

Popular Democratic Republic of Algeria
Ministry Of High Education And Scientific Research
Abbes Laghrou University- Khenchela
Faculty of Nature and Life Science
Departement of Molecular and Cellular Biology



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة عباس لغرور خنشلة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Polycopié pédagogique

Biochimie de la transduction des signaux cellulaires

Cours destiné aux étudiants de
M1 Biochimie Appliquée

Par

MESSAI ALIMA

Maitre de conférence « B »

Année universitaire 2022/2023

Intitulé du Master : Biochimie appliquée**Semestre : 2****Intitulé de l'UE Fondamentale : Biochimie de la transduction des signaux****Intitulé de la matière : Biochimie de la transduction des signaux****Crédits : 6****Coefficients 4****Objectifs de l'enseignement :**

Études des différents récepteurs membranaires aux molécules informatives et les mécanismes de transduction cellulaire mis en jeu par ces récepteurs. (Récepteurs des hormones, facteurs de croissance et cytokines, récepteurs spécifiques de l'antigène et ceux impliqués dans l'apoptose). Les mécanismes d'adhérence cellulaire et d'interactions cellulaires juxtacrines participant à la formation, la plasticité et la réparation des tissus. Les cascades de signalisation multiples et complexes impliqués par l'activation des différents récepteurs ainsi que les interrelations entre ces différentes voies. L'enseignement s'appuiera sur les techniques de biologie cellulaire et moléculaire ainsi que celles d'imagerie cellulaire.

Connaissances préalables recommandées (*descriptif succinct des connaissances requises pour pouvoir suivre cet enseignement – Maximum 2 lignes*).

Contenu de la matière :

- Communication intercellulaire
- Transduction du signal et Voies de signalisation
- Récepteurs des hormones
- Récepteurs des facteurs de croissance et cytokines
- récepteurs spécifiques de l'antigène
- l'adhérence cellulaire et Jonctions intermédiaires
- Récepteurs de l'insuline
- Récepteurs de l'apoptose

Mode d'évaluation : *Continu + Examen final***Références** (*Livres et photocopiés, sites internet, etc*).

SOMMAIRE

Avant-propos

| | |
|--------------------------|----------|
| Introduction..... | 1 |
|--------------------------|----------|

Chapitre 1: Communication intercellulaire

| | |
|--|-----------|
| 1. Signaux de sécrétion..... | 4 |
| 2. La réponse d'une cellule à un signal peut être rapide ou lente..... | 6 |
| 3. Etapes de communication cellulaire..... | 7 |
| 4. Le principe de la communication cellulaire..... | 8 |
| 4.1. Les molécules informatives | 8 |
| 4.2. Les récepteurs..... | 8 |
| 4.2.1. Les récepteurs membranaires | 9 |
| 4.2.2. Les récepteurs nucléaires | 9 |
| 5. Les types des récepteurs membranaires..... | 10 |
| 5.1. Les récepteurs couplés aux canaux ioniques (ionotrope)..... | 10 |
| 5.1.1. Structure..... | 10 |
| 5.1.2. Fonctionnement..... | 10 |
| 5.2. Les récepteurs couplés aux protéines G | 11 |
| 5.2.1. Structure et mécanisme d'action des récepteurs couplés aux protéines G.. | 11 |
| 5.2.1.1. Les protéines G..... | 11 |
| 5.2.1.2. Les seconds messagers de l'activation des GPCR..... | 13 |
| 5.3. Les récepteurs couplés aux enzymes..... | 15 |
| 5.3.1. Récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK)..... | 16 |
| 5.3.2. Récepteurs à activité sérine-thréonine kinase..... | 18 |
| 5.3.3. Récepteurs à activité guanylate cyclase..... | 20 |

Chapitre 2 : Transduction du signal et voies de signalisation

| | |
|-------------------------------------|-----------|
| 1. La voie des RAS/MAPK..... | 21 |
| 2. La voie PI3K/AKT..... | 23 |
| 3. La voie de JAK/STAT | 25 |

Chapitre 3 : Récepteurs des hormones

| | |
|---|-----------|
| 1. Classification des récepteurs des hormones..... | 28 |
| 1.1.Les récepteurs membranaires | 29 |
| 1.2.Les récepteurs nucléaires..... | 29 |
| 1.2.1. Classification des récepteurs nucléaires..... | 30 |
| 1.2.2. Structure du récepteur nucléaire..... | 30 |
| 1.2.3. Mécanisme d'action des récepteurs nucléaires..... | 33 |
| 1.2.4. Récepteurs des hormones stéroïdes..... | 34 |
| 1.2.5. Récepteurs des hormones thyroïdiennes..... | 34 |

Chapitre 4 : Récepteurs des facteurs de croissance et cytokines

| | |
|--|-----------|
| 1. Récepteurs des facteurs de croissance..... | 35 |
| 1.1. Les facteurs de croissance connus | 35 |
| 1.2. Les récepteurs à activité tyrosine kinase..... | 36 |
| 1.2.1. La famille de l'EGF (famille ERB-B)..... | 37 |
| 1.3. Les récepteurs à activité serine –thréonine kinase (TGF-β)..... | 38 |
| 1.3.1. Signalisation cellulaire activée par le TGF-β | 39 |
| 1.3.2. Voie des SMADs | 40 |
| 2.1.Récepteurs des cytokines..... | 41 |
| 2.2.Les caractéristiques des cytokines..... | 42 |
| 2.3.Les types des cytokines..... | 42 |
| 2.4.La structure de récepteur de cytokine..... | 43 |
| 2.5. Les récepteurs et l'activation des kinases JAK..... | 44 |

Chapitre 5 : Récepteurs spécifiques de l'antigène

| | |
|---|-----------|
| 1. Structure des immunorécepteurs..... | 48 |
| 1.1.Les sous-unités de reconnaissance..... | 48 |
| 1.2.Les sous-unités de signalisation..... | 49 |
| 2. Signaux délivrés par les immunorécepteurs..... | 50 |
| 3. Propagation intracellulaire des signaux d'activation..... | 52 |
| 3.1.La voie calcique..... | 52 |
| 3.2.La voie Ras..... | 53 |

Chapitre 6 : L'adhérence cellulaire et Jonctions intermédiaires

| | |
|---|-----------|
| 1. Différents modes d'adhérence intercellulaire..... | 55 |
| 2. Les molécules d'adhérence..... | 55 |

| | |
|--|----|
| 2.1. Protéines d'adhésion apparentées aux immunoglobulines | 55 |
| 2.2. Cadhérines..... | 56 |
| 2.3. Sélectines..... | 57 |
| 2.4. Intégrines..... | 57 |
| 3. Les jonctions intercellulaires et jonctions cellules-matrice extracellulaire..... | 60 |
| 3.1. Les jonctions serrées | 61 |
| 3.2. Les jonctions adhérentes | 61 |
| 4. La voie de la β -caténine..... | 62 |

Chapitre 7 : Récepteur de l'insuline

| | |
|--|----|
| 1. Structure de récepteur de l'insuline..... | 64 |
| 2. La signalisation de l'insuline..... | 65 |

Chapitre 8 : Récepteurs de l'apoptose

| | |
|---|-----------|
| 1. Les protéines impliquées dans la mise en œuvre de l'apoptose..... | 68 |
| 1.1. Les caspases..... | 68 |
| 1.2. Les protéines de la famille BCL2..... | 70 |
| 1.3. Les protéines de la famille IAP..... | 72 |
| 2. La voie de l'apoptose intrinsèque (mitochondriale)..... | 72 |
| 3. La voie de l'apoptose extrinsèque (dite des récepteurs de mort)..... | 73 |
| 4. Les protéines de la famille des récepteurs de mort et leurs ligands..... | 74 |
| Références bibliographiques..... | 77 |

Avant-propos

Ce modeste travail est un recueil des connaissances que comporte le programme de cours officiel de l'étudiant, il est destiné aux étudiants de M1 Biochimie appliquée. Il est enseigné durant le deuxième semestre de la première année master.

Le polycopié comprend huit chapitres, Le premier chapitre a présenté des notions de base fondamentales de la transduction des signaux cellulaires. Le deuxième chapitre décrit les principales voies de signalisation.

Les derniers chapitres ont été portés sur l'étude des différents récepteurs membranaires aux molécules informatives et les mécanismes de transduction cellulaire mis en jeu par ces récepteurs et la relation entre le complexe signal –récepteur et la transduction du signal jusqu'à l'effecteur.

Le texte est simple et accessible à l'étudiant, enrichi par des illustrations, comprenant des explications en détail pour chaque chapitre.

Introduction

La communication cellulaire est indispensable à la vie des organismes pluricellulaires : les cellules doivent impérativement échanger les informations nécessaires à la coordination de leurs actions. Pourtant, elle existe déjà dans les organismes unicellulaires comme les levures qui doivent, elles aussi, échanger des informations, ne serait-ce que pour trouver des partenaires sexuels. Les principes de la communication cellulaire sont universels : des molécules de signalisation sont émises par une cellule, reconnues par une autre, qui met alors en œuvre une voie de transduction du signal reçu, qui aboutit à un système effecteur qui prend en compte le signal. La variété des systèmes de transmission de l'information est immense, tant au niveau de la réception des signaux qu'à celui de la mise en jeu des effecteurs. Pourtant, il est certainement possible de trouver des patterns généraux, des structures communes du cheminement de l'information, pour peu que l'on se donne la peine de les rechercher. Pour ce qui concerne la première étape, celle de la réception, les mécanismes sont dépendants de la nature chimique des messagers :

-Les messagers de nature hydrophile (acides aminés et leurs dérivés, peptides, protéines) ne peuvent entrer dans les cellules, faute de pouvoir traverser les membranes ; il existe donc nécessairement un récepteur membranaire apte à recevoir le message, à le comprendre, et à transduire l'information au-delà.

-Les messagers de nature lipidique (dérivés stéroïdiens, acides gras et leurs dérivés, etc.) et les composés de structure très simple (oxygène, oxyde nitrique) sont capables de diffuser à travers les membranes et d'atteindre directement leurs cibles, dans le cytoplasme ou dans le noyau (récepteurs nucléaires).

-Les messagers de nature ionique (Na^+ , K^+ , Cl^- et Ca^{2+}) sont capables d'induire l'ouverture ou la fermeture transitoire de canaux ioniques permettant la génération de

courants transmembranaires ; ces courants correspondent au passage de l'influx nerveux dans les neurones, mais ils sont aussi à l'origine de nombreux événements intracellulaires.

La transduction des signaux perçus par les récepteurs fait intervenir de multiples processus, mais les mécanismes généraux mis en jeu sont en petit nombre, les principaux étant :

-Le « recrutement » de protéines capables de contracter des interactions avec d'autres : il existe ainsi de très nombreuses protéines « adaptatrices » ; – les réactions de phosphorylation et de déphosphorylation par des kinases et des phosphatases, qui modifient la conformation tridimensionnelle des protéines, donc leur réactivité ; – la mise en jeu de petites protéines G selon un mécanisme quasi constant d'échange et d'hydrolyse de nucléotides guanyliques.

-La production de « seconds messagers » intracellulaires relayant l'information apportée au niveau de la membrane. Enfin, les effecteurs sont également très divers, mais, là encore, il est possible de les regrouper en quelques entités.

-Les régulateurs transcriptionnels, couramment appelés « facteurs de transcription », qui commandent la transcription de gènes cibles ; ce sont les effecteurs les plus généraux et les plus souvent rencontrés en aval des voies de transduction des signaux.

-Les régulateurs traductionnels, qui sont directement mis en jeu dans quelques voies de signalisation et qui interviennent sur le niveau de synthèse protéique.

-Les protéines du cytosquelette ou de la matrice extracellulaire, qui commandent les phénomènes d'adhésion, de motilité et de dispersion cellulaires.

-Les canaux ioniques enfin, que l'on retrouve ici en tant qu'effecteurs, mis en jeu en particulier, mais pas seulement, dans la transmission synaptique. La cellule dispose ainsi d'une « boîte à outils » standard dans laquelle elle peut puiser pour comprendre l'information

qu'elle reçoit et exécuter les consignes qui lui sont ainsi apportées. C'est peut-être cet aspect de « bricolage » qui est déroutant pour celui qui aborde l'étude de la signalisation cellulaire : il retrouve des molécules communes, des domaines protéiques identiques, des facteurs de transcription similaires dans des voies de transmission des signaux en apparence indépendantes. Par exemple, des « motifs EGF » se rencontrent dans les facteurs de croissance « de la famille de l'EGF ». On peut finir par avoir l'impression (désastreuse) que « tout est dans tout, et réciproquement ». La signalisation cellulaire peut s'exercer à des distances très variables ; le premier vrai système de signalisation identifié, dès la fin du XIXe siècle, est le système endocrine, dans lequel un organe spécifique (glande endocrine) sécrète dans le courant sanguin des molécules (hormones) destinées à des cellules fort éloignées. Il a fallu ensuite forger le mot « paracrine » lorsqu'ont été identifiées des molécules agissant sur des cellules voisines de celle qui les produit ; puis le terme « juxtacrine » lorsque la transmission du signal s'effectue à travers des jonctions communicantes ; puis enfin le terme « autocrine » quand les signaux émis par une cellule sont capables, après avoir transité dans le milieu extracellulaire, de revenir exercer un effet sur la même cellule. Gardons en mémoire la spécificité de la transmission synaptique de l'information, entre cellules nerveuses ou neuromusculaires.

Chapitre 1 : Communication intercellulaire

Un organisme doit communiquer pour survivre. Chaque cellule reçoit plusieurs signaux. L'intégration par la cellule de ces informations dépend des récepteurs et de protéines de signalisation intracellulaire qui distribuent ce signal dans la cellule. L'ensemble des événements intracellulaires survenus après la liaison du signal à son récepteur jusqu'à la réponse cellulaire est appelé « la transduction de signal ».

Les cellules se « parlent » entre elles par différents systèmes :

a-Le système hormonal qui permet le contrôle, la surveillance et la régulation

b-Le système nerveux qui permet de transmettre des messages rapides

c-Le système immunitaire qui reconnaît et détruit les « microbes » pathogènes

1. Signaux de sécrétion

Les signaux de sécrétions peuvent être de différents types (**Figure 1**) :

-Autocrine : La libération ou sécrétion autocrine s'applique à un type de sécrétion chimique qui affecte la même cellule qui a sécrété la substance, comme une hormone, par exemple. Par conséquent, les récepteurs de la substance sécrétée se trouvent sur la même cellule qui l'a synthétisée.

-Paracrine : signaux libérés par une cellule agissent sur différentes cellules immédiatement voisines; la propagation du signal est limitée par la capture cellulaire, la dégradation extracellulaire, la liaison !-Synaptique : influx nerveux transmis par les neurones ayant une action rapide mais brève.

-Endocrine : signaux libérés par une cellule affectent différentes cellules très éloignées; la signalisation endocrine exerce de multiples effets sur l'organisme en affectant de nombreux tissus différents .

-Neuroendocrine : action lente mais soutenue.

-Juxtacrine : il y a communication par contact membranaire (ex: l'ostéoblaste sécrète des cytokines membranaires reçues par le récepteur d'une autre cellule, comme par exemple le monocyte). C'est la régulation juxtacrine.

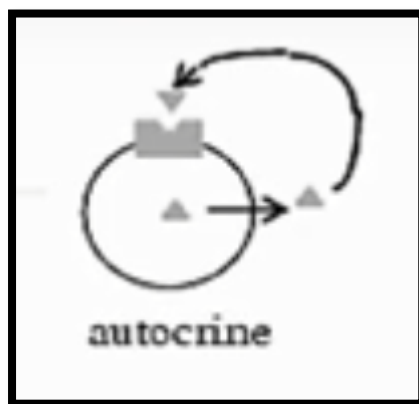
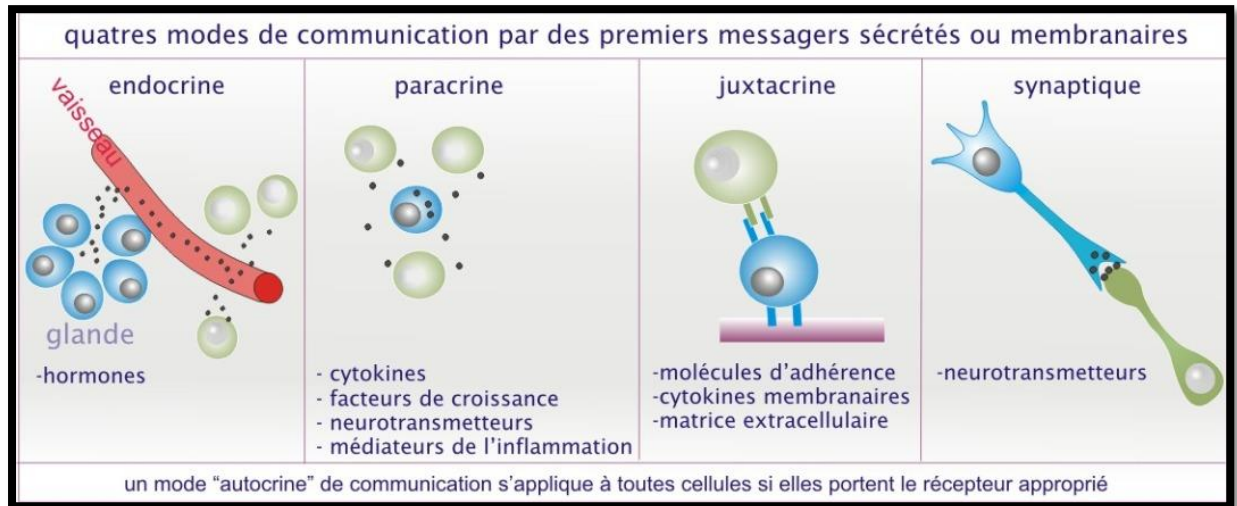


Figure 1 : les types de communication cellulaire

Elles communiquent pour différentes raisons (**Figure 2**) :

1. l'acquisition des nutriments et de l'oxygène nécessaires à leur métabolisme.
2. la régulation de la température et du métabolisme (sécrétion, excrétion, etc..).
3. le nettoyage comme la prise en charge des produits d'excrétion et des toxines issues du métabolisme.
4. la défense immunitaire contre les attaques virales et bactériennes.
5. le renouvellement cellulaire dans les tissus à croissance où à renouvellement continu comme l'épiderme, l'hépathélium intestinal, mais aussi après les dommages subis par les attaques virales et bactériennes ou même la régénération.
6. la visibilité et la reconnaissance des types cellulaires différenciés. Par exemple : une cellule hépatique est reconnue comme telle par sa forme et sa fonction dans le

contexte hépatique. Il en va de même pour tous les types cellulaires (environ 250 différents).

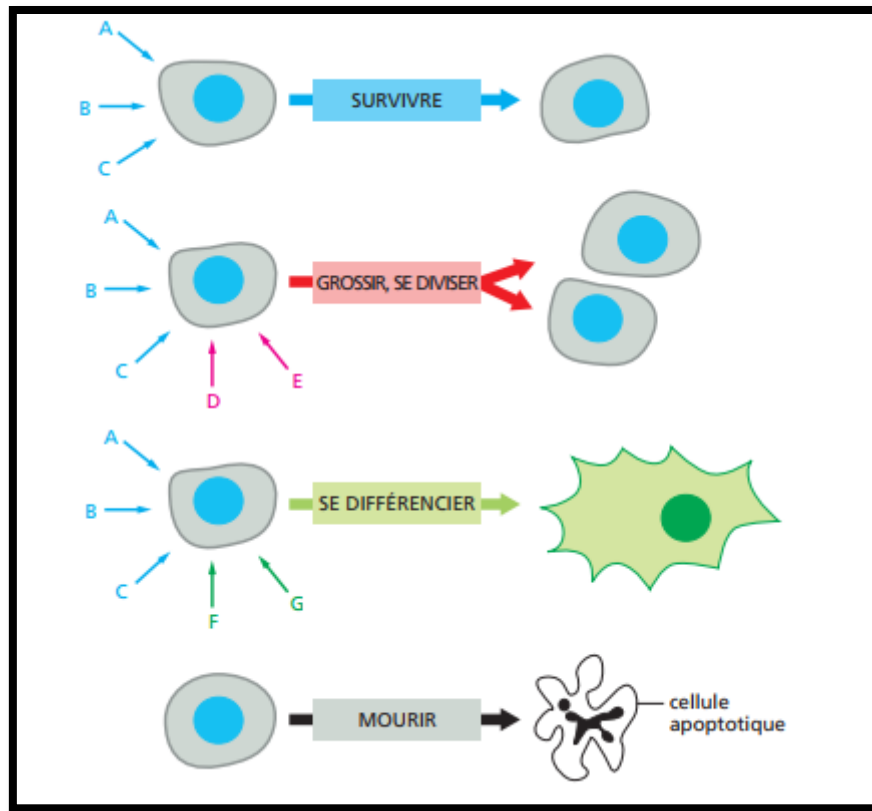


Figure 2 : type de conséquences cellulaire

2. La réponse d'une cellule à un signal peut être rapide ou lente

Le temps nécessaire à une cellule pour répondre à un signal extracellulaire varie beaucoup et dépend de ce qui va se produire une fois que la cellule a reçu le message. Certains signaux extracellulaires agissent rapidement : l'acétylcholine peut stimuler la contraction d'un muscle squelettique en quelques millisecondes, et la sécrétion d'une glande salivaire en environ une minute. De telles réponses rapides sont possibles parce que le signal affecte l'activité de protéines ou d'autres molécules, qui sont déjà présentes dans la cellule, attendant leur ordre de marche. D'autres réponses prennent plus de temps. La croissance et la division cellulaires, quand elles sont déclenchées par les molécules de signalisation appropriées, peuvent prendre des heures pour se produire. En effet, la réponse à ces signaux extracellulaires nécessite des modifications de l'expression génique et la production de nouvelles protéines (**Figure 3**).

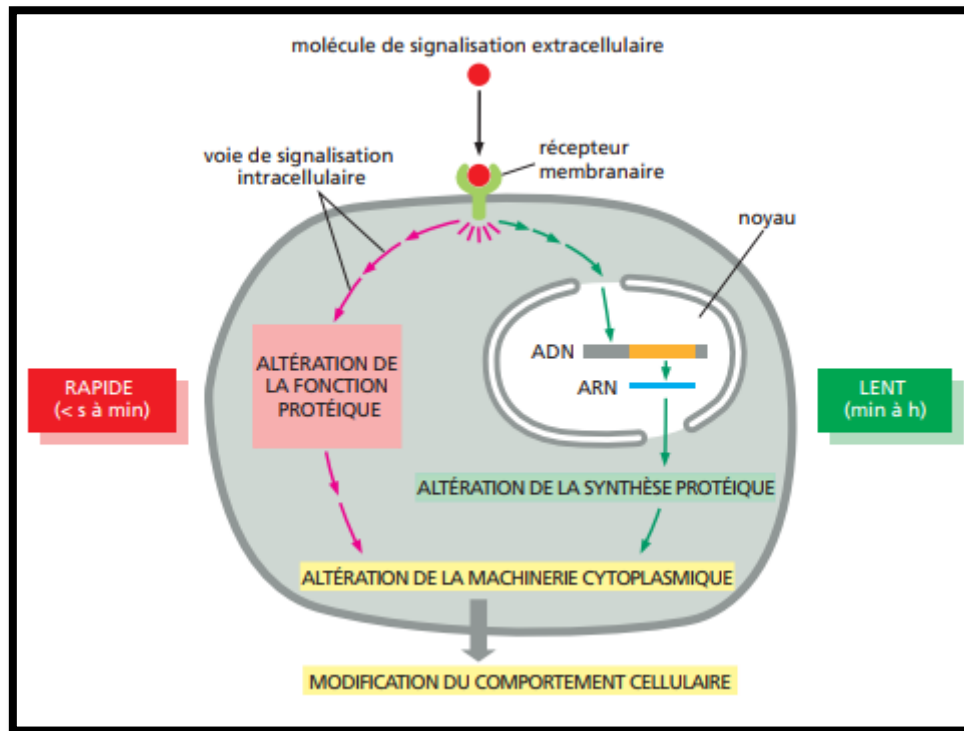


Figure 3 : Les signaux extracellulaires peuvent agir lentement ou rapidement.

Certains types de réponses cellulaires, comme l'accélération de la croissance ou de la division cellulaire, impliquent des changements de l'expression des gènes et la synthèse de nouvelles protéines ; elles sont donc relativement lentes. D'autres réponses – comme les changements de mouvements cellulaires, de sécrétion ou de métabolisme – n'ont pas besoin d'impliquer la machinerie nucléaire et peuvent donc se produire plus rapidement.

3. Etapes de communication cellulaire

La communication cellulaire se fait à travers plusieurs étapes. D'abord des molécules vont transformer des protéines réceptrices, puis le message va soit à l'intérieur de la cellule elle-même ou vers d'autres cellules (**Figure 4**).

Les cellules peuvent communiquer par des étapes de réception, de transduction et de réponse

Deux voies majeures sont mises en jeu :

- les récepteurs qui couplés à une protéine G
- les récepteurs qui portent une activité enzymatique intrinsèque.

Réception :

C'est la détection par la cellule d'une molécule de signalisation (ligand) venant de l'extérieur de la cellule. Le signal est détecté lorsque la molécule se lie au récepteur situé à la surface de la cellule ou à l'intérieur de la cellule.

Transduction :

Lorsque la molécule de signalisation se lie au récepteur, ce dernier se transforme, ce qui déclenche le processus de transduction. Lors de la transduction le signal est converti en une forme qui peut apporter une réponse cellulaire spécifique. Elle peut se produire en une seule étape ou en plusieurs étapes nécessitant différentes molécules appelées molécules relais (intermédiaires).

Réponse :

C'est l'étape de signalisation cellulaire où le signal déclenche enfin une réponse cellulaire spécifique.

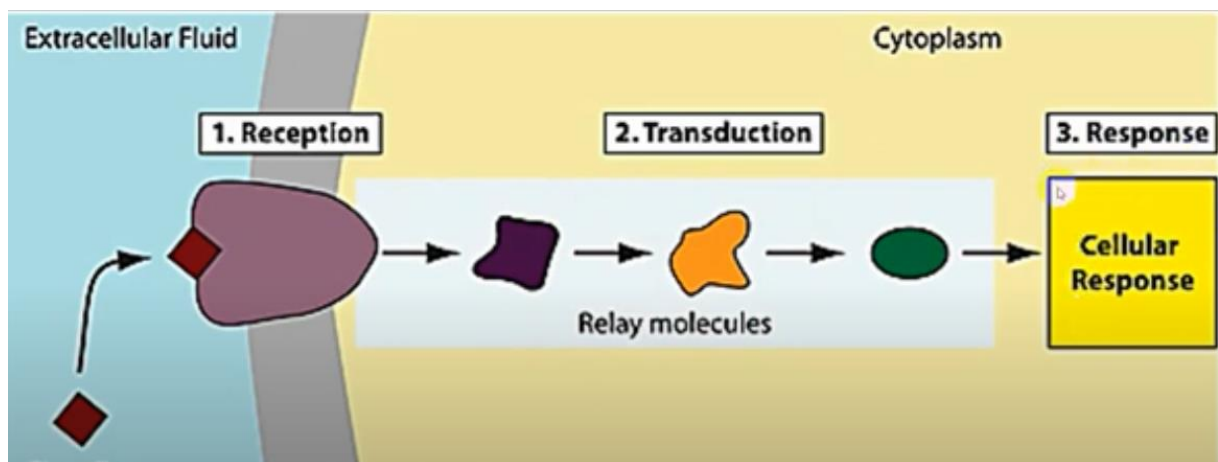


Figure 4 : les étapes de communication cellulaire

4. Le principe de la communication cellulaire

Deux types de molécules sont à sa base :

La molécule informative (signal) qui est un messenger,

La molécule de réception : récepteur du messenger.

4.1. Les molécules informatives

La communication cellulaire permet à une cellule d'influencer le comportement d'une autre cellule. Elle se fait au moyen de centaines de molécules qui peuvent être : hormones, neurotransmetteurs, cytokines, anticorps, facteurs de croissance...

4.2. Les récepteurs

On distingue donc les récepteurs membranaires des récepteurs nucléaires. Ils ont pour points communs :

- Une haute affinité pour la molécule informative,
- Une stéréospécificité pour cette molécule,
- La liaison récepteur-molécule informative est réversible,
- Il y a modification de la configuration spatiale du récepteur lors de la fixation de la molécule, ce qui induira la transduction du message.

4.2.1. Les récepteurs membranaires

- Une **extracellulaire glycosylée** reconnaissant et fixant la molécule.
- Une **transmembranaire (hydrophobe)** ancrée dans la membrane.
- Une intracellulaire responsable des événements biochimiques.

Les réponses à la signalisation par les premiers messagers peuvent être : très rapides, comme l'acétylcholine (quelques millisecondes) ou de durées moyennes comme l'adrénaline (40 millisecondes)

D'autres réponses prennent des heures : car, la réponse à ces signaux extracellulaires nécessite des modifications de l'expression génique et la production de nouvelles protéines.

A chaque molécule informative correspond un récepteur mais une molécule informative peut avoir plusieurs récepteurs. On définit donc des familles de récepteurs. Ceci lié aux trois types de réponses nous permet de distinguer trois grands types de récepteurs :

- Récepteurs canaux-ioniques**, transduisant eux-mêmes le signal.
- Récepteurs enzymes**, transduisant eux-mêmes le signal.
- Récepteurs couplés** à des effecteurs distincts, nécessitant l'intervention d'autres protéines pour la transduction du signal.

4.2.2. Les récepteurs nucléaires

Ils interviennent dans la modulation de la transcription des gènes. Ce sont des protéines solubles activées par la liaison de la molécule informative. Ils sont normalement localisés dans le noyau sauf le récepteur des glucocorticoïdes situé dans le cytosol. Ce sont des facteurs de transcription qui ne s'activent et donc se lient à l'ADN qu'en présence de la

molécule informative. Ils ont trois domaines principaux. Le domaine de la régulation de la transcription est dans la région N-terminale. La région C-terminale renferme le domaine de liaison de l'hormone et une région contigüe à la région N-terminale contient le domaine de liaison à l'ADN.

5. Les types des récepteurs membranaires

5.1. Les récepteurs couplés aux canaux ioniques (ionotrope)

5.1.1. Structure

Les récepteurs couplés aux canaux ioniques de la membrane plasmique (LGIC) sont de plusieurs types (**Figure 5**) : Selon les cas, les extrémités N- et C-terminales sont extracellulaires ou cytoplasmiques.

A. Récepteurs pentamériques, chaque monomère étant constitué de quatre hélices transmembranaires : récepteur nicotinique de l'acétylcholine, récepteurs de la sérotonine.

B. Récepteurs tétramériques, chaque monomère étant constitué de trois hélices transmembranaires : récepteurs du glutamate.

C. Récepteurs trimériques, chaque monomère étant constitué de deux hélices transmembranaires : récepteurs purinergiques

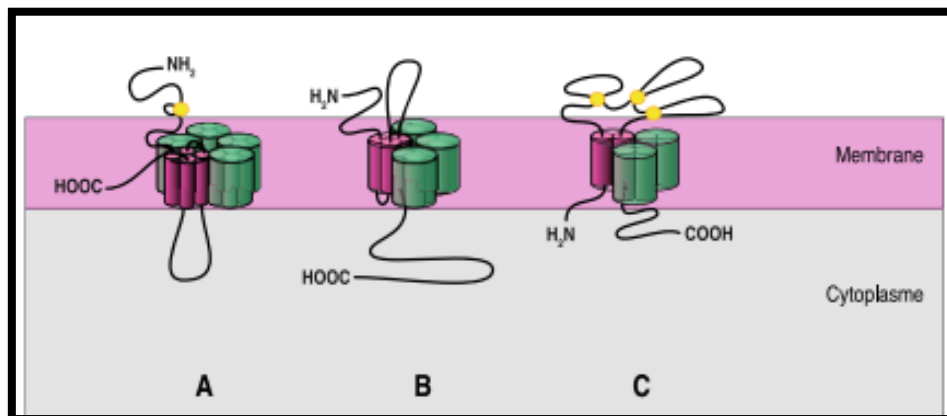


Figure 5 : Organisation générale des récepteurs couplés à un canal ionique. Les disques jaunes indiquent la présence de ponts disulfure. **A.** Récepteurs pentamériques, **B.** Récepteurs tétramériques, **C.** Récepteurs trimériques

5.1.2. Fonctionnement

Ils sont impliqués essentiellement dans la signalisation synaptique rapide entre les cellules électriquement excitables. Ce type de signalisation s'effectue par l'intermédiaire de neurotransmetteurs qui ouvrent et ferment transitoirement le canal ionique formé par des protéines à plusieurs domaines transmembranaires (**Figure 6**).

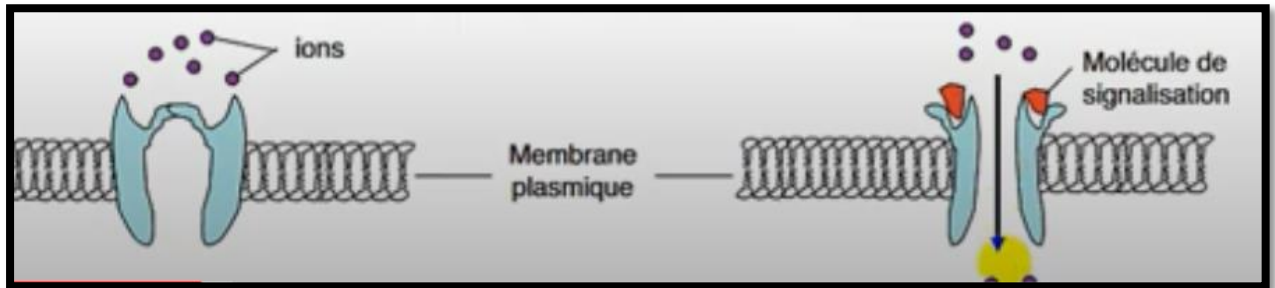


Figure 6 : fonctionnement des récepteur ionotrope

5.2. Les récepteurs couplés aux protéines G

Tous les récepteurs couplés à la protéine G appartiennent à une grande famille de protéines homologues à 7 domaines transmembranaires. Ils régulent directement l'activité d'une autre protéine liée à la membrane plasmique, qui peut être soit une enzyme soit un canal ionique. L'interaction entre le récepteur et la protéine se fait par l'intermédiaire de la protéine trimérique de liaison au GTP (ou protéine G).

5.2.1. Structure et mécanisme d'action des récepteurs couplés aux protéines G

Les récepteurs Les GPCR sont constitués d'une chaîne polypeptidique continue pourvue de sept domaines transmembranaires. La partie N-terminale des récepteurs est extracellulaire, leur partie C-terminale intracellulaire et trois boucles séparant les domaines transmembranaires sont présentes à l'intérieur comme à l'extérieur de la cellule. La chaîne polypeptidique « serpente » ainsi dans la membrane, d'où le nom de récepteurs serpentine (serpentine receptors) qui leur est parfois donné.

5.2.1.1. Les protéines G

La voie finale commune de l'activation des GPCR est la mise en jeu de protéines G hétérotrimériques. Les protéines G sont des molécules capables de lier le GTP (Guanosine triphosphate) et de l'hydrolyser : ce sont donc des GTPases.

Les protéines G hétérotrimériques sont faites de trois chaînes polypeptidiques associées, appelées α , β et γ . Les chaînes β et γ sont étroitement liées et forment une seule entité $\beta\gamma$.

La sous-unité α contient un domaine de liaison des nucléotides guanyliques, qui est occupé par le GDP à l'état basal. Les protéines G hétérotrimériques sont associées de façon stable avec une enzyme effectrice et peuvent s'associer de façon transitoire avec un GPCR. C'est la liaison du récepteur avec son ligand qui provoque cette association transitoire avec une protéine G, et cette association entraîne le remplacement du GDP par le GTP au niveau de la sous-unité α . Celle-ci se détache alors du récepteur et de la sous-unité $\beta\gamma$, puis réalise le clivage du GTP en GDP grâce à son activité GTPasique (**Figure 7**). Pendant la période brève où la sous-unité α est liée au GTP, l'enzyme effectrice qui lui est associée est activée (parfois inhibée) et peut exercer (ou ne peut plus exercer) sa fonction catalytique ; dès que le GTP est clivé, cette régulation cesse et l'enzyme effectrice revient à son état basal.

Il existe plusieurs types de sous-unités α , nommées α_i , α_s , α_q et α_{12} , qui diffèrent en fonction de l'effecteur qu'elles activent : la sous-unité α_s liée au GTP active l'adénylate cyclase (ADCY) et la sous-unité α_i l'inhibe ; la sous-unité α_q liée au GTP active la phospholipase C bêta (PLC β). Ces enzymes permettent la production de seconds messagers, intermédiaires communs des signaux apportés par les ligands des GPCR.

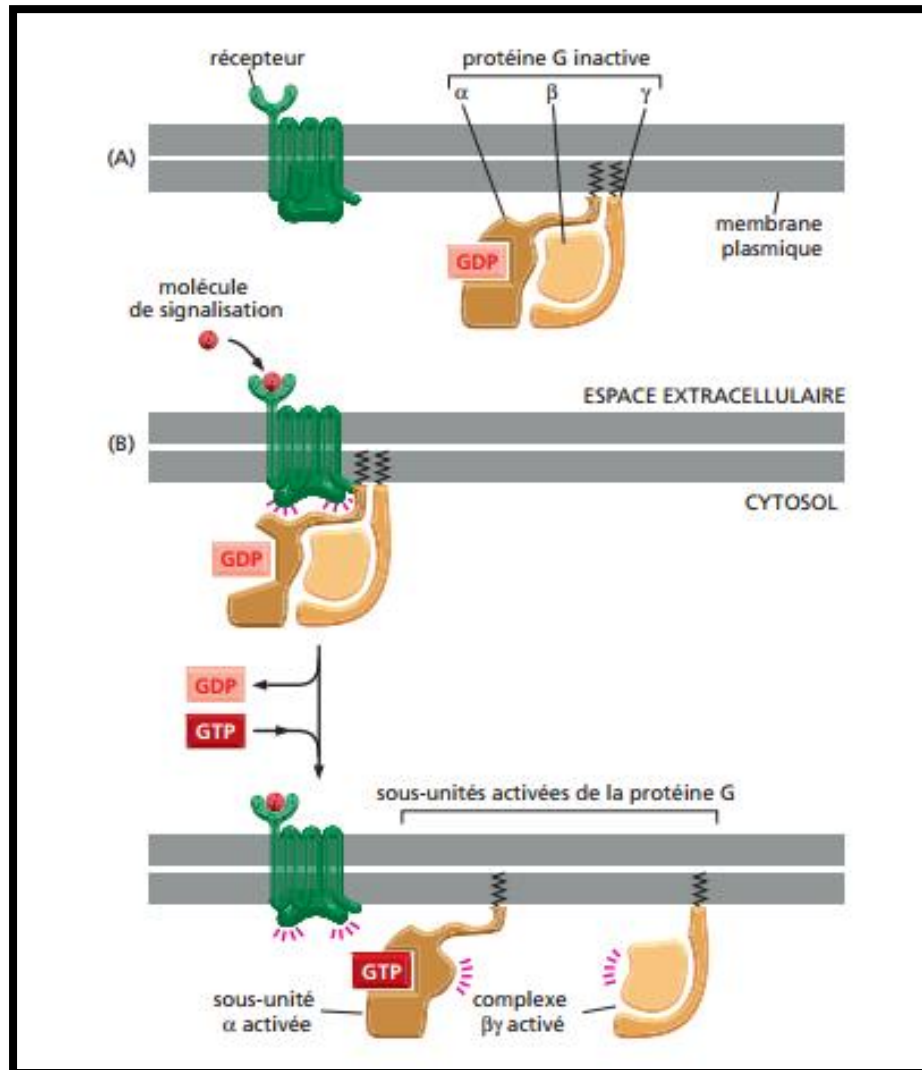


Figure 7 : fonctionnement de protéine G

5.2.1.2. Les seconds messagers de l'activation des GPCR

Adénylyl cyclases et AMP cyclique (cAMP)

Les adénylyl cyclases sont des enzymes membranaires de poids moléculaire élevé, Ces enzymes sont sous le contrôle des protéines G hétérotrimériques : celles possédant une sous-unité α s activent l'adénylyl cyclase lorsqu'elles sont liées au GTP, et celles possédant une sous-unité α i inhibent l'adénylyl cyclase.

Le cAMP est le second messenger de l'action d'un grand nombre de signaux reçus par les GPCR : hormones, neurotransmetteurs, etc. Il intervient dans la régulation de nombreuses enzymes, en particulier dans le cadre du métabolisme intermédiaire. La cible du cAMP est la protéine kinase A (PKA), une sérine/thréonine kinase tétramérique, faite de deux sous-unités catalytiques et de deux sous-unités régulatrices. La PKA a pour cibles de nombreuses

protéines dont les mieux identifiées sont la glycogène phosphorylase kinase, qu'elle active, et la glycogène synthase, qu'elle désactive. La PKA exerce également un effet majeur sur la transcription des gènes, en phosphorylant et en activant un facteur de transcription nommé CREB (*cAMP responsive element binding protein*) qui migre dans le noyau et reconnaît des séquences nucléotidiques dans le promoteur de gènes cibles, séquences appelées CRE (*cAMP responsive element*). Le cAMP est également capable d'activer directement la protéine EPAC (*Exchange protein directly activated by cAMP*) (Figure 8).

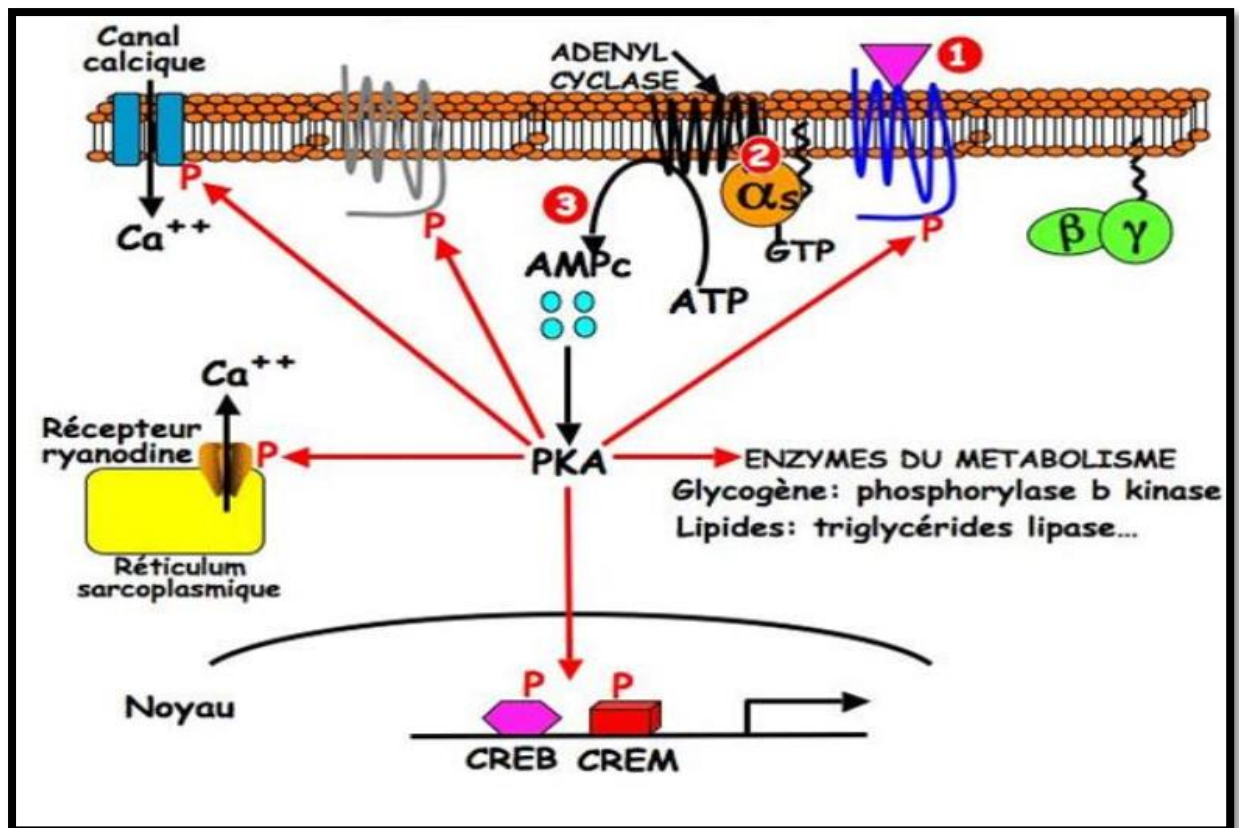


Figure 8 : les cibles de la PKA

D'après la figure Les cibles de la PKA sont :

Au niveau du cytosol:

- La phosphorylase b kinase
- la lipase hormono sensible
- Les canaux calciques

Au niveau de la membrane plasmique :

- Canaux calciques
- les récepteurs 7TM = R a 7 domaines transmembranaires

Dans le noyau :

- Les facteurs transcriptionnels CREB et CREM

Phospholipases C

Les phospholipases C sont des enzymes membranaires possédant un domaine PH (*Plekstrin homology domain*) qui leur permet de reconnaître les phosphoinositides. Alors que les PLC γ peuvent être activées par un RTK (récepteur tyrosine kinase), les PLC β sont activées par un GPCR *via* l'action des protéines G hétérotrimériques possédant une sousunité α_q . Elles agissent sur le phosphatidylinositol-4,5-diphosphate et génèrent une molécule lipidique, le diacylglycérol (DAG) et une molécule hydrosoluble, l'inositol-1,4,5-triphosphate (IP3). Ces deux molécules sont les seconds messagers de l'action de nombreux ligands des GPCR.

L'IP3 permet la mobilisation rapide du Ca^{2+} grâce à la mise en jeu de récepteurs de l'IP3 (IP3R ou ITPR) présents à la surface des membranes du réticulum endoplasmique. La plupart des effets du Ca^{2+} découlent de l'association entre Ca^{2+} et une petite protéine, la calmoduline. L'activité de nombreuses protéines est modulée par le complexe Ca^{2+} -calmoduline (et par conséquent par la disponibilité en Ca^{2+}). Le DAG, molécule liposoluble qui reste dans la membrane plasmique, va activer la protéine-kinase C (PKC) qui est aussi dépendante du Ca^{2+} (**Figure 9**). L'activation des protéine-kinases PKA, PKC et CaM-kinases induit la phosphorylation de protéines cibles qui vont modifier le comportement de la cellule.

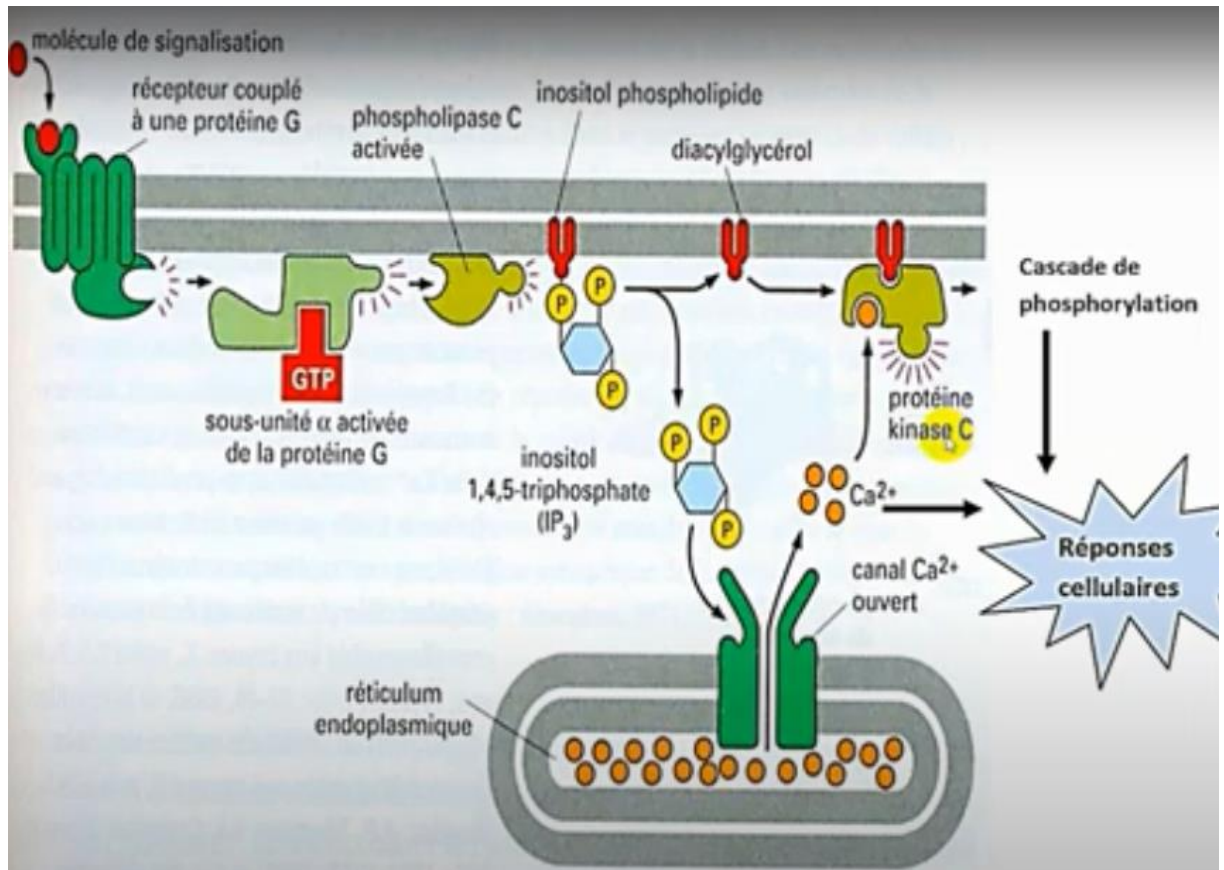


Figure 9 : la voie de phospholipase C

5.3. Les récepteurs couplés aux enzymes

Lorsqu'ils sont activés, fonctionnent directement comme une enzyme ou sont directement associés aux enzymes qu'ils activent. Ils sont formés de protéines à un seul domaine transmembranaire qui ont leur site de liaison au ligand situé à l'extérieur de la cellule et leur site catalytique ou de liaison enzymatique situé à l'intérieur. La grande majorité de ces récepteurs sont des protéine-kinases, ou sont associés à des protéine-kinases et les ligands qui s'y fixent provoquent la phosphorylation de groupes spécifiques de protéines dans la cellule cible. Ces protéines transmembranaires existent sous forme de monomères, dimères, tétramères. Ils possèdent une double fonction de reconnaissance du signal et d'effecteur. Selon l'activité enzymatique de leur région cellulaire, trois familles se distinguent :

- Récepteurs à activité **tyrosine kinase**,
- Récepteurs à activité **sérine-thréonine kinase**,
- Récepteurs à activité **guanylate cyclase**.

5.3.1. Récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK)

Les RTK sont des glycoprotéines membranaires composées d'un site de fixation du ligand appartenant au domaine extracellulaire relié au domaine cytoplasmique par une simple hélice transmembranaire. L'activité enzymatique est localisée dans le cytoplasme et permet le transfert du phosphate de l'ATP vers l'hydroxyle des tyrosines des protéines cibles et/ou du récepteur lui-même. C'est ce qu'on appelle l'autophosphorylation. Les RTK permettent la transmission d'un signal de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule et jouent ainsi un rôle important dans le contrôle de nombreux processus biologiques, tels que le cycle cellulaire, la migration cellulaire, le métabolisme, la prolifération et la différenciation cellulaire. Les RTK sont classés en 20 familles selon la structure de leurs domaines extracellulaire et intracellulaire. Parmi ces différentes familles, on distingue les récepteurs à l'insuline (IR), les récepteurs aux facteurs de croissance de l'épiderme (EGFR), les récepteurs aux facteurs de croissance des plaquettes (PDGFR), les récepteurs aux facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGFR) et les récepteurs aux facteurs de croissance des fibroblastes (FGFR). Ces différentes familles de RTK sont représentées dans la **figure 10**.

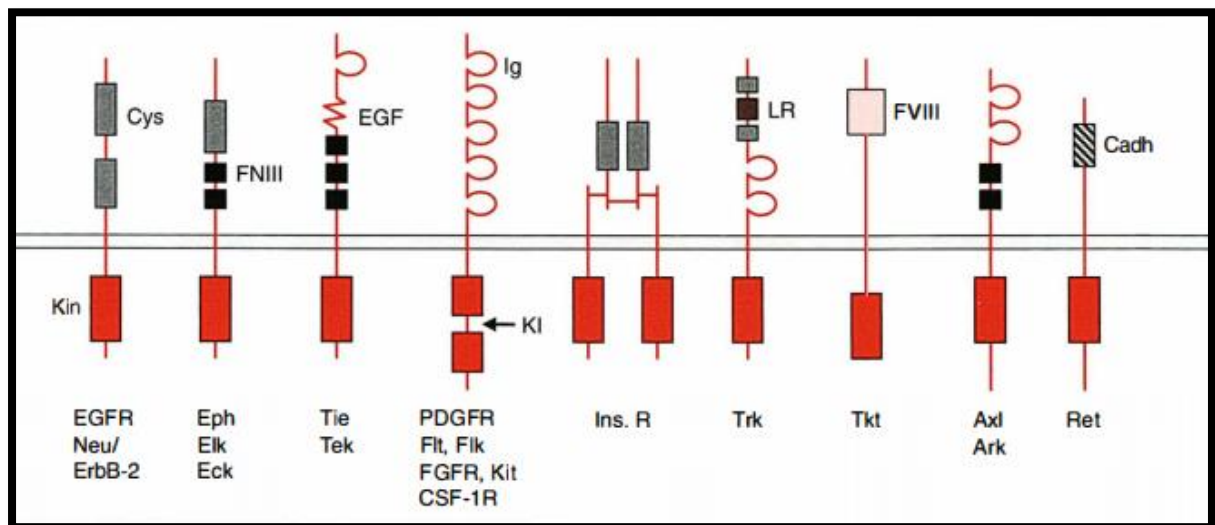


Figure 10 : Les différentes familles de RTK

Activation des RTK

Il existe différentes voies d'activation des récepteurs à activité tyrosine kinase : l'élément déclencheur de l'activation est la fixation de ligand, qui conduit à la dimérisation non covalente des récepteurs. Lors de la fixation du ligand, ces récepteurs se groupent en dimères et leur activité tyrosine kinase permet la phosphorylation d'une tyrosine de l'autre

protomère (autophosphorylation) (**Figure 11**). Ces récepteurs exercent aussi leur activité tyrosine kinase sur des substrats protéines du cytoplasme, qui transmettent à leur tour le signal aux cascades de phosphorylation de la cellule.

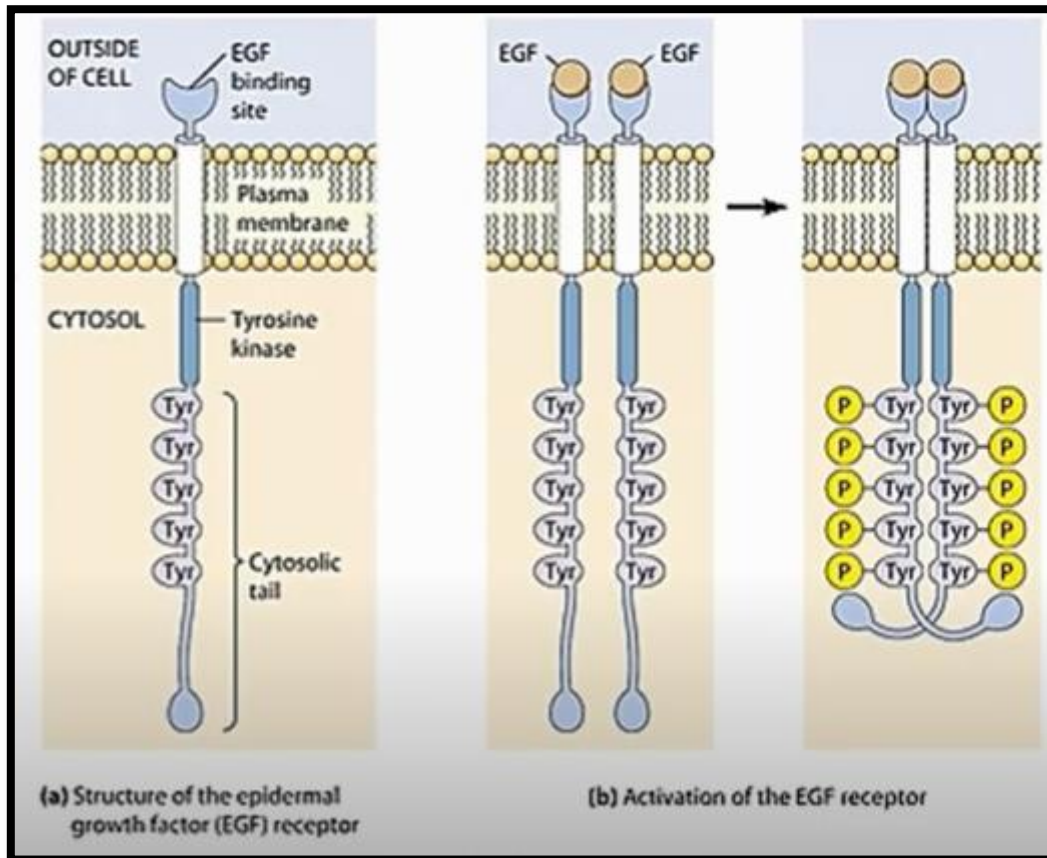


Figure 11 : Activation des RTK (autophosphorylation).

5.3.2. Récepteurs à activité sérine-thréonine kinase

Les récepteurs sérine thréonine kinase catalysent le transfert du phosphate de l'ATP à un résidu sérine ou thréonine d'une protéine substrat. Ils ont un rôle important dans le contrôle de la prolifération la différenciation, la migration et l'apoptose. Ils ont des caractéristiques structurales et fonctionnelles communes. Ils sont formés d'une seule chaîne polypeptidique, composée de trois régions : -Une région extracellulaire Nterminale, très glycosylée, pourvue du domaine de liaison du ligand. -Une courte séquence transmembranaire. -Une région intracellulaire C-terminale pourvue du domaine à activité sérine/thréonine kinase et de nombreux sites de phosphorylation de résidus sérine et

thréonine. Ils se dimérisent lors de la fixation du ligand. Ils ont pour ligands principalement des cytokines: Les TGF- β (Transforming GrowthFactor β), Les activines, les inhibines,..etc

Les récepteurs du TGF- β (transforming growth factor- β).

Est un le tétramère, il est formé de quatre sous-unités transmembranaires (deux types : RI et RII) chacunes ayant une activité sérine-thréonine kinase. On observe le même phénomène d'autophosphorylation des régions intracellulaires suivi de la phosphorylation des facteurs protéiques de transcription (**Figure 12**).

1. La liaison de TGF- β au récepteur de type II induit le recrutement et la phosphorylation du récepteur de type I
2. Le récepteur de type I phosphorylé recrute & phosphoryle Smad2 ou Smad3
3. une fois phosphorylé, Smad2 ou Smad3 se dissocie du récepteur et s'associe à smad4 (oligomérisation).
4. L'oligomère Smad2/3-smad4 migre dans le noyau, recrute d'autres protéines régulatrices e active la transcription de gènes cibles spécifiques

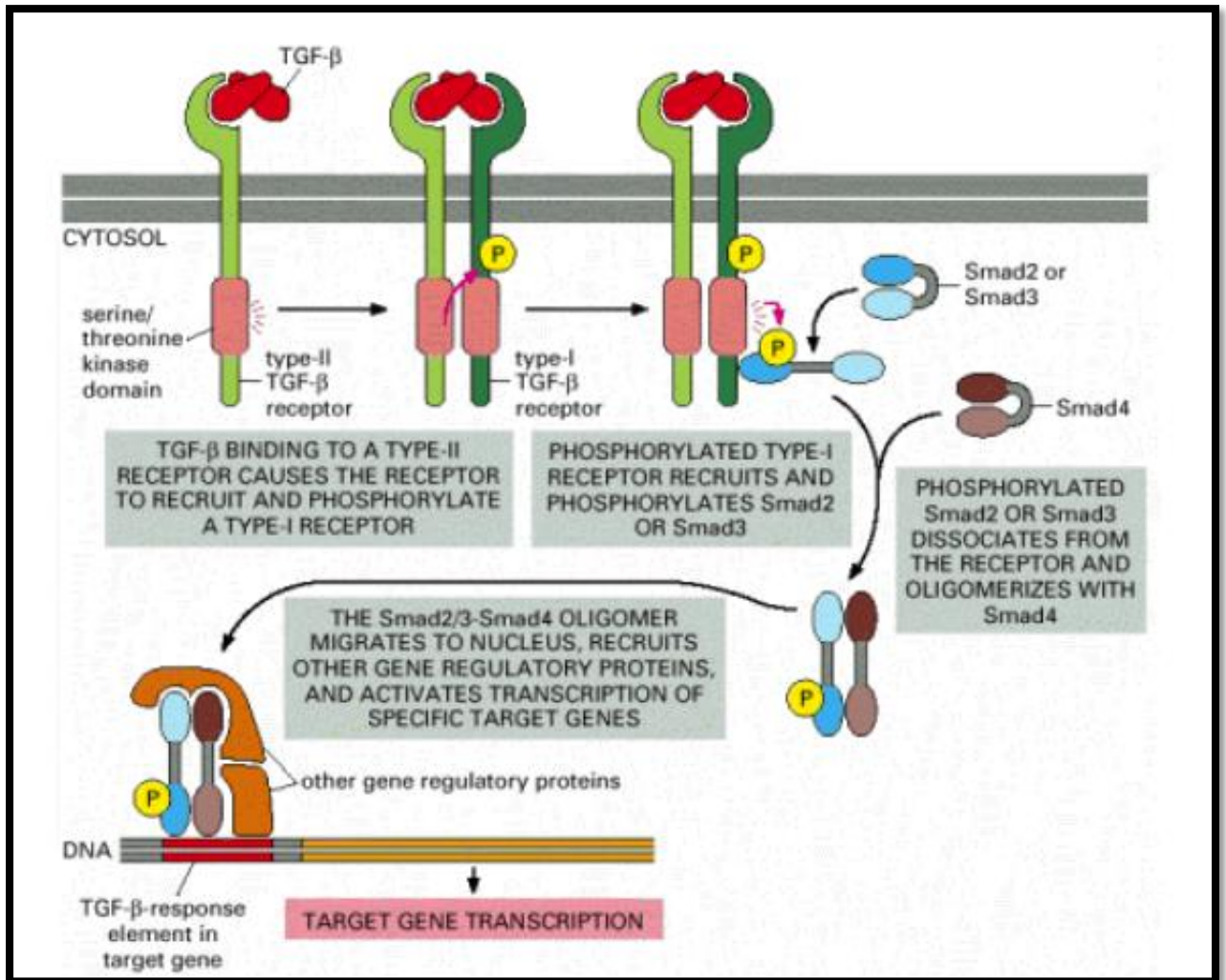


Figure 12 : Récepteurs à activité sérine-thréonine kinase

5.3.3. Récepteurs à activité guanylate cyclase

Les récepteurs à activité guanylate cyclase sont les récepteurs des peptides natriurétiques. Il s'agit d'un homo-dimère transmembranaire. L'activation de la guanylate cyclase en intracellulaire par la fixation du peptide en extracellulaire induit la synthèse d'un second messenger, le GMP cyclique (guanosine-3',5'-monophosphate) à partir de GTP. GMP cyclique active une protéine kinase PKG, contrairement à la sous unité catalytique de la protéine kinase A (cible de l'AMP cyclique), les sous-unités catalytiques libérés par le PKG restent toujours cytosolique, elles ne rentrent jamais dans le noyau (**Figure 13**).

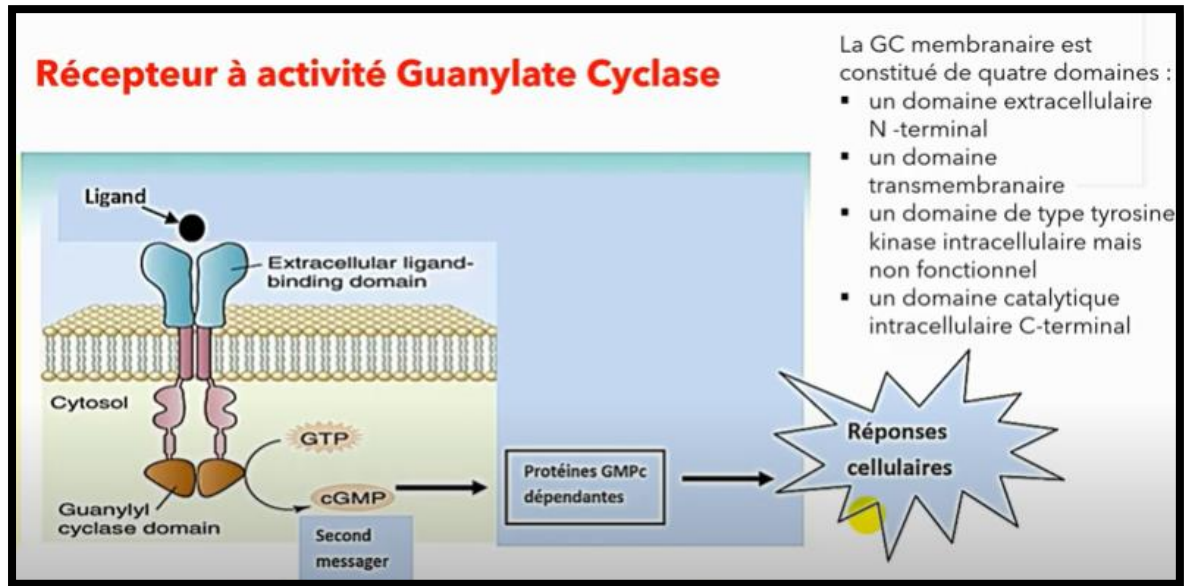


Figure 13 : récepteur à activité guanylate cyclase

Chapitre 2 : Transduction du signal et voies de signalisation

1. La voie des RAS/MAPK

Est une voie de signalisation intracellulaire, caractérisée par une cascade de phosphorylation protéique conduisant à une réponse cellulaire. Elle est activée par des facteurs de croissance, des hormones ou des cytokines qui agissent par l'intermédiaire de récepteurs membranaires à activité tyrosine kinase. La liaison du ligand sur le domaine extracellulaire du récepteur entraîne sa dimérisation, ce qui déclenche l'autophosphorylation de son domaine cytoplasmique sur des résidus tyrosine, faisant apparaître des motifs protéiques nouveaux. Ils permettent l'ancrage au récepteur de protéines dites adaptatrices, telle que GRB2, contenant des domaines SH2 ou PTB (domaine de liaison à la phosphotyrosine), ces protéines va être recruté et recruter à son tour la protéine SOS capable d'activer la protéine RAS en favorisant la liaison du GTP (RAS : Ce sont des protéines G monomérique (ou GTPase) qui cyclent entre un état inactif lié au GDP et un état actif lié au GTP. La proximité de SOS et de RAS va favoriser l'échange du GDP par le GTP, induisant son activation). Ras-GTP active alors une cascade de protéine-kinases généralement en s'attachant à Raf, ce qui démasque son site ser/thr kinase. La kinase RAF va phosphoryler et activer les kinases MEK1 et MEK2 qui vont-elles-mêmes phosphoryler et activer les kinases ERK1 et ERK2 puis phosphoryler des protéines cytosoliques comme la S6 kinase, peut migrer au noyau et phosphoryler des facteurs de transcription (Jun, Fos, Myc) (**Figure 14**).

Cette voie est finement régulée, notamment par un rétrocontrôle négatif exercé par ERK. La phosphorylation de SOS par ERK limite son association à GRB2 empêchant ainsi son recrutement à la membrane plasmique. De même, ERK est capable de phosphoryler directement RAF et le domaine intracellulaire du récepteur à l'EGF induisant leur inactivation.

La petite GTPase RAS

Les protéines RAS sont des petites GTPase qui forment le lien essentiel entre le RTK et l'activation de la voie MAPK. La protéine RAS agit comme un interrupteur moléculaire : elle est "on" lorsqu'elle est liée au GTP (guanine triphosphate) et "off" quand elle est liée au GDP (guanine diphosphate).

La protéine RAS associée au GTP peut lier plusieurs protéines effectrices, telles que les protéines RAF, PI3K, RalGDS et phospholipase C β . Il y a 3 protéines RAS très similaires, HRAS, KRAS et NRAS, et les mutations des acides aminés 12, 13 ou 61 de l'une des 3 protéines

RAS les convertissent en oncogènes. Ces mutations inhibant l'activité GTPase des protéines RAS, celles-ci, liées en permanence au GTP, sont donc actives de façon constitutive.

Les kinases de la famille RAF

Les protéines RAF sont des sérine/thréonine kinases qui jouent un rôle pivot dans la voie MAPK. La famille des kinases RAF est composée de 3 membres : ARAF, BRAF et CRAF (également appelé Raf-1), qui partagent une architecture commune et qui sont soumis à une régulation complexe.

BRAF : 2 sites de phosphorylation

ARAF et CRAF : 4 sites de phosphorylation

Le partenaire privilégié de RAS est BRAF (2 phosphorylation au lieu de 4)

Le gène BRAF, qui est impliqué dans la voie MAPK, est muté dans 50 à 70 % des mélanomes cutanés. La mutation la plus commune se trouve dans le domaine kinase de BRAF, La protéine mutante BRAFV600E active la voie MAPK de façon constitutive, stimulant la prolifération et la survie cellulaires, qui sont essentielles à la croissance tumorale

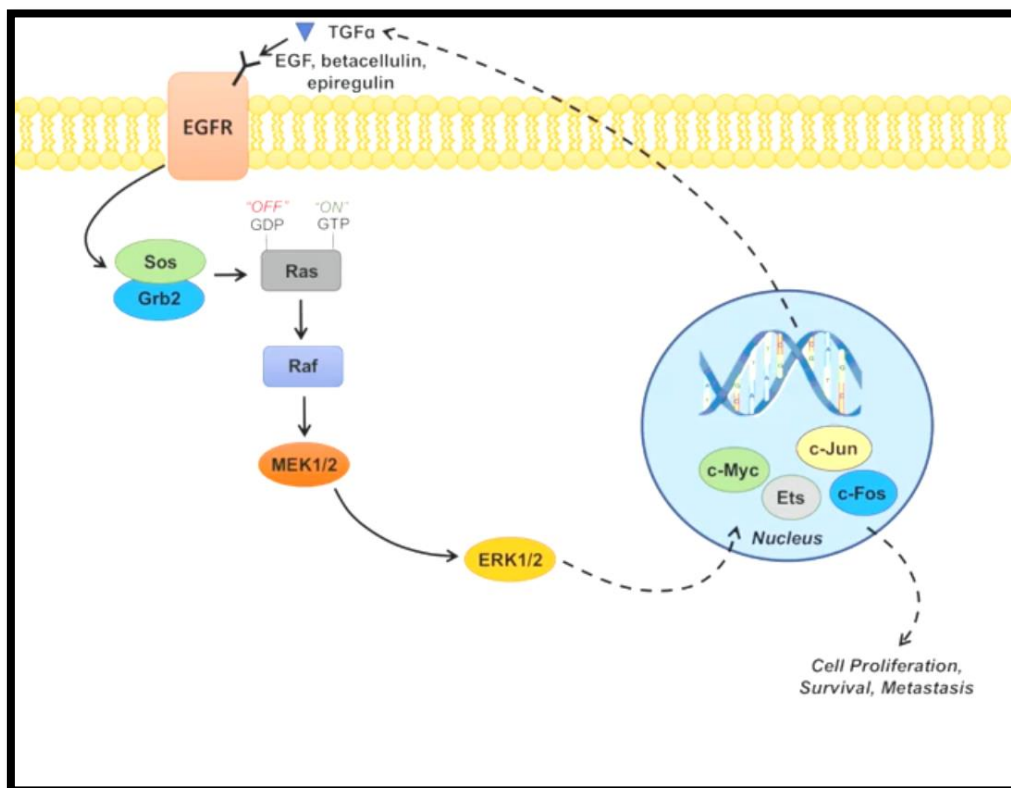


Figure14 : la voie de MAP Kinase

2. La voie PI3K/AKT

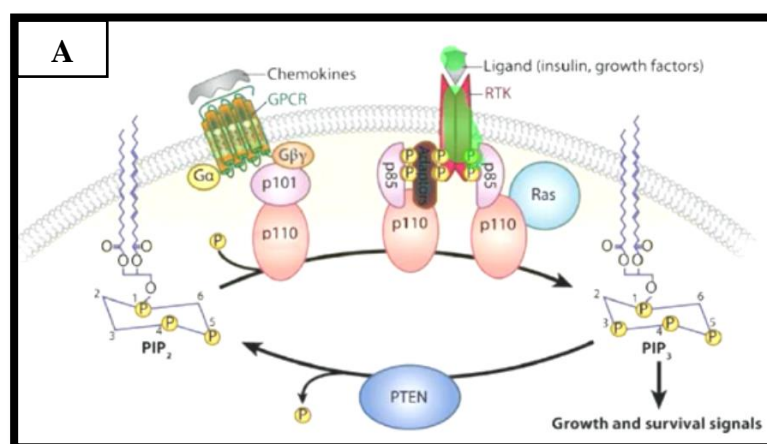
La PI3K (phosphatidylinositol-3-kinase) est composée d'une sous unité catalytique portant l'activité kinase (p110) et d'une sous unité régulatrice (p85) dotée d'un domaine SH2 permettant sa liaison avec des RTKs activés (**Figure 15-A**).

La PI3K peut être activée directement par un récepteur à tyrosine-kinase ou par l'intermédiaire de la protéine Ras ou IRS-1 (**Figure 15-B**)

la PI3K va phosphoryler le PIP2 (phosphatidylinositol-4,5-diphosphate) en PIP3 (phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate) . PIP3 recrute la sérine/thréonine kinase AKT à proximité de la membrane plasmique, où elle est alors phosphorylée (et activée) par la PDK1 (*phosphatidylinositol 3-dependent kinase 1*).

La protéine AKT est capable d'activer un très grand nombre d'effecteurs impliqués dans les mécanismes de prolifération et de survie cellulaire. Pour n'en citer que quelques-uns on retrouve MDM2 (murine double-minute p53 binding protein), une ubiquitine ligase qui va séquestrer p53 et s'opposer à l'arrêt du cycle cellulaire, IKK (IκB kinase), qui libère le facteur NF-κB impliqué dans la survie cellulaire, la prolifération ou encore l'angiogenèse, et BAD (BCL2-associated agonist of cell death), qui favorise l'apoptose mais dont l'action est inhibée suite à sa phosphorylation (**Figure 15-C**)

La voie PI3K est régulée négativement par le lipide phosphatase PTEN (*Phosphatase and TENsin homolog located on chromosome 10*) qui déphosphoryle PIP3, inhibant ainsi l'activation des protéines AKT par PI3K.



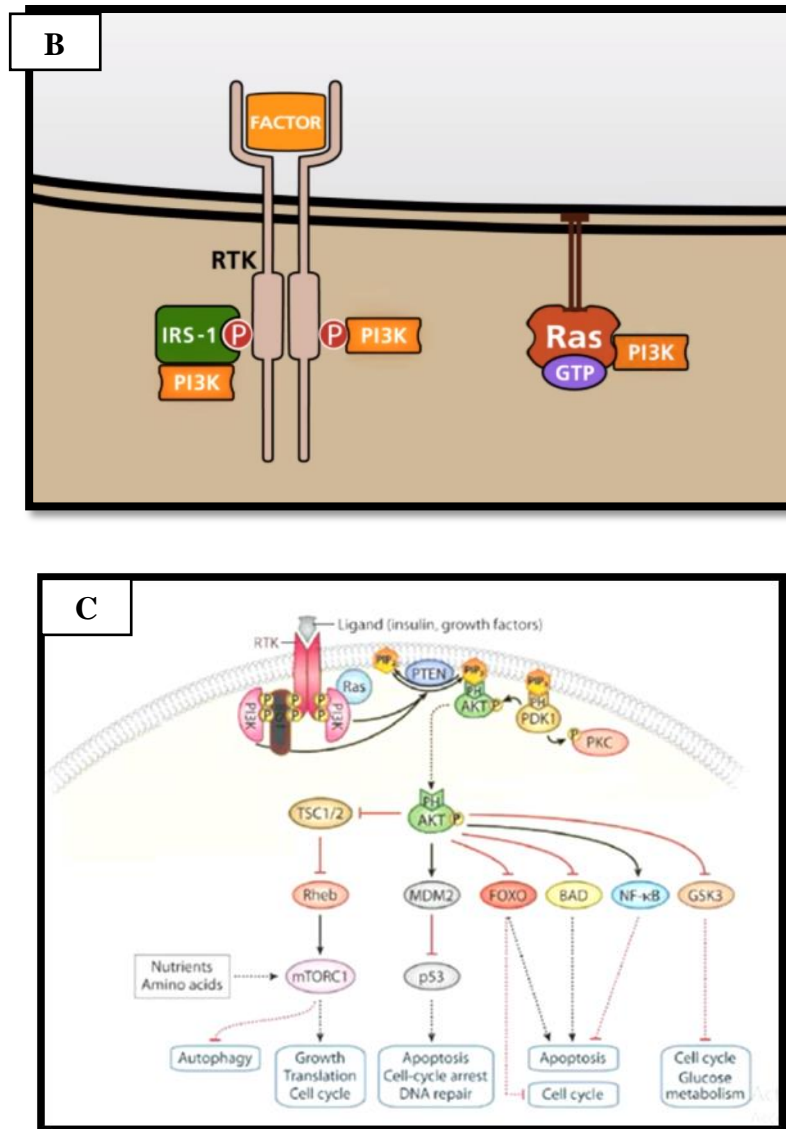


Figure 15 : la voie de PI3K/AKT

A-Les deux sous-unités de PI3K. B-Activation de PI3K. C- La voie de PI3K/AKT.

Il existe des interconnexions majeures entre les différentes voies de signalisation. Par exemple l'activation de RAS peut activer d'autres kinases que les MAPK comme la PI3K ou la PLCβ (phospholipase Cβ) D'autre part, la voie des MAPK peut également être activée par la PLCγ qui est équipée un domaine SH2 et qui peut aussi être directement activée par un RTK. De manière globale, la connexion des différentes voies est essentielle au bon fonctionnement d'un organisme (**Figure 16**).

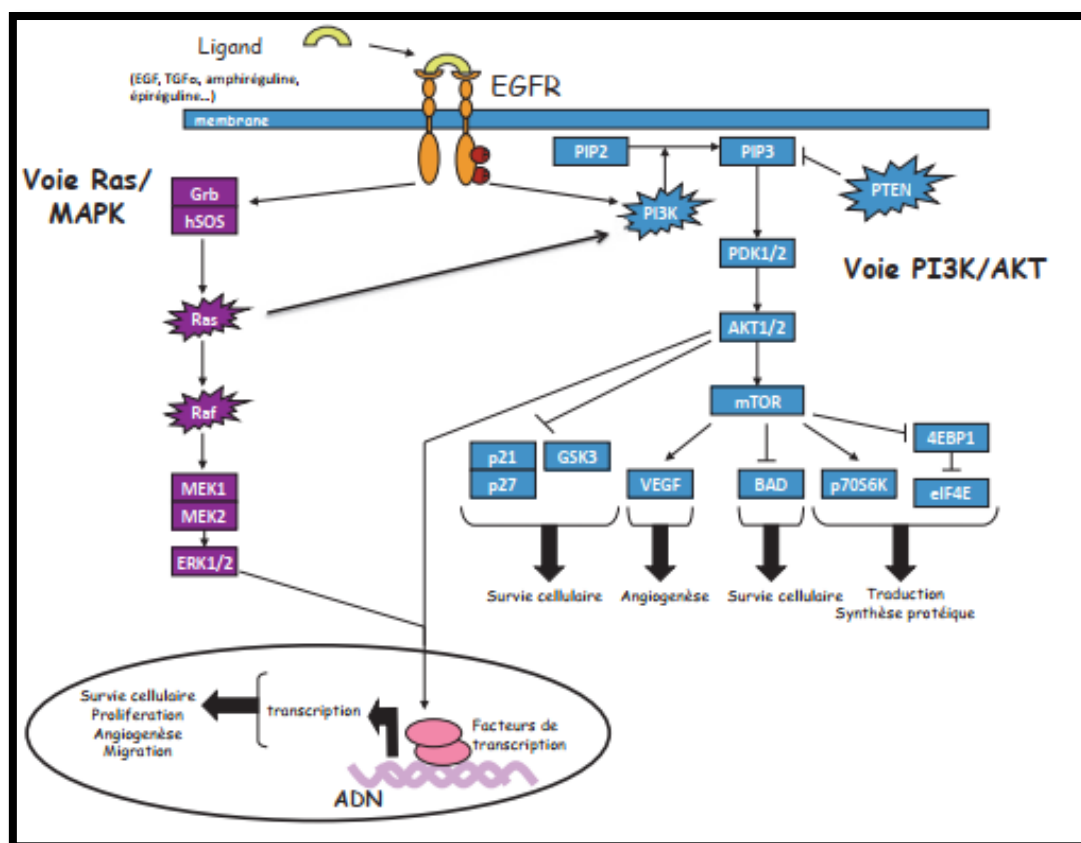


Figure 16 : Interconnexions entre la voie MAPKinase et PI3K

3. La voie de JAK/STAT

La voie de signalisation JAK/STAT participe à la régulation de la réponse cellulaire aux cytokines et aux facteurs de croissance. Suite à l'activation par une cytokine ou un facteur de croissance, la voie de signalisation utilise les protéines JAK (Janus kinases) et STATs (Signal transducers and activators of transcription) pour transmettre le signal extracellulaire vers le noyau dans lequel les protéines STATs activées modulent l'expression génique. Cette voie de signalisation joue un rôle critique dans la prolifération cellulaire et la différenciation cellulaire et l'apoptose. Elle est particulièrement importante dans l'hématopoïèse. Les protéines JAKs qui ont une activité tyrosine kinase se fixent sur certains récepteurs des cytokines. La fixation du ligand à son récepteur va activer JAK. L'activité kinasique de JAK étant augmentée va résulter en une phosphorylation accrue de résidus tyrosine sur le récepteur et ainsi créer des sites d'interaction avec des protéines qui contiennent des domaines SH2 fixant les phosphotyrosines. Or les protéines STATs possèdent des domaines SH2 capables de fixer ces résidus phosphotyrosine qui sont ainsi recrutés sur les récepteurs et sont eux-mêmes

phosphorylés au niveau de leurs résidus tyrosine par JAKs. Ces phosphotyrosines vont ensuite servir de fixation pour les domaines SH2 d'autres molécules STATs, favorisant ainsi leur dimérisation. Ainsi différentes protéines STATs peuvent former des homodimères ou des hétérodimères. Ces dimères de STATs ainsi activés vont transloquer vers le noyau cellulaire et activer la transcription de gènes cibles (**Figure 17**).

La voie de signalisation JAK/STAT est régulée à plusieurs niveaux. Des phosphatases cellulaires peuvent ôter les phosphates des récepteurs cytokiniques ainsi que des STATs activés. Les protéines SOCS (« Suppressors of cytokine signaling ») qui inhibent la phosphorylation des STATs en se fixant et bloquant les JAKs ou en entrant en compétition avec les STATs pour les sites de fixation des phosphotyrosines au niveau des récepteurs aux cytokines.

Les STATs sont aussi régulées négativement par des protéines inhibitrices des STATs activées (PIAS) qui agissent au niveau du noyau. Ainsi les PIAS1 et PIAS3 inhibent l'activation transcriptionnelle médiée par les STAT1 et STAT3 en se fixant sur elles ou en bloquant leur accès aux séquences géniques qu'elles reconnaissent.

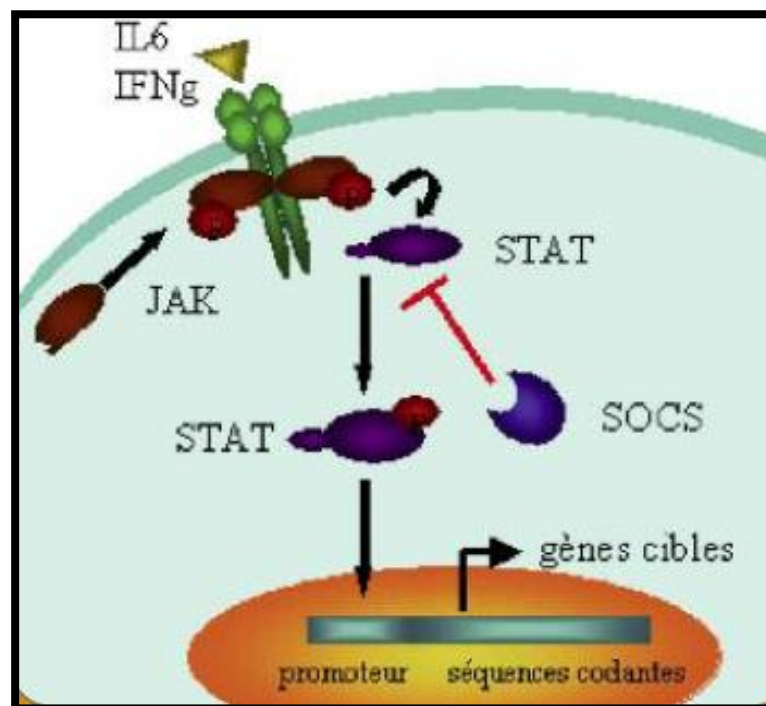


Figure 17 : la voie de JAK/STAT

Chapitre 3 : Récepteurs des hormones

L'action d'une hormone sur sa cellule cible comporte essentiellement trois étapes :

- l'hormone doit être reconnue et liée à un récepteur cellulaire spécifique.
- il y a formation d'un complexe hormone-récepteur qui détermine des modifications de conformation du récepteur (intra ou extra cellulaire).
- transduction du signal : apparition de changements intracellulaire essentiellement modification de l'activité enzymatique et modification de l'expression génique.

Les récepteurs intracellulaires et intranucléaires sont essentiellement dédiés à provoquer des réactions directes avec le génome

1. Classification des récepteurs des hormones

Les molécules de signalisation extracellulaire se répartissent en deux classes. La première, et la plus grande, est formée de molécules trop grosses ou trop hydrophiles pour traverser la membrane plasmique des cellules cibles. Elles dépendent de récepteurs situés à la surface de la cellule cible, pour relayer leur message à travers la membrane (**Figure 18-A**). La deuxième classe de signaux, plus petite, comporte des molécules qui sont assez petites ou assez hydrophobes, pour se glisser facilement à travers la membrane plasmique. Une fois à l'intérieur, ces molécules de signalisation activent des enzymes intracellulaires, ou se lient à des récepteurs protéiques qui contrôlent l'expression des gènes (**Figure 18-B**).

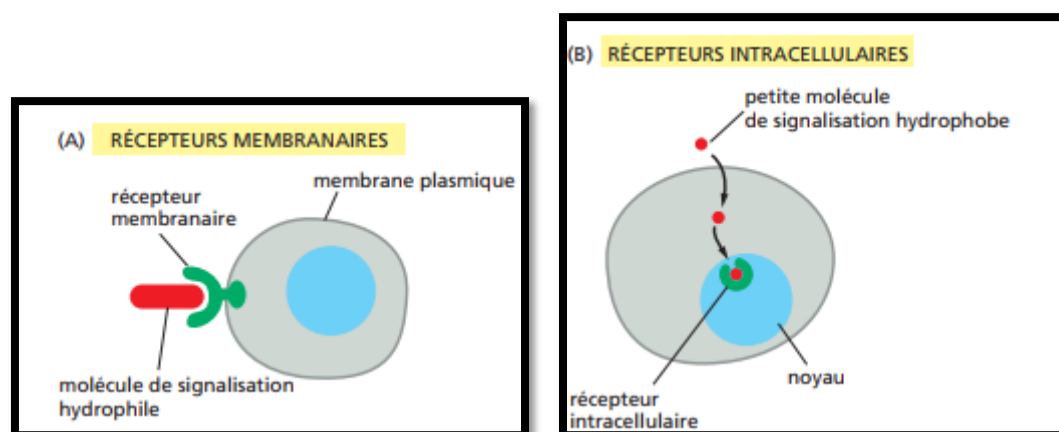


Figure 18 : les récepteurs des hormones

1.1. Les récepteurs membranaires

Les récepteurs membranaires transmettent les signaux extracellulaires par l'intermédiaire des voies de signalisation intracellulaire. Contrairement à NO et aux hormones stéroïdes et thyroïdiennes, la grande majorité des molécules de signalisation sont trop grandes ou trop hydrophiles pour traverser la membrane plasmique des cellules cibles. Ces protéines, peptides et petites molécules très hydrosolubles, se lient, à la surface de la cellule, à des récepteurs membranaires qui traversent la membrane plasmique. Ces récepteurs transmembranaires détectent un signal à l'extérieur de la cellule, et le relaient, sous une forme nouvelle, à l'intérieur de la cellule. Le récepteur accomplit la première étape de la transduction du signal : il lie un signal externe et, en réponse, le transforme en un signal interne. Dans ce jeu de marquage moléculaire, le message passe d'une molécule de signalisation intracellulaire à une autre, chacune activant ou engendrant la molécule de signalisation suivante, jusqu'à ce qu'une enzyme du métabolisme soit mise en action, le cytosquelette tordu en une autre configuration ou un gène activé. Le résultat final est appelé réponse de la cellule. Les composants de ces voies de signalisation intracellulaire ont plusieurs fonctions cruciales :

1. Elles peuvent simplement relayer le signal, et donc participer à sa diffusion à travers la cellule.
2. Elles peuvent amplifier le signal reçu, le rendant plus fort, de sorte que quelques molécules de signalisation extracellulaires suffisent pour faire naître une forte réponse intracellulaire.
3. Elles peuvent recevoir des signaux de plusieurs voies de signalisation intracellulaire et les intégrer avant de relayer le signal plus loin.
4. Elles peuvent aussi distribuer le signal à plus d'une voie de signalisation ou protéine effectrice, créant des ramifications dans le diagramme du flux d'information et faisant naître des réponses complexes.

Comme elles font partie de cette fonction d'intégration, de nombreuses étapes d'une voie de signalisation peuvent être modulées par d'autres facteurs, intracellulaires ou extracellulaires, pour que les effets du signal soient adaptés aux conditions prévalant à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule.

1.2. Les récepteurs nucléaires

Les récepteurs nucléaires constituent une classe particulière de facteurs de transcription activés par un signal extracellulaire. Le signal extracellulaire est apporté par une substance

hydrophobe, comme une hormone stéroïde, qui peut traverser la membrane cellulaire et ne requiert pas une molécule de surface pour le reconnaître et transmettre jusqu'au noyau l'information qu'il apporte. C'est le récepteur lui-même qui se charge de cette fonction et contrôle l'expression de gènes cibles après avoir reconnu et fixé son ligand.

Une classe importante de molécules dépendant d'un récepteur intracellulaire est constituée par les hormones stéroïdes (entre autres cortisol, œstradiol, testostérone), et les hormones thyroïdiennes comme la thyroxine. Toutes ces molécules hydrophobes traversent la membrane plasmique des cellules cibles et se lient à des récepteurs, protéines situées soit dans le cytosol, soit dans le noyau. Qu'ils soient dans le cytosol ou dans le noyau, ces récepteurs sont appelés récepteurs nucléaires, car lorsqu'ils sont activés par la liaison de l'hormone, ils agissent comme régulateurs de la transcription dans le noyau. Dans les cellules non stimulées, ces récepteurs sont habituellement présents sous une forme inactive. Quand une hormone se lie au récepteur, celui-ci subit un changement de conformation qui l'active, lui permettant d'activer ou d'inhiber la transcription de gènes spécifiques. Chaque hormone se lie à un récepteur différent, et chaque récepteur agit sur des sites différents de régulation au niveau de l'ADN. De plus, comme une hormone donnée contrôle généralement des groupes de gènes divers dans les différents types cellulaires, elle entraîne des réponses physiologiques différentes dans les diverses cellules cibles.

1.2.1. Classification des récepteurs nucléaires

Les récepteurs nucléaires, au nombre d'une cinquantaine, se rangent en trois classes principales :

- NR3 (*Nuclear receptor 3*) : contient en particulier les récepteurs des hormones stéroïdes.
- NR1 : rassemble les récepteurs des hormones thyroïdiennes,
- NR2 : contient des récepteurs accessoires de l'acide rétinoïque (RXR, pour *Retinoid X receptors*).

1.2.2. Structure du récepteur nucléaire

Les récepteurs de cette famille présentent un certain nombre de domaines fonctionnels assez proches. Quatre domaines fonctionnels au moins sont en général présents : à l'extrémité amino-terminale le domaine A/B de transactivation, au centre le domaine de liaison à l'ADN (DBD) et à l'extrémité carboxyterminale le domaine de liaison du ligand (LBD). L'extrémité amino-terminale est la région la plus variable en termes de longueur et séquence entre les

différents récepteurs nucléaires. Le domaine de liaison à l'ADN (DBD, pour DNA binding domain) joue un rôle essentiel pour ces protéines qui sont des facteurs de transcription contrôlant l'expression des gènes en se liant à leurs séquences régulatrices. Le DBD comporte une structure dite en « doigt de zinc ». Les récepteurs nucléaires comportent deux doigts de zinc (**Figure 19**). Ils sont constitués de huit résidus cystéines chélatant le Zn^{2+} . La liaison à l'ADN s'effectue par le DBD au niveau d'une séquence le plus souvent consensus et propre à chaque type de récepteur dénommé HRE (hormone response element) pour les récepteurs des hormones stéroïdiennes ou thyroïdiennes. Le DBD est la structure la plus conservée entre les différents récepteurs nucléaires. Le domaine de liaison au ligand (LBD, pour ligand binding domain) est situé à l'extrémité carboxy-terminale. Le LBD contient des régions essentielles pour la liaison du ligand mais aussi la dimérisation du récepteur. Le LBD participe aussi à la liaison des cofacteurs du récepteur (coactivateurs et corépresseurs). Les études de cristallographie ont été essentielles pour comprendre l'importance du LBD dans l'activation du récepteur par le ligand et les modifications de structure induites par la liaison du ligand. Deux autres domaines jouent un rôle important dans la régulation de la transcription par les récepteurs nucléaires. Le domaine AF-1, localisé en N-terminal, est un domaine constitutif de transactivation. Il permet la liaison de nombreux corégulateurs, mais aussi des protéines du complexe de base de la machinerie transcriptionnelle comme l'acide ribonucléique (ARN) polymérase II, la TATA-binding protein ou les TBP-associated proteins (**Figure 20**). Le domaine AF-2, situé dans le LBD, a une activité dépendante du ligand.

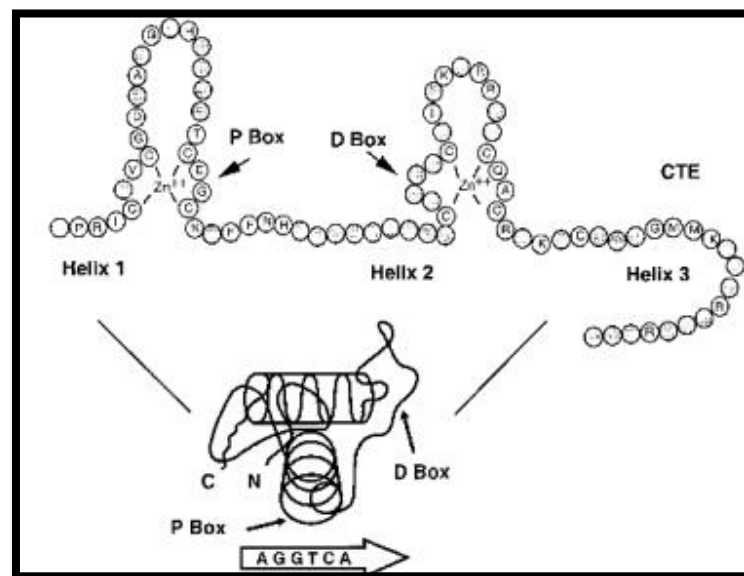


Figure 19 : Les doigts de zinc

Ainsi, entre la partie amino-terminal et carboxy-terminal du récepteur il y a différente séquence importante :

-Séquence A/B : Ce domaine est le plus variable dans la superfamille aussi bien en longueur qu'en séquence. Cette séquence renferme souvent un domaine qui porte une fonction activatrice AF1 (Activating Function 1) qui est dépendante du contexte cellulaire (permet d'activer la transcription indépendamment de la liaison du ligand). C'est le domaine de Trans activation, cible de phosphorylation qui régule propriété du récepteur nucléaire.

-Séquence C : hautement conservé et renferme le domaine de liaison à l'ADN. Il est composé de 8 cystéines (4 pour chaque doigt), conservées, liée dans la stabilisation d'un ion zinc induisant la formation de deux doigts de zinc. Le domaine inclut également 3 structures en hélice α conservées. Les doigts de zinc et les hélices vont s'orienter de façon à mettre à jour deux boîtes P et D :

-La Boîte D importante pour la dimérisation.

-Boîte P importante dans la reconnaissance de courte séquence formé par 6 nucléotides (reconnu au niveau de l'ADN). Permet la discrimination des éléments de réponses hormonaux (HRE)

-Séquence D : séquence non conservée, on y retrouve le signal de localisation nucléaire (NLS) ainsi que des résidus impliqués dans l'interaction avec des corépresseurs.

-Séquence E : intervient dans la liaison du ligand. C'est un domaine multifonctionnel : lorsque le ligand se lie il y a modification conformationnelle induisant la dimérisation, il interagit avec des heat-shock protéines et assure la transactivation transcriptionnelle.

-Séquence F : séquence terminale Les récepteurs nucléaires agissent sous la forme de dimère mais il y a quelques récepteurs particuliers comme les récepteurs dit « orphelin » (les ligands ne sont pas encore connus) qui sont monomère et reconnaissent des séquences spécifiques. D'autres récepteurs comme les récepteurs stéroïdiens forment des homodimères alors que la plupart des récepteurs nucléaire forment des hétérodimères.

Ces récepteurs nucléaires ne se contentent pas uniquement de réprimer les facteurs généraux de transcription ils peuvent également interagir et mettre en place des éléments qui vont modifier la structure de la chromatine.

1.2.4. Récepteurs des hormones stéroïdes

Cinq classes d'hormones stéroïdes activent des récepteurs nucléaires : œstrogènes, progestatifs, androgènes, glucocorticoïdes et minéralocorticoïdes. En absence de ligand, ces récepteurs sont associés dans le cytoplasme à des protéines chaperons HSP (Heat shock proteins) qui les maintiennent à l'état inactif. La fixation du ligand entraîne le départ de la protéine HSP, l'homodimérisation du récepteur et sa translocation dans le noyau. Le dimère reconnaît alors la séquence cible HRE et induit la transcription des gènes correspondants.

1.2.5. Récepteurs des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes, thyroxine (T4) et tri-iodothyronine (T3), sont les ligands des récepteurs TR α (THRA ou NR1A1) et TR β (THRB ou NR1A2), chacun pouvant exister sous deux isoformes.

Les récepteurs spécifiques des hormones thyroïdiennes (thyroid hormone receptor ou TR) appartiennent à la grande famille des récepteurs nucléaires, comme ceux des stéroïdes hormonaux, de la vitamine D, de l'acide rétinoïque. Ils comprennent également 5 domaines. Ils ont une forte propension à la dimérisation, interagissent avec d'autres récepteurs nucléaires et le récepteur de l'acide rétinoïque (retinoid X receptor ou RXR).

L'activité de transcription s'exprime lors de liaison du récepteur avec le ligand dans le domaine E/F. Cette liaison favorise la dissociation des homodimères TR-TR et la formation d'hétérodimères TR-RXR avec le récepteur de l'acide rétinoïde (RXR). En l'absence de ligand l'hétérodimère TR-RXR réprime la transcription du gène, ce qu'explique le recrutement de corépresseurs (complexe protéique impliquant une histone déacétylase). À l'inverse la fixation du ligand au TR déplace les corépresseurs au profit de coactivateurs.

Chapitre 4 : Récepteurs des facteurs de croissance et cytokines

1. Récepteurs des facteurs de croissance

Un facteur de croissance est une substance régulatrice qui, présente en petites quantités, favorise la multiplication des cellules d'un organisme. Sécrétés par différents types de cellules, les facteurs de croissance sont nécessaires à la croissance, la prolifération et la différenciation cellulaire. Bien qu'ils puissent circuler dans le sang des mammifères, beaucoup de facteurs de croissance sont émis par des cellules pour agir sur d'autres cellules présentes dans leur voisinage, en tant que médiateurs locaux.

Souvent ce n'est pas un facteur de croissance seul qui stimule la prolifération des cellules, mais une combinaison de facteurs de croissance.

Les facteurs de croissance sont des polypeptides transmettant des messages mitogènes, c'est à-dire susceptibles de provoquer le déclenchement d'une mitose. Ils sont sécrétés par de nombreux types cellulaires non organisés en glandes et agissent le plus souvent à faible distance de leur origine. Par analogie et par opposition aux hormones qui sont véhiculées dans le sang (système endocrine), on dira que les facteurs de croissance sont des facteurs paracrines (agissant au voisinage de la cellule qui leur a donné naissance), parfois juxtacrines (agissant sur la cellule liée par jonction serrée à la cellule d'origine), et même autocrines (agissant sur la cellule même qui les a produits). Les récepteurs de ces facteurs de croissance possèdent une activité enzymatique de sérine/thréonine kinase et tyrosine kinase.

1.1. Les facteurs de croissance connus

- Le PDGF, ou facteur de croissance dérivé des plaquettes (platelet-derived growth factor), nécessaire à la division des fibroblastes. Le PDGF possède des récepteurs sur la membrane plasmique des fibroblastes. Lorsqu'il s'associe à son récepteur, le PDGF stimule la division de la cellule. Le PDGF est libéré par les plaquettes sanguines au niveau d'une lésion. La stimulation de la division des fibroblastes favorise la cicatrisation.

-L'EGF (epidermal growth factor) qui agit sur des cellules de l'épiderme, et joue un rôle important dans le développement embryonnaire.

-Les FGF (fibroblast growth factor) qui stimulent la prolifération de nombreux types cellulaires,

-l'érythropoïétine, ou EPO, qui favorise la prolifération et la différenciation des cellules précurseurs de globules rouges.

-Le TGF- β (transforming growth factor beta), qui stimule la prolifération de certaines cellules, l'inhibe chez d'autres, et contrôle la différenciation de certaines cellules.

-L'IGF-I (insulinlike growth factor I), qui stimule le métabolisme cellulaire et la prolifération de cellules, en combinaison avec d'autres facteurs de croissance.

-L'IL-2 (interleukine-2), qui stimule la prolifération des lymphocytes T activés.

-Le NGF (nerve growth factor) qui favorise la survie des neurones.

1.2. Les récepteurs à activité tyrosine kinase

Il existe plusieurs centaines de facteurs de croissance capables d'activer un RTK et plusieurs dizaines de récepteurs capables de les reconnaître.

Tous les RTK possèdent un seul domaine transmembranaire, une partie intracellulaire homologue qui porte l'activité catalytique, et une partie extracellulaire très variable d'une famille à l'autre. Cette partie extracellulaire est subdivisée en domaines protéiques divers, possédant des séquences caractéristiques (domaines riches en cystéine, domaines acides, domaines immuno- globulin-like, etc.) présentées sur la **figure 21**. Le mode d'activation de tous les RTK est analogue : il comporte une dimérisation du récepteur, qui permet l'autophosphorylation de résidus tyrosine du domaine intracellulaire. La présence de phosphotyrosines constitue le véritable signal permettant la mise en œuvre d'une voie de transduction conduisant à l'activation des effecteurs.

Ces phosphotyrosines seront reconnues par des protéines dotées de domaines de liaison que l'on appelle domaines SH2 (SRC homology domain 2) et PTB (Phosphotyrosine binding). Ces protéines sont susceptibles de reconnaître de façon très spécifique les différentes tyrosines phosphates du récepteur activé. On a identifié une centaine de protéines porteuses d'un domaine SH2 et 35 d'un domaine PTB. Deux types de signalisation peuvent alors être mis en œuvre :

- des protéines cytoplasmiques à domaine SH2 ou PTB peuvent être phosphorylées et activées par le récepteur au niveau de résidus tyrosine, mettant en œuvre ensuite les actions résultant de leur phosphorylation. Certaines sont des tyrosine kinases cytoplasmiques comme SRC (pour Sarcoma) ou JAK (Janus kinase), des tyrosine phosphatases comme SHP1 (SH2 domain containing phosphatase 1), la phospholipase C gamma (PLC γ).

-des protéines cytoplasmiques adaptatrices, possédant également un domaine de reconnaissance SH2 ou PTB, peuvent être recrutées par l'activation du récepteur, sans phosphorylation

subséquente. Elles aussi sont susceptibles de reconnaître de façon très spécifique les tyrosines phosphates du récepteur activé. Citons comme exemples la protéine GRB2 (Growth factor receptor binding protein 2) qui est une des principales entrées vers la voie des MAP kinases, et la protéine p85 ou PIK3R1 qui ouvre la voie de la phosphatidylinositol 3-kinase dont elle constitue une sous-unité régulatrice.

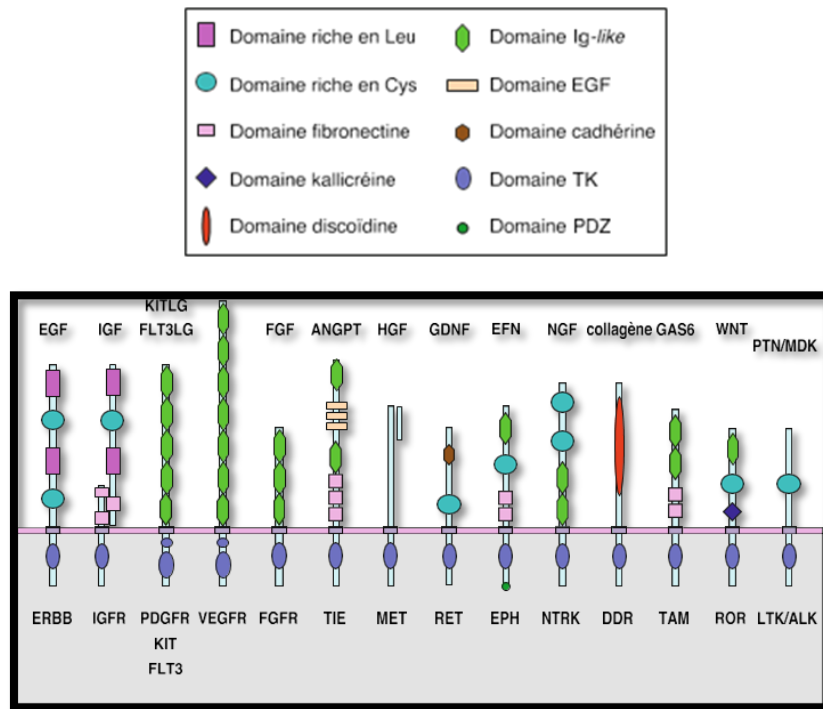


Figure21 :-Les récepteurs à activité tyrosine kinase.

Les noms abrégés des récepteurs sont indiqués en dessous, les noms des ligands au-dessus. Les RTK diffèrent surtout par leur partie extracellulaire, qui contient des domaines protéiques caractéristiques susceptibles de porter des fonctions originales : domaines riches en leucine, domaines riches en cystéine, domaines *immunoglobulin like*, domaines cadhérine, domaines fibronectine III, domaines EGF, etc. La partie intracellulaire contient essentiellement le domaine catalytique, à fonction tyrosine kinase, et dans les cas des récepteurs des éphrines, un domaine PDZ leur conférant des propriétés originales.

1.2.1. La famille de l'EGF (famille ERB-B)

Les facteurs de croissance de la famille de l'EGF sont au nombre de onze, dont l'EGF lui-même, le TGF α (*Transforming growth factor α*), l'amphiréguline (AREG), l'épigène (EPGN), l'épiréguline (EREG), l'HB-EGF (*Heparin-binding EGF*), la β -celluline (BTC) et quatre neurégulines (NRG). Ces facteurs jouent un rôle majeur dans la prolifération de nombreux tissus. L'EGF lui-même est une petite protéine soluble de cinquante-trois acides aminés, avec trois ponts disulfure intrachaine, qui dérive d'une protéine transmembranaire

plus volumineuse de 1 207 acides aminés, contenant une série de motifs EGF identiques, dont le clivage dans l'espace intercellulaire libère le facteur soluble. L'insertion membranaire de l'EGF « natif » lui permet d'agir sur des cellules jointives à celle qui le porte, ce qui explique les phénomènes de juxtacrinie. Les autres facteurs de la famille de l'EGF sont également synthétisés sous forme d'un précurseur transmembranaire, mais ne comprenant qu'un seul motif EGF extracellulaire. Le clivage des précurseurs transmembranaires en facteurs de croissance solubles et diffusibles est réalisé par une métalloprotéinase TACE (*TNF-alpha converting enzyme*) ou ADAM17 (*A disintegrin and metalloproteinase*). Les onze facteurs de croissance sont reconnus par quatre récepteurs distincts (EGFR ou ERBB1, ERBB2, ERBB3, ERBB4). Il existe une combinatoire complexe d'interaction de ces onze facteurs de croissance avec les quatre récepteurs susceptibles de les reconnaître et d'activer par leur liaison une voie de signalisation, dont la première phase est une dimérisation, homogène ou hétérogène, de deux molécules de récepteur.

1.3. Les récepteurs à activité sérine –thréonine kinase (TGF- β)

Le TGF- β doit se lier à un récepteur transmembranaire possédant une activité sérine/thréonine kinase au niveau de sa partie cytoplasmique. La **figure 22** nous montre le TGF- β se liant au récepteur. En fait, il y a deux types de récepteur qui ont été caractérisés, soit le récepteur de type I ou TpR-I et le récepteur de type II ou TpR-II. Ces récepteurs sont composés d'une petite région extracellulaire riche en cystéine et d'un domaine intracellulaire où se situe leur domaine kinase. Le récepteur de type I se distingue du récepteur de type II par le fait qu'il demeure inactif s'il n'est pas phosphorylé ainsi que par la présence d'un domaine GS cytoplasmique (séquence riche en glycine et sérine) qui précède le domaine kinase, alors que le TpR-II possède une activité kinase intrinsèque. Le TGF- β se lie tout d'abord au récepteur de type II, entraînant la reconnaissance et le recrutement du récepteur de type I. Le TpR-I peut alors être activé par la phosphorylation de résidus sérines et thréonines dans son domaine GS. La structure dimérique du TGF- β suggère qu'il fonctionne en associant ensemble une paire de chacun des types de récepteur, entraînant ainsi la formation d'un complexe hétérotétramérique. Les deux chaînes de TpR-II phosphorylent alors les chaînes de TpR-I, qui à leur tour vont phosphoryler leurs substrats.

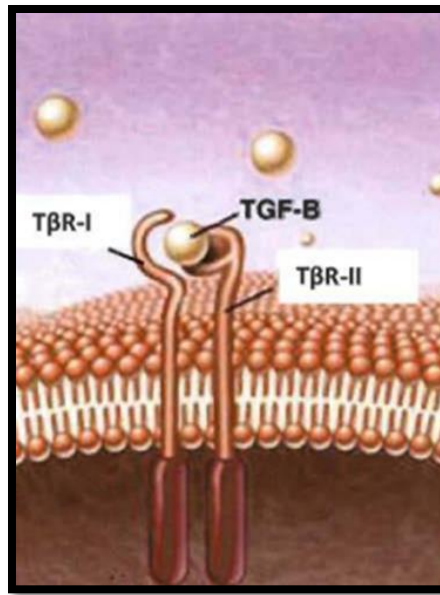


Figure 22 : liaison du TGF-β sur son récepteur

La liaison du TGF-β se fait sur le récepteur de type II, ce qui entraîne le recrutement du récepteur de type I et son activation par la phosphorylation de résidus sérines et thréonines dans son domaine GS.

1.3.1. Signalisation cellulaire activée par le TGF-β

Afin d'activer la voie de signalisation, le ligand doit interagir avec son récepteur spécifique, entraînant la multimérisation des chaînes du récepteur. Les protéines kinases ainsi activées vont, grâce à la phosphorylation, activer certaines protéines cytoplasmiques, permettant l'activation d'une cascade de phosphorylation aboutissant à la propagation et à l'amplification du signal. Dans une même cellule, un même récepteur est en mesure d'activer plusieurs voies de signalisation. La **figure 23** résume l'activation de ces voies en présence de TGF-β.

Le TGF-β se lie à son récepteur de type II, ce qui entraîne la phosphorylation du récepteur de type I sur des résidus spécifiques (sérine et/ou thréonine). Une fois activé, ce dernier va à son tour phosphoryler les protéines Smad2 ou Smad3, entraînant la formation d'un complexe avec la protéine Smad4. Le complexe ainsi formé sera transloqué dans le noyau où il jouera son rôle de facteur de transcription. Le TGF-β peut aussi activer des voies de signalisation Smad-indépendantes telles que les voies de p38 MAPK, ERK 1/2, JNK ainsi que la voie de la PI3K.

Smad4 est une protéine retrouvée dans les cellules de la peau, du pancréas, du colon, de l'utérus et de l'épithélium. Elle se situe dans le cytoplasme de la cellule, et lorsque le complexe R-Smad-Smad4 est formé, il est transloqué dans le noyau où il pourra se lier à l'ADN, soit directement ou en s'associant avec d'autres protéines fixant l'ADN pour jouer son rôle de facteur de transcription. Il est important de noter que Smad4 ne peut être importée dans le noyau que lorsqu'elle est associée aux R-Smads, alors que Smad2 et Smad3 sont importées de façon indépendante de Smad4.

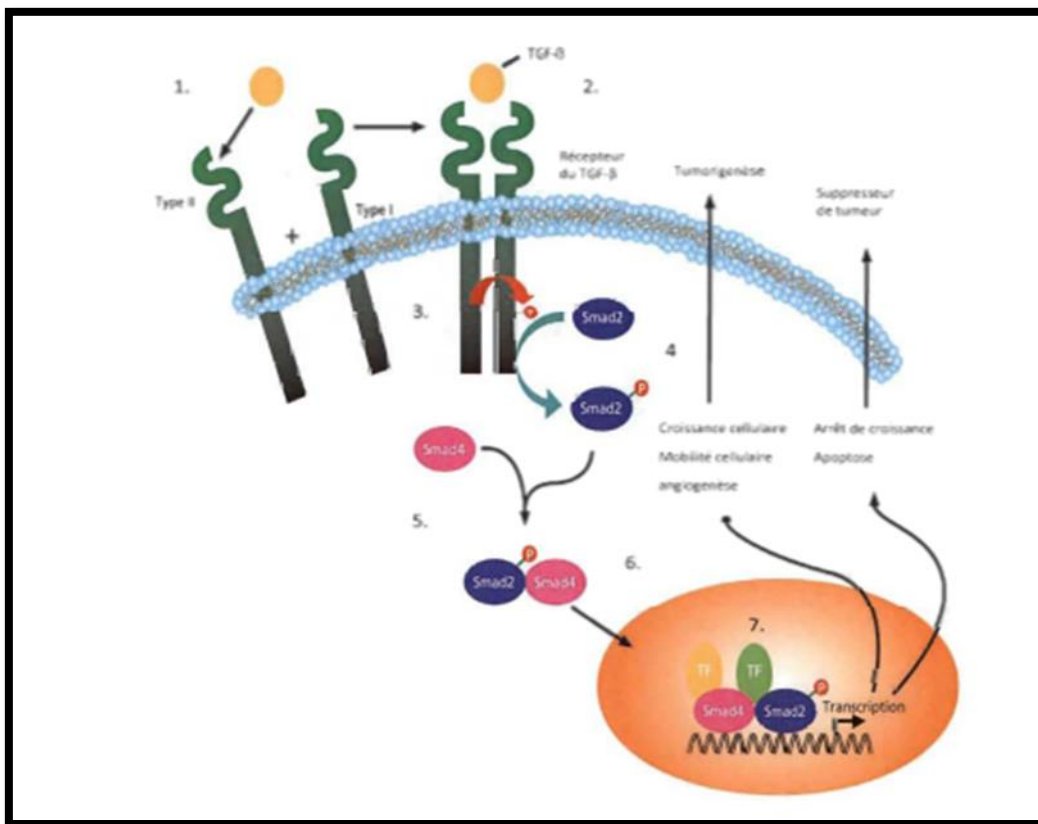


Figure 24 : voie de signalisation des Smads

1) Liaison du TGF- β avec le TpR-II. 2) Formation du complexe TpR-II/TpR-I. 3) Phosphorylation du TpR-I par le TpR-II. 4) Phosphorylation de Smad2 ou Smad3 par TpR-I. 5) Formation d'un complexe Smad2/Smad4 ou Smad3/Smad4. 6) Transport du complexe vers le noyau. 7) Liaison du complexe à l'ADN et début de la transcription.

2.1. Récepteurs des cytokines

Les cytokines règlent la prolifération et la différenciation des cellules hématopoïétiques et notamment la réponse immunitaire. Leurs récepteurs sont composés de chaînes communes et de chaînes spécifiques portant le site de liaison de la cytokine. La fixation d'une cytokine sur

son récepteur entraîne la formation d'un complexe multimérique qui, à son tour, recrute des tyrosines kinases de divers types : des kinases de la famille JAK, qui phosphorylent les facteurs de transcription de type Stat dont les cibles nucléaires sont encore mal connues ; d'autres kinases, dont certaines appartiennent à la famille Src, qui transmettent le signal mitogène en empruntant d'autres voies, en particulier la voie de Ras et des MAP kinases. Le récepteur est généralement lui-même phosphorylé, créant ainsi des points de fixation pour des protéines de transmission à domaine SH2, dont une tyrosine phosphatase qui pourrait être impliquée dans la mise au repos du récepteur.

2.2. Les caractéristiques des cytokines

Les cytokines présentent également d'autres caractéristiques :

- plusieurs cytokines différentes peuvent exercer la même action biologique, il s'agit du phénomène de redondance : l'IL-1 β , le TNF- α et l'IL-32 stimulent les macrophages, APRIL et BAFF permettent la prolifération des LB.
- les cytokines peuvent agir en synergie : ainsi l'IL-4 et l'IL-5 favorisent l'activation des LB et la commutation isotopique.
- les cytokines peuvent également exercer des effets antagonistes : c'est le cas de l'IFN- γ qui bloque l'effet de l'IL-4. La production des cytokines et leur effet pouvant ainsi être modulés (augmentés ou diminués) par d'autres cytokines, ces molécules constituent donc un réseau extrêmement complexe de communication intercellulaire.

2.3. Les types des cytokines

Près de quarante cytokines fonctionnant par activation d'une tyrosine kinase cytoplasmique ont été identifiées et peuvent être réparties en deux types en fonction de leur structure générale et de celle de leurs récepteurs (**Tableau I**).

Le type I, caractérisé par la présence d'une structure à quatre hélices α , peut être subdivisé en plusieurs sous-familles :

- La famille de l'IL2 : IL2, IL4, IL7, IL9, IL15, IL21.
- La famille de l'IL6 : IL6, IL11, IL27, LIF (*Leukemia inhibiting factor*), CNTF (*Ciliary neurotrophic factor*), OSM (*Oncostatin M*).
- La famille du GM-CSF : IL3, IL5, GM-CSF (*Granulocyte-macrophage colony stimulating factor*).
- La famille de l'IL12 (IL12 et IL23).

-La famille des autres facteurs de croissance hématopoïétiques et des hormones : GCSF (*Granulocyte colony stimulating factor*), EPO (érythropoïétine), TPO (thrombopoïétine), hormone de croissance GH (*Growth hormone*), prolactine (PRL) et leptine (LEP ou OBS).

Le **type II** contient les interférons et deux sous-familles d'interleukines, celle de l'IL10 (IL10, IL22, IL26) et celle de l'IL20 (IL19, IL20, IL24).

Tableau I : Les principales cytokines, leurs récepteurs et la voie qu'elles activent en aval.

| Type | Cytokine | Récepteur spécifique | Récepteur associé | Kinase | Facteur de transcription |
|--------------|--|--------------------------|----------------------------|-------------|--------------------------|
| Type I | IL2 | IL2R α/β | IL2R η c (IL2RG) | JAK1 + JAK3 | STAT5 |
| | IL7 | IL7R α | | | |
| | IL9 | IL9R α | | | |
| | IL15 | IL15R α | | | STAT6 |
| | IL4 | IL4R α | | | |
| | IL21 | IL21R α | | | |
| | GM-CSF (CSF2) | GM-CSFR α (CSF2A) | IL3R β c (CSF2RB) | JAK2 | STAT5 |
| | IL3 | IL3R α | | | |
| | IL5 | IL5R α | | | |
| | IL6 | IL6R α | gp130 (IL6ST) | JAK1 | STAT1, 3, 5 |
| | IL11 | IL11R α | | | |
| | CNTF | CNTFR α | | | |
| | LIF | LIFR | | | |
| | OSM | OSMR | | | |
| | IL27 | IL27R α/β | IL12R β 1 | JAK2 + TYK2 | STAT4 |
| | IL12 | IL12R β 2 | | | STAT3 |
| | IL23 | IL23R α | | | |
| | GH | GHR | | JAK2 | STAT5 |
| PRL | PRLR | | | | |
| OBS (LEP) | OBR (LEPR) | | | | |
| EPO | EPOR | | | | |
| TPO | TPOR | | | | |
| G-CSF (CSF3) | G-CSFR (CSF3R) | | | | |
| | | | | | |
| Type II | IFN α , β , ω , τ | IFN α R1 | IFN α R2 | JAK1 + TYK2 | STAT1, 2, 3, 5 |
| | IFN η | IFN η R1 | IFN η R2 | JAK1 + JAK2 | STAT1, 3, 5 |
| | IL10 | IL10R α | IL10R β | JAK1 + TYK2 | |
| | IL22 | IL22R α | | | |
| | IL26 | IL20R α | | | |
| | IL19, 20 | IL20R α | IL20R β | | |
| | IL24 | IL22R α | | | |

2.4. La structure de récepteur de cytokine

Les récepteurs de cytokines sont en général composés de structures oligomériques qui sont des homodimères (c'est-à-dire l'association de 2 structures identiques comme pour les facteurs de croissance) ou des hétérodimères avec une chaîne α et une chaîne β : IL-3, IL-5,

IFNs α/β , ou des hétéro-oligomères avec 2 chaînes α et deux chaînes β : IL-6, IL-11 ou une chaîne α , une chaîne β , et une chaîne γ : IL-2, IL-4, IL-7, IL-9.

2.5. Les récepteurs et l'activation des kinases JAK

Les récepteurs des cytokines sont des protéines membranaires à un seul domaine transmembranaire et ayant leur partie N-terminale du côté extracellulaire. Ils sont caractérisés par la présence de résidus cystéine du côté N-terminal du domaine extracellulaire et d'un motif à deux tryptophanes et deux sérines du côté C-terminal de ce même domaine. La partie intracellulaire ne contient aucun site catalytique mais plusieurs domaines assez conservés, en particulier la *Box 1*, proche du domaine transmembranaire, caractérisée par la présence d'un motif de huit acides aminés, riche en proline, et la *Box 2*, faite d'un groupe d'acides aminés hydrophobes prolongeant l'hélice α du domaine transmembranaire, suivi d'une série d'acides aminés chargés et de résidus tyrosine destinés à recevoir un groupement phosphate.

Les deux « boîtes » sont impliquées dans la liaison du récepteur avec une protéine JAK. Un des récepteurs, le CNTFR, ne contient pas de domaine transmembranaire ni intracellulaire et est fixé à la membrane plasmique par ancrage avec un glycosyl-phosphatidylinositol. Plusieurs récepteurs présentent des formes solubles variantes obtenues par épissage alternatif. C'est le cas des IL4, IL5, IL7, IL9, du LIF, du G-CSF, du CNTF et des hormones GH et PRL. Ces formes solubles agissent comme des transporteurs ou des pièges pour les cytokines. Certains récepteurs sont des récepteurs leurres qui reconnaissent un ligand, mais ne transmettent aucun signal. Les récepteurs des cytokines doivent se dimériser pour activer la voie de signalisation. Les dimères et leur ligand constituent le « complexe de réception » caractéristique du message à transmettre. Ce peut être une hétérodimérisation entre un monomère spécifique du ligand appelé récepteur « de type α » et un monomère commun pour une sous-famille de ligands (récepteur « de type β ou γ »).

Dans le cas de l'homodimérisation des récepteurs, celle-ci est réalisée de façon séquentielle, la cytokine se fixant d'abord sur un récepteur, le changement de conformation permettant ensuite la fixation d'un second récepteur puis l'interaction entre les deux molécules de récepteur. Le phénomène d'hétérodimérisation est complexe et suit divers modèles d'association entre la sous-unité spécifique de type α et la sous-unité commune de type $\beta\gamma$, $\gamma\gamma$ ou gp130.

Les molécules de récepteur sont associées de façon constitutive aux kinases JAK. La dimérisation des récepteurs permet l'activation de ces kinases JAK qui réalisent leur

autophosphorylation croisée, puis la phosphorylation du récepteur au niveau de résidus tyrosine des *Box 1* (**figure 25**). Il existe quatre kinases JAK, nommées JAK1, JAK2, JAK3 et TYK2. L'association entre le récepteur et une kinase JAK se fait selon les modalités présentées dans le tableau I. Certains récepteurs sont associés à deux protéines JAK identiques, JAK1 ou JAK2, d'autres à deux protéines JAK distinctes :

JAK1-JAK2, JAK1-JAK3, JAK1-TYK2 ou JAK2-TYK2. On n'a identifié aucun récepteur associé à deux protéines JAK3 ou TYK2 ou à des combinaisons JAK2-JAK3 ou JAK3-TYK2. L'activité kinase des protéines JAK permet dans un premier temps la phosphorylation du récepteur sur une tyrosine, puis la phosphorylation des facteurs de transcription STAT qui sont recrutés à la membrane grâce à l'existence d'un domaine SH2 de reconnaissance des tyrosines phosphates du récepteur activé.

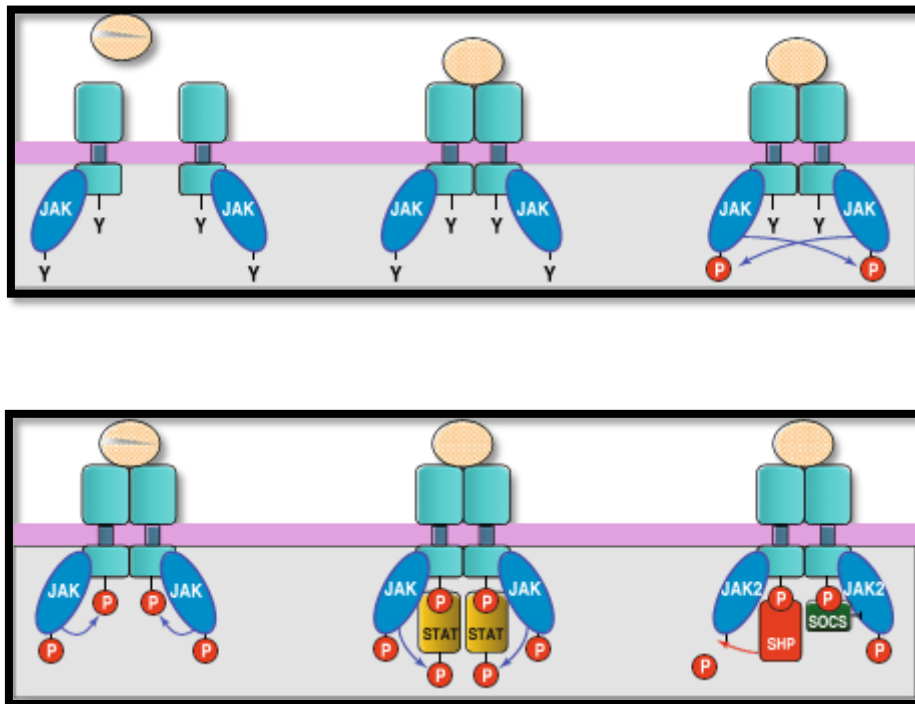


Figure 25 : L'activation des récepteurs des cytokines *via* les kinases JAK.

Les protéines JAK sont associées de façon constitutive aux récepteurs. La reconnaissance d'une cytokine permet la dimérisation du récepteur et l'autophosphorylation croisée des protéines JAK associées. Ces dernières phosphorylent également le récepteur, ce qui permet la reconnaissance de phosphotyrosines par diverses protéines, dont les principales sont les protéines STAT, qui sont phosphorylées par les kinases JAK. La régulation négative de la signalisation est réalisée en particulier par les protéines SOCS qui prennent la place des protéines STAT sur les phosphotyrosines du récepteur et inhibent la kinase JAK, et par les phosphatases SHP qui se lient au récepteur et déphosphorylent les kinases JAK.

2.6. La transmission du signal

Les kinases JAK réalisent donc la phosphorylation de facteurs de transcription de la famille STAT. Il existe sept protéines STAT numérotées STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B et STAT6. L'expression des protéines STAT est ubiquitaire. Elles possèdent un domaine SH2 très conservé qui permet leur recrutement par le récepteur phosphorylé et un résidu tyrosine en C-terminal qui est le site de phosphorylation (**figure 26**).

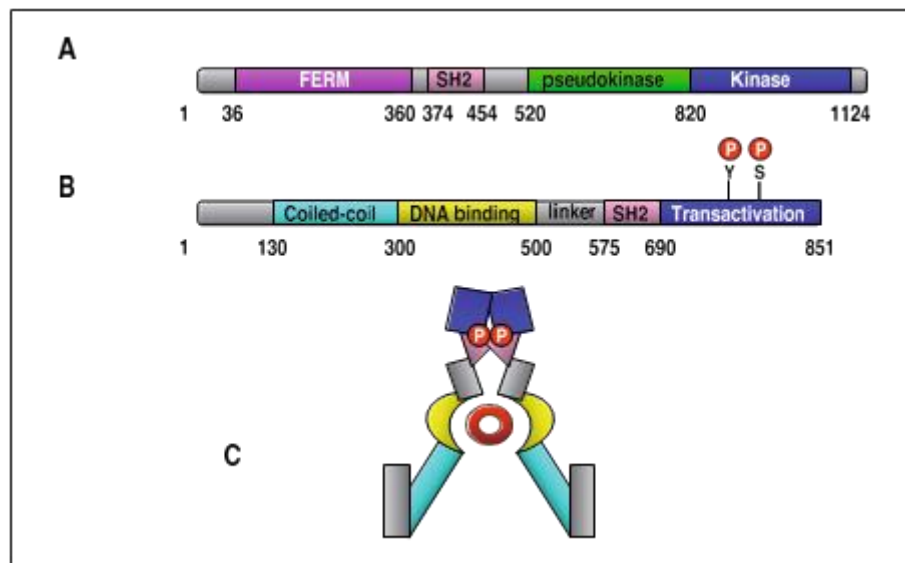


Figure 26 : Structure générale des protéines JAK et STAT.

A. Les protéines JAK possèdent un domaine kinase et un domaine pseudokinase, un domaine SH2 de reconnaissance des phosphotyrosines du récepteur activé, et un domaine FERM (N-terminal) d'interaction avec le récepteur.

B. Les protéines STAT possèdent un domaine de transactivation porteur de la tyrosine phosphorylée par JAK et d'une sérine régulatrice, un domaine SH2 de reconnaissance des phosphotyrosines du récepteur activé, un domaine de liaison à l'ADN et un domaine « *coiled coil* » (c'est-à-dire serpent) en N-terminal.

C. Représentation schématique d'une protéine STAT après dimérisation, d'après les données de cristallographie : les domaines de liaison à l'ADN viennent enserrer une molécule d'ADN (en rouge) ; les domaines SH2 de chaque monomère sont associés à une phosphotyrosine de l'autre monomère.

Cela entraîne la formation d'homodimères ou d'hétérodimères des protéines STAT phosphorylées, grâce aux interactions réciproques entre le domaine SH2 de l'une et la phosphotyrosine de l'autre. Ces dimères migrent alors dans le noyau et reconnaissent les séquences promotrices de gènes cibles, grâce à leur domaine de liaison à l'ADN (**Figure 27**). Une ou plusieurs protéines STAT distinctes peuvent être activées en réponse à la liaison d'un ligand avec un récepteur, selon le contexte cellulaire (type de tissu, état de différenciation, concentration du ligand). Les actions des protéines STAT ne sont pas redondantes : STAT1 est

assez spécifique des IFN, STAT3 est activé de préférence par les cytokines de la famille de l'IL6, STAT4 est activé par l'IL12, STAT6 par l'IL4 et STAT5 par les cytokines des familles de l'IL2, du GM-CSF, des hormones et des facteurs de croissance hématopoïétiques.

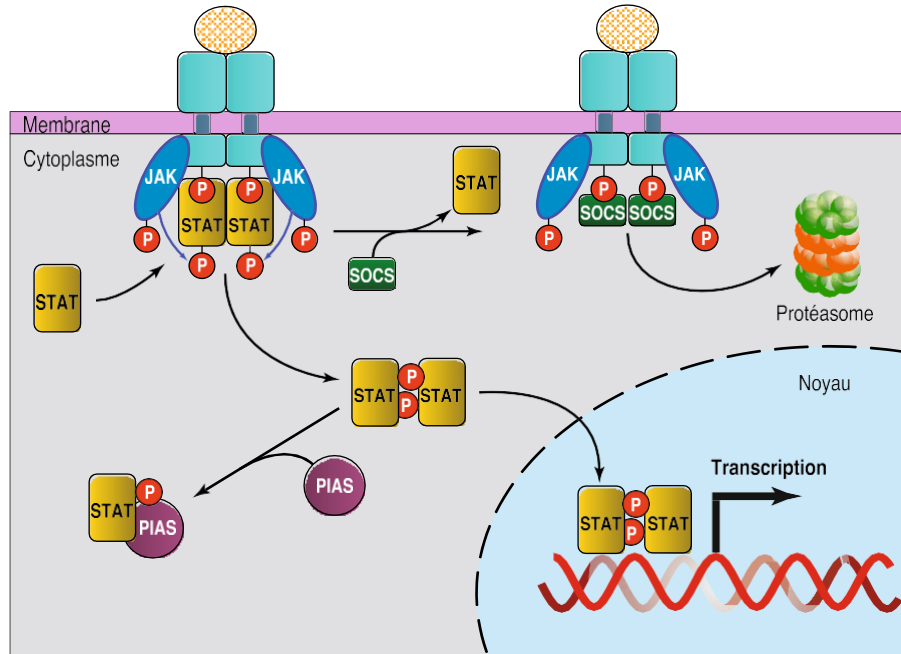


Figure 27 : La voie de signalisation JAK-STAT.

Après phosphorylation, les dimères de protéines STAT migrent vers le noyau où ils reconnaissent des promoteurs de gènes cibles et activent leur transcription. La protéine PIAS peut toutefois se fixer sur STAT et empêcher la dimérisation. Les protéines SOCS inhibent la transmission du signal en se fixant sur le récepteur pour empêcher la fixation et la phosphorylation des protéines STAT ; elles inhibent la kinase JAK et conduisent le complexe de réception vers la dégradation dans le protéasome.

Chapitre 5 : Récepteurs spécifiques de l'antigène

Les antigènes stimulent le système immunitaire parce ce qu'ils se fixent sur des récepteurs spécifiques exprimés à la surface des lymphocytes et des cellules myéloïdes. Ces récepteurs, qui partagent un ensemble de propriétés structurales et fonctionnelles communes, sont appelés immunorécepteurs. Il existe trois types d'immunorécepteurs. Les récepteurs du premier type sont exprimés exclusivement à la surface des lymphocytes B, d'où leur nom *B cell receptor* (BCR). Ils permettent la liaison des antigènes natifs, tels qu'ils se présentent lorsqu'ils pénètrent dans l'organisme. Les récepteurs du deuxième type sont exprimés exclusivement à la surface des lymphocytes T. Ce sont les *T cell receptor* (TCR). Ils se lient à des peptides résultant de la dégradation intracellulaire des antigènes internalisés dans des cellules présentatrices d'antigène, et associés aux molécules d'histocompatibilité exprimées à la surface de ces cellules. C'est l'ensemble peptide/molécule d'histocompatibilité que reconnaît le TCR. Les récepteurs du troisième type ont une expression plus ubiquitaire. Ils ne se lient ni à l'antigène natif ni à ses produits de dégradation, mais aux portions Fc d'anticorps complexes à l'antigène par leurs portions Fab. L'antigène interagit donc avec ces récepteurs de Fc (RFc) par l'intermédiaire des anticorps, sous forme de complexes immuns.

1. Structure des immunorécepteurs

Ils sont constitués de plusieurs sous-unités qui remplissent deux fonctions principales : une sous-unité de reconnaissance qui fixe les ligands extracellulaires et une sous-unité de signalisation qui déclenche les voies d'activation intracytoplasmiques.

1.1. Les sous-unités de reconnaissance

Les sous-unités de reconnaissance des immunorécepteurs sont formées d'un grand domaine extracellulaire et d'un petit domaine intracellulaire. Elles peuvent fixer l'antigène, directement ou indirectement, mais elles ne permettent pas de délivrer de signaux intracellulaires.

La sous-unité de reconnaissance du BCR est une immunoglobuline ancrée dans la membrane plasmique. L'extrémité C-terminale est en effet prolongée par un domaine transmembranaire hydrophobe suivi d'un très court segment intracytoplasmique.

La sous-unité de reconnaissance du TCR est formée par un hétéromère (α/β ou γ/δ) dont chaque chaîne possède un domaine N-terminal variable et un domaine C-terminal constant, suivi d'un domaine transmembranaire et d'un court segment intracytoplasmique.

1.2. Les sous-unités de signalisation

Les sous-unités de signalisation sont formées d'un petit domaine extracellulaire et d'un grand domaine intracellulaire (**Figure 28**). Elles peuvent délivrer des signaux à l'intérieur de la cellule, mais ne peuvent pas reconnaître l'antigène. Elles sont constituées par une ou deux chaînes polypeptidiques transmembranaires reliées par des ponts disulfures.

Elles s'associent aux sous-unités de reconnaissance grâce à des acides aminés chargés situés dans les régions transmembranaires. L'immunoglobuline de surface du BCR est associée à un hétéromère composée d'une chaîne $Ig\alpha$ et d'une chaîne $Ig\beta$. Les chaînes α/β ou γ/δ du TCR sont associées à un homodimère de chaînes ζ et à deux hétéromères, $CD3 \epsilon / \gamma$ et $CD3 \epsilon / \delta$.

Dans le domaine intracytoplasmique de les sous-unités de signalisation un motif d'activation, ce motif est formé d'une double séquence YxxL (ou YxxI), encadrant 6 à 8 acides aminés variables (dans laquelle Y est une tyrosine, L une leucine, I une isoleucine et x une acide amine quelconque). Des expériences de mutation dirigée ont montré l'importance de ce motif consensus dans la capacité du TCR et du BCR à activer les cellules qui les expriment et, particulièrement, des deux tyrosines. Pour cette raison, ce motif a été appelé immunoreceptor tyrosine-based activation motif ou ITAM.

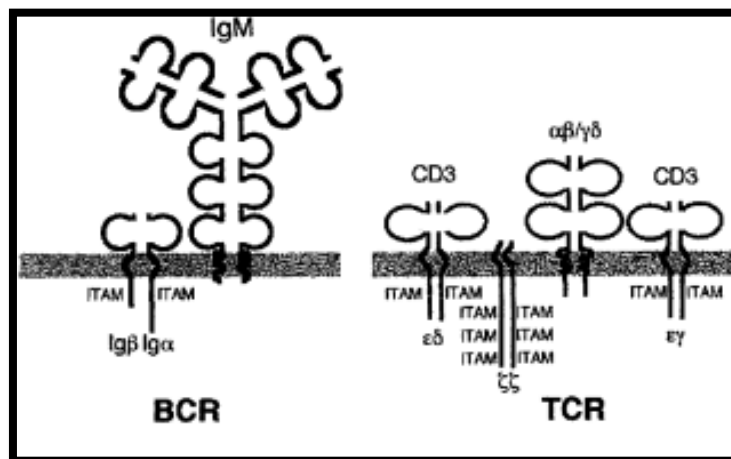


Figure 28 : Structure des immunorécepteurs

Les immunorécepteurs sont constitués d'une sous-unité de reconnaissance et d'une ou plusieurs sous-unités de signalisation. La sous-unité de reconnaissance fixe l'antigène. Les sous-unités de signalisation déclenchent les premiers signaux intracellulaires grâce aux motifs ITAM situés dans leur domaine intracytoplasmique.

2. Signaux délivrés par les immunrécepteurs

Les sous-unités de signalisation sont des éléments moléculaires charnières capables d'interagir avec les sous-unités de reconnaissance des ligands extracellulaires et avec les molécules en amont des cascades d'activation intracellulaire. En effet, un récepteur ne fixe pas seulement des ligands comme le ferait un site de liaison, il transmet des signaux de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule, dans un langage que la cellule peut « comprendre ».

On appelle transduction l'ensemble des mécanismes de transmission et de traduction du signal extracellulaire. La transduction d'un signal nécessite deux conditions :

1-L'antigène, quelle qu'en soit la forme, doit se fixer aux immunrécepteurs.

2-La liaison de l'antigène doit permettre l'agrégation des immunrécepteurs dans le plan de la membrane. Seuls des antigènes multivalents sont en effet capables de délivrer un signal. Selon l'affinité des récepteurs, selon la nature et la conformation des ligands, selon le mode de fonctionnement des récepteurs, les modalités de l'agrégation sont variables mais, d'une façon générale, pour délivrer un signal, les récepteurs s'agrègent, au minimum, ils se dimérisent. Cette règle s'applique aux immunrécepteurs comme à un grand nombre d'autres récepteurs. Les sous-unités de reconnaissance étant associées aux sous-unités de signalisation, l'agrégation des domaines extracellulaires des premières entraîne l'agrégation des domaines intracellulaires des secondes, et permet la transmission du signal à l'intérieur de la cellule.

Parmi les nombreux processus qui contrôlent l'activité cellulaire, la phosphorylation des protéines joue un rôle essentiel. Cette phosphorylation dépend des activités antagonistes de kinases, qui fixent les groupements phosphates, et de phosphatases, qui les hydrolysent. La fixation d'un groupement phosphate crée un site de recrutement pour d'autres protéines. De nombreuses molécules possèdent en effet des domaines capables de reconnaître des sites phosphorylés sur d'autres molécules. La phosphorylation peut ainsi modifier la capacité des protéines à interagir les unes avec les autres et modifier leur localisation à l'intérieur de la cellule. C'est en transformant un signal mécanique, l'agrégation de molécules membranaires, en un signal chimique, la phosphorylation de molécules cytoplasmiques, que les immunrécepteurs transduisent des signaux d'activation.

La transduction des signaux par les immunrécepteurs procède en trois temps. Dans un premier temps, les tyrosines des ITAMs portées par les sous-unités de signalisation agrégées sont phosphorylées par des kinases. Ces kinases appartiennent à la famille des kinases src (du nom

du premier oncogène viral décrit v-src, responsable du sarcome de Roux, et dont le proto-oncogène code pour la kinase src, Ce sont des protéines tyrosine kinases (PTK), c'est-à-dire qu'elles Phosphorylent des protéines sur un résidu tyrosine). Dans un deuxième temps, les tyrosines phosphorylées des ITAMs offrent des sites de recrutement à d'autres kinases. Ces kinases appartiennent à la famille des kinases syk. Ainsi recrutées par les ITAMs, les kinases syk s'autophosphorylent et/ou sont phosphorylées par des kinases src, puis phosphorylent à leur tour des molécules dépourvues d'activité catalytique qu'on appelle molécules adaptatrices. Dans un troisième temps, ces molécules adaptatrices recrutent d'autres molécules qui sont phosphorylées par une kinase syk. Ces molécules sont à l'origine de voies métaboliques qui propagent les signaux dans les cellules et conduisent à l'activation cellulaire. **(Figure 29).**

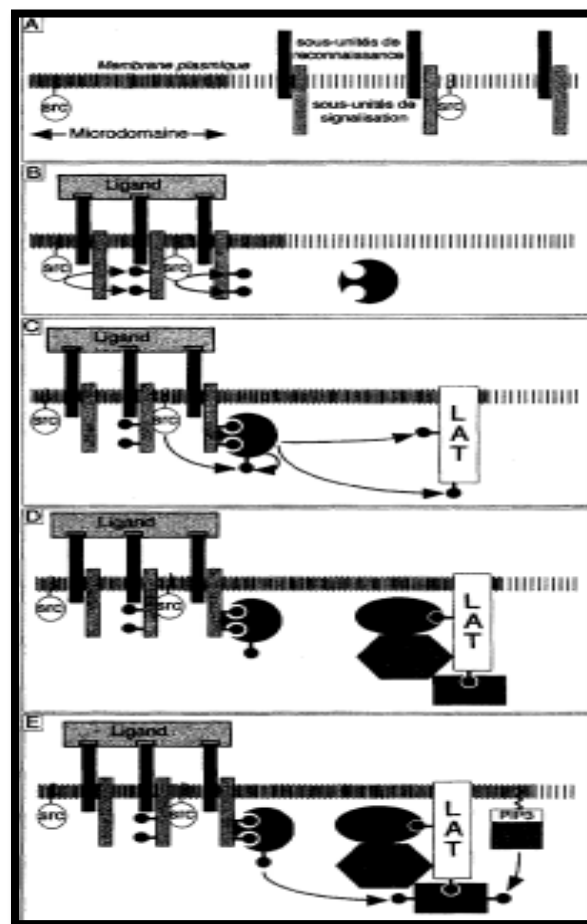


Figure 29 : Modèle de transduction du signal induit par les immunorécepteurs

A) Les kinases src sont ancrées dans les microdomaines ou sont associées aux sous unités de signalisation des immunorécepteurs. Les immunorécepteurs non agrégés sont situés en dehors des microdomaines.

B) L'agrégation des immunorécepteurs leur permet d'entrer dans les microdomaines où leurs ITAMs sont phosphorylés par les kinases src. **C)** Les kinases syk, recrutés par les ITAMs phosphorylés, sont phosphorylés et activés, et phosphorylent la protéine adaptatrice LAT.

D) LAT recrute Grb2, SLP-76 et la PLC γ 1. E) La PLC γ 1 est phosphorylée et activée par les kinases syk et par les kinases Btk et Itk.

3. Propagation intracellulaire des signaux d'activation

L'agrégation des immunrécepteurs par les antigènes déclenche donc une série d'évènements de phosphorylation qui permettent le recrutement et l'activation de protéines tyrosines kinases et de molécules adaptatrices. Ensemble, ces molécules mettent en activité des voies métaboliques qui conduisent à l'activation cellulaire, On peut schématiquement distinguer deux grandes voies :

- La voie calcique qui déclenche des vagues de calcium (Ca^{2+}) à l'intérieur de la cellule.
- La voie Ras qui aboutit à l'activation de kinases appelées les MAPK (mitogen-activated protein kinases).

3.1. La voie calcique

Les PLC γ sont à l'origine de la réponse calcique. Une fois fixées sur SLP- 65 ou sur LAT, elles sont phosphorylées par des kinases syk et par deux autres protéines tyrosine kinases : Btk (Bruton's tyrosine kinase) qui active la PLC γ 2 dans les lymphocytes B ou la PLC γ 1 dans les mastocytes et Itk (inducible T cell kinase) qui active la PLC γ 1 dans les lymphocytes T. Ces kinases sont transloquées à la membrane par l'intermédiaire d'un domaine appelé pleckstrin homology domain (domaine PH), qui possède une affinité pour les molécules de phosphatidylinositol (3,4,5)-tri-phosphate (PIP3) présentes dans le feuillet interne de la membrane plasmique. Cette translocation est essentielle pour permettre aux kinases de la famille src de phosphoryler et d'activer Btk et Itk. Une fois activées, elles peuvent phosphoryler et activer les PLC γ .

Les PLC γ 1 et 2 dégradent le phosphatidylinositol (4,5)-bi-phosphate (PIP2) en diacylglycerol et en différents inositolphosphates, dont le principal est l'inositol(1,4,5)-tri-phosphate (IP3). L'IP3 se fixe sur des récepteurs spécifiques présents sur la face cytoplasmique du réticulum endoplasmique. La liaison de l'IP3 à ces récepteurs stimule la sortie transitoire du Ca^{2+} hors du réticulum. Des mécanismes complexes de régulation de la sensibilité des récepteurs d'IP3, qui font sortir le Ca^{2+} , et des pompes à Ca^{2+} , qui le font rentrer dans le réticulum, engendrent des oscillations caractéristiques dont la fréquence et l'amplitude peuvent constituer des signaux. La sortie du Ca^{2+} hors du réticulum induit, par un mécanisme mal élucidé, l'ouverture de canaux calciques sur la membrane cytoplasmique et, en conséquence, une entrée du calcium

extracellulaire. Dans le cytosol, l'accroissement de la concentration de Ca^{2+} stimule les activités de nombreuses protéines comme la calmoduline et la calcineurine. La fixation du Ca^{2+} sur la calmoduline permet à celle-ci de changer de conformation et de se fixer sur la calcineurine. L'activité phosphatase de la calcineurine est alors stimulée, ce qui lui permet de déphosphoryler le facteur de transcription NF-AT (nuclear factor-activated Tcells) qui peut ainsi passer la membrane nucléaire et activer la transcription des gènes de cytokines (**Figure 30**).

3.2. La voie Ras

Les protéines Ras font partie d'une famille de petites GTP-ases intracellulaires de 21 kDa, ancrées dans la membrane plasmique par leur extrémité C-terminale. Elles existent sous deux formes : une forme inactive, liée au GDP (guanosine diphosphate), et une forme active, liée au GTP (guanosine triphosphate). Le passage d'une forme à l'autre est contrôlée par des facteurs d'échange, qui remplacent la molécule de GDP par une molécule de GTP, ou par des protéines GAP, qui stimulent l'activité GTPase autocatalytique des protéines Ras et permettent la déphosphorylation du GTP associé en GDP.

Grb2 joue un rôle essentiel dans l'activation de la voie Ras. Une fois recrutée à la membrane, Grb2 permet le recrutement d'un facteur d'échange appelé SOS (son of sevenless). SOS active les protéines Ras qui déclenchent l'activation en cascade de kinases dont les substrats terminaux sont les MAPK. Celles-ci peuvent alors entrer dans le noyau où elles activent des facteurs de transcription qui induisent l'expression de gènes de cytokines ou de molécules contrôlant la prolifération cellulaire (**Figure 30**).

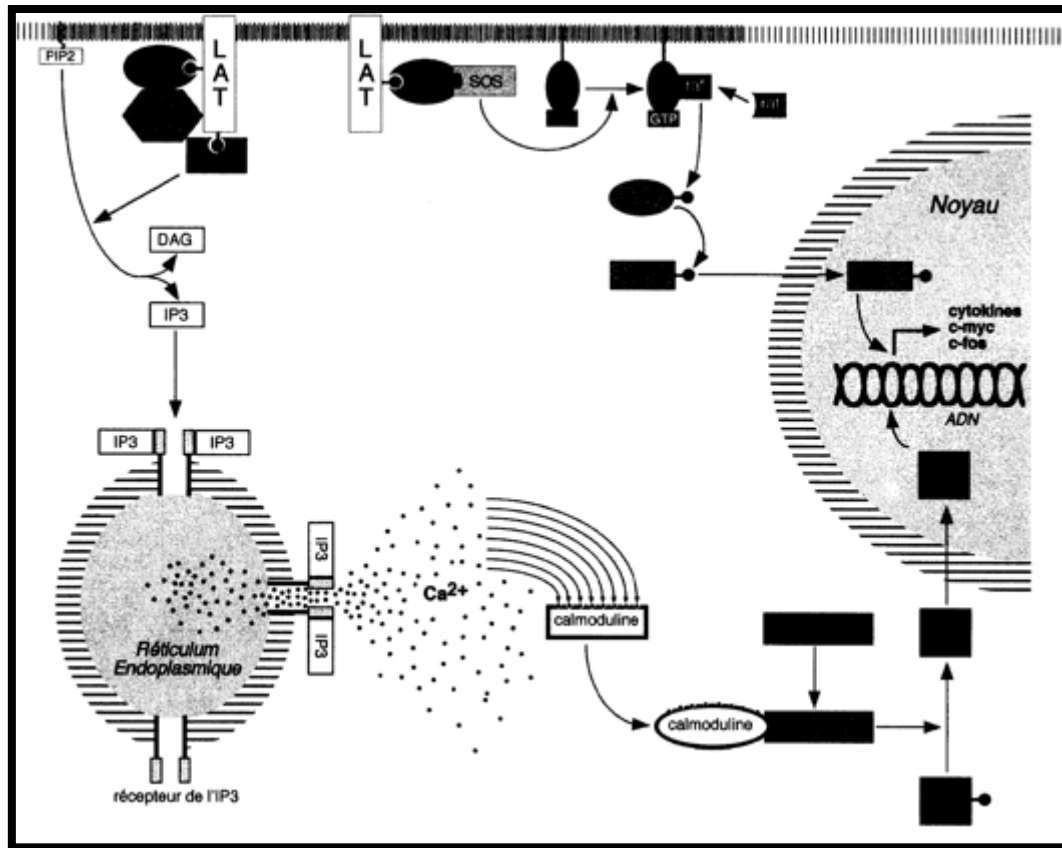


Figure 30 : la voie calcique et la voie Ras

La voie calcique : la PLC γ 1 activée transforme le PIP2 en DAG et en IP3. L'IP3 se fixe sur des récepteurs spécifiques situés à la surface du réticulum endoplasmique, et déclenche la libération du calcium dans le cytoplasme. La calmoduline fixe du calcium, change de conformation, et stimule l'activité phosphatase de la calcineurine qui déphosphoryle NF-AT. NF-AT peut alors entrer dans le noyau et activer la transcription des gènes de cytokines.

La voie Ras : la protéine adaptatrice Grb2 recrute sos qui échange une molécule de GDP par une molécule de GTP sur ras. La protéine ras-GTP recrute raf et l'active. Raf phosphoryle et active la protéine MEK qui elle-même phosphoryle et active les MAPK. Ces dernières peuvent alors entrer dans le noyau et activer la transcription de gènes codant pour des facteurs de transcription impliqués dans les mécanismes de prolifération et de différenciation cellulaires.

Chapitre 6 : L'adhérence cellulaire et Jonctions intermédiaires

L'adhérence cellulaire est une fonction indispensable que les organismes supérieurs ont acquis afin de permettre la formation de tissus, organes et systèmes qui s'efforcent de satisfaire les fonctions physiologiques nécessaires à la survie de l'individu. L'adhérence cellulaire est permise d'une part grâce à la présence d'une matrice extracellulaire (adhérence indirecte) et d'autre part par la formation d'adhérence directe par la présence de molécules d'adhérence au sein des membranes plasmiques.

1. Différents modes d'adhérence intercellulaire

Il existe différents modes d'adhérence intercellulaire, selon :

A- le type de molécule :

- molécules d'adhérence identiques = liaison homophile
- molécules d'adhérence différentes = liaison hétérophile

B- le type de cellule :

- cellules liées sont identiques = liaison homotypique
- cellules différentes = liaison hétérotypique

2. Les molécules d'adhérence

Parmi les molécules d'adhérence on trouve les CAM (pour Cell Adhesion Molecules) qui permettent l'interaction cellule-cellule et les SAM (pour Substrate Adhesion Molecules) qui permettent l'interaction cellule-matrice extracellulaire. Ces interactions peuvent être homophile, c'est-à-dire qu'il y a interaction entre deux mêmes protéines, et hétérophile, c'est-à-dire qu'il y a interaction entre deux protéines différentes.

2.1. Protéines d'adhésion apparentées aux immunoglobulines

Les CAM (*cell adhesion molecule*) sont apparentées aux immunoglobulines dans leur partie N-terminale extracellulaire. Elles établissent surtout des interactions homophiles mais également avec des intégrines ou avec la matrice extracellulaire (MEC). C'est essentiellement le niveau d'expression de chacune des CAM (N-CAM, I-CAM, ELAM, etc.) et de leurs isoformes respectives qui détermine la nature et la solidité de l'association entre cellules

voisines sans provoquer directement de réponses cellulaires car, du côté intracellulaire, les CAM ne semblent connectées à aucune voie de signalisation.

2.2. Cadhérines

Les cadhérines sont des protéines transmembranaires impliquées de manière très importante dans les interactions directes entre cellules. Ces protéines établissent essentiellement des interactions intercellulaires homophiles entre cadhérines du même type (**figure 31**) et semblent principalement connectées, du côté intracellulaire, aux microfilaments d'actine et aux filaments intermédiaires du cytosquelette au travers des caténines, en particulier la β -caténine. Plus de 70 cadhérines sont déjà connues chez les mammifères pour seulement 18 chez le nématode *C. elegans*. Une hypothèse est qu'un grand nombre de cadhérines serait nécessaire à la complexité des interactions cellule-cellule du système nerveux des mammifères. Par ailleurs, on observe une expression réduite de certaines cadhérines dans les cellules néoplasiques qui pourrait être responsable de leur faible adhésion et de leur dissémination conduisant à des métastases. Le mécanisme impliquerait la β -caténine. En effet, cette dernière est à la fois un coactivateur transcriptionnel de la voie Wnt et un composant du pontage entre les cadhérines et les filaments d'actine. Ainsi, la séquestration de la β -caténine par les cadhérines l' α -caténine au niveau des jonctions intercellulaire lors des contacts entre cellules diminue la concentration de β -caténine disponible pour la voie Wnt et donc la prolifération cellulaire. Cette balance des deux rôles de la β -caténine explique, au moins en partie, l'inhibition de contact de la prolifération cellulaire.

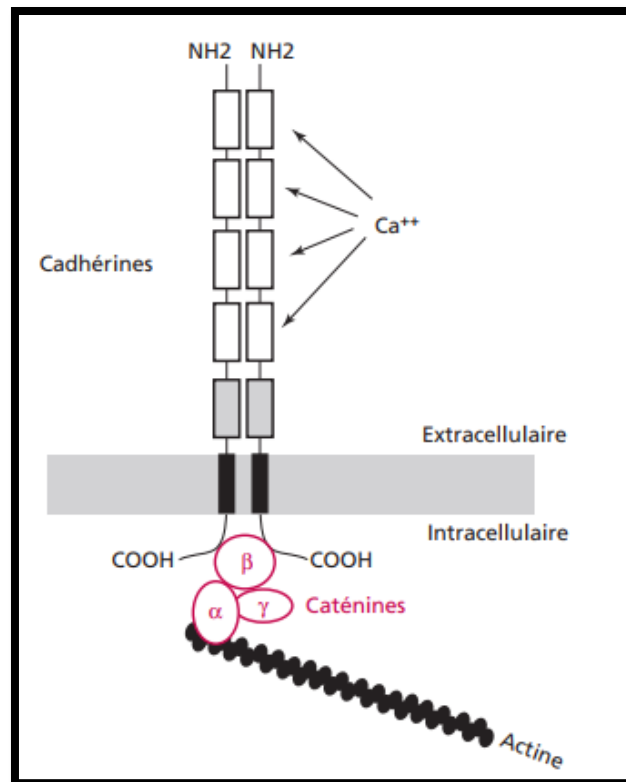


Figure 31 : Cadhérines et caténines. Ensemble, ces protéines assurent un continuum entre les cytosquelettes de cellules voisines en interaction.

2.3. Sélectines

Les sélectines sont des protéines d'adhésion, actuellement connues que dans le système circulatoire des vertébrés (endothélium vasculaire et cellules sanguines) et qui interagissent avec des motifs saccharidiques des protéines membranaires hyperglycosylées. Ces interactions des sélectines avec leurs ligands jouent un rôle crucial dans l'adhésion initiale des leucocytes à l'endothélium. Secondairement, leur coopération avec des intégrines et des immunoglobulines membranaires va conduire à un ciblage plus précis de l'action du leucocyte au cours de l'inflammation. Les sélectines paraissent donc spécifiques du système immunitaire acquis, spécifique des vertébrés.

2.4. Intégrines

La famille des intégrines compte une vingtaine de membres dont la fonction majeure est de connecter, physiquement et fonctionnellement, le cytosquelette des cellules aux protéines extracellulaires d'adhésion de la matrice extracellulaire. Une très courte séquence Arg-Gly-Asp (RGD dans le code à une lettre) constitue un motif fonctionnellement important dans les protéines de la MEC (fibronectines, laminines, collagènes...) pour leur liaison aux intégrines.

Les intégrines sont des hétérodimères membranaires $\alpha\beta$ et les 24 assortiments connus des sous-unités (18 α et 8 β) dans les hétérodimères confèrent à chacune ses propriétés particulières de liaison (**Figure 32**). Les dix-huit chaînes α et les huit chaînes β peuvent s'assembler de diverses façons pour former les 24 intégrines. Certaines intégrines sont spécifiquement leucocytaires et servent de récepteurs aux immunoglobulines. Certaines intégrines α ont un domaine d'interaction avec la matrice extracellulaire, d'autres n'en ont pas et la signalisation s'opère exclusivement par le domaine d'interaction de la chaîne β .

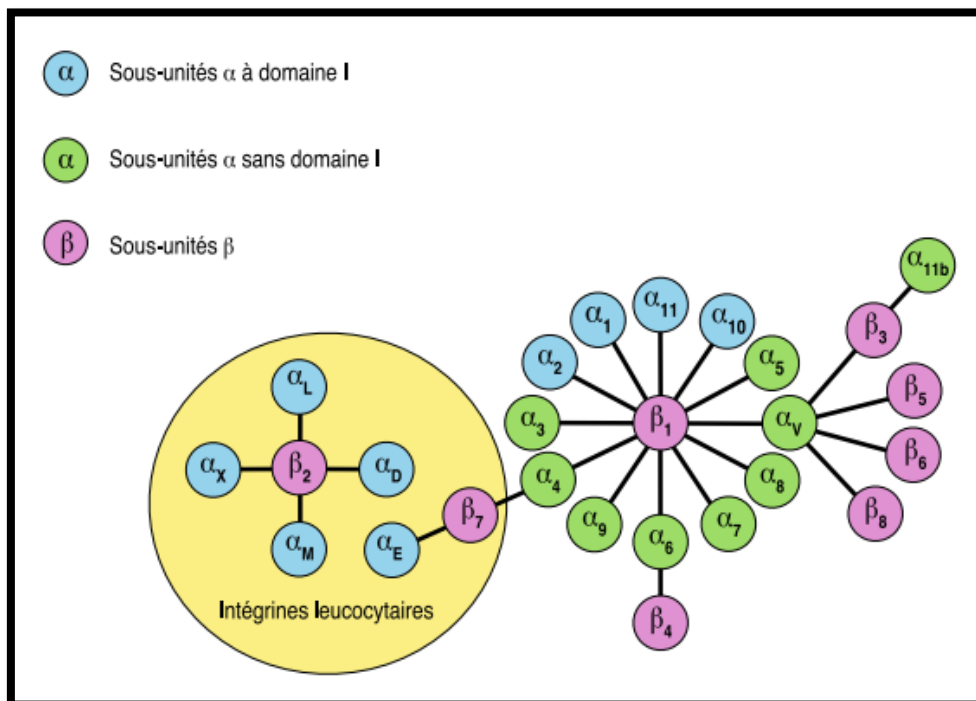


Figure 32 : Assemblage des intégrines à partir de leurs sous-unités α et β .

L'intégrine (inactive) sous sa conformation de faible affinité est fléchée, la sous-unité α recouvrant la sous-unité β . Le domaine extracellulaire est composé de (**Figure 33**) :

- la chaîne α , formée par les domaines : *Calf-2*, *Calf-1*, *Thigh* et *β -propeller*, porteur d'un domaine I.
- la chaîne β , formée par les domaines : β -TD, E4, E3, E2, E1 ainsi que le domaine Hybride porteur d'un domaine *I-like*. Les jonctions *Calf-1/Thigh* ainsi que E2-E1/Hybride sont flexibles. Ceci permet à l'intégrine de se redresser lors de son activation. Le domaine intracellulaire est court et porteur de plusieurs sites d'interaction avec des composants cytoplasmiques.

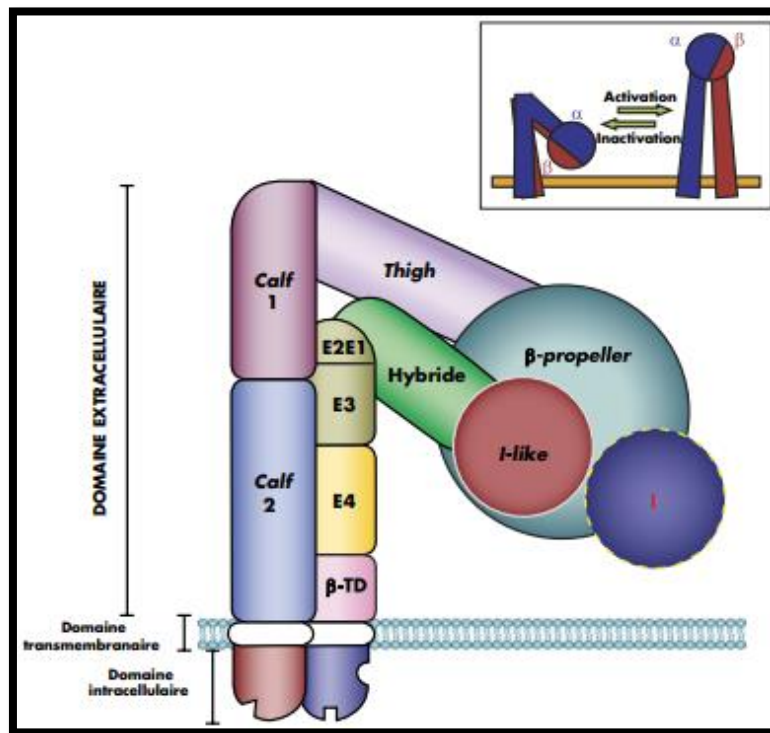


Figure 33. Structure de l'intégrine.

Dans la **Figure 34** est représenté un contact focal (*Focal adhesion*), montrant l'association entre matrice extracellulaire (ECM) et cytosquelette d'actomyosine (ACT/MY), *via* l'assemblage entre intégrines et protéines intracellulaires associées, dont seules quelques-unes sont représentées (parvine, paxilline, cofiline, taline, actinine). Deux voies de signalisation au départ des intégrines sont représentées (**Figure 34**):

-L'ILK (*Integrin-linked kinase*), recrutée par exemple par la PI3 kinase, phosphoryle la sous-unité β des intégrines ainsi que certaines protéines des contacts focaux ; elle active également les facteurs d'échange GEF de petites protéines G de la famille RHO, comme CDC42 et RAC1 qui, une fois activées, peuvent activer à leur tour des kinases comme PAK qui interviennent directement sur le cytosquelette.

-La FAK (*Focal adhesion kinase*), recrutée par activation des intégrines, phosphoryle des protéines des contacts focaux, ainsi que des kinases cytoplasmiques de la famille SRC (SFK) ; des protéines adaptatrices sont capables d'activer les voies de prolifération comme la voie AKT et la voie de MAP kinases. La FAK active également, *via* un GEF, des petites protéines G de la famille RHO qui, une fois activées, peuvent activer à leur tour des kinases comme ROCK (*RHO-activated kinase*) capables d'agir directement sur le cytosquelette.

Certaines intégrines sont capables d'induire l'apoptose lorsqu'elles ne sont pas liées à leur ligand matriciel extracellulaire. Elles se comportent ainsi comme de véritables « récepteurs à dépendance » (chapitre 18). Ce mécanisme appelé IMD (*Integrin-mediated death*) passe par l'activation de la caspase 8. Ce mécanisme de mort cellulaire induite par les intégrines non liées à la matrice peut être annulé par le recrutement de tyrosine kinases cytoplasmiques de la famille SRC (SFK) qui induisent la prolifération et la survie cellulaires par l'activation des facteurs de transcription qu'elles sont susceptibles d'activer

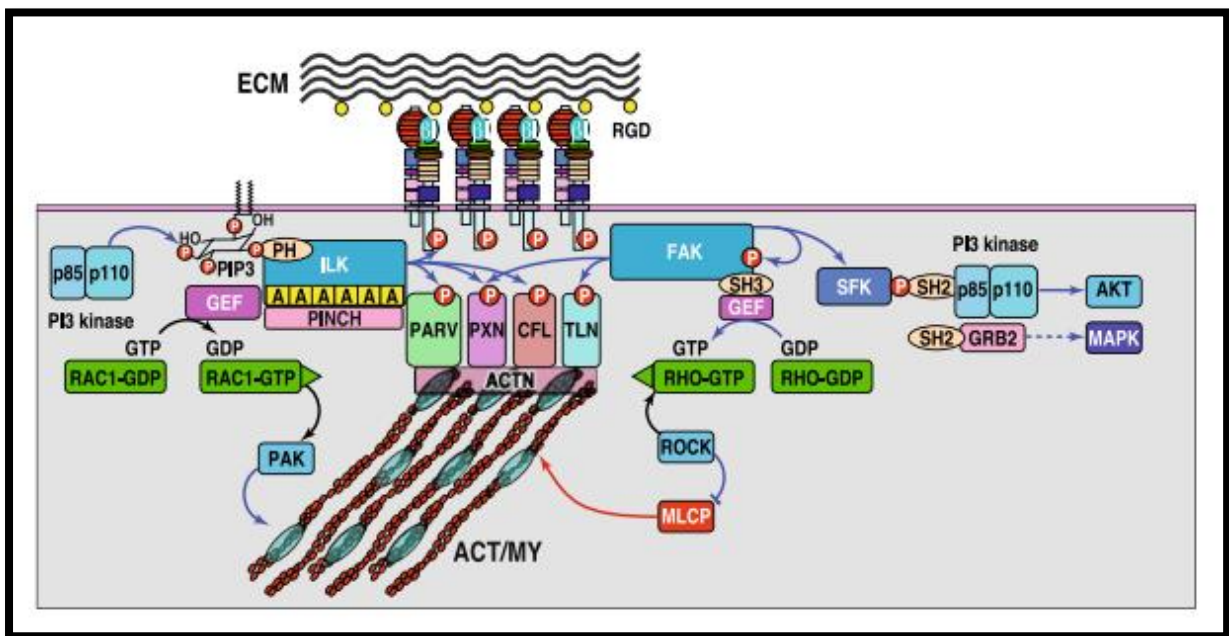


Figure 34 : Voies de signalisation activées par les intégrines.

3. Les jonctions intercellulaires et jonctions cellules-matrice extracellulaire

Les jonctions intercellulaires Au sein d'un épithélium, la cohésion des cellules épithéliales est assurée par des jonctions intercellulaires. Leur rôle est de protéger l'organisme de l'environnement extérieur. Au niveau moléculaire, ce sont des zones de différenciation de la membrane plasmique assurant des interactions entre le cytosquelette et la membrane plasmique. Trois types de jonctions sont principalement distingués : les jonctions serrées (ou «zonula occludens»), les jonctions adhérentes (ou «zonula adherens») et les desmosomes. La présence de protéines de signalisation dans ces structures permet l'intégration de signaux provenant de l'extérieur de la cellule jusqu'au noyau des cellules afin de répondre de manière adéquate à d'éventuelles modifications de l'environnement cellulaire. En effet, les jonctions intercellulaires sont des structures dynamiques capables de se modifier au cours d'évènements

normaux (comme le développement, la cicatrisation) ou de phénomènes pathologiques (comme la progression tumorale).

3.1. Les jonctions serrées

Les jonctions serrées sont situées dans les épithélia au pôle apical des cellules où elles forment une barrière physique en délimitant les régions apicales et baso-latérales des cellules qui diffèrent dans leur composition lipidique et protéique. Deux fonctions majeures sont attribuées aux jonctions serrées. Elles régulent le passage des ions et des molécules à travers la voie paracellulaire. Elles sont également impliquées dans le maintien de la polarité cellulaire en séparant le pôle apical du pôle basolatéral prévenant ainsi la diffusion des molécules membranaires entre ces deux pôles dont la composition diffère de manière importante. Ces jonctions sont composées de protéines transmembranaires (occludine, claudines,...) reliées au cytosquelette d'actine par des protéines cytoplasmiques sousmembranaires (Zonula Occludens ou ZO, PAR-3, ...). Plusieurs études ont mis en évidence la complexité des jonctions serrées et montrent que plusieurs protéines participent à la transduction de signaux impliqués dans la prolifération cellulaire, la différenciation et l'expression de gènes.

3.2. Les jonctions adhérentes

Les jonctions adhérentes forment un réseau de protéines transmembranaires s'associant les unes aux autres entre les cellules et s'ancrant au cytosquelette d'actine par des intermédiaires moléculaires cytoplasmiques. Ce type de jonction est retrouvé à proximité du pôle apical des cellules épithéliales polarisées. Au niveau moléculaire, elles sont le plus classiquement formées de la cadhérine-E, une protéine transmembranaire, reliée au réseau d'actine via des protéines cytoplasmiques juxta-membranaires dont les caténines (α , β , γ et p120) et ARVCF (Armadillo Repeat gene deleted in Velo Cardio Facial syndrome) (Figure 8). Ainsi les jonctions adhérentes, dont l'organisation est dépendante de la présence de calcium, sont responsables des forces de cohésion entre les cellules et maintiennent l'intégrité de l'épithélium (Wheelock et Johnson 2003)

Les jonctions adhérentes sont aussi formées par un autre type de complexe : le complexe nectine/afadine. La nectine appartient à la famille des immunoglobulines et est reliée au cytosquelette d'actine par l'intermédiaire de l'afadine/AF6. Ce complexe peut également interagir de façon indirecte avec le complexe cadhérineE/caténine- β via une liaison à la ponsine, elle-même reliée à la vinculine. Dans les jonctions adhérentes, la caténine- β lie le domaine cytoplasmique de la cadhérine-E. Ainsi, la perte d'expression de la cadhérine-E permet la

libération de la caténine β . La dissociation de ces complexes au niveau des jonctions adhérentes entraîne des cascades de signalisation qui aboutissent à la régulation de gènes impliqués dans la progression tumorale. L'implication de la caténine- β a notamment été décrite dans ces mécanismes.

Le rôle de la caténine- β diffère suivant sa localisation cellulaire et dépend également de ses interactions avec de nombreux partenaires moléculaires. Au niveau membranaire, la caténine- β lie le domaine cytoplasmique de la cadhérine-E et interagit également avec la caténine- α dans les jonctions adhérentes participant ainsi à l'adhérence cellulaire. Dans le cytoplasme, la caténine- β forme un complexe avec la protéine APC (Adenomatous Polyposis Coli) et l'axine. Ce complexe recrute ensuite la CK1 (Casein Kinase 1) et la GSK3 β (Glycogen Synthase Kinase 3 β) et favorise la phosphorylation de la caténine- β cytosolique en N-terminal conduisant à son ubiquitination puis à sa dégradation par le protéasome.

4. La voie de la β -caténine

La β -caténine (CTNNB) est une molécule impliquée à la fois dans l'adhésion cellulaire et dans la signalisation. Dans sa première fonction, elle est liée, dans le cytoplasme, au cytosquelette d'actine *via* une molécule d' α -caténine et, au niveau extracellulaire, aux structures jonctionnelles de l'E-cadhérine (CDH1). Elle joue donc un rôle majeur dans les jonctions intercellulaires des tissus épithéliaux et dans le maintien de l'architecture tissulaire. La β -caténine libre cytoplasmique, en équilibre avec la β -caténine liée au niveau des jonctions intercellulaires, est maintenue inactive, en absence de signal WNT (Ligands reconnus par des récepteurs FZD (Frizzled)), grâce à sa phosphorylation qui la conduit à sa destruction dans le protéasome. Cette phosphorylation est assurée au sein d'un complexe de dégradation dans lequel interviennent des protéines adaptatrices, axine et APC (*Adenomatous polyposis coli*), et deux sérine/thréonine kinases, la caséine kinase 1 (CK1 α) et la glycogène synthase kinase 3 β (GSK3 β), qui phosphorylent la β -caténine sur des sites distincts. La phosphorylation de la β -caténine lui permet d'être reconnue par une protéine β -TRCP (*Transducing repeat containing protein*) qui n'est autre que son ubiquitine ligase E3 qui la conduit donc à la destruction dans le protéasome (**figure 35-A**). L'activation de DVL, sans doute *via* une protéine G hétérotrimérique, et faisant suite à l'activation d'un récepteur FZD, entraîne la phosphorylation du corécepteur LRP5/6, sur un motif PPPSPXS, par une caséine kinase membranaire (CK1 γ) et par la glycogène synthase kinase 3 β (GSK3 β), dont la fonction de phosphorylation de la β -caténine est inhibée (**figure 35-B**). C'est cette phosphorylation qui crée un signal d'appel

pour la relocalisation de l'axine à la membrane, libérant ainsi la β -caténine du complexe cytoplasmique qui entraînait jusque-là sa destruction, en absence d'activation du récepteur. Cette voie Wnt dite canonique semble le plus souvent activée après intervention de ligands WNT précis, comme WNT1, WNT3a ou WNT8. La β -caténine libre, non phosphorylée, peut alors entrer dans le noyau. Elle pourra déplacer un facteur de transcription de la famille TCF-LEF (*T-cell factor/lymphoid enhancer factor*) de ses sites de reconnaissance sur l'ADN et déclencher ainsi la transcription de gènes jusque-là réprimés (**Figure 35-B**). Parmi les gènes transcrits, on peut citer le gène *MYC* dont le rôle activateur de la transcription est bien connu, et le gène de la cycline D1 (*CCND1*), impliqué dans la mise en route du cycle cellulaire. Lorsqu'elle ressort du noyau, la β -caténine est reprise en charge par APC et, en absence d'un nouveau signal WNT, réintroduite dans un complexe de destruction. D'autres systèmes semblent capables d'activer la voie de la β -caténine de façon indirecte, en induisant, par phosphorylation sur une tyrosine, la rupture de la liaison β -caténine – E-cadhérine et l'augmentation de la disponibilité en β -caténine cytoplasmique pour entrer dans le noyau : ce sont des récepteurs à activité tyrosine kinase comme l'EGFR, ERBB2 ou MET.

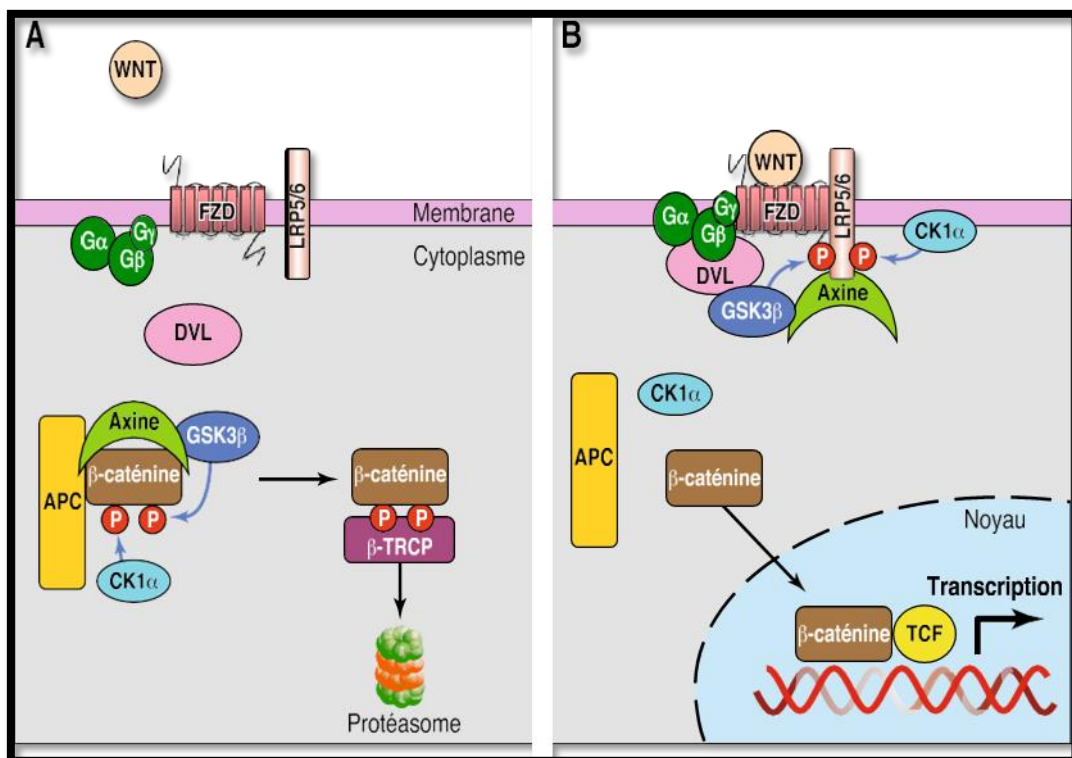


Figure 35 : La voie Wnt- β -caténine.

Chapitre 7 : Récepteur de l'insuline

1. Structure de récepteur de l'insuline

Les effets de l'insuline sont transmis par un récepteur hétérotétramérique composé de deux sous-unités extracellulaires et deux sous-unités transmembranaires associées par des ponts disulfures (**figure 36**).

Chaque sous-unité α possède un domaine complet de liaison de l'hormone situé de part et d'autre d'une séquence riche en cystéines permettant l'établissement de ponts disulfure

structurant ce domaine. Cependant, une seule molécule d'insuline, en se liant avec une haute affinité sur les deux sous-unités α , va permettre d'activer complètement le récepteur. Les sites vacants ne peuvent alors être occupés qu'avec une basse affinité par une autre molécule d'insuline, du fait de l'encombrement stérique du domaine de liaison par la première molécule, et ne participent pas à l'activation du récepteur.

Les deux sous-unités β ont chacune un domaine transmembranaire donnant au récepteur une mobilité latérale. En l'absence d'insuline, les sous-unités α exercent une contrainte inhibitrice et maintiennent le récepteur en configuration inactive. La liaison de l'hormone permet un rapprochement des deux sous-unités β et l'activation du récepteur. Chaque sous-unité β porte un domaine à activité tyrosine kinase intracellulaire possédant une boucle régulatrice qui occlut le site catalytique tyrosine kinase et le maintient à l'état inactif. Lors de l'activation du récepteur, la liaison de l'ATP sur son site consensus permet le dépliement de cette boucle et sa transphosphorylation (c'est-à-dire la phosphorylation d'une sous-unité β par l'autre) sur des résidus tyrosine (résidus 1146, 1150 et 1151). Le domaine tyrosine kinase est alors complètement activé et peut ainsi phosphoryler d'autres tyrosines présentes sur les chaînes β , conduisant à une autophosphorylation du récepteur, mais aussi sur des protéines substrats. La phosphorylation de la tyrosine 960 de la chaîne β , notamment, va jouer un rôle clé dans l'ancrage ultérieur des protéines substrats sur le récepteur ; cette phosphorylation n'est toutefois pas toujours mise en évidence.

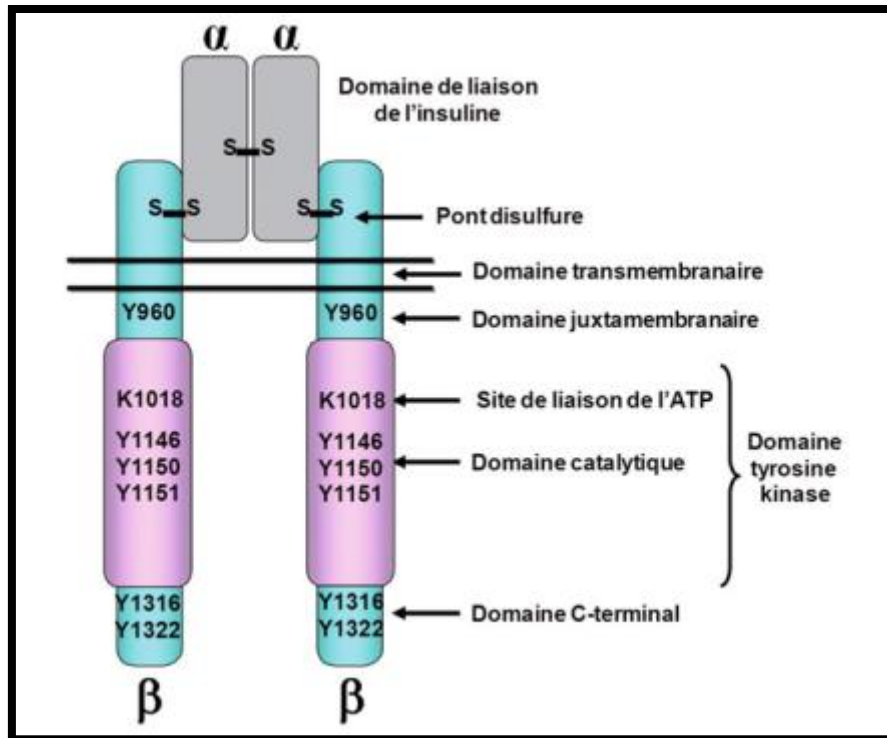


Figure 36 : Représentation schématique du récepteur de l'insuline.

Y : résidu tyrosine ; K : résidu lysine.

2. La signalisation de l'insuline

La liaison de l'insuline aux sous-unités α entraîne un changement de leur conformation permettant l'augmentation de l'activité tyrosine kinase des sous-unités β . Les sous-unités β s'autophosphorylent sur des résidus tyrosine (Tyr1146, Tyr1150, et Tyr1151) situés dans le domaine kinase modulant ainsi le niveau d'activité tyrosine kinase du récepteur. La phosphorylation du résidu Tyr 960 contenu dans le motif NPXY de la région juxtamembranaire est essentielle pour la liaison de différents substrats du récepteur de l'insuline.

Le récepteur de l'insuline, une fois activé, phosphoryle différents substrats permettant l'activation de deux voies de signalisation principales (**Figure 37**).

-La voie des protéines Ras et mitogen activated protein kinase (MAPK) ERK est impliquée dans le contrôle de l'expression génique, dans la croissance et la différenciation de nombreux types cellulaires dont les adipocytes. Cette voie de signalisation est activée par la liaison de la protéine adaptatrice (possèdent un domaine SH, PTB et PH) aux récepteurs de l'insuline dont la plus importante et la première à interagir avec le récepteur est l'IRS (Insuline Receptor Substrat). Cette protéine est alors phosphorylée sur tyrosine par le récepteur. Elle interagit avec

les domaines (Src homology domain 2) de la protéine Grb2. Cette dernière active Sos (Son of Sevenless) un facteur d'échange GDP/GTP pour Ras permettant ainsi l'activation de Ras et de la cascade de signalisation aboutissant à l'activation des MAPK ERK.

Une deuxième possibilité de mise en route de la voie MAP kinase part du récepteur de l'insuline qui recrute sur la tyrosine 960 les protéines adaptatrices de la famille SHC (src homologous and collagen protein), elles-mêmes reconnues par la protéine Grb2 activant la voie Ras.

-La voie des protéines phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) et Akt (également appelée PKB) est impliquée dans la transmission des effets métaboliques de l'insuline et interagit avec la voie Ras/MAPK pour contrôler la croissance et la différenciation. L'activation de cette voie de signalisation nécessite la phosphorylation sur des résidus de tyrosine des protéines IRS-1 et IRS-2 par le récepteur de l'insuline. Dans les adipocytes cette voie de signalisation contrôle le transport du glucose, la lipogenèse, la synthèse protéique et l'effet anti-lipolytique de l'hormone.

La protéine Kinase B (AKT)

Akt sera responsable des effets métaboliques de l'insuline par la voie de PI3K, son activation (phosphorylation) s'exerce sur plusieurs protéines particulières qui sont :

1-AS 160

En absence d'insuline, AS160 n'est pas phosphorylé et est localisé dans la membrane des vésicules intracellulaire contenant Glut4. AS160 est un inhibiteur de la translocation des GLUT4.

AKT phosphoryle AS160, l'effet d'inhibition levé et translocation des GLUT4 vers la membrane plasmique.

2-GSK (Glycogène synthétase kinase)

La phosphorylation de GSK provoque son activation : pas de phosphorylation du glycogène synthase qui devient active.

3-SREBP (Sterol Regulated Element Binding Protein)

Acetyl CoA est le précurseur des lipides via Acétyl CoA carboxylase puis AG synthétase. La transcription de ces deux enzymes par le SREBP, sa phosphorylation par AKT et mTOR permet son passage dans le noyau et la transcription de ces gènes.

4-Foxo1

L'arrêt de la néoglucogenèse se fait par inhibition de ses enzymes clés (PEPCK et glucose 6phosphorylase) et la transcription de leurs gènes est régulée par le facteur de transcription Foxo1.

Foxo1 est actif à l'état déphosphorylé et se trouve dans le noyau. AKT le phosphoryle, l'inhibe et le maintien dans le cytosol pas de transcription de gènes ce que provoque l'arrêt de la néoglucogenèse (effet de l'insuline).

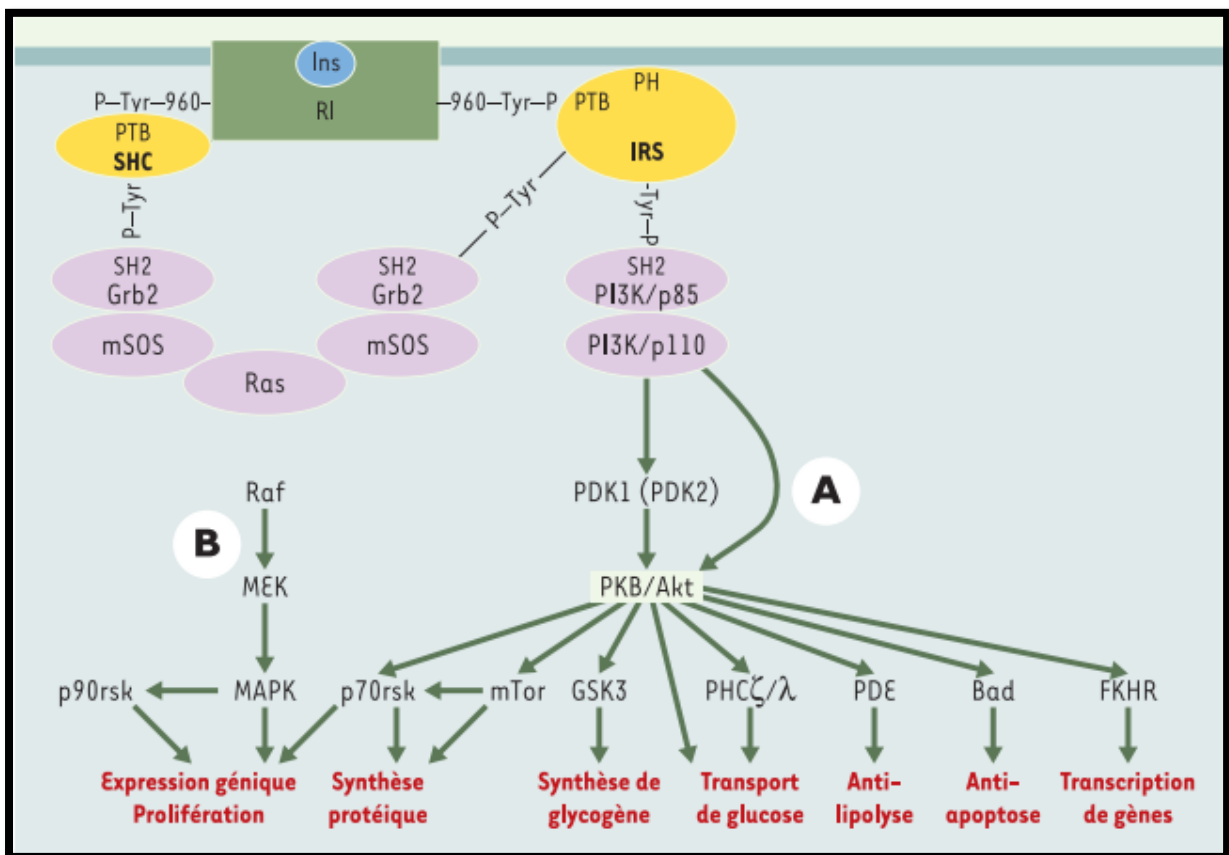


Figure 37 : Principales voies de signalisation par l'insuline : voies PI3 kinase et MAP kinase

Chapitre 8 : Récepteurs de l'apoptose

L'apoptose est une mort cellulaire programmée, active, mise en œuvre en réponse à des signaux d'origine intracellulaire (lésions de l'ADN, anomalies de la mitose, stress oxydatif) ou extracellulaires (messages de mort provenant d'autres cellules) et aboutissant à l'activation de protéases capables d'hydrolyser les constituants cellulaires, les caspases. L'apoptose joue une multitude de rôles physiologiques fondamentaux lors de l'embryogenèse et dans l'homéostasie tissulaire : pour ne citer qu'un seul exemple, elle est responsable de l'involution du thymus lors du passage de l'enfance à l'âge adulte. On a fait de l'apoptose la voie de passage obligée de l'action des agents cytotoxiques, même si elle est souvent dans ce cas une conséquence phénotypique secondaire à des mécanismes d'actions ne la concernant qu'indirectement.

1. Les protéines impliquées dans la mise en œuvre de l'apoptose

1.1. Les caspases

Les caspases sont les enzymes effectrices de l'apoptose ; ce sont des protéases caractérisées par la présence d'une cystéine au niveau de leur site actif et leur capacité d'hydrolyser des chaînes polypeptidiques au niveau d'un acide aspartique. Certaines, dites de classe I, sont capables d'activer par protéolyse des cytokines comme l'interleukine (IL1); d'autres, de classe II, sont les caspases effectrices de l'apoptose, qui hydrolysent les protéines cellulaires, et dont la mieux connue est la caspase 3 ; les caspases de classe III (caspases 8 et 9) sont des caspases initiatrices, activatrices des caspases de classe II.

De façon générale, l'activation des caspases effectrices fait intervenir une procaspase initiatrice, des protéines adaptatrices leur permettant de s'organiser au niveau d'une « plate-forme », et les procaspases effectrices en instance d'activation par protéolyse. Dans le cas de la voie de l'apoptose intrinsèque, la procaspase initiatrice est la procaspase 9 et la plate-forme d'activation se nomme apoptosome ; dans le cas de l'apoptose déclenchée par un signal extracellulaire, la procaspase initiatrice est une procaspase 8 et la plate-forme se nomme DISC (Death-inducing signalling complex). L'activation d'une procaspase en caspase fait intervenir l'élimination d'un prodomaine N-terminal, la coupure d'un domaine C-terminal qui reste lié à la caspase par liaison non covalente et la dimérisation de deux molécules de caspase ainsi remaniées (**figure 38**). Procaspases initiatrices et effectrices diffèrent par la nature des domaines N- et C-terminaux ; les procaspases initiatrices possèdent en particulier dans leur partie N-terminale des domaines de reconnaissance

appelés CARD (Caspase recruitment domain) ou DED (Death effector domain) selon les cas. Toutes les caspases conservent la même séquence polypeptidique au niveau de leur site actif (QACXG) et leur capacité, une fois activées et dimérisées, de cliver une chaîne polypeptidique immédiatement en aval d'un acide aspartique. **La figure 39** présente les deux étapes d'activation d'une procaspase initiatrice en caspase et d'une procaspase effectrice en caspase, et l'intervention ultime d'une caspase effectrice activée sur une protéine cible.

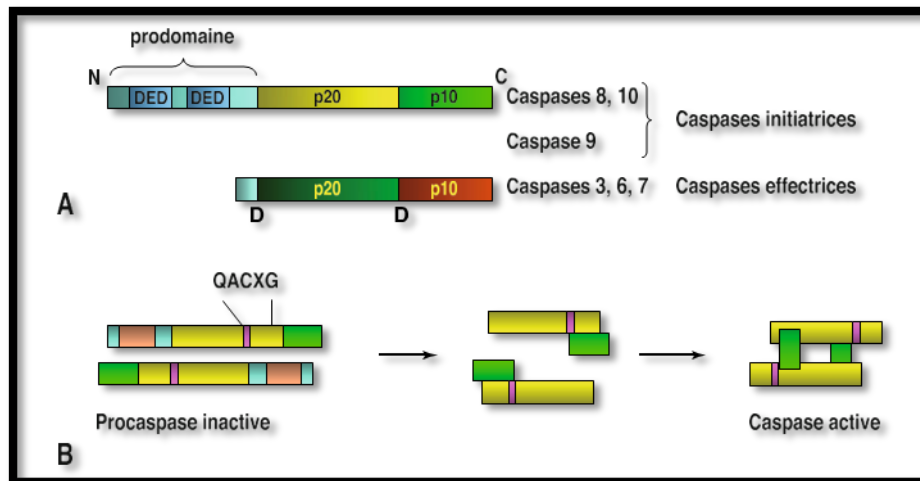


Figure 38 : Les caspases et leur activation.

A. Structure générale des caspases. Toutes les procaspases possèdent deux domaines, p20 et p10, dont le clivage au niveau d'un acide aspartique D permet le passage à une conformation active. Elles possèdent également un prodomaine dont l'élimination est nécessaire pour l'activité. Les procaspases initiatrices possèdent un prodomaine long, porteur de domaines de reconnaissance DED (caspases 8 et 10) ou CARD (caspase 9).

B. Activation des caspases. L'exemple choisi est celui de la caspase 9 (caspase initiatrice). Le site catalytique responsable des clivages est caractérisé par la séquence QACXG. La disposition dans l'espace de deux molécules de procaspase permet le clivage protéolytique d'une molécule par l'autre au niveau des aspartates D. Après élimination du prodomaine, la redistribution des domaines p10 et p20 et la dimérisation de l'ensemble permettent la génération d'une caspase active.

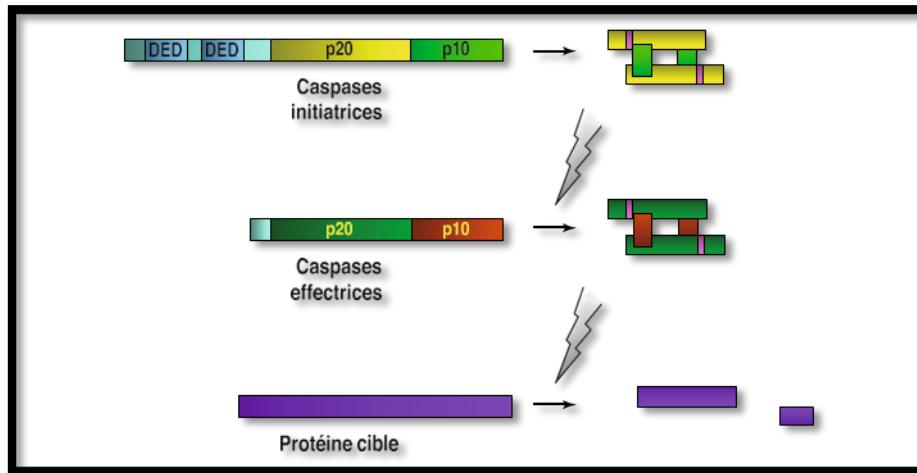


Figure 39 : La cascade protéolytique des caspases.

Une caspase initiatrice (ici la caspase 8, pourvue de deux domaines DED de reconnaissance des protéines adaptatrices FADD ou TRADD), activée elle-même de façon autocatalytique, active par clivage au niveau de deux aspartates une procaspase effectrice. Cette dernière, après dimérisation, devient active et peut cliver des protéines cellulaires diverses, toujours au niveau d'un aspartate.

1.2. Les protéines de la famille BCL2

Les protéines de la famille BCL2 (B-cell lymphoma 2) constituent en fait une famille assez hétérogène d'une vingtaine de protéines qui sont soit mitochondriales, soit capables de s'associer à la mitochondrie lors d'un processus d'activation. Elles présentent des homologies de structure qui les font ranger dans la même famille, mais leurs fonctions peuvent être très différentes et il est nécessaire de distinguer des sous-familles. Elles sont caractérisées par la présence de domaines caractéristiques appelés domaines BH (BCL2 homology domains). Les plus « complètes » possèdent quatre domaines (BH1 à BH4) et un domaine transmembranaire C-terminal qui leur permet de s'insérer dans la membrane externe de la mitochondrie. Les domaines BH1 et BH2 sont impliqués dans la régulation de la perméabilisation de la membrane externe mitochondriale ; le domaine BH3, en association avec les domaines BH1 et BH2, est un domaine d'interaction protéine-protéine qui permet leur homo- ou leur hétéro- dimérisation ; le domaine BH4, N-terminal et essentiellement intracytoplasmique, est un domaine d'interaction avec une protéine adaptatrice cytoplasmique, APAF1 (Apoptotic peptidase activating factor 1). Les sous-familles de protéines BCL2 sont les suivantes (**figure 40**) :

-protéines à quatre domaines BH et avec domaine transmembranaire : BCL2, BCLXL, BCLW, MCL1 (Myeloid cell leukemia sequence 1), BCL1A1, BCL-RAMBO ; ces protéines sont anti-apoptotiques ;

-protéines à trois domaines BH et avec domaine transmembranaire : BAX (BCL2- associated X protein), BAK (BCL2 homologous antagonist/killer) et BOK (BCL2- related ovarian killer) ; ces protéines sont pro-apoptotiques ;

-protéines à seul domaine BH3 (BH3-only proteins), qui sont pro-apoptotiques et qui peuvent avoir un domaine transmembranaire : BIK (BCL2-interacting killer), HRK (Harakiri BCL2-interacting protein) ; ou pas de domaine transmembranaire : BAD (BCL2-associated agonist of cell death), BID (BH3 domain interacting death agonist), BIM (BCL2-interacting mediator of cell death), également appelée BOD (BCL2-related ovarian death agonist), BMF (BCL2 modifying factor), NOXA, PUMA (p53-upregulated mediator of apoptosis).

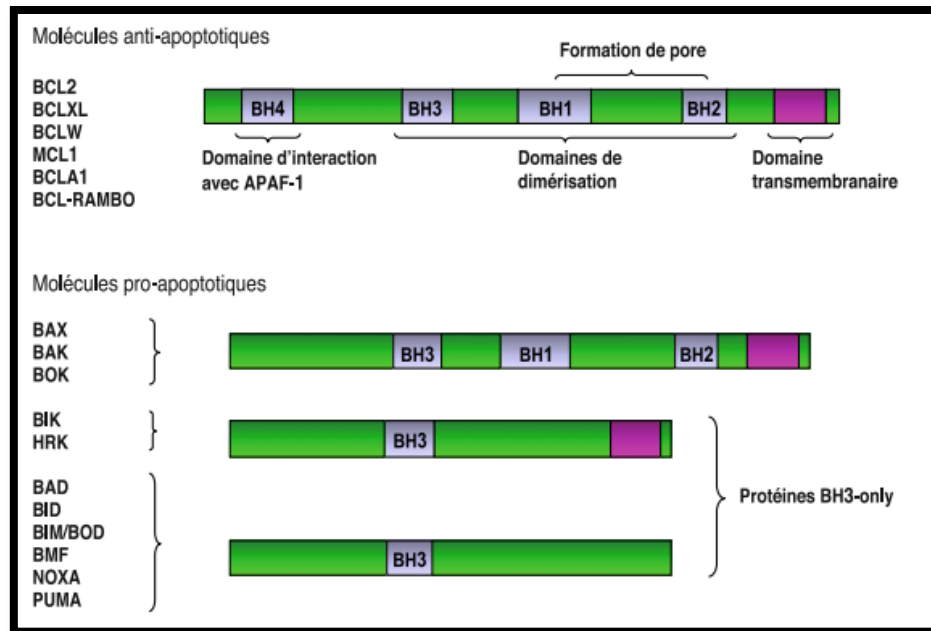


Figure 40 : Les protéines de la famille BCL2.

Ces protéines, dont quelques-unes seulement sont représentées ici, peuvent posséder un domaine transmembranaire et jusqu'à quatre domaines particuliers, impliqués dans la dimérisation (domaines BH1, BH2 et BH3), dans la régulation de l'ouverture du pore de transition mitochondrial (domaines BH1 et BH2) et dans l'interaction avec une séquence de la protéine APAF1 (BH4). Les protéines anti-apoptotiques dont le type est BCL2 sont insérées dans la membrane externe de la mitochondrie par leur extrémité N-terminale et immobilisent la protéine APAF1 par leur extrémité C-terminale. Certaines molécules pro-apoptotiques dont l'archétype est BAX ont un domaine transmembranaire et des domaines de dimérisation et d'interaction protéine-protéine. D'autres molécules pro-apoptotiques ne sont pas insérées dans la membrane mitochondriale (elles n'ont pas de domaine transmembranaire), mais ont un tropisme mitochondrial permis par leur domaine BH3 (protéines BH3 only) qui peut interagir avec les domaines correspondants des autres protéines de la famille BCL2.

1.3. Les protéines de la famille IAP

Les protéines IAP (Inhibitor of apoptosis protein) ou protéines BIRC (Baculovirus IAP repeat containing proteins) constituent un ensemble de huit protéines cytoplasmiques inhibitrices des caspases. Ces protéines possèdent un ensemble de domaines caractéristiques. Certains domaines sont constants, les domaines BIR1 à BIR3 (Baculovirus IAP repeat) permettant des interactions protéine-protéine, en particulier avec les caspases 3 et 9. D'autres sont inconstants, les domaines CARD ou DED qui permettent leur interaction avec les caspases initiatrices ou avec des protéines adaptatrices, et le domaine RING (Really interesting new gene) qui porte une fonction d'E3 ligase pour les caspases, les entraînant vers le protéasome et ajoutant ainsi leur destruction à leur inhibition.

La plupart de ces protéines sont elles-mêmes inhibées par une protéine d'origine mitochondriale, SMAC-DIABLO (Second mitochondria-derived activator of caspase-Direct inhibitor of apoptosis-binding protein with low pI). Cette protéine agit sous forme de dimère et se lie aux domaines BIR3 des IAP pour les inhiber en les empêchant de se lier avec les caspases.

2. La voie de l'apoptose intrinsèque (mitochondriale)

Divers signaux induits par des stress intracellulaires ou d'origine extracellulaire sont apportés à la mitochondrie par des protéines BH3 only et interagissent avec les protéines mitochondriales de la famille BCL2, en favorisant l'ouverture du pore de transition. La sortie du cytochrome c de la mitochondrie lui permet d'interagir avec la protéine APAF1, de permettre son heptamérisation en apoptosome et de recruter les molécules de procaspase 9. Ces dernières vont s'activer en caspase 9 par protéolyse selon un processus autocatalytique et activer à leur tour la procaspase 3 en caspase 3 par protéolyse. La caspase 3 pourra alors détruire ses protéines cibles (**Figure 41**).

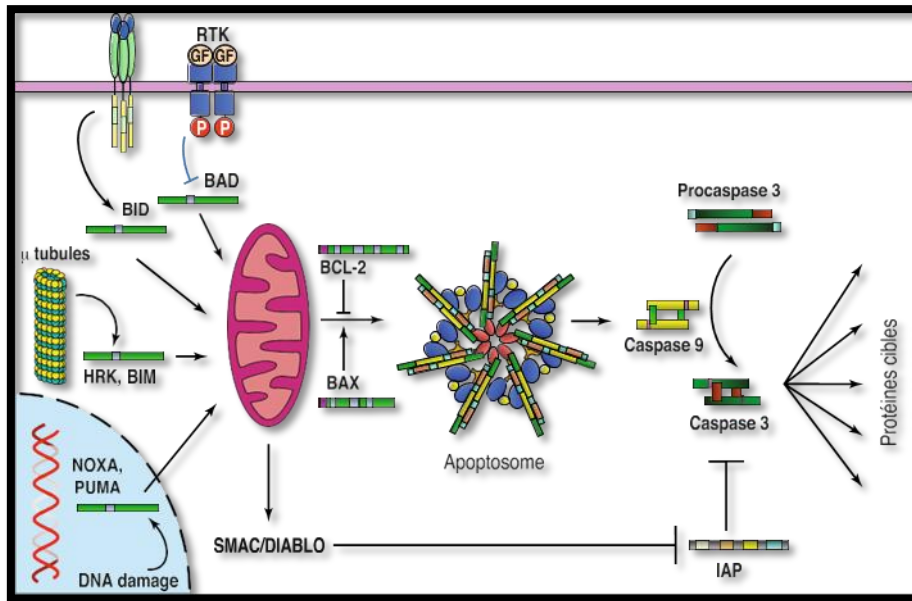


Figure 41 : La voie de l'apoptose intrinsèque (mitochondriale).

3. La voie de l'apoptose extrinsèque (dite des récepteurs de mort)

Divers signaux apportés par des ligands de mort cellulaire (FASL, TNF, TRAIL) activent des récepteurs membranaires (FAS, TNFR, TRAILR) en provoquant leur trimérisation. La partie cytoplasmique de ces récepteurs contient un domaine DD qui leur permet de recruter une protéine adaptatrice (FADD, TRADD) pourvue d'un domaine analogue ainsi que d'un domaine DED. Des molécules de caspase 8, pourvues elles aussi de domaines DED, sont alors recrutées pour constituer, avec le récepteur trimérisé et les protéines adaptatrices, un édifice supramoléculaire, le DISC. La caspase 8, activée par protéolyse selon un processus autocatalytique, est alors capable d'activer la procaspase 3 en caspase 3 par protéolyse, cette dernière pouvant alors détruire ses protéines cibles. La caspase 8 est également capable, dans certaines cellules, d'activer par protéolyse la protéine BID (protéine de type BH3 only) qui, sous sa forme tronquée t-BID, agira au niveau de la mitochondrie pour favoriser l'ouverture du pore de transition, amplifiant ainsi le message apoptotique intrinsèque (**Figure 42**).

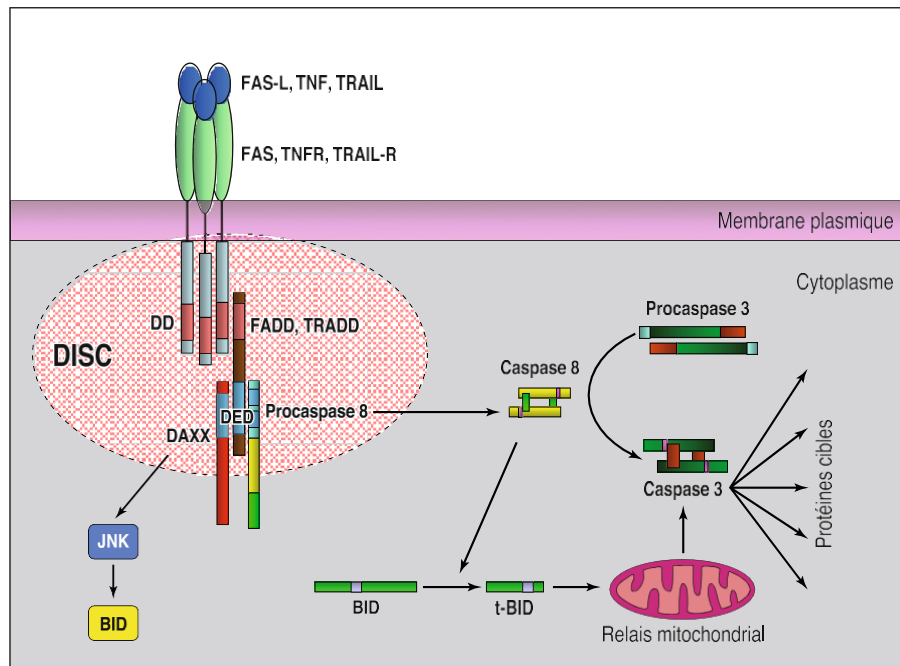


Figure 42 : La voie de l'apoptose extrinsèque.

4. Les protéines de la famille des récepteurs de mort et leurs ligands

Les messages extracellulaires de mort cellulaire sont apportés par des ligands qui reconnaissent des récepteurs membranaires de la cellule cible. Ligands et récepteurs appartiennent respectivement à la superfamille des TNF (TNFSF) et à la superfamille des récepteurs de TNF (TNFRSF). Les ligands sont au nombre d'une vingtaine, parmi lesquels nous retiendrons trois qui sont impliqués dans la transmission de messages de mort cellulaire : FASL ou FASLG (FAS ligand), TNF (Tumor necrosis factor) et TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand). Les récepteurs sont au nombre de 29 et nous ne retiendrons que ceux qui intègrent les signaux apportés par les messages proapoptotiques. Les ligands et récepteurs qui ne sont pas évoqués ici véhiculent une signalisation relevant de l'immunité et de l'inflammation. Les récepteurs possèdent un domaine extracellulaire de reconnaissance du ligand et un domaine intracellulaire effecteur de la signalisation. On peut les ranger en trois familles selon la présence de domaines cytoplasmiques de reconnaissance protéine-protéine (**figure 43**) :

-Les récepteurs possédant un domaine DD (Death domain) qui leur permet d'interagir avec une protéine adaptatrice dotée d'un domaine homologue ; parmi ces récepteurs, on trouve FAS (Fragment for apoptosis stimulation), TRAILR1 et TRAILR2, qui tous trois reconnaissent la protéine adaptatrice FADD (FAS-associated death domain protein) et

TNFR1, qui reconnaît la protéine adaptatrice TRADD (TNF-receptor associated death domain protein). Ces protéines adaptatrices sont à l'origine de l'activation d'une caspase initiatrice, la caspase 8.

-Les récepteurs possédant un motif TIM (TRAF-interacting motif) qui reconnaît un autre type de protéine adaptatrice, TRAF (TNF receptor-associated factor), à l'origine de l'activation de voies de signalisation aboutissant au facteur de transcription NFκB, à la voie ERK et à la voie JNK.

-Les récepteurs ne contenant aucun domaine de reconnaissance et ne transmettant aucun message. Ce sont des récepteurs leurres (Decoy receptors), DcR1, DcR2 et DcR3, qui vont en fait bloquer le signal apporté par un ligand, FASL pour DcR3, TRAIL pour DcR1 et DcR2.

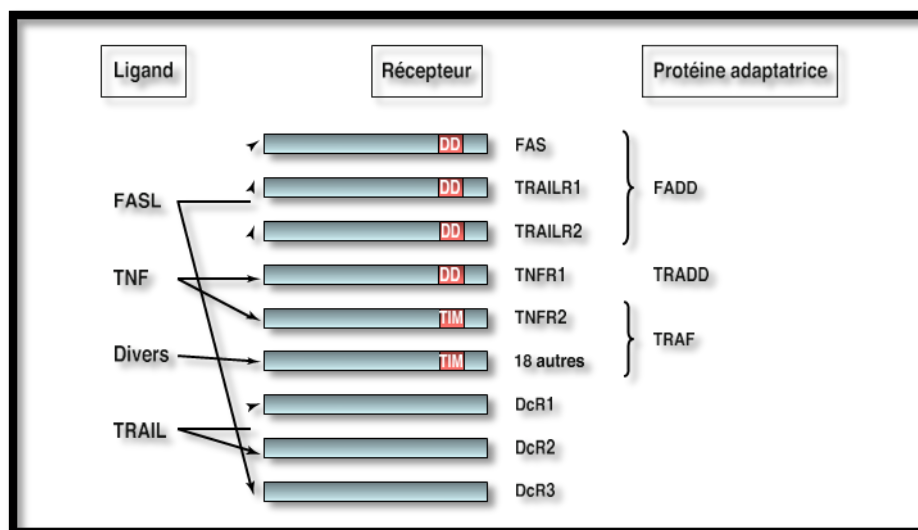


Figure 43 : Les récepteurs de mort cellulaire, leurs ligands et les protéines adaptatrices.

Les ligands de la superfamille des TNF (FASL, TNF, TRAIL et autres ligands) reconnaissent les récepteurs de la superfamille du TNR (FAS, TNFR1 et R2, TRAILR1 et R2), ainsi que des récepteurs leurres (DcR) dépourvus de domaines de liaison avec une protéine adaptatrice.

Certaines protéines adaptatrices comme RIP1 ou TRAF sont capables de s'opposer à l'apoptose en activant la voie du NFκB. RIP1 est une kinase qui reconnaît les domaines DED, alors que TRAF interagit avec les récepteurs même s'ils sont dépourvus de domaine DD, comme le TNFR2. Les protéines CIAP1 et 2 ont un domaine CARD et sont capables de reconnaître la caspase 8 et de l'inhiber. L'activation de la protéine IKK comme celle de

CIAP conduit à une inhibition de l'apoptose, ce qui illustre bien le rôle double que peut jouer le TNF selon le contexte cellulaire, c'est-à-dire l'équipement cellulaire en récepteurs et en protéines adaptatrices (**Figure 44**).

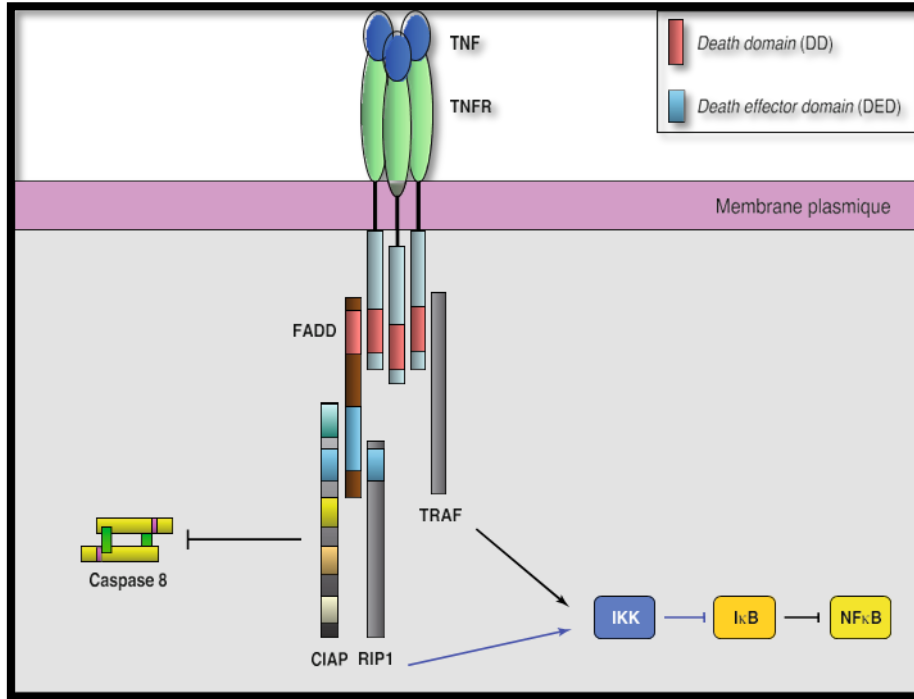


Figure 44 : Voies de signalisation induites par les récepteurs du TNF.

Références bibliographiques

- 1-Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2012). Communication cellulaire. In : l'essentiel de la biologie cellulaire. 3e édition, Lavoisier, Paris : 531- 464.
- 2-Assié, G., Rosenberg D., Clauser, E., Bertherat, J. (2004). Biochimie des hormones et leurs mécanismes d'action : récepteurs membranaires. *EMC-Endocrinologie*, 1 : 169–199.
- 3-Bertherat, J. (2004). Biochimie des hormones et leurs mécanismes d'action. D-Récepteurs nucléaires. *EMC-Endocrinologie*, 1 :133–137.
- 4-Bouaouina, M., Halbwegs-Mecarelli, L. (2006). Activation des intégrines et adhérence des leucocytes et des plaquettes Nouvelles données sur des voies de signalisation communes. *Hématologie*, 12 (1) : 21-33.
- 5-Capeau, J. (2003). Voies de signalisation de l'insuline : mécanismes affectés dans l'insulino-résistance : *médecine sciences*, 19(8-9), 834–839.
- 6-Combarrous, Y. (2013). Communications et signalisations cellulaires. 4e édition, Lavoisier, Paris : 379.
- 7-Dusanter-Fourt, I., Mayeux, P., Gisselbrecht, S. (1994). Transduction du signal par les récepteurs de cytokines. *M/S*, 10 : 825-35.
- 8-Guiochon-Mantel, A., Milgrom, E. (1999). Récepteurs stéroïdiens et mécanismes d'action des stéroïdes sexuels. *Journal de la Société de Biologie*, 193 (3) :269-273.
- 9-Lafontaine, L. (2011).Impact du facteur transformant p sur la prolifération et l'invasion des cellules trophoblastiques. Thèse doctorat, Université du Québec à Trois-Rivières.
- 10-Lesourne, R. (2000). Transduction du signal par les immunorécepteurs. *Revue Française des Laboratoires*, 327 :29-37.
- 11-Remaud, S., Morvan-Dubois, G., Demeneix, B. (2012). La signalisation thyroïdienne promeut l'engagement des cellules souches neurales vers la différenciation. *m/s*, 12 (28) : 1050-1052
- 12-Robert, J. (2010). Introduction Principes généraux de la signalisation cellulaire. In : Signalisation cellulaire et cancer. Oncologie pratique. Springer, Paris.

13-Tanti, JF., Jager, J., Marchand-Brustel, Y.L. (2013). Impact des cytokines pro-inflammatoires sur la signalisation insulinique de l'adipocyte. In : Physiologie et physiopathologie du tissu adipeux. Springer, Paris : 303-323

14-Wachsmann, D., Soulas, P., Miossec, P., Wendling, D. Les communications intercellulaires : Les cytokines et leur reseau. In : Immunopathologie pour le praticien : 356

15-Wémeau, J-L., Espiard, S., Vlaeminck-Guillem, V., Jaffiol, C. (2020). Différents degrés de sensibilité aux hormones thyroïdiennes. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*. 204 (2) : 186-197.

Sites internet

<https://bdevalrose.fr/wp-content/uploads/2020/09/SC-Base-en-signalisation-cellulaire.pdf>

<https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-facteur-croissance-147/>