



INSTITUT DE FRANCE
Académie des sciences

Séance solennelle de remise des Prix le 21 octobre 2008

Le récepteur de l'acétylcholine et la dépendance à la nicotine
par Jean-Pierre Changeux, Membre de l'Académie des sciences

Monsieur le Président,
Mes Chers Consoeurs et Confrères,
Mesdames et Messieurs,
Chers Amis,

Chaque année environ 5 millions de personnes meurent des conséquences du tabagisme dans le monde et ces décès, principalement dus au cancer du poumon, sont évitables. Leur prévention se heurte toutefois à une sérieuse difficulté. Le tabac contient une drogue, la nicotine, qui crée une dépendance aussi sévère que celle provoquée par la cocaïne ou à l'héroïne. Comment une substance chimique aussi simple influence-t-elle à ce point les conduites humaines ? La question est d'une portée plus générale encore. Quelles relations s'établissent entre la chimie de notre cerveau et ses fonctions les plus élevées, comme nos capacités de décision ou notre volonté consciente. La réponse à cette question paraissait hors de portée, il y a encore quelques années et pour certains peut-être à jamais hors d'accès de l'approche scientifique. Un changement radical de paradigme, s'est produit ces récentes années avec la convergence progressive de multiples disciplines jusque là séparées : la physiologie, la pharmacologie, la biologie moléculaire et les sciences de la cognition. Cet exposé, intitulé « le récepteur de l'acétylcholine et la dépendance à la nicotine » en apporte l'illustration.

La France a eu le privilège de voir naître sur son sol deux des pères fondateurs de cette démarche et l'un et l'autre illustrèrent notre Académie. Claude Bernard avec ses « Leçons sur les effets des substances toxiques et médicamenteuses » enseignées au Collège de France en 1857, met en place une méthode expérimentale qui sera la nôtre : celle de la « localisation des actions de drogues », Louis Pasteur avec ses premiers travaux en révèle le fondement chimique élémentaire : la reconnaissance stéréospécifique.

D'abord, qu'est-ce que la nicotine et d'où vient-elle ? Les Amérindiens utilisent depuis des millénaires le tabac pour lutter contre la maladie et chasser du corps les « démons » qui l'investissent. Ce faisant ils montrent que la plante contient une substance active. Les Grecs anciens donnaient aux principes actifs de ce genre le nom de *pharmakon*. Ainsi est né le concept d'agent pharmacologique.

Ramené en Europe par Christophe Colomb en 1492, le tabac sert de plante d'ornement jusqu'à ce que Jean Nicot, en 1560, envoie de la poudre de tabac à Catherine de Médicis pour traiter les migraines de son fils François II et cela avec succès. La plante porte désormais le nom : *Nicotina tabacum*. En 1809, Louis Vauquelin en isole le principe actif, la nicotine. C'est un alcaloïde dont la formule porte une amine tertiaire avec un cycle pyrimidique et un cycle pyrrolidique. On en reconnaît déjà les effets sur la migraine, les maux de dents, son caractère stimulant. Mais la compréhension de son mécanisme d'action ne progressera qu'avec l'élucidation de l'effet toxique d'une autre substance d'origine végétale : le curare. Claude Bernard, dès 1857, montre que son action paralysante n'est due, ni à un effet sur le nerf, ni à un effet sur le muscle. Le curare bloque la transmission entre fibre nerveuse et fibre musculaire. John Newport Langley, inspiré par l'œuvre de Claude Bernard, franchira, en 1905, une étape supplémentaire, importante pour nous. Il applique la nicotine localement à la surface du muscle, provoque sa contraction et montre que l'effet est bloqué par le curare. Il observe ensuite que la surface du muscle qui répond à la nicotine est exclusivement localisée sous la terminaison nerveuse et note que cette sensibilité persiste après dénervation. Il appelle « substance réceptrice » ou **récepteur**, la « substance du muscle qui se combine avec la nicotine et le curare » et qu'il distingue de « la substance qui se contracte ». Enfin, à la même époque, Elliott propose qu'une « sécrétion stimulatrice » libérée par le nerf entraîne la contraction du muscle. Elle sera appelée **neurotransmetteur** et sera identifiée plus tard : c'est l'acétylcholine. La nicotine simule l'effet de l'acétylcholine et le récepteur commun à la nicotine et au curare qui est présent à la surface du muscle est le récepteur de l'acétylcholine. Acétylcholine et nicotine sont des agonistes du récepteur de l'acétylcholine et le curare un antagoniste. L'acétylcholine est dégradée par l'acétylcholinestérase, que bloquent les gaz de combat, alors que la nicotine ne l'est pas : ce qui rend son action beaucoup plus stable. D'une manière plus générale, il existe une palette chimique de plusieurs dizaines de neurotransmetteurs dans notre système nerveux. Et comme l'a montré Tomas Hökfelt, qui reçut la Grande Médaille de notre Académie, plusieurs d'entre eux peuvent coexister dans un même neurone.

Pendant des décennies, le concept de récepteur est resté théorique. Souvent mis en doute, beaucoup pensaient même que présent dans les tissus en quantités si infimes, il ne serait jamais caractérisé chimiquement. Jusqu'à ce que, dans les années 1970, il soit identifié dans mon laboratoire, à l'Institut Pasteur. Ce succès je le dois peut-être à l'enseignement de zoologie que je reçus de mon premier maître Claude Delamarre-Deboutteville, car grâce à lui et à ses collègues naturalistes j'appris que le poisson torpille et l'anguille électrique possèdent un organe électrique extrêmement riche en synapses toutes du même type. Sa très grande richesse en matériel cholinergique fut découverte à Paris par David Nachmansohn, dans les années 30, alors qu'il travaillait avec notre regretté confrère René Couteaux. Ensuite, il était nécessaire de trouver un marqueur qui étiquette très sélectivement le récepteur. La nicotine, le curare se révélèrent insuffisamment spécifiques. Ce fut une petite protéine purifiée dans les années 60 par un pharmacologue de Taïwan, Chen Yuan Lee, à partir du venin du serpent Bungare qui apporta la solution. Elle déplaçait avec une sélectivité extrême la liaison d'un analogue radioactif de l'acétylcholine, le décaméthonium, sur des membranes synaptiques d'organe électrique *in vitro*. Cette liaison avait donc lieu au niveau du site récepteur. Comme le proposait Louis Pasteur dès 1886, il existe bien un « corps actif dissymétrique » qui « intervient dans l'impression nerveuse ». Il devenait possible de caractériser la protéine membranaire qui, une fois solubilisée par des détergents « doux », était purifiée et observée en microscopie électronique, à partir de nos préparations, par Jean Cartaud. L'image de ces rosettes d'environ 90 Å de diamètre tapissant la membrane sous synaptique frappa les esprits. On voyait pour la première fois un récepteur de neurotransmetteur. C'était également le

premier canal ionique identifié chimiquement. D'une masse moléculaire de 290.000 daltons, la protéine réceptrice est un oligomère qui résulte de l'assemblage de 5 sous-unités. Elle forme une sorte de faisceau compact qui traverse la membrane sous synaptique. Elle porte les sites récepteurs de l'acétylcholine et de la nicotine sur sa face exposée à l'espace synaptique et contient un canal ionique sélectif pour les ions Na^+ et K^+ dans sa partie membranaire. L'identification de séquence complète des sous unités du récepteur de torpille sur la base des données de la biochimie par plusieurs groupes dans le monde dont celui de Shosaku Numa et le notre, dans les années 80, fit progresser la connaissance de la molécule.

Les sites récepteurs de l'acétylcholine se situent à l'interface entre sous unités et on en compte 2 à 5 par molécule de récepteur. L'organisation du site est aujourd'hui connue au niveau atomique grâce à la découverte en 2001 par le groupe de Titia Sixma d'Amsterdam d'une protéine découverte chez un mollusque, la Limnée, qui se trouve homologue de la partie synaptique du récepteur. Contrairement au récepteur ancré dans la membrane elle est soluble, et facile à cristalliser, Le site de l'acétylcholine apparaît comme une poche, bordée d'acides aminés aromatiques, qui adopte, de manière complémentaire et stéréochimique, la molécule d'acétylcholine. Une authentique conception rationnelle de médicaments s'ajustant avec précision au site récepteur devient possible.

Le canal ionique se loge dans l'axe de symétrie de la molécule au niveau du domaine transmembranaire ou chaque sous-unité traverse 4 fois la membrane. En accord avec les données de la biochimie, Bert Sakmann à la fin des années 80, utilisant l'élégante méthode du « patch clamp » qu'il avait mis au point avec Erwin Neher, montrait l'importance d'acides aminés chargés négativement dans la sélectivité du passage des ions sodium et potassium à travers la membrane.

Sur un plan plus général, l'organisation de la molécule de récepteur assure la transduction du signal chimique -l'acétylcholine - en réponse électrique – l'ouverture du canal ionique. Le schéma s'applique aux autres récepteurs de neurotransmetteurs excitateurs comme ceux du glutamate, mais également aux récepteurs inhibiteurs comme celui de l'acide gamma aminobutyrique, dont le canal est sélectif des ions chlore. Très tôt s'est posée la question du mécanisme élémentaire par lequel ces deux sites distincts : celui de l'acétylcholine et celui du transport ionique, sont rendus solidaires au niveau de la molécule de récepteur. Longtemps avant son isolement, j'avais proposé, dans la conclusion de ma thèse, réalisée sous le tutorat de Jacques Monod et de François Jacob, une analogie possible entre processus synaptiques et enzymes régulateurs bactériens sur lesquels je travaillais. Le problème était de comprendre comment deux petites molécules différentes : un substrat enzymatique et un signal métabolique pouvaient s'antagoniser au niveau de la molécule d'enzyme? Les données expérimentales ne s'accordaient pas avec une exclusion par empêchement stérique au niveau d'un site commun. Au contraire, elles plaidaient en faveur d'un modèle suivant lequel les deux sites concernés étaient topographiquement distincts et pour lequel le terme « **allostérique** » fut créé. Leur interaction – indirecte - était postulée transmise par une réorganisation conformationnelle de la molécule protéique.

Dans le cas du récepteur de l'acétylcholine, un nombre important de données biochimiques ou structurales confirme la distinction entre sites récepteurs et canal ionique. Restait à identifier la mécanique de la transition allostérique. Elle vient d'être tout récemment résolue, au niveau atomique. Là encore la diversité prodigieuse du monde vivant nous a aidé. Il existe en effet chez des bactéries photosynthétiques très anciennes des récepteurs-canaux, très semblables au récepteur de l'acétylcholine. Ces récepteurs sont de surcroît fort stables et

plus simples que le récepteur animal. Ils ont été isolés, cristallisés par un de mes collaborateurs, récemment devenu collègue, Pierre-Jean Corringer et résolus par cristallographie avec Marc Delarue il y a quelques semaines à l'Institut Pasteur. La transition allostérique est, on l'attendait, une sorte de mouvement de torsion discret de la molécule qui, solidarise site actif et canal ionique entraînant l'ouverture et la fermeture de celui-ci.

Nos communications cérébrales héritent donc de mécanismes moléculaires qui sont apparus sur notre planète il y a quelque trois milliards d'années. Non pas du fait d'un quelconque « dessin intelligent », mais à la suite d'une longue évolution darwinienne qui commença dès l'origine de la vie.

La littérature sur les récepteurs a, au cours des dernières années, littéralement explosé. 652 000 articles ont été publiés sur les récepteurs en général, 45 800 sur les divers récepteur de l'acétylcholine. Le champ s'est d'autre part considérablement diversifié. Des récepteurs d'un autre type, liés à des protéines G et avec 7 hélices transmembranaires, ont été identifiés. Des anesthésiques généraux aux tranquillisants, des agents anti-psychotiques aux effecteurs cardiovasculaires et beaucoup d'autres encore, environ 46 % des médicaments utilisés de nos jours ont pour cible des récepteurs membranaires.

Dans cet immense répertoire, le récepteur de l'acétylcholine reste une molécule de choix, connue au niveau atomique et engagée dans des fonctions cérébrales capitales concernées par d'importantes pathologies chez l'homme. Il existe 17 gènes codant pour des sous-unités du récepteur dans notre génome et celles-ci s'assemblent en un répertoire très riche distribué dans de multiples territoires de notre cerveau. Comment en élucider le rôle dans les multiples fonctions de l'acétylcholine, cycle veille-sommeil, attention et apprentissage, systèmes de récompense et, bien sûr, processus d'addiction. La stratégie que nous avons développée exploite les multiples possibilités offertes par le modèle de la souris génétiquement modifiées. Elle procède en plusieurs étapes : invalider le gène d'une sous-unité définie, puis analyser quantitativement la physiologie et le comportement de l'animal, ensuite réexprimer en un site critique du cerveau, le gène manquant à l'aide d'un vecteur lentiviral mis au point dans mon laboratoire en 2005 par Uwe Maskos.

L'expérience a été réalisée avec le gène d'une sous-unité dite beta 2. En son absence, la souris perd la capacité de s'auto-administrer la nicotine. Simultanément, un autre comportement change : au lieu de s'attarder à explorer avec attention son environnement, en quelque sorte à fureter, elle navigue sans relâche. Le site choisi pour la réexpression du gène n'a pas été pris au hasard. C'est l'aire tegmentale ventrale. A ce niveau se trouve le corps des neurones qui contiennent la dopamine, un neurotransmetteur spécialisé dans les processus de récompense. Les souris ainsi « vectorisées » réacquièrent les traits comportementaux perdus, l'auto-administration de nicotine et le comportement exploratoire. Le récepteur nicotinique contenant la sous-unité beta 2 sert de trait d'union critique entre la libération endogène d'acétylcholine et la récompense dopaminergique. On comprend peu à peu les mécanismes moléculaires engagés dans les effets aigus de la nicotine mais aussi ceux engagés dans les conséquences de son usage chronique. Des adaptations à long terme ont lieu dans l'expression et le rôle des sous-unités du récepteur nicotinique. Une réorganisation fonctionnelle des circuits neuronaux intervient pour assurer une « homéostasie » des fonctions cérébrales, en présence de nicotine. En contrepartie, sa présence chronique devient indispensable.

Plusieurs sous-unités du récepteur nicotinique sont engagées dans la mise en place de cette dépendance, d'autres des signes d'abstinence qui apparaissent lors du sevrage tabagique.

Il est remarquable que cette année trois études épidémiologiques indépendantes soulignent l'importance de trois gènes codant pour des sous-unités du récepteur nicotinique comme prédisposition au cancer du poumon, appelés alpha3, alpha5 et bêta 4. Bien qu'averti des risques qu'il court, le fumeur continue de fumer, incapable de mettre en sa volonté d'arrêter. Il y a, à cet égard, perte du contrôle conscient. Or l'examen par imagerie cérébrale du cerveau d'adolescents ayant fait un usage intensif du tabac et soumis au sevrage, révèle une diminution d'activité au niveau du cortex frontal. Peut-être du fait de la vulnérabilité à la nicotine de ce réseau cérébral supposé donner accès à la conscience que Stanislas Dehaene et moi-même avons appelé, espace de travail neuronal conscient.

Ces résultats suscitent une activité considérable de la recherche pharmaceutique sur les récepteurs nicotiniques. D'abord dans le domaine de la dépendance tabagique. Ensuite dans celui des pathologies liées au tabagisme de la femme enceinte, comme la mort subite du nourrisson ou l'hyperactivité de l'enfant. Mais également, fait paradoxal, dans le champ des maladies dégénératives, comme les maladies d'Alzheimer et de Parkinson et même la dépression où les agents nicotiniques peuvent potentiellement servir de neuroprotecteurs et de stimulant cognitifs.

La compréhension des mécanismes allostériques engagés dans le mode d'action de l'acétylcholine et de la nicotine réoriente notre manière de concevoir les médicaments. Que l'on cible le site récepteur ou le canal ionique, il faut désormais prendre en compte la dynamique de leurs changements conformationnels. Plus inattendue, une catégorie singulière de molécules appelées « modulateurs allostériques » modifie cette dynamique en se liant en-dehors des sites classiques sur des sites d'un nouveau type. Les espoirs thérapeutiques de cette nouvelle pharmacologie sont considérables.

Les progrès dans la chimie du cerveau et les progrès majeurs de la neuroscience en général soulèvent d'importantes questions éthiques. On sait le détournement possible de ce savoir avec le développement de gaz de combat ou diverses tentatives de contrôle des conduites humaines. C'est notre responsabilité, celle de notre Académie, de veiller avec fermeté à ce ces détournements ne se produisent pas. Elle est aussi d'affirmer notre volonté d'utiliser ces connaissances pour inventer, ensemble, un futur qui conduise à une vie meilleure et plus harmonieuse pour tous.