

Rab4 et Rabip4 : un tandem impliqué dans le transport de glucose stimulé par l'insuline ?

Le glucose pénètre dans les cellules adipeuses et musculaires par diffusion facilitée par le transporteur de glucose Glut 4 (*m/s* 1995, n° 8, p. 1111). En l'absence d'insuline, Glut 4 est retenu dans des vésicules intracellulaires spécifiques formant un compartiment de séquestration. L'insuline provoque la translocation de ces vésicules vers la membrane plasmique avec laquelle elles fusionnent, permettant ainsi l'entrée du glucose dans la cellule. Glut 4 est ensuite internalisé par des vésicules à manteau de clathrine dans le compartiment endosomal, comme ce qui est observé pour la transferrine et son récepteur. Cependant, à la différence du récepteur de la transferrine qui repart directement vers la membrane plasmique, Glut 4 est à nouveau dirigé vers son compartiment de séquestration [1] (figure 1).

La petite GTPase Rab4 joue un rôle important dans ces mouvements vésiculaires. Elle est associée aux endosomes précoces de tri et de recyclage par lesquels Glut 4 transite et peut être, également, aux vésicules du compartiment de séquestration. De plus, l'insuline provoque l'activation de Rab4 [2] et sa délocalisation vers le cytosol [3, 4], suggérant une implication fonctionnelle de Rab4 dans la translocation de Glut 4. Effectivement, la surexpression de Rab4 dans l'adipocyte augmente la rétention intracellulaire de Glut 4, sans modifier la capacité de l'insuline à stimuler la translocation du transporteur vers la membrane [5]. En revanche, l'expression d'une forme mutée cytosolique de Rab4 inhibe la translocation induite par l'insuline ou par l'expression d'une phosphatidylinositol-3-kinase constitutivement active

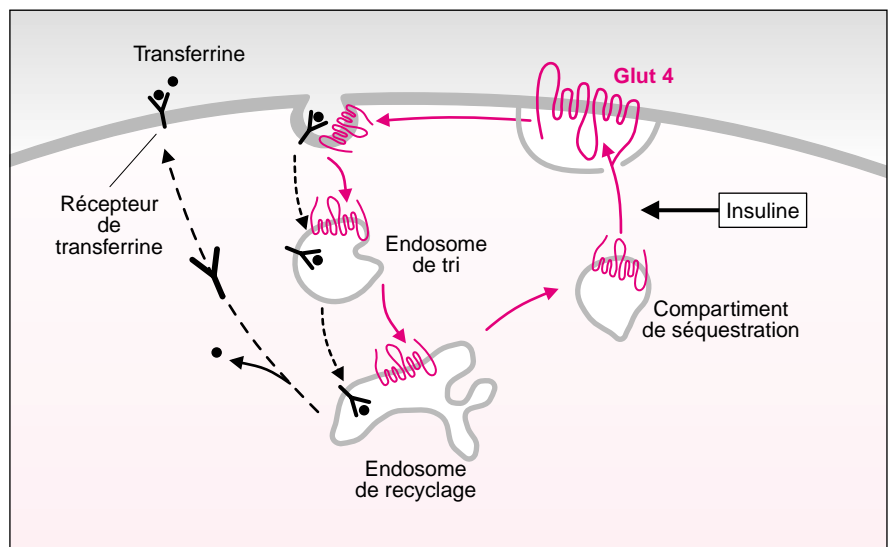


Figure 1. **Représentation schématique du trafic intracellulaire de Glut 4.** Le transporteur de glucose Glut 4 est recyclé par les endosomes de tri et de recyclage avant d'être dirigé vers un compartiment de séquestration qui n'existe pas, par exemple, pour la transferrine. C'est à partir de ce compartiment de séquestration que l'insuline recrute Glut 4 pour provoquer sa translocation vers la membrane plasmique.

[5, 6]. Elle inhibe également la translocation de Glut 4 produite par le choc osmotique, stimulus dont les voies de signalisation diffèrent de celles de l'insuline [6]. L'hypothèse qui prévaut actuellement est que la forme cytosolique de Rab 4 pourrait complexer une ou des protéines requises pour la fusion membranaire et bloquer une étape de la translocation de Glut 4 commune à l'insuline et au choc osmotique.

Pour préciser le rôle joué par Rab4 dans la translocation de Glut 4, nous avons recherché ses effecteurs en utilisant le système double hybride de levure. Nous avons identifié Rabip4 (*Rab4 Interacting Protein*), une nouvelle protéine ayant les critères requis

pour les effecteurs de GTPases [7]. Elle est composée d'un domaine RUN, de deux domaines *coiled-coil* et d'un domaine de type *FYVE-finger*. Bien que le rôle du domaine RUN, commun à plusieurs protéines interagissant avec des GTPases, ne soit pas connu [8], il semble nécessaire pour l'association de Rabip4 aux membranes. Les domaines *coiled-coil*, souvent responsables d'interactions entre protéines, pourraient permettre la dimérisation de Rabip4, voire son interaction avec des protéines non encore identifiées. Quant au motif *FYVE-finger*, il est responsable d'une interaction avec le phosphatidylinositol-3-phosphate. Dans des cellules CHO, Rabip4 est co-loc-

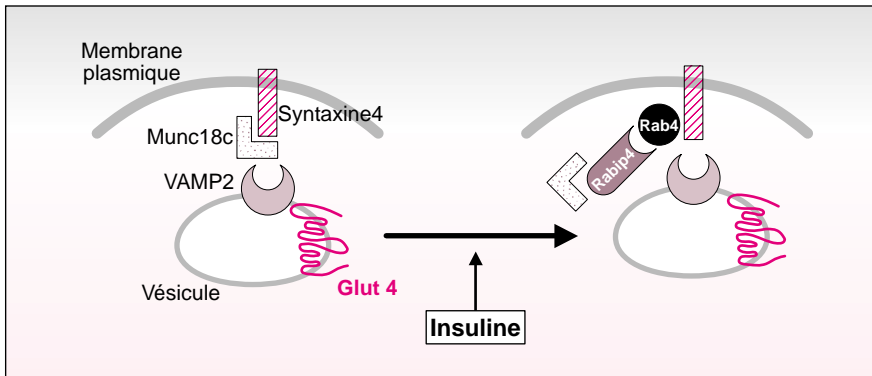


Figure 2. **Mécanismes de translocation de Glut 4.** À l'état basal, Munc18c interagit avec la Syntaxine 4, empêchant son interaction avec VAMP2. En présence d'insuline, Munc18c se dissocie de la Syntaxine 4 sous l'action de Rab4 et/ou Rabip4, permettant la fusion de la vésicule avec la membrane plasmique.

lisée en grande partie avec EEA1, un marqueur des endosomes de tri. En coopération avec une forme active de Rab4, Rabip4 provoque la fusion des endosomes de tri et de recyclage, altérant ainsi la morphologie des endosomes précoces [7]. Il est possible que le tandem Rab4-Rabip4 intervienne également dans d'autres étapes plus spécifiques, par exemple le tri de Glut 4 vers son compartiment de séquestration ou la fusion des vésicules avec la membrane plasmique.

Les protéines Rab participent aux mécanismes de fusion membranaire en contrôlant l'appariement des v-SNARE (*vesicle-soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor*) sur la vésicule avec les t-SNARE (*t pour target membrane*) sur la membrane cible. Dans le cas de la fusion des vésicules contenant Glut 4 avec la membrane plasmique, le couple v/t-SNARE impliqué est VAMP2/Syntaxine 4 [9]. À l'état basal, ces deux protéines n'interagissent pas car une troisième protéine, Munc18c, est fixée sur la Syntaxine 4 et empêche leur reconnaissance (figure 2). L'insuline, par un mécanisme encore inconnu, provoque la dissociation de Munc18c et de la Syntaxine 4, qui peut alors interagir avec VAMP2, permettant la fusion de la vésicule avec la membrane plasmique. Rab4, activée par l'insuline, interagit transitoirement avec la syntaxine [10] et pourrait donc être responsable de cette dissociation,

comme cela a été décrit pour plusieurs protéines Rab chez la levure. Cependant, Rab4 n'interagit pas directement avec la Syntaxine 4 en présence de Munc18c *in vitro* [10]. On peut supposer que ce soit un effecteur de Rab4, en particulier Rabip4, qui interagisse avec Munc18c pour déstabiliser sa liaison avec la Syntaxine 4. Un tel mécanisme a été décrit chez la levure pour l'étape de fusion dépendante de la petite GTPase Vps21p [11].

À l'évidence, la caractérisation des effecteurs de la protéine Rab4 ouvre de nouvelles perspectives pour comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents aux mouvements des vésicules contenant Glut 4 en réponse à l'insuline. La compréhension de ces mécanismes au niveau moléculaire ne pourra être que bénéfique à l'exploration de nouvelles approches thérapeutiques afin d'améliorer le syndrome d'insulino-résistance chez les patients diabétiques et obèses.

1. Rea S, James DE. Moving GLUT4. The biogenesis and trafficking of GLUT4 storage vesicles. *Diabetes* 1997; 46: 1667-77.
2. Shibata H, Omata W, Kojima I. Insulin stimulates guanine nucleotide exchange on Rab4 via a wortmannin-sensitive signaling pathway in rat adipocytes. *J Biol Chem* 1997; 272: 14542-6.
3. Cormont M, Tanti JF, Zahraoui A, Van Obberghen E, Tavittian A, Le Marchand-Brustel Y. Insulin and okadaic acid induce Rab4 redistribution in adipocytes. *J Biol Chem* 1993; 268: 19491-7.

4. Sherman LA, Hirshman MF, Cormont M, Le Marchand-Brustel Y, Goodyear L. Differential effects of insulin and exercise on Rab4 distribution in rat skeletal muscle. *Endocrinology* 1996; 137: 266-73.
5. Cormont M, Bortoluzzi M-N, Gautier N, Mari M, Van Obberghen E, Le Marchand-Brustel Y. Potential role of Rab4 in the regulation of subcellular localization of Glut4 in adipocytes. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 6879-86.
6. Cormont M, Gautier N, Ilc K, Le Marchand-Brustel Y. Expression of a prenylation-deficient Rab4 inhibits the GLUT 4 translocation induced by active phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B. *Biochem J* 2001; 356 (sous presse).
7. Cormont M, Mari M, Galmiche A, Hofman P, Le Marchand-Brustel Y. A FVVE-finger-containing protein, Rabip4, is a Rab4 effector involved in early endosomal traffic. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 1637-42.
8. Callebaut I, de Gensburg J, Goud B, Mornon JP. RUN domains: a new family of domains involved in Ras-like GTPase signaling. *Trends Biochem Sci* 2001; 26: 79-83.
9. Elmendorf JS, Pessin JE. Insulin signaling regulating the trafficking and plasma membrane fusion of GLUT4-containing intracellular vesicles. *Exp Cell Res* 1999; 253: 55-62.
10. Li L, Omata W, Kojima I, Shibata H. Direct interaction of Rab4 with syntaxin 4. *J Biol Chem* 2000; 276: 5265-73.
11. Tall GG, Hama H, De Wald DB, Horazdovsky BF. The phosphatidylinositol 3-phosphate binding protein Vac1p interacts with a Rab GTPase and Sec1p homologue to facilitate vesicle-mediated vacuolar protein sorting. *Mol Biol Cell* 1999; 10: 1873-89.

Mireille Cormont
Muriel Mari
Yannick Le Marchand-Brustel

Inserm E 9911, Physiologie et physiopathologie de la nutrition et signalisation, Faculté de médecine, avenue de Valombrose, 06107 Nice Cedex 2, France.