

■■■ **Sphingomyélinase et protéine kinase activée par les céramides : une nouvelle voie de signalisation.** Les biologistes, et particulièrement les lecteurs de *médecine/sciences*, ne peuvent ignorer les considérables progrès accomplis ces dernières années dans la connaissance des différentes modalités de transmission des signaux de l'extérieur à l'intérieur des cellules. Il y a une quinzaine d'années, on ne connaissait guère bien que deux systèmes de seconds messagers, celui de l'AMP cyclique, mis en jeu par l'activation des récepteurs dont on sait aujourd'hui qu'ils sont couplés à des protéines G, et le calcium, dont on ignorait alors beaucoup les mécanismes de passage à travers les membranes. Puis vint la voie des phospho-inositides, passant par l'activation de la phospholipase C et celle de l'acide arachidonique produit par l'action de la phospholipase A2. Parallèlement étaient peu à peu décrits les récepteurs-canaux (dont le récepteur nicotinique de l'acétylcholine est l'exemple le mieux étudié [1]), les couplages entre récepteurs et canaux par l'intermédiaire de protéines G (leurs sous-unités α ou β - γ), les signaux passant par les récepteurs à activité de tyrosine kinase ou par ceux indirectement liés à des tyrosine kinases cytoplasmiques (*m/s* n° 5, vol. 8, p. 471). Ce sont maintenant des récepteurs couplés à l'activation d'une sphingomyélinase qui sont décrits. Dès la fin des années 1980, le rôle des dérivés de l'hydrolyse de la sphingomyéline, notamment un céramide, dans la transmission de signaux était suggéré [2, 3]. L'association de cette voie à l'activation de réactions de phosphorylation était ensuite démontrée [4], ainsi que l'implication du cycle de la sphingomyéline dans l'action du TNF α (*tumor necrosis factor* α) dans les cellules humaines HL60 (dérivées d'une leucémie à promyélocytes) [5]. Puis, en 1992, l'équipe de Kolesnick (New York, NY, USA) démontra, grâce à un système acellulaire de cellules HL60, que l'effet du TNF α était relativement direct, sa fixation

à son récepteur provoquant l'hydrolyse de la sphingomyéline par la sphingomyélinase et la libération de céramide aboutissant à l'activation d'une kinase [6]. La même équipe vient maintenant d'établir que cette voie de transmission du signal est empruntée lors de la liaison de l'interleukine 1 β à son récepteur [7]. Cette cascade peut être mimée par administration d'une forme de céramide pénétrant facilement dans les cellules et, dans un système acellulaire, par l'addition de sphingomyélinase, mais non de phospholipases A2, C et D. La protéine kinase activée par le céramide est spécifique des résidus sérine et thréonine dans le contexte d'une séquence de reconnaissance de type X-Ser/Thr-Pro-X, où X est n'importe quel acide aminé. La présence de la proline en carboxy-terminal du site phosphorylé est essentielle. Il est à noter que la spécificité de cette protéine kinase la rapproche de celle liée au cycle cellulaire (p34^{cdc2}) et des MAP kinases (*mitogen activated protein kinases*) (*m/s* n° 10, vol. 8, p. 1097). Les récepteurs de l'IL-1 et de TNF n'ont que très peu de similitudes et ne possèdent ni la structure des récepteurs couplés aux protéines G ni celle des récepteurs à activité de protéine kinase. Rien n'est connu de leur mode précis d'action et, dans le cas précis, des mécanismes de leur couplage à l'activité de la sphingomyélinase neutre, une enzyme membranaire qui, comme son substrat, la sphingomyéline, est orientée vers l'extérieur de la cellule. Il reste donc beaucoup à explorer de la signification et des mécanismes d'activation du cycle de la sphingomyéline, la moindre des questions n'étant pas celle de savoir s'il s'agit là du mode habituel d'action de l'IL-1 et du TNF α , ou bien si d'autres mécanismes sont impliqués dans d'autres cellules.

[1. Le Novère N, et al. *médecine/sciences* 1993 ; 9 : 41-9.]
 [2. Okazaki T, et al. *J Biol Chem* 1990 ; 265 : 15823-31.]
 [3. Goldkorn T, et al. *J Biol Chem* 1991 ; 266 : 16092-7.]

[4. Mathias S, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 10009-13.]
 [5. Kim M, et al. *J Biol Chem* 1991 266 : 484-9.]
 [6. Dressler KA, et al. *Science* 1992 255 : 1715-8.]
 [7. Mathias S, et al. *Science* 1993 ; 259 : 519-22.]

■■■ **Le gène de la choroidémie liée à l'X est dû à un déficit en Rab-géranylgéranyl transférase.** Les protéines de la famille Ras sont fixées à la membrane par deux types de résidus lipidiques transférés à la suite d'une modification post-traductionnelle. Les protéines H, K et N-Ras possèdent un résidu palmitoyl, contrairement à d'autres protéines de cette famille [1]. Toutes ces protéines sont, par ailleurs, « isoprénylées », c'est-à-dire possèdent un groupe isoprénoïde à 15 (farnésyl) ou 20 (géranylgéranyl) atomes de carbone attachés à une cystéine à l'extrémité carboxyterminale. L'enzyme catalysant cette dernière réaction est la géranylgéranyl transférase qui comporte plusieurs types de sous-unités dénommées composant A et composant B. La séquence en acides aminés déduite de la séquence du gène de la choroidémie, une maladie liée à l'X et conduisant à la cécité (*m/s* n° 7, vol. 8, p. 740) ressemble à celle du composant A d'une géranylgéranyl transférase bovine. L'équipe de J. L. Goldstein (Dallas, TX, USA) vient de démontrer que ce gène, appelé CHM, codait en effet pour une isoforme de composant A de ce type d'enzyme, spécifique de certaines protéines Rab, notamment Rab3A [3]. Cette protéine est localisée dans les vésicules synaptiques et intervient probablement dans la transmission de l'influx nerveux, ce qui pourrait être à la base du mécanisme de la dégénérescence des photorécepteurs de la choroidémie.

[1. Goud P. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 326-33.]
 [2. De Gunzburg J. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 322-3.]
 [3. Seabra MC, et al. *Science* 1993 ; 259 : 377-81.]

■■■■ **Oligodendrocytes : un développement sous influence.** Les oligodendrocytes sont les cellules gliales, issues de cellules du neuro-ectoderme, qui myélinisent les axones du système nerveux central. Des études *in vitro* avaient indiqué qu'elles se différencient à partir de précurseurs communs à d'autres cellules gliales, les astrocytes de type II (voir *m/s lexique neurobiologie*, mai 1992, p. 39 et *m/s n° 10*, vol. 8, p. 1106). Ces précurseurs, appelés O2A, prolifèrent en présence de PDGF (*platelet derived growth factor*) ou de FGF (*fibroblast growth factor*) avant de se différencier sous l'effet des mêmes facteurs en oligodendrocytes ou – sous l'effet du CNTF (*ciliary neurotrophic factor*) – en astrocytes. Ces résultats, obtenus en culture, n'avaient pu être retrouvés *in vivo*, en raison notamment de l'absence d'outils permettant d'identifier d'une part les cellules O2A, d'autre part les oligodendrocytes. L'équipe de Jean de Vellis [1] (University of California Los Angeles, CA, USA) a réussi à suivre ce phénomène grâce à une technique fondée sur la transplantation de précurseurs O2A dans le cerveau de rats nouveau-nés. Ces précurseurs, marqués préalablement en culture par une substance fluorescente (le *fast blue*), se sont différenciés en trois semaines dans le cerveau hôte. Les cellules fluorescentes retrouvées dans les coupes de cerveau ont été traitées par immunohistochimie, et les auteurs ont eu la surprise de constater qu'il ne s'agissait que d'oligodendrocytes et qu'il n'y avait pas d'astrocytes. Le tissu cérébral a donc dirigé la différenciation des O2A vers un type précis de cellules gliales et exclu le second. Il est probable qu'il s'agit d'une sélection inductive liée à la présence de facteurs trophiques appropriés. Le problème qui se pose, à présent, est celui de l'interprétation des nombreuses études précédemment réalisées *in vitro* : s'agissait-il d'un « artefact » de culture ou les conditions existent-elles *in vivo* pour une différenciation astrocytaire dans des sites, ou à des périodes du développement que n'ont pas étudiés ces

auteurs ? Une autre étude [2], réalisée dans le laboratoire de Martin Raff (University College, Londres, UK) — qui a été à l'origine des travaux sur les O2A — indique une autre influence majeure sur le comportement des précurseurs oligodendrocytaires. Dans le nerf optique, cette fois, ces auteurs ont réalisé des expériences permettant de juger de l'effet de l'activité circulant dans les axones sur la prolifération des cellules O2A qui les entourent au cours du développement. Le résultat est dramatique puisque la privation d'activité axonale, par section du nerf ou blocage de l'influx nerveux par la tétrodontoxine, provoque une réduction de la prolifération oligodendrocytaire d'un facteur 5 au moins. L'ajout de PDGF au niveau du nerf permet d'éliminer l'effet de la privation, ce qui suggère que l'axone en activité pourrait être lui-même, normalement, une source de facteurs mitogènes. Cette démonstration d'une relation neuro-gliale directe associée à l'activité nerveuse ouvre des pistes intéressantes pour la compréhension d'autres phénomènes associant neurones et cellules gliales au cours du développement. Au total, les oligodendrocytes, dont la faillite est associée à des maladies démyélinisantes dont la plus connue est la sclérose en plaques, apparaissent comme des cellules hautement influencées par l'environnement tissulaire, en particulier neuronal, dans lequel elles évoluent. Comme le suggèrent les derniers auteurs, certains aspects de cette maladie pourraient découler d'une altération de ces interactions plutôt que d'une atteinte spécifique de la cellule gliale.

[1. De los Monteros AE, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 50-4.
[2. Barres BA, Raff MC. *Nature* 1993 ; 361 : 258-60.]

■■■■ **Un récepteur orphelin trouve un ligand endogène.** La plupart des récepteurs de la superfamille *c-erb-A* ont des ligands endogènes connus. Ce sont des hormones stéroïdiennes et thyroïdiennes, la vitamine D et l'acide rétinoïque. Cepen-

dant, quelques membres de cette famille sont encore orphelins, sans ligands ou activateurs physiologiques connus. C'est le cas du PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptor*), un récepteur orphelin particulièrement étudié depuis plusieurs années par l'équipe de S. Green (Macclesfield, GB). Les xéno-activateurs connus de ce récepteur appartiennent à une série de composés développés pour leur effet thérapeutique hypolipémiant ou contenus dans des plastifiants industriels (*m/s n° 3*, vol. 8, p. 294). Ces substances induisent la prolifération des peroxysomes, organites intracellulaires importants dans la β -oxydation des acides gras à longue chaîne. Les acides gras insaturés provoquent aussi la prolifération peroxysomiale, et l'accumulation intracellulaire des acides gras pourrait déclencher le processus conduisant à leur propre métabolisme. Récemment, M. Göttlicher, de l'équipe de J. A. Gustafsson (Huddinge, Suède), [1] et le groupe de A. Schmidt (West Point, PA, USA) [2] ont montré que des acides gras à longue chaîne activent le récepteur PPAR. Ainsi, l'activation du PPAR par les acides gras serait impliquée dans un mécanisme d'autorégulation de l'homéostasie lipidique intracellulaire. Néanmoins, la faible spécificité des différents acides gras testés laisse à penser que l'identité du vrai ligand endogène du PPAR reste à préciser. En 1990, B. O'Malley (Houston, TX, USA) [3], qui consacre une large part de ses recherches au récepteur orphelin COUP, avait déjà attiré l'attention sur la possibilité que les ligands endogènes des récepteurs orphelins pourraient être des dérivés de la nutrition ou des produits métaboliques de la cellule, et il annonçait que la découverte de ces ligands endogènes aurait un impact « explosif » dans le domaine de l'endocrinologie moléculaire.

[1. Göttlicher M, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 4653-7.]
[2. Schmidt A, *et al. Mol Endocrinol* 1992 ; 6 : 1634-41.]
[3. O'Malley B. *Mol Endocrinol* 1990 ; 4 : 363-9.]

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ Rab9 intervient dans le transport entre endosomes tardifs et réseau trans-golgien. La famille des protéines Rab est constituée d'une trentaine de petites protéines G intervenant dans la régulation du transport vésiculaire. Les protéines Rab identifiées ont été localisées à la surface d'organites impliqués dans le transport des macromolécules. Lombardi *et al.* [1], qui étudient le transport entre endosomes tardifs et réseau trans-golgien, ont cloné l'ADNc codant pour la protéine Rab9 entière. Par immunofluorescence, ils montrent que Rab9 présente une distribution périmoléculaire très similaire à celle du récepteur du mannose-6-phosphate (MPR) qui recircule entre endosomes tardifs et réseau trans-golgien. Les auteurs ont étudié l'influence de Rab9 sur la recirculation du MPR en utilisant un système de transport *in vitro* permettant de quantifier les modifications enzymatiques des glycosylations du MPR lors de son arrivée dans le réseau trans-golgien en provenance des endosomes tardifs. Le transport du MPR, des endosomes vers le réseau trans-golgien, est inhibé par des anticorps anti-Rab9 et est stimulé par des fractions cytosoliques enrichies en Rab9 ou par la protéine Rab9 purifiée. En revanche, le transport du MPR n'est pas stimulé par un mutant de Rab9 qui a perdu 30 acides aminés à son extrémité C-terminale. Bien que toujours capable de fixer le GTP, ce mutant ne peut plus être isoprénylé. Il est donc probable que le rôle de Rab9 dans le transport vésiculaire entre endosomes et réseau trans-golgien dépende de l'isoprénylation de la protéine. Par analogie avec les modèles établis pour d'autres protéines Rab, Rab9 pourrait être incorporé dans les vésicules en formation et participer au ciblage et/ou à la fusion vésiculaires. Il faut noter que, si Rab7 et Rab9 sont présents à la surface des endosomes tardifs, seul Rab9 stimule le transport du MPR, suggérant que la localisation subcellulaire ne détermine pas la fonction de ces protéines. [1. Lombardi D, *et al.* *EMBO J* 1993 ; 12 : 677-82.]

■■■ Rôle de l'ADPc-ribose dans la sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas. L'interaction ligand-récepteur membranaire couplé à des phospholipases induit souvent le passage des ions calcium du réticulum endoplasmique vers le cytoplasme par l'intermédiaire de l'inositol triphosphate (IP3). Une nouvelle voie de régulation des échanges calciques est maintenant identifiée, faisant intervenir l'ADPc-ribose comme second messenger de *stimuli* extracellulaires [1]. L'ADPc-ribose, un dérivé du NAD⁺, induit le relargage du calcium *in vitro* à partir de microsomes d'îlots β de rat. Le relargage de calcium est dépendant de la dose d'ADPc-ribose ajoutée et est atténué par additions successives de celui-ci. Alors que l'IP3 est inactif sur les microsomes des îlots, les microsomes du cervelet répondent à la fois à l'IP3 et à l'ADPc-ribose, mais par des mécanismes différents et indépendants. L'ADPc-ribose n'agirait pas par l'intermédiaire du récepteur de l'IP3 mais par celui du récepteur de la ryanodine, qui peut être activé directement par le calcium. Des extraits de cellules pancréatiques β , préalablement incubées avec de fortes doses de glucose, ajoutés à des microsomes provoquent le relargage du calcium. Les expériences de déplétion du calcium mobilisable par l'IP3, l'ADPc-ribose et des extraits de cellules β suggèrent que le relargage du calcium est induit par l'ADPc-ribose formé pendant l'incubation avec le glucose. Contrairement à l'IP3, le calcium et l'ADPc-ribose induisent la sécrétion d'insuline par les îlots β . De plus, la streptozotocine, qui est un produit diabétogène entraînant une déplétion de NAD⁺ intracellulaire, diminue la production d'ADPc-ribose et la sécrétion d'insuline induites par le glucose. L'ensemble des résultats montre que l'ADPc-ribose, ou une molécule similaire, peut être un second messenger conduisant à la sécrétion d'insuline induite par le glucose.

[1. Takasawa S, *et al.* *Science* 1993 259 : 370-3.]