

Lamine C2 et spermatogénèse

Lamin C2 and spermatogenesis

A.-M. Courtot

Reçu le 13 mars 2012 ; accepté le 11 juin 2012
© SALF et Springer-Verlag France 2012

Résumé Les lamines A/C sont des filaments intermédiaires présents dans les noyaux des cellules. Leurs rôles sont multiples et des mutations du gène LMNA sont à l'origine de nombreuses maladies appelées laminopathies. Dans les cellules germinales masculines, cette famille de protéines n'est représentée que par la lamine C2. Les données obtenues chez la souris démontrent l'importance de ces filaments dans le déroulement de la méiose masculine et présagent de l'existence d'un nouveau domaine d'infertilité d'origine masculine lié à des mutations de ce filament intermédiaire ou de ses protéines associées.

Mots clés Lamine C2 · Spermatogénèse · Laminopathie · Infertilité masculine

Abstract Lamin A/C are intermediate filaments present in nucleus. Their roles are numerous and laminopathies are issued from LMNA gene mutations. In male germ cells, this protein family is only represented by lamin C2. The results obtained in male mice show the importance of these filaments in male meiosis and suggest the existence of a new male infertility domain involving this intermediate filament and its associated proteins.

Keywords Lamin C2 · Spermatogenesis · Laminopathies · Male infertility

Introduction

Les lamines A/C sont, avec les lamines B, les seuls filaments intermédiaires présents dans le noyau des cellules. Elles font partie d'un réseau de protéines associées situé entre la membrane nucléaire interne et la chromatine, et d'un réseau nucléoplasmique. Leurs relations avec les protéines avoisin-

nantes et avec le cytosquelette cytoplasmique en font un élément pivot de l'architecture nucléaire. Ce sont des éléments nucléaires de la matrice intégrée, ce qui explique leur importance dans la définition de la tensesgrité cellulaire. Mais leurs rôles ne s'arrêtent pas là.

Contrairement aux lamines B qui sont présentes dans les cellules depuis la première division jusqu'à l'âge adulte, les lamines A/C n'apparaissent que tardivement dans les tissus embryonnaires (J12 chez la souris) et extra-embryonnaires (J9 chez la souris). Leur apparition est généralement un indicateur de différenciation et accompagne une baisse de la déformabilité de la cellule.

Des mutations du gène codant pour les lamines A/C sont à l'origine de nombreuses maladies héréditaires. Ces maladies concernent principalement les tissus d'origine mésenchymateuse comme le tissu musculaire (dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss, cardiopathie dilatée), le tissu osseux, le tissu adipeux (lipodystrophie de type Dunnigan), et le derme, mais également le tissu nerveux (maladie de Charcot-Marie-Tooth). Elles présentent un continuum pathologique avec des expressions tissulaires spécifiques plus ou moins marquées et portent le nom de laminopathies [1,2].

Des mutations sont responsables de syndromes plus généraux concernant le vieillissement accéléré comme la progeria de Hutchinson-Gilford [3]. De plus, il a été montré qu'un certain nombre de patients souffrant de syndromes métaboliques présentaient des laminopathies [4].

L'analyse de ces pathologies a contribué à la connaissance des rôles multiples des lamines A/C : ainsi grâce à leurs interactions avec différents partenaires, elles interviennent non seulement sur l'architecture du noyau, mais également dans l'organisation de la chromatine par leur liaison avec l'ADN, avec la réplication de l'ADN et sa réparation, la transcription des gènes et leur silencing, le positionnement des pores nucléaires et la rupture de l'enveloppe nucléaire pendant la mitose [5].

Les travaux d'Alzheimer et al [6] et de Jahn et al [7] chez la souris montrent que les lamines sont aussi impliquées dans la spermatogénèse et ont un rôle essentiel au cours de la méiose. Mais à ce jour, aucune analyse de relations entre

A.-M. Courtot (✉)
INSERM U 935, Bat A Campus CNRS, 7 rue Guy Moquet, F-94801 Villejuif
e-mail : mariecourtot@u-psud.fr

lamine, spermatogenèse et infertilité n'a été amorcée chez l'homme. Nous nous proposons de faire un état de la question concernant les connaissances sur la présence et l'évolution des lamines de type A/C et leur rôle au cours de la spermatogenèse chez les mammifères.

Une lamine particulière, la lamine C2, est présente au cours de la spermatogenèse (Fig. 1)

De façon générale, les lamines A/C font partie de la famille des filaments intermédiaires [8]. On leur connaît deux isoformes principales, la lamine A et la lamine C, dérivées d'un même gène (LMNA) par épissage alternatif [9].

Ces lamines comprennent trois régions distinctes : une hélice alpha-centrale, une tête N-terminale globulaire et une queue C-terminale contenant un motif Ig-fold et un signal de localisation nucléaire (NSL). Ce signal, particulier aux lamines nucléaires, est nécessaire pour transporter celles-ci dans le noyau. De plus, la lamine A possède une boîte CAAX à sa partie terminale.

Dans les cellules somatiques, les principales lamines sont les lamines A et C. Dans les cellules germinales, la lamine A et la lamine C n'ont pas été retrouvées. Seule une lamine C2 de 52kd, qui correspond à une isoforme de la lamine A produite par épissage alternatif du gène *Lmna*, a été rapportée au stade pachytène dans les spermatocytes chez la souris en 1994 [10] et chez le rat [11,12]. La lamine C2 présente des particularités dans le domaine C terminal, dans l'hélice alpha et dans la partie N terminale.

Dans la lamine A classique, c'est la présence d'une CAAX box, à son extrémité C terminale, et son isoprényla-

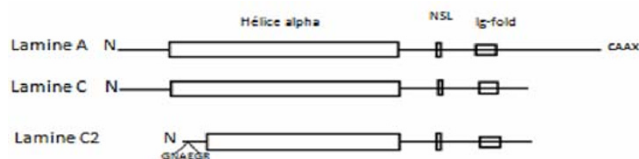


Fig. 1 Structures des lamines nucléaires. Les lamines sont formées d'un domaine globulaire amino-terminal court, d'un domaine hélicoïdal, et d'un domaine globulaire carboxy-terminal contenant un signal d'adressage nucléaire (NLS) et un motif *immunoglobuline-like*. La lamine A : la localisation de la lamine A le long de la membrane nucléaire interne est due à la présence du signal de localisation nucléaire et d'un motif CAAX à sa partie C terminale qui subit de nombreuses modifications post-traductionnelles ; la lamine C : cette lamine ne possède pas de CAAX terminal ; la lamine C2 : cette lamine est plus courte, elle ne possède pas de domaine globulaire N-terminal et sa partie hélicoïdale est tronquée. Ces domaines sont remplacés par un hexapeptide GNAEGR qui est un signal pour la localisation de cette protéine au niveau de la membrane nucléaire interne

tion qui sont nécessaires pour que la lamine s'intègre à l'enveloppe nucléaire [7]. La lamine C2 ne possède ni les acides aminés terminaux ni la boîte CAAX à son extrémité carboxyl-terminale et pourtant, chez le rat, la lamine C2 est spécifiquement attachée à la membrane nucléaire [12,13]. Un hexapeptide unique GNAEGR à son extrémité amino-terminale remplace la partie non hélicoïdale et une partie du domaine hélicoïdal présents dans les lamines classiques. La glycine de GNAEGR est la cible de myristoylation (le myristate est un acide gras saturé qui facilite l'association de protéines modifiées avec des membranes) [14].

C'est par la myristoylglycine présente au niveau amino-terminal que l'hexapeptide est responsable de la localisation de C2 au niveau de l'enveloppe nucléaire [11,15].

Une mobilité plus importante

La lamine C2 est moins abondante et plus courte que ses homologues somatiques (52Kd contre 60-80Kd). Pour ces raisons, sa mobilité est donc plus importante que celle de son homologue somatique [7]. Connaissant son rôle dans l'architecture de la cellule, on ne peut que souligner le parallèle entre la mobilité particulière de la lamine C2 et la faible stabilité mécanique des spermatocytes [13].

Une apparition à des stades spécifiques de la méiose

L'expression de cette protéine a été étudiée au cours de la spermatogenèse chez le rat. La lamine C2 n'a été décelée ni dans les spermatogonies, ni au cours de la spermiogenèse. Elle est détectable au cours de la prophase 1 de la méiose, au stade zygotène, persiste au stade pachytène et disparaît au stade diplotène [12]. Ainsi, la lamine C2 est un filament intermédiaire nucléaire spécifique à la gamétogenèse qui n'apparaît qu'au cours de la prophase 1 de la méiose (Fig. 2).

La prophase de première division de méiose est une étape clef qui se caractérise par des mouvements complexes du noyau. Ces mouvements sont le reflet des déplacements oscillatoires des chromosomes, eux-mêmes en relation avec des éléments squelettiques cytoplasmiques via l'enveloppe nucléaire. Les chromosomes s'alignent, s'associent en bivalents grâce aux complexes synaptonémaux. Tous ces événements participent à la recombinaison des chromosomes homologues. Pour obtenir de tels mouvements contrôlés au cours de cette prophase, les télomères des chromosomes se redistribuent vers la périphérie nucléaire, s'attachent physiquement à la membrane nucléaire interne, se meuvent le long de cette membrane pour ensuite se rassembler et être à l'origine du stade bouquet [16].

Cellule somatique: **Lamine A/C**
au niveau de la membrane nucléaire interne

Spermatocyte I: **Lamine C2**
au niveau de la membrane nucléaire interne

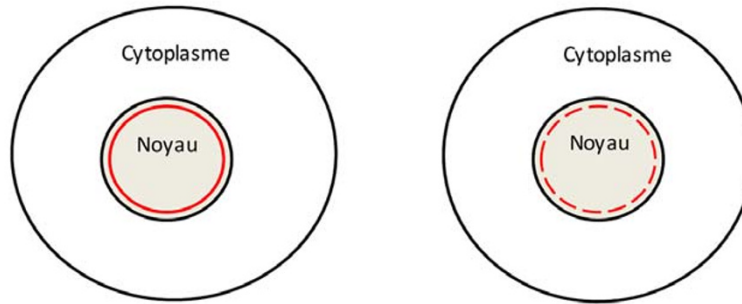


Fig. 2 Lamine A/C dans les noyaux des cellules somatiques et des spermatocytes. Au niveau des cellules somatiques, la lamine de type A/C se présente sous forme d'un réseau continu le long de la membrane nucléaire interne. Au niveau des spermatocytes, la lamine A/C est représentée uniquement par son variant, la lamine C2. Elle se présente sous forme d'un réseau discontinu

La membrane nucléaire interne joue donc un rôle majeur dans la dynamique des chromosomes.

Répartition de la lamine C2 parmi les constituants particuliers de la membrane nucléaire interne

Quels sont les éléments particuliers présents au niveau de la membrane nucléaire interne au cours de la prophase I et comment se localise la lamine C2 parmi eux ? La membrane nucléaire interne diffère de celle d'une cellule somatique par la présence des télomères. Leurs mouvements par rapport à la membrane nucléaire interne ont été classés en quatre catégories par Bass [16] :

- migration des télomères au niveau de la membrane nucléaire interne et rassemblement (catégories 1 et 2) ;
- formation du bouquet au stade zygotène (catégorie 3) ;
- dispersion des télomères le long de la membrane (catégorie 4).

Le complexe synaptonémal, à l'origine du synapsis et formé d'éléments axiaux et de filaments transverses, s'étend sur toute la longueur des chromosomes jusqu'au niveau des télomères.

La lamine C2 se distribue de façon discontinue au niveau de la membrane nucléaire et se localise préférentiellement au niveau de l'attachement des télomères à la membrane nucléaire [13,17] (Fig. 3). Elle apparaît en même temps que les protéines du complexe synaptonémal (protéines

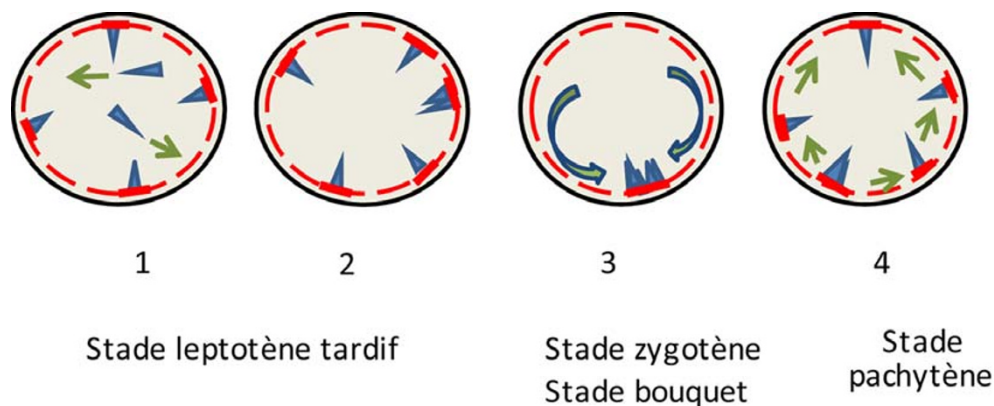


Fig. 3 Dynamique des télomères (selon [16]) et de la lamine C2 dans les noyaux des spermatocytes au cours de la prophase de première division méiotique. Stades 1 et 2, leptotène tardif : les télomères migrent du nucléoplasme à la périphérie du noyau puis se déplacent le long de l'enveloppe nucléaire ; stade 3, zygotène : les télomères se rassemblent le long de l'enveloppe nucléaire pour former un « bouquet » ; stade 4, pachytène : les télomères se dispersent le long de l'enveloppe nucléaire. Les renforcements de la lamine C2 au niveau de la membrane nucléaire interne se localisent au niveau des télomères et suivent leur dynamique

SC1, SC3 et SC48) et, avec ces dernières, elle forme des renforcements locaux [12] (Fig. 2).

Dans quelle mesure la lamine C2, faisant partie de ces densifications, participe à la dynamique des télomères au niveau de la membrane nucléaire interne ? Cette question prend tout son sens depuis qu'un rôle-clé de la lamine A dans la biologie des télomères a été rapporté dans les cellules somatiques [18].

Rôles de la lamine C2

Dans une étude faite en 2004, Alsheimer et al. [6] rapportent que des souris mâles *Lmna*^{-/-}, obtenues par introduction ciblée d'une délétion dans le gène *Lmna* présentaient un retard de croissance et développaient de graves dystrophies musculaires et une perte de tissu adipeux. De plus, ces souris étaient stériles alors que leurs homologues femelles *Lmna*^{-/-} présentaient une ovogenèse normale et leurs ovocytes étaient fécondables. Ces résultats suggèrent une fonction particulière de la lamine C2 chez le mâle au cours de la prophase de la méiose. Les testicules de ces souris étaient plus petits que ceux des animaux contrôles, les cellules de Sertoli et les spermatogonies semblaient normales, mais aucune spermatoïde ni aucun spermatozoïde n'a été observé sur les coupes histologiques de testicule et d'épididyme. Cette absence de cellules haploïdes s'accompagne d'une augmentation de la fréquence des spermatocytes au stade mid-préleptotène, stade défini par une localisation périphérique du DNA satellite péricentrique [17].

Une analyse fine du noyau montre que généralement des éléments axiaux (AE) complets s'attachent à la membrane nucléaire interne au stade leptotène/zygotène et que les télomères participent de façon normale à la réalisation du bouquet. Néanmoins, certains AE ne s'apparient pas, certains synapsis autosomaux et surtout sexuels sont incomplets et l'expansion du bouquet ne se réalise pas au stade pachytène. L'apoptose massive des spermatocytes au stade mid-pachytène s'accompagne de la présence de structures qui ressemblent à des SC dans les noyaux résiduels.

Alsheimer et al. [13] avaient émis l'hypothèse d'un rôle de la lamine C2 dans l'attachement des complexes télomériques à la membrane nucléaire au cours de la prophase de méiose. Cependant, dans les souris *Lmna*^{-/-} ni l'attachement des télomères ni le stade bouquet ne sont apparemment modifiés. Une autre protéine, Sun2, serait impliquée dans la liaison des télomères aux filaments d'actine cytoplasmique et ceci de façon indépendante de la lamine C2 [19].

Cependant, ces observations soulignent l'importance de la lamine C2 dans la formation de certains synapsis et dans les étapes de la méiose qui font suite à la formation du bouquet, c'est-à-dire dans la dispersion des télomères le long de la membrane nucléaire. Par ailleurs, Jahn et al. [7] démon-

trant, par l'expression ectopique de la lamine C2 dans des cellules somatiques, que la lamine C2 possède une plus grande mobilité que sa partenaire somatique. Cette propriété serait due au raccourcissement de sa partie N-terminale et serait à l'origine de son rôle dans la dispersion du bouquet. Ces résultats confortent l'hypothèse de Bass [16] selon laquelle les mouvements des télomères méiotiques seraient sous le contrôle de plusieurs facteurs.

Lamine C2 et protéines associées

Il était connu que des anomalies des lamines A/C pouvaient avoir des conséquences importantes dans différents tissus. Les études citées dans cet article montrent que des anomalies de la lamine A/C et de la lamine C2, spécifique de la spermatogenèse, peuvent altérer l'évolution de la prophase 1 et aboutir à des stérilités. Ces anomalies peuvent être imputées à la lamine C2 elle-même comme nous en avons fait l'analyse dans cette revue, mais elles peuvent également être le résultat de défauts liés à la lamine C2 et aux autres lamines A/C présentes dans les tissus ou, plus localement, dans les cellules somatiques du testicule.

D'autre part, les lamines A/C sont à la fois des éléments du cytosquelette mais également des régulateurs de l'expression des gènes et de nombreuses protéines leur sont associées. Jahn et al. [7] démontrent que l'expression ectopique de la lamine C2 dans les cellules somatiques altère la distribution des protéines endogènes de l'enveloppe nucléaire, telles que la lamine B1, LAP2, Sun1 et Sun2. Des anomalies de la famille des lamines peuvent donc avoir des répercussions sur leurs protéines associées. Inversement, des anomalies concernant les protéines associées peuvent avoir des répercussions sur la lamine C2 elle-même. Aucune étude n'a rapporté de tels événements à ce jour, à l'exception de l'étude approfondie d'une mutation de la protéine EWS, membre de la famille des facteurs de transcription ETS par Li et al. [20]. Ces auteurs ont montré pour la première fois que EWS interagissait avec la lamine A et que la perte de EWS provoquait une expression réduite de la lamine A/C. Cependant, aucune information ne concerne la notion de lamine C2 dans cette étude. Des spermatocytes *Ews*^{-/-} ont peu de bivalents XY et présentent une recombinaison méiotique réduite. Ces anomalies s'accompagnent d'une apoptose massive. On ne peut que faire le parallèle entre ces anomalies et celles obtenues chez des souris *Lmna*^{-/-}.

Conclusion

La famille des lamines A/C intervient de façon décisive dans l'évolution de la prophase de première division lors de la spermatogenèse chez la souris.

Il est nécessaire, à partir de ces résultats, d'arriver à étendre les connaissances concernant l'action précise de son représentant spécifique, la lamine C2 et de ses protéines associées dans le contexte des événements de la méiose humaine et de leur chronologie.

À ce jour, rien n'est connu sur son rôle chez l'homme.

Aucune étude ne rapporte un travail associant des anomalies de la spermatogenèse humaine et des laminopathies.

Pourtant, parmi les stérilités d'origine masculine rapportées à ce jour, un grand nombre d'entre elles concernent des anomalies de la prophase de première division méiotique et peuvent conduire à des azoospermies. Certaines d'entre elles restent inexplicables.

D'autre part un grand nombre de laminopathies sont en rapport avec des mutations du gène de la lamine A/C de type autosomique dominant, comme la lipodystrophie familiale partielle de Dunnigan. Cependant le mode de transmission peut être également autosomique récessif, comme c'est le cas pour une forme des neuropathies axonales de Charcot-Marie-Tooth.

Les données mentionnées ci-dessus indiquent que les filaments intermédiaires nucléaires de type lamine A/C pourraient être de bons candidats pour expliquer un certain nombre de stérilités touchant la prophase de méiose chez l'homme.

Conflit d'intérêt : l'auteur déclare ne pas avoir de conflit d'intérêt.

Références

1. Worman HJ (2012) Nuclear lamins and laminopathies. *J Pathol* 226:316–25
2. Bertrand AT, Chikhaoui K, Ben Yaou R, Bonne G (2011) Laminopathies: one gene, several diseases. *Biol Aujourd'hui* 205:147–62
3. Bridger JM, Eskiw CH, Makarov EM, et al (2011) Progeria research at Brunel University. *Nucleus* 2:517–22
4. Dutour A, Roll P, Gaborit B, et al (2011) High prevalence of laminopathies among patients with metabolic syndrome. *Hum Mol Genet* 20:3779–86
5. Andrés V, González JM (2009) Role of A-type lamins in signaling, transcription, and chromatin organization. *J Cell Biol* 187:945–57
6. Alsheimer M, Liebe B, Sewell L, et al (2004) Disruption of spermatogenesis in mice lacking A-type lamins. *J Cell Sci* 117:1173–8
7. Jahn D, Schramm S, Benavente R, et al (2010) Dynamic properties of meiosis-specific lamin C2 and its impact on nuclear envelope integrity. *Nucleus* 1:273–83
8. Dechat T, Adam SA, Goldman RD (2009) Nuclear lamins and chromatin: when structure meets function. *Adv Enzyme Regul* 49:157–66
9. Broers JL, Ramaekers FC, Bonne G, et al (2006) Nuclear lamins: laminopathies and their role in premature ageing. *Physiol Rev* 86:967–1008
10. Furukawa K, Inagaki H, Hotta Y (1994) Identification and cloning of an mRNA coding for a germ cell-specific A-type lamin in mice. *Exp Cell Res* 212:426–30
11. Smith A, Benavente R (1992) Identification of a short nuclear lamin protein selectively expressed during meiotic stages of rat spermatogenesis. *Differentiation* 52:55–60
12. Alsheimer M, Benavente R (1996) Change of karyoskeleton during mammalian spermatogenesis: expression pattern of nuclear lamin C2 and its regulation. *Exp Cell Res* 228:181–8
13. Alsheimer M, von Glasenapp E, Hock R, et al (1999) Architecture of the nuclear periphery of rat pachytene spermatocyte: distribution of nuclear envelope proteins in relation to synaptonemal complex attachment sites. *Mol Biol Cell* 10:1235–45
14. Prüfert K, Alsheimer M, Benavente R, et al (2005) The myristoylation site of meiotic lamin C2 promotes local nuclear membrane growth and the formation of intranuclear membranes in somatic cultured cells. *Eur J Cell Biol* 84:637–46
15. Alsheimer M, von Glasenapp E, Schnolzer M, et al (2000) Meiotic lamin C2: the unique amino-terminal hexapeptide GNAEGR is essential for nuclear envelope association. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:13120–5
16. Bass HW (2003) Telomere dynamics unique to meiotic prophase: formation and significance of the bouquet. *Cell Mol Life Sci* 60:2319–24
17. Scherthan H (2003) Knockout mice provide novel insights into meiotic chromosome and telomere dynamics. *Cytogenet Genome Res* 103:235–44
18. Gonzales-Suarez I, Redwood AB, Perkins SM, et al (2009) Novel role for A-type lamins in telomere biology and the damage response pathway. *Embol J* 28:2414–27
19. Schmitt J, Benavente R, Hodzic D, et al (2007) Transmembrane protein Sun2 is involved in tethering mammalian meiotic telomeres to the nuclear envelope. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:7426–31
20. Li H, Watford W, Li C, et al (2007) Ewing sarcoma gene EWS is essential for meiosis and B lymphocyte development. *J Clin Invest* 117:1314–23