

Les kinases p90 RSK font tout... ou presque dans la cellule

Les voies de signalisation des MAP-kinases (*mitogen activated protein*) sont constituées d'une cascade de protéine-kinases activées par phosphorylations successives en réponse à de nombreux facteurs extracellulaires. Elles ont la particularité d'être conservées chez tous les organismes eucaryotes et, au sein d'une même cellule, plusieurs voies de signalisation impliquant les MAP-kinases coexistent. Chez les mammifères, les facteurs de croissance sont de puissants activateurs de la voie MAP-kinase qui aboutit à la phosphorylation des kinases ERK1/2 (*extracellular regulated kinase*) par une MAP kinase nommée MEK (*mitogen extracellular regulated kinase*) (*m/s* 1999, n° 10, p. 1155), elle-même située en aval de Raf et de Ras [1]. Les substrats des protéines ERK sont essentiellement des facteurs de transcription mais aussi les protéines de la famille RSK (*p90 ribosomal S6 kinase*), RSK 1, 2 et 3 [2], qui sont des sérine/thréonine kinases ubiquitaires de masse moléculaire de 85-90 kDa. Des mutations de RSK2 sont associées, chez l'homme, au syndrome de Coffin-Lowry, une maladie caractérisée par un retard psychomoteur sévère (*m/s* 1997, n° 1, p. 107). Les RSK sont constituées de deux domaines kinases fusionnés (*figure 1*): le domaine amino-terminal permet la phosphorylation des substrats des RSK alors que le domaine carboxy-terminal est impliqué dans l'auto-phosphorylation d'un résidu sérine situé entre ces deux domaines. L'activation complète des RSK est un processus complexe qui fait intervenir leur phosphorylation sur plusieurs résidus, par les protéines ERK, mais aussi par la protéine-kinase PDK1

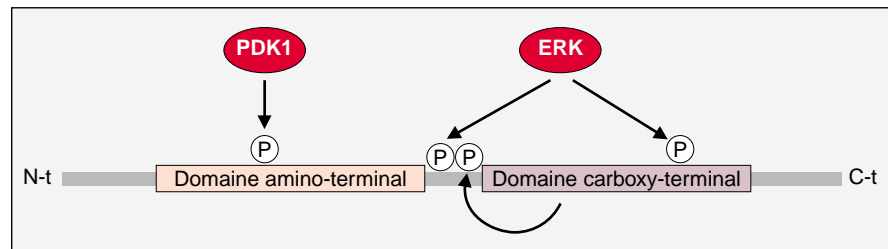


Figure 1. **Structure et activation des RSK.** Les RSK sont constituées de deux domaines kinases: le domaine amino-terminal est responsable de la reconnaissance des substrats. Il contient un résidu phosphorylé par la protéine-kinase PDK1. Le domaine carboxy-terminal comprend un résidu phosphorylé par ERK. Le domaine de liaison entre les deux domaines kinases contient un résidu phosphorylé par ERK et un résidu phosphorylé par le domaine kinase carboxy-terminal de RSK.

(*phosphoinositide-dependent kinase 1*) sans oublier l'autophosphorylation de RSK [3].

Une des fonctions connues des RSK est l'activation transcriptionnelle de certains gènes cibles *via* la phosphorylation de facteurs de transcription comme CREB (*cAMP response element-binding protein*) ([4]; *m/s* 1993, n° 11, p. 1275 et 1996, n° 11, p. 1258) mais aussi probablement par l'intermédiaire d'un remodelage de la chromatine comme l'indique leur capacité de phosphoryler l'histone H3 [5]. Cependant, les protéines RSK pourraient avoir d'autres fonctions, dans la régulation du cycle cellulaire par exemple puisqu'elles peuvent inactiver Myt 1, une protéine-kinase impliquée dans le contrôle du cycle cellulaire [6]. Trois études publiées récemment dans *Science* élargissent encore le champ d'action des protéines RSK en montrant qu'elles sont impliquées dans deux autres réponses biologiques: l'arrêt de la méiose en métaphase II [3, 7] et la survie cellulaire [8]. Chez la plupart des vertébrés, les ovocytes sont bloqués au cours de leur

maturation en métaphase de la deuxième division méiotique, blocage que lève la fertilisation. Cet arrêt du cycle cellulaire est assuré par une activité cytoplasmique nommée CSF (*cytostatic factor*) dont on ne connaît pas la nature biochimique. On sait cependant que l'activité de ce facteur est contrôlée par la voie de signalisation MAP-kinase. En effet, le produit du proto-oncogène *c-mos*, qui est une MAP kinase kinase kinase, suffit à induire l'activité CSF (*m/s* 1994, n° 10, p. 1054). Les groupes de James Ferrel et James Maller montrent que, dans l'ovocyte de xénope, RSK est le substrat – et probablement le seul – qui véhicule l'activité CSF du proto-oncogène *mos* [3, 7]. En effet, RSK est activée par la voie MAP-kinase de xénope [3] et son activation est corrélée à l'arrêt de la méiose [7]. De plus, en l'absence de toute activation de la voie MAP-kinase, l'expression d'une forme constitutivement active de RSK reproduit les effets du CSF [3]. Si l'activité de RSK est en revanche neutralisée par des anticorps spécifiques,

on n'observe plus l'arrêt du cycle cellulaire en réponse à l'activation de la voie MAP-kinase [7]. Ces résultats indiquent donc que RSK est le seul substrat de la voie MAP-kinase impliqué dans l'arrêt du cycle cellulaire en métaphase II. La prochaine étape sera d'identifier les protéines (notamment parmi celles directement impliquées dans la régulation du cycle cellulaire) situées en aval de RSK et responsables de cet effet.

Parallèlement à ces travaux sur le xénope, d'autres études ont montré que les protéines RSK sont impliquées dans la survie des cellules de mammifères [8]. Dans le modèle analysant la survie cellulaire des neurones cérébelleux en réponse aux facteurs de survie, la voie de signalisation MAP-kinase ERK est activée par un facteur de survie extrêmement puissant pour ces cellules, le BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*). Dans ce modèle également, ce sont les protéine-kinases RSK qui véhiculent l'effet de la voie ERK en réponse au BDNF.

En effet, l'action du BDNF sur la survie des neurones est inhibée lorsque l'activité endogène de RSK est bloquée par la surexpression d'un mutant dominant négatif de RSK [8]. Une des cibles de RSK est la protéine BAD, membre pro-apoptotique de la famille Bcl-2, qui devient inactive lorsqu'elle est phosphorylée par RSK2 sur la sérine 112 (*m/s 1995, n° 4, p. 635; 1997, n° 3, p. 384 et 1998, n° 1, p. 61*). La forme phosphorylée de BAD interagit alors avec la protéine cytoplasmique 14-3-3 et, ainsi séquestrée dans le cytoplasme, ne peut plus exercer son effet pro-apoptotique sur la membrane mitochondriale. Cette action de RSK sur la protéine BAD s'exerce en synergie avec celle de la protéine-kinase Akt (activée également par les facteurs de survie) qui inactive aussi BAD en la phosphorylant sur un autre résidu sérine (sérine 136) (*figure 2*) [9].

Un second mécanisme par lequel RSK intervient dans la survie cellulaire induite par les neurotrophines pourrait être l'augmentation de l'expression du gène codant pour la protéine anti-apoptotique Bcl-2. En effet, RSK phosphoryle le facteur de transcription CREB (sur la sérine

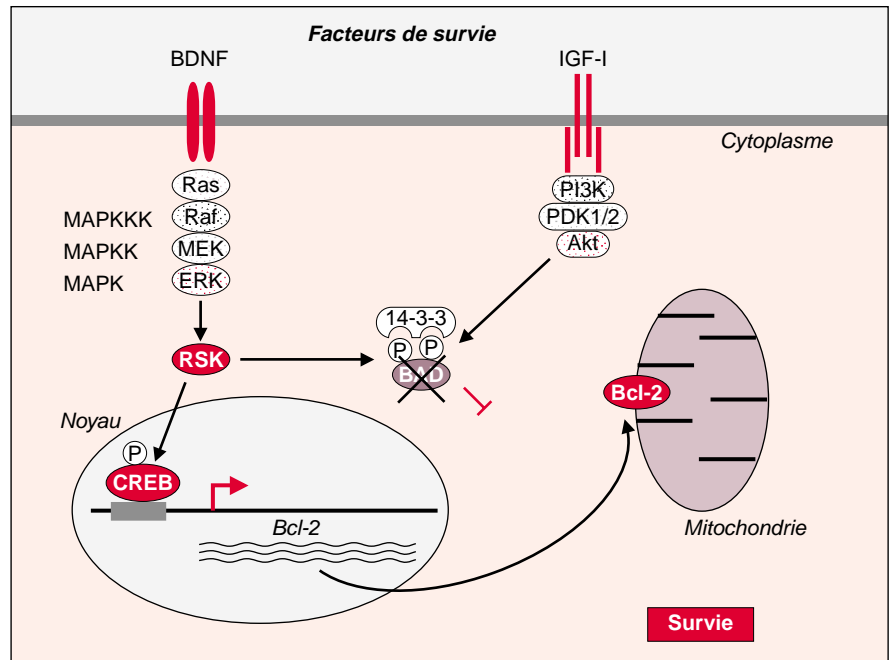


Figure 2. Rôle des protéines RSK dans la survie cellulaire. Les neurotrophines stimulent la voie Ras-ERK, ce qui conduit à l'activation des RSK. Les RSK phosphorylent BAD, un membre pro-apoptotique de la famille de Bcl-2. BAD est également phosphorylé par Akt, une autre protéine-kinase jouant un rôle important dans la survie. La forme phosphorylée de BAD interagit avec les protéines 14-3-3, ce qui entraîne la séquestration de BAD dans le cytoplasme et l'empêche ainsi d'exercer son action pro-apoptotique au niveau de la membrane mitochondriale. Par ailleurs, les RSK phosphorylent le facteur de transcription CREB, ce qui induit l'expression de gènes cibles, en particulier le gène codant pour la protéine Bcl-2. Bcl-2 joue un rôle anti-apoptotique à la surface de la mitochondrie en empêchant le relargage de cytochrome c dans le cytoplasme et l'activation des caspases. Ces deux actions conjuguées des RSK sont cruciales à la survie cellulaire induite en réponse aux neurotrophines.

133) [4], phosphorylation qui active la protéine CREB et conduit à la stimulation de la transcription du gène codant pour Bcl-2 [10]. Le groupe de Michael Greenberg montre que le BDNF n'induit plus la survie des neurones lorsque ces cellules surexpriment un mutant dominant négatif de CREB. En revanche, la surexpression d'une forme constitutivement active de CREB permet à elle seule, en l'absence de BDNF, la survie des cellules [8]. Il semble donc que RSK soit impliquée dans la survie des cellules par deux mécanismes distincts, l'un direct, hors de tout mécanisme transcriptionnel, qui consiste en l'inactivation de la protéine pro-apoptotique BAD, l'autre indirect, *via* l'activation de CREB, qui induit la stimulation de la transcription du

gène anti-apoptotique Bcl-2. La combinaison de ces deux effets pourrait renforcer l'action à long terme des protéines RSK dans la survie des cellules.

En conclusion, la voie de signalisation MAP-kinase Ras-ERK-RSK est impliquée non seulement dans la prolifération et la différenciation cellulaires, mais aussi dans l'arrêt du cycle cellulaire et dans la survie des cellules. En ce qui concerne ces deux dernières fonctions, les protéines RSK apparaissent comme principaux substrats de ERK. Ce résultat important suggère que le développement d'inhibiteurs pharmacologiques spécifiques des protéines RSK pourrait se révéler extrêmement utile pour la recherche de nouveaux rôles et de nouveaux substrats de ces protéine-

kinases, qui apparaissent comme des acteurs-clés dans le réseau de signalisation intracellulaire.

1. Robinson MJ, Cobb MH. Mitogen-activated protein kinase pathways. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9: 180-6.
2. Frodin M, Gammeltoft S. Role and regulation of 90 kDa ribosomal S6 kinase (RSK) in signal transduction. *Mol Cell Endocrinol* 1999; 151: 65-77.
3. Gross SD, Schwab MS, Lewellyn AL, Maller JL. Induction of metaphase arrest in cleaving *Xenopus* embryos by the protein kinase p90Rsk. *Science* 1999; 286: 1365-7.
4. Xing J, Ginty DD, Greenberg ME. Coupling of the RAS-MAPK pathway to gene activation by

- RSK2, a growth factor-regulated CREB kinase. *Science* 1996; 273: 959-63.
5. Sassone-Corsi P, Mizzen CA, Cheung P, et al. Requirement of Rsk-2 for epidermal growth factor-activated phosphorylation of histone H3. *Science* 1999; 285: 886-91.
6. Palmer A, Gavin AC, Nebreda AR. A link between MAP kinase and p34(cdc2)/cyclin B during oocyte maturation : p90(rsk) phosphorylates and inactivates the p34(cdc2) inhibitory kinase Myt1. *EMBO J* 1998; 17: 5037-47.
7. Bhatt RR, Ferrell JE Jr. The protein kinase p90 rsk as an essential mediator of cytoskeletal factor activity. *Science* 1999; 286: 1362-5.
8. Bonni A, Brunet A, West AE, Datta SR, Takasu MA, Greenberg ME. Cell survival promoted by the Ras-MAPK signaling pathway by transcription-dependent and -independent mechanisms. *Science* 1999; 286: 1358-62.
9. Datta SR, Dudek H, Tao X, et al. Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery. *Cell* 1997; 91: 231-41.

10. Riccio A, Ahn S, Davenport CM, Blendy JA, Ginty DD. Mediation by a CREB family transcription factor of NGF-dependent survival of sympathetic neurons. *Science* 1999; 286: 2358-61.

Anne Brunet

Division of Neuroscience, Children's Hospital and Department of Neurobiology Harvard Medical School Boston, MA 02115 États-Unis.

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ **La fonction de la protéine tub révélée par l'analyse de sa structure tridimensionnelle.** Le gène *tub* fait partie des cinq gènes connus à ce jour qui, lorsqu'ils sont mutés, entraînent des obésités chez les rongeurs (*m/s* 1998, n° 8-9, p. 845). Les souris *tub/tub* présentent, de plus, des défauts sensoriels dégénératifs affectant la vue et l'audition. La protéine tub est le membre fondateur d'une famille de 4 protéines dites TULP, pour *tubby-like-proteins*, exprimées et conservées chez les mammifères et autres organismes multicellulaires, y compris les plantes. Un rôle fonctionnel de sa partie C-terminale était suspecté parce que ce domaine est modifié et tronqué chez la souris *tub/tub* et qu'il est également affecté dans TULP1 par plusieurs mutations responsables d'une forme de dégénérescence rétinienne chez l'homme [1, 2]. L'analyse cristallographique du domaine C-terminal de tub a révélé une structure tridimensionnelle très organisée et apparemment unique, en forme de tonneau, avec un maillage de 12 feuillets β entourant une longue hélice α hydrophobe [3]. C'est précisément cette hélice qui n'est plus présente dans la protéine mutée chez la sou-

ris *tub/tub*. Les mutations de TULP1, elles, sont pratiquement toutes localisées à la surface d'un large sillon chargé positivement qui entoure environ la moitié de la structure en tonneau. Cette particularité, couplée à l'observation d'une localisation nucléaire de la protéine, a conduit les auteurs à émettre l'hypothèse d'une interaction de tub avec l'ADN. Cela a été vérifié par des expériences de retard sur gel, montrant que le domaine C-terminal de tub se lie à l'ADN double brin. La partie N-terminale de tub est moins conservée parmi les membres de la famille et moins structurée. L'hypothèse selon laquelle elle pourrait activer la transcription a été démontrée dans un système cellulaire. Cet effet est perdu en l'absence de l'exon 5, ce qui correspond à une forme de tub résultant d'un épissage alternatif qui existe naturellement. Cette dernière pourrait contribuer à moduler l'activité transcriptionnelle tub, comme c'est le cas pour d'autres facteurs de transcription comme NF- κ B. Il est possible qu'intervienne également une régulation par phosphorylation/déphosphorylation puisque tub est phosphorylée par Abl et Jak2 ainsi que par la kinase

du récepteur de l'insuline, *in vitro* [4]. Les protéines TULP semblent donc bien être des facteurs de transcription, mais la question de leurs gènes cibles reste entière.

- [1. Banerjee P, et al. *Nat Genet* 1998; 18: 177-9.]
- [2. Hagstrom SA, et al. *Nat Genet* 1998; 18: 174-6.]
- [3. Boggon TJ, et al. *Science* 1999; 286: 2119-25.]
- [4. Kapeller R, et al. *J Biol Chem* 1999; 274: 24980-6.]