



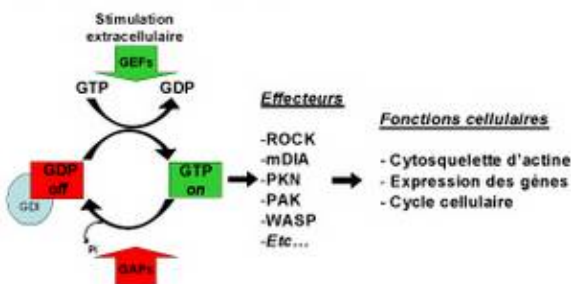
Jacques Bertoglio et son équipe

Des Rho GTPases à toutes les sauces

par Jacques Bertoglio

La famille Rho des petites protéines G apparentées à Ras compte plus d'une dizaine de membres dont principalement Rho, Rac et Cdc42. Ces protéines fonctionnent comme des interrupteurs moléculaires de la signalisation intracellulaire : elles existent sous deux conformations, la forme active liée au GTP et la forme au repos liée au GDP. La forme au repos des petites GTPases interagit avec des facteurs d'échange (GEFs) qui déplacent le GDP, permettent la fixation du GTP, et sont donc des activateurs. La forme active des petites GTPases stimulent des protéines effectrices dont plusieurs Ser/Thr kinases telles que ROCK ou PKN pour RhoA et PAK pour Rac et Cdc42. Finalement, le cycle se termine par l'hydrolyse du GTP, stimulée par les protéines GAP.

Régulation des Rho GTPases



Les protéines Rho régulent l'organisation du cytosquelette d'actine et contrôlent la formation de fibres de stress ancrées au niveau de la plaque d'adhésion (Rho), ainsi que les mouvements de la membrane cellulaire (Rac et Cdc42). Mais leurs fonctions ne se limitent pas à l'organisation structurante

du cytosquelette. Elles participent, avec les autres GTPases de la famille Ras (Arf, Rab etc..) à de nombreux processus cellulaires qui impliquent la réorganisation du cytosquelette d'actine comme la sécrétion, l'endocytose, la phagocytose et la présentation antigénique. Les protéines Rho régulent également la signalisation nucléaire et la transcription de certains gènes. Enfin, les protéines Rac et Rho pourraient jouer un rôle essentiel dans la prolifération cellulaire et il a été montré qu'elles participaient à la transformation par l'oncogène Ras.

Des Rho GTPases dans le système immunitaire

Nous avons commencé à nous intéresser à ces protéines il y a près de 15 ans, suite à une collaboration avec Gérard Gacon (de l'Institut Cochin) qui avait cloné une nouvelle petite GTPase humaine qui s'est avérée être Rac2, une Rho spécifique du tissu hématopoïétique. Etant immunologistes, nous nous sommes alors demandé si ces GTPases pouvaient jouer un rôle dans les fonctions spécifiques des lymphocytes. Avec Gérard Gacon, nous avons montré que l'expression de Rac2 était augmentée au cours de la réponse proliférative des lymphocytes T, et par la suite, que l'activité de RhoA était nécessaire à la fonction cytotoxique des lymphocytes T et NK (1, 2). D'autres investigateurs ont suivi, et il ne fait aucun doute aujourd'hui que les Rho GTPases sont essentielles au cours du développement lymphocytaire mais aussi dans les fonctions des lymphocytes matures.

Nouveau mode de régulation de RhoA

En poursuivant ce travail, nous avons observé que l'augmentation du taux intra-cellulaire d'AMP cyclique, qui inhibe l'activité cytotoxique des lymphocytes, induit la phosphorylation de RhoA par la protéine kinase A sur une serine en position 188. Nous avons proposé un nouveau modèle de régulation de Rho, dans lequel la transmission du signal n'est pas interrompue par l'hydrolyse du GTP et la conversion de Rho de sa forme active (Rho–GTP) vers sa forme inactive (Rho–GDP), mais par la translocation, consécutive à la phosphorylation, qui séparerait Rho de ses effecteurs membranaires (3). Ces résultats ont été largement confirmés par nos compétiteurs étrangers, et il a été notamment montré que cette modification de la localisation de Rho affectait sa capacité à activer la kinase ROCK.

Des Rho GTPases dans le système cardiovasculaire

Une avancée excitante a été la découverte, par nos collègues Pierre Pacaud et Gervaise Loirand de l'U533 à Nantes, que Rho pouvait également être phosphorylée sur la sérine 188 par la protéine kinase G, dépendante du GMP cyclique, un effecteur important de la voie du NO, dans les cellules musculaires lisses de la paroi vasculaire (4). Ces résultats ouvrent ainsi un nouveau champ d'investigation sur le rôle des GTPases Rho dans le contrôle de la tension artérielle. Le rôle des Rho GTPases dans le système cardiovasculaire ne s'arrête pas là, puisque après avoir décrit, dans un travail auquel nous avons participé (5), une nouvelle voie d'activation de Rac par

l'AMP cyclique, impliquant la protéine EPAC, Frank Lezoualc'h de l'U446 vient de décrire le rôle de cette voie EPAC–Rac dans l'hypertrophie cardiaque pathologique (6).

ROCK'n Rho

L'un des thèmes que nous avons développé ces 5 dernières années au sein de l'équipe avec Jacqueline Bréard, a été l'étude du cytosquelette au cours de l'apoptose. Nous avons décrit que la kinase ROCK I, l'effecteur de Rho le mieux caractérisé, était clivée par la caspase 3 au cours de l'apoptose. La forme clivée de ROCK ainsi générée acquiert une activité kinase dérégulée, induisant la phosphorylation de la chaîne légère de la myosine qui conduit à la contraction du système actomyosine responsable du bouillonnement membranaire typique de l'apoptose formé de protrusions de la membrane appelées « blebs » par manque d'une traduction française appropriée (7). Ce qui nous a intrigués, c'est que ce clivage par la caspase 3 était spécifique de ROCK I et n'affectait pas l'autre kinase ROCK, ROCK II. Nous avons mis en évidence que ROCK II était cependant clivée d'une manière similaire au cours de l'apoptose induite par les lymphocytes cytotoxiques et que, dans ce cas, la protéase responsable était le granzyme B, introduit dans les cellules cibles par les granules cytotoxiques (8). Ainsi les deux kinases ROCK sont activées par clivage protéolytique dans des circonstances différentes d'induction de l'apoptose, mais conduisant dans les deux cas au blebbing membranaire, un phénomène dont les conséquences physiologiques restent inconnues.

Régulation des régulateurs

Finalement, en essayant de comprendre quelles étaient les voies de signalisation des Rho GTPases impliquées dans les lymphocytes T, nous avons mis en évidence, par une approche puce à ADN des variations d'expression tout à fait inattendues de nombreux régulateurs de l'activité de ces GTPases, qu'il s'agisse de GEFs ou de GAPs (9). Ainsi les Rho GTPases peuvent être régulées non seulement par l'activation (phosphorylation, localisation sub-cellulaire) des GEFs, ou à l'inverse par inactivation des GAPs, mais également par le niveau d'expression de ces protéines. Il est notable que l'expression de certaines d'entre elles, qui ont des fonctions importantes dans la mitose, est régulée au cours de la progression dans le cycle cellulaire.

Présentation de l'équipe

Unité Inserm 749 (ex U 461)

Contact : Jacques Bertoglio, MD
Directeur de l'Unité

Faculté de Pharmacie – Université Paris–Sud

5 rue Jean Baptiste Clement
92296 Chatenay–Malabry Cedex
Tél. : 01 46 83 55 08

Références bibliographiques

1. Reibel L, Dorseuil O, Stancou R, Bertoglio J and Gacon G. A hemopoietic specific gene encoding a small GTP binding protein is overexpressed during T cell activation. *Biochem Biophys Res Commun* 1991, 175 : 451–458.
2. Lang P, Guizani L, Vitte–Mony I, Stancou R, Dorseuil O, Gacon G and Bertoglio J. ADP–ribosylation of the ras–related, GTP–binding protein RhoA inhibits lymphocyte–mediated cytotoxicity. *J Biol Chem* 1992, 267 : 11677–11680.
3. Lang P, Gesbert F, Delespine–Carmagnat M, Stancou R, Pouchelet M and Bertoglio J. Protein kinase A phosphorylation of RhoA mediates the morphological and functional effects of cyclic AMP in cytotoxic lymphocytes. *Embo J* 1996, 15 : 510–519.
4. Sauzeau V, Le Jeune H, Cario–Toumaniantz C, Smolenski A, Lohmann S M, Bertoglio J, Chardin P, Pacaud P and Loirand G. Cyclic GMP–dependent protein kinase signaling pathway inhibits RhoA–induced Ca²⁺ sensitization of contraction in vascular smooth muscle. *J Biol Chem* 2000, 275 : 21722–21729.
5. Mailliet M, Robert S J, Cacquevel M, Gastineau M, Vivien D, Bertoglio J, Zugaza J L, Fischmeister R and Lezoualc'h F. Crosstalk between Rap1 and Rac regulates secretion of sAPPalpha. *Nat Cell Biol* 2003, 5 : 633–639.
6. Morel E, Marcantoni A, Gastineau M, Birkedal R, Rochais F, Garnier A, Lompre A M, Vandecasteele G and Lezoualc'h F. cAMP–Binding Protein Epac Induces Cardiomyocyte Hypertrophy. *Circ Res* 2005 Dec 9 ; 97 (12) : 1296–304.
7. Sebbagh M, Renvoize C, Hamelin J, Riche N, Bertoglio J and Breard J. Caspase–3–mediated cleavage of ROCK I induces MLC phosphorylation and apoptotic membrane blebbing. *Nat Cell Biol* 2001, 3 : 346–352.
8. Sebbagh M, Hamelin J, Bertoglio J, Solary E and Breard J. Direct cleavage of ROCK II by granzyme B induces target cell membrane blebbing in a caspase–independent manner. *J Exp Med* 2005, 201 : 465–471.
9. Mzali R, Seguin L, Liot C, Auger A, Pacaud P, Loirand G, Thibault C, Pierre J and Bertoglio J. Regulation of Rho signaling pathways in interleukin–2–stimulated human T–lymphocytes. *Faseb J* 2005, 19 : 1911–1913.
10. Madaule P and Axel R. A novel ras–related gene family. *Cell* 1985, 41 : 31–40.

Hommage

Des copains d'abord

Au-delà de la science, ce que nous ont fait découvrir les Rho GTPases au cours de ces dernières années, c'est une communauté scientifique extrêmement riche et conviviale que j'aimerais saluer ici. Outre les collaborateurs cités plus haut avec qui nous avons travaillé directement, je salue les collègues de l'Institut Cochin, de Curie, de Gif-sur-Yvette, du CRBM à Montpellier, et tous les participants habituels du «Colloque francophone des petites protéines G» que nous avons toujours un immense plaisir à retrouver. J'y ajouterai une pensée pour Pascal Madaule, le découvreur de Rho (10), qui nous a quitté prématurément en Juin 2002.