



facteur de transcription dFOXO, et le niveau d'expression d'une de ses cibles (4E-BP, un inhibiteur de la synthèse protéique), montrent que l'activité de l'IIS est inversement corrélée au taux d'ecdysone circulante. En freinant le taux de croissance *via* dFOXO, cette hormone stéroïdienne constitue une force antagoniste à la croissance tissulaire médiée par la voie de signalisation IGF/DILP-InR-PI3K. Ces effets de l'ecdysone sont relayés en partie par les fonctions de régulation de la croissance du corps gras larvaire.

En conclusion, cette étude révèle l'existence d'interactions complexes entre les voies de signalisation de l'insuline et de l'ecdysone pour la détermination de la taille finale de l'organisme (Figure 2B). La voie de signalisation de l'insuline stimule la production d'ecdysone dans la glande en anneau ; l'ecdysone en retour inhibe l'activité de la voie de signalisation de l'insuline et la croissance des tissus larvaires, et promeut les transitions larvaires et la maturation. Ces interactions entre les deux voies permettent le couplage entre le taux de croissance et la durée du développement grâce à un effecteur

commun, l'ecdysone. La signalisation insuline relayant l'information nutritionnelle dans l'organisme, ce mécanisme permet également de conserver le couplage entre la croissance et le temps de développement en condition de carence nutritionnelle. Enfin, ces résultats définissent la molécule dFOXO comme un nouveau point de convergence moléculaire entre la signalisation des récepteurs nucléaires aux hormones stéroïdiennes et la voie des IGF/insulines. Une telle interaction fonctionnelle, si elle est conservée chez l'homme, pourrait jouer un rôle important dans des pathologies cancéreuses et métaboliques où ces signalisations sont impliquées. ♦

Steroids, insulin and growth: the flies dope the research

RÉFÉRENCES

1. Leever SJ, McNeill H. Controlling the size of organs and organisms. *Curr Opin Cell Biol* 2005 ; 17 : 604-9.
2. Johnston LA, Gallant P. Control of growth and organ size in *Drosophila*. *Bioessays* 2002 ; 24 : 54-64.
3. Rogulja D, Irvine KD. Regulation of cell proliferation by a morphogen gradient. *Cell* 2005 ; 123 : 449-61.
4. Stern D. Body-size control : how an insect knows it has grown enough. *Curr Biol* 2003 ; 13 : R267-9.
5. Nijhout HF. The control of growth. *Development* 2003 ; 130 : 5863-7.
6. Garofalo RS. Genetic analysis of insulin signaling in *Drosophila*. *Trends Endocrinol Metab* 2002 ; 13 : 156-62.
7. Rulifson EJ, Kim SK, Nusse R. Ablation of insulin-producing neurons in flies : growth and diabetic phenotypes. *Science* 2002 ; 296 : 1118-20.
8. Junger MA, Rintelen F, Stocker H, et al. The *Drosophila* Forkhead transcription factor FOXO mediates the reduction in cell number associated with reduced insulin signaling. *J Biol* 2003 ; 2 : 20.
9. Puig O, Marr MT, Ruhf ML, Tjian R. Control of cell number by *Drosophila* FOXO : downstream and feedback regulation of the insulin receptor pathway. *Genes Dev* 2003 ; 17 : 2006-20.
10. Hafen E. Interplay between growth factor and nutrient signaling : lessons from *Drosophila* TOR. *Curr Top Microbiol Immunol* 2004 ; 279 : 153-67.
11. Ikeya HA. *The regulation of Drosophila insulin like peptides gene expression in neurosecretory cells*. 43rd Annual *Drosophila* research conference. San Diego, 2002.
12. Kim SK, Rulifson EJ. Conserved mechanisms of glucose sensing and regulation by *Drosophila* corpora cardiaca cells. *Nature* 2004 ; 431 : 316-20.
13. Colombani J, Arquier N, Leopold P. Les mouches gardent la ligne : slimfast, le corps gras et le contrôle humoral de la croissance. *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 141-3.
14. Colombani J, Raisin S, Pantalacci S, et al. A nutrient sensor mechanism controls *Drosophila* growth. *Cell* 2003 ; 114 : 739-49.
15. Shingleton AW, Das J, Vinicius L, Stern DL. The temporal requirements for insulin signaling during development in *Drosophila*. *PLoS Biol* 2005 ; 3 : e289.
16. Riddiford LM. Hormone receptors and the regulation of insect metamorphosis. *Receptor* 1993 ; 3 : 203-9.
17. Thummel CS. Files on steroids : *Drosophila* metamorphosis and the mechanisms of steroid hormone action. *Trends Genet* 1996 ; 12 : 306-10.
18. Colombani J, Bianchini L, Layalle S, et al. Antagonistic actions of ecdysone and insulins determine final size in *Drosophila*. *Science* 2005 ; 310 : 667-70.

NOUVELLE

Les protéines G hétérotrimériques au cours de la division asymétrique chez la drosophile

Marion Ségalen, Nicolas David, Yohanns Bellaïche

Institut Curie, UMR144,
26, rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France.
yohanns.bellaiche@curie.fr

► Les métazoaires sont constitués d'un grand nombre de types cellulaires différenciés. Une division est dite asymétrique lorsqu'elle engendre des cellules filles d'identités différentes. Ainsi, la division asymétrique est un mode de diversification cellulaire fondamental au cours du développement

[1], notamment pour permettre le maintien de cellules souches. L'un des mécanismes de divisions asymétriques nécessite l'acquisition d'une polarité cellulaire qui se manifeste par la localisation asymétrique de molécules, appelées déterminants cellulaires. Le fuseau s'oriente ensuite pour permet-

tre la ségrégation des déterminants cellulaires dans une seule des cellules filles lui conférant ainsi une identité différente de sa sœur [2]. L'étude des divisions asymétriques chez les vertébrés et les invertébrés a mis en lumière le rôle conservé des protéines G hétérotrimériques au cours de ce processus.

Les protéines G hétérotrimériques sont composées de trois sous-unités, α , β , γ . La sous-unité α peut se lier au GDP ou au GTP. Lorsque $G\alpha$ est liée au GDP et associée au dimère $G\beta\gamma$, il s'agit de la conformation inactive. Classiquement, les protéines G hétérotrimériques sont activées par des récepteurs à sept domaines transmembranaires. Lorsqu'un ligand se fixe au récepteur, celui-ci joue alors le rôle de facteur d'échange de guanine (GEF) et catalyse l'échange du GDP par du GTP sur la sous-unité $G\alpha$. $G\alpha$ associé au GTP ($G\alpha$ -GTP) se sépare de $G\beta\gamma$. $G\alpha$ -GTP et $G\beta\gamma$ activent différentes voies de signalisation [3]. L'étude des divisions a mis en lumière l'existence d'un nouveau mode d'activation des protéines G hétérotrimériques indépendamment des récepteurs à sept domaines transmembranaires.

Nous étudions les mécanismes d'activation des protéines G hétérotrimériques lors de la division asymétrique de la cellule pl, précurseur des organes mécanosensoriels présents sur le thorax dorsal de drosophile. La cellule pl se divise asymétriquement pour donner naissance aux cellules plla et

pllb qui se divisent elles-mêmes asymétriquement pour donner naissance aux 4 cellules, neurone, soie, socle et gaine, de l'organe [4].

Avant la division asymétrique de la cellule pl, une polarité cellulaire est établie sous le contrôle de Frizzled (Fz) un récepteur à sept domaines transmembranaires, accumulé au cortex apical postérieur de la cellule pl. Frizzled est responsable de l'accumulation de différents complexes au cortex antérieur et postérieur de la cellule pl en division [5]. Un premier, composé de Partner of Inscuteable (Pins), $G\alpha_i$ et Disc-large (Dlg), se localise au cortex antérieur. Un deuxième complexe composé de Bazooka (Baz, homologue de Par-3) et DmPar-6, ainsi que de la protéine kinase atypique DaPKC se localise au cortex postérieur. Ces deux complexes définissent deux domaines distincts mutuellement exclusifs, au cortex antérieur et postérieur. Ils permettent ainsi la localisation correcte des déterminants cellulaires Numb, et de sa protéine adaptatrice Partner of Numb (Pon) au cortex antérieur de la cellule pl [5] (Figure 1).

Le mécanisme d'action du complexe Dlg/Pins/ $G\alpha_i$ est partiellement élucidé.

Au pôle antérieur, Dlg interagit directement avec Pins et ancre ainsi Pins au cortex antérieur. Le modèle proposé est que Pins interagit directement avec $G\alpha_i$ complexé au GDP et dissocie ainsi $G\alpha_i$ -GDP du dimère formé de $G\beta13F$ et $G\gamma1$. La voie de signalisation $G\beta\gamma$ est ainsi activée et un complexe Pins- $G\alpha_i$ -GDP serait engendré au cortex antérieur de la cellule pl [6]. L'identification de Ric-8, une protéine cytoplasmique, comme interacteur direct de $G\alpha_i$ et la caractérisation de son activité GEF pour $G\alpha_i$ chez les mammifères [7] nous a poussé à analyser la fonction de son homologue de drosophile au cours de la division de la cellule pl. Cette étude nous a conduit à découvrir un rôle de Ric-8 dans la localisation des protéines G hétérotrimériques et à identifier un mécanisme d'orientation du fuseau mitotique dans le plan de l'épithélium [8].

Ric-8 est requis pour la localisation corticale de $G\alpha_i$ et de $G\beta13F$

Nous avons tout d'abord mis en évidence que Ric-8 était requis pour localiser Numb et Pins au cortex antérieur et pour exclure Baz du cortex antérieur. Ric-8 polarise donc la cellule pl et sa perte de fonction se traduit par un phénotype identique à celui de $G\alpha_i$. Cette étude a également permis d'observer un phénotype surprenant dans les cellules mutantes pour *ric-8*. En effet, en l'absence de Ric-8, les sous-unités $G\alpha_i$ et $G\beta13F$ ne sont plus accumulées au cortex des cellules pl ainsi que des cellules épithéliales voisines. Les quantités de protéines $G\alpha_i$ et $G\beta13F$ étant similaires dans les tissus sauvages et mutants pour *ric-8*, Ric-8 agirait sur la localisation de ces sous-unités. Nous avons ainsi identifié un nouveau rôle inattendu de Ric-8 : il contrôle la localisation de sous-unités des protéines G hétérotrimériques. Il a été montré que la formation du trimère $G\alpha\beta\gamma$ ainsi que des modifications lipidiques des sous-unités $G\alpha$ et $G\gamma$

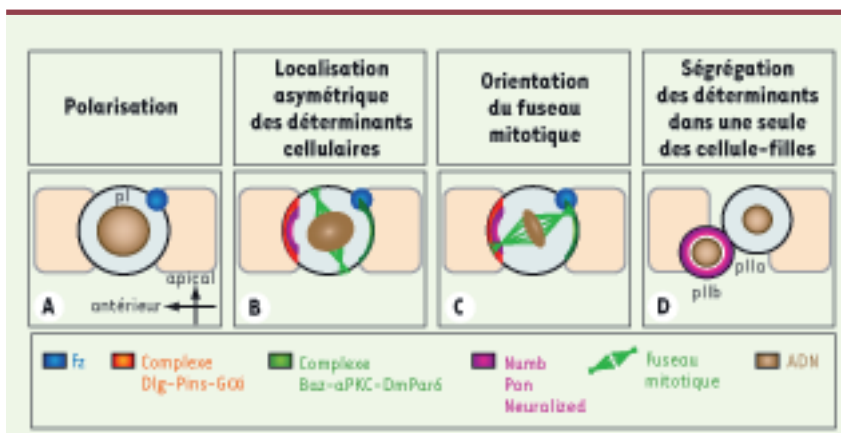


Figure 1. Les différentes étapes de la division asymétrique de la cellule pl. **A.** La polarité planaire de la cellule pl se manifeste par la localisation asymétrique postérieure de Fz (bleu). **B.** Fz permet alors la localisation du complexe Dlg-Pins-Gai (orange) au cortex antérieur et de Baz-DaPKC-Par6 (vert) au cortex postérieur. **C.** Ces complexes sont requis pour localiser asymétriquement au cortex antérieur les déterminants cellulaires Neuralized (Neur) et Numb ainsi que Partner of Numb (Pon), un adaptateur de Numb. Neur, Numb et Pon sont représentés en violet. **D.** Le fuseau mitotique s'oriente ensuite afin de permettre la ségrégation de Neur, Numb et Pon uniquement dans la cellule antérieure qui adoptera l'identité pllb.

sont nécessaires à la localisation corticale des sous-unités $G\alpha$, $G\beta$ et $G\gamma$ [9]. En tant que nouvel acteur dans la localisation corticale, Ric-8 pourrait agir sur une de ces deux étapes, la trimérisation ou les modifications lipidiques. Le rôle de Ric-8 dans la localisation corticale des protéines G hétérotrimériques a été confirmé par les groupes de J. Knoblich [10] et W. Chia [11] travaillant sur la drosophile et le groupe de P. Gonczy [12] travaillant sur le nématode. L'équipe de J. Knoblich [10] a de plus proposé que Ric-8 pourrait agir comme un chaperon pour permettre la formation du trimère.

Deux voies s'opposent pour contrôler l'orientation du fuseau mitotique

Lors des divisions asymétriques, l'orientation du fuseau mitotique

permet la ségrégation des déterminants cellulaires dans une seule des cellule-filles (Figure 1). Au cours de la division de la cellule pl, le fuseau est orienté le long de l'axe antéro-postérieur et il est de plus légèrement incliné le long de l'axe apico-basal, le centrosome postérieur étant toujours plus apical que le centrosome antérieur. L'orientation le long de l'axe antéro-postérieur est dépendante de Fz [13], les mécanismes contrôlant l'orientation le long de l'axe apico-basal de l'épithélium étaient jusqu'à présent inconnus.

Ric-8, Pins et $G\alpha_i$ contrôlant la polarité de la cellule pl, nous avons voulu savoir s'ils étaient nécessaires pour orienter le fuseau mitotique. Ric-8, Pins et $G\alpha_i$ ne contrôlent pas l'orientation antéro-postérieure du fuseau mitotique dans la cellule pl. En revanche, dans les cellules mutantes pour

ric-8, *pins* ou $G\alpha_i$, le fuseau mitotique est beaucoup plus incliné le long de l'axe apico-basal que dans les cellules sauvages, toujours avec le centrosome postérieur plus apical. Ainsi, la division n'a plus lieu dans le plan de l'épithélium et l'une des cellule-filles est plus apicale que l'autre. $G\alpha_i$ et ses régulateurs, Pins et Ric-8, maintiennent donc le fuseau mitotique dans le plan de l'épithélium, lors de la division de la cellule pl. Fz exerce une activité antagoniste à celle de la voie de $G\alpha_i$ pour contrôler l'inclinaison du fuseau mitotique. En effet dans les cellules doubles mutantes pour la voie de $G\alpha_i$, et pour *fz*, le fuseau mitotique devient plan. Fz est responsable de l'inclinaison du fuseau mitotique dans les cellules mutantes pour des acteurs de la voie de $G\alpha_i$. Fz est également responsable de la légère inclinaison du fuseau mitotique dans les cellules sauvages.

Notre étude permet de proposer un modèle à deux forces contrôlant l'orientation du fuseau mitotique dans les cellules pl (Figure 2). Fz contrôle l'orientation antéro-postérieure du fuseau mitotique et tend à l'incliner le long de l'axe apico-basal alors que la voie de signalisation de $G\alpha_i$ assure le maintien du fuseau dans le plan de l'épithélium. Des travaux récents réalisés chez les vertébrés mettent en évidence que la voie de signalisation des récepteurs de la famille Fz [14] ainsi que les protéines G hétérotrimériques [15] orientent le fuseau mitotique au cours des divisions, symétriques ou asymétriques. L'orientation du fuseau mitotique dépend de forces de traction qui s'exercent sur les microtubules astraux du fuseau. La caractérisation des mécanismes moléculaires qui sous-tendent ces forces en aval du récepteur Fz ou des protéines G dans la cellule pl permettra une meilleure compréhension de mécanismes conservés d'orientation du fuseau mitotique. ♦

The heterotrimeric G proteins during asymmetric cell division in Drosophila

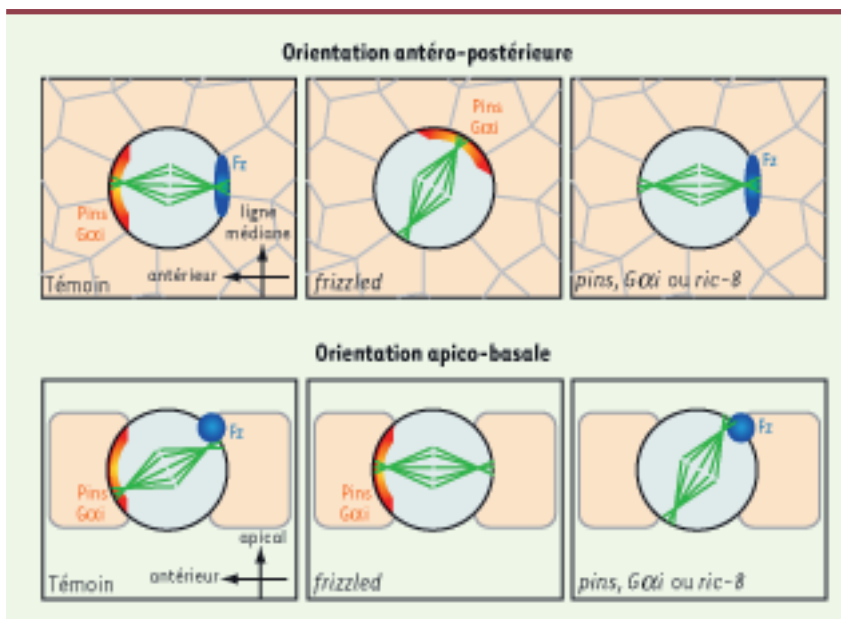


Figure 2. Modèle pour l'orientation du fuseau mitotique lors de la division asymétrique de la cellule pl. Représentation schématique de l'orientation du fuseau mitotique dans des cellules témoins, des cellules mutantes pour *frizzled* et des cellules mutantes pour *pins*, $G\alpha_i$ ou *ric-8*. Dans les cellules sauvages, le fuseau est orienté le long de l'axe antéro-postérieur par Frizzled. Son orientation apico-basale dépend de deux activités antagonistes. Le fuseau est alors légèrement incliné dans le plan de l'épithélium. En l'absence de Frizzled, l'orientation antéro-postérieure du fuseau devient aléatoire et le fuseau devient plan. Dans les cellules mutantes pour *pins*, $G\alpha_i$ ou *ric-8*, l'orientation antéro-postérieure du fuseau n'est pas altérée, néanmoins le fuseau est très incliné dans le plan de l'épithélium.

RÉFÉRENCES

1. Horvitz HR, Herskowitz I. Mechanisms of asymmetric cell division: two Bs or not two Bs, that is the question. *Cell* 1992; 68 : 237-55.
2. Ahringer J. Control of cell polarity and mitotic spindle positioning in animal cells. *Curr Opin Cell Biol* 2003; 15 : 73-81.
3. Wess J. G-protein-coupled receptors : molecular mechanisms involved in receptor activation and selectivity of G-protein recognition. *FASEB J* 1997; 11 : 346-54.
4. Fichelson P, Gho M. The glial cell undergoes apoptosis in the microchaete lineage of *Drosophila*. *Development* 2003; 130 : 123-33.
5. Bellaïche Y, Radovic A, Woods DF, et al. The partner of Inscuteable/Discs-large complex is required to establish planar polarity during asymmetric cell division in *Drosophila*. *Cell* 2001; 106 : 355-66.
6. Bernard ML, Peterson YK, Chung P, et al. Selective interaction of AGS3 with G-proteins and the influence of AGS3 on the activation state of G-proteins. *J Biol Chem* 2001; 276 : 1585-93.
7. Tall GG, Krumins AM, Gilman AG. Mammalian Ric-8A (synembryn) is a heterotrimeric G α protein guanine nucleotide exchange factor. *J Biol Chem* 2003; 278 : 8356-62.
8. David N, Martin CA, Segalen M, et al. *Drosophila* Ric8 regulates G α i cortical localisation to promote G α i-dependent planar orientation of the mitotic spindle during asymmetric cell division. *Nat Cell Biol* 2005; 7 : 1083-90.
9. Michaelson D, Ahearn I, Bergo M, et al. Membrane trafficking of heterotrimeric G proteins via the endoplasmic reticulum and Golgi. *Mol Biol Cell* 2002; 13 : 3294-302.
10. Hampoelz B, Hoeller O, Bowman SK, et al. *Drosophila* Ric-8 is essential for plasma-membrane localization of heterotrimeric G proteins. *Nat Cell Biol* 2005; 7 : 1099-105.
11. Wang H, Ng KH, Qian H, et al. Ric-8 controls *Drosophila* neural progenitor asymmetric division by regulating heterotrimeric G proteins. *Nat Cell Biol* 2005; 7 : 1091-8.
12. Afshar K, Willard FS, Colombo K, et al. Cortical localization of the G α protein GPA-16 requires RIC-8 function during *C. elegans* asymmetric cell division. *Development* 2005; 132 : 4449-59.
13. Gho M, Schweisguth F. Frizzled signalling controls orientation of asymmetric sense organ precursor cell divisions in *Drosophila*. *Nature* 1998; 393 : 178-81.
14. Gong Y, Mo C, Fraser SE. Planar cell polarity signalling controls cell division orientation during zebrafish gastrulation. *Nature* 2004; 430 : 689-93.
15. Du Q, Macara IG. Mammalian Pins is a conformational switch that links NuMA to heterotrimeric G proteins. *Cell* 2004; 119 : 503-16.

NOUVELLE

Mutations des gènes du système rénine-angiotensine et dysgénésie tubulaire rénale

Olivier Gribouval, Corinne Antignac, Marie-Claire Gubler

O Gribouval, M.C. Gubler : Inserm U574.

C. Antignac : Inserm U574

et Département de Génétique.

Hôpital Necker-Enfants Malades,

149, rue de Sèvres,

75015 Paris, France.

antignac@necker.fr

gubler@necker.fr

> La dysgénésie tubulaire rénale (DTR) autosomique récessive est une néphropathie rare du fœtus se traduisant par une anurie précoce et persistante, responsable d'oligoamnios sévère et du cortège de malformations - dysmorphie faciale, déformation des membres et hypoplasie pulmonaire - constituant la séquence de Potter. Elle est caractérisée histologiquement par l'absence ou le nombre très réduit de tubes proximaux identifiables (Figure 1A). Depuis la description princeps par Allanson [1], le tableau clinique a été complété : un défaut d'ossification de la voûte crânienne est fréquemment présent, et une hypotension sévère et réfractaire aux traitements est signalée par quelques auteurs [2]. Des anomalies vasculaires rénales sont constamment observées. Elles sont caractérisées par un épaississement marqué de la paroi musculaire des artères préglomérulaires et interlobulaires. L'évolution de la maladie est toujours sévère, la plupart des patients mourant *in utero*, ou dans les 48 heures sui-

vant la naissance, en anurie et insuffisance respiratoire. Des survies de quelques jours ou semaines ont été observées chez un très petit nombre de patients dialysés dès la ils sont restés anuriques. Seuls, à notre connaissance, deux patients ont récupéré une diurèse, mais sont en insuffisance rénale chronique ou terminale.

Sur la piste du système rénine-angiotensine ?

L'étiologie de ce syndrome est longtemps restée mystérieuse. Cependant, l'observation de lésions tubulaires semblables dans les reins fœtaux ischémiques [3, 4] et le développement d'un phénotype clinique et pathologique similaire chez les fœtus exposés à des drogues bloquant la formation ou l'action de l'angiotensine II [5, 6], situations s'accompagnant d'une hyperproduction de rénine, ont orienté nos recherches vers le système rénine-angiotensine (SRA). Ce système est constitué d'un ensemble de protéines dont l'acti-

vation aboutit à la production du peptide actif, l'angiotensine II, qui joue un rôle majeur dans la régulation de la pression artérielle et du bilan sodé. L'angiotensinogène (AGT) synthétisé par les hépatocytes, est clivé dans la circulation par la rénine, une aspartyl protéase, synthétisée et libérée par les cellules juxtaglomérulaires des artérolles afférentes du cortex rénal. L'angiotensine I - le décapeptide résultant de ce clivage - est convertie en angiotensine II (AII) par l'enzyme de conversion (ECA) produite par l'endothélium vasculaire et, dans le rein, par l'épithélium tubulaire proximal. L'angiotensine II se lie à deux types de récepteurs, l'AT1 médiateur de son effet vasopresseur, et l'AT2 ayant une activité antagoniste. La rénine constitue l'étape limitante de cette cascade catalytique et son taux de sécrétion dépend des conditions hémodynamiques rénales et du flux sodé dans le tube distal du rein. En outre, sa production est régulée négativement par l'AII. Tous les éléments du SRA