

Transduction du signal mitogène, cytosquelette et petites protéines G : vers un réseau de protéines GAP ?

**Philippe Fort
Sylvie Vincent**

D'importants progrès ont été faits au cours de ces derniers mois dans la détermination de la fonction cellulaire des petites GTPases de la famille Rho. Il vient en effet d'être montré que deux membres de cette famille (Rac et Rho) sont impliqués dans le contrôle de la réorganisation des réseaux d'actine cytosquelettique provoquée par les facteurs de croissance. En outre, la découverte de plusieurs facteurs multifonctionnels, possédant un domaine GAP capable de moduler l'activité des protéines Rho, ainsi que des activités extrêmement diverses telles que sérine kinase ou répresseur transcriptionnel, suggère que les protéines de la famille Rho sont réglées de façon concertée avec les protéines Ras, et interviennent dans la transduction des signaux mitogènes. La traque des facteurs GAP ainsi que la détermination de leurs cibles permettront-elles d'obtenir une vision intégrée des processus de division et de réorganisation de l'architecture cellulaire ?

Parmi les familles de protéines caractérisées chez les eucaryotes, la superfamille des petites GTPases apparentées à Ras a connu une expansion impressionnante au cours de ces dix dernières années. On recense actuellement une cinquantaine de membres, regroupés en 5 sous-familles Ras, Rho, Rab, ARF (*ADP ribosylation factor*) et TC4 [1-3]. Si les critères adoptés pour effectuer cette classification sont essentiellement structuraux (similarité de séquence), on constate cependant une excellente

correspondance avec les caractéristiques fonctionnelles des protéines regroupées. Il est en effet solidement établi que les membres de la famille Ras sont des composants essentiels des voies de transduction des signaux de prolifération et de différenciation cellulaires, tandis que les membres des familles Rab et ARF interviennent dans le transport des vésicules entre les compartiments intracellulaires [4]. En revanche, la situation de la famille Rho est plus complexe, puisqu'elle présente une ramification interne : un premier regroupement

ADRESSE

Ph. Fort : chargé de recherches au Cnrs. S. Vincent : boursière MRT. URA Cnrs 1191, génétique moléculaire, université Montpellier II, CP 101, place E.-Bataillon, 34095 Montpellier Cedex 5, France.

RÉFÉRENCES

1. Valencia A, Chardin P, Wittinghofer A, Sander C. The *ras* family : evolutionary tree and role of conserved aminoacids. *Biochemistry* 1991 ; 19 : 4637-48.
2. Chardin P. Small GTP-binding proteins of the *ras* family : a conserved functional mechanism ? *Cancer Cells* 1991 ; 3 : 117-26.
3. Hall A. The cellular functions of small GTP-binding proteins. *Science* 1990 ; 249 : 635-40.
4. Goud B. Le transport vésiculaire des cellules eucaryotes est contrôlé par des GTPases. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 326-34.
5. Vincent S, Jeanteur Ph, Fort Ph. Growth-regulated expression of rhoG, a new member of the *ras* homolog gene family. *Mol Cell Biol* 1992 ; 12 : 3138-48.
6. Chardin P, Boquet P, Madaule P, Popoff MR, Rubin EJ, Gill DM. The mammalian G protein *rhoC* is ADP-ribosylated by *Clostridium botulinum* exoenzyme C3 and affects actin microfilaments in Vero cells. *EMBO J* 1989 ; 8 : 1087-92.
7. Paterson H, Self AJ, Garrett MD, Just I, Aktories K, Hall A. Microinjection of recombinant p21^{rac} induces rapid changes in cell morphology. *J Cell Biol* 1990 ; 111 : 1001-07.
8. Abo A, Pick E, Hall A, Totty N, Teahan CG, Segal AW. Activation of the NADPH oxidase involves the small GTP-binding protein p21^{rac1}. *Nature* 1991 ; 353 : 668-70.
9. Ridley AJ, Hall A. The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* 1992 ; 70 : 389-99.
10. Ridley AJ, Paterson HF, Johnston CL, Dieckmann D, Hall A. The small GTP-binding protein rac regulates growth factor-induced membrane ruffling. *Cell* 1992 ; 70 : 401-10.
11. Kolega J. Effects of mechanical tension on protrusive activity and microfilament and intermediate filament organization in an epidermal epithelium moving in culture. *J Cell Biol* 1986 ; 102 : 1400-11.
12. Steinert PM, Roop DR. Molecular and cellular biology of intermediate filaments. *Annu Rev Biochem* 1988 ; 57 : 593-626.
13. Karsenti E, Maro B. Centrosomes and the spatial of microtubules in animal cells. *Trends Biochem Sci* 1986 ; 11 : 460-3.
14. Bar-Sagi D, Feramisco JR. Induction of membrane ruffling and fluid-phase pinocytosis in quiescent fibroblasts by ras proteins. *Science* 1986 ; 233 : 1061-8.

englobe RhoA, B et C, plus un nouveau membre RhoD (T. Hunter, communication personnelle), le second rassemble Rac1 et 2, TC10, CDC42/G25K et rhoG, récemment caractérisé [5]. Le premier indice sur la fonction des protéines RhoA, B et C a été obtenu en inhibant leur activité par ADP-ribosylation de leur résidu asparagine (position 41), grâce à l'utilisation de l'exoenzyme C3 transférase produite par *Clostridium botulinum*. L'introduction de cette toxine C3 dans différents types cellulaires provoque une désorganisation importante du cytosquelette, et en particulier une dépolymérisation des filaments d'actine [6]. Parallèlement, la surexpression de RhoA et C par micro-injection de protéines recombinantes ou de vecteurs d'expression induit la formation de filaments d'actine [7]. La fonction des autres protéines de la famille Rho est moins claire : on a d'abord montré que les protéines Rac peuvent activer une NADPH oxydase et stimuler la production de superoxyde en système reconstitué, à partir d'extraits de phagocytes [8]. Cependant, si le gène *rac-2* est exprimé spécifiquement dans la lignée hématopoïétique, *rac-1* présente une expression constitutive, qui laisse supposer une fonction différente dans les autres types cellulaires. CDC42Sc, homologue chez la levure de CDC42Hs, est impliqué dans les mécanismes de polarité cellulaire, elle-même corrélée à la distribution spatiale des filaments d'actine. Les fonctions des deux derniers membres, RhoG et TC10, sont inconnues. Toutefois, des résultats préliminaires de surexpression obtenus dans notre laboratoire indiquent que RhoG, principalement exprimé dans les tissus pulmonaire et placentaire, participe également à l'architecture générale du cytosquelette.

Les protéines de la superfamille Ras peuvent être présentes sous une forme liée au GTP ou liée au GDP. Le passage de l'une à l'autre fait intervenir, d'une part, une stimulation de leur activité GTPasique intrinsèque (sens GTP vers GDP) par une protéine GAP (*GTPase activating protein*) et, d'autre part, un processus d'échange (sens GDP vers GTP), pouvant être réglé négativement par une protéine GDI (*GDP dissociation inhibitor*) ou

positivement par une protéine GDS (*GDP dissociation stimulator*). D'une manière générale, on constate que les protéines GAP sont plutôt spécifiques d'une famille ; cela est dû au fait qu'elles reconnaissent la portion NH₂-terminale très conservée entre les membres d'une même famille. En revanche, les facteurs d'échange, qui interagissent avec la région COOH-terminale, très hétérogène d'un membre à l'autre, présentent davantage de spécificité individuelle. Au cours des derniers mois, divers travaux ont nettement modifié l'éclairage du paysage des petites protéines G, en donnant plus de lumière sur le rôle des protéines de la famille Rho, ainsi que sur la nature des régulateurs des familles Rho et Ras.

Protéines Rho et polymérisation des fibres d'actine

Anne Ridley, Alan Hall et leurs collègues viennent de publier des résultats montrant que les protéines RhoA et Rac1 sont impliquées dans la réorganisation des fibres d'actine de plusieurs structures cellulaires [9, 10]. Rappelons brièvement que le cytosquelette est un réseau de fibres protéiques développé dans l'ensemble du cytoplasme, et constitué de trois types de filaments interconnectés, les filaments intermédiaires, les microtubules et les microfilaments (pour revue, voir [11-13]).

Contrairement aux microtubules et aux microfilaments, les filaments intermédiaires sont des structures cellulaires stables et rigides. Généralement disposés en faisceaux ou en réseaux, ils permettent d'absorber les tensions mécaniques exercées par les mouvements des tissus : ainsi, les kératines assurent la rigidité des cellules épithéliales, tandis que la desmine permet de maintenir la cohésion des cellules musculaires lisses et striées pendant la contraction. Les microtubules (sortes de cordes creuses de dimères de tubuline α et β) interviennent dans la dynamique cellulaire dans diverses structures. Le dénominateur commun est en fait représenté par les centrioles, minicylindres de microtubules, à partir desquels de longues fibres vont se développer par un processus de poly-

mérisation qui requiert du GTP. Chez les eucaryotes supérieurs, les centrioles, localisés dans le centrosome, sont à l'origine des faisceaux de microtubules périnucléaires de la cellule interphasique, tandis que chez les ciliés et flagellés eucaryotes, les centrioles du corps basal sont responsables de la formation des flagelles. Dans les deux situations, les cellules en cours de division réarrangent leurs centrioles en centrosomes polaires (*spindle poles*) d'où partent les microtubules du fuseau mitotique. Les microfilaments, qui représentent en fait le système contractile des cellules, sont constitués de filins de molécules d'actine β ou γ polymérisées. On trouve également des fibres d'actine dans les muscles squelettiques, sous une forme particulièrement bien développée et organisée, en association avec des cordes de myosine. Dans les cellules non musculaires, les fibres d'actine, moins denses et très instables, participent à de nombreuses fonctions cellulaires qui requièrent toutes d'importantes déformations membranaires. Ces fibres sont polymérisées dans le cortex membranaire à partir de différentes structures cellulaires (microvillosités des cellules intestinales, cônes de croissance axonaux, pseudopodes de macrophages, anneaux contractiles de cellules en télophase...), et forment des connexions dynamiques entre ces structures membranaires, et des interconnexions avec le réseau microtubulaire périnucléaire. Dans les cellules de type fibroblastique, on trouve les filaments d'actine, associés à d'autres protéines, dans les excroissances membranaires (*membrane ruffling*), dans les microspicules et les lamellipodes (*ruffles*) et dans les fibres de tension (*stress fibers*), ancrées aux plaques d'adhérence (*focal adhesions*) par un complexe protéique dans lequel on retrouve entre autres la taline et la vinculine (*figure 1*). La plasticité de ces structures membranaires dépend de l'équilibre entre la polymérisation et la dépolymérisation des fibres d'actine, et intervient dans des processus aussi variés que le déplacement cellulaire (cytokinèse), la formation de vésicules (pinocytose, endocytose) et la division cellulaire (forme arrondie des cellules).

Les résultats du groupe d'Alan Hall établissent clairement qu'une réorga-

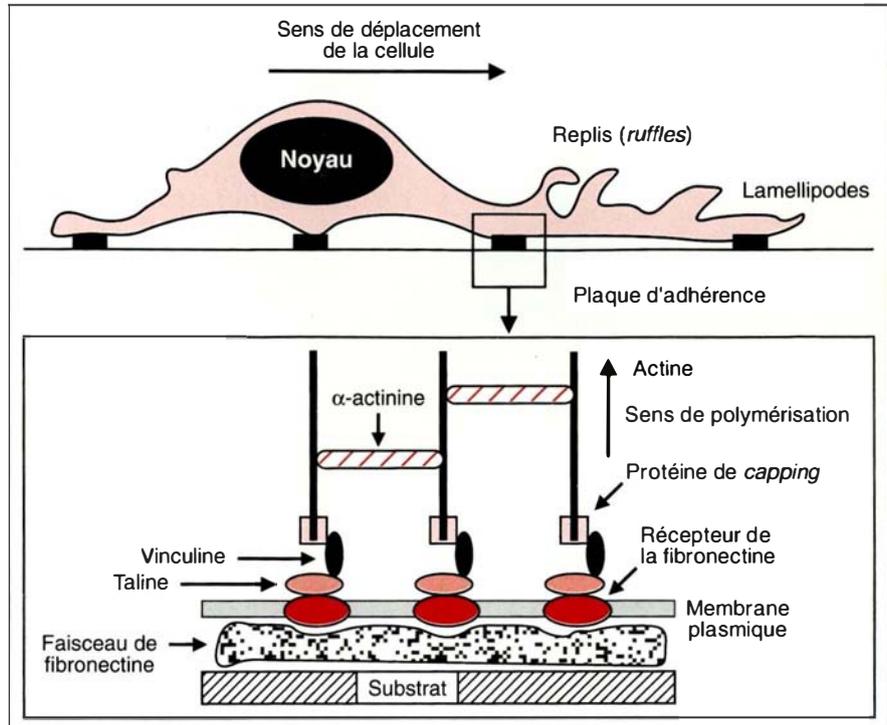


Figure 1. **Représentation schématique d'une cellule fibroblastique en déplacement.** La cellule émet des prolongements membranaires (lamellipodes) dans le sens de la progression, à la surface desquels les plaques d'adhérence sont formées (encadré). Les fibres d'actine sont polymérisées à partir des plaques d'adhérence, et rejoignent le réseau de micro-tubules périnucléaires ou d'autres plaques d'adhérence. La tension des fibres dans une direction permet le déplacement cellulaire.

nisation des fibres d'actine au niveau des fibres de tension et des plaques d'adhérence ainsi que la formation de replis membranaires interviennent dans les minutes qui suivent l'addition de facteurs de croissance, et nécessitent l'activité des protéines Rho (*figure 2*). L'intensité et la vitesse auxquelles ces remaniements apparaissent dépendent de la nature de l'agent utilisé pour la stimulation. Deux voies de transduction ont été mises en évidence : la première fait intervenir l'acide lysophosphatidique (LPA), un phospholipide présent dans le sérum de veau fœtal, connu pour être un puissant stimulateur de l'agrégation plaquettaire, ainsi qu'un agent mitogène pour un certain nombre de types cellulaires. La deuxième, moins efficace, passe par la voie des récepteurs de type tyrosine kinase, tels que le PDGF et l'EGF. Lorsque l'activité des protéines Rho (A, B ou C) est inhibée (par micro-injection de

toxine botulinique C3), la formation des fibres de tension et des plaques d'adhérence est bloquée, quelle que soit la voie de stimulation choisie, sans que la formation de replis membranaires ne soit altérée. Si l'on inhibe l'activité Rac endogène par micro-injection d'une protéine mutante inhibitrice dominante, la formation de fibres de tension est bloquée uniquement si le signal transmis passe par la voie des récepteurs tyrosine kinase. En revanche, on n'observe plus de replis membranaires quelle que soit la voie empruntée. Ces observations en « négatif » sont confirmées par des analyses « positives » : la micro-injection de protéines dans des cellules au repos entraîne l'apparition de fibres de tension et de replis membranaires dans le cas de Rac, et seulement des fibres de tension dans le cas de Rho. En outre la micro-injection de Rac couplée à l'inhibition de Rho active unique-

RÉFÉRENCES

15. Reibel L, Dorseuil O, Stancou R, Bertoglio J, Gacon G. A hemopoietic specific gene encoding a small GTP binding protein is overexpressed during T-cell activation. *Biochem Biophys Res Commun* 1991 ; 175 : 451-8.
16. Jahner D, Hunter T. The *ras*-related gene *rhoB* is an immediate-early gene inducible by *v-fps*, epidermal growth factor, and platelet-derived growth factor in rat fibroblasts. *Mol Cell Biol* 1991 ; 11 : 3682-90.
17. Hart MJ, Eva A, Evans T, Aaronson SA, Cerione RA. Catalysis of guanine nucleotide exchange on the CDC42Hs protein by the *dbl* oncogene product. *Nature* 1991 ; 354 : 311-4.
18. Dieckmann D, Brill S, Garrett MD, et al. *Bcr* encodes a GTPase-activating protein for p21^{ras}. *Nature* 1991 ; 351 : 400-2.
19. Cicchetti P, Mayer BJ, Thiel G, Baltimore D. Identification of a protein that binds to the SH3 region of Abl and is similar to Bcr and GAP-rho. *Science* 1992 ; 257 : 803-6.
20. Filhol O, Cochet C. Le transfert des signaux mitogéniques : une affaire de particules. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 980-4.
21. Koch CA, Anderson D, Moran MF, Ellis C, Pawson T. SH2 and SH3 domains : elements that control interactions of cytoplasmic signalling proteins. *Science* 1991 ; 252 : 668-74.
22. Maru Y, Witte ON. The *Bcr* gene encodes a novel serine/threonine kinase activity within a single exon. *Cell* 1991 ; 67 : 459-68.
23. Shou C, Farnsworth CL, Neel BG, Feig LA. Molecular cloning of cDNAs encoding a guanine-nucleotide-releasing factor for Ras p21. *Nature* 1992 ; 358 : 351-4.
24. Jones S, Vignais ML, Broach JR. The CDC25 protein of *Saccharomyces cerevisiae* promotes exchange of guanine nucleotides bound to Ras. *Mol Cell Biol* 1991 ; 11 : 2641-6.
25. Simon MA, Bowtell DDL, Dodson GS, Lavery TR, Rubin GM. Ras1 and a putative guanine nucleotide exchange factor perform crucial steps in signalling by the sevenless protein tyrosine kinase. *Cell* 1991 ; 67 : 701-16.
26. Galland F, Birnbaum D. Le proto-oncogene *mf2/dbl* et les facteurs d'échange GDP-GTP. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 819-26.
27. Settleman J, Narasimhan V, Foster LC, Weinberg RA. Molecular cloning of cDNAs encoding the GAP-associated protein p190 : implications for a signalling pathway from ras to the nucleus. *Cell* 1992 ; 69 : 539-49.

ment la formation des replis, suggérant un rôle régulateur des protéines Rac sur l'activité des protéines Rho.

Rôle de Ras dans la réorganisation du cytosquelette

Ces observations confirment l'implication de la famille Rho dans l'organisation générale du cytosquelette, tout en permettant de préciser les relations fonctionnelles entre les protéines Rho et Rac. En outre, elles impliquent plus nettement la famille Rho dans les réorganisations des structures membranaires et du cytosquelette associées à la prolifération cellulaire. En effet, une cellule fibroblastique en phase de repos (après retrait des facteurs de croissance) montre des densités de fibres de tension et de lamellipodes très faibles. L'entrée en phase G1 se caractérise par une forte augmentation du nombre de fibres de tension et une densité accrue d'excroissances membranaires. Au cours de la progression vers la synthèse d'ADN (phase S), ces structures disparaissent au profit de microvillosités, pendant que la cellule adopte une forme arrondie, nécessaire pour la poursuite du cycle (le maintien forcé d'une morphologie étalée empêche les cellules d'entrer en phase S). On peut donc envisager qu'il existe un dialogue entre les protéines Ras et Rho, assurant la bonne coordination des programmes mis en place.

En fait, il avait déjà été constaté dès 1986 que la micro-injection de protéines Ras activées induisait la formation de structures membranaires, ainsi qu'une augmentation de la pinocytose [14], d'une manière tout à fait similaire à celles induites par Rac. La relation entre Ras et Rac a donc été testée : la micro-injection de protéine Ras activée n'induit plus de remaniements membranaires ni de formation de fibres de tension si l'on co-injecte un inhibiteur de Rac. Cependant, si l'on bloque l'activité Ras endogène, l'induction des réorganisations membranaires en réponse aux facteurs de croissance est toujours maintenue. Ces résultats suggèrent l'existence de deux voies de signalisation couplant facteurs de croissance

et activité Rac, dont l'une est indépendante de Ras (figure 2).

Protéines Rho et transformation cellulaire

A la lumière des données récentes, il apparaît vraisemblable que l'activité des protéines Rho est requise pendant la prolifération cellulaire. On sait en effet que plusieurs gènes codant pour des protéines Rho sont induits par des agents mitogènes : le niveau d'expression de *rac-2* augmente fortement dans des lignées lymphocytaires T stimulées en croissance [15], tandis que *rhoB* et *rhoG* appartiennent respectivement aux gènes de réponse précoce et tardive à un large spectre de facteurs de croissance de cellules fibroblastiques [5, 16]. On dispose en outre d'informations qui impliquent plus directement les protéines Rho dans les processus de transformation cellulaire. Ainsi, des lignées fibroblastiques transfectées avec une version activée de *rhoA* présentent des phénotypes partiellement transformés, et peuvent former des tumeurs dans l'animal après implantation sous-cutané. Par ailleurs, deux protéines régulatrices de la famille Rho présentent des versions oncogéniques caractéristiques de certaines leucémies myéloïdes et lymphoïdes. Il s'agit de Dbl [17], un facteur d'échange spécifique de CDC42Hs, et de Bcr [18], qui possède dans sa région COOH-terminale un domaine GAP capable d'accélérer les activités GTPasiques des protéines Rac et CDC42Hs, et non celles de RhoA, B et C. Un troisième exemple est celui de l'oncogène *vav*, qui code pour une protéine possédant des domaines similaires à Dbl et Bcr, et qui pourrait être également un facteur régulateur de l'activité de protéines Rho. Tous ces éléments suggèrent que si les protéines Rho ne sont pas *stricto sensu* des protéines oncogéniques, elles participent néanmoins à des voies métaboliques dont le dérèglement favorise la transformation cellulaire.

GAP^{tho} et tyrosine kinases de type non récepteur

Les protéines codées par les proto-oncogènes *c-src* et *c-abl* possèdent des domaines SH2 et SH3 (*Src homology*)

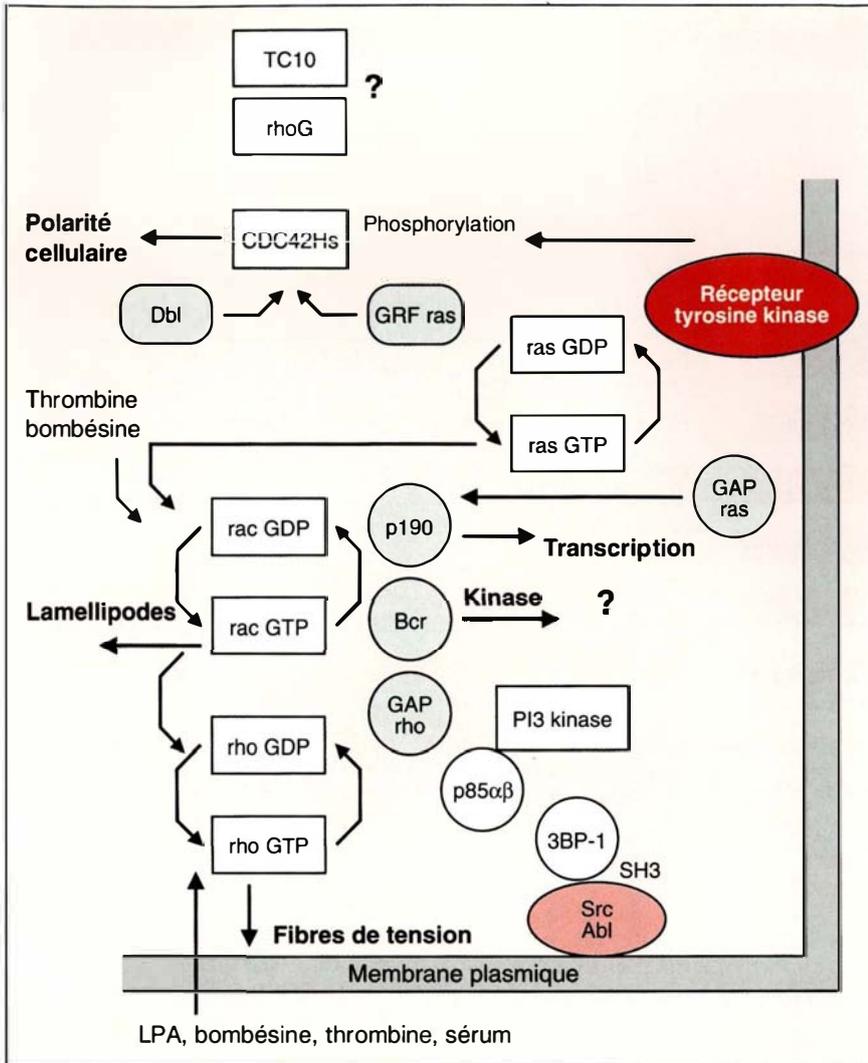


Figure 2. **Voies métaboliques dans lesquelles les membres de la famille Rho sont susceptibles d'agir.** La structure générale des protéines GAP dont l'activité a été testée (cercles grisés) ou non testée (cercles blancs), ainsi que des facteurs d'échanges (rectangles ovalisés et grisés) est représentée sur la figure 2. LPA : acide lysophosphatidique. PI 3 : phosphatidyl-inositol-3. SH3 : Domaine 3 d'homologie avec Src.

impliqués pour les uns dans la fixation de résidus phosphotyrosine, pour les autres dans la liaison aux fibres d'actine du cytosquelette. La délétion des domaines SH3 est suffisante pour activer le caractère transformant de ces deux protéines. Src et Abl appartiennent à la famille des tyrosine kinases membranaires, mais sans domaine récepteur. Src est particulièrement concentrée au niveau des plaques d'adhérence, d'où partent les fibres de tension, et son activation oncogénique engendre rapidement la formation de replis membranaires. Le

groupe de D. Baltimore a récemment identifié une nouvelle protéine (3BP-1) capable de fixer fortement des domaines SH3 de Src et Abl, et présentant des domaines GAP homologues à celui de Bcr [19]. 3BP-1 a donc la potentialité de coupler une activité GTPasique spécifique de membres de la famille Rho et une protéine tyrosine kinase de type non récepteur. Une telle association serait structurellement similaire au complexe métabolique récepteur tyrosine kinase/phospholipase C/GAP^{ras}/p21^{ras} [20], et pourrait donc impliquer

directement certaines protéines Rho dans une voie alterne de transduction de signal. Deux protéines supplémentaires, p85α et p85β, présentent une région GAP^{rho} analogue à Bcr, ainsi que des domaines SH2 et SH3 [21]. Elles sont chacune une sous-unité régulatrice du complexe enzymatique de la phosphatidylinositol (PI) 3 kinase, qui conduit à la synthèse de PI 3 phosphate et dérivés, et dont l'implication dans la transduction du signal mitogène est de plus en plus suspectée. Ces protéines présentent une structure très voisine de la GAP^{ras}, qui contient également des domaines SH2 et SH3. Curieusement, certaines translocations dans les leucémies myéloïdes chroniques ou lymphoïdes aiguës impliquent les gènes *c-abl* et *bcr*, et conduisent à la présence de protéines chimères Bcr/Abl dont l'activité tyrosine kinase est dérégulée. Or, il est maintenant établi que le domaine Bcr impliqué contient un nouveau type d'activité sérine kinase [22]. Est-ce cette nouvelle activité, et non celle portée par Abl, qui confère à la protéine chimère ses propriétés transformantes ? Plus encore, l'événement réciproque de la translocation est susceptible de produire une protéine chimère Abl/Bcr, dont le domaine GAP serait fusionné à la région NH₂-terminale de Abl, où sont localisés les domaines SH2 et SH3. Une telle protéine présenterait donc une structure très voisine de la GAP^{ras} et des p85α et β, et pourrait provoquer des interférences entre les voies métaboliques dans lesquelles Ras et Rho sont impliquées.

Régulation concertée entre les protéines Rho et Ras

Un facteur d'échange GDP/GTP de p21^{ras} a été récemment caractérisé par le groupe de Larry Feig [23]. Il s'agit d'une protéine de 140 kDa dénommée GRF^{ras} (*guanine nucleoside releasing factor for Ras p21*), dont la région carboxy-terminale est similaire à celle de la protéine de levure CDC25, facteur d'échange de Ras [24], et à celle de la protéine de drosophile Sos, impliquée dans la voie de signalisation du récepteur tyrosine kinase *sevenless* ([23], *m/s* n° 5, vol. 8, p. 471 et n° 10, vol. 8, p. 1097).

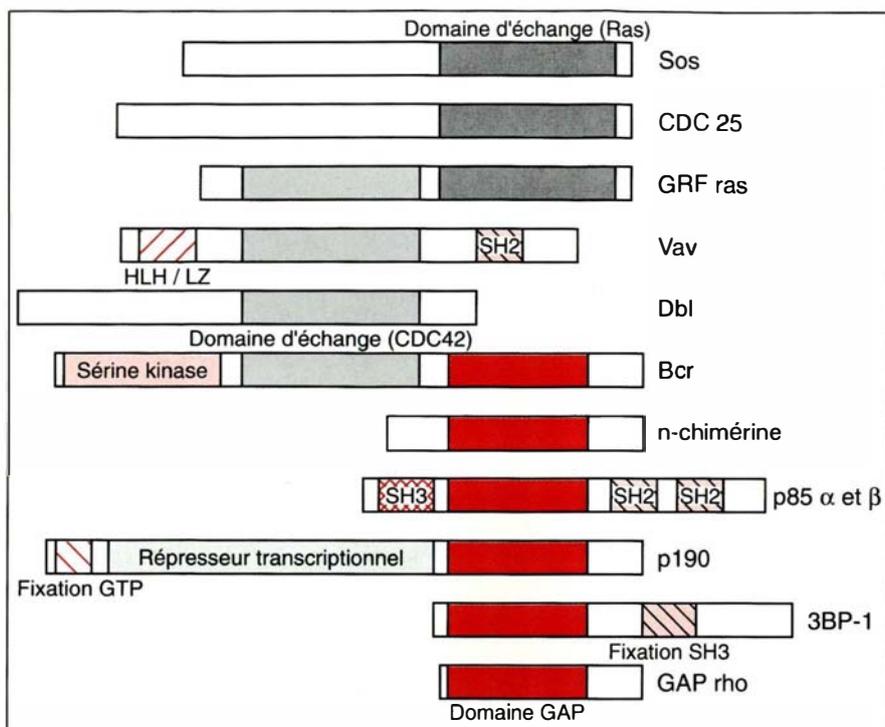


Figure 3. **Structure schématisée des protéines régulatrices potentielles de la famille Rho.** L'activité GAPrho, portée par la région figurée en noir, a été testée par GAPrho, Bcr, n-chimérine et p190. Le domaine d'homologie entre GRF^{Ras}, Dbl et Bcr est figuré en gris. SH2 et SH3 : Domaines 2 et 3 d'homologie avec Src. HLH/LZ : Domaines hélice/tour/hélice et leucine zipper.

Cependant, une portion de 230 acides aminés dans la région amino-terminale présente une grande similarité avec Bcr, Dbl et Vav (figure 3) [26]. Bien qu'il n'ait pas été encore prouvé que la p140 possède une activité d'échange sur CDC42Hs, cela suggère une interférence entre les régulations de Ras et CDC42Hs. Et l'histoire ne s'arrête pas là : la GAP^{Ras} est capable de former rapidement des complexes de hauts poids moléculaires dans des cellules traitées par l'EGF. L'un des complexes fait intervenir une protéine p190, l'autre une protéine fortement phosphorylée, pp62. Ces deux protéines ont été récemment caractérisées [27, 28]. Il ressort que pp62 possède un domaine de fixation à l'ARN similaire à celui d'une protéine localisée probablement dans les hnRNP. L'autre protéine, p190, intrigue encore davantage : elle contient dans sa région NH₂ un domaine de fixation du GTP, dans sa région COOH un domaine GAP similaire à Bcr, et dans sa région centrale, un domaine de 778 acides aminés similaire à plus de 95 % au

répresseur transcriptionnel du gène du récepteur des glucocorticoïdes (figure 3). On sait maintenant que p190 et RhoGAP sont actives sur Rho (A, B et C), Rac (1, 2) et CDC42Hs, tandis que Bcr n'est actif que sur Rac (1, 2) et CDC42Hs ([29] et A. Hall, communication personnelle). Toutefois, bien qu'aucune donnée ne permet actuellement de définir le rôle exact de cette p190 et la façon dont les protéines Rho interviennent, il s'agit là d'une pièce manquante du puzzle, assurant le lien entre les événements biochimiques cytoplasmiques engendrés par Ras et les régulations géniques nucléaires. Une autre pièce pourrait être apportée par la caractérisation récente d'une protéine de levure (RhoNUC) présentant toutes les caractéristiques d'une protéine Rho dans sa région amino-terminale, et d'une endonucléase dans sa région carboxy-terminale [30], cette dernière activité étant impliquée dans les mécanismes de recombinaison et de réparation de l'ADN.

En conclusion, les résultats récents

concernant les petites protéines G de la famille Rho font clairement participer ces dernières au contrôle de la polymérisation de l'actine dans différents types de structures cellulaires en réponse à divers stimuli mitogènes. On consolide donc le schéma de départ, reliant les protéines Ras à la transduction du signal mitogène et les protéines Rho au contrôle de la morphologie cellulaire. Cependant, la démarcation entre ces deux aspects reste passablement floue : l'activation via les récepteurs tyrosine kinase peut conduire à une stimulation mitogène de cellules fibroblastiques (cas le plus fréquemment décrit dans la littérature) ou à l'arrêt de la division cellulaire (cas du NGF sur les cellules de phéochromocytome PC12). Or, dans les deux cas, l'interaction ligand/récepteur est relayée par Ras de façon très semblable, sinon identique (*m/s* n° 5, vol. 8, p. 471 et n° 10, vol. 8, p. 1097). De même, le remaniement du cytosquelette intervient certes dans les processus de prolifération, mais aussi au cours de phénomènes de migration cellulaire non associés à la division. S'il semble toutefois que la famille Ras, eu égard à ses potentialités oncogéniques, a une position hiérarchique dominante sur la famille Rho au cours du cycle cellulaire (figure 2), on peut néanmoins spéculer sur la nécessité d'une activation coordonnée des deux voies Rho et Ras pour permettre la mise en place correcte du programme de division cellulaire. Une spéculation étayée par l'identification de protéines bifonctionnelles présentant des domaines Rho ou RhoGAP et des domaines d'activité nucléaire ■

RÉFÉRENCES

28. Wong W, Müller O, Clark P, et al. Molecular cloning and nucleic acid binding properties of the GAP-associated tyrosine phosphoprotein p62. *Cell* 1992 ; 69 : 551-8.
29. Settleman J, Albright CF, Foster LC, Weinberg RA. Association between GTPase activators for Rho and Ras families. *Nature* 1992 ; 359 : 153-4.
30. Chow TYK, Perkins AI, Resnick MA. Yeast RNC1 encodes a chimeric protein, RhoNUC, with a human rho motif and deoxyribonuclease activity. *Nucleic Acids Res* 1992 ; 20 : 5215-21.

Summary

Signal transduction, cytoskeleton, and small GTPases : the GAP connection

Since several years, small GTP-binding proteins of the Rho family are thought to be involved in cytoskeleton organization. Recent data evidence that two of them are directly responsible for actin polymerisation. RhoA mediates actin stress fiber formation in response to growth factors, while Rac controls RhoA activity as well as the formation of actin filaments in membrane ruffles. These studies thus identify Rac as a main regulatory factor that controls the actin network in response to extracellular factors. Like other Ras like proteins, Rho activity is down regulated by GAP (GTPase Activating Protein), and up regulated by GRF (Guanine Releasing Factor). Several cDNAs coding for proteins with GAP^{rho} or GRF domains have been recently isolated. The story gets much more complicated by the fact that they also contain other domains as diverse as SH2 or SH3, serine kinase, or transcriptional repressor regions. Might this new class of proteins constitute the missing link between the metabolic pathways signalling cellular division and cell shape reorganization? No doubt that this question will be soon answered.

Une journée Recherche dans le cadre d'EUROCANCER 93 se tiendra à Paris le 27 avril 1993, sous la présidence de P. Tambourin et M. Boiron, sur le thème « De la recherche oncologique à l'innovation thérapeutique » avec, entre autres, le patronage de l'INSERM.

Programme

- Introduction et présentation de la journée (P. Tambourin, Paris) ;
- Génétique des antigènes de rejet tumoral : nouvelles perspectives pour l'immunothérapie spécifique (Th. Boon, Bruxelles) ;
- Contrôle de l'expression génétique (M. Yaniv, Paris) ;
- Oncogènes mutants : cibles pour la thérapie (N. Lemoine, Londres) ;
- Le couple prolifération-différenciation (L. Degos et H. de Thé, Paris) ;
- Nouvelles cibles et nouveaux concepts en chimiothérapie anti-cancéreuse (N.W. Lobbezoo, Amsterdam) ;
- Chimio-prévention des cancers (A. Costa, Milan) ;
- Modulation de la résistance multidrogue associée à la P-glycoprotéine des cellules tumorales (G. Atassi, Paris) ;
- Chimio- et radioprotecteurs (M. Marty, Paris) ;
- Transfert de gènes (Th. Velu, Bruxelles et T. Blankenstein, Berlin) ;
- Anticorps monoclonaux humains (J. Banchemer, Lyon) ;
- Conclusion (M. Boiron, Paris).

L'examen des *posters* et leur discussion auront lieu au moment de la pause-déjeuner.

3 *posters* seront sélectionnés pour présentation orale par le jury scientifique d'Eurocancer : P. Tambourin (Président), F. Calvo, H. Fridman (INSERM U.255), S. Gisselbrecht, C.-J. Larsen (INSERM U.301), A. Tavitian (INSERM U.301), A. Tavitian (INSERM U.248), Th. Tursz.

Le prix du meilleur *poster* sera remis en fin de journée par P. Tambourin et le comité scientifique.

Les actes de cette journée seront disponibles sur forme d'une co-édition INSERM/John Libbey Eurotext dans la collection des Colloques de l'INSERM.

Pour renseignement complémentaire et inscription, s'adresser au secrétaire scientifique : M. Boiron, M. Marty, M.-C. Guédès, Centre Hayem, Hôpital Saint-Louis, 1, avenue Vellefaux, 75010 Paris. Tél. : 42.06.32.60 ou 42.03.36.56 • Télécopie : 42.41.14.70.

Un symposium international sur le thème « Ochratoxicose humaine et pathologies associées en Afrique et dans les pays en voie de développement » se tiendra à Bordeaux du 3 au 7 juillet 1993 avec le soutien de l'INSERM, de l'UNEP (United Nation Environment Program) et de la Région Aquitaine. Il réunira les principaux spécialistes internationaux de l'ochratoxine A (mycotoxine, contaminant alimentaire) (G. Dirheimer, H. Bartsch, M. Castegnaro, T. Kuiper-Goodman, P. Galtier, P. Bach, R. Plestina, B. Hald, P. Steyn, Y. Ueno, etc.) et des équipes de chercheurs ayant mis en évidence des maladies liées à l'ochratoxicose humaine et animale dans leurs pays respectifs (Afrique, Asie).

Les objectifs principaux sont les suivants :

- savoir si la néphropathie endémique des Balkans, vraisemblablement due à l'ochratoxine A, existe en dehors de cette aire géographique ;
- quelles sont les pathologies associées à l'ochratoxicose dans les pays en voie de développement, en comparaison avec ce qui est observé dans les Balkans ;
- comment expliquer la spécificité rénale de cette mycotoxicose (néphrotoxicité et tumeurs) ;
- quels sont les moyens de prévention et/ou de traitement de l'ochratoxicose (25 à 60 % au moins des personnes sont OTA-positives en Europe) ;
- comment mettre en place un réseau Nord-Sud de collaboration sur ce sujet qui concerne aussi bien les pays industrialisés que les pays sous-développés.

Les actes paraîtront pour le symposium, sous forme d'une co-édition INSERM/John Libbey Eurotext dans la collection des Colloques de l'INSERM.

Pour tout renseignement et inscription, s'adresser avant le 28 février 1993 au Pr. E. E. Creppy, Laboratoire de Toxicologie, Université de Bordeaux II, 33076 Bordeaux cedex, « Tél. : 56.91.84.07 » Télécopie : 56.91.14.16.

TIRÉS A PART

Ph. Fort.

m/s n° 1 vol. 9, janvier 93