. On peut alors s'interroger sur un rôle possible de SmRTK-2 dans la régulation de la prise du glucose *via* l'activité de SGTP1 et SGTP4. L'analyse fonctionnelle de SmRTK-2 est actuellement en cours.

SmRTK-1 : une nouvelle famille de RTK

Au cours des recherches pour l'identification d'un récepteur de l'insuline chez *S. mansoni*, nous avons isolé un autre RTK, SmRTK-1, présentant une structure tout-à-fait originale et inattendue. Les études structurales et phylogénétiques ont confirmé que SmRTK-1 possédait un domaine tyrosine kinase homologue à celui des membres des IGF-R et IR. En revanche, l'analyse de la séquence en aminoacides du domaine extracellulaire de SmRTK-1 a montré des similitudes non pas avec le domaine ligand des IGF-R, mais avec différentes protéines comportant toutes une structure très particulière dite en Venus Flytrap (VFT). Ce module VFT est fréquemment rencontré dans les PBPs (Periplasmic Binding Protein) de bactéries et au niveau du domaine extracellulaire amino-terminal des récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés aux protéines G et de la famille III, tels que le mGluR (metabotrope Glutamate Receptor) (O'Hara *et al.*, 1993) et le GABAB-R (γ-amino Butyric Acid Receptor) (Galvez *et al.*, 1999) ou encore avec le ANP-R (Atrial Natriuretic Peptide Receptor) (van den Akker *et al.*, 2000). Les études phylogénétiques concernant le module VFT de SmRTK-1 ont indiqué qu'il était proche de celui du $GABA_B$-R. Ce récepteur est original puisque c'est la première fois qu'une association entre un module VFT et un module tyrosine kinase est découverte dans le monde animal. Le ou les ligands potentiels de ce récepteur atypique ne sont pas encore identifiés mais il devrait s'agir *a priori* d'un acide aminé ou d'un dérivé puisque le volume et la structure de la poche ligand du VFT permettent seulement l'entrée de molécules de petite taille.

Les études réalisées par immunohistochimie et hybridation *in situ* ont montré que SmRTK-1 s'exprimait principalement au niveau du parenchyme chez le mâle et au niveau des ovocytes chez la femelle. De même, chez le miracidium et le sporocyste, formes infestantes chez l'hôte invertébré, SmRTK-1 est exprimé au niveau des cellules germinales. Ces cellules germinales sont directement impliquées dans la multiplication et la différenciation en sporocystes secondaires et cercaires (forme infestante pour l'hôte vertébré) lors de la phase de reproduction asexuée qui se déroule chez le mollusque. Il semble donc que ce récepteur joue un rôle dans les mécanismes de développement et de reproduction chez le parasite.

CONCLUSION

A l'instar du nématode *C. elegans*, *S. mansoni* possède des RTK « classiques » dont la structure et les fonctions essentielles ont été conservées tout au long de l'évolution, et des RTK originaux probablement spécifiques de l'espèce.

Tous ces récepteurs sont autant de nouvelles cibles potentielles pour la lutte anti-schistosome. Pour avancer dans la définition de SER et SmRTK-2 comme cibles thérapeutiques, nous pourrons profiter de l'expérience déjà acquise sur les TKI utilisés en chimiothérapie anticancéreuse en tenant compte avant tout des risques de « réaction croisée » avec les RTK de l'hôte liés à la conservation phylogénétique élevée de ces récepteurs. Bien évidemment, le ciblage de RTK originaux et probablement spécifiques des schistosomes, tels que SmRTK-1, limiterait considérablement ces risques et nos recherches continuent donc dans la voie de la caractérisation de nouveaux RTK originaux jouant un rôle primordial dans le développement du schistosome.

Au delà de l'aspect thérapeutique, la caractérisation de RTK atypiques chez le schistosome présente un intérêt fondamental pour la compréhension des mécanismes évolutifs qui ont conduit à la formation de RTK spécifiques au parasite et qui pourraient témoigner d'événements relatifs à l'adaptation du schistosome à ses hôtes. Plus généralement, ces études permettent d'appréhender

l'évolution des processus moléculaires qui contribuent à la diversification des fonctions biologiques à partir d'un même « genetic Toolkit » ancestral.

BIBLIOGRAPHIE

Balloul J. M., Sondermeyer P., Dreyer D., Capron M., Grzych J. M., Pierce R. J., Carvallo D., Lecocq J. P. & Capron A., Molecular cloning of a protective antigen of schistosomes. *Nature*, 1987, *326*, 149-153.

Blum G., Gazit A. & Levitzki A., Substrate competitive inhibitors of IGF-1 receptor kinase. *Biochemistry*, 2000, *39*, 15705-15712.

Boulanger D., Reid G. D., Sturrock R. F., Wolowczuk I., Balloul J. M., Grezel D., Pierce R. J., Otieno M. F., Guerret S., Grimaud J. A. *et al.*, Immunization of mice and baboons with the recombinant Sm28GST affects both worm viability and fecundity after experimental infection with *Schistosoma mansoni*. *Parasite Immunol.*, 1991, *13*, 473-490.

Browaeys-Poly E., Cailliau K. & Vilain J. P., Signal transduction pathways triggered by fibroblast growth factor receptor 1 expressed in Xenopus laevis oocytes after fibroblast growth factor 1 addition. Role of Grb2, phosphatidylinositol 3-kinase, Src tyrosine kinase, and phospholipase Cgamma. *Eur. J. Biochem.*, 2000, *267*, 6256-6263.

Capron A., Schistosomiasis: forty year's war on the worm. *Parasitol. Today*, 1998, *11*, 431-439.

De Clercq D., Vercruysse J., Verle P., Niasse F., Kongs A. & Diop M., Efficacy of artesunate against *Schistosoma mansoni* infections in Richard Toll, Senegal. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2000, *94*, 90-91.

Doenhoff M. J., Kusel J. R., Coles G. C. & Cioli D., Resistance of *Schistosoma mansoni* to praziquantel: is there a problem? *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2002, *96*, 465-469.

Drevs J., Medinger M., Schmidt-Gersbach C., Weber R. & Unger C., Receptor tyrosine kinases: the main targets for new anticancer therapy. *Curr. Drug Targets*, 2003, *4*, 113-121.

Ernould J. C., Ba K. & Sellin B., Increase of intestinal schistosomiasis after praziquantel treatment in a *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni* mixed focus. *Acta. Trop.*, 1999, *73*, 143-152.

Galvez T., Parmentier M. L., Joly C., Malitschek B., Kaupmann K., Kuhn R., Bittiger H., Froestl W., Bettler B. & Pin J. P., Mutagenesis and modeling of the GABAB receptor extracellular domain support a venus flytrap mechanism for ligand binding. *J. Biol. Chem.*, 1999, *274*, 13362-13369.

Grassot J., Mouchiroud G. & Perriere G., RTKdb: database of Receptor tyrosine kinase. *Nucleic Acids Res.*, 2003, *31*, 353-358.

Gryseels B., Mbaye A., De Vlas S. J., Stelma F. F., Guisse F., Van Lieshout L., Faye D., Diop M., Ly A., Tchuem-Tchuente L. A., Engels D. & Polman K., Are poor responses to praziquantel for the treatment of Schistosoma mansoni infections in Senegal due to resistance? An overview of the evidence. *Trop. Med. Int. Health*, 2001, *6*, 864-873.

Hamdan F. F., Mousa A. & Ribeiro P., Codon optimization improves heterologous expression of a *Schistosoma mansoni* cDNA in HEK293 cells. *Parasitol. Res.*, 2002, *88*, 583-586.

Hirst S. I. & Stapley L. A., Parasitology: the dawn of a new millennium. *Parasitol. Today*, 2000, *16*, 1-3.

King N. & Carroll S. B., A receptor tyrosine kinase from choanoflagellates: molecular insights into early animal evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, *98*, 15032-15037.

Kohn A. B., Anderson P. A., Roberts-Misterly J. M. & Greenberg R. M., Schistosome calcium channel beta subunits. Unusual modulatory effects and potential role in the action of the antischistosomal drug praziquantel. *J. Biol. Chem.*, 2001, *276*, 36873-36876.

Manning G., Plowman G. D., Hunter T. & Sudarsanam S., Evolution of protein kinase signaling from yeast to man. *Trends Biochem. Sci.*, 2002, *27*, 514-520.

Miller M. A. & Steele R. E., Lemon encodes an unusual receptor protein-tyrosine kinase expressed during gametogenesis in Hydra. *Dev. Biol.*, 2000, *224*, 286-298.

Muller W. E. & Schacke H., Characterization of the receptor protein-tyrosine kinase gene from the marine sponge Geodia cydonium. *Prog. Mol. Subcell. Biol.*, 1996, *17*, 183-208.

Nahta R., Hortobagyi G. N. & Esteva F. J., Growth factor receptors in breast cancer: potential for therapeutic intervention. *Oncologist*, 2003, *8*, 5-17.

O'Hara P. J., Sheppard P. O., Thogersen H., Venezia D., Haldeman B. A., McGrane V., Houamed K. M., Thomsen C., Gilbert T. L. & Mulvihill E. R., The ligand-binding domain in metabotropic glutamate receptors is related to bacterial periplasmic binding proteins. *Neuron*, 1993, *11*, 41-52.

Pearce E. J., James S. L., Hieny S., Lanar D. E. & Sher A., Induction of protective immunity against *Schistosoma mansoni* by vaccination with schistosome paramyosin (Sm97), a nonsurface parasite antigen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, *85*, 5678-5682.

Pereira C., Fallon P. G., Cornette J., Capron A., Doenhoff M. J. & Pierce R J., Alterations in cytochrome-c oxidase expression between praziquantel- resistant and susceptible strains of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 1998, *117*, 63-73.

Picquet M., Vercruysse J., Shaw D. J., Diop M. & Ly A., Efficacy of praziquantel against *Schistosoma mansoni* in northern Senegal. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1998, *92*, 90-93.

Pires-daSilva A. & Sommer R. J., The evolution of signalling pathways in animal development. *Nat. Rev. Genet.*, 2003, *4*, 39-49.

Plowman G. D., Sudarsanam S., Bingham J., Whyte D. & Hunter T., The protein kinases of *Caenorhabditis elegans*: a model for signal transduction in multicellular organisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, *96*, 13603-13610.

Ramachandran H., Skelly P. J. & Shoemaker C. B., The *Schistosoma mansoni* epidermal growth factor receptor homologue, SER, has tyrosine kinase activity and is localized in adult muscle. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 1996, *83*, 1-10.

Reidling J. C., Miller M. A. & Steele R. E., Sweet Tooth, a novel receptor protein-tyrosine kinase with C-type lectin-like extracellular domains. *J. Biol. Chem.*, 2000, *275*, 10323-10330.

Shoemaker C., Gross A., Gebremichael A. & Harn D., cDNA cloning and functional expression of the *Schistosoma mansoni* protective antigen triose-phosphate isomerase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992a, *89*, 1842-1846.

Shoemaker C. B., Ramachandran H., Landa A., dos Reis M. G. & Stein L. D., Alternative splicing of the *Schistosoma mansoni* gene encoding a homologue of epidermal growth factor receptor. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 1992b, *53*, 17-32.

Skelly P. J. & Shoemaker C. B., Rapid appearance and asymmetric distribution of glucose transporter SGTP4 at the apical surface of intramammalian-stage *Schistosoma mansoni*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, *93*, 3642-3646.

Soisson L. A. & Strand M., *Schistosoma mansoni*: induction of protective immunity in rats using a recombinant fragment of a parasite surface antigen. *Exp. Parasitol.*, 1993, *77*, 492-494.

Soisson L. M., Masterson C. P., Tom T. D., McNally M. T., Lowell G. H. & Strand M., Induction of protective immunity in mice using a 62-kDa recombinant fragment of a *Schistosoma mansoni* surface antigen. *J. Immunol.*, 1992, *149*, 3612-3620.

Stelma F. F., Talla I., Sow S., Kongs A., Niang M., Polman K., Deelder A. M. & Gryseels B., Efficacy and side effects of praziquantel in an epidemic focus of *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1995, *53*, 167-170.

Tendler M., Brito C. A., Vilar M. M., Serra-Freire N., Diogo C. M., Almeida M. S., Delbem A. C., Da Silva J. F., Savino W., Garratt R. C., Katz N. & Simpson A. S., A *Schistosoma mansoni* fatty acid-binding protein, Sm14, is the potential basis of a dual-purpose anti-helminth vaccine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, *93*, 269-273.

van den Akker F., Zhang X., Miyagi M., Huo X., Misono K. S. & Yee V. C., Structure of the dimerized hormone-binding domain of a guanylyl-cyclase-coupled receptor. *Nature*, 2000, *406*, 101-104.

Vicogne J., Pin J. P., Lardans V., Capron M., Noel C. & Dissous C., An unusual receptor tyrosine kinase of *Schistosoma mansoni* contains a Venus flytrap module. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 2003, *126*, 51-62.

Wright M. D., Melder A. M., Davern K. M. & Mitchell G. F., Serologic reactivities of the 23-kDa integral membrane proteins of schistosomes. *J. Immunol.*, 1991, *147*, 4338-4342.

Zwick E., Bange J. & Ullrich A., Receptor tyrosine kinase signalling as a target for cancer intervention strategies. *Endocr. Relat. Cancer*, 2001, *8*, 161-173.