

Implication des phosphatidyl inositols et de leurs produits d'hydrolyse dans la signalisation cellulaire

Christophe Erneux
Valérie Vanweyenberg
Florence De Smedt
David Communi

Ins(1,4,5)P₃ ou IP₃ est un second messenger du signal intercellulaire qui dérive de l'hydrolyse du phosphatidylinositol par la phospholipase C et agit par la mobilisation des stocks de calcium intracellulaire. De nouvelles molécules d'inositol-phosphates ont été décrites récemment, Ins(4,5)P₂, Ins(3,4,5)P₃, InsP₄, InsP₅, ou InsP₆, formées, soit par hydrolyse d'autres phosphatidylinositols, soit par phosphorylation ou déphosphorylation d'Ins(1,4,5)P₃. Ces dernières réactions mettent en jeu des kinases et des phosphatases aux nombreuses isoformes, laissant entrevoir une spécificité tissulaire de leur fonction. L'inactivation présumée d'une isoenzyme de l'Ins(1,4,5)P₃ 5-phosphatase, décrite dans le syndrome oculo-cérébro-rénal de Lowe, constitue un argument en faveur de l'existence d'une voie de signalisation non pas générale, mais au contraire adaptée aux différentes cellules de l'organisme.

ADRESSE

C. Erneux : chargé de cours à l'université libre de Bruxelles. V. Vanweyenberg, F. De Smedt, D. Communi : boursiers IRSIA. Institut de recherche interdisciplinaire en biologie humaine et nucléaire (IRIBHN), faculté de médecine, université libre de Bruxelles, campus Erasme, route de Lennik, 808, 1070 Bruxelles, Belgique.

TIRÉS À PART

C. Erneux.

Les premières expériences qui mirent en évidence l'importance des phosphatidyl inositols dans la signalisation cellulaire remontent à 1953. Hokin et Hokin observèrent que l'acétylcholine stimulait l'incorporation de phosphore radioactif dans des phospholipides issus de cellules pancréatiques [1]. Le phospholipide fut très vite identifié comme étant du phosphatidylinositol et, en 1986, un lien fut proposé (et illustré par de nombreux exemples) entre l'activation de récepteurs membranaires, qui entraîne une hydrolyse accrue des phosphatidyl inositols, et l'activation de ces mêmes récepteurs, qui

provoque une augmentation du calcium intracytoplasmique [2]. Les phospholipides impliqués dans ce mécanisme d'hydrolyse ont été isolés: il s'agit du phosphatidylinositol 4-phosphate (PtdIns(4)P) et du phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PtdIns(4,5)P₂) [3]. L'enzyme responsable de l'hydrolyse de ces lipides est la phospholipase C ; elle appartient, en fait, à une famille d'isoenzymes présentant des propriétés biochimiques différentes ainsi qu'une distribution tissulaire, cellulaire et subcellulaire spécifique [4]. Il est connu aujourd'hui que l'activation de phospholipases C distinctes est liée à l'activation de récepteurs à sept do-

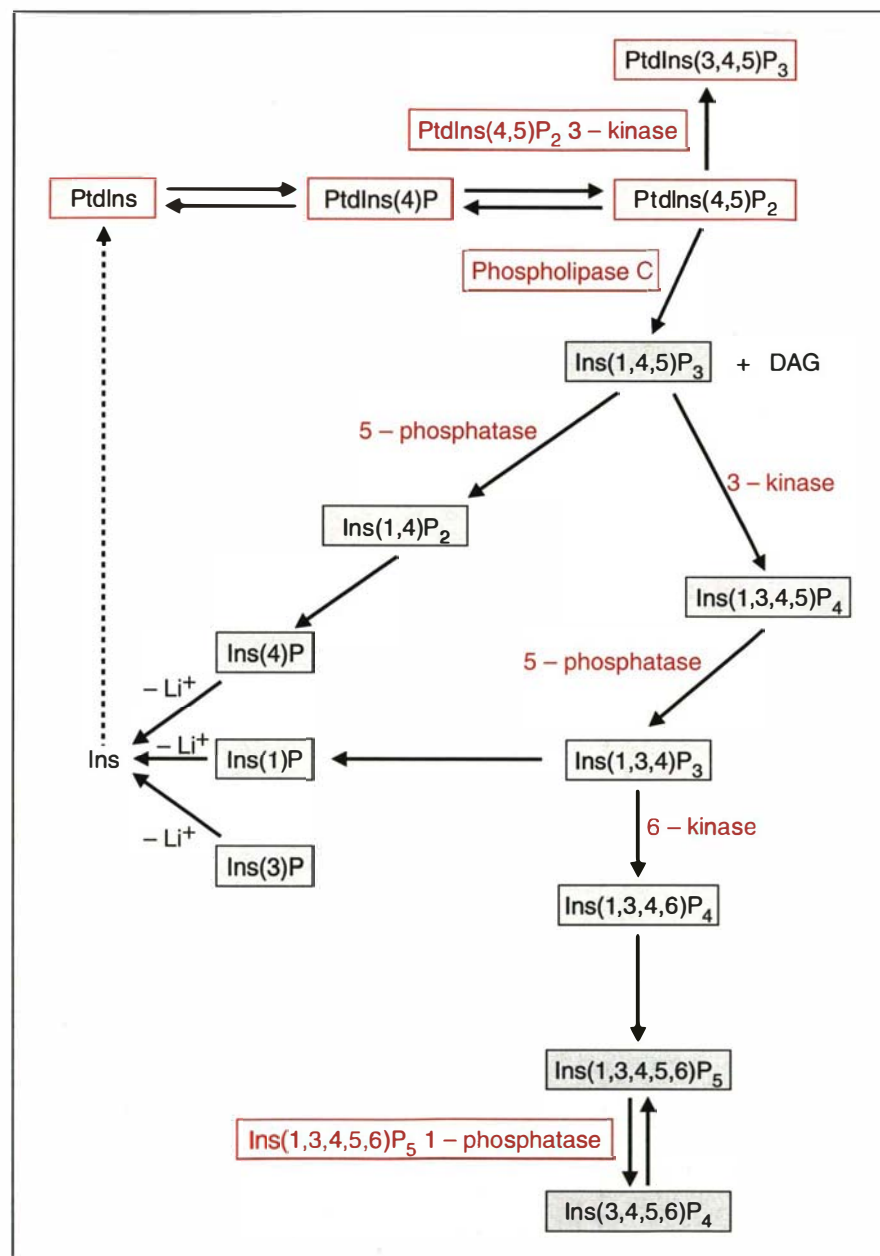


Figure 1. **Métabolisme des phosphatidyl inositols et des inositol-phosphates.** Dans ce schéma, trois enzymes ont leur activité stimulée par des signaux extracellulaires : (1) la phospholipase C ; (2) la PtdIns(4,5)P₂ 3-kinase ; (3) l'Ins(1,3,4,5,6)P₅ 1-phosphatase (lettres rouges, cadre rouge). Il existe au moins trois isoenzymes pour l'Ins(1,4,5)P₃ 5-phosphatase (types I, II et III) définis sur des critères cinétiques et physiques ; les ADNc codant pour les types I et III ont été clonés [43]. Au moins trois isoenzymes existent également pour l'Ins(1,4,5)P₃ 3-kinase (isoenzymes A, B et C) ; les ADNc des formes A et B ont été clonés. L'inositol monophosphatase catalyse la déphosphorylation des inositol-monophosphates et est inhibée par le lithium selon un mode anticompetitif. L'Ins(1,3,4,5,6)P₅ peut servir de précurseur à la synthèse d'InsP₆.

maines transmembranaires couplés aux protéines G ou à des récepteurs de facteurs de croissance (comme l'EGF ou le PDGF), ces derniers présentant directement ou indirectement une activité tyrosine kinase [4, 5].

Les produits de la phospholipase C sont le D-*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate (Ins(1,4,5)P₃) et le 1,2-diacylglycérol (DAG) (figure 1). Un rôle de second messager mobilisateur de calcium intracellulaire pour l'Ins(1,4,5)P₃ fut démontré en 1983 sur des cellules perméabilisées [6]. Quant au DAG, il active la plupart des membres de la famille des protéine kinases C. Un cycle des phosphoinositides existe également dans le noyau cellulaire des hépatocytes de rat ou des fibroblastes Swiss 3T3 ; il est activé en réponse à l'IGF-1 [7].

L'importance pharmacologique du métabolisme des inositol-phosphates a été (et est encore largement) influencée par l'observation fortuite d'un effet inhibiteur du lithium sur l'inositol monophosphatase. Le lithium est bien connu comme agent thérapeutique dans la maladie maniaco-dépressive [8,9]. La monophosphatase est la dernière enzyme de la cascade de déphosphorylation des inositol-phosphates et permet de régénérer l'inositol indispensable à la réincorporation dans le phosphatidylinositol (figure 1). L'effet inhibiteur anticompetitif du lithium, à des concentrations proches des doses thérapeutiques, a permis de proposer un modèle selon lequel, dans certains neurones, il y aurait déplétion en inositol et donc réduction de la synthèse de PtdIns(4,5)P₂. Le corollaire est que, dans la maladie maniaco-dépressive, la cascade phosphatidylinositol-calcium-DAG serait hyperactive, au moins dans certaines régions du cerveau [10]. Cette hypothèse n'est pas encore démontrée, mais souligne l'intérêt que peut susciter la recherche d'inhibiteurs très sélectifs des enzymes du métabolisme des inositol-phosphates [11].

La séquence d'un récepteur de l'Ins(1,4,5)P₃ a été déterminée pour la première fois dans le cerveau de la souris [12]. Il en ressort, notamment, une analogie de séquence importante avec le récepteur de la ryanodine du réticulum sarcoplasmique des muscles squelettique et car-

RÉFÉRENCES

1. Hokin MR, Hokin LE. Enzyme secretion and the incorporation of ^{32}P into phospholipids of pancreatic slices. *J Biol Chem* 1953 ; 203 : 967-77.
2. Michell RH. Inositol phospholipids and cell surface receptor function. *Biochim Biophys Acta* 1975 ; 415 : 81-147.
3. Berridge MJ. Rapid accumulation of inositol trisphosphate reveals that agonists hydrolyse phosphoinositides instead of phosphatidylinositol. *Biochem J* 1983 ; 212 : 849-58.
4. Cockcroft S, Thomas GMH. Inositol-lipid-specific phospholipase C isoenzymes and their differential regulation by receptors. *Biochem J* 1992 ; 288 : 1-14.
5. Berridge MJ. Inositol trisphosphate and calcium signalling. *Nature* 1993 ; 361 : 315-25.
6. Streb H, Irvine RF, Berridge MJ, Schulz I. Release of Ca^{2+} from a nonmitochondrial intracellular store in pancreatic acinar cells by $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$. *Nature* 1983 ; 306 : 67-9.
7. Divecha N, Banfic H, Irvine RF. The polyphosphoinositide cycle exists in the nuclei of Swiss 3T3 cells under the control of a receptor (for IGF-1) in the plasma membrane, and stimulation of the cycle increases nuclear diacylglycerol and apparently induces translocation of protein kinase C to the nucleus. *EMBO J* 1991 ; 10 : 3207-14.
8. Hallcher LM, Sherman W. The effects of lithium and other agents on the activity of *myo*-inositol-1-phosphatase from bovine brain. *J Biol Chem* 1980 ; 255 : 10896-901.
9. Chireux M. Pharmacologie des sels de lithium. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 314-7.
10. Berridge MJ, Downes CP, Hanley M. Lithium amplifies agonist-dependent phosphatidylinositol responses in brain and salivary glands. *Biochem J* 1982 ; 206 : 587-95.
11. Baraban JM. Toward a crystal-clear view of lithium's site of action. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; 91 : 5738-9.
12. Furuichi T, Yoshidkawa S, Migawaki A, Wada K, Maeda N, Mikoshiba K. Primary structure and functional expression of the inositol 1,4,5-trisphosphate binding protein. *Nature* 1989 ; 342 : 32-8.

diacque [12]. Le récepteur de l' $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ possède une activité intrinsèque de canal pour le calcium. Il existe au moins quatre types de ce récepteur, chacun présentant une distribution tissulaire propre et probablement une régulation très spécifique [13, 14]. La localisation du récepteur au niveau du réticulum endoplasmique n'est certes pas une règle absolue, puisqu'il pourrait être associé à la membrane plasmique des lymphocytes T, par exemple [15].

Si le modèle proposé par Berridge sur

le couplage phosphatidylinositol-calcium en réponse à de nombreux stimuli était relativement simple en 1983 [3], nous observons aujourd'hui un réseau particulièrement complexe d'enzymes permettant la synthèse et la dégradation de nouvelles molécules comme le phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate ($\text{PtdIns}(3,4,5)\text{P}_3$), l' InsP_5 ou InsP_6 [16, 17]. La spécificité d'action de ces enzymes, leur modulation d'activité sous le contrôle d'un signal extracellulaire laissent entrevoir plusieurs hypothèses quant à leur fonction dans la cellule.

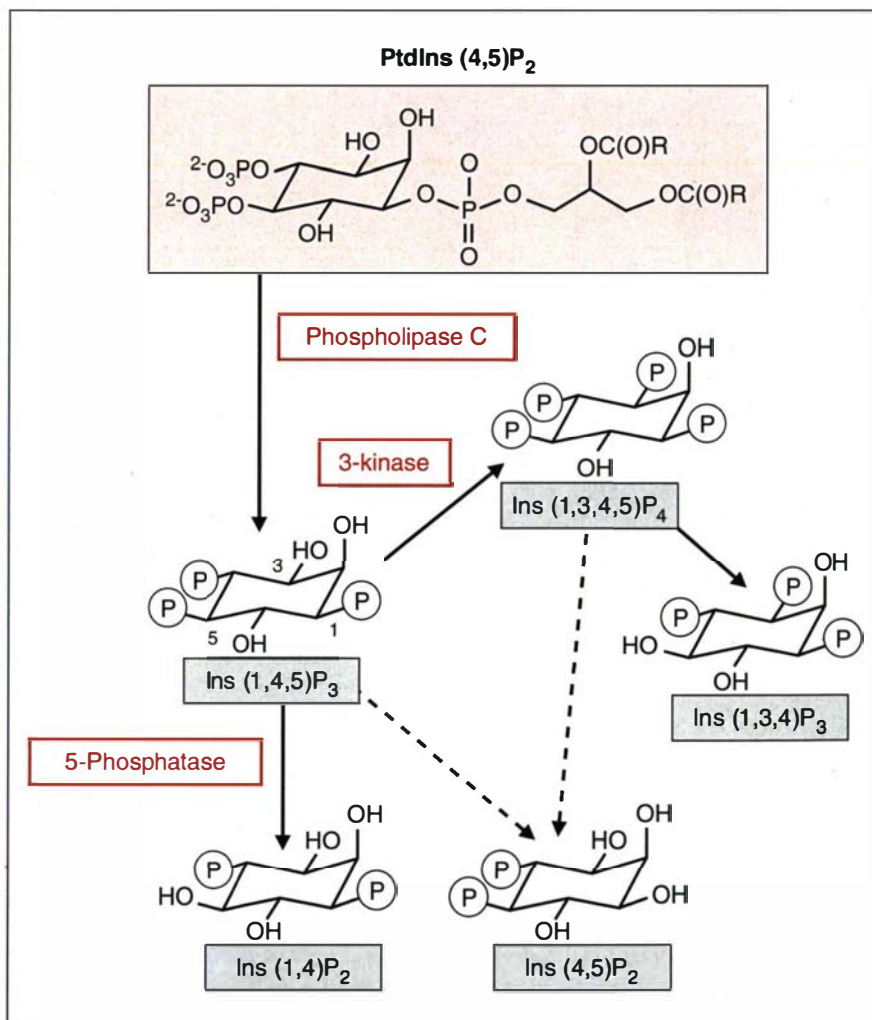


Figure 2. **Métabolisme de l' $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ par la 5-phosphatase et la 3-kinase.** La même 5-phosphatase déphosphoryle également $\text{Ins}(1,3,4,5)\text{P}_5$ en $\text{Ins}(1,3,4)\text{P}_3$. La formation de l' $\text{Ins}(4,5)\text{P}_3$ par une 1-phosphatase dans des cellules de mammifère reste peu fréquente. Elle s'observe dans certaines lignées cellulaires (par exemple les cellules GH3).

Le métabolisme de l'inositol tétrakisphosphate, second messager potentiel

L'Ins(1,4,5)P₃ est métabolisé par deux voies distinctes [18, 19] : une voie de déphosphorylation *via* une 5-phosphatase en inositol 1,4-bisphosphate (Ins(1,4)P₂) et une voie de phosphorylation *via* une 3-kinase en inositol 1,3,4,5-tétrakisphosphate (Ins(1,3,4,5)P₄ ; figure 2). L'affinité de la 3-kinase pour l'Ins(1,4,5)P₃ est plus élevée que celle de la 5-phos-

phatase pour ce même substrat quoique la V_{max} de la 3-kinase soit plus faible. La 3-kinase est une enzyme sensible au complexe calcium-calmoduline dont la liaison à l'enzyme entraîne une stimulation de l'activité enzymatique [19].

Les ADNc codant pour les 3-kinases de cerveau de rat et humain ont été clonés [20, 21]. Dans chacun des cas, une sensibilité de l'activité enzymatique à la calmoduline en présence de calcium a pu être vérifiée après expression de la région codante dans un système procaryote.

Actuellement, nous dénombrons deux isoenzymes dont l'ADNc a pu être cloné, à savoir les 3-kinases A et B (figure 3A) ainsi qu'une troisième forme (3-kinase C) dont la séquence partielle a pu être mise en évidence à partir d'un clone obtenu par PCR au départ d'amorces dégénérées (D. Communi, données non publiées). Les gènes humains des 3-kinases A et B sont localisés sur des chromosomes distincts [22]. L'existence de ces différentes formes n'est pas sans rappeler l'existence de différentes phosphodiesterases des nucléotides cycliques sensibles à la calmoduline dont les différentes isoformes (on en dénombre neuf aujourd'hui) présentent une distribution tissulaire propre et une sensibilité au calcium variant selon l'isoforme considérée [23]. Sachant notamment que les 3-kinases A et B présentent une distribution tissulaire et cellulaire distincte (V. Vanweyenberg, données en cours de publication), il est tentant de spéculer que cette distribution puisse refléter une fonction spécialisée de l'Ins(1,3,4,5)P₄ dans certains tissus de l'organisme.

Très vite après sa mise en évidence, un rôle actif de l'Ins(1,3,4,5)P₄ dans l'entrée de calcium extracellulaire fut proposé, fondé sur des expériences de micro-injection de différents analogues des inositol-phosphates dans des œufs d'oursins [24]. L'existence de protéines de forte affinité pour l'Ins(1,3,4,5)P₄ présentant une spécificité pour cette molécule semble aujourd'hui bien établie [25]. Ces protéines pourraient jouer un rôle de « récepteur(s) » [26]. En revanche, l'action de l'Ins(1,3,4,5)P₄, en synergie avec l'Ins(1,4,5)P₃, comme le suggèrent les expériences d'Irvine *et al.*, sur les cellules lacrymales de souris [27], ou un rôle de l'Ins(1,3,4,5)P₄ comme signal intracellulaire direct et indépendant, mis en évidence dans les cellules endothéliales [28], reste fort discutée. Signalons qu'un rôle distinct pour l'Ins(1,3,4,5)P₄ a été proposé dans certaines lignées cellulaires : il agirait dans la mobilisation de calcium intracellulaire au niveau du récepteur de l'Ins(1,4,5)P₃ [29]. Un rôle indirect, comme précurseur d'Ins(1,3,4,5,6)P₅, a également été rapporté [17].

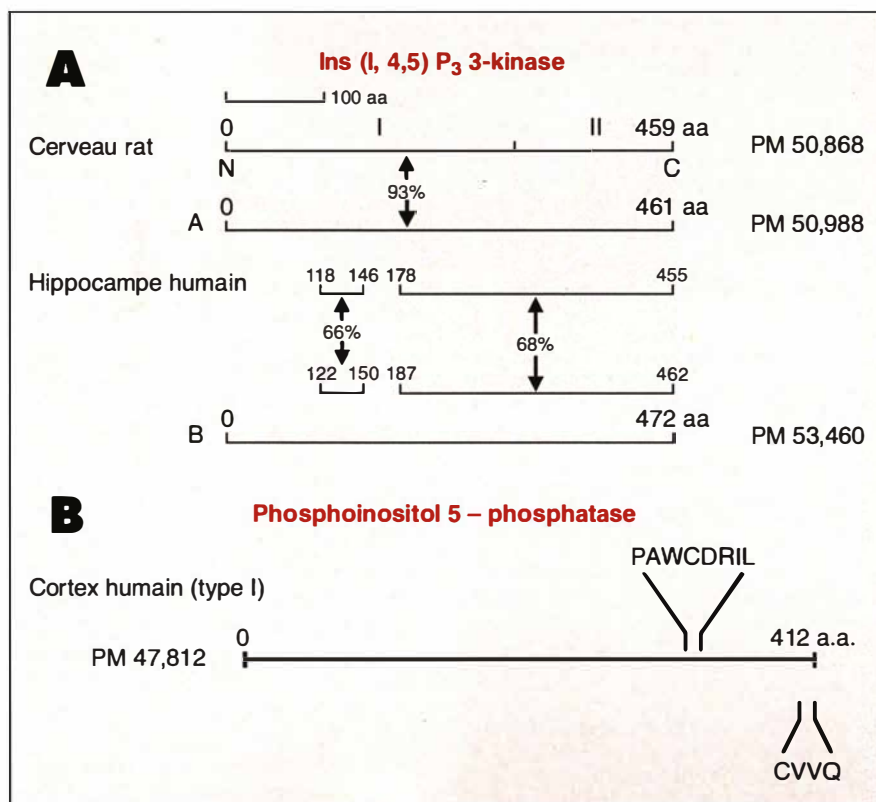


Figure 3. **A. Structure moléculaire de l'Ins(1,4,5)P₃ 3-kinase de cerveau de rat.** Cette enzyme a été purifiée comme une protéine de 50 kDa [19]. Sa séquence a été alignée avec celle de la 3-kinase-A humaine issue du criblage d'une banque d'ADNc d'hippocampe humain [21]. Cette banque a également permis d'isoler un clone distinct correspondant à la 3-kinase-B [43]. La similitude entre les différentes séquences est indiquée en %. Le domaine catalytique se trouve du côté C-terminal. Chez le rat, la séquence complète de la 3-kinase-B comporte 673 acides aminés (V. Vanweyenberg, données en cours de publication). **B. Structure moléculaire de la 5-phosphatase type I humaine.** La séquence a été déduite d'un clone isolé d'une banque de cortex frontal humain [35]. Le site CVVQ constitue un site possible d'isoprénylation situé à l'extrémité C-terminale. PAWCDRIL est une séquence conservée dans la protéine codée par un gène déficient dans la maladie de Lowe [32]. aa : acides aminés ; PM : poids moléculaire. (Code à une lettre des acides aminés : A : Ala ; C : Cys ; D : Asp ; I : Ile ; L : Leu ; P : Pro ; Q : Gln ; R : Arg ; V : Val ; W : Trp.)

L'Ins(1,4,5)P₃ 5-phosphatase et le syndrome de Lowe

Sur des critères cinétiques, trois types d'Ins(1,4,5)P₃ 5-phosphatases ont été décrits [30] : le type majoritaire (type I) hydrolyse à la fois l'Ins(1,4,5)P₃ et l'Ins(1,3,4,5)P₄ avec une plus forte affinité pour l'Ins(1,3,4,5)P₄ (K_m = 1 µM pour l'Ins(1,3,4,5)P₄ versus 10 µM pour l'Ins(1,4,5)P₃) mais avec une V_{max} plus faible (rapport des V_{max} = 11 en faveur de l'Ins(1,4,5)P₃). Cette enzyme existe sous forme soluble et membranaire quoique l'existence du type particulaire ne soit pas définitivement établie. Le type II apparaît plus spécifique de l'Ins(1,4,5)P₃ (K_m = 70 µM) et le type III utilise les deux substrats, avec des K_m respectifs de 7 µM et 24 µM pour l'Ins(1,3,4,5)P₄ et l'Ins(1,4,5)P₃. On peut comprendre que dans des cellules qui produisent beaucoup d'Ins(1,3,4,5)P₄, le type I soit préférentiellement saturé par ce substrat, ce qui laisse entrevoir un rôle pour le type II agissant sur l'Ins(1,4,5)P₃. Un ADNc codant pour la 5-phosphatase de type III a été isolé par le groupe de Majerus en 1991 [31]. En outre, un gène déficient dans le syndrome oculo-cérébro-rénal de Lowe pourrait coder pour une protéine de la même famille (*m/s* n° 7, vol. 8, p. 742) [32]. La protéine issue de la séquence codante de ce gène présente 53 % d'identité en acides aminés avec la séquence de la 5-phosphatase de type III. Curieusement, aucune donnée d'expression de la protéine codée par ce gène déficient n'existe à ce jour. Récemment, il a été rapporté que la 5-phosphatase type III des plaquettes humaines pouvait également hydrolyser le PtdIns(4,5)P₂ [33]. Dès lors, la spécificité *in vivo* du type III vis-à-vis de l'Ins(1,4,5)P₃ peut être sujette à débat. Le syndrome de Lowe pourrait résulter d'une anomalie, soit du métabolisme de l'Ins(1,4,5)P₃ par la perte d'une isoenzyme de la 5-phosphatase, soit du métabolisme du PtdIns(4,5)P₂ par la perte de l'enzyme impliquée dans l'hydrolyse de ce phospholipide. Notons que ce dernier est situé au carrefour de deux voies de signalisation : à la fois, substrat de la phospholipase C mais aussi de la PtdIns(4,5)P₂ 3-kinase (figure 1).

RÉFÉRENCES

- Mikoshiba K. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. *Trends Pharmacol Sci* 1993 ; 14 : 86-9.
- Mauger J. Régulation du récepteur de l'inositol 1,4,5-trisphosphate. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 1013-7.
- Khan AA, Steiner JP, Snyder SH. Plasma membrane inositol 1,4,5-trisphosphate receptor of lymphocytes: selective enrichment in sialic acid and unique binding specificity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 2849-53.
- Stephens LR, Hughes KT, Irvine RF. Pathway for phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate synthesis in activated neutrophils. *Nature* 1991 ; 351 : 33-9.
- Mennitti FS, Oliver KG, Putney JW, Shears SB. Inositol phosphates and cell signaling: new views of InsP₃ and InsP₆. *Trends Biochem Sci* 1993 ; 18 : 53-6.
- Shears SB. Metabolism of the inositol phosphates produced upon receptor activation. *Biochem J* 1989 ; 260 : 313-24.
- Erneux C, Takazawa K. Intracellular control of inositol phosphates by their metabolizing enzymes. *Trends Pharmacol Sci* 1991 ; 12 : 174-5.
- Takazawa K, Vandekerckhove J, Dumont JE, Erneux C. Cloning and expression in *E. coli* of a rat brain cDNA encoding a Ca²⁺/calmodulin-sensitive Ins(1,4,5)P₃ 3-kinase. *Biochem J* 1990 ; 272 : 107-12.
- Takazawa K, Perret J, Dumont JE, Erneux C. Molecular cloning and expression of a human brain Ins(1,4,5)P₃ 3-kinase. *Biochem Biophys Res Commun* 1991 ; 174 : 529-35.
- Erneux C, Roeckel N, Takazawa K, Mailleux P, Vassart G, Mattei MG. Localization of the genes for human Ins(1,4,5)P₃ 3-kinase A and B to chromosome regions 15q14-15q21 and 1q41-1q43, respectively, by *in situ* hybridization. *Genomics* 1992 ; 14 : 546-7.
- Sonnenburg W, Seger D, Beavo JA. Molecular cloning of a cDNA encoding the 61 kDa calmodulin stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterase. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 645-52.
- Irvine RF, Moor RM. Micro-injection of Ins(1,3,4,5)P₄ activates sea urchin eggs by a mechanism dependent on external Ca²⁺. *Biochem J* 1986 ; 240 : 917-20.
- Theibert AB, Estevez VA, Ferris CD, Danoff SK, Barrow RK, Snyder SH. Inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate and inositol hexakisphosphate receptor proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 3165-9.
- Irvine RF, Cullen P. Will the InsP₄ receptor please stand up ? *Curr Biol* 1993 ; 3 : 540-3.
- Morris AP, Gallacher DV, Irvine RF, Petersen OH. Synergism of InsP₃ and InsP₄ in activating Ca²⁺-dependent K⁺ channels. *Nature* 1987 ; 330 : 653-5.
- Lückoff A, Clapham DE. Inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate activates an endothelial Ca²⁺-permeable channel. *Nature* 1992 ; 355 : 356-8.
- Wilcox RA, Challis RAJ, Baudin G, Vassella V, Potter BVL, Nahorsky SR. Stereoselectivity of Ins(1,3,4,5)P₄ recognition sites: implications for the mechanism of Ins(1,3,4,5)P₄-induced Ca²⁺ mobilization. *Biochem J* 1993 ; 294 : 191-4.
- Verjans B, Moreau C, Erneux C. The control of intracellular signal molecules at the level of their hydrolysis: the example of Ins(1,4,5)P₃ 5-phosphatase. *Mol Cell Endocrinol* 1994 ; 98 : 167-71.
- Ross T, Jefferson AB, Mitchell CA, Majerus PW. Cloning and expression of human 75 kDa Ins(1,4,5)P₃ 5-phosphatase. *J Biol Chem* 1991 ; 266 : 20283-9.
- Attree O, Olivos J, Okabe I, Bailey LC, Nelson DL, Lenis RA, McInnes RR, Nussbaum RL. The Lowe's oculocerebrorenal syndrome gene encodes a protein highly homologous to Ins(1,4,5)P₃ 5-phosphatase. *Nature* 1992 ; 358 : 239-42.
- Matzaris M, Jackson SP, Laxminarayan M, Speed CJ, Mitchell CA. Identification and characterization of the phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 5-phosphatase in human platelets. *J Biol Chem* 1994 ; 269 : 3397-402.

Un ADNc codant pour la 5-phosphatase de type I a été cloné dans la thyroïde de chien et le cerveau humain au sein de notre laboratoire (*figure 3B*) [34, 35]. La séquence révèle un site possible d'isoprénnylation sur une cystéine C-terminale, ce qui pourrait rendre compte de la distribution majoritairement membranaire de cet enzyme. La comparaison de séquence entre le type I, le type III et la protéine de Lowe révèle également la conservation d'une séquence de huit acides aminés (PAWCDRIL)*. Cette séquence pourrait être critique au niveau de la structure du domaine catalytique de l'enzyme. Il est tentant de spéculer sur un rôle possible de l'activité membranaire de type I, dans l'activité biologique ou dans l'interaction directe avec une autre protéine régulatrice membranaire [36].

La formation de $\text{PtdIns}(3,4,5)\text{P}_3$

$\text{PtdIns}(3,4,5)\text{P}_3$ est synthétisé par une enzyme à activité 3-kinase distincte de l' $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ 3-kinase [16]. Il s'agit d'un hétérodimère formé d'une sous-unité régulatrice de 85 kDa (p85) et d'une sous-unité catalytique de 110 kDa. La $\text{PtdIns}(4,5)\text{P}_2$ 3-kinase est activée par un très grand nombre de facteurs de croissance à activité tyrosine kinase (tel le PDGF). Cette activation procède *via* l'interaction entre le récepteur autophosphorylé sur tyrosine et un domaine SH2 de la sous-unité p85. Elle induit la phosphorylation de cette sous-unité sur tyrosine. D'autres tyrosine kinases intracellulaires (comme la p60^{src}) agissent probablement par interaction entre leur propre domaine SH2 et la sous-unité p85 phosphorylée sur tyrosine [37]. Différentes isoformes de la $\text{PtdIns}(4,5)\text{P}_2$ 3-kinase ont été identifiées, par exemple dans les neutrophiles ou les plaquettes où une isoenzyme distincte présente une sensibilité au complexe $\beta\gamma$ libéré après activation de protéines G [38].

Cette situation est comparable à celle de la phospholipase C dont certaines isoformes sont activées par phosphorylation sur tyrosine et d'autres sont sensibles aux sous-unités α ou $\beta\gamma$ de protéines G. Le substrat préférentiel de cette 3-kinase agissant sur des phospholipides est le $\text{PtdIns}(4,5)\text{P}_2$, ce qui confère au $\text{PtdIns}(3,4,5)\text{P}_3$ un rôle potentiel de second messenger. Il pourrait agir comme signal dans les modifications de structure du cytosquelette ou dans l'adhérence des cellules comme suggéré dans les neutrophiles ou les plaquettes [39].

L'hydrolyse de l' $\text{Ins}(1,3,4,5,6)\text{P}_5$ est contrôlée par l'activation de récepteurs

Il est clairement établi aujourd'hui que toutes les cellules de mammifères contiennent des concentrations considérables en InsP_5 et InsP_6 (10 à 100 fois plus élevées que les concentrations en $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$). Différentes enzymes conduisant à la synthèse d' InsP_6 au départ d' $\text{Ins}(1,3,4)\text{P}_3$ ont été isolées [17]. Par ailleurs, certains agonistes qui activent la phospholipase C provoquent également une augmentation parfois très importante des taux d' $\text{Ins}(3,4,5,6)\text{P}_4$ [17]. Cet isomère apparaît comme issu de la déphosphorylation de l' $\text{Ins}(1,3,4,5,6)\text{P}_5$ par une 1-phosphatase (*figure 1*) dont l'activité pourrait être stimulée par des agonistes. L' $\text{Ins}(3,4,5,6)\text{P}_4$ jouerait un rôle de molécule signal : récemment, son rôle direct dans la sécrétion de chlorure par les cellules épithéliales de l'intestin a été avancé [40]. Notons encore la forte affinité pour l' InsP_6 à des concentrations nanomolaires de plusieurs protéines, dont certaines assurent l'internalisation d'hormones ou de neurotransmetteurs [41]. Enfin, plusieurs laboratoires ont mis en évidence l'existence d'inositol-polyphosphates contenant des liens pyrophosphates en position 2 et 4 du noyau inositol [42]. Ces composés fournissent des métabolites riches en énergie par la nature du lien formé (P-O-P), dont l'énergie libre standard est comparable à celle de l'ADP, de sorte qu'un rôle poten-

tiel de ces composés comme donneur de phosphate a été suggéré [42].

Conclusions

La *figure 1* illustre le métabolisme complexe des phosphatidyl inositols et la synthèse de plusieurs inositol-phosphates qui interviennent dans la signalisation cellulaire. Plusieurs de ces enzymes ($\text{PtdIns}(4,5)\text{P}_2$ 3-kinase, phospholipase C, $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ 5-phosphatase et 3-kinase) sont en réalité représentées chacune par une famille de différentes isoenzymes, laissant entrevoir une spécificité tissulaire dans leur fonction. L'inactivation présumée d'une isoenzyme de l' $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ 5-phosphatase décrite dans le syndrome de Lowe et engendrant des symptômes à la fois pléiotropes et précis (cataracte congénitale, retard mental, dysfonctionnement tubulaire rénal) constitue un argument en faveur de l'existence d'une voie de signalisation non pas générale mais, au contraire, adaptée aux différentes cellules de l'organisme selon des schémas propres. Nous pouvons nous interroger sur les mécanismes de contrôle de chacune de ces enzymes où interviennent à titre d'exemples des protéines G (par exemple le complexe $\beta\gamma$ stimulant la $\text{PtdIns}(4,5)\text{P}_2$ 3-kinase), ou des signaux intracellulaires (par exemple le calcium en tant que stimulant de la voie de synthèse de l' $\text{Ins}(1,3,4,5)\text{P}_4$). Le clonage récent de l'ADNc de plusieurs types de ces enzymes laisse entrevoir plusieurs approches moléculaires qui permettront de mieux cerner ces mécanismes ■

Remerciements

Nous remercions J.E. Dumont pour son soutien et son intérêt continuel. Nous remercions également C. Moreau, K. Takazawa et B. Verjans pour leur contribution à diverses étapes de notre recherche. Le travail réalisé dans le laboratoire a été financé par le Programme belge des pôles d'attraction interuniversitaire, mis en place par le gouvernement belge, service du Premier ministre, une action de recherche concertée par la Communauté française, ainsi que par le Fonds de la Recherche scientifique médicale.

* Code à une lettre des acides aminés : A : Ala ; C : Cys ; D : Asp ; I : Ile ; L : Leu ; P : Pro ; R : Arg ; W : Trp.

RÉFÉRENCES

34. Verjans B, De Smedt F, Lecocq R, Vanweyenberg V, Erneux C. Cloning and expression in *Escherichia coli* of a dog thyroid cDNA encoding a novel inositol 1,4,5-trisphosphate 5-phosphatase. *Biochem J* 1994 ; 300 : 85-90.
35. De Smedt F, Verjans B, Mailleux P, Erneux C. Cloning and expression of human brain type I Ins(1,4,5)P₃ 5-phosphatase. *FEBS Lett* 1994 ; 347 : 69-72.
36. Pouliot TF, Béliveau R. Modifications post-traductionnelles des protéines par des lipides. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 65-73.
37. Downes CP, Carter AN. Phosphoinositide 3-kinase: a new effector in signal transduction ? *Cell Signal* 1991 ; 3 : 501-13.
38. Stephens L, Smrcka A, Cooke FT, Jackson TR, Sternweis PC, Hawkins PT. A novel phosphoinositide 3-kinase activity in myeloid-derived cells is activated by G-protein β subunits. *Cell* 1994 ; 77 : 83-93.
39. Stephens L, Eguinoa A, Corey S, Jackson T, Hawkins PT. Receptor stimulated accumulation of phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate by G protein mediated pathways in human myeloid derived cells. *EMBO J* 1993 ; 12 : 2265-73.
40. Vanayapalanich M, Schultz C, Rudolf MT, Wasserman M, Enyetti P, Craxton A, Shears S, Tsien R, Narett KE, Traynor-Kaplan A. Long term uncoupling of chloride secretion from intracellular calcium levels by Ins(3,4,5,6)P₄. *Nature* 1994 ; 371 : 711-4.
41. Volgmaier S, Keen J, Murphy J, Ferris C, Pretschwicz G, Snyder S, Theibert A. Inositol hexakisphosphate receptor identified as the clathrin assembly protein AP-2. *Biochem Biophys Res Commun* 1992 ; 187 : 158-63.
42. Stephens L, Radenberg T, Thiel U, Vogel G, Khoo K, Dell A, Jackson P, Hawkins P, Mayr GL. The detection, purification, structural characterization and metabolism of diphosphoinositol pentakisphosphate and bisdiphosphoinositol tetrakisphosphate. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 4009-15.
43. Takazawa K, Perret J, Dumont JE, Erneux C. Molecular cloning and expression of a new putative inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase isoenzyme. *Biochem J* 1991 ; 278 : 883-6.

Summary

Involvement of inositol lipids and their products of hydrolysis in cellular signaling

Ins(1,4,5)P₃ is a well-known inositol lipid-derived intracellular second messenger mobilizing intracellular calcium from internal stores. It is generated through two major signaling pathways: the former involves G proteins-coupled receptors and the latter tyrosine kinase-linked receptors. Ins(1,4,5)P₃ mobilizes intracellular calcium by binding to its receptor, showing structural and physiological similarities with the ryanodine receptor (another intracellular calcium channel). It is metabolized by both an Ins(1,4,5)P₃ 5-phosphatase and 3-kinase reaction. Biochemical and molecular studies indicated at each step of the signal transduction pathway extensive molecular heterogeneity in the synthesis and degradation of inositol lipids derived molecules. Ins(1,4,5)P₃ 3-kinase consists in a family of calmodulin sensitive isoenzymes producing Ins(1,3,4,5)P₄ (three isozymes). Ins(1,4,5)P₃ 5-phosphatase dephosphorylates both Ins(1,4,5)P₃ and Ins(1,3,4,5)P₄. It is interesting to note that the Lowe's oculocerebrorenal syndrome may be caused by a defect in a gene that encodes an enzyme that metabolizes Ins(1,4,5)P₃, since type III of Ins(1,4,5)P₃ 5-phosphatase shows high levels of sequence homology with the protein encoded by the Lowe's syndrome deficient gene. PtdIns(4,5)P₂ is the phospholipase C substrate to generate Ins(1,4,5)P₃ and diacylglycerol (DAG) but also the substrate of a specific 3-kinase to produce PtdIns(3,4,5)P₃, another potential second messenger. Like phospholipase C, PtdIns(4,5)P₂ 3-kinase may be activated through G protein-coupled receptors or tyrosine kinase-linked receptors. The levels of Ins(3,4,5,6)P₄ may also be regulated through the activation of receptors by extracellular signals and this molecule may also play a role of second messenger.