

## **R**adeaux lipidiques : rôle dans l'activation lymphocytaire

**L**a membrane plasmique est classiquement représentée comme une matrice bidimensionnelle constituée de lipides et de protéines liés par des forces non covalentes essentiellement hydrophobes. Dans ce modèle de « mosaïque fluide » décrit par Singer et Nicholson en 1972, lipides et protéines peuvent diffuser librement dans le plan de la bicouche et on pourrait par conséquent s'attendre à une répartition aléatoire de ces molécules dans les membranes biologiques. En fait, il est maintenant bien établi que les composants membranaires sont distribués de manière hétérogène latéralement et de part et d'autre de la bicouche lipidique.

La découverte récente de microdomaines glycosphingolipidiques (généralement désignés par le terme consacré de radeaux lipidiques, *lipid rafts*) dans une grande variété de types cellulaires a bouleversé la représentation de la membrane. De nombreux résultats récents attribuent à ces structures, dont la composition et les caractéristiques physico-chimiques sont particulières, un rôle majeur dans l'accomplissement de différents processus impliquant la membrane tels que la transmission de signaux d'activation et le trafic membranaire [1]. Après avoir rappelé les caractéristiques structurales de ces compartiments, nous illustrerons leur rôle majeur dans la transmission de signaux d'activation en limitant la présentation aux cellules hématopoïétiques et en particulier aux lymphocytes T.

### **Microdomaines glycosphingolipidiques : définition et mise en évidence**

En 1992, les travaux de D. Brown et J. Rose [2] ont révélé l'existence, dans la membrane apicale de cellules épithéliales polarisées, de complexes macromoléculaires enrichis en protéines ancrées par un groupement GPI (*glycosyl phosphatidyl inositol*), en glycosphingolipides et en cholestérol. Ces complexes peuvent être purifiés dès l'appareil de Golgi, ce qui a conduit les auteurs à proposer leur rôle dans le tri et le ciblage sélectifs des protéines ancrées par un GPI et des glycosphingolipides vers la face apicale des cellules polarisées. Par la suite, de telles structures ont été décrites chez les mammifères dans une variété de types cellulaires, y compris dans des cellules non polarisées comme les lymphocytes T [1], et dans d'autres organismes comme la drosophile [3], le *dictyostelium* et la levure [4]. La purification des microdomaines glycosphingolipidiques repose essentiellement sur leur insolubilité dans certains détergents non ioniques. Ce point technique a longtemps été sujet à caution dans la mesure où on ne peut exclure l'apparition d'associations moléculaires artificielles au cours de la lyse à 4 °C. L'étude de systèmes mimant la reconstitution de membranes en liposomes indique que le mélange de glycosphingolipides (haute température de fusion), de glycérolipides (basse température de fusion) et de cholestérol dans des proportions physiologiques conduit à

l'apparition d'une phase dite « liquide ordonnée » (Lo) ayant des caractéristiques intermédiaires entre une phase liquide cristalline et une phase gel. L'apparition de cette phase Lo est concomitante à l'acquisition de l'insolubilité dans les détergents à basse température, indiquant que la composition lipidique peut en elle-même rendre compte de cette caractéristique au sein des membranes biologiques. Par ailleurs, les protéines ancrées par un GPI présentent une affinité pour cette phase Lo grâce aux chaînes acylées saturées de leur ancre [4]. Ainsi, la capacité des glycolipides, des protéines ancrées par un GPI et du cholestérol de former des complexes semble inhérente à leur structure et à leurs caractéristiques physico-chimiques. Leur insolubilité dans un milieu détergent se révèle être un indicateur utile, bien que peut-être imparfait, de l'état de phase de la membrane.

Néanmoins, ces études ne prouvent pas définitivement l'existence des « radeaux glycosphingolipidiques » dans une membrane biologique. La détection de ces structures *in situ* est rendue difficile par leur dynamique et les perturbations potentielles entraînées par les procédures de marquage. Néanmoins, plusieurs études réalisées dans des conditions appropriées de fixation indiquent que les protéines ancrées par un GPI et les sphingolipides sont distribués dans des domaines où leur diffusion est confinée [5-7]. Deux travaux très récents [8, 9] ont montré, dans des expériences de transfert d'énergie de fluo-

rescence ou de pontage chimique de protéines membranaires, que les protéines ancrées par un GPI sont agrégées dans des domaines de petite taille (< 70 nm de diamètre) qui contiennent moins de 50 molécules. Les structures ainsi visualisées sont désorganisées si on extrait le cholestérol de la membrane plasmique, indiquant une association latérale préférentielle des protéines ancrées par un GPI entre elles et avec le cholestérol *in situ*. Ainsi, les détergents non ioniques tels que le Triton X-100 ne créent pas ce type d'association artificiellement. Les microdomaines glycosphingolipidiques des thymocytes murins purifiés sur la base de leur insolubilité en Brij58 ou en Triton X-100, concentrent la plupart des glycosphingolipides (tel le GM1) et des protéines ancrées par un GPI (Thy-1, HSA, *heat stable antigen*, ThB) présents à la surface de ces cellules [10]. Ces structures sont sensibles à une extraction du cholestérol et se présentent après purification sous forme de vésicules délimitées par un double feuillet lipidique d'un diamètre moyen de 180 nm sur lesquelles les marqueurs Thy-1 et GM1 sont répartis de manière homogène [10, 11]. Le Brij58 utilisé dans cette étude n'induit pas artificiellement de fusion de fragments membranaires ni d'agrégation de protéines GPI libérées au cours de la lyse; en effet, des microdomaines isolés à partir d'un mélange de thymocytes exprimant les protéines allèles Thy-1.1 et Thy-1.2 ne portent jamais simultanément ces deux marqueurs. Cela n'exclut pas néanmoins que des domaines présents dans un même fragment membranaire puissent fusionner au cours de la lyse à 4°C. Ces structures contiennent aussi une fraction des protéine-tyrosine kinases (PTK) de la famille Src: p56<sup>lck</sup> et p59<sup>fyn</sup> qui sont ancrées dans le feuillet interne de la membrane plasmique par des groupements lipidiques. Leur localisation dans les microdomaines nécessite leur myristoylation et leur palmitoylation [12, 13]; ces chaînes acylées saturées favoriseraient leur ciblage vers les microdomaines supposés être dans une phase équivalente à la phase Lo [14]. Lck et Fyn sont requises très précocement dans les événements de signali-

sation faisant suite à l'engagement du récepteur antigénique des cellules T (TCR) et l'implication des microdomaines glycosphingolipidiques dans ce processus a naturellement été envisagée.

#### **Les microdomaines glycosphingolipidiques : sites de déclenchement des cascades d'activation**

Les cellules T, protagonistes majeurs de l'immunité à médiation cellulaire, reconnaissent des peptides antigéniques liés à une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) exprimée par une cellule présentatrice. De nombreuses molécules de co-stimulation, accessoires ou co-réceptrices, sont requises pour stabiliser l'interaction TCR:peptide-CMH et amplifier les événements de transmission du signal conduisant à l'activation des lymphocytes T [15]. Ces événements sont déclenchés par la phosphorylation de motifs ITAM (*immunoreceptor tyrosine-based activation motifs*) localisés dans le segment intracytoplasmique des chaînes du complexe moléculaire CD3, par les kinases p56<sup>lck</sup> et p59<sup>fyn</sup>. Ces motifs phosphorylés permettent la liaison des PTK ZAP-70 et/ou Syk qui seront à leur tour activées par phosphorylation. Une fois activées, ces différentes PTK (Fyn, Lck, ZAP-70 et Syk) coopèrent pour recruter et phosphoryler en aval des protagonistes de la signalisation qui contribueront à déclencher la cascade des MAP kinases, l'activation de la PI-3 kinase et les flux calciques [16] (*figure 1*). De plus, une étude récente a montré que les ITAMs sont également impliqués dans la réorganisation du cytosquelette après engagement du TCR [17]. Plusieurs travaux récents indiquent que les microdomaines lipidiques jouent un rôle crucial dans l'établissement de ces cascades de transmission de signaux [10, 18-20]. En effet, lors d'une stimulation des thymocytes murins par un anticorps monoclonal dirigé contre la chaîne  $\epsilon$  du complexe CD3, une fraction des complexes TCR/CD3 liés à l'anticorps stimulant se trouve très rapidement recrutée dans les microdomaines. Ce recrutement du TCR est

aussi observé dans le cadre d'une stimulation plus physiologique de thymocytes de souris femelles transgéniques exprimant un récepteur T reconnaissant l'antigène mâle HY, stimulés par des cellules présentatrices mâles de même haplotype [10].

L'activation du TCR s'accompagne d'une accumulation rapide de substrats phosphorylés sur des tyrosines et par une augmentation de l'activité de la kinase Lck dans les microdomaines. Après stimulation, les récepteurs T détectés dans ces structures sont très enrichis en chaînes CD3 $\zeta$  « hyperphosphorylées » ainsi qu'en formes phosphorylées activées de la kinase ZAP-70. Le recrutement du complexe TCR/CD3 activé dépend de l'activité des kinases de la famille Src puisqu'il n'est plus observé lorsqu'on utilise une molécule bloquant spécifiquement l'activité de ces enzymes, suggérant que la phosphorylation du complexe permet de stabiliser son interaction avec les microdomaines [10].

La kinase p56<sup>lck</sup> est une molécule-clé dans l'activation des cellules T puisqu'elle est impliquée dans la propagation des signaux induits par le TCR à tous les stades de développement des lymphocytes T murins [21]. La nécessité de sa localisation dans les microdomaines pour conduire à une activation efficace a été illustrée à plusieurs reprises. Kabouridis *et al.* [13] ont montré que, dans des cellules T exprimant une forme chimérique transmembranaire de p56<sup>lck</sup>, exclue des microdomaines, la stimulation par un anticorps anti-CD3 n'induit pas la phosphorylation de CD3 $\zeta$  ni de ZAP-70.

Plus récemment, Stulnig *et al.* [22] ont montré que les acides gras polyinsaturés, connus pour inhiber l'activation des lymphocytes T, s'incorporent dans la membrane et induisent une désorganisation du feuillet interne des microdomaines, conduisant à l'exclusion des PTK de la famille Src de ces structures. Ce travail souligne la nécessité de la localisation de p56<sup>lck</sup> dans les microdomaines pour permettre une activation efficace des cellules T mais ouvrent aussi des perspectives thérapeutiques intéressantes. En effet, les acides gras polyinsaturés ont déjà trouvé des applications cli-

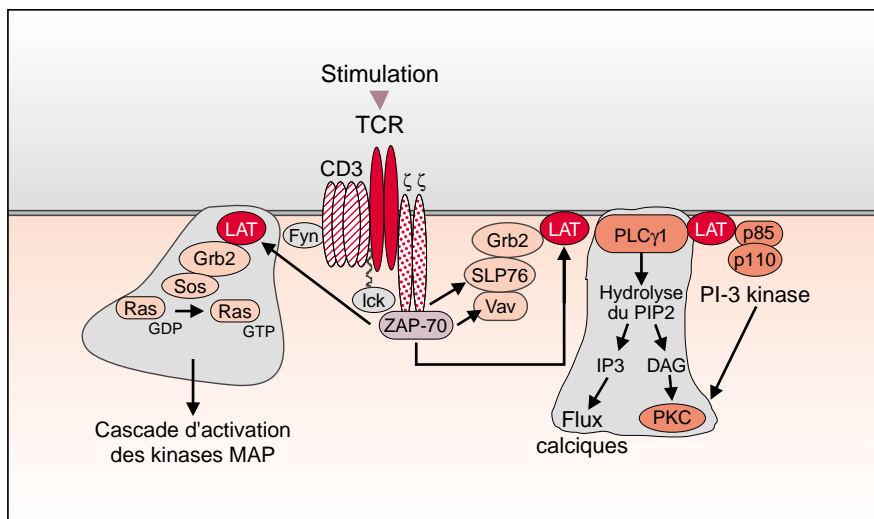


Figure 1. **Les différentes voies de signalisation associées au récepteur anti-génique des cellules T – rôle central de la protéine LAT (linker for activation of T cell).** Seules les étapes majeures se déroulant à proximité de la membrane sont décrites. L'engagement du TCR conduit à la phosphorylation rapide sur leur(s) résidu(s) tyrosine d'un nombre limité de substrats, processus mettant en jeu plusieurs familles de kinases. Lck phosphoryle les chaînes du complexe TCR/CD3 sur des motifs ITAM, ce qui permet l'arrimage de ZAP-70 qui sera à son tour activée par phosphorylation. Cette kinase a pour substrat majeur la protéine LAT qui connecte la stimulation du récepteur aux différentes cascades de transmission et d'amplification du signal d'activation. En effet, sous sa forme phosphorylée, elle permet le recrutement et l'activation de la phospholipase Cγ1 (PLCγ1) qui hydrolyse le phosphatidyl inositol biphosphate (PIP2) en inositol triphosphate (IP3), permettant la mobilisation du calcium intracellulaire, et en diacylglycérol qui active la protéine-kinase C (PKC). Elle peut aussi s'associer à la PI-3 kinase qui peut, entre autres, activer la PKC. Par ailleurs, LAT recrute aussi à la membrane le facteur d'échange Sos par l'intermédiaire de la protéine adaptatrice Grb2, ce qui permet l'activation de la petite protéine G Ras, conduisant invariablement à l'activation de deux sérine-thréonine kinases MAP (mitogen activated proteins) cytoplasmiques. Enfin, LAT semble contracter une association avec une autre molécule adaptatrice importante, SLP-76, qui est également phosphorylée par ZAP-70, via Gads nouvellement décrite [32].

niques en tant que molécules immunosuppressives et on peut imaginer que, dans l'avenir, la recherche de produits peu toxiques susceptibles de modifier la structure et la fonction des microdomaines deviendra un enjeu majeur.

Ainsi, les microdomaines semblent constituer des unités fonctionnelles au sein desquelles les cascades d'activation sont déclenchées. Leur importance a été soulignée par Xavier *et al.* [18] qui montrent qu'une perturbation de leur intégrité par une altération de la distribution du cholestérol dans la membrane (ou une extraction de ce composant) inhibe des

étapes précoces de l'activation T telles que les phosphorylations de CD3ζ et de la phospholipase Cγ1 (PLCγ1) ainsi que les flux calciques. Outre leur rôle dans la mise en route, ces structures sont aussi impliquées dans l'organisation des cascades de signalisation.

#### Les microdomaines glycosphingolipidiques : plates-formes d'intégration des cascades d'activation

Une phospho-protéine de 36 kDa apparaît dans les microdomaines avec la même cinétique que le TCR

activé [10]. Cette molécule a été identifiée comme étant la protéine adaptatrice LAT (*linker for activation of T cell*) [20]. LAT est un substrat fortement phosphorylé après l'engagement du TCR. Sous sa forme activée, il est capable de recruter plusieurs protéines critiques impliquées dans le déclenchement des cascades de signalisation comme la PLCγ1, la PI-3 kinase et la protéine adaptatrice Grb2 (figure 1) [23]. Cette protéine est palmitoylée et s'associe aux microdomaines où elle est phosphorylée au cours de l'activation des lymphocytes T [20]. L'étude de souris [24] et de lignées T [25] mutantes dont le gène codant pour cette protéine a été inactivé confirme son rôle critique dans l'activation et le développement des lymphocytes T au stade double négatif CD4-CD8<sup>-</sup>. Ainsi, cette protéine résidant dans les microdomaines occupe une position centrale dans l'activation en assurant un couplage entre l'engagement du récepteur et l'organisation des différentes cascades de signalisation en aval. L'ensemble de ces observations met en évidence un nouveau processus qui permet l'intégration des différentes voies de signalisations associées à l'engagement du TCR : la localisation du complexe multimérique activé dans des domaines spécialisés de la membrane plasmique. Ce modèle d'activation compartimentée d'un récepteur multimérique s'applique aussi au récepteur des immunoglobulines E (IgE) de haute affinité [6, 26]. En effet, ce récepteur est recruté de manière transitoire dans les microdomaines de cellules RBL (*rat basophilic leukemia*) après pontage par des IgE. Sa phosphorylation permet la liaison et l'activation de la kinase Syk qui s'associe à son tour à la PLCγ1, conduisant à terme à la mise en œuvre de fonctions effectrices. Ce modèle peut être étendu à d'autres types de récepteurs membranaires dans des systèmes cellulaires variés [1, 4].

La concentration, dans des unités fonctionnelles préformées, de protagonistes de la propagation du signal déclenché par la stimulation du récepteur T, permet de mieux comprendre comment son engagement conduit à une réponse rapide, orga-

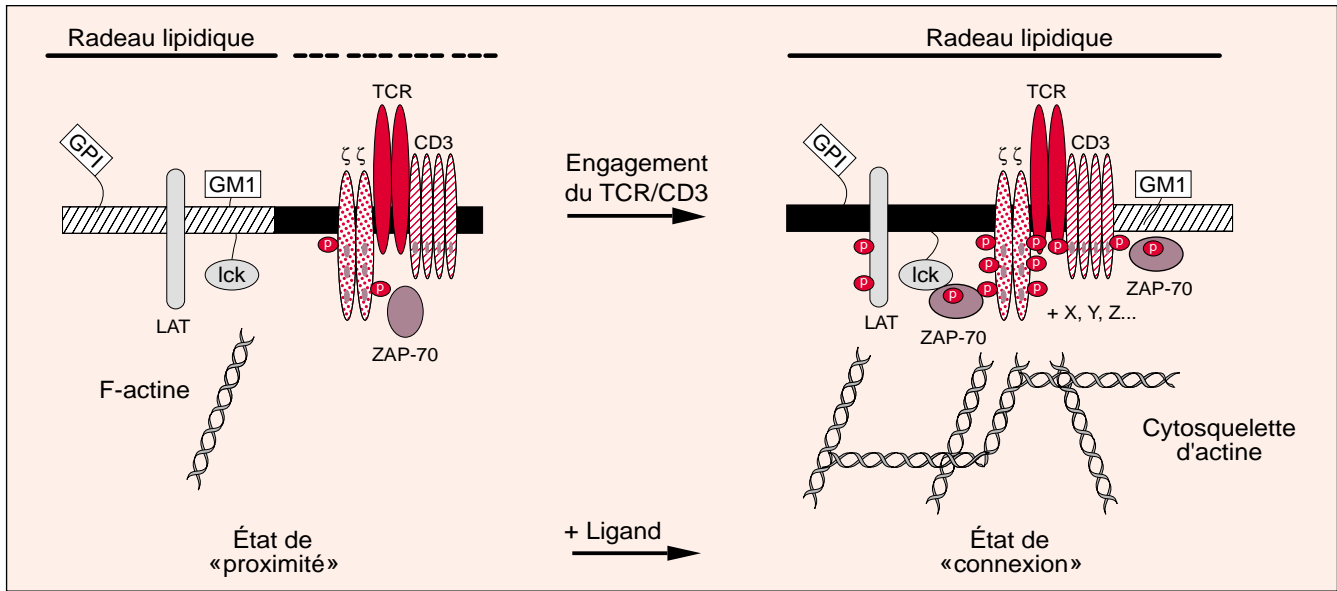


Figure 2. **Activation compartimentée du TCR au sein des microdomaines glycosphingolipidiques (rafts).** Dans une cellule T au repos, le TCR semble interagir avec une faible affinité avec les microdomaines enrichis en glycolipides, en protéines ancrées par un GPI et en antagonistes de la signalisation (Lck, LAT...). Lors de l'activation, l'interaction du complexe TCR/CD3 stimulé avec ces structures est vraisemblablement stabilisée par l'ensemble des réactions de phosphorylation qui ont lieu sur et à proximité du complexe TCR/CD3, ainsi que par une réorganisation possible du cytosquelette. La phosphorylation de la protéine LAT, résidant dans ces plates-formes dynamiques, permettra le recrutement et l'activation de plusieurs acteurs cellulaires (X, Y, Z) impliqués dans les cascades de transmission du signal en aval (voir figure 1).

nisée et efficace. Plusieurs questions restent néanmoins en suspens et il paraît important aujourd'hui de voir comment ces découvertes récentes peuvent bénéficier à la compréhension de la physiologie de la réponse T et comment elles peuvent être conciliées avec les modèles existants.

### De l'engagement du TCR à l'activation du lymphocyte T

La connaissance des événements se déroulant à la surface de la cellule T au cours de l'engagement du TCR, encore fragmentaire, est un préalable indispensable à la compréhension des mécanismes qui règlent les cascades de signalisation en aval. Récemment, plusieurs auteurs ont proposé qu'une oligomérisation du TCR d'assez grande amplitude, stabilisée par des molécules co-réceptrices et de co-stimulation, apparaît aux points de contact du lymphocyte T avec la cellule présentatrice de l'antigène (CPA) et serait à l'origine des événements de signalisation

consécutifs [15, 27]. Ces grands complexes moléculaires à la jonction cellule T/ CPA ont été récemment appelés « synapse immune » [28]. Leur formation s'accompagne d'une large réorganisation du cytosquelette et semble requise pour susciter une activation T complète. De telles structures ont pu être visualisées dans la zone de contact et sont organisées en un complexe central concentrant le TCR et la kinase  $p56^{lck}$  entouré d'une couronne contenant la protéine d'adhérence LFA-1 et la taline [29]. L'implication des microdomaines dans l'activation T semble maintenant bien établie *in vitro*; il paraît dès lors important d'étudier, *in vivo*, la dynamique de ces structures lors de la formation des synapses immunes. Il a été décrit récemment un co-engagement de CD3 et de la molécule accessoire CD28 permettant une redistribution et/ou une réorganisation importante des microdomaines glycosphingolipidiques au site d'engagement du récepteur T [19]. Ce phé-

nomène pourrait être à l'origine de l'action co-stimulatrice de CD28 dans l'activation des lymphocytes T, bien que les mécanismes impliqués dans ce processus restent encore à établir. D'autre part, Moran et Miceli [30] ont analysé le rôle de la protéine CD48 ancrée par un GPI au cours de l'activation de lymphocytes T stimulés par des CPA exprimant le ligand naturel de cette molécule: CD2. L'engagement de CD48, qui contribue à créer une zone de contact étroit entre la cellule T et la CPA, permet d'augmenter la phosphorylation de  $CD3\zeta$  consécutive à la stimulation du TCR par le complexe CMH-peptide et facilite l'association de cette molécule avec le cytosquelette d'actine. Une extraction du cholestérol inhibe ce processus, indiquant que les microdomaines sont impliqués dans ces étapes précoces de signalisation. L'association du cytosquelette d'actine avec les microdomaines après un pontage du GM1 ou des protéines ancrées par un GPI a parallèlement été décrite dans les cel-

lules T [31] et dépend de la présence de protéines phosphorylées dans ces structures. Ainsi, il est possible de spéculer que les événements de phosphorylation qui ont lieu dans les microdomaines après l'engagement du TCR permettent une réorganisation polarisée du cytosquelette dans ces structures, conduisant entre autres à la mobilisation de molécules co-stimulatrices et à la stabilisation des complexes obtenus. Cela favoriserait en retour les événements de phosphorylation ultérieurs. Cette boucle de régulation positive pourrait amplifier des signaux suscités par la stimulation d'un petit nombre de récepteurs, situation physiologique rencontrée lors de la reconnaissance des complexes CMH-peptides antigéniques par le TCR.

### Conclusions

La stimulation spécifique d'un récepteur T par un antigène conduit à une activation très rapide qui met en jeu un ensemble de protagonistes participant à plusieurs cascades d'événements. L'efficacité de la réponse suppose que les différents acteurs impliqués puissent entrer en contact rapidement. Ainsi, la localisation des partenaires dans la cellule, leur concentration locale, leur capacité de diffusion sont autant de paramètres biophysiques contraignants à prendre en considération pour comprendre comment cette série de réactions peut s'organiser. Il paraît dès lors nécessaire de postuler l'existence de complexes de signalisation préformés qui seraient plus à même de réagir efficacement ces réactions que des molécules diffusant librement. Dans ce contexte, les radeaux lipidiques semblent constituer des plates-formes de signalisation au sein desquelles les cascades d'activation induites par l'engagement du TCR sont mises en route et organisées. Dans une cellule au repos, le TCR semble interagir faiblement avec ces structures dynamiques [10]; cette interaction est renforcée et stabilisée au cours de l'activation, probablement grâce à l'intervention de molécules accessoires et co-réceptrices et à une réorganisation du cytosquelette d'actine (figure 2). Une meilleure

compréhension des mécanismes mis en jeu aidera probablement à expliquer comment l'engagement du même TCR peut, suivant la nature de la stimulation, conduire à des réponses cellulaires aussi différentes que la prolifération ou l'apoptose. Par ailleurs, la possibilité qui existe de manipuler ces structures *in vitro* et *in vivo* [22] permet d'envisager des applications thérapeutiques pour moduler des réponses anormales des cellules du système immunitaire ■

### RÉFÉRENCES

1. Simons K, Ikonen E. Functional rafts in cell membranes. *Nature* 1997; 387: 569-72.
2. Brown DA, Rose JK. Sorting of GPI-anchored proteins to glycolipid-enriched membrane subdomains during transport to the apical cell surface. *Cell* 1992; 68: 533-44.
3. Rietveld A, Neutz S, Simons K, Eaton S. Association of sterol- and glycosylphosphatidylinositol-linked proteins with Drosophila raft lipid microdomains. *J Biol Chem* 1999; 274: 12049-54.
4. Brown DA, London E. Functions of lipid rafts in biological membranes. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1998; 14: 111-36.
5. Wu M, Fan J, Gunning W, Ratnam M. Clustering of GPI-anchored folate receptor independent of both cross-linking and association with caveolin. *J Membr Biol* 1997; 159: 137-47.
6. Stauffer TP, Meyer T. Compartmentalized IgE receptor-mediated signal transduction in living cells. *J Cell Biol* 1997; 139: 1447-54.
7. Sheets ED, Lee GM, Simson R, Jacobson K. Transient confinement of a glycosylphosphatidylinositol-anchored protein in the plasma membrane. *Biochemistry* 1997; 36: 12449-58.
8. Varma R, Mayor S. GPI-anchored proteins are organized in submicron domains at the cell surface. *Nature* 1998; 394: 798-801.
9. Friedrichson T, Kurzchalia TV. Microdomains of GPI-anchored proteins in living cells revealed by crosslinking. *Nature* 1998; 394: 802-5.
10. Montixi C, Langlet C, Bernard AM, et al. Engagement of T cell receptor triggers its recruitment to low-density detergent-insoluble membrane domains. *EMBO J* 1998; 17: 5334-48.
11. Thimonier J, Montixi C, Chauvin JP, He HT, Rocca-Serra J, Barbet J. Thy-1 immunolabeled thymocyte microdomains studied with the atomic force microscope and the electron microscope. *Biophys J* 1997; 73: 1627-32.
12. Shenoy-Scaria AM, Gauen LK, Kwong J, Shaw AS, Lublin DM. Palmitoylation of an amino-terminal cysteine motif of protein tyrosine kinases p56lck and p59fyn mediates interaction with glycosyl-phosphatidylinositol-anchored proteins. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 6385-92.
13. Kabouridis PS, Magee AI, Ley SC. S-acylation of LCK protein tyrosine kinase is essential for its signalling function in T lymphocytes. *EMBO J* 1997; 16: 4983-98.
14. Melkonian KA, Ostermeyer AG, Chen JZ, Roth MG, Brown DA. Role of lipid modifications in targeting proteins to detergent-resistant membrane rafts. Many raft proteins are acylated, while few are prenylated. *J Biol Chem* 1999; 274: 3910-7.
15. Germain RN. T-cell signaling: the importance of receptor clustering. *Curr Biol* 1997; 7: R640-4.
16. Cantrell D. T cell antigen receptor signal transduction pathways. *Annu Rev Immunol* 1996; 14: 259-74.
17. Lowin-Kropf B, Shapiro VS, Weiss A. Cytoskeletal polarization of T cells is regulated by an immunoreceptor tyrosine-based activation motif-dependent mechanism. *J Cell Biol* 1998; 140: 861-71.
18. Xavier R, Brennan T, Li Q, McCormack C, Seed B. Membrane compartmentation is required for efficient T cell activation. *Immunity* 1998; 8: 723-32.
19. Viola A, Schroeder S, Sakakibara Y, Lanzavecchia A. T lymphocyte costimulation mediated by reorganization of membrane microdomains. *Science* 1999; 283: 680-2.
20. Zhang W, Tribble RP, Samelson LE. LAT palmitoylation: its essential role in membrane microdomain targeting and tyrosine phosphorylation during T cell activation. *Immunity* 1998; 9: 239-46.
21. Weiss A, Littman DR. Signal transduction by lymphocyte antigen receptors. *Cell* 1994; 76: 263-74.
22. Stulnig TM, Berger M, Sigmund T, Raederstorff D, Stockinger H, Waldhausl W. Polyunsaturated fatty acids inhibit T cell signal transduction by modification of detergent-insoluble membrane domains. *J Cell Biol* 1998; 143: 637-44.
23. Zhang W, Sloan-Lancaster J, Kitchen J, Tribble RP, Samelson LE. LAT: the ZAP-70 tyrosine kinase substrate that links T cell receptor to cellular activation. *Cell* 1998; 92: 83-92.
24. Finco TS, Kadlecsek T, Zhang W, Samelson LE, Weiss A. LAT is required for TCR-mediated activation of PLCgamma and the Ras pathway. *Immunity* 1998; 9: 617-26.
25. Zhang W, Sommers CL, Burshtyn DN, et al. Essential role of LAT in T cell development. *Immunity* 1999; 10: 323-32.

## RÉFÉRENCES

26. Field KA, Holowka D, Baird B. Compartmentalized activation of the high affinity immunoglobulin E receptor within membrane domains. *J Biol Chem* 1997; 272: 4276-80.
27. Shaw AS, Dustin ML. Making the T cell receptor go to the distance: a topological view of T cell activation. *Immunity* 1997; 6: 361-9.
28. Dustin ML, Shaw AS. Costimulation: building an immunological synapse. *Science* 1999; 283: 649-50.
29. Monks CR, Freiberg BA, Kupfer H, Sciaky N, Kupfer A. Three-dimensional segregation of supramolecular activation clusters in T cells. *Nature* 1998; 395: 82-6.
30. Moran M, Miceli MC. Engagement of GPI-linked CD48 contributes to TCR signals and cytoskeletal reorganization: a role for lipid rafts in T cell activation. *Immunity* 1998; 9: 787-96.
31. Harder T, Simons K. Clusters of glycolipid and glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins in lymphoid cells: accumulation of actin regulated by local tyrosine phosphorylation. *Eur J Immunol* 1999; 29: 556-62.
32. Clements JL, Koretzky GA. Recent developments in lymphocyte activation: linking kinases to downstream signaling events. *J Clin Invest* 1999; 103: 925-9.

### Christine Montixi

UPRES-A Cnrs 6032, Laboratoire de biochimie cellulaire, Faculté de pharmacie, 27, boulevard Jean-Moulin, 13385 Marseille, France.

### Hai-Tao He

Équipe « macrostructures membranaires responsables de l'activation lymphocytaire », Centre d'immunologie Inserm-Cnrs de Marseille-Luminy, case 906, 13288 Marseille Cedex 9, France.

## TIRÉS À PART

H.T. He ou C. Montixi.

m/s n° 10, vol. 15, octobre 99

## BRÈVES

Les récepteurs de la sphingosine 1-phosphate se distinguent. Une activation cellulaire peut, dans certains cas, solliciter les lipides membranaires, tels que les phosphoglycérolipides et les phosphosphingolipides. De nombreux agents, comme les corticostéroïdes, le TNF $\alpha$ , l'acide arachidonique, l'interleukine-1, l'interféron  $\gamma$ , la vitamine D... peuvent, notamment, hydrolyser la sphingomyéline en céramide sous l'effet d'une sphingomyélinase. Sous l'effet séquentiel de deux enzymes, une céramidase puis une sphingosine kinase, cette activation entraîne la libération intracellulaire de sphingosine-1-phosphate (SPP), un médiateur identifié au début des années 1990, qui peut être exporté hors de la cellule. En 1998, trois groupes indépendants [1-3] ont identifié un récepteur du SPP couplé à une protéine G $\beta$ , EDG-1 (*endothelial differentiation gene-1*), qui lie le SPP avec une forte affinité ( $Kd \gamma$  8 nM). Il n'y a pas un, mais 6 récepteurs (EDG-1 à 6), parmi lesquels EDG 1, 3 et 5 lient le SPP avec une forte affinité. L'existence de tant de récepteurs différents pour un même ligand posait une question. N. Ancellin et T Hla (*University of Connecticut Health Center,*

*Farmington, USA*) viennent de montrer [4] à l'aide d'un système d'expression dans l'œuf de xénope, que les trois récepteurs du SPP activent en fait des voies de transduction différentes et se distinguent aussi par leurs propriétés pharmacologiques. En présence de SPP, les récepteurs EDG-1, 3, et -5 sont capables de se coupler à la protéine G $\alpha_{qi}$  inhibitrice de la voie de la phospholipase C $\beta$ , alors que seuls EDG-3 et -5 peuvent se coupler à la voie de signalisation activée par la protéine G $q$ . De plus, seul EDG-3 peut être sélectivement inhibé par la suramine qui se comporte vis-à-vis du SPP comme un antagoniste compétitif. S'il est clair maintenant que les voies de signalisation utilisées par ces récepteurs ne sont pas redondantes, il reste à distinguer la nature des effets biologiques dont chacun de ces récepteurs est responsable.

[1. Lee MJ, et al. *Science* 1998; 279: 1552-5.]

[2. Okamoto H, et al. *J Biol Chem* 1998; 273: 27104-10.]

[3. Zondag GCM, et al. *Biochem J* 1998; 330: 605-9.]

[4. Ancellin N, Hla T. *J Biol Chem* 1999; 274: 18997-9002.]

## 44<sup>es</sup> JOURNÉES INTERNATIONALES DE BIOLOGIE 39<sup>es</sup> DIMANCHES BIOLOGIQUES DE LARIBOISIÈRE

18-20 novembre 1999

JIB 99

CNIT-Paris-La Défense

JIB 99, du 18 au 20 novembre, est l'événement de l'année pour les biologistes hospitaliers, les directeurs de laboratoires d'analyses de biologie médicale et leurs techniciens.

Cette 44<sup>e</sup> édition, avec ses 8 000 m<sup>2</sup> d'exposition et ses conférences de haut niveau confirme s'il en était besoin sa notoriété dans le domaine de la biologie.

Forum des innovations pour les méthodes d'analyses, le salon et les conférences sont une porte ouverte sur l'avenir dans le diagnostic médical.

Les Journées Internationales de Biologie ne sont pas seulement des lieux d'enseignement post-universitaires et de rassemblement d'offres et de demandes d'équipements; leur rôle est d'année en année celui d'une bourse de contacts internationaux.

JIB 99 est une manifestation organisée par le Syndicat des Biologistes SDB et la Confédération des Biologistes Européens CBE.

Contact Presse : Jeanne Berga  
Syndicat des Biologistes

11, rue des Fleurus, 75006 Paris, France – Tél. : 33 01 53 63 85 00 – Fax : 33 01 53 63 85 01