



Parmi les très nombreux substrats de Pin1 identifiés figure le facteur de transcription IRF3 [12]. Pin1 reconnaît en effet IRF3 phosphorylé (IRF3-P) et catalyse son isomérisation. Le changement de conformation ainsi induit conduit à l'ubiquitination d'IRF3 et à sa dégradation par le protéasome. Pin1 est donc un inhibiteur de la réponse antivirale dépendante d'IRF3 qui permet d'interrompre la synthèse d'IFN- β [12]. Deux protéines TRIM, TRIM21 et TRIM19, augmentent la production d'IFN- β en empêchant la reconnaissance d'IRF3-P par Pin1 [13]. Tandis que TRIM21 empêche l'interaction entre IRF3-P et Pin1, TRIM19 agit en séquestrant Pin1 dans les corps nucléaires PML (*promyelocytic leukemia*), l'empêchant ainsi d'interagir avec sa cible [13, 14] (Figure 2A). Nous avons montré qu'IRF7-P est également un substrat de Pin1, et que la synthèse d'IFN par les pDC est donc fortement réprimée par cette enzyme [10]. Nos travaux lèvent le voile sur le système de contrôle de la production d'IFN par les pDC, dont la régulation fine

implique deux protéines antagonistes : TRIM8, qui permet une production efficace d'IFN par ces cellules, et Pin1, qui bloque cette production (Figure 2B). Cette découverte pourrait permettre d'élaborer de nouvelles stratégies thérapeutiques contre des maladies liées à une surproduction d'IFN, notamment les maladies virales chroniques et les maladies auto-immunes. \diamond

Interferon response: with great power comes great responsibility

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Schneider WM, Chevillotte MD, Rice CM. Interferon-stimulated genes: a complex web of host defenses. *Annu Rev Immunol* 2014; 32 : 513-45.
- Kawai T, Akira S. Innate immune recognition of viral infection. *Nat Immunol* 2006; 7 : 131-7.
- Swiecki M, Colonna M. The multifaceted biology of plasmacytoid dendritic cells. *Nat Rev Immunol* 2015; 15 : 471-85.
- Komander D, Rape M. The ubiquitin code. *Annu Rev Biochem* 2012; 81 : 203-29.
- Stremlau M, Owens CM, Perron MJ, et al. The cytoplasmic body component TRIM5 α restricts HIV-1 infection in old world monkeys. *Nature* 2004; 427 : 848-53.
- Nisole S, Stoye JP, Saib A. TRIM family proteins: retroviral restriction and antiviral defence. *Nat Rev Microbiol* 2005; 3 : 799-808.
- Gack MU, Shin YC, Joo CH, et al. TRIM25 RING-finger E3 ubiquitin ligase is essential for RIG-I-mediated antiviral activity. *Nature* 2007; 446 : 916-20.
- Rajsbaum R, Garcia-Sastre A, Versteeg GA. TRIMmunity: the roles of the TRIM E3-ubiquitin ligase family in innate antiviral immunity. *J Mol Biol* 2014; 426 : 1265-84.
- Versteeg GA, Rajsbaum R, Sanchez-Aparicio MT, et al. The E3-ligase TRIM family of proteins regulates signaling pathways triggered by innate immune pattern-recognition receptors. *Immunity* 2013; 38 : 384-98.
- Maarifi G, Smith N, Maillet S, et al. TRIM8 is required for virus-induced IFN response in human plasmacytoid dendritic cells. *Sci Adv* 2019; 5 : eaax3511.
- Liou YC, Zhou XZ, Lu KP. Prolyl isomerase Pin1 as a molecular switch to determine the fate of phosphoproteins. *Trends Biochem Sci* 2011; 36 : 501-14.
- Saitoh T, Tun-Kyi A, Ryo A, et al. Negative regulation of interferon-regulatory factor 3-dependent innate antiviral response by the prolyl isomerase Pin1. *Nat Immunol* 2006; 7 : 598-605.
- Yang K, Shi HX, Liu XY, et al. TRIM21 is essential to sustain IFN regulatory factor 3 activation during antiviral response. *J Immunol* 2009; 182 : 3782-92.
- El Asmi F, Maroui MA, Dutrieux J, et al. Implication of PML1V in both intrinsic and innate immunity. *PLoS Pathog* 2014; 10 : e1003975.

NOUVELLE

Mécanotransduction par les cavéoles Un rôle inédit de l'ATPase EHD2

Christophe Lamaze¹, Stéphanie Torino²

¹Institut Curie - Centre de recherche, PSL research university, Membrane dynamics and mechanics of intracellular signaling team, Inserm U1143, CNRS UMR3666, 75005 Paris, France.

²CNRS UMR7275, Institut de pharmacologie cellulaire et moléculaire, université Côte d'Azur, 06560 Valbonne, France.

christophe.lamaze@curie.fr

stephanie.torino@unice.fr

> Les cellules perçoivent leur microenvironnement grâce à des signaux solubles, des récepteurs, mais aussi des facteurs physiques et mécaniques, tels que la rigidité de la matrice extracellulaire, l'adhérence confinée, ou encore les forces de cisaillement de la lymphe et du sang sur les cellules endothéliales des vaisseaux. Ainsi, la plupart des cellules sont en permanence soumises à des sti-

mulus mécaniques, qui sont traduits en signaux biochimiques par un processus appelé mécanotransduction. La mécanotransduction contrôle de nombreux aspects de la vie cellulaire, notamment la croissance, la forme ou la différenciation des cellules [1]. Des réponses cellulaires anormales aux contraintes mécaniques externes et internes sont associées à certaines maladies (e.g.,

maladies cardiaques, myopathies, cancer) [2]. Si les dix dernières années ont vu s'accroître considérablement le nombre d'études sur les forces mécaniques en biologie, les mécanismes qui permettent d'intégrer la détection de ces forces (mécanoréception) à la mécanotransduction restent mal compris. Les cavéoles sont des petites (60-80 nm) invaginations caractéristiques de la

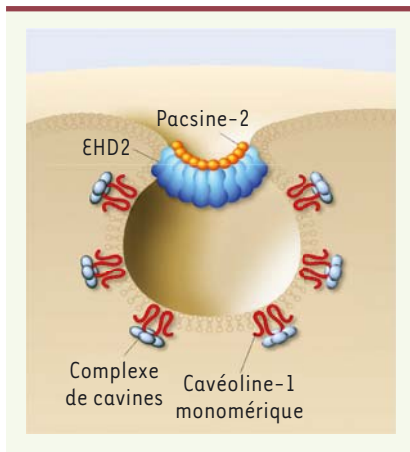


Figure 1. La cavéole. Les oligomères de cavéoline-1, en s'associant à la membrane plasmique, la déforment en une petite invagination cavéolaire de 60-80 nm. Le complexe cytosolique de cavines interagit avec la cavéoline-1 membranaire pour stabiliser la forme définitive des cavéoles. Au niveau du cou de la structure, EHD2 et pacsine-2 participent également à la morphogenèse de la cavéole.

membrane plasmique en forme de bulbe, qui ont été découvertes en microscopie électronique il y a plus de soixante ans par Georges Palade [3] (Figure 1). Elles sont produites par l'association d'oligomères d'une protéine transmembranaire, la cavéoline-1 (Cav1, leur principal composant structural), et sont stabilisées par l'assemblage de trois cavines cytoplasmiques (cavine-1, -2 et -3) formant un manteau polyédrique autour de leur bulbe [4, 5]. Les protéines pascin2 (*protein kinase C and casein kinase substrate in neurons 2*)/syndapine-II et EHD2 (*Eps-15 homology domain-containing protein 2*) sont également associées aux cavéoles. Pascin2, qui contient un domaine BAR (*Bin, Amphiphysin, Rvs*) permettant la liaison aux courbures membranaires, est colocalisée partiellement avec les cavéoles et participe à leur morphogenèse. Quant à EHD2, une ATPase capable de se lier à la membrane plasmique et d'induire la tubulation et la scission membranaires, elle est localisée au niveau du cou de l'invagination cavéolaire et assure la

stabilité des cavéoles dans la membrane plasmique (Figure 1).

En 2011, nous avons découvert une fonction nouvelle des cavéoles dans la mécanoréception et la mécanoprotection des cellules. Sous l'effet d'une augmentation de la tension de la membrane plasmique produite par le gonflement ou l'étirement mécanique des cellules, les cavéoles s'aplatissent immédiatement pour fournir une surface membranaire supplémentaire et empêcher ainsi la rupture [6]. Plusieurs processus induits par le désassemblage mécanique des cavéoles restent cependant à comprendre. Nous avons cherché 1) à déterminer si le désassemblage mécanique des cavéoles est associé à une fonction de mécanotransduction, 2) à identifier les protéines impliquées dans cette mécanotransduction, et 3) à définir la fonction des protéines identifiées dans la mécanoréception par les cavéoles. Deux protéines cavéolaires, cavine-1 et EHD2, contiennent un motif de localisation nucléaire (*nuclear localization signal*, NLS), ce qui leur confère la possibilité de réaliser la navette entre le noyau cellulaire et le cytoplasme [7, 8]. De plus, l'impact du stress mécanique sur la translocation nucléaire de ces protéines, et son rôle potentiel dans la mécanotransduction par les cavéoles, ont été étudiés.

Par différentes techniques d'imagerie et de biochimie, nous avons d'abord confirmé qu'en l'absence de stress mécanique, EHD2 et cavine-1 sont localisées à la membrane plasmique. En revanche, en présence d'un stress mécanique (choc osmotique, étirement cellulaire), une relocalisation d'EHD2 dans le noyau est observée, alors que la localisation de la cavine-1 n'est pas modifiée. Nous avons également analysé la dynamique de la translocation nucléaire d'EHD2 dans des cellules vivantes en 3D en utilisant la microscopie « à feuilles de lumière en réseau ». Il est alors apparu qu'au cours du désassemblage mécanique des cavéoles, la quantité d'EHD2 nucléaire augmente rapidement,

et qu'inversement, la suppression du stress mécanique s'accompagne d'une diminution de la quantité d'EHD2 dans le noyau ; le réservoir de cavéoles à la membrane plasmique est alors rapidement reconstitué. Ces observations indiquaient que désassemblage et réassemblage des cavéoles de la membrane plasmique sont étroitement associés à la translocation nucléaire d'EHD2 [9]. Nous avons alors recherché si des modifications post-traductionnelles de EHD2 étaient associées à sa libération mécanique des cavéoles. En effet, EHD2 peut être sumoylée par SUMO-1 (modification semblable à l'ubiquitination) [8], la sumoylation des protéines étant associée à leur transport nucléo-cytoplasmique et à la réponse des cellules à différents stress, y compris à un stress osmotique chez les plantes [10]. L'interaction entre EHD2 et SUMO a été explorée par la technique PLA (*proximity ligation assay*), qui permet de détecter par immunofluorescence les interactions protéine-protéine, ainsi que par des expériences de sumoylation de EHD2. Nous avons alors montré qu'un stress mécanique induit la sumoylation de EHD2 et, grâce à l'utilisation de mutants de sumoylation, que cette sumoylation est essentielle pour sa translocation dans le noyau [9].

Pour déterminer le rôle de la translocation nucléaire de EHD2, les transcriptomes de cellules privées d'EHD2 (en utilisant un petit ARN inhibiteur spécifique) et de cellules témoins ont été ensuite analysés, en présence ou en l'absence d'un stress mécanique. Nous avons ainsi montré que l'enrichissement de plusieurs ensembles de transcrits codant des protéines impliquées dans différentes voies de signalisation, en présence d'un stress mécanique, était conditionné par la présence d'EHD2.

Nous avons également mesuré les quantités d'ARNm codant des protéines cavéolaires en présence et en l'absence d'une contrainte mécanique appliquée aux cellules, et montré que le stress mécanique provoque une diminution

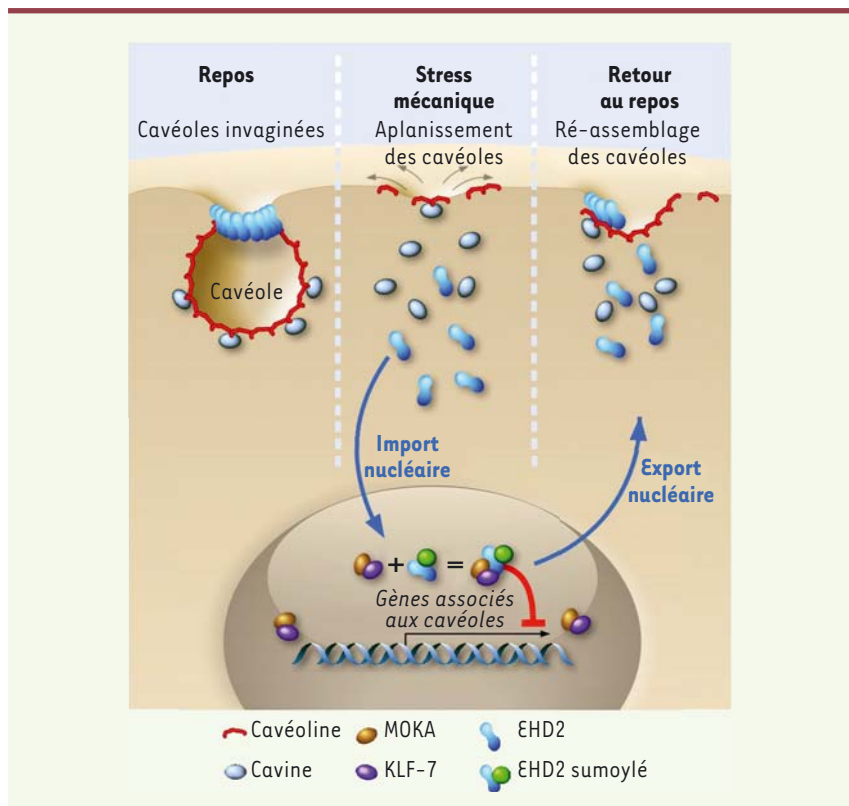


Figure 2. EHD2 est un acteur central de la mécanotransduction par les cavéoles. Sous l'effet d'une contrainte mécanique, les cavéoles s'aplanissent afin d'assurer l'homéostasie de la tension membranaire de la cellule. Cela entraîne la libération de la cavéoline, des cavines, et d'EHD2. EHD2 est alors SUMOylée et transférée au noyau, où il contrôle la transcription de gènes par interaction avec le complexe transcriptionnel MOKA et KLF-7. Lors du relâchement des contraintes, EHD2 quitte le noyau et retourne à la membrane plasmique pour stabiliser de nouveau le réservoir de cavéoles.

significative du nombre de ces ARNm. Cette répression adaptative de la transcription dépend de la présence d'EHD2 et de l'activité de ses deux partenaires KLF7 (facteur 7 de type Krüppel) et MOKA (modulateur de l'activité de KLF7) [8, 9].

La microscopie de fluorescence « par réflexion totale interne » (ou microscopie à onde évanescente) nous a ensuite permis d'analyser le rôle d'EHD2 dans la dynamique des cavéoles, et nous avons constaté que si la perte d'EHD2 ne perturbe pas le désassemblage des cavéoles provoqué par un stress mécanique, elle entraîne cependant un défaut du réassemblage des cavéoles lors du retour aux conditions basales. En mesurant la tension membranaire par la technique de « traction par attache », nous avons montré que la présence d'EHD2 est nécessaire au maintien, dans la membrane plasmique, d'un réservoir fonctionnel de cavéoles qui amortit les variations de tension membranaire lors de contraintes mécaniques [9].

Un faible niveau d'expression d'EHD2 a été rapporté dans plusieurs tumeurs cancéreuses solides [11, 12]. L'étape suivante était donc de déterminer si cette faible expression d'EHD2 était également associée à des défauts de stabilisation des cavéoles et de translocation nucléaire de cette protéine. Nous avons analysé la dynamique des cavéoles dans deux lignées cellulaires de cancer du sein, Hs578T et MDA-MB-436, sélectionnées pour leur forte et très faible production d'EHD2, respectivement. En exerçant une contrainte mécanique sur la membrane plasmique de ces cellules, nous avons observé une diminution rapide du nombre de cavéoles à la surface des cellules Hs578T (forte expression d'EHD2), mais pas des cellules MDA-MB-436 (faible expression de EHD2). Nous avons également montré que ce défaut de mécanoréception par les cavéoles dans les cellules MDA-MB-436 était associé à des défauts de régulation transcriptionnelle de gènes codant des protéines constituantes des

cavéoles. L'analyse de ces lignées cellulaires par microscopie électronique « à réplique de métal » a montré une multitude de cavéoles invaginées, en accord avec l'expression forte de Cav1 et EHD2, dans les cellules Hs578T, tandis que les cellules MDA-MB-436, quasi dépourvues d'EHD2, possédaient très peu de cavéoles, voire aucune. L'expression forcée d'EHD2 dans ces cellules est d'ailleurs suffisante pour reconstituer un réservoir de cavéoles dans la membrane plasmique. Nos résultats indiquent que l'absence de cavéoles dans les cellules cancéreuses dépourvues d'EHD2 pourrait être une conséquence de l'impossibilité de stabiliser leur réservoir de cavéoles dans un environnement mécanique changeant au sein de la masse tumorale [9]. En conclusion, nos résultats montrent, pour la première fois, l'existence d'une mécanotransduction dépendante des cavéoles, et définissent EHD2 comme un acteur central de ce processus en reliant le désassemblage du réservoir de cavéoles à la régulation de la transcription des gènes en présence d'une contrainte mécanique exercée sur la membrane plasmique (Figure 2) [9]. ♦

Caveolae mechanotransduction: a new role for the EHD2 ATPase

REMERCIEMENTS

Nous remercions tous les co-auteurs de la publication originale [9], ainsi que Franck Aguila pour les figures.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Iskratsch T, Wolfenson H, Sheetz MP. Appreciating force and shape: the rise of mechanotransduction in cell biology. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014 ; 15 : 825-33.
2. DuFort CC, Paszek MJ, Weaver VM. Balancing forces: architectural control of mechanotransduction. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011 ; 12 : 308-19.
3. Palade GE. Fine structure of blood capillaries. *J Appl Phys* 1953 ; 24 : 1424.
4. Stoeber M, Stoeck IK, Hänni C, et al. Oligomers of the ATPase EHD2 confine caveolae to the plasma membrane through association with actin. *EMBO J* 2012 ; 31 : 2350-64.
5. Ludwig A, Howard G, Mendoza-Topaz C, et al. Molecular composition and ultrastructure of the caveolar coat complex. *PLoS Biol* 2013 ; 11 : e1001640.
6. Sinha B, Köster D, Ruez R, et al. Cells respond to mechanical stress by rapid disassembly of caveolae. *Cell* 2011 ; 144 : 402-13.
7. Nassar ZD, Parat MO. Cavin family: new players in the biology of caveolae. *Int Rev Cell Mol Biol* 2015 ; 320 : 235-305.
8. Pekar O, Benjamin S, Weidberg H, et al. EHD2 shuttles to the nucleus and represses transcription. *Biochem J* 2012 ; 444 : 383-94.
9. Torrino S, Shen WW, Blouin CM, et al. EHD2 is a mechanotransducer connecting caveolae dynamics with gene transcription. *J Cell Biol* 2018 ; 217 : 4092-105.
10. Geiss-Friedlander R, Melchior F. Concepts in sumoylation: a decade on. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007 ; 8 : 947-56.
11. Li M, Yang X, Zhang J, et al. Effects of EHD2 interference on migration of esophageal squamous cell carcinoma. *Med Oncol* 2013 ; 30 : 396.
12. Yang X, Ren H, Yao L, et al. Role of EHD2 in migration and invasion of human breast cancer cells. *Tumour Biol* 2015 ; 36 : 3717-26.

NOUVELLE

Cocaïne en « dents de scie »

En modéliser la consommation chez le rat

Florence Allain, Anne-Noël Samaha

Département de pharmacologie et de physiologie, Groupe de recherche sur le système nerveux central, Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal, QC, H3C 3J7, Canada.

florence.allain@umontreal.ca
anna.samaha@umontreal.ca

➤ Consommer une drogue ne signifie pas nécessairement être toxicomane et même avec un usage répété, la consommation de drogue peut rester récréative et contrôlée. À l'inverse, quand un individu perd le contrôle de sa consommation, cette dernière est qualifiée de pathologique, et un trouble d'utilisation de substance peut alors être diagnostiqué (nous parlerons de *toxicomanie* ou d'*addiction*). Dissocier une consommation récréative de drogue d'une consommation pathologique est primordial pour comprendre comment la toxicomanie se développe, et ainsi mieux la traiter. Pour faire cette dissociation, les signes symptomatiques d'une consommation compulsive et pathologique de drogue sont répertoriés dans le manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux (DSM-5) de l'Association américaine psychiatrique [1]. Ces signes incluent une motivation excessive à obtenir et consommer la drogue, consommer en dépit des conséquences négatives, une

vulnérabilité à la rechute après abstinence, et autres. Pour modéliser la toxicomanie en laboratoire, ces mêmes signes sont recherchés chez des animaux à qui l'on permet de consommer volontairement de la drogue [2].

En dépit de plusieurs années de recherche, l'addiction à la cocaïne est, encore aujourd'hui, un trouble pour lequel il n'existe aucun traitement pharmacologique approuvé. Ceci peut être dû au fait que les modèles animaux sur lesquels les cibles thérapeutiques sont identifiées et les traitements testés ne représentent pas toujours une consommation pathologique de cocaïne cliniquement pertinente. Afin d'augmenter la valeur translationnelle des modèles animaux à la condition clinique, il est important d'observer chez eux les comportements symptomatiques d'une consommation pathologique de cocaïne telle que mesurée chez l'être humain. Dans cette Nouvelle, nous décrivons certains modèles animaux utilisés pour

étudier l'addiction à la cocaïne, et tout spécifiquement des modèles qui s'inspirent des schémas de consommation de cette drogue qui sont observées chez l'être humain.

Consommation pathologique de cocaïne chez l'être humain

Plusieurs facteurs peuvent accélérer ou retarder le développement d'une addiction à la cocaïne. Les facteurs les plus étudiés incluent des variables individuelles (génétique, biologie) et environnementales. Cependant, au-delà de ces facteurs, la voie d'administration de cette drogue peut aussi être décisive. La cocaïne peut en effet être consommée de diverses façons. Elle peut être mâchée, insufflée, fumée ou encore injectée. Selon la voie d'administration privilégiée par les consommateurs, la pharmacocinétique de la drogue varie. Elle réfère aux taux de cocaïne qui circulent dans le sang et dans les organes cibles (dont le cerveau) en fonction du