



**HAL**  
open science

## Les récepteurs 5-HT<sub>4</sub>: 20 ans déjà! / Les récepteurs sérotoninergiques 5-HT<sub>4</sub>

Joël Bockaert, Sylvie Claeysen, Valerie Compan, Aline Dumuis

► **To cite this version:**

Joël Bockaert, Sylvie Claeysen, Valerie Compan, Aline Dumuis. Les récepteurs 5-HT<sub>4</sub>: 20 ans déjà!  
/ Les récepteurs sérotoninergiques 5-HT<sub>4</sub>. Sérotonine - Aspects biologiques et cliniques, 2012, 978-2-  
257-20509-4. hal-01667922

**HAL Id: hal-01667922**

**<https://hal.science/hal-01667922>**

Submitted on 5 Mar 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# **Les récepteurs 5-HT<sub>4</sub> : 20 ans déjà !**

Publié par l'éditrice sous le titre :

## **Les récepteurs sérotoninergiques 5-HT<sub>4</sub>**

**Joël Bockaert, Sylvie Claeysen, Valérie Compan, Aline Dumuis**

Joël Bockaert : Professeur des Universités, Docteur d'Etat, Agrégé de Sciences Naturelles, Ancien Elève de l'Ecole Normale Supérieure, Académicien ; Institut de Génomique Fonctionnelle, Université de Montpellier, CNRS UMR5203, Montpellier, F-34094, France ; INSERM, U661, Montpellier, F-34094, France, 141 Rue de la Cardonille, F-34094 Montpellier Cedex 5, France. Mél : [joel.bockaert@igf.cnrs.fr](mailto:joel.bockaert@igf.cnrs.fr) Tel : +33 467 14 29 30. Fax : +33 467 54 24 32.

Sylvie Claeysen : Chargée de Recherche à l'INSERM, Docteur de l'Université Montpellier II ; Institut de Génomique Fonctionnelle, Université de Montpellier, CNRS UMR5203, Montpellier, F-34094, France ; INSERM, U661, Montpellier, F-34094, France, 141 Rue de la Cardonille, F-34094 Montpellier Cedex 5, France. Mél : [sylvie.claeysen@igf.cnrs.fr](mailto:sylvie.claeysen@igf.cnrs.fr) Tel : +33 467 14 29 34. Fax : +33 467 54 24 32.

Valérie Compan : Professeur des Universités, Docteur de l'Université de Marseille ; Institut de Génomique Fonctionnelle, Université de Montpellier, CNRS UMR5203, Montpellier, F-34094, France ; INSERM, U661, Montpellier, F-34094, France, 141 Rue de la Cardonille, F-34094 Montpellier Cedex 5, France. Mél : [valerie.compan@igf.cnrs.fr](mailto:valerie.compan@igf.cnrs.fr) Tel : +33 467 14 29 95. Fax : +33 467 54 24 32.

Aline Dumuis : Directeur de Recherche au CNRS, Docteur d'Etat ; Institut de Génomique Fonctionnelle, Université de Montpellier, CNRS UMR5203, Montpellier, F-34094, France ; INSERM, U661, Montpellier, F-34094, France, 141 Rue de la Cardonille, F-34094 Montpellier Cedex 5, France. Mél : [aline.dumuis@igf.cnrs.fr](mailto:aline.dumuis@igf.cnrs.fr). Tel : +33 467 14 29 34. Fax : +33 467 54 24 32.

## **Plan du chapitre**

### **Introduction**

#### **1. Pharmacologie**

- 1.1. Les agonistes
- 1.2. Les antagonistes

#### **2. Distribution tissulaire et cellulaire**

#### **3. Structure du gène et variants d'épissage**

#### **4. Signalisation G protéine-dépendante et indépendante**

#### **5. Désensibilisation**

#### **6. Activation du récepteur 5-HT<sub>4</sub>**

#### **7. Protéines associées aux récepteurs 5-HT<sub>4</sub>**

#### **8. Fonctions**

- 8.1. Fonctions cérébrales
  - 8.1.1. Mémoire
  - 8.1.2. Contrôle de l'humeur, les agonistes 5-HT<sub>4</sub> sont-ils de futurs antidépresseurs ?
  - 8.1.3. Contrôle de la prise alimentaire: (voir chapitre V. Compan)
- 8.2. Fonctions périphériques
  - 8.2.1. Rôle du récepteur 5-HT<sub>4</sub> sur les tractus digestifs
  - 8.2.2. Fonction dans le cœur
- 8.3. Autres effets

### **Conclusion**

## **Introduction**

L'histoire de la classification des récepteurs de la sérotonine (5-Hydroxy-Tryptamine ou 5-HT) commence, chacun le sait, avec le célèbre papier de Gaddum et Picarelli, en 1957 (Gaddum and Picarelli, 1957). Travaillant sur l'iléon de cochon d'inde, ils postulèrent l'existence de deux récepteurs de la sérotonine. L'un est sensible au LSD (Lysergic Acid Diethylamide) et aux dérivés de l'ergot, l'autre pas. Le premier, inhibé par la dibenzylamine et le LSD (probablement agissant comme agoniste partiel) et localisé sur le muscle lisse, est appelé récepteur D (pour dibenzylamine). Le deuxième, localisé pré-synaptiquement, sensible à la morphine et à l'atropine, est appelé récepteur M (pour morphine). Cependant, ce n'est qu'environ 30 ans plus tard que G. Fillion et S. Snyder, commencèrent clairement à identifier la diversité des sites de liaison de la sérotonine dans le cerveau, ceci grâce à la possibilité d'obtenir des hormones et des neurotransmetteurs radioactifs (Fillion et al., 1976; Peroutka and Snyder, 1979).

L'étape suivante fût d'assigner une fonction aux sites de liaisons identifiés. Grâce aux travaux de P. Greengard sur les récepteurs de la dopamine, montrant un couplage positif de récepteurs dopaminergiques présents dans le striatum (récepteurs D1) à l'adénylate cyclase (Kebabian and Greengard, 1971), nous montrions, dès les années 1978, en collaboration avec M. Hamon, qu'il existait un récepteur de la sérotonine couplé positivement à l'adénylate cyclase. Ce récepteur était présent dans plusieurs régions du cerveau, en particulier dans les colliculi, et cela, chez plusieurs espèces (Enjalbert et al., 1978). Les outils pharmacologiques (agonistes et antagonistes) étaient peu nombreux et peu spécifiques à cette époque. Ce n'est que 10 ans plus tard, que la caractérisation de ces récepteurs couplés positivement à l'adénylate cyclase et exprimés dans les neurones de colliculi en culture a, à nouveau, suscité un intérêt (Dumuis et al., 1988). Avec Aline Dumuis, nous montrions que ces récepteurs ne correspondaient à aucun des récepteurs de la sérotonine déjà caractérisés (récepteurs 5-HT<sub>1,2,3</sub>). En particulier, aucun des antagonistes connus de ces récepteurs ne bloquait la stimulation de l'adénylate cyclase par la sérotonine, à l'exception du tropisetron, un antagoniste 5-HT<sub>3</sub> mais à des doses incompatibles avec

l'implication d'un récepteur 5-HT<sub>3</sub>. Nous avons donc proposé de les nommer récepteurs 5-HT<sub>4</sub>, essayant les foudres du comité de nomenclature de la sérotonine. Depuis sa découverte, la pharmacologie, la biologie moléculaire et les études fonctionnelles ont permis une caractérisation très précise des récepteurs 5-HT<sub>4</sub>. Plusieurs médicaments ciblant ces récepteurs ont été mis sur le marché et plusieurs autres sont en phase de développement pour des pathologies du système gastro-intestinal et du système nerveux central.

## **1. Pharmacologie**

### 1.1. Les agonistes (Figure 1)

Très rapidement nous avons montré que les benzamides substitués en 2-methoxy-4-amino-5-chloro tels la métoclopramide, le renzapride, le cisapride ou le zacopride étaient de puissants agonistes (pour des revues voir (Bockaert et al., 2004a; Bockaert et al., 2008; Bockaert et al., 1997; Langlois and Fischmeister, 2003). Ceci fut une étape importante dans leur caractérisation pharmacologique car elle établissait un lien entre le récepteur 5-HT<sub>4</sub> que nous venions de découvrir dans les neurones et un récepteur non encore caractérisé de l'iléon de cochon d'inde, lui aussi insensible aux antagonistes 5-HT<sub>1,2,3</sub>, stimulé par les benzamides et bloqué par de fortes doses de tropisetron. Cette étape fut "nice but naughty" car nous avons imposé le nom de récepteur 5-HT<sub>4</sub> sans "l'autorisation" du Club de la Sérotonine (Clarke et al., 1989). À partir de 1990, la plupart des compagnies pharmaceutiques développaient des ligands spécifiques de ce récepteur (Figures 1 et 2).

La première classe d'agonistes regroupe les dérivés indoles comme la tryptamine (y compris la 5-HT) et les dérivés indoles carbazimidamines. Le tegaserod ou Zelmac<sup>®</sup>, prescrit pour traiter le syndrome du colon irritable avec constipation chez la femme, appartient à cette classe. Ce composé vient d'être récemment retiré du marché à cause d'effets secondaires cardiovasculaires (allongement du Qt) non reliés à une action impliquant les récepteurs 5-HT<sub>4</sub>.

La seconde classe comprend les dérivés benzamides dont le chef de file est la métoclopramide ou Primperan<sup>®</sup>, présent sur le marché des médicaments

en tant qu'anti-émétique (action via les récepteurs dopaminergiques D<sub>2</sub> et via les récepteurs 5-HT<sub>3</sub> à forte dose) et stimulant du transit gastro-intestinal (action via les récepteurs 5-HT<sub>4</sub>). La troisième classe ou benzodioxanes ne contient qu'un seul produit, le SL65.0155, particulièrement actif comme pro-mnésique chez plusieurs espèces (voir figure 5). Ce composé a atteint la phase IIb pour le traitement de la maladie d'Alzheimer (Moser et al., 2002). La quatrième classe comprend les aryl-ketones dont le RS 67333 contenant un large groupement alkyl. Ces composés présentent une grande biodisponibilité, ils passent très facilement la barrière hémato-encéphalique. Dans la cinquième classe se trouve une pyridine carboxamide (VRX-03011), une autre substance pro-mnésique actuellement en phase II pour le traitement de la maladie d'Alzheimer (Mohler et al., 2007). Dans la sixième classe se trouvent des dérivés benzimidazolones dont le BIMU1 et le BIMU8 reconnus depuis de nombreuses années comme agonistes 5-HT<sub>4</sub>. Enfin, les deux dernières classes comprennent les dérivés naphthalimides (RS 56532 et RS 66332) et très récemment, les dérivés quinolines (TD 5108)(Beattie et al., 2008).

1.2. Les antagonistes (Figure 2) (Pour revues voir (Bockaert et al., 2004a; Bockaert et al., 2008; Bockaert et al., 1997; Langlois and Fischmeister, 2003)

Dans la classe des indoles, on trouve le GR 113808 qui fut le premier antagoniste spécifique des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> avec peu d'affinité pour les récepteurs 5-HT<sub>3</sub>. Cet antagoniste tritié fut le premier radioligand qui a enfin permis de définir avec précision, les caractéristiques pharmacologiques mais aussi la localisation des récepteurs 5-HT<sub>4</sub>, notamment dans le cerveau. Les autres antagonistes sont des dérivés benzoates (comme le SDZ 205557), des dérivés benzoates dioxanes tel le SB 204070 qui par substitution du chlore par un iode radioactif a donné le [<sup>125</sup>I]SB 207710, un autre excellent radioligand. Les autres classes d'antagonistes sont constituées par les benzimidazolones, les imidazolpyridines et les aryl-kétones. Finalement, en collaboration avec la compagnie Roche nous avons décrit d'excellents agonistes inverses appartenant à la famille des dérivés benzoates dioxanes (RO 116-0086, RO

116-1148 et le RO 116- 2617) (Figure 3). Le SB 207266 qui est un dérivé indole carboxylate est aussi un agoniste inverse. Rappelons qu'un agoniste inverse est capable d'inhiber l'activité constitutive ou activité basale du récepteur en absence de tout agoniste ((Joubert et al., 2002), Figure 3).

## **2. Distribution tissulaire et cellulaire** (Pour revues voir (Bockaert and Dumuis, 1998; Bockaert et al., 1997)

Dans le système nerveux central, les récepteurs 5-HT<sub>4</sub> sont essentiellement localisés sur les neurones. Les plus fortes densités sont trouvées au niveau du bulbe olfactif, des îlots de Calleja, des ganglions de la base et du noyau accumbens, de l'hippocampe et de la substance noire (Bockaert and Dumuis, 1998; Waeber et al., 1993; Waeber et al., 1994). Dans le cortex, l'hippocampe et l'amygdale, les récepteurs 5-HT<sub>4</sub> sont localisés sur des neurones cholinergiques où ils stimulent la libération d'acétylcholine mais aussi sur les neurones glutamatergiques (King et al., 2008). Dans le striatum et le noyau accumbens, on les trouve sur les neurones GABA intrinsèques (Spiny neurons) mais aussi sur les neurones glutamatergiques (King et al., 2008). Ils sont aussi localisés sur les neurones respiratoires du complexe Pre-Boetzingier (Manzke et al., 2003). Dans le cœur, ils ne sont exprimés que dans les myocytes des oreillettes chez le porc et l'homme (Kaumann and Levy, 2006; Manzke et al., 2003; Ouadid et al., 1992; Richter et al., 2003). Par contre lors d'une insuffisance cardiaque, ils sont aussi exprimés dans les ventricules chez l'homme ou même le rat (Brattelid et al., 2004; Qvigstad et al., 2005). Chez les rongeurs, ces récepteurs sont exprimés dans les muscles lisses de l'œsophage. Dans beaucoup d'espèces, ils sont présents sur les neurones afférents intrinsèques (IPANs : Intrinsic Primarily Afferent Neurons) et sur les neurones moteurs et les entérocytes du tractus gastro-intestinal. Dans la vessie, ils sont présents sur les neurones cholinergiques/purinergiques innervant les muscles lisses (detrusor) (Candura et al., 1996). Enfin ils sont présents dans la zone glomérulée et fasciculée des corticosurrénales (Lefebvre et al., 1998; Lefebvre et al., 1992).

### **3. Structure du gène et variants d'épissage** (Pour revue voir (Bockaert et al., 2006; Bockaert et al., 1997))

Le gène des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> est certainement le plus long des gènes codant un récepteur couplé aux protéines G (RCPG). Il est composé de plus de 700 kb et contient au moins 38 exons. Sa région 5' non codante est très longue (> 500 kb) et complexe. La séquence codante humaine comprend 14 exons identifiés à ce jour. De nombreux variants d'épissage sont générés, conduisant à des protéines dont la région C-terminale varie après la position L358. Chez l'homme, 7 variants de ce type ont été séquencés (a, b, c, d, g, i, n), 3 chez le rat (a, b, e) et 4 chez la souris (a, b, e, f). 9 nouveaux variants d'épissage ont été récemment décrits chez le porc (De Maeyer et al., 2008a). Enfin, chez l'homme et le porc, un variant d'épissage (h) avec une insertion de 14 amino-acides au niveau de la boucle externe e2 a été séquencé. Ce variant est associé seulement au variant d'épissage b.

Bien que les variants d'épissage aient une activité intrinsèque très différente avec des différences de signalisation observées lorsqu'ils sont exprimés dans des cellules hétérologues, la signification physiologique de l'existence d'une telle quantité de variants d'épissage reste à ce jour inexpliquée.

### **4. Signalisation G protéine-dépendante et indépendante** (Figure 4)

Depuis sa découverte, il est bien établi que les récepteurs 5-HT<sub>4</sub> sont couplés à l'adénylate cyclase via une protéine G de type G<sub>s</sub> dans les neurones, les myocytes, les cellules corticales des glandes surrénales et les cellules de la muqueuse intestinale. Par contre lorsqu'ils sont exprimés dans des cellules hétérologues, d'autres couplages sont observés, par exemple un couplage à G<sub>q</sub> et G<sub>13</sub> (Bockaert et al., 2006; Chang et al., 2007; Ponimaskin et al., 2002). Cependant, ces couplages restent à démontrer dans les cellules natives. Suivant l'activation de la protéine kinase A (PKA) dépendante de l'AMPc (Adénosine 3', 5'-monophosphate cyclique) formée après activation du récepteur 5-HT<sub>4</sub>, une série de canaux sont modulés (Bockaert et al., 2006) :

- 1° une inhibition de longue durée, des courants K<sup>+</sup>(courants potassiques) responsables de l'excitabilité neuronale et diminution de l'accommodation de la fréquence des potentiels d'action

- 2° une inhibition de courants  $K^+$  activés par le  $Ca^{2+}$  ( $I_{sAHP}$ , slow After Hyper Polarization currents)
- 3° une modulation positive ou négative des courants  $GABA_A$  ( $\gamma$ -Aminobutiric Amino acid)

Dans les myocytes cardiaques, les récepteurs 5-HT<sub>4</sub> activent des courants de type L via la PKA. L'AMPC, produit après stimulation des récepteurs 5-HT<sub>4</sub>, active directement des courants activés par l'hyperpolarisation, les courants  $I_h$ . Ces récepteurs activent aussi le facteur d'échange Epac (Exchange Protein Activated by cAMP) qui est un facteur d'échange des petites protéines –GEF (Guanine nucleotide Exchange Factor)– de type Rap, Rac (Lezoualc'h and Robert, 2003). Epac active une  $\alpha$ -sécrétase libérant un peptide soluble de la protéine APP (Amyloid Protein Precursor) via l'activation de la voie Epac/Rap1/Ras. L'activation d'une  $\alpha$ -sécrétase pourrait permettre une réduction de l'accumulation du peptide amyloïde toxique ( $A\beta$ ) comme cela a été récemment observé (Cho and Hu, 2007).

Nous avons démontré récemment dans les cellules hétérologues mais aussi dans les neurones de colliculi, que les récepteurs 5-HT<sub>4</sub> s'associent directement à la protéine tyrosine kinase Src. L'activation des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> stimule Src sans l'intervention de protéines G (voie protéine G-indépendante) (Barthet et al., 2007). L'activation de Src induit la stimulation de la voie ERK (Extracellular Regulated Kinase) et ceci sans implication de la  $\beta$ -arrestine. On sait que certains RCPG activent la voie ERK via la  $\beta$ -arrestine sans intervention de protéines G (Lefkowitz and Shenoy, 2005). Le complexe récepteur 5-HT<sub>4</sub>/Src est internalisé et persiste après endocytose. La stimulation de la voie ERK pourrait être importante pour la stimulation de la LTP (Potentialisation à Long Terme), un modèle de "mémoire cellulaire", induit par les récepteurs 5-HT<sub>4</sub> (Huang and Kandel, 2007a; Huang and Kandel, 2007b). La stimulation de la voie Src, indépendante de la voie AMPC/PKA, sous contrôle des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> a aussi été décrite dans des lignées épithéliales intestinales (Caco-2 et T84). Dans ces cellules, Src active la voie PLC (PhosphoLipase C)/ $Ca^{2+}$ /calmoduline et finalement contrôle l'échangeur  $Na^+/H^+$  (Gill et al., 2005).

## 5. Désensibilisation

Nous avons décrit la désensibilisation des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> exprimés dans les neurones de colliculi mais aussi ceux des muscles lisses de l'œsophage de rat (Ansanay et al., 1992; Ronde et al., 1995). Dans ces deux tissus, la désensibilisation est très similaire. Il s'agit d'une désensibilisation homologue, découplage du récepteur et de la protéine Gs, après fixation de l'agoniste spécifique du récepteur, (phénomène non reproduit par les seconds messagers dont l'AMPc). La désensibilisation homologue est très rapide (75% de perte de réponse en quelques minutes) et irréversible, c'est-à-dire que les récepteur 5-HT<sub>4</sub> ne sont pas recyclés à la membrane en ce qui concerne le couplage à Gs mais vont vers les voies de dégradation. Dans les cellules hétérologues de type COS-7 ou HEK-293, le récepteur ne se désensibilise pratiquement pas (Barthet et al., 2005). La raison en est la faible concentration de GRK2 (G Protein Receptor Kinase 2) dans ces cellules. La sur-expression de GRK2 permet d'observer une désensibilisation homologue (découplage) dans ces cellules hétérologues similaire à celle observée dans les cellules neuronales. Les récepteurs 5-HT<sub>4</sub> sont aussi internalisés par endocytose. Le découplage et l'endocytose nécessitent la présence de GRK2 mais, si l'activité kinase de celle-ci est requise pour l'endocytose, elle ne l'est pas pour le découplage à la protéine Gs. La phosphorylation d'une séquence de sérines/thréonines au niveau du domaine C-terminal commun aux différents variants d'épissage est nécessaire à l'endocytose, mais pas au découplage (Barthet et al., 2005). Nous avons récemment montré que l'activation de Src qui est une voie de signalisation protéine G-indépendante, peut aussi être désensibilisée, mais cette fois c'est la kinase GRK5 (G Protein Receptor Kinase 5) qui est impliquée. Il existe donc une spécificité dans la régulation des voies dépendantes ou indépendantes des protéines G (Manuscrit en préparation).

## 6. Activation du récepteur 5-HT<sub>4</sub>

Différentes expériences de mutagenèse et de biophysique menées sur le récepteur purifié à l'homogénéité et renaturé nous ont permis de proposer

les conclusions suivantes concernant la fixation des ligands et l'activation du récepteur 5-HT<sub>4</sub> :

- Comme toutes les amines protonées, la sérotonine se lie sur le récepteur à un aspartate de l'hélice 3 (D<sup>100</sup> ou D<sup>3.32</sup>). Au contraire, les ligands synthétiques de type benzamide ou benzamidazolone se lient au récepteur indépendamment de l'aspartate. En conséquence le mutant D<sup>3.32</sup>A est un RASSL (Receptor Activated Solely by Synthetic Ligands) c'est-à-dire un récepteur qui ne répond plus à son ligand endogène mais reste pleinement activable par des ligands synthétiques (Claeyssen et al., 2003). Ce premier RASSL couplé à Gs et reproduit à partir de sa séquence humaine a été appelé hRS-s (Conklin et al., 2008). Sur ce récepteur, les antagonistes deviennent des agonistes. Ces RASSL ont un potentiel thérapeutique important car exprimés dans un tissu ou une cellule, ils permettent de contrôler à volonté l'activation des voies de signalisation auxquelles ils sont couplés.
- L'activité constitutive est due à un double "toggle switch" des hélices 3 et 6 au niveau de la thréonine 3.36 et du tryptophane 6.48. Une mutation de l'un de ces acides aminés en alanine supprime l'activité constitutive et les agonistes inverses deviennent des antagonistes (Manuscrit sous presse).
- L'activation par la sérotonine n'implique pas ces "toggle switch".
- Par contre, l'activation par les benzimidazolones (BIMU1 et 8) nécessite le "toggle switch" au niveau du résidu T<sup>3.36</sup> alors que l'activation par les benzamides (cisapride, zacopride...) nécessite le "toggle switch" au niveau de l'acide aminé W<sup>6.48</sup>, certainement par stabilisation directe des groupements carbonyles de ces ligands avec les acides aminés de la poche de liaison du récepteur.
- Les agonistes et les agonistes inverses modifient de manière symétrique le réarrangement conformationnel de la boucle externe e<sub>2</sub> suivant leur interaction avec le récepteur (Baneres et al., 2005).
- Enfin, les agonistes partiels stabilisent un état conformationnel différent de celui stabilisé par les agonistes ou les antagonistes. L'état conformationnel induit par un agoniste partiel n'est donc pas

un état en équilibre entre deux états extrêmes (obtenu d'une part avec un agoniste total et d'autre part avec un antagoniste) mais un état spécifique qui dépend de la nature de l'agoniste partiel (Baneres et al., 2005).

## **7. Protéines associées aux récepteurs 5-HT<sub>4</sub>**

Un grand nombre de RCPG interagissent avec d'autres protéines que les protéines G, nommées GIP (pour GPCR Interacting Proteins) (Bockaert et al., 2004b). Une des GIP la plus connue est la  $\beta$ -arrestine. Ces protéines modulent la signalisation des RCPG, leur désensibilisation, leur trafic, leur adressage cellulaire etc... Nous avons déjà décrit l'interaction des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> avec la protéine tyrosine kinase Src dans le paragraphe précédent. Afin de rechercher un rôle éventuel à la diversité des séquences en région C-terminale (C-t) des multiples variants d'épissage des récepteurs 5-HT<sub>4</sub>, nous avons utilisé une approche "de pêche à la ligne" ou "fishing" suivie d'une identification par spectrométrie de masse des protéines spécifiquement retenues par l'hameçon représenté par la séquence C-t (Joubert et al., 2004). Deux variants d'épissage (5-HT<sub>4a</sub> et 5-HT<sub>4e</sub>) ont une séquence consensus de type ligand PDZ (pour PSD-95, Dlg, ZO1) à leur extrémité : SCF pour le récepteur 5-HT<sub>4a</sub> (interaction possible avec des protéines contenant des domaines PDZ de type I) et VSV pour le récepteur 5-HT<sub>4e</sub> (interaction possible avec des protéines contenant des domaines PDZ de type II). Dix protéines ont été identifiées se fixant sur le domaine C-t du récepteur 5-HT<sub>4a</sub>. Parmi celles-ci, 7 contiennent un ou plusieurs domaines PDZ dont les deux formes de sortin-nexin 27 (SNX27 a, b) qui appartiennent à la grande famille des sortin-nexins. SNX27 a, b aussi connues sous le nom de Mrt1a,b (Met-amphétamine related transcript) sont associées aux endosomes précoces. Mrt1a est constitutivement exprimée alors que Mrt1b est induite sous Mét-amphétamine (Gill et al., 2005; Kajii et al., 2003). Une autre protéine est associée au ligand PDZ du récepteur 5-HT<sub>4a</sub>. Il s'agit de la protéine NHERF (Na<sup>+</sup>/ H<sup>+</sup> Exchanger Regulatory Factor) qui s'associe au domaine FERM ((4.1protein)/Ezrin/radixin/myosin) de l'eitrine lorsque cette dernière est sous forme activée. Dans des fibroblastes exprimant à la fois NHERF et les récepteurs 5-HT<sub>4a</sub>, l'eitrine du

cytosol se relocalise avec les récepteurs 5-HT<sub>4a</sub> et NHERF au niveau des microvillosités (Joubert et al., 2004).

## 8. Fonctions

### 8.1. Fonctions cérébrales

Trois fonctions principales sont associées à l'activité cérébrale des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> : la mémoire, la régulation de l'humeur et la régulation de la prise de nourriture.

#### 8.1.1. Mémoire

L'injection systémique d'agonistes 5-HT<sub>4</sub> tels que le RS 67333, RS 17017, mais aussi de BIMU8, de SL65 65.0155 ou de VRX -03011 augmente la performance des rongeurs dans plusieurs tests d'acquisition mnésique et/ou de rétention mnésique : reconnaissance sociale, mémoire olfactive associative, reconnaissance d'objets, mémoire spatiale (pour une revue voir (King et al., 2008)). Ils corrigent également les déficits mnésiques dus à l'injection d'atropine, de scopolamine ou après une amnésie induite par l'hypoxie ou encore après lésion des neurones granulaires de l'hippocampe (Marchetti et al., 2008). Les agonistes augmentent aussi la performance des singes macaques jeunes ou âgés dans le test de non-appariement différé d'échantillons, un test simple qui permet d'évaluer la capacité à reconnaître comme "familier" un objet perçu précédemment.

Les mécanismes cellulaires impliqués peuvent être les suivants :

- stimulation de la libération d'acétylcholine dans le cortex frontal et l'hippocampe chez le rat conscient et éveillé, mais aussi stimulation de la LTP dans l'hippocampe et l'amygdale,
- réduction de la dépotentialisation et changement des "patrons" de la LTD (Dépression à Long Terme) de la transmission synaptique (King et al., 2008). Ces observations laissent penser que des agonistes 5-HT<sub>4</sub> ou des agonistes partiels voire très partiels pourraient être utiles dans la maladie d'Alzheimer. Ainsi le RS 67333, le SL65.0155, le VRX-03011 ont des effets pro-mnésiques synergiques avec les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Les deux derniers composés ont atteint la phase II pour le traitement de la maladie d'Alzheimer mais seul le deuxième (VRX-

03011) est toujours en développement (Mohler et al., 2007; Moser et al., 2002). En collaboration avec les équipes de F. Roman et M. Ammassari-Teule, nous avons récemment montré une augmentation de la taille et du nombre des épines dendritiques des neurones CA1 de l'hippocampe chez la souris entraînées ayant reçu une injection de SL65.0155 (Restivo et al., 2008). Nous démontrons que la taille et le nombre des épines sont corrélés à l'intensité de la LTP. L'AMPC produit par l'agoniste 5-HT<sub>4</sub> est impliqué dans la consolidation de la mémoire via l'augmentation de la LTP et la formation des épines (Figure 5).

En plus des effets pro-mésiques, les agonistes 5-HT<sub>4</sub> stimulent, comme déjà indiqué, la production de APPs (Amyloid Precursor Protein soluble) réduisant par là-même la production du peptide amyloïdogénique Aβ (Cho and Hu, 2007). Le récepteur 5-HT<sub>4</sub> reste donc une cible prometteuse pour tenter de traiter ou retarder la maladie d'Alzheimer (Cachard-Chastel et al., 2008; Cachard-Chastel et al., 2007; Lezoualc'h and Robert, 2003).

8.1.2. Contrôle de l'humeur, les agonistes 5-HT<sub>4</sub> sont-ils de futurs antidépresseurs ?

Les inhibiteurs spécifiques de la recapture de la sérotonine (ISRS) sont des anti-dépresseurs efficaces et ceci via une élévation de la concentration synaptique de sérotonine et la stimulation des récepteurs post-synaptiques. Malheureusement dans un premier temps les récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> localisés sur les corps cellulaires des neurones sérotoninergiques sont activés et par leur effet inhibiteur, contrecarrent l'augmentation synaptique de 5-HT. Il faut attendre plusieurs semaines pour que ces récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> se désensibilisent complètement et qu'enfin les récepteurs 5-HT post-synaptiques soient suractivés, conduisant à des effets bénéfiques sur les troubles de l'humeur. Des composés qui activeraient rapidement l'activité des neurones sérotoninergique pourraient être de bons anti-dépresseurs. De fait, nous avons montré, en collaboration avec l'équipe de G. Debonnel que des agonistes 5-HT<sub>4</sub> injectés en intrapéritonéal (IP) exercent une activité tonique et phasique sur l'activité des neurones 5-HT du raphé dorsal et que cet effet était indirect via le cortex frontal médian (Lucas et al., 2005). L'équipe de G. Debonnel a récemment montré, de manière convaincante,

que 3 jours de traitement avec le RS 67333 ou le prucalopride étaient suffisants pour obtenir un effet anti-dépresseur (Lucas et al., 2007). Cet effet a été confirmé par l'équipe de P. Greengard (sous presse) qui a de plus observé que l'interaction avec la protéine p11 était nécessaire pour obtenir cet effet. On sait que la protéine p11 est également impliquée dans les effets anti-dépresseurs des agonistes 5-HT<sub>1B</sub> (Svenningsson et al., 2006).

### 8.1.3. Contrôle de la prise alimentaire : (voir chapitre V. Compan)

La souris dont le gène codant le récepteur 5-HT<sub>4</sub> a été invalidé (KO 5-HT<sub>4</sub><sup>-/-</sup>) présente une réponse hypophagique atténuée suite à un stress (Compan et al., 2004). Le récepteur 5-HT<sub>4</sub> est très exprimé dans le noyau accumbens. Nous avons démontré que la stimulation de ce récepteur, dans cette structure, réduit la prise alimentaire et stimule la transcription du peptide anorexique CART (Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript) chez la souris sauvage privée de nourriture mais pas chez la souris invalidée pour le gène codant le récepteur 5-HT<sub>4</sub> (Jean et al., 2007). Nous avons également montré que l'effet anorexique du MDMA (3,4-N-méthylène-dioxyméthamphétamine (principe actif de l'ectasy) implique les récepteurs 5-HT<sub>4</sub>. En conclusion, les effets anorexiques des agonistes 5-HT<sub>4</sub> et du MDMA sont minimisés si la concentration de CART dans l'accumbens est réduite après l'injection d'un siRNA (small interfering RiboNucleic Acic) (Jean et al., 2007).

## 8.2. Fonctions périphériques

### 8.2.1. Rôle des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> sur les tractus digestifs (Pour une revue voir (Sanger, 2008)

De nombreuses études attestent du rôle des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> sur le tractus gastro-intestinal : relaxation de l'œsophage chez les rongeurs, facilitation de la vidange gastrique, facilitation du péristaltisme, sécrétion des cellules épithéliales du colon et de l'iléon. Les benzamines furent les premiers agonistes 5-HT<sub>4</sub> utilisés dans les pathologies liées à l'hypomotilité du tractus intestinal (constipation, gastroparésie, reflux gastro-oesophagien). La métoclopramide ou Primpéran®, chef de file de cette classe d'agonistes

comme nous l'avons déjà discuté, présente des effets secondaires dus à une action sur les récepteurs D<sub>2</sub> (mouvements anormaux s'il est utilisé de manière non appropriée). Le cisapride ou Propulsid®, une autre benzamide fut pendant de nombreuses années prescrit à la place du Primpéran®. La prise de ce composé a également entraîné des effets indésirables liés à son action sur les canaux cardiaques hERG (human Ether-à-go-go Related Gene), effets indésirables rencontrés principalement chez les individus présentant des maladies cardio-vasculaire. Il fut retiré du marché et ainsi l'usage du Primpéran est de nouveau en augmentation. Entre temps le Tegaserod ou Zelnac®, un composé ayant la même affinité comme agoniste 5-HT<sub>4</sub> et comme antagoniste 5-HT<sub>2B</sub> (McCullough et al., 2006), a été mis sur le marché aux USA, chez la femme uniquement, pour le traitement de l'IBS (Irritable Bowel Syndrome) avec constipation, mais pas en Europe. Il fut récemment retiré du marché à cause d'une augmentation significative d'ischémie cardio-vasculaire comparée à une population témoins (16 cas sur 11 600 patientes comparés à 1 cas chez les témoins). Deux produits sont encore en développement pour constipation chronique, le prucalopride (De Maeyer et al., 2008b) et le TD-5108 (Beattie et al., 2008). Ces produits sont plus sélectifs ainsi leurs effets réels sur le récepteur 5-HT<sub>4</sub> seront évalués dans le tractus gastro-intestinal (Sanger, 2008).

### 8.2.2. Fonction dans le cœur

La stimulation des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> exprimés dans les myocytes de l'atrium cardiaque augmente les courants calciques aussi fortement que les catécholamines. Un effet AMPc/PKA-dépendant est présent uniquement dans les oreillettes chez l'homme et le porc (Kaumann and Levy, 2006; Ouadid et al., 1992). Cependant, chez le porc et l'homme, des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> fonctionnels sont également exprimés dans les ventricules d'individus souffrant d'insuffisance cardiaque (Brattelid et al., 2004; Qvigstad et al., 2005). Il a été proposé par A. Kaumann et F.O. Levy que la 5-HT libérée des plaquettes chez les personnes ayant une circulation altérée (personnes âgées par exemple) pourrait induire une fibrillation atriale et ainsi induire en boucle : thrombose-libération de 5-HT-arythmie. Les effets inotropiques des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> sont plus importants chez les patients

ayant une insuffisance cardiaque (Kaumann and Levy, 2006). Chez le rat, ayant une insuffisance cardiaque expérimentale, les antagonistes 5-HT<sub>4</sub> sont bénéfiques. En conclusion, les récepteurs 5-HT<sub>4</sub> pourraient être impliqués dans la physiopathologie des individus souffrant d'insuffisances cardiaques.

### 8.3. Autres effets

Les récepteurs 5-HT<sub>4</sub> sont fortement exprimés dans le complexe Pre-Boetzingier où ils sont capables de réduire la détresse respiratoire due aux dérivés opiacés (probablement en diminuant la baisse d'AMPc induite par ces composés) (Manzke et al., 2003). Les récepteurs 5-HT<sub>4</sub> sont aussi capables de stimuler la libération d'acétylcholine dans le muscle lisse (detrusor) de la vessie et de stimuler sa contraction donc d'augmenter l'incontinence (Candura et al., 1996). Des antagonistes 5-HT<sub>4</sub> pourraient être utiles pour traiter cette pathologie. Enfin, le rôle physiopathologique des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> présents dans les corticosurrénales est également bien documenté grâce aux travaux de Lefebvre et collaborateurs (Lefebvre et al., 1998).

### **Conclusion**

20 ans ! Est-ce la maturité pour l'étude d'une cible pharmacologique ? On peut le penser. Cependant, beaucoup reste à faire pour comprendre les fonctions de ces récepteurs y compris celles des différents variants d'épissage, si elles existent. L'étude des voies de signalisation, non encore explorées, notamment impliquant la signalisation indépendante des protéines G, nous réserve encore de grandes surprises. Enfin, la physiologie au niveau du système nerveux central reste à explorer plus avant.

L'arrivée sur le marché, de médicaments ciblant les récepteurs 5-HT<sub>4</sub> pour le traitement de troubles du transit a connu de nombreux échecs. Ils sont dus principalement à des effets secondaires, probablement consécutifs à une trop faible spécificité. Récemment, un nouveau concept a été introduit concernant la pharmacologie des RCPGs. Il s'agit du concept de "signalisation dépendante du ligand". Selon ce concept, différents ligands activant un même récepteur peuvent mettre en jeu différentes voies de signalisation (Urban et al., 2007). Ce concept, en plein essor, donne de grands espoirs sur le plan thérapeutique. En effet, une drogue

"sélectionnant" une voie de signalisation pourrait avoir moins d'effets secondaires qu'un ligand activant toutes les voies de signalisations. En ce qui concerne les récepteurs 5-HT<sub>4</sub> on peut raisonnablement penser trouver des ligands activant soit la voie Gs/cAMP soit la voie Src/ERK.

Sans être aussi ambitieux, l'espoir est d'amener sur le marché des médicaments ciblant le récepteur 5-HT<sub>4</sub> pour le traitement de certaines pathologies du système nerveux central (Alzheimer, dépression, troubles alimentaires) le plus rapidement possible.

## Légende des Figures

**Figure 1** : Classification et structure des agonistes des récepteurs 5-HT<sub>4</sub>

**Figure 2** : Classification et structure des antagonistes des récepteurs 5-HT<sub>4</sub>

**Figure 3** : Structure et activité des agonistes inverses des récepteurs 5-HT<sub>4</sub>

L'activité des agonistes inverses est étudiée suivant leur capacité à inhiber l'activité constitutive (activité en absence d'agonistes) des récepteurs 5-HT<sub>4a</sub> exprimés dans les cellules COS-7 (1500 ±130 fmol/mg). L'activité constitutive (normalisée à 100%) de production d'AMPc (Adénosine 3', 5'-MonoPhosphate cyclique) est égale à 720 ± 50 % de l'activité obtenue en absence de récepteur. Cette dernière représente un pourcentage de conversion d'<sup>3</sup>[H]-ATP en <sup>3</sup>[H]-AMPc de 0.12± 0.04% (Claeysen et al., 2003).

**Figure 4** : Signalisation des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> : protéine G-dépendante et indépendante.

**Figure 5** : Modifications de la taille et du nombre des épines dendritiques au niveau des neurones hippocampiques du champ CA<sub>1</sub> de l'hippocampe après apprentissage du test de discrimination olfactive associé ou non à l'injection de l'agoniste 5-HT<sub>4</sub> : le SL65.0155 (0.01mg/kg).

Les souris sont séparées en 4 groupes :

Un groupe entraîné + SL65.0155. Un groupe de souris ayant reçu une injection de SL65.0155 est entraîné pendant un certain temps à reconnaître deux odeurs, une positive (qui donne lieu à une récompense d'eau après privation) et une odeur "négative" qui donne lieu à un flash lumineux mais sans délivrance d'eau

Un groupe entraîné + solution saline. Même entraînement que ci-dessus seule l'injection de SL65.0155 est remplacée par une injection saline.

Un groupe pseudo-entraîné. Dans le cas des animaux "pseudo-entraînés", la récompense arrive de façon aléatoire et n'est pas associée à une odeur particulière.

Un groupe contrôle. Les souris restent dans leur cage.

La densité et le nombre des épines augmentent significativement avec l'entraînement, cette augmentation est potentialisée lorsque l'entraînement est associé à l'injection de SL65.0155 (pour plus de détails voir (Restivo et al., 2008)).

## Références

- Ansanay, H., Sebben, M., Bockaert, J. and Dumuis, A. (1992) Characterization of homologous 5-hydroxytryptamine<sub>4</sub> receptor desensitization in colliculi neurons. *Mol Pharmacol*, **42**, 808-816.
- Baneres, J.L., Mesnier, D., Martin, A., Joubert, L., Dumuis, A. and Bockaert, J. (2005) Molecular characterization of a purified 5-HT<sub>4</sub> receptor: a structural basis for drug efficacy. *J Biol Chem*, **280**, 20253-20260.
- Barthet, G., Framery, B., Gaven, F., Pellissier, L., Reiter, E., Claeysen, S., Bockaert, J. and Dumuis, A. (2007) 5-hydroxytryptamine 4 receptor activation of the extracellular signal-regulated kinase pathway depends on Src activation but not on G protein or beta-arrestin signaling. *Mol Biol Cell*, **18**, 1979-1991.
- Barthet, G., Gaven, F., Framery, B., Shinjo, K., Nakamura, T., Claeysen, S., Bockaert, J. and Dumuis, A. (2005) Uncoupling and endocytosis of 5-hydroxytryptamine 4 receptors. Distinct molecular events with different GRK2 requirements. *J Biol Chem*, **280**, 27924-27934.
- Beattie, D.T., Armstrong, S.R., Shaw, J.P., Marquess, D., Sandlund, C., Smith, J.A., Taylor, J.A. and Humphrey, P.P. (2008) The in vivo gastrointestinal activity of TD-5108, a selective 5-HT<sub>4</sub> receptor agonist with high intrinsic activity. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, **378**, 139-147.
- Bockaert, J., Claeysen, S., Becamel, C., Dumuis, A. and Marin, P. (2006) Neuronal 5-HT metabotropic receptors: fine-tuning of their structure, signaling, and roles in synaptic modulation. *Cell Tissue Res*, **326**, 553-572.
- Bockaert, J., Claeysen, S., Compan, V. and Dumuis, A. (2004a) 5-HT<sub>4</sub> receptors. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*, **3**, 39-51.
- Bockaert, J., Claeysen, S., Compan, V. and Dumuis, A. (2008) 5-HT<sub>4</sub> receptors: History, molecular pharmacology and brain functions. *Neuropharmacology*, **55**, 922-931.
- Bockaert, J. and Dumuis, A. (1998) *Localization of 5-HT<sub>4</sub> receptors in vertebrate brain and their potential roles*. Springer-Verlag, Palo Alto.
- Bockaert, J., Fagni, L. and Dumuis, A. (1997) 5-HT<sub>4</sub> Receptors: An update. In Baumgarten, H.G. and Göthert, M. (eds.), *Handbook of experimental pharmacology: Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, Vol. 129, pp. 439-465.
- Bockaert, J., Roussignol, G., Becamel, C., Gavarini, S., Joubert, L., Dumuis, A., Fagni, L. and Marin, P. (2004b) GPCR-interacting proteins (GIPs): nature and functions. *Biochem Soc Trans*, **32**, 851-855.
- Brattelid, T., Qvigstad, E., Lynham, J.A., Molenaar, P., Aass, H., Geiran, O., Skomedal, T., Osnes, J.B., Levy, F.O. and Kaumann, A.J. (2004) Functional serotonin 5-HT<sub>4</sub> receptors in porcine and human ventricular myocardium with increased 5-HT<sub>4</sub> mRNA in heart failure. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, **370**, 157-166.

- Cachard-Chastel, M., Devers, S., Sicsic, S., Langlois, M., Lezoualc'h, F., Gardier, A.M. and Belzung, C. (2008) Prucalopride and donepezil act synergistically to reverse scopolamine-induced memory deficit in C57BL/6j mice. *Behav Brain Res*, **187**, 455-461.
- Cachard-Chastel, M., Lezoualc'h, F., Dewachter, I., Delomenie, C., Croes, S., Devijver, H., Langlois, M., Van Leuven, F., Sicsic, S. and Gardier, A.M. (2007) 5-HT<sub>4</sub> receptor agonists increase sAPP $\alpha$  levels in the cortex and hippocampus of male C57BL/6j mice. *Br J Pharmacol*, **150**, 883-892.
- Candura, S.M., Messori, E., Franceschetti, G.P., D'Agostino, G., Vicini, D., Tagliani, M. and Tonini, M. (1996) Neural 5-HT<sub>4</sub> receptors in the human isolated detrusor muscle: effects of indole, benzimidazolone and substituted benzamide agonists and antagonists. *Br J Pharmacol*, **118**, 1965-1970.
- Chang, W.C., Ng, J.K., Nguyen, T., Pellissier, L., Claeysen, S., Hsiao, E.C. and Conklin, B.R. (2007) Modifying ligand-induced and constitutive signaling of the human 5-HT<sub>4</sub> receptor. *PLoS ONE*, **2**, e1317.
- Cho, S. and Hu, Y. (2007) Activation of 5-HT<sub>4</sub> receptors inhibits secretion of beta-amyloid peptides and increases neuronal survival. *Exp Neurol*, **203**, 274-278.
- Claeyssen, S., Joubert, L., Sebben, M., Bockaert, J. and Dumuis, A. (2003) A single mutation in the 5-HT<sub>4</sub> receptor (5-HT<sub>4</sub>-R D100(3.32)A) generates a Gs-coupled receptor activated exclusively by synthetic ligands (RASSL). *J Biol Chem*, **278**, 699-702.
- Clarke, D.E., Craig, D.A. and Fozard, J.R. (1989) The 5-HT<sub>4</sub> receptor: naughty, but nice. *Trends Pharmacol Sci*, **10**, 385-386.
- Compan, V., Zhou, M., Grailhe, R., Gazzara, R.A., Martin, R., Gingrich, J., Dumuis, A., Brunner, D., Bockaert, J. and Hen, R. (2004) Attenuated response to stress and novelty and hypersensitivity to seizures in 5-HT<sub>4</sub> receptor knock-out mice. *J Neurosci*, **24**, 412-419.
- Conklin, B.R., Hsiao, E.C., Claeysen, S., Dumuis, A., Srinivasan, S., Forsayeth, J.R., Guettier, J.M., Chang, W.C., Pei, Y., McCarthy, K.D., Nissenson, R.A., Wess, J., Bockaert, J. and Roth, B.L. (2008) Engineering GPCR signaling pathways with RASSLs. *Nat Methods*, **5**, 673-678.
- De Maeyer, J.H., Aerssens, J., Verhasselt, P. and Lefebvre, R.A. (2008a) Alternative splicing and exon duplication generates 10 unique porcine 5-HT<sub>4</sub> receptor splice variants including a functional homofusion variant. *Physiol Genomics*, **34**, 22-33.
- De Maeyer, J.H., Lefebvre, R.A. and Schuurkes, J.A. (2008b) 5-HT<sub>4</sub> receptor agonists: similar but not the same. *Neurogastroenterol Motil*, **20**, 99-112.
- Dumuis, A., Bouhelal, R., Sebben, M., Cory, R. and Bockaert, J. (1988) A nonclassical 5-hydroxytryptamine receptor positively coupled with adenylate cyclase in the central nervous system. *Mol Pharmacol*, **34**, 880-887.
- Enjalbert, A., Bourgoin, S., Hamon, M., Adrien, J. and Bockaert, J. (1978) Postsynaptic serotonin-sensitive adenylate cyclase in the central nervous system. I. Development and distribution of serotonin and

- dopamine-sensitive adenylate cyclases in rat and guinea pig brain. *Mol Pharmacol*, **14**, 2-10.
- Fillion, G., Fillion, M.P., Jacob, J. and Rousselle, J.C. (1976) 5-HT and LSD high affinity binding sites to brain synaptosomal membranes [proceedings]. *Br J Pharmacol*, **58**, 425P-426P.
- Gaddum, J.H. and Picarelli, Z.P. (1957) Two kinds of tryptamine receptors. *Br. J. Pharmacol.*, **12**, 323-328.
- Gill, R.K., Saksena, S., Tyagi, S., Alrefai, W.A., Malakooti, J., Sarwar, Z., Turner, J.R., Ramaswamy, K. and Dudeja, P.K. (2005) Serotonin inhibits Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange activity via 5-HT<sub>4</sub> receptors and activation of PKC alpha in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology*, **128**, 962-974.
- Huang, Y.Y. and Kandel, E.R. (2007a) 5-Hydroxytryptamine induces a protein kinase A/mitogen-activated protein kinase-mediated and macromolecular synthesis-dependent late phase of long-term potentiation in the amygdala. *J Neurosci*, **27**, 3111-3119.
- Huang, Y.Y. and Kandel, E.R. (2007b) Low-frequency stimulation induces a pathway-specific late phase of LTP in the amygdala that is mediated by PKA and dependent on protein synthesis. *Learn Mem*, **14**, 497-503.
- Jean, A., Conductier, G., Manrique, C., Bouras, C., Berta, P., Hen, R., Charnay, Y., Bockaert, J. and Compan, V. (2007) Anorexia induced by activation of serotonin 5-HT<sub>4</sub> receptors is mediated by increases in CART in the nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**, 16335-16340.
- Joubert, L., Claeysen, S., Sebben, M., Bessis, A.S., Clark, R.D., Martin, R.S., Bockaert, J. and Dumuis, A. (2002) A 5-HT<sub>4</sub> receptor transmembrane network implicated in the activity of inverse agonists but not agonists. *J Biol Chem*, **277**, 25502-25511.
- Joubert, L., Hanson, B., Barthet, G., Sebben, M., Claeysen, S., Hong, W., Marin, P., Dumuis, A. and Bockaert, J. (2004) New sorting nexin (SNX27) and NHERF specifically interact with the 5-HT<sub>4a</sub> receptor splice variant: roles in receptor targeting. *J Cell Sci*, **117**, 5367-5379.
- Kajii, Y., Muraoka, S., Hiraoka, S., Fujiyama, K., Umino, A. and Nishikawa, T. (2003) A developmentally regulated and psychostimulant-inducible novel rat gene *mrt1* encoding PDZ-PX proteins isolated in the neocortex. *Mol Psychiatry*, **8**, 434-444.
- Kaumann, A.J. and Levy, F.O. (2006) 5-hydroxytryptamine receptors in the human cardiovascular system. *Pharmacol Ther*, **111**, 674-706.
- Kebabian, J.W. and Greengard, P. (1971) Dopamine-sensitive adenyl cyclase: possible role in synaptic transmission. *Science*, **174**, 1346-1349.
- King, M.V., Marsden, C.A. and Fone, K.C. (2008) A role for the 5-HT(1A), 5-HT<sub>4</sub> and 5-HT<sub>6</sub> receptors in learning and memory. *Trends Pharmacol Sci*, **29**, 482-492.
- Langlois, M. and Fischmeister, R. (2003) 5-HT<sub>4</sub> receptor ligands: applications and new prospects. *J Med Chem*, **46**, 319-344.
- Lefebvre, H., Contesse, V., Delarue, C., Vaudry, H. and Kuhn, J.M. (1998) Serotonergic regulation of adrenocortical function. *Horm Metab Res*, **30**, 398-403.

- Lefèbvre, H., Contesse, V., Delarve, C., Fevilloley, M., Héry, F., Grise, P., Raynaud, G., Verhofstad, A.A.J., Wolfe, L.M. and Vaudry, H. (1992) Serotonin-induced stimulation of cortisol secretion from human adrenocortical tissue is mediated through activation of a serotonin-4 receptor subtype. *Neuroscience*, **47**, 999-1007.
- Lefkowitz, R.J. and Shenoy, S.K. (2005) Transduction of receptor signals by beta-arrestins. *Science*, **308**, 512-517.
- Lezoualc'h, F. and Robert, S.J. (2003) The serotonin 5-HT<sub>4</sub> receptor and the amyloid precursor protein processing. *Exp Gerontol*, **38**, 159-166.
- Lucas, G., Compan, V., Charnay, Y., Neve, R.L., Nestler, E.J., Bockaert, J., Barrot, M. and Debonnel, G. (2005) Frontocortical 5-HT<sub>4</sub> receptors exert positive feedback on serotonergic activity: viral transfections, subacute and chronic treatments with 5-HT<sub>4</sub> agonists. *Biol Psychiatry*, **57**, 918-925.
- Lucas, G., Rymar, V.V., Du, J., Mnie-Filali, O., Bisgaard, C., Manta, S., Lambas-Senas, L., Wiborg, O., Haddjeri, N., Pineyro, G., Sadikot, A.F. and Debonnel, G. (2007) Serotonin(4) (5-HT<sub>4</sub>) receptor agonists are putative antidepressants with a rapid onset of action. *Neuron*, **55**, 712-725.
- Manzke, T., Guenther, U., Ponimaskin, E.G., Haller, M., Dutschmann, M., Schwarzacher, S. and Richter, D.W. (2003) 5-HT<sub>4</sub>(a) receptors avert opioid-induced breathing depression without loss of analgesia. *Science*, **301**, 226-229.
- Marchetti, E., Jacquet, M., Jeltsch, H., Migliorati, M., Nivet, E., Cassel, J.C. and Roman, F.S. (2008) Complete recovery of olfactory associative learning by activation of 5-HT<sub>4</sub> receptors after dentate granule cell damage in rats. *Neurobiol Learn Mem*, **90**, 185-191.
- McCullough, J.L., Armstrong, S.R., Hegde, S.S. and Beattie, D.T. (2006) The 5-HT<sub>2B</sub> antagonist and 5-HT<sub>4</sub> agonist activities of tegaserod in the anaesthetized rat. *Pharmacol Res*, **53**, 353-358.
- Mohler, E.G., Shacham, S., Noiman, S., Lezoualc'h, F., Robert, S., Gastineau, M., Rutkowski, J., Marantz, Y., Dumuis, A., Bockaert, J., Gold, P.E. and Ragozzino, M.E. (2007) VRX-03011, a novel 5-HT<sub>4</sub> agonist, enhances memory and hippocampal acetylcholine efflux. *Neuropharmacology*, **53**, 563-573.
- Moser, P.C., Bergis, O.E., Jegham, S., Lochead, A., Duconseille, E., Terranova, J.P., Caille, D., Berque-Bestel, I., Lezoualc'h, F., Fischmeister, R., Dumuis, A., Bockaert, J., George, P., Soubrie, P. and Scatton, B. (2002) SL65.0155, a novel 5-hydroxytryptamine(4) receptor partial agonist with potent cognition-enhancing properties. *J Pharmacol Exp Ther*, **302**, 731-741.
- Ouadid, H., Seguin, J., Dumuis, A., Bockaert, J. and Nargeot, J. (1992) Serotonin increases calcium current in human atrial myocytes via the newly described 5-hydroxytryptamine<sub>4</sub> receptors. *Mol Pharmacol*, **41**, 346-351.
- Peroutka, S.J. and Snyder, S.H. (1979) Multiple serotonin receptors: differential binding of [3H]5-hydroxytryptamine, [3H]lysergic acid diethylamide and [3H]spiroperidol. *Mol Pharmacol*, **16**, 687-699.
- Ponimaskin, E.G., Profirovic, J., Vaiskunaite, R., Richter, D.W. and Voyno-Yasenetskaya, T.A. (2002) 5-Hydroxytryptamine 4(a) receptor is

- coupled to the Galpha subunit of heterotrimeric G13 protein. *J Biol Chem*, **277**, 20812-20819.
- Qvigstad, E., Sjaastad, I., Brattelid, T., Nunn, C., Swift, F., Birkeland, J.A., Krobert, K.A., Andersen, G.O., Sejersted, O.M., Osnes, J.B., Levy, F.O. and Skomedal, T. (2005) Dual serotonergic regulation of ventricular contractile force through 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>4</sub> receptors induced in the acute failing heart. *Circ Res*, **97**, 268-276.
- Restivo, L., Roman, F., Dumuis, A., Bockaert, J., Marchetti, E. and Ammassari-Teule, M. (2008) The promnesic effect of G-protein-coupled 5-HT<sub>4</sub> receptors activation is mediated by a potentiation of learning-induced spine growth in the mouse hippocampus. *Neuropsychopharmacology*, **33**, 2427-2434.
- Richter, D.W., Manzke, T., Wilken, B. and Ponimaskin, E. (2003) Serotonin receptors: guardians of stable breathing. *Trends Mol Med*, **9**, 542-548.
- Ronde, P., Ansanay, H., Dumuis, A., Miller, R. and Bockaert, J. (1995) Homologous desensitization of 5-hydroxytryptamine<sub>4</sub> receptors in rat esophagus: functional and second messenger studies. *J Pharmacol Exp Ther*, **272**, 977-983.
- Sanger, G.J. (2008) 5-hydroxytryptamine and the gastrointestinal tract: where next? *Trends Pharmacol Sci*, **29**, 465-471.
- Svenningsson, P., Chergui, K., Rachleff, I., Flajolet, M., Zhang, X., Yacoubi, M.E., Vaugeois, J.M., Nomikos, G.G. and Greengard, P. (2006) Alterations in 5-HT<sub>1B</sub> receptor function by p11 in depression-like states. *Science*, **311**, 77-80.
- Urban, J.D., Clarke, W.P., von Zastrow, M., Nichols, D.E., Kobilka, B., Weinstein, H., Javitch, J.A., Roth, B.L., Christopoulos, A., Sexton, P.M., Miller, K.J., Spedding, M. and Mailman, R.B. (2007) Functional selectivity and classical concepts of quantitative pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther*, **320**, 1-13.
- Waeber, C., Sebben, M., Grossman, C., Javoy-Agid, F., Bockaert, J. and Dumuis, A. (1993) [<sup>3</sup>H]-GR113808 labels 5-HT<sub>4</sub> receptors in the human and guinea-pig brain. *NeuroReport*, **4**, 1239-1242.
- Waeber, C., Sebben, M., Nieoullon, A., Bockaert, J. and Dumuis, A. (1994) Regional distribution and ontogeny of 5-HT<sub>4</sub> binding sites in rodent brain. *Neuropharmacology*, **33**, 527-541.

## Classification et structure des agonistes des récepteurs 5-HT<sub>4</sub>

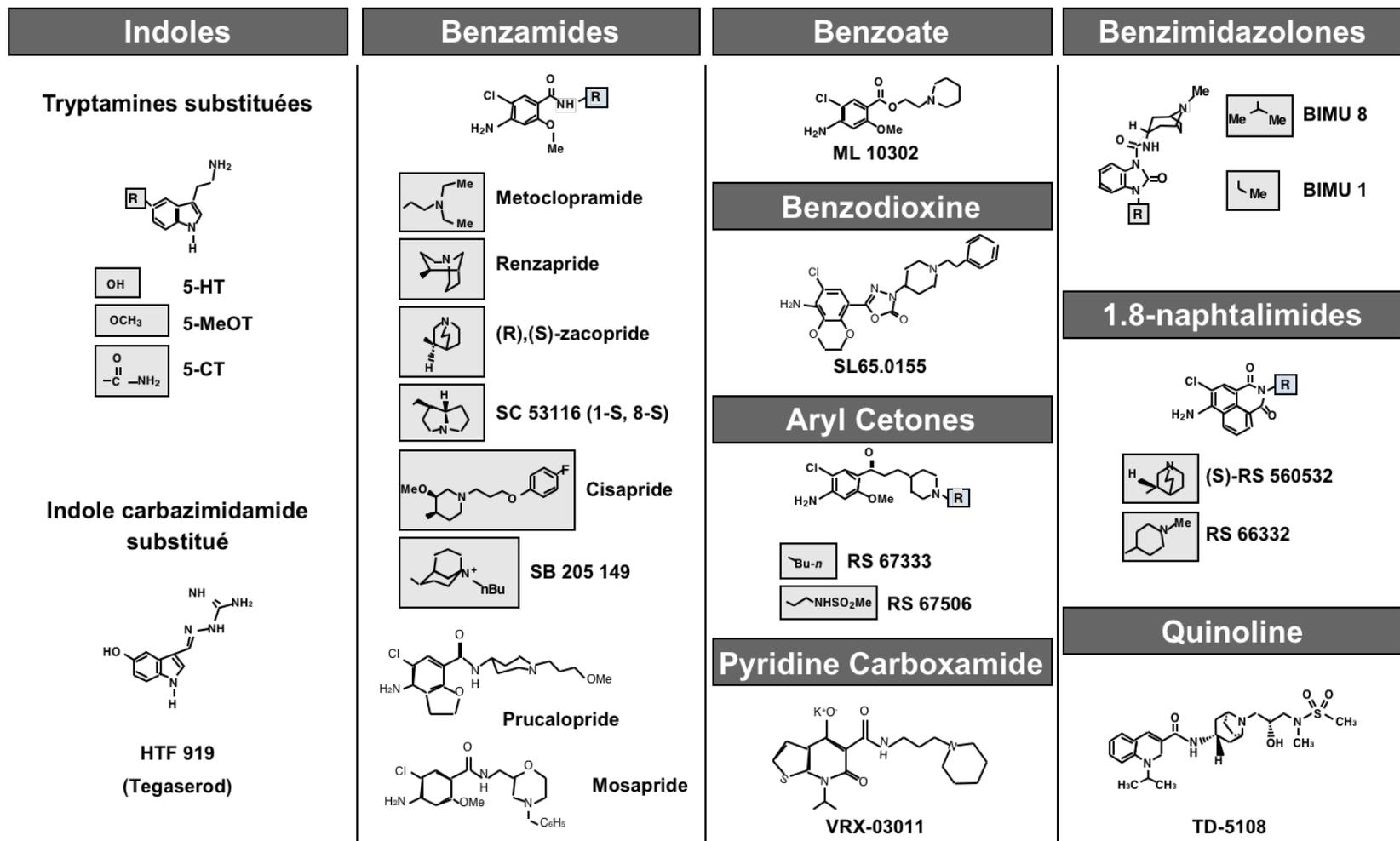


Figure 1

## Classification et structure des antagonistes des récepteurs 5-HT<sub>4</sub>

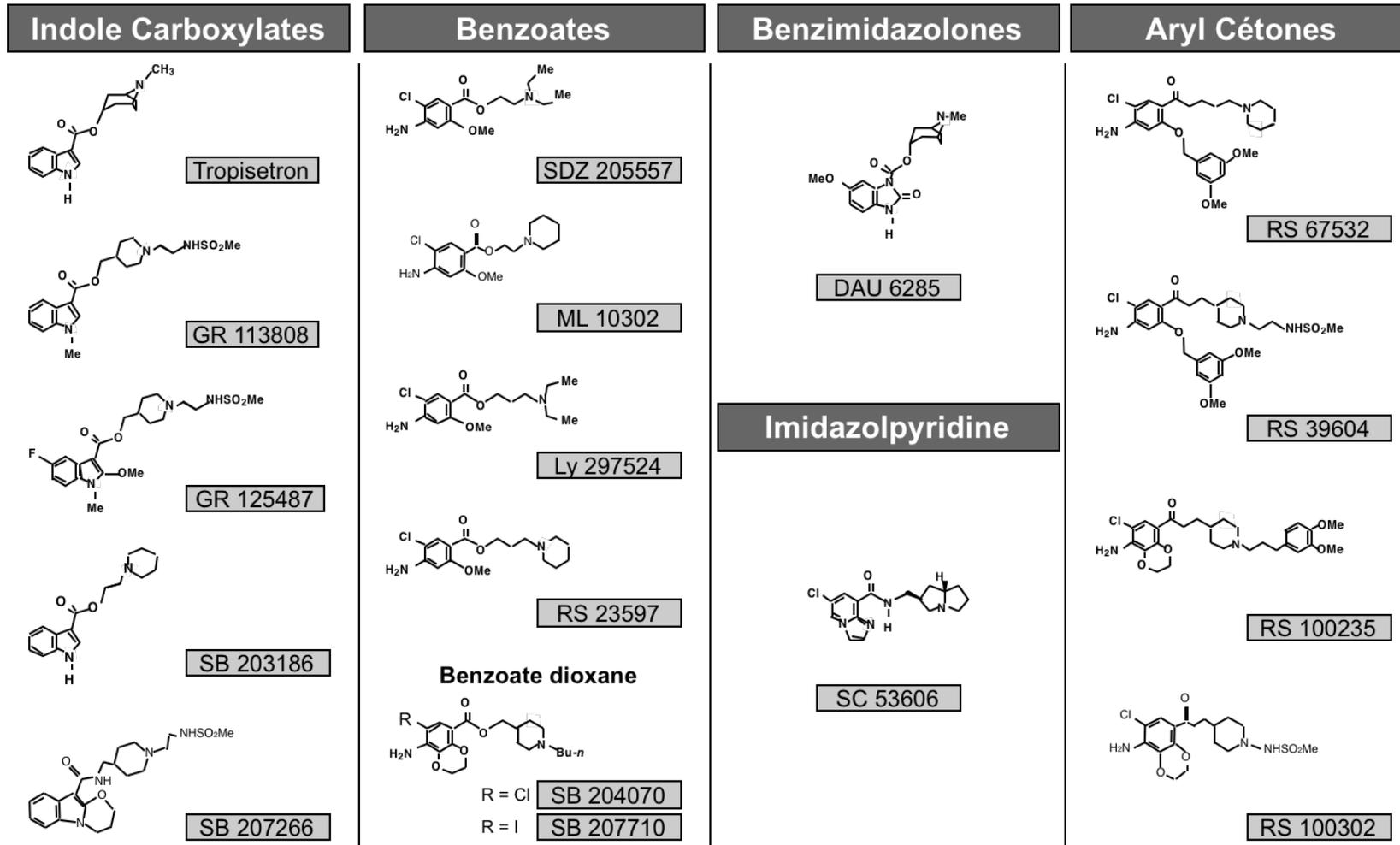


Figure 2

## Structure et activité des agonistes inverses des récepteurs 5-HT<sub>4</sub>

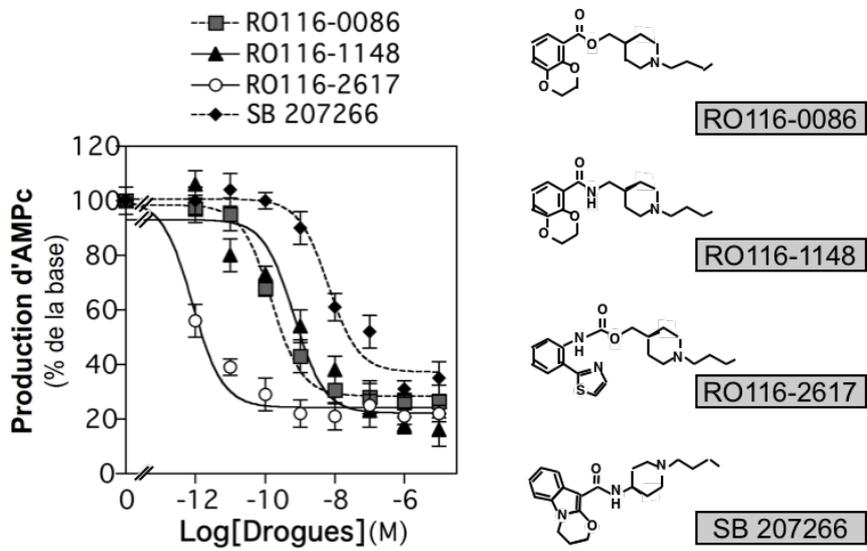


Figure 3

## Signalisation des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> : protéine G-dépendante et indépendante

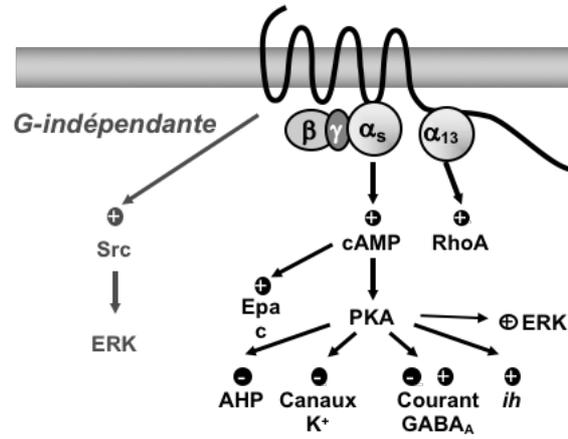
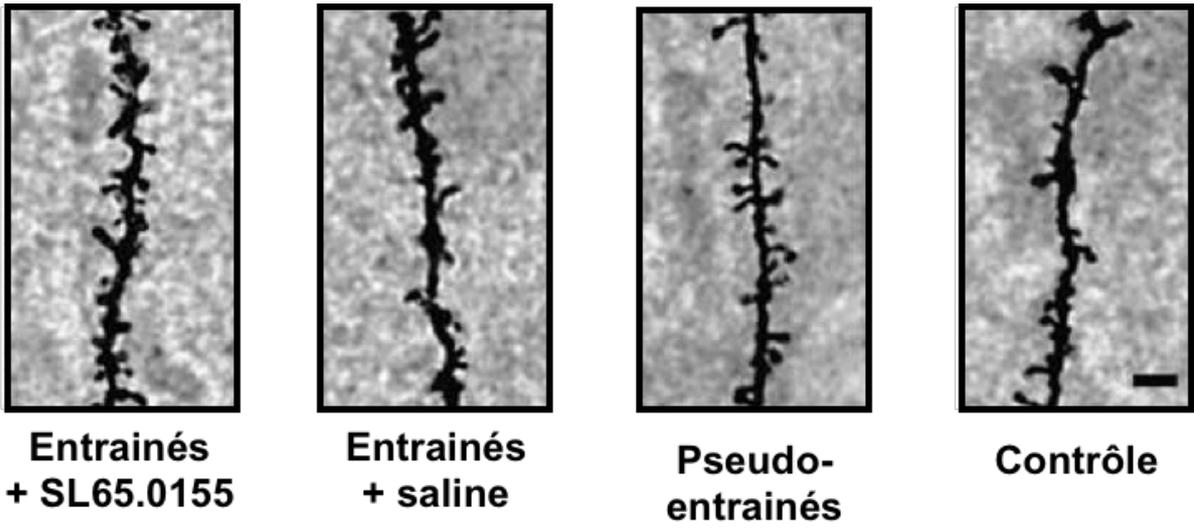


Figure 4



*D'après Restivo et al. (2008) Neuropsychopharmacology*

**Figure 5**