

La vérité sur NF-AT

Une des étapes critiques de la réponse immune est la transmission par le récepteur des cellules T d'un signal qui permet la production rapide de cytokines, étape indispensable à une réponse correcte de ces cellules [1]. Le facteur de transcription NF-AT, impliqué de manière critique dans l'activation de divers gènes de cytokines, dont celui de l'IL2, est une des cibles de ce signal [2].

NF-AT est une activité inductible, présente seulement dans le noyau des cellules T activées. Les conditions optimales d'induction correspondent à un traitement de ces cellules par une combinaison d'esters de phorbol (PMA) qui miment le diacylglycerol en activant la protéine kinase C, et d'ionophores de calcium (ionomycine) qui induisent une élévation du niveau de calcium intracellulaire. Divers résultats, venant essentiellement des groupes d'A. Rao (Boston) et G. Crabtree (Stanford), indiquent que NF-AT est un complexe formé d'une sous-unité nucléaire (NF-ATn), dont la synthèse est induite lors des signaux d'activation, et d'une sous-unité constitutivement présente dans le cytoplasme des cellules T (NF-ATc) [2]. La translocation nucléaire de cette sous-unité a lieu en réponse à un signal de type calcium, et est bloquée par les immunosuppresseurs, tels la ciclosporine A (CsA) et FK506 [3]. L'importance thérapeutique de la ciclosporine A et le fait qu'une des cibles principales de ce composé semble être la sous-unité cytoplasmique de NF-AT ne font qu'ajouter à l'intérêt de l'élucidation des mécanismes moléculaires menant à cette translocation.

CsA et FK506 s'associent à des récepteurs cytoplasmiques (respectivement cyclophiline et FKBP). Ces complexes constituent en fait la forme active de ces molécules et agissent en inhibant l'activité d'une protéine

phosphatase cellulaire dépendante du calcium, la calcineurine [4]. Cela suggère que la calcineurine est impliquée dans la translocation nucléaire de NF-ATc, en accord avec des données *in vitro* qui indiquent que NF-ATc est effectivement une phosphoprotéine et peut servir de substrat à la calcineurine [5].

En ce qui concerne la sous-unité nucléaire de NF-AT, de nombreuses données indiquent qu'elle contient un certain nombre de membres de la famille Jun/Fos, qui constituent normalement l'activité AP1 [6, 7]. Cette activité est induite par des *stimuli* comme les esters de phorbol, par un mécanisme nécessitant une synthèse protéique et résistant à la ciclosporine. En résumé, l'activation complète de NF-AT nécessite un mécanisme stimulé par les esters de phorbol, impliquant la synthèse de certains constituants de la famille Jun/Fos, et un mécanisme dépendant du calcium, nécessaire à la translocation nucléaire de NF-ATc.

Les ADNc codant pour les sous-unités NF-ATc murine et humaine viennent d'être clonés [8, 9]. La protéine murine est effectivement exprimée exclusivement dans les cellules T, et peut se lier à des sites NF-AT en association avec c-Jun, ou avec c-Fos + c-Jun. De plus, la protéine recombinante est capable de stimuler la transcription *in vitro* à partir de sites NF-AT polymérisés, en association avec c-Jun, ou c-Fos + c-Jun. De manière inattendue, le clonage de la sous-unité humaine a abouti à une protéine différente de la protéine murine (indépendamment des différences d'espèces). Néanmoins, parmi les peptides obtenus à partir de la préparation humaine purifiée se trouvent aussi des peptides correspondant à l'homologue humain de la protéine murine, indiquant qu'il existe au moins deux formes de NF-ATc. Un certain nombre de résultats

obtenus à l'aide de l'ADNc humain sont en contradiction avec ce que l'on pensait savoir des mécanismes de régulation de l'activité NF-AT. Par exemple, la surexpression du clone NF-ATc est suffisante pour activer un promoteur contenant des sites NF-AT en présence du signal engendré par les esters de phorbol, même dans des cellules non-T et en absence du signal calcium. Par ailleurs, les signaux produits par le calcium et les esters de phorbol sont tous deux capables d'induire un changement de la mobilité de la protéine dans un gel dénaturant : le phorbol monoacétate induit une augmentation du poids moléculaire apparent, alors que l'ionomycine, un ionophore calcique, a l'effet inverse. Cela indique que les deux voies d'activation nécessaires à l'induction de NF-AT sont capables de modifier les propriétés de la sous-unité cytoplasmique.

Un autre résultat inattendu concernant les deux clones NF-ATc (murin et humain) est l'analogie qui existe entre une région d'à peu près 300 acides aminés et la famille de facteurs de transcription Rel/NF- κ B. Cette région contient les domaines de liaison à l'ADN et de dimérisation des protéines de cette famille. Hors de cette région, les deux clones NF-ATc ne montrent pas d'analogie particulière. Si cette analogie, quoique relativement faible, a des implications fonctionnelles réelles, on peut imaginer que NF-ATc est retenue dans le cytoplasme par interaction avec une molécule semblable à l'inhibiteur MAD3/I κ B- α des protéines Rel/NF- κ B [10]. Cet inhibiteur empêche l'accès au signal de localisation nucléaire des sous-unités de NF- κ B, et en réponse à divers *stimuli* extracellulaires, est dégradé à la suite d'un ou de plusieurs événements de phosphorylation, permettant ainsi la translocation nucléaire

de NF- κ B [11]. Si un mécanisme de régulation identique est impliqué dans le contrôle de la localisation de NF-ATc, on peut imaginer que la cible de la calcineurine soit non pas NF-ATc, mais son inhibiteur ; néanmoins, les deux hypothèses ne sont pas mutuellement exclusives. Cela pourrait aussi expliquer pourquoi la surexpression de NF-ATc élimine la nécessité du signal calcium : la titration d'une molécule d'ancrage cytoplasmique aboutirait à une translocation dans le noyau en absence de signal extracellulaire.

Ces nouvelles données posent un certain nombre de questions : comme il semble exister (au moins) deux sous-unités cytoplasmiques différentes de NF-AT, on peut se demander si elles font partie des mêmes complexes, ou si différents complexes existent dans la même cellule, ou dans des types de cellules T différents ; par ailleurs, ces deux sous-unités sont-elles fonctionnellement interchangeables ou bien remplissent-elles des fonctions différentes ?

Un dernier point important qui reste à clarifier concerne l'identité des protéines qui composent la sous-unité nucléaire NF-ATn. Il est à peu près clair qu'il s'agit de membres de la famille Jun/Fos (*m/s* n° 6, vol. 8, p. 610), mais l'étude de souris chez lesquelles les gènes *jun* ou *fos* ont été inactivés par recombinaison homologue indique que leurs cellules T présentent une activité NF-AT normale [12, 13]. Par ailleurs, des expériences de reconstitution indiquent que c-Fos, Fra-1, Fra-2 et Jun-B sont capables de s'associer avec la protéine NF-ATc murine. L'association avec des protéines de la famille Jun/Fos n'est pas inattendue pour des membres de la famille Rel/NF- κ B : il a été montré récemment que la région de liaison à l'ADN et de dimérisation de c-Jun et c-Fos peut interagir directement avec le domaine d'homologie Rel de la sous-unité p65 de NF- κ B [14]. Il est clair que la résolution de ce problème devra attendre la séquence de peptides isolés de préparations purifiées de complexes NF-AT nucléaires.

Ces données nouvelles nous rapprochent progressivement de la compréhension des mécanismes de contrôle de l'activité NF-AT, c'est-à-dire du mode d'action de la cyclosporine A et, à plus long terme, de certains aspects critiques de la réponse immune ■

RÉFÉRENCES

1. Crabtree GR. Contingent genetic regulatory events in T lymphocytes activation. *Science* 1989 ; 243 : 355-61.
2. Flanagan WF, Corthésy B, Bram RJ, Crabtree GR. Nuclear association of a T-cell transcription factor blocked by FK-506 and cyclosporin A. *Nature* 1991 ; 352 : 803-7.
3. Baumann G, Boret J. Mécanismes moléculaires de l'action des agents immunosuppresseurs. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 366-71.
4. Liu J, Farmer JD, Lane WS, Friedman J, Weissman I, Schreiber SL. Calcineurin is a common target of cyclophilin-cyclosporin A and FKBP-FK506 complexes. *Cell* 1991 ; 66 : 807-15.
5. Jain J, McCaffrey PG, Miner Z, Kerppola TK, Lambert JN, Verdine GL, Curran T, Rao A. The T-cell transcription factor NFATp is a substrate for calcineurin and interacts with Fos and Jun. *Nature* 1993 ; 365 : 352-5.
6. Northrop JP, Ullman KS, Crabtree GR. Characterization of the nuclear and cytoplasmic components of the lymphoid-specific nuclear factor of activated T cells (NF-AT) complex. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 2917-23.
7. Jain J, McCaffrey PG, Valge-Archer VE, Rao A. Nuclear factor of activated T cells contains Fos and Jun. *Nature* 1992 ; 356 : 801-4.
8. McCaffrey PG, Luo C, Kerppola TK, Jain J, Badalian TM, Ho AM, Burgeon E, Lane WS, Lambert JN, Curran T, Verdine GL, Rao A, Hogan PG. Isolation of the cyclosporin-sensitive T cell transcription factor NF-ATp. *Science* 1993 ; 262 : 750-4.
9. Northrop JP, Ho SN, Chen L, Thomas DJ, Timmerman LA, Nolan GP, Admon A, Crabtree GR. NF-AT components define a family of transcription factors targeted in T-cell activation. *Nature* 1994 ; 369 : 497-502.
10. Israël A. Les protéines NF- κ B, Dorsal et Rel. Une nouvelle classe de facteurs de transcription. *médecine/sciences* 1991 ; 8 : 67-70.
11. Beg AA, Baldwin AS. The I κ B proteins : multifunctional regulators of Rel/NF- κ B transcription factors. *Genes Dev* 1993 ; 7 : 2064-70.
12. Jain J, Nalefski EA, McCaffrey PG, Johnson RS, Spiegelman BS, Papaioannou V, Rao A. Normal peripheral T cell function in c-Fos deficient mice. *Mol Cell Biol* 1994 ; 14 : 1566-74.
13. Chen J, Stewart V, Spyrou G, Hilberg F, Wagner EF, Alt FW. Generation of normal T and B lymphocytes by c-jun deficient embryonic stem cells. *Immunity* 1994 ; 1 : 65-72.
14. Stein B, Baldwin AS, Ballard DW, Greene WC, Angel P, Herrlich P. Cross-coupling of the NF- κ B p65 and Fos/Jun transcription factors produces potentiated biological function. *EMBO J* 1993 ; 12 : 3879-91.

Alain Israël

Unité de biologie moléculaire de l'expression génique, Institut Pasteur, 25, rue du Dr Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.

TIRÉS A PART

A. Israël.