

Transmission du signal intracellulaire par les protéines ancrées par un glycosyl-phosphatidylinositol

**Françoise Nazih
Christiane Delbart**

De nombreuses protéines membranaires utilisent un ancrage hydrophobe réalisé par un glycosyl-phosphatidylinositol (GPI) lié de manière covalente à la chaîne polypeptidique. Les protéines ancrées par GPI (protéines à GPI) sont associées en complexes localisés préférentiellement dans des invaginations de la membrane plasmique appelées cavéoles. Elles participent aux mécanismes de nutrition, d'adhérence ou de communication cellulaires. En effet, elles sont impliquées dans les mécanismes de potocytose, servent de signaux de ciblage et stimulent des phénomènes de signalisation dans lesquels interviennent les tyrosine-kinases de la famille Src. L'hydrolyse de leur ancrage, libérant inositol-phosphoglycane (IPG) et diacylglycérol, représente l'un des premiers événements cellulaires déclenchés par les facteurs de croissance, l'insuline ou les lipoprotéines.

Au lieu d'avoir un peptide transmembranaire pour réaliser leur ancrage, de nombreuses protéines membranaires possèdent un glycolipide carboxy-terminal comme seul système d'insertion. La preuve d'une association covalente entre glycosyl-phosphatidylinositol (GPI) et protéine a été apportée en 1986 [1]. Depuis, plus de 100 protéines ancrées par GPI (protéines à GPI) ont été décrites dans les cellules eucaryotes quel que soit leur degré d'évolution. L'ancrage GPI représente une alternative aux ancrages peptidiques des protéines transmem-

branaires [2]. Il est particulièrement utilisé par les protozoaires et tout spécialement par le trypanosome *trypanosoma brucei* qui exprime dans son manteau environ 10^7 copies d'une même protéine ancrée par GPI nommée VSG (*variant surface glycoprotein*) [3, 4].

L'ancrage par GPI constitue un atout non négligeable [1]. Il prend moins de place qu'un polypeptide membranaire [1, 3], permet la libération de la protéine dans le milieu extracellulaire après action de phospholipases endogènes ou bactériennes [1, 2], améliore la mobilité de la protéine dans la membrane [1-3], sert de

ADRESSES

F. Nazih : docteur ès sciences, chercheur post-doctoral à l'Inserm U. 325. Inserm U. 325, Institut Pasteur, 1, rue du Professeur-Calmette, BP 245, 59019 Lille Cedex, France. C. Delbart : professeur à l'université de Lille II. Inserm U. 325, Institut Pasteur, 1, rue du Professeur-Calmette, BP 245, 59019 Lille Cedex, France et Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques, rue du Professeur-Laguesse, BP 83, 59006 Lille Cedex, France.

signal de ciblage [2] et peut donner naissance à des seconds messagers [1, 2, 5]. Il permet aux protéines à GPI d'assurer des fonctions aussi diverses que : protéines de surface (VSG), antigènes de différenciation (Thy-1), hydrolases (5'-nucléotidase, phosphatase alcaline), récepteurs (du folate) ou protéines de prions [1], et de participer aux transports transmembranaires [6] et aux mécanismes de transmission du signal [5, 7-9] faisant intervenir des invaginations de la membrane plasmique, appelées cavéoles [1, 10].

Structure et biogenèse des protéines à GPI

Une structure de base commune (figure 1) relie la protéine hydrophile à un phosphatidylinositol membranaire, réalisant l'ancrage proprement dit [2, 3]; elle comporte un pont éthanolamine-phosphate qui relie la protéine à un glycanne constitué de 3mannoses et de 1glucosamine. La glucosamine assure la liaison avec l'inositol du phosphatidylinositol (PI). Des cas spécifiques de variants de l'ancrage GPI (figure 1) sont associés à la présence de groupements d'éthanolamine-phosphate, d' α -mannose, de N-acétylgalactosamine ou d' α -galactose supplémentaires [3]. Les ancrages par di-palmitoyl-phosphatidylinositol sont de loin les plus utilisés, les ancrages par des formes dimyristoylées excessivement rares [2, 3]. Une palmitoylation de la molécule d'inositol, telle celle décrite pour le DAF (*human decay accelerating factor*), semble être responsable de la résistance de certains ancrages GPI aux phospholipases bactériennes [1, 2].

La biogenèse d'une protéine à GPI implique la réunion d'une protéine et d'un glycolipide (figure 2); elle dépend de la présence d'un site spécifique (GPIsp) situé dans la partie carboxy-terminale de la protéine [2, 3, 11, 12]. L'ensemble des étapes se déroule très rapidement après la synthèse protéique dans le réticulum endoplasmique, et dure environ 1 à 2 minutes. La rapidité de la fixation d'un ancrage GPI est liée au fait que la protéine est transférée sur un lipide préformé.

La synthèse du GPI (figure 3) est un processus multi-enzymatique [3, 11]

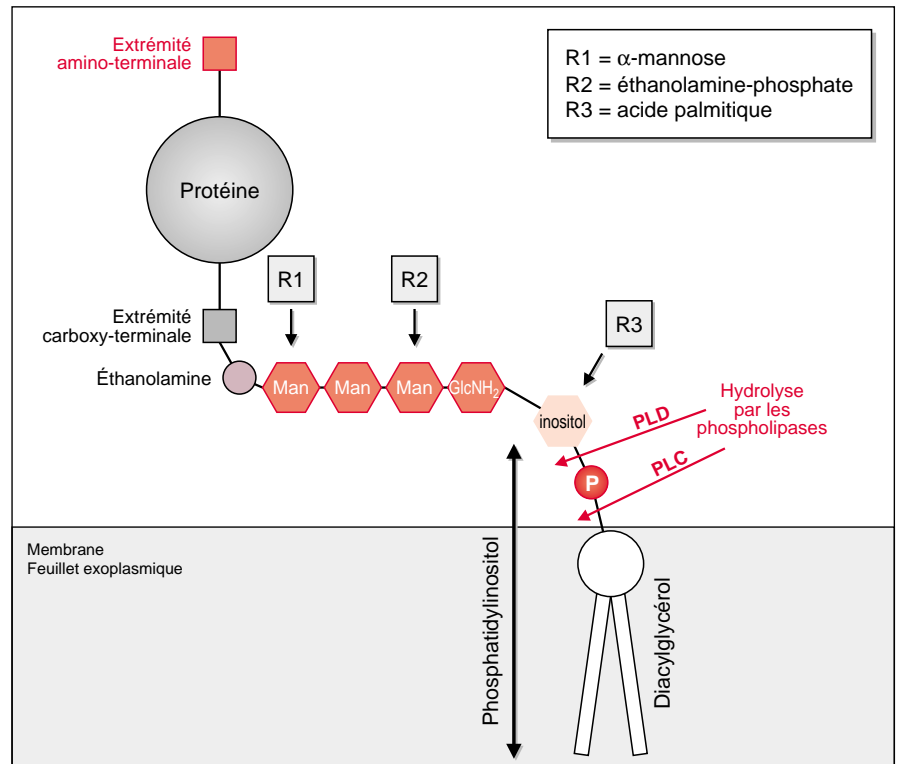


Figure 1. **Structure d'un ancrage GPI.** L'extrémité carboxy-terminale de la protéine est couplée par un pont éthanolamine-phosphate à un oside constitué de trois résidus de mannose (Man) et un résidu de glucosamine (GlcNH₂). L'oside est relié à l'inositol d'un phosphatidylinositol. Les variants de l'ancrage sont associés à la présence de groupements d'éthanolamine-phosphate, d' α -mannose, de N-acétylgalactosamine ou d' α -galactose supplémentaires ; ils sont indiqués par (R) et des flèches noires ; les sites de coupure par les phospholipases C (PLC) ou D (PLD) sont indiqués par des flèches rouges.

impliquant plusieurs glycosyl-transférases, une inositol-acyltransférase, une désacylase et une phosphoéthanolamine-transférase. La N-acétylglucosamine est transférée de l'UDP-N-acétyl-glucosamine sur un phosphatidylinositol pour donner un composé d'addition (GlcNAc-PI) qui est ensuite désacétylé en glucosaminyl-phosphatidylinositol (GlcN-PI). L'étape suivante correspond à la synthèse du dérivé Man₃-GlcN-PI par transfert séquentiel de 3 résidus de mannose à partir d'un dolichol. Enfin l'addition de phospho-éthanolamine donne naissance au GPI. La biosynthèse des GPI débute sur la face cytoplasmique du réticulum et se termine sur la face luminale en raison de la relocalisation du GlcN-PI dans le feuillet exoplasmique par un mécanisme de *flip-flop* après l'acylation de son inositol. Cette étape d'acylation/*flip-flop* rend l'inositol accessible aux transférases respon-

sables de l'élongation de la chaîne osidique [11]. Cet acide gras est ensuite le plus souvent éliminé [2, 11].

Les protéines qui doivent être ancrées par GPI sont synthétisées par les polysomes liés au réticulum endoplasmique [2]. La protéine naissante (préproprotéine) contient un signal amino-terminal qui permet la translocation de la protéine dans le réticulum, et un signal carboxy-terminal (GPIsp) qui conditionne la protéolyse et l'ajout de l'ancre (figure 2). Le GPIsp comprend une zone relativement polaire de 7 à 14 acides aminés et un domaine hydrophobe sans structure régulière de 10 à 20 résidus. Il ne contient pas de séquence consensus définitive; seules la longueur du domaine hydrophobe et la nature de l'acide aminé situé après le site de clivage déterminent l'ajout du GPI [2, 3, 12]. Le clivage du peptide amino-terminal suit la translocation

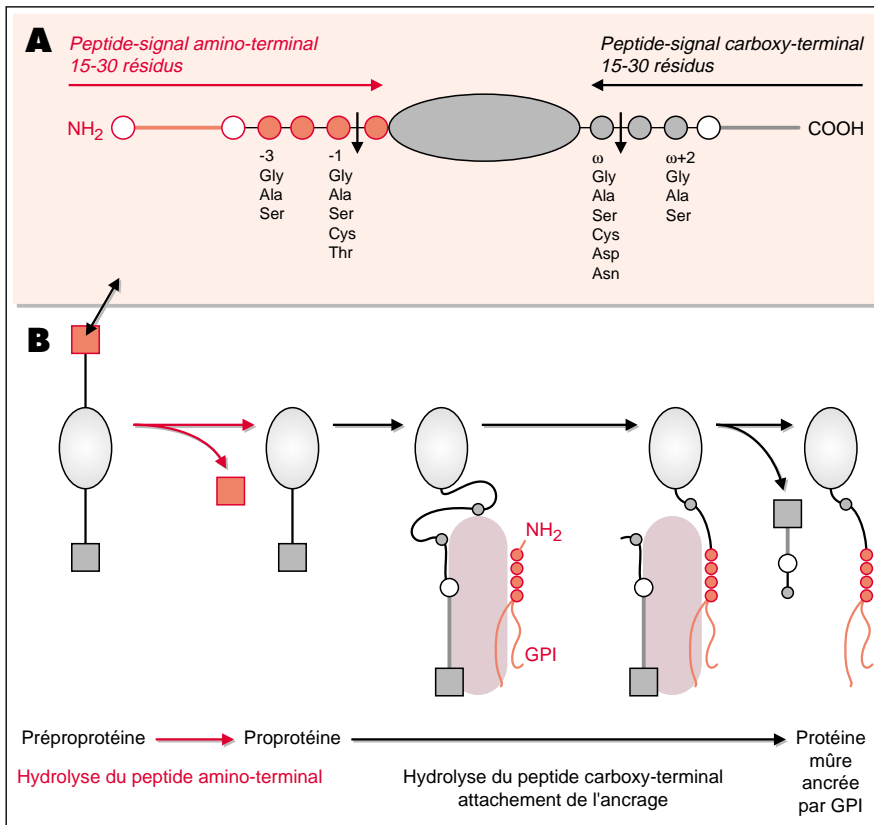


Figure 2. **Biogenèse d'une protéine ancrée par GPI.** Dans l'encadré (A) : structure d'une protéine naissante destinée à être ancrée par GPI : l'ovale gris représente la protéine mûre ; au niveau des peptides-sigaux, les traits épais correspondent aux domaines hydrophobes, les cercles creux aux domaines hydrophiles, les cercles pleins aux acides aminés des sites de coupure, les flèches noires aux sites de coupure. (B) L'élément le plus à gauche est la représentation stylisée de la protéine naissante détaillée en A immédiatement après la fin de la traduction, le peptide signal amino-terminal est clivé ; le polypeptide interagit avec une enzyme du réticulum qui reconnaît la région carboxy-terminale, soit, au minimum, les domaines hydrophiles/hydrophobes et la région correspondant au site de clivage. Le précurseur GPI est reconnu probablement par sa tête polaire. L'attachement est alors réalisé entre le groupe aminé de l'éthanolamine du lipide et le groupe carboxyle terminal de la protéine par une enzyme unique (en bistre).

de la protéine dans le lumen du réticulum et donne naissance à la proprotéine. Le clivage du peptide carboxy-terminal de la proprotéine est suivi du couplage sur un GPI [2, 11, 12]. La catalyse des étapes de clivage et d'addition de l'ancrage ne dépend ni de l'ATP ni du GTP, et impliquerait une transaminase unique plutôt qu'une peptidase spécifique du signal GPIsp et une enzyme de condensation agissant séquentiellement [12].

C'est lors de leur passage dans l'appareil de Golgi que les protéines à GPI s'associent en complexes et acquièrent leur résistance au Triton X-100 [4, 13-16]. Les protéines à GPI synthé-

tisées dans le réticulum arrivent au Golgi sous forme soluble dans le Triton puis, au fur et à mesure de leur progression à travers l'appareil de Golgi, elles traversent des compartiments où le cholestérol et les glycosphingolipides membranaires se complexent pour former progressivement de véritables « plates-formes » mobiles par rapport aux phospholipides que les Anglais nomment *rafts* et où se rassemblent certaines protéines intervenant dans les trafics et la transmission du signal cellulaires [14, 15]. Les protéines à GPI s'associent donc à ces *rafts* (figure 4) qui seront dirigés vers la membrane plasmique, plus particulièrement au niveau des cavéoles [16].

Localisation des protéines à GPI

Une localisation préférentielle dans des cavéoles

Les cavéoles ont été découvertes il y a plus de 40 ans et existent dans la plupart des cellules [8, 9]. Elles ont un diamètre d'environ 50 à 100 nm. Leur morphologie est variable (plates ou invaginées, isolées ou rassemblées en rosettes). Les cavéoles peuvent se refermer de façon transitoire, et former des vésicules fermées, localisées sous la membrane qui refusionnent ensuite avec la membrane plasmique.

Un manteau très caractéristique, composé d'anneaux concentriques qui lui confèrent un aspect particulier en empreinte de doigt, est visible sur la face cytoplasmique des cavéoles. Il est constitué de protéines membranaires qui restent associées en permanence aux cavéoles, même pendant la phase d'internalisation qui suit leur fermeture [10].

La membrane qui délimite les cavéoles contient 4 à 8 fois plus de cholestérol que les autres domaines de la membrane plasmique, ce qui expliquerait sa grande dépendance vis-à-vis du cholestérol [5, 16]. Tous les moyens utilisés pour provoquer une déplétion membranaire en cholestérol entraînent la disparition des cavéoles [16]. La membrane des cavéoles renferme de nombreuses protéines à GPI rassemblées en complexes où leur densité peut atteindre 30 000 molécules au μm^2 [16].

La cavéoline est une protéine membranaire de 22 kDa, associée au manteau des cavéoles [9], mais son rôle dans le maintien du manteau semble actuellement improbable. La cavéoline est un substrat pour les tyrosine-kinases de la famille Src [9, 17], contient également un site consensus (Ser³⁷) de phosphorylation par les protéine-kinases C (PKC) [9] et se complexe (figure 4) avec des protéines intégrées et des protéines à GPI [16, 18]. En raison des navettes qu'elle réalise entre l'appareil de Golgi et la membrane plasmique [19] et de son association aux protéines à GPI, la cavéoline pourrait jouer un rôle dans le ciblage de ces protéines [16].

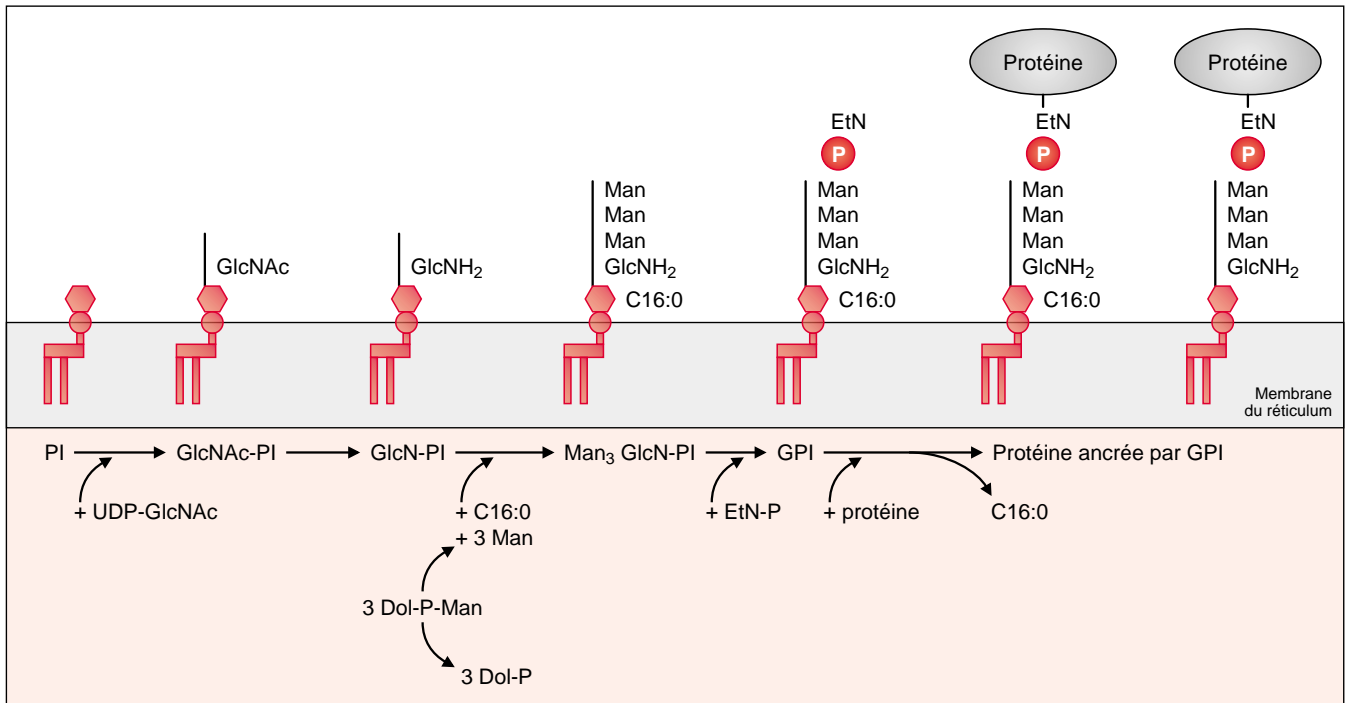


Figure 3. **Biosynthèse du glycosyl-phosphatidylinositol.** La topologie de la biogenèse du GPI n'est pas entièrement connue; elle se déroulerait principalement sur la face luminale de la membrane du réticulum. C16:0: acide palmitique; Dol-P-Man: dolichol-phosphate-mannose; EtN: éthanolamine, GlcNAc: N-acétylglucosamine; GlcNH₂: glucosamine; GlcN-PI: glucosaminyl phosphatidylinositol; GlcNAc-PI: N-acétyl glucosaminyl phosphatidylinositol; Man: mannose; PI: phosphatidylinositol.

Une localisation résolument apicale

La présence d'un ancrage GPI est corrélée au ciblage de la protéine vers la membrane apicale des cellules polarisées et son exclusion du domaine basolatéral [6, 20, 21]. L'ancrage GPI agit comme un signal dominant pour la sélectivité du ciblage cellulaire et le maintien de la polarité cellulaire. L'identification d'un transport apical des protéines à GPI pourrait avoir lieu dès le réseau du *trans*-Golgi [3]. Les protéines à GPI seraient triées par un mécanisme de co-agrégation avec des molécules dont le ciblage est également apical: les glycosphingolipides, le cholestérol, les protéines G, certaines tyrosine-kinases (c-Yes) et l'annexine II [8]. Toutefois, comme les protéines à GPI sont exclusivement exoplasmiques, ce mécanisme suppose la participation d'une molécule transmembranaire pour assurer la transmission des signaux de ciblage. La cavéoline pourrait intervenir en tant que vecteur d'informations, d'adaptateur ou de substrat potentiel de kinases [3, 8, 9].

Une élimination faible de la surface cellulaire

Globalement, l'endocytose des protéines à GPI est très faible [21, 22]. L'utilisation de protéines chimériques a permis de comparer le destin des protéines à GPI par rapport aux protéines transmembranaires. Les formes ancrées par GPI rentrent 3 fois moins vite que leurs homologues transmembranaires [3], mais certaines protéines à GPI sont retrouvées dans les endosomes. Les protéines à GPI sont donc partiellement éliminées de la surface cellulaire. Elles peuvent naturellement emprunter les cavéoles [5], mais pour être véhiculées par les puits recouverts, les protéines à GPI doivent s'associer par leur domaine extracellulaire à des protéines transmembranaires [22] ou se libérer de leur ancrage par lipolyse et se fixer sur des protéines membranaires pour s'intégrer dans un cycle d'endocytose par récepteur classique [23]. La réassociation membranaire des protéines à GPI libérées de leur ancrage par lipolyse a été parfaitement démontrée pour la

phosphatase alcaline, les activateurs du plasminogène et l'ecto-protéine de liaison de l'AMPC maintenant dénommée Gce1 [23]. Un mécanisme de rétention fonctionne donc *in vivo*, grâce aux déterminants structuraux de la zone résiduelle d'ancrage (IPG) et des récepteurs reconnaissant l'inositol monophosphate cyclique [23]. De même, le récepteur du mannose-6-phosphate impliqué dans le ciblage des enzymes lysosomales, fixe également les protéines à GPI libérées de leur ancrage par lipolyse et présentant un résidu mannose-6-phosphate [24].

Ces associations périphériques impliquant des récepteurs membranaires constitueraient un atout majeur pour ces protéines à GPI qui sont susceptibles de changer de compartiment cellulaire en réponse à des signaux extracellulaires. Le cycle liaison/libération servirait au stockage des protéines à GPI jusqu'à ce que des signaux commandent leur rejet dans le milieu extracellulaire ou leur entrée dans la cellule par endocytose [23].

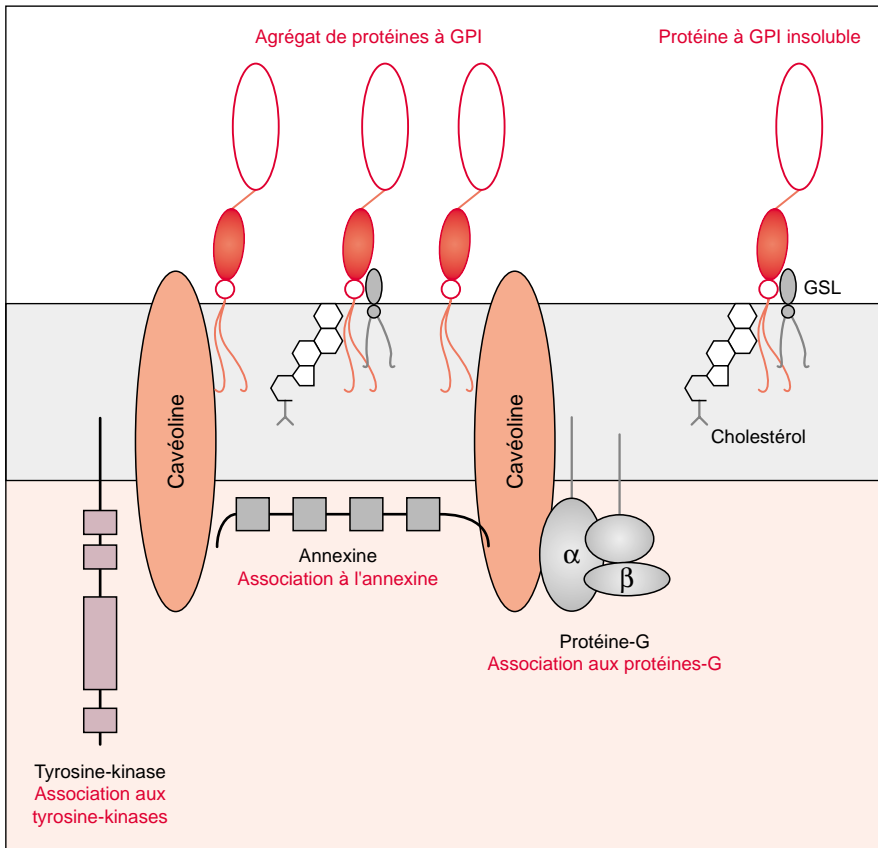


Figure 4. **Identification des complexes insolubles dans le Triton.** Les protéines ancrées par GPI sont associées à des glycosphingolipides (GSL) et au cholestérol. Leur association à la cavéoline, protéine membranaire particulière dont les deux extrémités amino- et carboxy-terminales sont cytoplasmiques, leur permet d'interagir avec les protéines-G, les tyrosine-kinases ou l'annexine II.

Protéines à GPI et communications intercellulaires

Les protéines à GPI peuvent participer aux phénomènes de signalisation de diverses manières : (a) en libérant des médiateurs spécifiques dans le cytosol, après une étape de potocytose ; (b) grâce à leur fonction d'ecto-enzymes ancrées par GPI ; (c) en formant des agrégats qui pourraient interagir avec des tyrosine-kinases impliquées dans l'activation cellulaire ; (d) en servant de précurseurs à divers messagers intracellulaires. Le rôle signalisateur des protéines à GPI est renforcé par le fait que les protéines à GPI sont localisées préférentiellement dans les cavéoles [16, 18, 25], véritables centres de gestion des messageries cellulaires, sensibles à des perturbations mécaniques (figure 5A) ou hor-

monales (figure 5B) qui contrôlent leur ouverture, et rassemblant divers acteurs de la transmission du signal cellulaire, tels que pompes Ca^{2+} , canaux calciques liés à l'inositol 1,4,5-triphosphate, récepteurs transmembranaires ou ancrés par GPI, protéines-G et adénylyl-cyclase [5, 7-9, 27].

Transmission du signal par potocytose

Les protéines à GPI et les cavéoles semblent être impliquées dans les mécanismes de potocytose (figure 6A) qui permettent l'entrée sélective de petites molécules, éventuellement signalisatrices, dans la cellule [5, 6]. Le mécanisme de potocytose le mieux décrit concerne le 5-méthyl-tétrahydrofolate [6] qui se lie à la surface cellulaire par des récepteurs spécifiques ancrés par GPI, rassemblés dans des cavéoles. Ensuite, les cavéoles se referment de façon transitoire et donnent

naissance à des vésicules localisées sous la membrane plasmique. Le folate se dissocie de son récepteur, probablement après acidification des cavéoles, puis passe dans le cytoplasme en empruntant un transporteur transmembranaire encore non identifié. Les cavéoles fusionnent alors avec la membrane plasmique, exposant ainsi à nouveau les récepteurs du folate [5, 6]. Récemment, des protéines ancrées par GPI fixant l'AMP cyclique ont été localisées au niveau des cavéoles, suggérant que les protéines à GPI sont capables de stocker et/ou de libérer ce médiateur grâce à la potocytose [5].

Transmission du signal par des GPI-ecto-enzymes

Certaines ecto-enzymes impliquées dans la transmission de signaux cellulaires sont des protéines à GPI qui sont libérées dans le milieu extracellulaire après hydrolyse de leur ancrage [5, 8, 9]. Leur activation serait analogue à celle des proenzymes [5]. Ainsi, la 5'-nucléotidase responsable de la conversion de l'AMP en adénosine est une ecto-enzyme ancrée par un GPI, préférentiellement regroupée dans les cavéoles. Une sorte de synapse chimique, impliquant sur une cellule une rosette de cavéoles et sur la cellule voisine un agrégat de récepteurs purinergiques, réglerait l'émission des signaux. La 5'-nucléotidase produirait l'adénosine qui serait stockée jusqu'à ce qu'un stimulus approprié vienne commander l'ouverture des cavéoles. L'adénosine libérée dans le milieu extracellulaire interagirait avec son récepteur présent sur la cellule voisine [5].

Transmission du signal par des tyrosine-kinases

Les protéines à GPI participent aux mécanismes de transmission du signal en interagissant probablement avec des kinases (figure 6B). En effet le regroupement des protéines à GPI, induit par des anticorps spécifiques ou par des lectines, assure la transmission ou la modulation de signaux se traduisant par une augmentation de la phosphorylation des protéines sur leurs résidus tyrosine, une augmentation de l'influx calcique dans le cytoplasme, l'accélération de la croissance cellulaire et de l'apoptose [5, 7-9, 28].

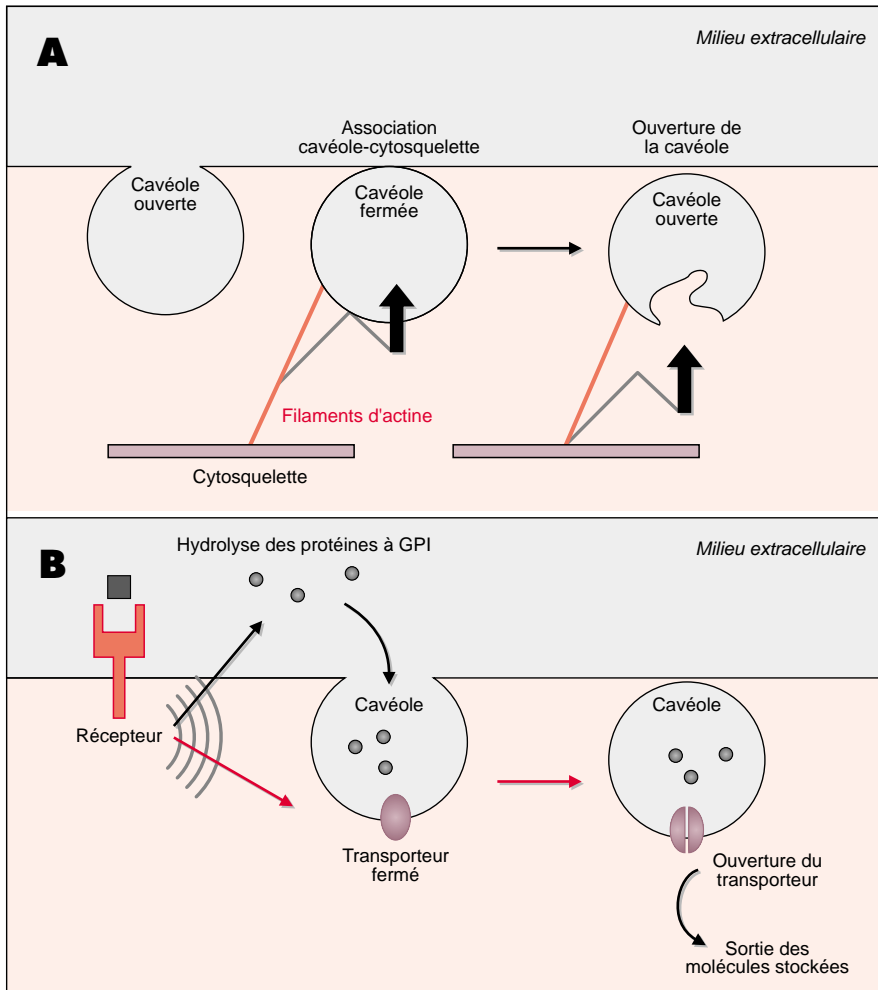


Figure 5. **Régulation de l'ouverture des cavéoles.** **A.** Les cavéoles interagissent avec les filaments d'actine. Les changements dans l'organisation du cytosquelette sont transmis aux cavéoles qui se déforment et s'ouvrent sur le cytoplasme. **B.** Des molécules comme l'insuline émettent un signal entraînant l'hydrolyse de protéines à GPI auquel les cavéoles répondent en se fermant et en se scindant de la membrane plasmique; puis l'ouverture de canaux membranaires spécifiques permet l'entrée des molécules ou ions (cercles fermés) dans le cytoplasme.

Le mécanisme de transmission du signal ne dépend pas de la partie protéique des protéines à GPI mais de leur ancrage. La phosphorylation résulterait d'une association entre protéines à GPI et tyrosine-kinases de la famille Src (Lck, Fyn, Svr...), et a été décrite pour divers antigènes de surface (Thy-1, Qa-2, Ly-6) et le DAF (*decay accelerating factor*) [7]. Le couplage protéines à GPI tyrosine-kinases représente le mécanisme utilisé également par les métaux lourds (HgCl₂ et H₂AuCl₄) pour induire des désordres immunologiques avec production d'auto-anticorps [29]. Comme les deux molécules, protéines à GPI et tyrosine-kinases, n'ont pas de

domaines transmembranaires, il convient d'admettre qu'une molécule adaptatrice transmembranaire assure leur couplage (figure 4). La cavéoline pourrait transmettre les signaux directement d'une protéine à GPI à une kinase [5, 7-9].

Transmission du signal par hydrolyse de l'ancrage GPI

La dégradation de l'ancrage GPI par diverses phospholipases et protéases peut donner naissance à de nombreuses molécules possédant un pouvoir informatif, par exemple : des dérivés inositol-phosphoglycanes (IPG) dans le milieu extracellulaire, et du 1,2-diacylglycérol ou de l'acide phos-

phatidique dans la membrane [26]. Diverses molécules, telles que l'insuline, l'interleukine-2, les facteurs de croissance (NGF, EGF, FGF) ou encore la TSH, outre leur système traditionnel de messagerie, utilisent l'IPG comme signal cellulaire [26, 30]. Ainsi, le récepteur de l'insuline localisé dans les cavéoles stimule les phospholipases et les protéases spécifiques qui libèrent les protéines à GPI de leur ancrage (figure 6C) [26]. L'IPG libéré dans le milieu extracellulaire rentrerait dans la cellule, soit directement grâce à un gradient de concentration créé par la densité des protéines à GPI génératrices d'IPG et par le volume restreint des cavéoles, soit indirectement après stockage dans les cavéoles. Ces dernières s'ouvriraient sous l'action d'un signal spécifique, pour permettre le passage de l'IPG vers le cytosol (figure 5B) où il contrôlerait un éventail important de fonctions cellulaires en interagissant avec des kinases et des phosphatases [5].

Protéines à GPI vecteurs des signaux émis par les lipoprotéines

Les lipoprotéines de haute densité (HDL₃) utilisent également les protéines à GPI pour contrôler certaines fonctions cellulaires. En effet la fixation des HDL₃ sur des récepteurs cellulaires a un effet fortement mitogénique, favorise certains phénomènes de sécrétion et stimule le flux sortant de cholestérol qui se déroulerait probablement au niveau des cavéoles [31]. Ainsi l'interaction des HDL₃ avec les cellules suscite un grand intérêt en raison du pouvoir protecteur de ces lipoprotéines vis-à-vis du processus d'athérosclérose.

Il semble que les HDL₃ soient à l'origine de mécanismes de transduction particuliers [32-36], dont certains aspects rappellent ceux mis en œuvre par l'insuline [27]. L'originalité du signal-HDL₃ résiderait dans le fait que la lipoprotéine se fixerait directement sur une protéine à GPI spécifique [36] et provoquerait, dans un premier temps, l'hydrolyse de l'ancrage et la libération dans le milieu extracellulaire d'intermédiaires [35] qui seraient, à leur tour, responsables de la seconde phase du signal [32-34].

La première phase, découverte très récemment, implique obligatoirement la participation des tyrosine-

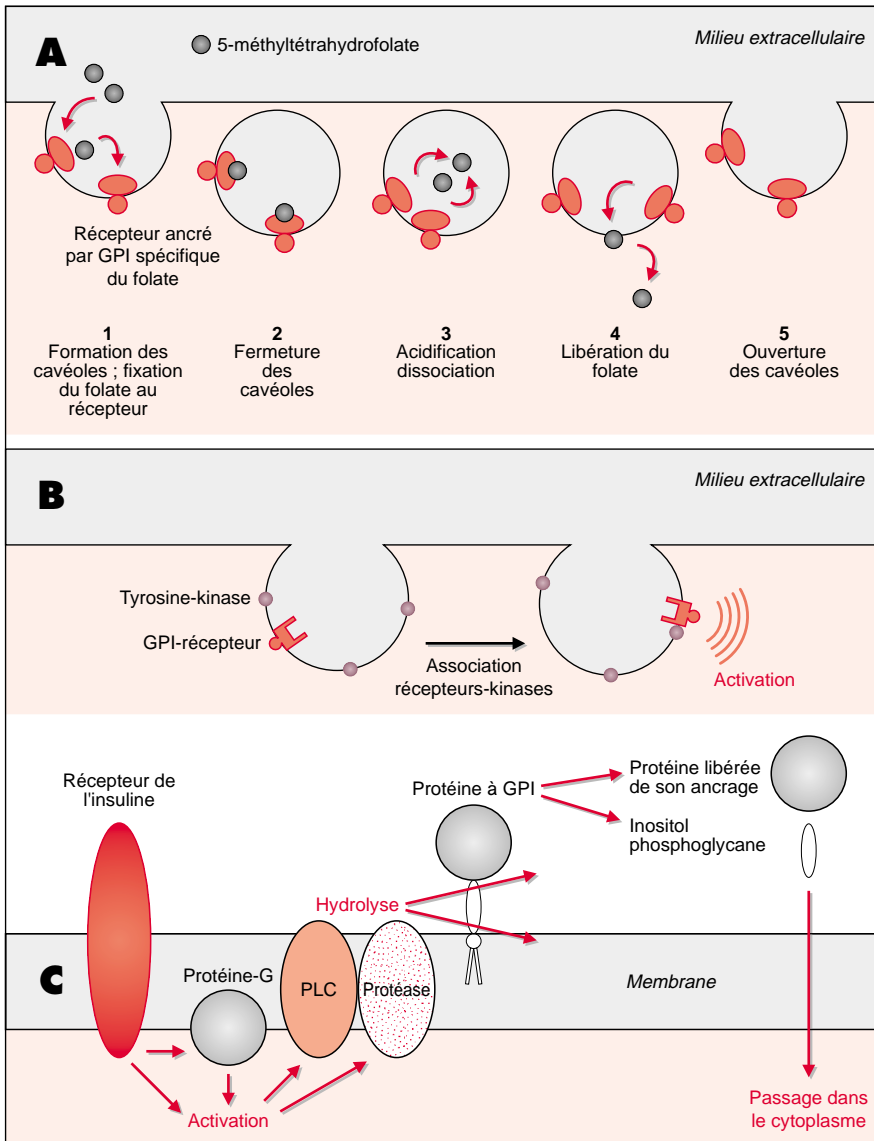


Figure 6. **Transmission du signal par les protéines ancrées par GPI.** **A.** Transmission du signal par potocytose : le 5-méthyltétrahydrofolate se fixe à son récepteur ancré par GPI, la cavéole se referme et se détache de la membrane plasmique, le pH diminue, favorisant la dissociation du complexe folate/récepteur. Le folate passe dans le cytoplasme et la cavéole s'ouvre vers le milieu extracellulaire exposant à nouveau les récepteurs. **B.** Transmission du signal par les tyrosine-kinases : les protéines ancrées par GPI s'associent aux tyrosine-kinases par un mécanisme impliquant leur regroupement, le signal est alors transmis par la cavéoline. **C.** Transmission du signal par hydrolyse des protéines ancrées par GPI : le récepteur de l'insuline active des phospholipases C (PLC) et des protéases qui hydrolysent les protéines à GPI, libérant ainsi dans le milieu extracellulaire l'inositol-phosphoglycane qui, après entrée dans la cellule, coordonnera certaines fonctions cellulaires.

kinases puisque la présence d'inhibiteurs tels que la génistéine ou la typhostine-47 inhibe le signal-HDL₃. D'elle dépend la rupture, par lipolyse et protéolyse, de l'ancrage GPI. La lipolyse des ancrages GPI a été mise en évidence : (a) en protégeant les

ancres GPI par des anticorps spécifiques ; (b) en libérant les protéines à GPI par des phospholipases bactériennes, l'insuline ou la streptolysine-O ; (c) en déstabilisant les complexes de protéines à GPI par déplétion du cholestérol membranaire grâce à la

filipine, la digitonine ou la cholestérol-oxydase. La protéolyse des ancrages GPI a été mise en évidence grâce à l'utilisation d'inhibiteurs de protéases qui modifient la cinétique de transmission du signal. Les phospholipases et protéases impliquées dans la rupture des ancrages GPI pourraient être cellulaires et sous la dépendance des tyrosine-kinases activées par les HDL₃ ou être portées par les lipoprotéines elles-mêmes [37]. La seconde étape du signal-HDL₃ dépendrait de la libération dans le milieu extracellulaire de molécules issues de l'hydrolyse des protéines à GPI et potentiellement messagères, c'est-à-dire l'IPG ou la protéine débarrassée de son ancre ou des peptides. Ces molécules déclencheraient alors l'hydrolyse de la phosphatidylcholine membranaire en 1,2-diacylglycérol activateur de protéine-kinases cellulaires et représenteraient donc un signal intermédiaire extracellulaire qui pourrait être reconnu par un deuxième type de récepteurs. La mise en œuvre d'un mécanisme complexe de transmission du signal constitue un atout majeur pour les HDL₃. La liaison des lipoprotéines sur leurs protéines à GPI réceptrices peut coordonner des messages cellulaires différents. Les informations ne dépendant que de l'activation des kinases seraient rapidement acheminées. Les voies de transmission du signal tributaires de l'activation des kinases, de l'hydrolyse des protéines à GPI et de l'émission d'un second messenger intracellulaire pourraient correspondre au stockage (première phase) et à la migration (seconde phase) des messages liés aux HDL₃.

Conclusion

Il semble clair que l'ancrage GPI représente plus qu'un moyen d'insertion membranaire pour certaines protéines. Les protéines à GPI de la surface cellulaire communiquent avec des protéines intracellulaires et représentent donc des outils de messagerie cellulaire. Leur localisation préférentielle dans des domaines membranaires spécifiques participant à l'organisation générale des molécules signalisatrices confirme l'importance de leur rôle messenger et constitue une donnée fascinante des communications intercellulaires ■

RÉFÉRENCES

1. Low MG, Ferguson MAJ, Futerman AH, Silman I. Covalently attached phosphatidylinositol as a hydrophobic anchor for membrane proteins. *Trends Biochem Sci* 1986; 11: 212-5.
2. Low MG. The glycosyl phosphatidylinositol anchor of membrane proteins. *Biochim Biophys Acta* 1989; 988: 427-54.
3. Ferguson MAJ. Lipid anchors of membrane proteins. *Curr Opin Struct Biol* 1991; 1: 523-9.
4. Pays E, Berberof M. Antigènes variables et non variables des trypanosomes africains. *Med Sci* 1995; 11: 261-7.
5. Anderson RGW. Caveolae: where incoming and outgoing messengers meet. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 10909-13.
6. Hooper NM. More than just a membrane anchor. *Curr Biol* 1992; 11: 617-9.
7. Casey PJ. Protein lipidation in cell signaling. *Science* 1995; 268: 221-5.
8. Lisanti MP, Scherer PE, Tang Z, Sargiacomo M. Caveolae, caveolin-rich membrane domains: a signalling hypothesis. *Trends Cell Biol* 1994; 4: 231-59.
9. Lisanti MP, Tang Z, Scherer PE, Kübler E, Koleske AJ, Sargiacomo M. Caveolae, transmembrane signalling and cellular transformation. *Mol Membr Biol* 1995; 12: 121-4.
10. Smart EJ, Ying YY, Anderson RGW. Hormonal regulation of caveolae internalization. *J Cell Biol* 1995; 131: 929-38.
11. Stevens VL. Biosynthesis of glycosyl phosphatidylinositol anchors. *Biochem J* 1995; 310: 361-70.
12. Udenfriend S, Kodukula K. How glycosyl phosphatidylinositol anchored membrane proteins are made. *Annu Rev Biochem* 1995; 64: 563-91.
13. Hanada K, Nishijima M, Akamatsu Y, Pagano RE. Both sphingolipids and cholesterol participate in the detergent insolubility of alkaline phosphatase, a glycosyl phosphatidylinositol-anchored protein, in mammalian membranes. *J Biol Chem* 1995; 270: 6254-60.
14. Harder T, Simons K. Caveolae, DIGs, and the dynamics of sphingolipid-cholesterol microdomains. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9: 534-42.
15. Simons K, Ikonen E. Functional rafts in cell membranes. *Nature* 1997; 387: 569-72.
16. Rothberg KG. Caveolar targeting of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins. *Methods Enzymol* 1995; 250: 669-79.
17. Li S, Seitz R, Lisanti MP. Phosphorylation of caveolin by Src tyrosine kinases. *J Biol Chem* 1996; 271: 3863-8.
18. Sargiacomo M, Sudol M, Tang Z, Lisanti MP. Signal transducing molecules and glycosyl-phosphatidylinositol-linked proteins form a caveolin-rich insoluble complex in MDCK cells. *J Cell Biol* 1993; 122: 789-807.
19. Conrad PA, Smart EJ, Ying YS, Anderson RGW, Bloom GS. Caveolin cycles between plasma membrane caveolae and the Golgi complex by microtubule-dependent and microtubule-independent steps. *J Cell Biol* 1995; 131: 1421-33.
20. Rodriguez-Boulant E, Powell SK. Polarity of epithelial and neuronal cells. *Annu Rev Cell Biol* 1992; 8: 395-427.
21. Lisanti MP, Caras IW, Gilbert T, Hanzel D, Rodriguez-Boulant E. Vectorial apical delivery and slow endocytosis of a glycolipid-anchored fusion protein in transfected MDCK cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 7419-23.
22. Deckert M, Ticchioni M, Bernard A. Endocytosis of GPI-anchored proteins in human lymphocytes: role of glycolipid-based domains, actin cytoskeleton and protein kinases. *J Cell Biol* 1996; 133: 791-9.
23. Müller G, Wetekam EM, Jung C, Bandlow W. Membrane association of lipoprotein lipase and a cAMP-binding ectoprotein in rat adipocytes. *Biochemistry* 1994; 33: 12149-59.
24. Green PJ, Ferguson MAJ, Robinson PJ, Feizi T. The cation-independent mannose-6-phosphate receptor binds to soluble GPI-linked proteins via mannose-6-phosphate. *FEBS Lett* 1995; 360: 34-8.
25. Mayor S, Rothberg KG, Maxfield FR. Sequestration of GPI-anchored proteins in caveolae triggered by cross-linking. *Science* 1994; 264: 1948-51.
26. Romero G. Inositolglycans and cellular signalling. *Cell Biol Int Rep* 1991; 15: 827-52.
27. Schnitzer JE, Oh P, Jacobson BS, Dvorak AM. Caveolae from luminal plasmalemma of rat lung endothelium: microdomains enriched in caveolin, Ca²⁺-ATPase, and inositol triphosphate receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 1759-63.
28. Van den Berg CW, Cinek T, Hallett MB, Horejsi V, Morgan BP. Exogenous glycosyl-phosphatidylinositol-anchored CD59 associates with kinases in membranes clusters on U937 cells and becomes Ca²⁺-signaling competent. *J Cell Biol* 1995; 131: 669-77.
29. Pu M, Ma L, Ohkusu K, Isobe KI, Taguchi R, Ikesawa H, Hamaguchi M, Nakashima I. Direct evidence of involvement of glycosyl-phosphatidylinositol-anchored proteins in the heavy metal-mediated signal delivery into T lymphocytes. *FEBS Lett* 1995; 361: 295-8.
30. Clemente R, Jones DR, Ochoa P, Romero G, Mato JM, Varela-Nieto I. Role of glycosylphosphatidylinositol hydrolysis as mitogenic signal for epidermal growth factor. *Cell Signal* 1995; 7: 411-21.
31. Fielding PE, Fielding CJ. Plasma membrane caveolae mediate the efflux of cellular free cholesterol. *Biochemistry* 1995; 43: 14288-92.
32. Nazih H, Devred D, Martin-Nizard F, Fruchart JC, Delbart C. Phosphatidylcholine breakdown in HDL3 stimulated platelets. *Thromb Res* 1990; 59: 913-20.
33. Nazih H, Devred D, Martin F, Clavey V, Fruchart JC, Delbart C. Pertussis toxin sensitive G-protein coupling of HDL₃-receptor to phospholipase C in human platelets. *Thromb Res* 1992; 67: 559-67.
34. Nazih H, Sanderson F, Magret V, Caron B, Goudemand J, Fruchart JC, Delbart C. Proteine kinase-C dependent desensitization of HDL₃-activated PLC in human platelets. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 1321-6.
35. Nazih F, Pinchon G, Nion S, Fruchart JC, Delbart C. HDL₃-signalling in HepG2 cells involves GPI-anchored proteins. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1346: 45-60.
36. Nazih F, Lestavel S, Nion S, Rouy D, Deneffe P, Fruchart JC, Clavey V, Delbart C. HDL₃ binds to glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins to activate signalling pathways. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1358: 103-12.
37. Mackness MI, Durrington PN. HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis* 1995; 115: 243-53.

Summary

Cell signalling by glycosyl-phosphatidylinositol anchored proteins

Recently a novel mechanism has been described for the hydrophobic attachment of proteins to membranes which is shared by membrane proteins of widely differing origins and functions. The hydrophobic anchor is a glycosyl-phosphatidylinositol (GPI) which is covalently attached to the polypeptide chain. GPI-anchored proteins have been reported to reside in clusters collected over small membrane invaginations called caveolae. GPI-anchored proteins constitute an exceptionally diverse family of membrane molecules functioning in such processes as nutrient uptake, cell adhesion, catalysis, and membrane signalling events. A growing body of biochemical evidence indicates that they play a key role in the recently discovered potocytosis process, act as intracellular sorting signals, cause activation of Src-family kinase-mediated signalling pathways. Their hydrolysis, yielding inositolphosphoglycans and diacylglycerol, is one of the earliest intracellular events generated in response to growth factors, insulin or lipoproteins.

TIRÉS À PART

C. Delbart.