

Rôle des inositolphosphates glycanes dans la signalisation intracellulaire : relations avec la pathologie

**Patrick Bogdanowicz
Jean-Pierre Pujol**

De nombreuses cytokines, des hormones et des facteurs de croissance déclenchent un mécanisme de transduction dont la première étape est l'hydrolyse, par des phospholipases spécifiques, d'un glycosylphosphatidylinositol (GPI) avec libération simultanée d'inositolphosphate glycané (IPG) dans l'espace péricellulaire. Les récepteurs de ces ligands peuvent être regroupés en quatre catégories : les récepteurs à activité tyrosine kinase (insuline ou EGF) et sérine/thréonine kinase (TGF- β), les récepteurs de cytokines (érythropoïétine) et les récepteurs métabotropiques à sept domaines transmembranaires (ACTH). Chacun de ces facteurs contrôle spécifiquement la libération d'un médiateur particulier dont la structure varie selon le tissu considéré. Cet IPG agit ensuite sur de nombreuses cibles cytoplasmiques, vraisemblablement par l'intermédiaire de vésicules associées à la membrane plasmique, les cavéoles. Des données récentes indiquent qu'un métabolisme défectueux des GPI/IPG pourrait être impliqué dans le développement de certains types de diabète non insulino-dépendant.

Comme la sphingomyéline ou la phosphatidylcholine, les glycosylphosphatidylinositols (GPI) sont des phospholipides membranaires qui ont longtemps été considérés comme des éléments structuraux des membranes. Au cours des quinze dernières années, on a démontré que ces molécules pouvaient également jouer le rôle de précurseurs membra-

naires de seconds messagers. Bien que ne possédant pas de domaine intracellulaire, les molécules de la famille des GPI participent, de différentes manières, à la transmission du signal intracellulaire. Les GPI peuvent être impliqués dans les phénomènes de potocytose (mécanisme d'internalisation par les cavéoles) ou régler des mécanismes de signalisation dans lesquels interviennent les

ADRESSE

P. Bogdanowicz, J.-P. Pujol : Laboratoire de biochimie du tissu conjonctif, Faculté de médecine, Côte-de-Nacre, Niveau 3, 14032 Caen Cedex, France.

l'IPG dans le milieu extracellulaire [6]. Ce mécanisme nécessiterait une activité protéasique coordonnée avec l'activité phospholipasique (figure 2). Pourtant, dans les cellules de carcinome humain (HeLa) comme dans la lignée de lymphome (EL-4T), une famille de GPI sans protéine ancrée pouvant servir de précurseurs mem-

branaires des IPG a été mise en évidence au niveau de la membrane plasmique [7]. Cependant, quelle que soit leur nature, la présence de GPI membranaires est indispensable à la production d'IPG, comme cela a été montré pour certains effets de l'insuline. En effet, dans la lignée mutante érythroleucémique K562, qui ne syn-

thétise pas de GPI et ne produit donc pas d'IPG, l'insuline n'exerce plus d'effet sur la synthèse de glycogène [8]. Ces deux familles de GPI pourraient donc être des précurseurs potentiels d'IPG. Seule la comparaison des structures respectives de GPI et d'IPG pourrait aider à établir l'origine exacte de ces médiateurs.

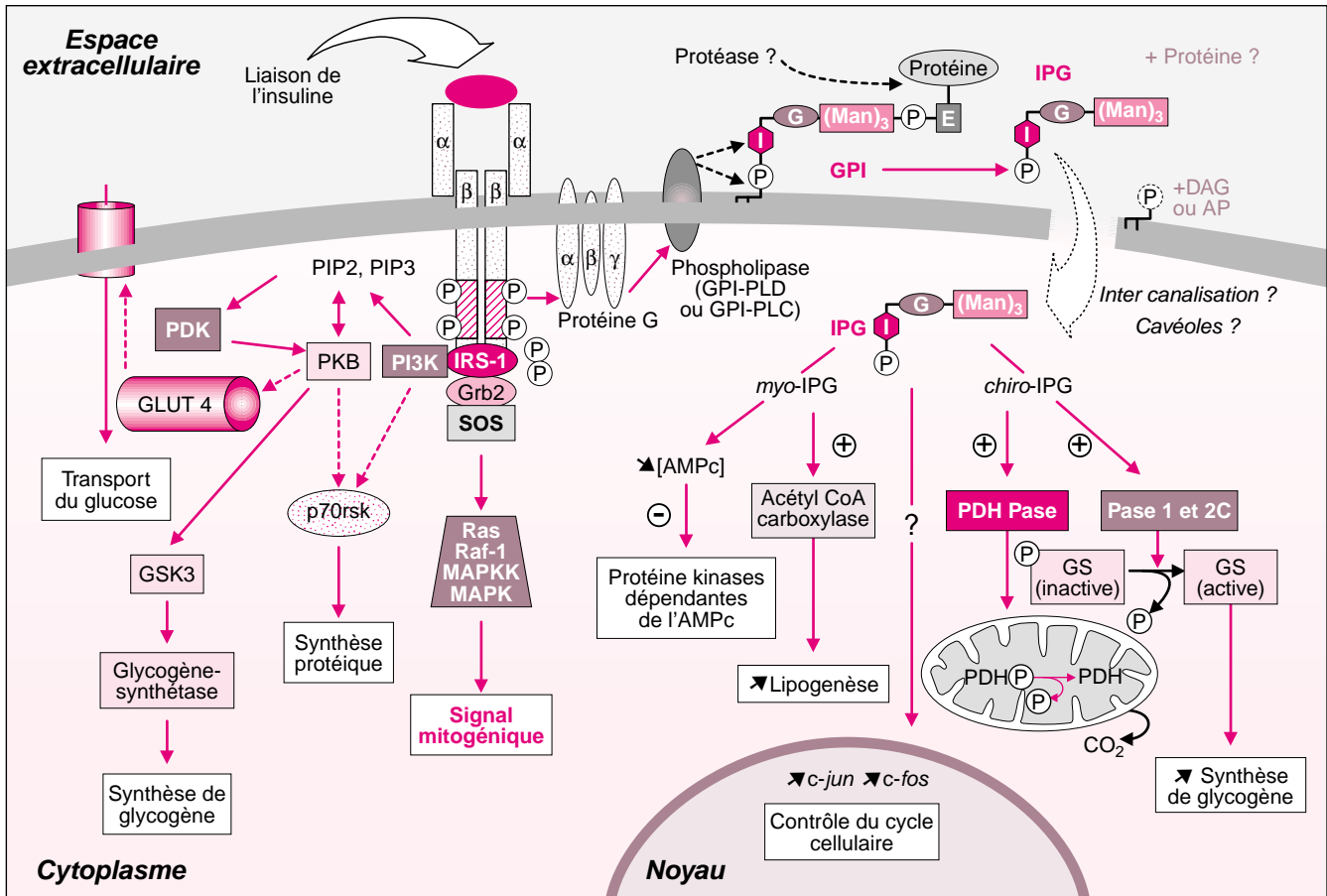


Figure 2. **Voies de signalisation contrôlées par l'insuline.** Le récepteur de l'insuline possède une région intracellulaire à activité tyrosine kinase qui permet la transmission du signal vers le cytoplasme. Ce récepteur, activé par auto-phosphorylation, va déclencher plusieurs cascades de phosphorylation. La protéine adaptatrice IRS, phosphorylée après liaison au récepteur activé, est reconnue par des protéines contenant une séquence d'acides aminés particulière appelée module SH2 (src homology 2). La PI-3kinase, stimulée par sa liaison à IRS, active la voie des inositols phosphates et la protéine kinase B (PKB). La PKB provoquera la translocation membranaire du transporteur de glucose GLUT4, augmentant ainsi la capture du glucose. Le récepteur activé peut également lier la protéine adaptatrice Shc qui s'associera à Grb2 et SOS pour activer Ras et la cascade des MAP kinases impliquées dans la différenciation et la prolifération cellulaires. D'autres voies de signalisation peuvent également être activées (p70 S6 kinase, PKC ζ , PKC γ) ou GSK-3) ou la voie des inositolphosphates glycanes. La liaison de l'insuline à son récepteur peut également activer une phospholipase qui catalyse le clivage d'un glycosylphosphatidylinositol situé sur la face externe de la membrane cytoplasmique. L'IPG ainsi produit est internalisé dans l'espace cytoplasmique où il règle l'activité de différentes cibles. Celles-ci varient en fonction de la structure de l'IPG ou du type cellulaire étudié. IRS : insulín receptor substrate; PI-3K : phosphatidylinositol 3-kinase; PKB : protein kinase B; PIP2 : phosphatidylinositol biphosphate; PIP3 : phosphatidylinositol triphosphate; PDK : PI-3K-dependent kinase; GS3K : glycogen synthase kinase 3; GS : Glycogène synthétase; GLUT4 : glucose transporter isoform 4; PDH : pyruvate déshydrogénase; MAPK : mitogen activated protein kinase; PDE : phosphodiesterase; Pase : phosphatase; (+) : activation; (-) : inhibition, ↗ augmentation, ↘ diminution.

L'IPG et les effets biologiques de l'insuline

Chez les mammifères, l'insuline exerce ses effets sur les métabolismes glucidique, protéique et lipidique de trois tissus cibles principaux : le foie, le muscle et le tissu adipeux. L'intégration de ces actions permet le maintien de l'homéostasie glucidique en favorisant la glycolyse, la synthèse de glycogène et celle d'acides gras, tout en inhibant la glycogénolyse et la néoglucogenèse. Ces multiples effets sont médiés par différents mécanismes cellulaires : modulation du transport des oses, régulations enzymatiques allostériques ou covalentes par phosphorylation/déphosphorylation, ou contrôle de la transcription des gènes cibles.

Toutes ces actions sont déclenchées par l'interaction de l'insuline avec la sous-unité α de son récepteur qui va stimuler l'activité tyrosine kinase de la sous-unité β par phosphorylation d'un résidu tyrosine (figure 2). Cette étape est indispensable à l'activation des différentes voies de signalisation contrôlées par l'insuline, l'activation de IRS-1 (*insulin receptor substrate-1*), de la PI3-kinase (*phosphatidylinositol 3-kinase*), de la translocation de la GLUT4 (*glucose transporter isoform 4*) impliquée dans le transport du glucose, ainsi que l'activation concomitante d'une autre voie, celle des inositolphosphates glycanes (IPG). Cette famille de médiateurs solubles s'avère complexe, tant dans sa composition que par les mécanismes contrôlant sa production [2]. La libération d'IPG met en œuvre plusieurs étapes finement réglées. La séquence tyrosine kinase du récepteur, qui est mutée dans certains syndromes d'insulinorésistance majeure, joue également un rôle important dans la production d'IPG. Ainsi, la lignée de cellules CHO exprimant un récepteur de l'insuline dépourvu d'activité tyrosine kinase perd sa capacité à hydrolyser le GPI et à produire de l'IPG [2]. L'activation d'une protéine G apparaît comme une étape de contrôle de la production d'IPG. En effet, l'incubation de membranes plasmiques avec de la guanosine 5'-[3-thio] triphosphate (GTP γ S), un analogue non hydrolysable du GTP qui maintient les protéines G acti-

vées, conduit à la libération constitutive d'IPG. Au contraire, l'incubation avec de la guanosine 5'-[2-thio] diphosphate (GDP β S), qui empêche l'activation de la protéine G, bloque la libération d'IPG normalement induite par l'insuline [9].

Actuellement, la nature et le contrôle hormonal précis des phospholipases impliquées dans la production d'IPG restent encore mal connus. Chez l'homme, une GPI-PLD (GPI-phospholipase D) a été identifiée dans le sérum, le foie ou les îlots de Langerhans, qui clive les GPI ancrant une protéine en libérant un acide phosphatidique. Une GPI-PLC membranaire a été également mise en évidence dans les hépatocytes de rat. Elle clive spécifiquement les GPI au niveau de la liaison glucosamine $\alpha 1 \rightarrow 6$ inositol pour libérer un diacylglycérol et un IPG. Il est donc possible que différentes phospholipases soient activées en fonction du type cellulaire ou de la concentration d'insuline. Chaque phospholipase pourrait également cliver spécifiquement une isoforme particulière de GPI, *myo*-GPI ou *chiro*-GPI.

En effet, deux classes d'IPG impliqués dans les mécanismes de transduction de l'insuline ont pu être isolés. Le *myo*-IPG, également appelé IPG de type A, est constitué de *myo*-inositol et de glucosamine. Cette isoforme a un effet négatif sur l'activité des protéine-kinases dépendantes de l'AMPC en inhibant l'adénylate cyclase et en activant l'AMPC phosphodiesterase. Dans les adipocytes de rat, elle augmente la lipogénèse via l'activation de l'acétylCoA carboxylase. Le *chiro*-IPG, ou forme P, est composé de *chiro*-inositol méthylé, également appelé pinitol, et de galactosamine. En stimulant l'activité de la glycogène-synthétase phosphatase, cette isoforme accroît le niveau de synthèse du glycogène. Elle active également la pyruvate-déshydrogénase phosphatase, mais n'a d'effet ni sur le métabolisme lipidique, ni sur l'activité des protéine-kinases dépendantes de l'AMPC [10]. Ces deux isoformes d'IPG sont également constituées d'oses neutres, principalement du mannose, et d'au moins un phosphate.

Des travaux réalisés avec des préparations d'IPG dont la composition n'est pas entièrement déterminée ont

montré que ce médiateur module l'activité de nombreuses cibles cellulaires après sa libération dans l'espace extracellulaire (stimulation de la glycérol-3-phosphate acyl transférase, de l'acétyl-CoA carboxylase, de la pyruvate kinase ou inhibition de la phospholipide méthyl transférase, de la glycogène phosphorylase a, ou des concentrations d'AMPC intracellulaire, par exemple). L'IPG est donc biologiquement actif *in vitro* sur des cellules entières comme sur des extraits cytoplasmiques. Or, à ce jour, aucun récepteur membranaire capable de le fixer n'a été mis en évidence. Il semble plutôt que l'IPG emprunte une voie de transfert à l'intérieur de la cellule qui implique les cavéoles (potocytose, voir plus loin). En effet, des expériences réalisées sur des hépatocytes, ont montré que 90 % de l'IPG ajouté au milieu extracellulaire est retrouvé au niveau cytoplasmique après 10 minutes d'incubation. Ce processus d'internalisation pourrait dépendre d'une source d'énergie puisqu'il n'est plus actif à 4 °C ou après blocage de la production d'énergie au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale [11]. Un tel mécanisme n'exclut cependant pas l'existence d'une structure membranaire liant l'IPG avant le transport vers le cytoplasme.

L'hypothèse des cavéoles

Le mécanisme d'internalisation le plus communément admis est le phénomène de potocytose par les cavéoles. Ces petites vésicules cytoplasmiques, présentes dans la plupart des cellules, sont localisées près des membranes. Elles sont particulièrement abondantes dans tous les tissus sensibles à l'insuline, particulièrement dans les adipocytes (20 % de la surface de la membrane plasmique) [12]. Elles peuvent se refermer de façon transitoire pour former des vésicules. Elles présentent une forte concentration de protéines ancrées par un GPI aux côtés de protéines impliquées dans la signalisation (Src, Lyn, protéines G, PKC, récepteur des inositol 3-phosphate...) et d'une protéine membranaire cytoplasmique de 21 kDa, la cavéoline.

En utilisant une molécule de synthèse dont la structure est très proche des IPG (figure 3), Frick et

Müller ont mis en évidence un mécanisme original qui expliquerait comment la voie de signalisation IPG/GPI intègre les autres voies de signalisation de l'insuline [13]. En incubant les cellules avec différents inhibiteurs de kinases (de la PI-3kinase, des MAP kinases ou de la p70S6kinase) ou avec des anticorps monoclonaux (anti-p59Lyn), ces auteurs ont montré une interconnexion au niveau de IRS-1/PI-3kinase (figure 3). Après libération dans l'espace péricellulaire, l'IPG interagit au niveau des cavéoles avec la portion carboxy-terminale d'une protéine membranaire qui change alors de conformation. Ce complexe lie alors une protéine de liaison, la *bridge protein*, qui pourrait faire partie de la famille des intégrines. Sa partie intracytoplasmique entre en contact avec une tyrosine kinase de la famille Src (p59Lyn). Celle-ci induit la phosphorylation, directement ou indirectement,

de protéines impliquées dans la signalisation, telles que l'IRS-1, la cavéoline, des protéines G, la PI-3kinase ou des protéine-kinases non identifiées. L'IRS-1 activé peut alors régler le transport et le métabolisme du glucose ou le métabolisme lipidique *via* la PI-3kinase. Il est important de souligner que ces effets biologiques ont été observés sans activation du récepteur de l'insuline, ce qui confirme que l'IPG agit en aval de ce récepteur. Ce mécanisme de signalisation a été établi à partir de résultats obtenus avec une molécule synthétisée chimiquement et a permis de mieux comprendre comment un médiateur libéré dans l'espace extracellulaire pouvait régler des mécanismes intracellulaires. Cependant, il est probable que la structure des IPG naturels soit beaucoup plus complexe, notamment au niveau de l'axe glycanique. Ceci expliquerait pourquoi les

résultats obtenus avec cette molécule sont parfois différents de ceux observés avec de l'IPG préparé à partir de tissu. En effet, l'insuline stimule la libération de plusieurs types d'IPG, *myo* ou *chiro*-IPG et sans doute d'autres formes. La nature, la quantité et le rapport entre les différentes formes d'IPG pourraient jouer un rôle dans les effets biologiques observés. Dans des contextes précis (certains tissus, certaines concentrations d'insuline...), l'IPG pourrait entrer dans la cellule, soit directement grâce à un gradient de concentration créé par la densité des GPI et par le volume restreint des cavéoles, soit indirectement après stockage dans les cavéoles [2]. Ces dernières s'ouvriraient sous l'action d'un signal spécifique, pour permettre le passage de l'IPG vers le cytoplasme où il réglerait l'activité de différentes enzymes par un mécanisme de type allostérique.

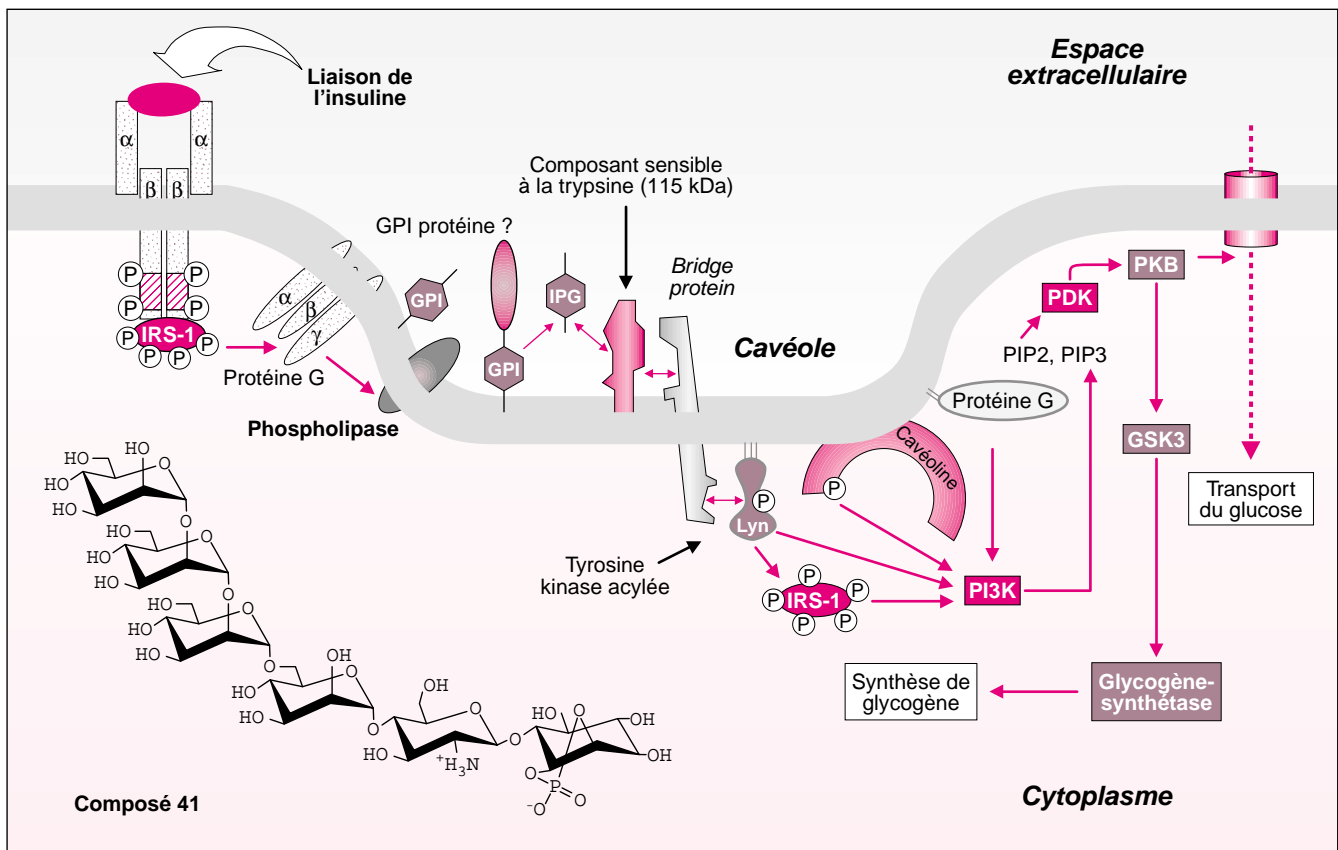


Figure 3. **Modèle hypothétique de l'interconnexion de la voie IPG/GPI avec les autres voies de signalisation contrôlées par l'insuline.** Structure d'un IPG de synthèse (composé 41) : cette molécule de synthèse dont la structure se rapproche des IPG naturels a permis d'établir cette hypothèse des interconnexions entre les différentes voies de signalisation contrôlées par l'insuline ainsi que le rôle des cavéoles. Man : mannose ; GlcNH₂ : glucosamine ; IP_{1,2} cyc : inositol-1,2 cyclique phosphate ; P : phosphate ; IP : inositol phosphate.

Malgré les nombreux points d'interrogation subsistants, ces travaux confirment que la transmission du signal insuline se fait selon un réseau de voies différentes, connectées entre-elles, qui permet une régulation excessivement fine. Comme dans tout mécanisme sensible et complexe, il est évident que l'altération d'un composant est capable de perturber l'ensemble du système et de conduire à des situations pathologiques.

IPG et diabète non-insulino-dépendant

Suivant le mécanisme en cause, la classification de l'OMS distingue le diabète insulino dépendant (DID), qui nécessite l'administration quotidienne d'insuline et correspond globalement au diabète de type I, et le diabète non-insulino-dépendant (DNID) qui correspond au diabète de type II. Différents modèles expérimentaux d'animaux diabétiques ont permis d'établir une relation entre certaines formes de DNID et une altération du métabolisme des GPI/IPG. Ainsi, les rats de la lignée Goto-Kakizaki, qui développent spontanément un DNID, synthétisent et libèrent des quantités extrêmement réduites de *chiro*-IPG, ce qui empêche l'activation de la glycérol-3-phosphate acyltransférase normalement induite par l'insuline [14]. Chez des singes *Macaca mulatta*, qui développent spontanément un DNID, des corrélations ont également été établies entre des déficiences en *chiro*-IPG et la résistance à l'insuline [15]. De plus, le *chiro*-IPG est indétectable dans les biopsies musculaires comme dans les urines de patients atteints de DNID [16]. L'hyper-insulinémie provoquée par injection de glucose n'induit pas d'augmentation de *chiro*-IPG chez des patients atteints de DNID, contrairement aux sujets sains [17]. Chez ces patients, on observe également des taux sériques anormalement bas de *D-chiro* inositol et de *chiro*-IPG. Ce métabolisme déficient semble être un élément clef de cette maladie, puisque l'injection d'IPG à des rats rendus diabétiques permet de rétablir une glycémie physiologique par augmentation de la synthèse de glycogène, sans induire d'hyperglycémie [18].

L'équipe de Rademacher a établi un mécanisme moléculaire original, en comparant les quantités urinaires de *myo*-IPG et de *chiro*-IPG chez des patients atteints de DNID et des sujets sains [19]. Comme Shashkin *et al.* [17], ils ont observé des quantités réduites de *chiro*-IPG chez ces patients, mais ils ont surtout révélé l'importance du rapport *chiro*-IPG/*myo*-IPG. Plus ce rapport est élevé, plus les patients présentent une insulino-résistance sévère, d'autant plus marquée que les patients ont un indice de masse corporel élevé. Des études *in vitro* ont permis d'établir un mécanisme d'action au niveau moléculaire, en montrant que le *myo*-IPG agit comme un antagoniste vis-à-vis de la stimulation de la pyruvate-déshydrogénase phosphatase par le *chiro*-IPG. Une diminution de la forme *chiro*-IPG conduirait donc à une réduction de la glycogénogenèse hépatique et à une augmentation de la lipogénèse des adipocytes. En effet, la forme *myo*-IPG étant prédominante, l'activité de l'acétyl CoA carboxylase s'en trouvera élevée et par conséquent la lipogénèse augmentée. Les concentrations d'AMPc seront également réduites, ce qui conduira à l'inhibition d'hormones à action lipolytique comme le glucagon. Ceci pourrait à la fois expliquer la glycémie élevée, qui aboutit à plus ou moins long terme à une intolérance au glucose, et la surcharge pondérale fréquemment observée chez les patients atteints de DNID.

Les IPG présentent donc toutes les caractéristiques de molécules capables de mimer les effets de l'insuline chez des cellules résistantes à cette hormone, en agissant directement sur les voies de signalisation ou en réglant l'activité de cibles intracellulaires, sans nécessiter la présence du récepteur fonctionnel. Dès lors, il devient important d'essayer d'établir des relations structure-activité afin d'envisager ensuite l'utilisation d'IPG ou d'analogues de synthèse comme outils thérapeutiques.

Relations structure-activité Perspectives thérapeutiques ?

Les premiers travaux tentant d'établir des relations structure-activité ont été

réalisés avec des molécules de type IPG purifiées à partir de GPI ancrant des protéines (GPI de *T. brucei*). Ils montraient l'importance du cycle phosphate au niveau de l'inositol puisque sa destruction par hydrolyse chimique abolissait son activité biologique [20]. Plus récemment, un analogue de l'IPG, appelé PIG-P, a été isolé à partir de l'ancrage GPI de la protéine Gcpe1p (*glycolipid-anchored cAMP-binding ectoprotein*) de *Saccharomyces cerevisiae* [21]. Comme le composé synthétisé par Frick et Müller (*figure 3*), le PIG-P induit la phosphorylation de la protéine IRS-1, l'activation de la PI-3kinase et la translocation de GLUT-4 sans affecter l'état de phosphorylation de la sous-unité β du récepteur de l'insuline [22]. Ces résultats confirment que ces molécules doivent nécessairement contenir un certain nombre de résidus osidiques pour mimer les effets de l'insuline, mais ne permettent pas de définir des relations structure-activité. Par ailleurs, les méthodes biochimiques actuellement disponibles ne permettent que très difficilement d'isoler de l'IPG à partir de microorganismes, avec un indice de pureté suffisant pour envisager des applications thérapeutiques. A ce jour, seule la synthèse chimique permet d'obtenir des molécules d'IPG pur en quantité suffisante.

Différents analogues ont d'ailleurs été synthétisés en se fondant sur le motif phosphate-inositol-glucosamine retrouvé dans tous les IPG. Le composé désigné C3, analogue du *myo*-IPG, stimule faiblement la lipogénèse, mais n'active pas l'AMPc phosphodiesterase. Privée du cycle phosphate, cette molécule perd toute activité biologique. Les molécules C4 et INS-2, analogues du *chiro*-IPG, ne possèdent pas de phosphate cyclique. Pourtant, ces molécules ont des activités biologiques variées en fonction du type cellulaire étudié. Ces résultats suggèrent que le cycle phosphate pourrait être indispensable uniquement dans les molécules de *myo*-IPG. Ce dernier aurait pour origine un *myo*-GPI clivé par une GPI-PLC, alors que le *chiro*-IPG serait issu d'un *chiro*-GPI clivé par une GPI-PLD. Cette hypothèse n'exclut pas l'existence possible d'une « épimérase-isomérase » qui pourrait catalyser la conversion d'une forme à l'autre.

Puisque ces composés de structure simple, utilisés à des concentrations élevées, ne miment que certaines activités de l'insuline, il paraissait nécessaire d'augmenter le degré de complexité structurale, notamment au niveau de l'axe glycanique, afin d'obtenir une meilleure activité insulino-mimétique. Malgré les difficultés techniques, l'équipe de G. Müller a relevé le défi en synthétisant une grande série de molécules dont la structure est fondée sur le squelette de base des GPI (*figure 1*). Leur modèle, appelé composé 41, mime de très nombreux effets exercés par l'insuline sur plusieurs paramètres biologiques (*figure 3*). Dans des hépatocytes normaux et des adipocytes résistants à l'insuline, il induit la phosphorylation de IRS-1 et active la PI-3kinase. Il stimule la lipogénèse et la glycogénèse, active la translocation membranaire de GLUT-4 et le transport du glucose, et, enfin, inhibe la lipolyse. Pourtant, contrairement à l'insuline, il n'active pas la voie des MAP kinases et n'a pas d'effet mitogène [13]. L'ensemble de ces résultats montre que les molécules de la famille des IPG offrent des perspectives thérapeutiques intéressantes. A cet égard, il faut mentionner qu'une molécule relativement simple comme le 3-méthyl *chiro*-inositol, ou pinitol, possède une activité hypoglycémiant et s'est montrée très efficace dans le traitement du syndrome polykystique

ovarien. Il est actuellement testé en phase 2 d'évaluation clinique [24]. Cette pathologie ovarienne, qui affecte 6 % des femmes, se caractérise par une anovulation chronique et un hyperandrogénisme associé à une hyperinsulinémie. Le pinitol pourrait agir en sensibilisant les cellules à l'insuline, probablement en augmentant le pool de *chiro*-IPG.

IPG et autres hormones, cytokines et facteurs de croissance

La voie de signalisation impliquant l'IPG intervient également dans le mécanisme d'action de nombreuses cytokines, hormones ou facteurs de croissance, notamment le TGF- β (*Tableau I*). Ce facteur de croissance intervient en particulier dans les processus de cicatrisation, dans la formation de la matrice extracellulaire ou le contrôle du cycle cellulaire. Il agit par l'intermédiaire de deux récepteurs à activité sérine/thréonine kinase, dits de type I et II (T β R-I et T β R-II). Des cellules dépourvues de ces récepteurs ou en exprimant une forme mutée non fonctionnelle, deviennent résistantes aux effets du TGF- β , comme c'est le cas dans les cancers colorectaux non polypoides (*m/s 1998, n° 3, p. 359*). La liaison du TGF- β à ses récepteurs permet le recrutement de protéines cytoplasmiques de la famille Smad

qui jouent un rôle central aussi bien au niveau du contrôle de la prolifération cellulaire que de l'activité transcriptionnelle des gènes de molécules matricielles (*m/s 1999, n° 4, p. 535*). Parallèlement à ces mécanismes, nous avons observé que le TGF- β stimulait la production d'IPG dans les chondrocytes articulaires, type cellulaire dont il augmente la prolifération. De même, il provoque la libération d'IPG dans une lignée de cellules épithéliales (Mv₁Lu), dans lesquels il induit au contraire une inhibition de la prolifération [25, 26]. Or, cet IPG est capable de mimer les effets du TGF- β sur la stimulation comme sur l'inhibition de la synthèse d'ADN [27, 28]. Dans les Mv₁Lu, cet effet antiprolifératif s'exerce indépendamment de la présence du récepteur de type I. En effet, comme le TGF- β , l'IPG agit sur la prolifération de la sous lignée R-1B qui est un mutant de Mv₁Lu n'exprimant pas T β R-I fonctionnel. L'IPG agit donc sur une ou plusieurs cibles en aval des récepteurs. Ces résultats indiquent également que la libération d'IPG est une étape importante dans le contrôle de la prolifération cellulaire par le TGF- β . De plus, le fait que des cellules résistantes aux effets antiprolifératifs du TGF- β (lignée R-1B) restent sensibles à l'IPG exogène suggère que la résistance aux effets antiprolifératifs du TGF- β est liée à l'absence de produc-

Tableau I. Facteurs contrôlant la voie GPI/IPG.

Effecteurs	Types cellulaires	Activités biologiques de l'IPG	Références
<i>transforming growth factor-β1</i>	- chondrocytes articulaires	mitogène pour les chondrocytes articulaires	[25, 26]
	- cellules épithéliales	antimitotique pour les cellules épithéliales	[27, 28]
<i>nerve growth factor</i>	- phéochromocytome	stimulation de la prolifération cellulaire	[29]
<i>insulin-like growth factor I</i>	- ganglion cochléovestibulaire	stimulation de la prolifération cellulaire et de <i>c-fos</i> et <i>c-jun</i>	[30, 31]
érythropoïétine	- cellules érythroïdes	stimulation de la prolifération cellulaire et de p44 ^{mapk}	[32]
<i>adrenocorticotrop hormone</i>	- cellules adrénocorticales	l'IPG inhibe l'action de l'ACTH sur l'accumulation d'aldostérone	[33, 34]
<i>epidermal growth factor</i>	- fibroblastes NIH 3T3	stimulation de la prolifération cellulaire	[35]
interleukine-2	- lymphocytes T (CTLL-2)	stimulation de la prolifération cellulaire	[36]
<i>thyrotropin stimulating hormone</i>	- thyrocytes	diminution des taux d'AMPc intracellulaire	[37]

tion d'IPG après traitement par le TGF- β . L'altération de ce mécanisme de signalisation pourrait être à l'origine de certaines tumeurs.

Cette voie de signalisation est également impliquée dans le mécanisme d'action d'autres facteurs de croissance ou de cytokines (Tableau 1). Le mécanisme par lequel ces ligands activent une phospholipase spécifique responsable de la production d'IPG n'est pas connu. Aucune donnée ne permet d'affirmer qu'une protéine G intervient comme dans le cas de l'insuline. Cependant, avec d'autres, nous avons montré qu'une protéine G était impliquée dans l'action du TGF- β sur la prolifération des chondrocytes [38]. Quoi qu'il en soit, chacun de ces ligands pourrait stimuler la production d'IPG par des mécanismes distincts, puisque chacun agit en liant des récepteurs appartenant à des familles différentes. L'adrénocorticotropine agit par l'intermédiaire de récepteurs à 7 domaines transmembranaires, alors que d'autres facteurs de croissance lient un récepteur à activité tyrosine kinase, comme l'EGF (*epidermal growth factor*), l'IGF-I (*insulin-like growth factor-I*) ou la TSH (*thyrotropin stimulating hormone*). Des cytokines, comme l'érythropoïétine ou l'interleukine-2, agissent par l'intermédiaire de récepteurs sans activité kinase intrinsèque. Des protéines à activité tyrosine kinase de la famille des Janus kinases, associées à la partie intracellulaire du récepteur, pourraient participer à la régulation de l'activité de la phospholipase [2]. Dans tous ces systèmes cellulaires, l'IPG mime en partie les effets du facteur contrôlant sa libération (Tableau 1). Dans les cellules érythroïdes, l'érythropoïétine comme l'IPG induisent la différenciation, stimulent la prolifération tout en activant la cascade des MAP kinases. L'induction de la synthèse du facteur de transcription AP-1 par l'IPG a été mise en évidence dans le développement embryonnaire de l'oreille interne contrôlé par l'insuline et l'IGF-I. Les effets biologiques de l'IPG sont donc très variés en fonction du type cellulaire étudié et du facteur induisant sa production. Les cibles de l'IPG sont également multiples et l'effet biologique observé dépendra de la nature de ces cibles.

Conclusions

Une meilleure connaissance du pré-curseur de l'IPG et de sa synthèse, des enzymes responsables du clivage du GPI et des cibles intracellulaires de l'IPG permettront de mieux cerner l'importance de cette voie de signalisation dans des situations normales et pathologiques. Ce domaine d'investigation concerne de façon majeure la pharmacologie antidiabétique, mais ouvre également de nouvelles perspectives dans l'amélioration des traitements de tumeurs d'origines épithéliales qui échappent aux effets antiprolifératifs du *transforming growth factor- β_1* ■

RÉFÉRENCES

1. Nazih F, Delbart C. Transmission du signal intracellulaire par les protéines ancrées par un glycosylphosphatidylinositol. *Med Sci* 1998; 14: 275-82.
2. Varela-Nieto I, Leon Y, Caro HN. Cell signalling by inositol phosphoglycans from different species. *Comp Biochem Physiol* 1996; 115B: 223-41.
3. Larner J, Galasko G, Cheng K, et al. Generation by insulin of a chemical mediator that controls protein phosphorylation and dephosphorylation. *Science* 1979; 206: 1408-10.
4. Saltiel AR, Cuatrecasas P. Insulin stimulates the generation from hepatic plasma membranes of modulators derived from inositol glycolipid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 5793-7.
5. Ferguson MAJ. Glycosylphosphatidylinositol membrane anchors: the tale of a tail. *Biochem Soc Trans* 1992; 20: 243-56.
6. Romero G, Luttrell L, Rogol A, Zeller K, Hewlett E, Larner J. Phosphatidylinositol glycan anchors of membrane proteins: potential precursors of insulin mediators. *Science* 1988; 240: 509-11.
7. Singh N, Liang L-N, Tykocinski ML, Tartakoff AM. A novel class of cell surface glycolipids of mammalian cells. *J Biol Chem* 1996; 271: 12879-84.
8. Lazar DF, Knez JJ, Medof ME, Cuatrecasas P, Saltiel AR. Stimulation of glycogen synthesis by insulin in human erythrocyte cells requires the synthesis of glycosylphosphatidylinositol. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 9665-9.
9. Kilgour E. A role for inositol-glycan mediators and G-proteins in insulin action. *Cell Signal* 1993; 5: 97-105.
10. Jones DR, Varela-Nieto I. Diabetes and the role of inositol-containing lipids in insulin signalling. *Mol Med* 1999; 5: 505-14.
11. Alvarez JF, Sanchez-Arias JA, Guadaño A, et al. Transport in isolated hepatocytes of the phospho-oligosaccharide that mimics insulin action. *Biochem J* 1991; 274: 369-74.
12. Anderson RGW. Caveolae: where incoming and outgoing messengers meet. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 10909-13.
13. Müller G, Frick W. Signalling via caveolin: involvement in the cross-talk between phosphoinositolglycans and insulin. *Cell Mol Life Sci* 1999; 56: 945-70.
14. Farese RV, Standaert ML, Yamada K, et al. Insulin-induced activation of glycerol-3-phosphate acyltransferase by a *chiro*-inositol-containing insulin mediator is defective in adipocytes of insulin-resistant, type II diabetic, Goto-Kakizaki rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 11040-4.
15. Ortmeyer HK, Bodkin NL, Lilley K, Larner J, Hansen BC. *Chiro*-inositol deficiency and insulin resistance. I. Urinary excretion rate of *chiro*-inositol is directly associated with insulin resistance in spontaneously diabetic Rhesus monkeys. *Endocrinology* 1993; 132: 640-5.
16. Kennington AS, Hill CR, Craig JC, et al. Low urinary *chiro*-inositol excretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1990; 323: 373-8.
17. Shashkin PN, Shashkina EF, Fernqvist-Forbes E, Zhou YP, Grill V, Katz A. Insulin mediators: effects of glucose ingestion and insulin resistance. *Diabetologia* 1997; 40: 557-63.
18. Fonteles MC, Huang LC, Larner J. Infusion of pH 2,0 D-*chiro*-inositol glycan insulin putative mediator normalizes plasma glucose in streptozotocin diabetic rats at a dose equivalent to insulin without inducing hypoglycemia. *Diabetologia* 1996; 39: 731-4.
19. Kunjara S, Wang DY, Greenbaum L, McLean P, Kurtz A, Rademacher TW. Inositol phosphoglycans in diabetes and obesity: urinary levels of IPG A-type and IPG P-type, and relationship to pathophysiological changes. *Mol Genet Metab* 1999; 68: 488-502.
20. Misesk DE, Saltiel AR. An inositol phosphate glycan derived from *Trypanosoma brucei* GPI mimics some of the metabolic actions of insulin. *J Biol Chem* 1992; 267: 16266-73.
21. Dietrich H, Espinosa JF, Chiara JL, et al. Glycosyl inositol derivatives related to inositolphosphoglycan mediators: synthesis, structure and biological activity. *Chem Eur J* 1999; 5: 320-36.
22. Frick W, Bauer A, Bauer J, Wied S, Müller. Structure-activity relationship of synthetic phosphoinositolglycans mimicking metabolic action. *Biochemistry* 1998; 37: 13421-36.
23. Jones DR, Varela-Nieto I. The role of glycosylphosphatidylinositol in signal transduction. *Int J Biochem & Cell Biol* 1998; 30: 313-26.
24. Nestler JE, Jakubowicz DJ, Reamer P, Gunn RD, Alan G. Ovarian and metabolic effects of D-*chiro*-inositol in the polycystic ovary syndrome. *New Engl J Med* 1999; 340: 1314-20.

RÉFÉRENCES

25. Vivien D, Martiny L, Petitfrère E, Sartelet H, Haye B, Pujol J-P. Inositolphosphate glycan as a cellular signal for TGF- β 1 modulation of chondrocyte cell cycle. *J Cell Physiol* 1993; 155: 437-44.
26. Vivien D, Bogdanowicz P, Boumediene K, Martiny L, Haye B, Pujol J-P. Different phosphorylated states of inositol phosphate glycan could be involved in the transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) signalling pathway. *Cell Signal* 1994; 6: 173-80.
27. Bogdanowicz P, Vivien D, Félisaz N, Léon V, Pujol J-P. An inositolphosphate glycan released by TGF- β mimics the proliferative but not the transcriptional effects of the factor and requires functional receptors. *Cell Signal* 1996; 8: 503-9.
28. Bogdanowicz P, Pujol J-P. GPI hydrolysis by Transforming Growth Factor- β 1 as a potential early step in the inhibition of epithelial cell proliferation. *Mol Cell Biochem* 2000; 208: 143-50.
29. Represa J, Avila MA, Miner C, *et al.* GPI/IPG: a signalling system for the low-affinity nerve growth factor receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 8016-9.
30. León, Y, Vazquez, E, Sanz, C, *et al.* IGF-I regulates cell proliferation in the developing inner ear, activating GPI hydrolysis and *fos* expression. *Endocrinology* 1995; 136: 3494-503.
31. León Y, Sanz C, Giráldez F, Varela-Nieto I. Induction of cell growth by insulin and IGF-I is associated with *jun* expression in the otic vesicle. *J Comp Neurol* 1998; 398: 323-32.
32. Devemy E, Billat C, Haye B. Activation of Raf-1 and mitogen-activated protein kinases by erythropoietin and inositolphosphate glycan in normal erythroid progenitor cells: involvement of protein kinase C. *Cell Signal* 1997; 9: 41-6.
33. Cozza EN, Villa MC, Gomez-Sanchez CE, Fareze RV. ACTH stimulates turnover of the phosphatidylinositol-glycan. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 157: 585-9.
34. Del Villa M, Cozza EN, Lima C, Ramirez MI, Lederkremer RM. An inositol phosphoglycan from *Trypanosoma cruzi* inhibits ACTH action in calf adrenocortical cells. *Cell Signal* 1995; 7: 331-9.
35. Clemente R, Jones DR, Ochoa P, Romero G, Mato JM, Varela-Nieto I. Role of GPI as a mitogenic signal for Epidermal Growth Factor. *Cell Signal* 1995; 7: 411-21.
36. Merida I, Pratt JC, Gaulton GN. Regulation of interleukin 2-dependent growth responses by glycosylphosphatidylinositol molecules. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 9421-5.
37. Martiny L, Delemer B, Petitfrère E, Lambert B, Jacquemin C, Haye B. Autocrine biological effects of glycosyl inositol phosphate produced by reconstituted pig thyroid follicles: role of pertussis toxin sensitive G proteins. *Cell Signal* 1992; 4: 219-29.
38. Vivien D, Galéra P, Lebrun E, Daireaux M, Loyau, G, Pujol, J-P. TGF- β -induced G2/M delay in proliferating rabbit articular chondrocytes is associated with an enhancement of replication rate and a cAMP decrease: possible involvement of Pertussis toxin-sensitive pathway. *J Cell Physiol* 1992; 150: 291-8.

TIRÉS À PART

P. Bogdanowicz.

Summary

Role of inositolphosphate glycans in cellular signalling: correlation with pathological situations

Several cytokines, hormones and growth factors regulate a transduction mechanism, the first step of which is the hydrolysis of glycosylphosphatidylinositol (GPI) by specific phospholipases, producing inositolphosphate glycan (IPG). The cell surface receptors for these ligands are of four classes: the tyrosine-kinase receptors (insulin, IGF-I and EGF), the serine/threonine kinases receptors (TGF- β), the cytokine receptors (IL-2, erythropoietin) and metabotropic receptors with seven transmembrane domains (ACTH). Various mechanisms can control the production of IPG, which is first released in the extracellular space and then internalized into the cytoplasm where it regulates the activity of several target molecules. Recent data indicate that alteration of GPI/IPG metabolism could be implicated in the development of some non-insulin dependent diabetes mellitus. This review describes the present state of our knowledge on this signalling pathway and its potential role in some diseases.