

## Les fonctions du cytosquelette

Le cytosquelette est responsable de la forme et de la mobilité de la cellule. Certains de ses constituants peuvent être des marqueurs spécifiques de l'origine histologique des tumeurs.

**Denise Paulin**

Professeur de biologie moléculaire  
à l'université Paris-VII.

### RÉFÉRENCES

1. Goldman R, Pollard T, Rosenbaum J, eds. *Cell Motility*. Cold Spring Harbor Laboratory. New York: Cold Spring Harbor, 1976.
2. Dustin P. *Microtubules*. New York: Springer Verlag, 1978.
3. Lazarides E. Intermediate filaments: chemical heterogeneity in differentiation. *Cell* 1981; 23: 649-50.
4. Bornens M, Karsenti E. The centrosome. In: Bittar E, ed. *Membranes, structure and functions*, vol. 6. New York: Wiley & Sons, 1984: 160-4.
5. Schilwa M. Proteins associated with cytoplasmic actin. *Cell* 1981; 25: 587-90.
6. Tilney LG, Hatano S, Ishikawa H, Mooseker M. The polymerization of actin: its role in the generation of the acrosomal process of certain equine sperm. *J Cell Biol* 1973; 59: 109-26.

### ADRESSE

Institut Pasteur, génétique cellulaire, 25, rue du Docteur-Roux, 75015 Paris.

**L**e cytosquelette comprend un ensemble dynamique de réseaux fibreux répartis dans le cytoplasme des cellules eucaryotes. Trois catégories de fibres ont pu être caractérisées par leurs critères physiques, biochimiques et immunologiques permettant la mesure du diamètre des fibres, la détermination du point isoélectrique et du poids moléculaire des sous-unités, la visualisation de leur localisation à l'aide d'anticorps spécifiques fluorescents (figure 1).

Deux de ces réseaux, les *microtubules* et les *microfilaments*, sont en continues construction et destruction, le troisième réseau constitué des *filaments intermédiaires* est beaucoup plus stable; tous sont constitués de fibres formées de sous-unités polypeptidiques d'un type, qui s'auto-assemblent selon un ordre rigoureux pour donner des structures plus ou moins labiles (tableau I) [1, 2, 3]. La longueur, l'assemblage, la polarité des filaments, la liaison avec les constituants cellulaires se font par l'intermédiaire de protéines associées qui assurent aussi l'interconnexion des réseaux. Le cytosquelette est impliqué dans de nombreuses fonctions et l'on commence seulement à découvrir les mécanismes moléculaires qui les régissent.

### Cytosquelette et mouvement

Puisque le cytosquelette est le support du mouvement, il est impliqué dans toutes les fonctions liées à la mobilité : déplacement et position-

nement des organites intracellulaires, mobilité des récepteurs membranaires, changement de forme, polarité, migration et division cellulaire en sont quelques exemples. Le cytosquelette assure aussi la répartition de l'espace cytoplasmique et l'organisation interne cellulaire. Bien que l'on attribue à chaque réseau des activités spécifiques, il est clair que les fonctions contractiles, d'orientation ou de soutien dépendent des trois réseaux. Si la locomotion proprement dite dépend du système contractile de type actine, la coordination des événements est contrôlée par le système microtubulaire qui joue un rôle clé dans la polarité cellulaire.

L'affinité des molécules de tubuline libres est différente pour chaque extrémité du polymère en croissance, ce qui conduit le filament à avoir une extrémité positive qui grandit et une extrémité négative qui raccourcit. Le résultat est que la taille du polymère reste inchangée mais les molécules sont transloquées d'une extrémité à l'autre. Dans la cellule, la concentration de molécule de tubuline libre est très faible et l'augmentation de taille n'est possible qu'à partir de microtubule ancré par l'extrémité négative; c'est un des rôles du centre organisateur qui protège l'extrémité négative du microtubule et empêche la dépolymérisation [4].

La variété des mouvements cellulaires dépend des différentes possibilités d'organisation des molécules d'actine pour construire des gels, des fibres, des câbles qui vont servir d'architecture à des structures mobiles. Celles-ci se font par l'in-

termédiaire de protéines qui s'associent aux molécules d'actine pour contrôler son état d'agrégation et la flexibilité des fibres. Un grand nombre d'entre elles servent à « brancher » les filaments pour en faire un gel élastique. D'autres protéines sensibles à la présence du calcium modulent l'état de l'actine cellulaire en modifiant le degré de rigidité du filament, certaines protéines servent à bloquer l'actine sous forme de monomères; jusqu'à 50% de l'actine se trouve sous une forme non-polymérisée dans le cytoplasme. Une vingtaine de ces protéines associées à l'actine ont été purifiées et caractérisées, et leur nombre ne fera qu'augmenter dans l'avenir. D'autres protéines, composants essentiels de la fibre musculaire, myosine, tropomyosine, actinine, sont aussi présentes dans les cellules non-musculaires et sont associées à la fibre d'actine [5]. Certains mouvements répétitifs dépendent de structures permanentes spécialisées, c'est le cas des cils qui battent, des myofibrilles qui glissent, mais des structures labiles peuvent apparaître à un moment précis de la vie des cellules et disparaître ensuite, on peut rappeler par exemple la formation temporaire du

fuseau mitotique de tubuline ou de l'anneau contractile d'actine qui se forment au moment de la division.

La construction des filaments peut se faire lentement au cours du cycle cellulaire aussi bien que d'une façon explosive. A raison d'une croissance de 10  $\mu\text{m}$  par seconde dans le cas de la réaction acrosomale du système du sperme d'oursin, les filaments d'actine sont polymérisés en quelques secondes [6].

D'autres types de mouvements se font aussi en quelques secondes ou fraction de secondes, il s'agit des déformations de la membrane qui ondule avec apparition et disparition de petites épines sur la périphérie cellulaire.

### — Désorganisation du cytosquelette —

L'activité d'un gène viral peut désorganiser le cytosquelette. L'interaction des filaments d'actine s'exerce aussi avec des protéines membranaires, la vinculine, concentrée au niveau des plaques d'adhérence de la cellule au support, et l'actinine protéine liée à la membrane interne. Une protéine externe à la cellule, la fibronectine est arrangée sur les cellules norma-

Tableau I

#### CARACTÉRISTIQUES DES TROIS RÉSEAUX

**RÉSEAU DE MICROFILAMENTS** : diamètre 7 nm  
poids moléculaire de l'actine = 43 kd, variants isoélectriques *a, b, g*  
 $n$  (monomères d'actine - ATP)  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++} \rightleftharpoons$  filaments d'actine - ADP +  $n\text{PO}_4^{4-}$   
filaments d'actine + protéines de liaison (ex. : fimbrine)  $\rightarrow$  réseau branché  
filaments d'actine + protéines de contrôle (ex. : gelsoline),  $\text{Ca}^{++} \rightarrow$  petits filaments  
filaments d'actine + protéines gélifiantes (ex. : filamine)  $\rightarrow$  gel  
filaments d'actine + protéines contractiles (ex. : myosine)  $\rightarrow$  mouvement

**RÉSEAU DE MICROTUBULES** : diamètre 25 nm  
hétérodimère de tubuline *a, b*. Poids moléculaire du monomère : 50 kd  
 $n$  (GTP - dimère tubuline)  $\tau$ , MAPS,  $\text{Mg}^{++} \rightleftharpoons$  microtubule - GDP  
protéines associées = nexine, dynéine...

**RÉSEAU DE FILAMENTS INTERMÉDIAIRES** : diamètre 10 nm

#### **homopolymères**

monomères de vimentine (55 kd)  $\rightarrow$  filaments de vimentine

monomères de desmine (50 kd)  $\rightarrow$  filaments de desmine

monomères de GFA (52 kd)  $\rightarrow$  filaments gliaux

#### **hétéropolymères**

deux ou trois types de kératine  $\rightarrow$  filaments de cytokeratines  
(de 30 à 68 kd de PM)

trois polypeptides (70 kd, 150 kd et 210 kd)  $\rightarrow$  neurofilaments

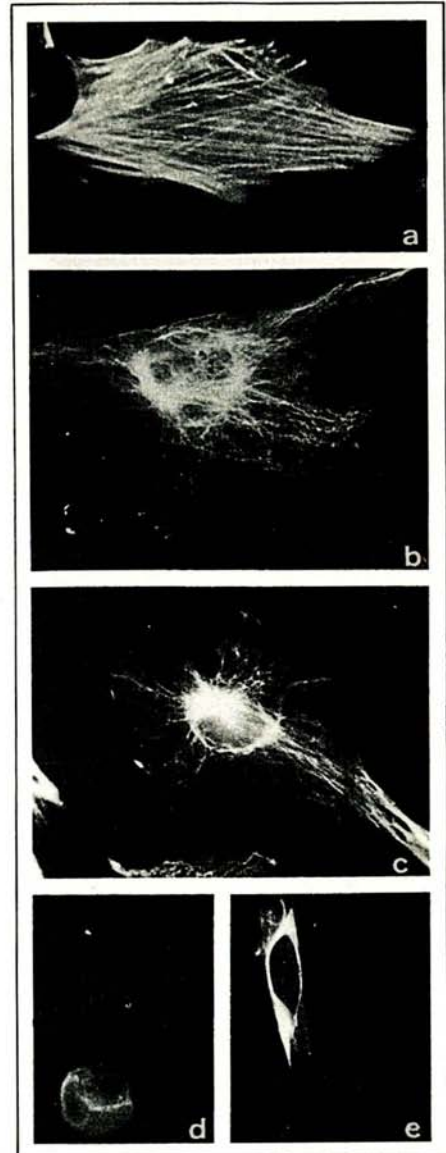


Figure 1. Réseau de microfilaments d'actine (a), de microtubules (b) et de filaments intermédiaires (c) visualisés par immunofluorescence à l'aide d'anticorps spécifiques de chacun des réseaux. Les cellules traitées par la colchicine n'ont plus de réseaux structurés de tubuline (d), et la vimentine (e) est agrégée autour du noyau.



## RÉFÉRENCES

7. Hynes R. Phosphorylation of vinculin by pp60src. What might it mean? *Cell* 1982; 28: 437-8.
8. Besson J, Sooneborn D. Cytoplasmic inheritance of the organization of the cell cortex of paramyces. *Proc Natl Acad Sci USA* 1965; 53: 275-82.
9. Boivin P. Maladies congénitales du squelette de la membrane érythrocytaire. *Médecine-Sciences* 1985; 1: 134-40.
10. Afzelius B. A human syndrome caused by immotile cilia. *Science* 1976; 193: 317-9.
11. Rungger-Brandt E, Gabbiani G. The role of cytoskeletal and cytocontractile elements in pathological processes. *Am J Pathol* 1983; 110: 361-94.
12. Gabbiani G, Schmid E, Winter E, et al. Vascular smooth muscle cells differ from other smooth cells: predominance of vimentin filaments and a specific  $\alpha$  type actin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 298-302.
13. Anderton B. Intermediate filaments: a family of homologous structure. *J Muscle Res Cell Motil* 1981; 2: 141-50.
14. Moll R, Franke W, Schiller D, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratin polypeptides: pattern of expression of cytokeratin in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982; 31: 11-24.

les en un réseau qui se juxtapose à celui des fibres d'actine et on suppose qu'une liaison physique transmembranaire est établie avec un composé lié à la vinculine. La destruction de ce lien entraîne des effets profonds et provoque la désorganisation du cytosquelette interne.

Au cours de la multiplication cellulaire, les formes de la cellule et son degré d'étalement passent par des étapes contrôlées par des mécanismes complexes. Chez les cellules tumorales, pour lesquelles la capacité d'adhérer et de s'étaler sur une surface est considérablement réduite, il a été montré que le produit d'un seul gène du virus du sarcome de Rous était capable de modifier l'organisation des filaments d'actine. Sous l'action d'une protéine virale (la tyrosine kinase, pp.60src), la phosphorylation de la vinculine empêcherait l'interaction normale avec l'actine. L'architecture cellulaire s'en trouve modifiée, la cellule ne s'étale plus, elle reste ronde et n'obéit plus aux lois d'ancrage (figure 2) [7].

De plus, comme le cytosquelette imprime son organisation à la matrice extra cellulaire, la destruction des fibres d'actine entraîne la perte des composants externes, comme la fibronectine. Cette situation pathologique dans les cellules tumorales se produit normalement au cours de la division cellulaire dans la phase mitotique quand les cellules s'arrondissent pour se séparer. Dans les cellules normales un homologue cellulaire de la protéine pp.60src virale, fonctionnerait pour régler la phosphorylation de la vinculine.

La destruction du cytosquelette peut aussi être provoquée par des drogues comme la colchicine qui empêchent les filaments de croître en se fixant aux dimères de tubuline; ou comme la cytochalasine qui bloquent les molécules d'actine.

Bien que n'agissant pas directement sur les constituants des filaments intermédiaires, un traitement par la colchicine aggrave ceux-ci en un paquet situé près du noyau montrant une interaction directe entre l'état des microtubules et la distribution des filaments intermédiaires (figure 1, voir page précédente).

La transmission de l'organisation du cytosquelette passe de la cellule parentale aux cellules filles, comme le montrent plusieurs types de résultats, et suggèrent que ce sont les structures d'assemblages elles-mêmes qui portent leur information; par exemple, après la division, les deux cellules filles possèdent des formes et des trajets similaires.

## Le cytosquelette a une mémoire.

La modification provoquée d'une caractéristique ciliaire chez la paramécie, comme l'inversion d'une rangée de cils, est transmise aux générations suivantes bien que l'information au niveau de l'ADN ne soit pas modifiée [8]. On peut aussi remarquer que l'assemblage des éléments du cytosquelette est indépendant du noyau. Cela a été montré avec des cellules énucléées expérimentalement mais aussi dans des systèmes physiologiques comme les plaquettes. Une cellule sans noyau peut s'accrocher au support, s'étaler, se déformer, se déplacer.

## Anomalies graves

La désorganisation du cytosquelette peut entraîner des anomalies graves. Des altérations du cytosquelette observées dans certaines situations pathologiques ont été bien caractérisées au niveau moléculaire comme dans les anomalies de la membrane de l'érythrocyte [9]. Un autre cas est celui décrit dans le syndrome de Kartagener ou syndrome du cil immobile dû à l'absence d'une protéine associée à la tubuline, la dynéine. Cette dernière protéine est nécessaire pour assurer le mouvement de tension qui permet au cil de battre. L'immobilité des cils au niveau des bronches provoque des désordres respiratoires. Dans le cas des spermatozoïdes, il explique l'immobilisme de ceux-ci et l'infertilité du sujet atteint.

Enfin, dans certains cas, on pense que la symétrie viscérale qui se met en place au moment de l'embryogenèse nécessite une migration liée au battement du cil qui se trouve sur chaque cellule, l'absence de battement entraînant dans 50% des cas le « situs inversus » [10].

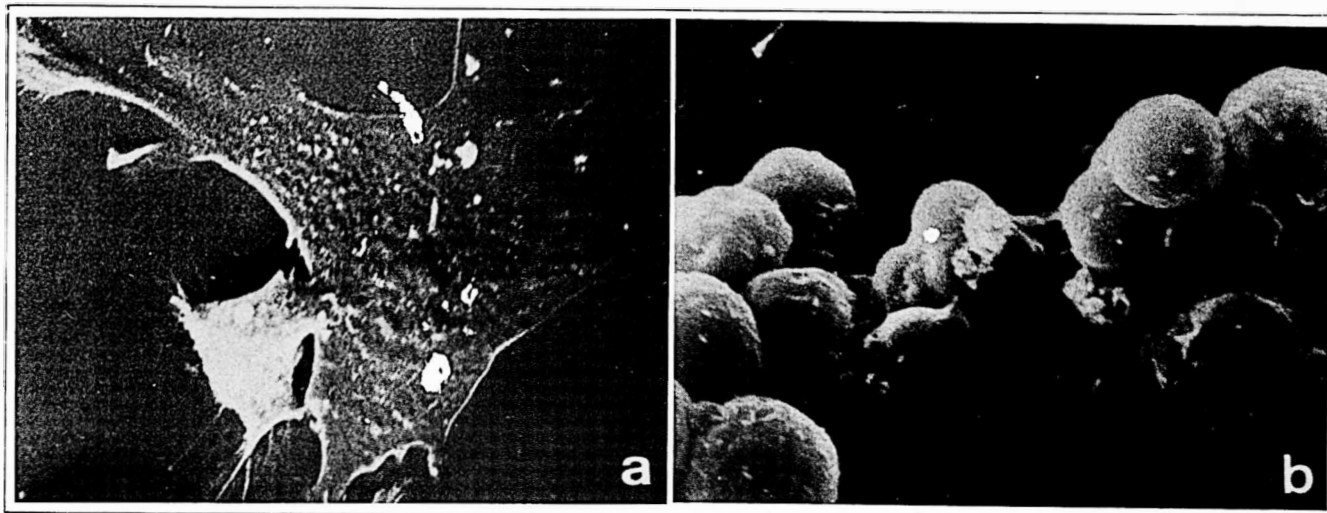


Figure 2. Différences de formes entre une cellule normale aplatie (a), adhérente au support et une cellule tumorale qui n'obéit plus aux lois de l'inhibition de contact et de l'ancrage (b).

Pour d'autres pathologies liées à l'organisation du cytosquelette, le mécanisme et les composants moléculaires ne sont pas encore tous identifiés. On sait que les propriétés invasives des cellules dépendent de la fibronectine présente à la surface et qu'en absence de cette molécule, les fibres d'actine sont désorganisées; or c'est la situation rencontrée dans les cellules tumorales [11].

Dans le cas de la formation de la plaque athéromateuse, il a été montré qu'une étape nécessite la prolifération de cellules de muscle lisse et leur migration vers l'intima. Or il semble que ces cellules n'aient pas la même composition en microfilaments et en filaments intermédiaires : les cellules des plaques athéromateuses contiennent en fait plus d'actine de type B et plus de vimentine [12].

### — Marque d'origine imprimée aux cellules. —

Bien que tous les filaments de types intermédiaires possèdent un aspect et des propriétés identiques dans différents types cellulaires (ils sont insolubles en solution dans une large gamme de force ionique, partagent des propriétés similaires d'as-

semblage, possèdent des déterminants antigéniques communs), il existe des différences biochimiques et immunologiques qui permettent d'identifier 5 types de filaments intermédiaires. Chez l'adulte, en plus des tonofilaments constitués de polypeptides apparentés aux *kératines*, présents dans les épithéliums (excepté l'endothélium et le cristallin), on a caractérisé les filaments de *vimentine* synthétisés dans les cellules dérivées de mésoderme et les cellules de Sertoli, les filaments de *desmine* typique des cellules myogéniques, les filaments *gliaux* des astrocytes et le *triplet de polypeptides*, qui constituent les neurofilaments des neurones [13].

Les réseaux d'actine et de tubuline ont beaucoup de similitudes quant à leur propriété dynamique comparés au réseau de filaments intermédiaires. Ce dernier voit ses constituants assemblés d'une manière irréversible, contrairement à l'actine et à la tubuline qui sont en équilibre sous forme de polymères et de monomères. La destruction physiologique des filaments intermédiaires se fait par dégradation grâce à une enzyme protéolytique activée par le calcium.

Au cours de l'évolution, l'actine et

la tubuline n'ont pas subi de modifications appréciables, alors que les polypeptides des filaments intermédiaires ont considérablement évolué et se sont diversifiés en plusieurs familles, dont les composés actuels varient en taille, de 40 à 200 kD.

En ce qui concerne la synthèse des filaments intermédiaires dans les cellules tumorales, de très nombreuses analyses montrent que les cellules néoplasiques continuent à synthétiser les mêmes polypeptides que la cellule normale. Cette caractéristique permet d'identifier ou de préciser l'origine histologique des tumeurs.

Un catalogue décrivant la répartition des 19 cytokératines humaines dans différents épithélia a été établi par Moll. *et al.* Par exemple, le colon, l'intestin grêle et les hépatocytes ont des filaments intermédiaires formés des kératines 8 et 18 alors que seules les kératines 1 et 2 sont dans la cornée [14].

Les carcinomes dérivés des épithélia peuvent être caractérisés à l'aide d'anticorps dirigés spécifiquement contre l'une ou l'autre de ces kératines. Osborn et Weber ont montré que tous les carcinomes analysés (131) contenaient des filaments intermédiaires faits de kératines et



que le type de kératines caractérisées dans la tumeur était identique au tissu normal d'origine [15].

Pour les sarcomes, tumeurs des tissus musculaires et du système nerveux périphérique, il est nécessaire de rechercher si les filaments intermédiaires sont faits de desmine ou de vimentine. Les rhabdomyosarcomes et les leiomyosarcomes d'origine musculaire synthétisent la desmine alors que dans les sarcomes d'origine non musculaire, liposarcome ou lymphome, on trouve la vimentine. A l'aide d'anticorps anti GFA on peut caractériser les filaments intermédiaires de certaines cellules gliales et des tumeurs correspondantes (tanocytes, ependymome, ependymoblastome,...). Dans les tumeurs mixtes (astrocytome - oligodendrogliome) on peut séparer les deux types cellulaires par la caractérisation de la GFA dans l'astrocytome, mais pas dans l'oligodendrogliome.

Pour les cellules des ganglions sympathiques, c'est à l'aide d'anticorps dirigés contre les neurofilaments que la caractérisation peut se faire. Il s'agit des neuroblastomes, des ganglioneuro-blastomes et des phéochromocytomes.

C'est sans doute parce que les filaments intermédiaires sont des structures très stables, que l'on rencontre dans certaines pathologies une accumulation anormale, visible au microscope, de polypeptides de l'un ou l'autre type.

Dans certains cas, tels que la démence d'Alzheimer des plaques de neurofilaments ont été identifiées dans le cortex cérébral. Dans les hépatocytes de foie du sujet alcoolique, les corps de Mallory sont des inclusions de cytokératines; dans la néphrite infantile, des agrégats de vimentine ont pu être caractérisés; enfin, dans certaines myopathies, des structures constituées de desmine ont été mises en évidence. Ces quelques exemples montrent que les recherches fondamentales sur le cytosquelette commencent à suggérer de nombreuses applications médicales : recherche de nouvelles drogues antimitotiques, diagnostic des anémies hémolytiques, caractérisation de l'origine embryologique des cellules tumorales, pathologie neuromusculaire ■

## RÉFÉRENCE

15. Osborn M, Weber K. Biology of the disease: tumor diagnosis by intermediate filament typing. *Lab Invest* 1983; 48: 372-94.

## TIRÉS A PART

Denise Paulin : Institut Pasteur, génétique cellulaire, 25, rue du Docteur-Roux, 75015 Paris.

## Summary

The spatial and functional organization of the cytoplasm of eucaryotic cells is maintained by three networks of filaments which constitute the cytoskeleton. The three types of filaments differ by their diameter and their constituents. Microfilaments are 7 nm in diameter and made of actin; microtubules are 25 nm in diameter and made of tubulin; intermediate filaments are 10 nm in diameter. The molecular basis of the dynamic properties of the cytoskeleton is the capacity of each of the structures to assemble from the monomers. An additional degree of complexity is brought by the interactions of the polymers (i. e. actin microfilaments, or microtubules) with a number of proteins to regulate their association, their length and the polarity of the filaments. The cytoskeletal proteins have been remarkably conserved throughout evolution; the multiple functions of the cytoskeleton are made possible only because of these subtle and temporary arrangements which account for the diversity of the cell movements: endocytosis, exocytosis, clustering of membrane receptors, locomotion, changes in shape, cell division, axonal transport, and others. The intermediate filament network is made of different polypeptides in different cells: this serves as an embryological marker and is starting to be used to characterize the histological nature of tumors.