

■■■■ **STAT et caspases: des liens intimes.** Les STAT (*signal transducers and activators of transcription*) sont connues comme des protéines capables de transmettre un signal induit par de nombreuses cytokines, telles que l'interféron- γ ou l'IL-6. Leurs propriétés remarquables permettent une très rapide mais aussi très spécifique transmission du signal de la membrane au noyau [1]. Elles sont, au repos, dans le cytoplasme. Après activation, elles sont recrutées à la portion intracytoplasmique des récepteurs des cytokines, puis phosphorylées sur des résidus tyrosine et assemblées en dimères (hétéro- ou homodimères), ce qui leur permet d'être transférées dans le noyau. En se fixant sur leurs séquences cibles sur l'ADN, elles activent la transcription de très nombreux gènes de la réaction immunitaire et inflammatoire. L'étude de cellules déficientes en STAT1 publiée récemment [2] ouvre aux STAT de nouveaux horizons. En effet, ces cellules résistent à l'apoptose induite par le TNF α . Ce phénotype est expliqué par l'expression extrêmement réduite des protéases à cystéine, les caspases (ICE, CPP32 et ICH-1), dont on a déjà décrit dans *m/s* le rôle-clé dans la phase effectrice de la mort cellulaire apoptotique [3]. L'expression des caspases dans les cellules mutantes n'est pas nulle, puisque persiste une expression résiduelle qui, en particulier, explique le développement normal des souris *STAT1^{-/-}*, à la différence des souris *CPP32^{-/-}* qui meurent d'un défaut de développement harmonieux du système nerveux central [4]. Une des informations les plus importantes et les plus nouvelles de ce travail est que les STAT peuvent activer la transcription de certains gènes, en particulier pro-apoptotiques, sous des formes non dimériques (homo- ou hétérodimériques), contrairement à ce qu'on pensait jusqu'à présent. En effet, la transfection de cellules *STAT1^{-/-}* avec des mutants de *STAT1* codant pour des protéines dépourvues du domaine

indispensable à sa dimérisation restitue l'expression normale des caspases et le phénotype apoptotique en réponse au TNF α . Ces résultats montrent que STAT1, soit sous forme de monomère, soit en recrutant d'autres partenaires, active la transcription de gènes pro-apoptotiques. Ils suggèrent également que sous cette forme monomérique cytoplasmique, STAT1 joue un rôle pour l'instant inconnu dans l'activation des voies apoptotiques. Cette étude amène plusieurs commentaires. (1) Tout d'abord, elle confirme (une fois de plus) le rôle de premier plan des caspases au cours du processus apoptotique, et il n'est pas déraisonnable de penser que les cellules déficientes en STAT1 seraient aussi résistantes à l'apoptose induite par d'autres systèmes, tels que l'activation de la voie de Fas ou la privation en facteurs de croissance. (2) Cette étude suggère que la fonction des caspases, dont on savait jusqu'à présent qu'elle était essentiellement réglée par des modifications post-traductionnelles (à savoir le clivage et la séparation de leur prodomaine libérant ainsi leurs sous-unités actives), pourrait être réglée au niveau transcriptionnel, en particulier par les STAT. (3) Enfin, cette étude souligne, si besoin était, les liens importants, et de plus en plus d'actualité, qui lient inflammation, cytokines et apoptose. Après NF- κ B (*m/s* n° 2, vol. 13, p. 274) [5], place aux STAT...

[1. Vignais M. *Med Sci* 1997; 13: 1277-84.]

[2. Kumar A, et al. *Science* 1997; 278: 1630-2.]

[3. Mignon A, et al. *Med Sci* 1998; 14: 9-17.]

[4. Kuida K, et al. *Nature* 1996; 384: 368-72.]

[5. Israël A. *Med Sci* 1995; 11: 1017-20.]

■■■■ **PIAS: un inhibiteur spécifique de Stat3.** Les protéines STAT (*signal transducers and activators of transcription*) sont activées par de nombreuses cytokines. La phosphorylation des protéines STAT sur des

résidus tyrosine permet leur migration vers le noyau et l'activation transcriptionnelle des gènes cibles [1]. Les travaux réalisés au cours de ces dernières années ont permis de dégager une voie générale de transmission du signal («voie JAK/STAT») qui met en jeu deux familles de protéines: les tyrosine-kinases JAK et les facteurs de transcription STAT. Cette voie de signalisation intracellulaire permet d'expliquer comment l'information est relayée depuis les récepteurs de cytokines jusqu'aux gènes cibles. Plusieurs points cruciaux de ce mécanisme de transmission du signal doivent encore être éclaircis. En effet, la transmission du signal est de nature transitoire et d'amplitude variable. Par ailleurs, alors que plusieurs cytokines activent les mêmes jeux de protéines STAT, les invalidations bi-alléliques des STAT montrent que chacune de ces protéines joue un rôle cellulaire bien spécifique. Quels sont les facteurs protéiques et les processus qui permettent cette régulation fine de la signalisation JAK/STAT? Plusieurs mécanismes ont été avancés, tels que la déphosphorylation ou la dégradation spécifiques des STAT. Ces derniers mois, plusieurs études ont montré que l'action des cytokines peut être contrôlée de façon négative par des facteurs à domaines SH2, eux-mêmes induits par les cytokines, qui interfèrent avec la signalisation JAK/STAT [2]. Chung et al. (Los Angeles, CA, USA) décrivent maintenant dans *Science* [3] l'isolement d'une nouvelle protéine, appelée PIAS3 (*protein inhibitor of activated STAT*), qui s'associe spécifiquement à la protéine Stat3 activée et empêche sa liaison à l'ADN. PIAS3 inhibe l'activation transcriptionnelle exercée par Stat3 en réponse à des ligands tels que l'interleukine-6 ou l'interféron- α , mais n'a pas d'effet sur Stat1, qui est activée par ces mêmes ligands. Les auteurs indiquent qu'ils ont également isolé PIAS1, une protéine homologue de PIAS3, qui interagit spécifiquement avec Stat1. Les pro-

téines PIAS pourraient constituer une nouvelle famille de protéines dont une fonction pourra être de contrôler spécifiquement l'activité des STAT.

- [1. Vignais ML. *Med Sci* 1997; 13: 1277-84.]
- [2. Aman MJ, Leonard WJ. *Curr Biol* 1997; 7: 784-8.]
- [3. Chung CD, *et al. Science* 1997; 278: 1803-5]

■■■■ **Implication de la tyrosine-kinase JAK2 dans un processus leucémogène.** Les tyrosine-kinases de la famille JAK (Janus kinase) sont essentielles à la transmission des signaux intracellulaires émanant des récepteurs de cytokines et ceux de certains facteurs de croissance. Ces signaux engendrent des réponses cellulaires spécifiques influant sur la prolifération, la différenciation et la viabilité [1]. Les kinases JAK sont associées aux régions intracytoplasmiques des récepteurs et activées transitoirement lors de l'oligomérisation des chaînes du récepteur induite par le ligand. Jusqu'alors, l'implication de la voie de signalisation des kinases JAK dans un processus tumoral n'avait été établie de façon directe que pour la drosophile chez laquelle des mutations touchant le gène analogue Hopsotch conduisent à des défauts du développement et à des proliférations de type leucémique. Trois exemples de remaniements chromosomiques impliquant le gène Jak2 humain ont été caractérisés récemment dans des leucémies aiguës lymphoblastiques de la lignée T [2] et de la lignée B, ainsi que dans une leucémie myéloïde chronique en transformation [3]. Dans ces trois cas, les remaniements conduisent à la fusion du gène Jak2 avec le gène Tel (translocated Ets leukemia), connu pour être fréquemment remanié dans les proliférations hématopoïétiques humaines [4]. La protéine de fusion résultante TEL-JAK2 comprend un domaine d'oligomérisation homoty-

pique apporté par les séquences codantes de Tel [5] et fusionné au domaine catalytique de Jak2. Cette protéine possède une activité tyrosine-kinase constitutive et son expression dans la lignée murine hématopoïétique Ba/F3, dont la prolifération et la survie sont strictement dépendantes de l'IL-3, confère à ces cellules la capacité de proliférer en l'absence de cette cytokine [2]. Ces résultats établissent que la protéine TEL-JAK2 intertère dans les processus de contrôle de l'apoptose et de la prolifération cellulaire et suggèrent son implication dans la leucémogénèse. Ils évoquent la possibilité d'une implication plus large de cette voie de signalisation dans des processus oncogéniques. Il reste à préciser le degré d'implication des différentes étapes de la voie de signalisation des cytokines dans les propriétés biologiques de la protéine de fusion TEL-JAK2.

- [1. Vignais ML. *Med Sci* 1997; 13: 1277-84.]
- [2. Lacronique V, *et al. Science* 1997; 278: 1309-12.]
- [3. Peeters P, *et al. Blood* 1997; 90: 2535-40.]
- [4. Bernard OA, *et al. Leuk Lymphoma* 1996; 23: 459-65.]
- [5. Jousset C, *et al. EMBO J* 1997; 16: 69-82.]

■■■■ **Récepteurs PPAR- γ , différenciation adipocytaire et inflammation.** *médecine/sciences* a présenté en détail le rôle des récepteurs nucléaires PPAR- γ dans la différenciation des adipocytes (*m/s* n° 4, vol. 11, p. 625) [1]. La différenciation adipocytaire peut être activée par différents agonistes de ces récepteurs, par exemple la prostaglandine J₂ et les médicaments anti-diabétiques oraux de la famille des thiazolidinediones. Très récemment, on a montré que les anti-inflammatoires non stéroïdiens, par exemple l'indométhacine, étaient des agonistes des PPAR- α et γ [2]. A l'inverse, la différenciation adipocy-

taire est bloquée par de nombreux inducteurs de l'inflammation, par exemple les TNF, l'interleukine-1, l'interleukine-6, l'interféron- γ et le TGF- β . Deux articles publiés dans le premier numéro de janvier 1998 de *Nature* permettent de relier toutes ces informations [3, 4]. En effet, ces articles montrent que l'activation des PPAR- γ par leurs agonistes inhibe la production de cytokines inflammatoires par les monocytes [4]. Normalement, l'induction de l'expression de ces cytokines par les différents agents activant les macrophages/monocytes est relayée par des facteurs de transcription de type AP-1, STAT et NF- κ B. Les agonistes des PPAR- γ semblent inhiber l'activation de ces trois types de facteurs de transcription [3]. L'intérêt de cette découverte est qu'elle permet de faire des PPAR- γ des cibles pour isoler de nouveaux médicaments anti-inflammatoires. D'ores et déjà, on peut penser que l'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens ne passe pas simplement par l'inhibition de la cyclo-oxygénase, comme on le pensait jusqu'à présent, mais aussi par le blocage de l'activation des monocytes, et par conséquent par l'inhibition de la production de cytokines inflammatoires.

- [1. Martin G, *et al. Med Sci* 1996; 12: 885-90.]
- [2. Lehmann JM, *et al. J Biol Chem* 1997; 272 :3406-10.]
- [3. Ricotte MM, *et al. Nature* 1998; 391: 79-82.]
- [4. Jiang C, *et al. Nature* 1998; 391: 82-6.]

■■■■ **Le contrôle de la contraction musculaire lisse par la voie Rho/ROCK et son rôle dans l'hypertension artérielle *in vivo*.** Le rôle de la phosphorylation de la chaîne légère de la myosine (MLC) et celui de sa régulation par le Ca, dans la contraction musculaire lisse, sont connus depuis longtemps: les agonistes de la contraction induisent une libération de Ca intracellulaire ayant pour conséquence l'activation

d'une protéine-kinase dépendante du calcium et de la calmoduline (*myosin light chain kinase/MLCK*) et la phosphorylation de la MLC qui déclenche la contraction; la MLC est déphosphorylée par une enzyme spécifique, la MLC phosphatase (MLCP) dont le niveau d'activité détermine la sensibilité au calcium de la phosphorylation de la MLC et du déclenchement de la contraction (phénomène de sensibilisation au Ca). On sait également depuis longtemps que certains des agonistes de la contraction des fibres lisses (acide lysophosphatidique, thrombine, angiotensine, endothéline) induisent dans les cellules non musculaires la formation des câbles d'actine et des plaques d'adhérence, par une voie dépendant des GTPases Rho. Il a été montré récemment que les deux phénomènes (contraction des fibres lisses et induction des câbles d'actine dans les cellules non musculaires) sont réglés par un même mécanisme moléculaire mettant en jeu les kinases de la famille ROK (Rho-kinase/ROK α et p160^{ROCK/ROK β /ROK γ}). Ces Ser/Thr protéine-kinases, qui sont des partenaires spécifiques de la forme activée de RhoA, phosphorylent la sous-unité MBS (*myosin binding subunit*) de la MLCP (*myosin light chain phosphatase*) ce qui entraîne l'inactivation de l'enzyme et une sensibilisation au Ca de la phosphorylation de la MLC. Par cette voie, les Rho-kinases induisent une hyperphosphorylation de la chaîne légère de la myosine, entraînant la contraction des fibres musculaires lisses et la formation des câbles d'actine dans les cellules non musculaires. Le rôle des Rho-kinases dans le contrôle de la contraction musculaire lisse vient d'être démontré *in vivo*, de façon éclatante, par un groupe de pharmacologistes japonais [1]. Ces chercheurs avaient développé une classe de produits myorelaxants actifs sur les fibres lisses vasculaires et bronchiques et montré que ces produits agissent en inhibant le mécanisme de sensibilisation au Ca. Ils ont réussi à purifier

après marquage d'affinité une protéine de 150 kDa correspondant à la cible moléculaire d'un des produits de cette classe (Y-27632); ils ont pu alors montrer par microséquençage et réaction immunologique croisée que cette protéine était identique à la kinase p160^{ROCK}. Y-27632 et les produits apparentés sont capables d'inhiber de façon sélective l'activité kinase de p160^{ROCK} *in vitro*; ils inhibent également, dans des cellules en culture, la formation des câbles d'actine et des plaques d'adhérence, induite par l'expression de Rho activé ou de p160^{ROCK}; en revanche, ces produits n'ont pas d'effet sur les *ruffles* (replis membranaires) induits par Rac activé. Finalement, ces produits possèdent, *in vivo*, une puissante action antihypertensive dans trois modèles de rats hypertendus, ce qui laisse supposer que, dans ces modèles animaux au moins, la sensibilisation au calcium contribue de façon importante à l'hypertension. A côté des espoirs qu'ils peuvent susciter en matière de thérapeutique antihypertensive, les produits de cette classe devraient être des outils de choix pour tester *in vivo* le rôle de p160^{ROCK} dans les autres fonctions contrôlées par les GTPases Rho comme l'adhérence et la motilité cellulaires.

[1. Uehata M, *et al. Nature* 1997; 389: 990-4.]

■■■■ **La protéine von Hippel-Lindau (VHL) et ses partenaires.** Diverses mutations et inactivations du gène VHL sont trouvées dans les carcinomes rénaux sporadiques [1]. La carcinogenèse résulte de plusieurs phénomènes moléculaires qui impliquent plusieurs partenaires de la protéine VHL. L'interaction VHL/élongine (*m/s n° 11, vol. 11, p. 1601*) est mieux comprise: l'interaction VHL/élongine C dépend fortement des séquences carboxy-terminales de l'élongine C et non des séquences amino-terminales nécessaires à la liaison de l'élongine B et à la fixation et à l'activation de l'élon-

gine A. Ainsi la protéine VHL règle négativement l'activation de l'élongine C en bloquant stériquement l'interaction de l'extrémité carboxy-terminale de l'élongine C avec l'élongine A [2]. Le facteur de croissance vasculaire endothélial (VEGF) est un autre partenaire de VHL: cette dernière protéine diminue l'expression du gène *VEGF* à la fois au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel [3]. Pal *et al* (Boston, MA, USA) viennent de montrer que la protéine VHL normale exerce cet effet en inhibant la MAPK (*mitogen-activated protein kinase*), en neutralisant les isoformes ζ et δ de la PKC (protéine-kinase C). Cette liaison s'effectue dans le cytoplasme, empêchant la translocation de ces isoformes vers la membrane. La PKC δ (mais non l'isoforme ζ) interagit directement avec VHL. Dans une lignée de cellules de carcinome rénal, un inhibiteur spécifique de MAPK diminue de 80 % l'ARNm du VEGF [4]. Enfin le TGF- α (*transforming growth factor α*) est le partenaire le plus récemment identifié de VHL. Dans les carcinomes rénaux ce facteur est souvent hyperexprimé. Il en est de même dans des lignées cellulaires de carcinome rénal où le gène *VHL* a été muté. A l'inverse, dans des cellules exprimant *VHL* normal, le taux de sécrétion de TGF- α est très bas. Knebelmann *et al.* (Boston, MA, USA) ont ainsi démontré que VHL diminue le message et la protéine TGF- α , en altérant la stabilité de l'ARNm et en raccourcissant ainsi sa demi-vie; VHL n'affecte pas le contrôle transcriptionnel de TGF- α . En revanche, VHL n'a aucun effet sur le récepteur commun de TGF- α et de l'EGF (*epidermal growth factor*) [5].

- [1. Richard S, *et al. Med Sci* 1995; 11: 43-51.]
 [2. Takagi Y, *et al. J Biol Chem* 1997; 272: 27444-9.]
 [3. Mukhopadhyay D, *et al. Mol Cell Biol* 1997; 17: 5629-39.]
 [4. Pal S, *et al. J Biol Chem* 1997; 272: 27509-12.]
 [5. Knebelmann B, *et al. Cancer Res* 1998; 58: 226-31.]

■■■ **Le phénotype de la mucoviscidose : une insuffisance pancréatique ne traduit pas toujours une insuffisance fonctionnelle du canal chlorure.** La mucoviscidose, maladie génétique récessive la plus fréquente des populations européennes, est due à des mutations variées du gène *CFTR* (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*). De nombreux travaux ont cherché à établir une corrélation entre la mutation et le phénotype pathologique [1]. Des groupes canadiens avaient ainsi fait une étude fonctionnelle de 18 protéines mutées au niveau de la dernière boucle cytoplasmique (CL4) carboxy-terminale [2]. Cette étude, fondée sur la stimulation par l'AMP cyclique du canal chlorure, avait montré que, parmi les mutants, certaines protéines n'ont pas subi une maturation correcte et qu'on observe alors chez les malades une insuffisance pancréatique ; dans d'autres cas, la maturation protéique

semblait satisfaisante, le trouble se situant au niveau du mécanisme d'ouverture du canal, ces malades ne présentaient pas d'insuffisance pancréatique. Un travail récent de deux groupes parisiens de l'Inserm remet en question une classification sans doute trop simple [3]. Leur modèle expérimental de transfert de gène et d'expression dans des cellules HeLa permet de caractériser la synthèse, la structure et la fonction des protéines issues de gènes porteurs de mutations. Deux mutations ont été étudiées, R1066C-CFTR et C225R-CFTR, qui comportaient toutes deux une insuffisance pancréatique et étaient situées dans deux régions différentes, un domaine transmembranaire et la boucle précédemment décrite. La synthèse protéique et la maturation post-traductionnelle ont été explorées par immunoprécipitation, la fonction du canal chlorure par un test de fluorescence. Alors que la

protéine R1066C-CFTR répond aux critères de l'observation précédente, maturation insuffisante et déficit fonctionnel, la protéine C225R-CFTR est fonctionnelle et, bien qu'insuffisamment exprimée, correctement glycosylée. L'insuffisance pancréatique demande donc, dans ce cas, un mécanisme explicatif qui n'est pas encore décrit, et ne peut, seule, être l'élément pronostique d'une mucoviscidose. Il semble, en revanche, que le système d'expression utilisé montre une corrélation entre le défaut de maturation protéique et la gravité des signes pulmonaires. Une fois de plus, la prédiction d'un phénotype par un génotype s'avère complexe.

[1. Férec C, *et al. Med Sci* 1994; 10: 631-9.]

[2. Seibert FS, *et al. J Biol Chem* 1996; 271: 15139-45.]

[3. Fanen P, *et al. J Biol Chem* 1997; 272: 30563-6.]