

## Régulation de l'activation cellulaire par les phosphatases

Sylvain Olivero  
Mathieu Bléry  
Éric Vivier

Les phosphatases regroupent un ensemble d'enzymes qui diffèrent dans leurs localisations cellulaires, leurs spécificités de substrat ou leurs rôles dans l'homéostasie cellulaire. Ainsi, on retrouve des phosphatases transmembranaires impliquées aussi bien dans l'adhérence, la différenciation et la migration cellulaire que dans la transmission des signaux. Les phosphatases cytosoliques, quant à elles, interviennent plutôt dans la transmission du signal en aval de nombreux récepteurs de surface. L'équilibre entre l'activation des protéine-tyrosine phosphatases (PTP) et des protéine-tyrosine kinases (PTK), règle le niveau de phosphorylation des résidus tyrosine de nombreuses molécules des réseaux de signalisation intracellulaire. Les PTP contenant des domaines SH2 (SHP-1, SHP-2) s'associent à des protéines phosphorylées sur résidu tyrosine et peuvent régler positivement ou négativement la transmission intracellulaire du signal. Elles sont ainsi impliquées dans les mécanismes d'adaptation fine du niveau d'activation cellulaire.

La dissection des mécanismes moléculaires à l'origine de la transmission des informations biologiques de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule (transmission du signal) représente un champ d'investigation majeur de la biologie. En particulier, la phosphorylation des protéines est une stratégie utilisée par la plupart des systèmes moléculaires couplés à la reconnaissance d'un ligand par un récepteur de surface. En effet, la phosphorylation des résidus sérine, thréonine et tyrosine des protéines est une modification post-traductionnelle dont la versatilité est une caractéristique majeure. La richesse énergétique de la liaison phospho-diester la rend extrêmement sensible aux enzymes qui l'induisent (kinases) aussi bien qu'à celles qui l'hydrolysent (phos-

phatases) [1]. Les protéines phosphorylées sont ainsi modifiées dans leur fonction (régulation allostérique des kinases elles-mêmes : par exemple, la phosphorylation sur tyrosine de la kinase p56<sup>lck</sup> modifie son activité catalytique) ou acquièrent la capacité de s'associer à d'autres protéines situées plus en aval dans la cascade de transmission. Ces associations impliquent des domaines protéiques spécialisés dits domaines de signalisation comme les domaines SH2 (*src homology domain 2*), PTB (*phosphotyrosine binding domain*) qui interagissent sélectivement avec des motifs protéiques contenant des tyrosines phosphorylées, ou encore PH (*plekstrin homology domain*) qui ont cependant une plus grande affinité pour les formes phosphorylées des phospholipides à inositol [2]. Ces domaines sont

### ADRESSES

S. Olivero: docteur en pharmacie. M. Bléry: étudiant en thèse d'université. E. Vivier: professeur d'immunologie, membre de l'Institut Universitaire de France, docteur vétérinaire, Ph.D. Centre d'immunologie Inserm/Cnrs de Marseille-Luminy, Case 906, 13288 Marseille Cedex 09, France.

présents dans de nombreuses protéines intégrales ou intracytoplasmiques, et définissent deux catégories de molécules: les molécules adaptatrices, qui contiennent des domaines de signalisation mais n'exercent aucune fonction enzymatique, et les molécules effectrices, qui contiennent des domaines de signalisation et exercent aussi une fonction enzymatique [2]. Ainsi, la cellule possède un système dynamique d'association/dissociation entre des molécules qui sont impliquées dans une cascade de transmission du signal à un moment et à l'intérieur d'un espace définis.

## Classification des phosphatases

La classification des phosphatases repose en premier lieu sur la nature de leur substrats, protéines (résidu séri-

ne/thréonine et/ou tyrosine) ou lipides (inositol). Une sous-classification prend alors en compte la localisation de ces enzymes (transmembranaire, intracytoplasmique, sécrétée). Les sérine/thréonine phosphatases et les phosphatases de double spécificité (*dual-specificity phosphatases*, DSP), capables de déphosphoryler phospho-thréonines, phospho-sérines et phospho-tyrosines, ne sont pas l'objet de cette revue. Cependant, on retiendra l'exemple d'une sérine phosphatase dépendante du calcium et de la calmoduline, la calcineurine, qui est de toute première importance pharmacologique. On l'a en effet identifiée comme étant la cible de deux immunosuppresseurs, la ciclosporine A et le FK506 (*m/s n° 8, vol. 7, p. 878*). La calcineurine est notamment impliquée dans la transcription du gène de l'IL-2, une cytokine majeure sécrétée par les lympho-

cytes et orchestrant les proliférations lymphocytaires nécessaires à la mise en place de la réponse immunitaire [3]. Les voies d'activation dépendantes des PTK et des PTP ont été identifiées comme des éléments précoces très largement utilisés par de nombreux systèmes cellulaires, et nous nous limiterons à une présentation du rôle de ce couple « phosphorylation/déphosphorylation » sur résidu tyrosine. Les cascades de transmission du signal qui utilisent les tyrosines phosphorylées règlent des phénomènes aussi divers que la différenciation, la prolifération ou la migration cellulaire. Si le rôle des PTK dans la signalisation intracellulaire est à ce jour bien établi, celui des PTP demeure l'objet de controverses. Approximativement 75 phosphatases ont été identifiées à ce jour, incluant à la fois, les phosphatases transmembranaires et cytosoliques,

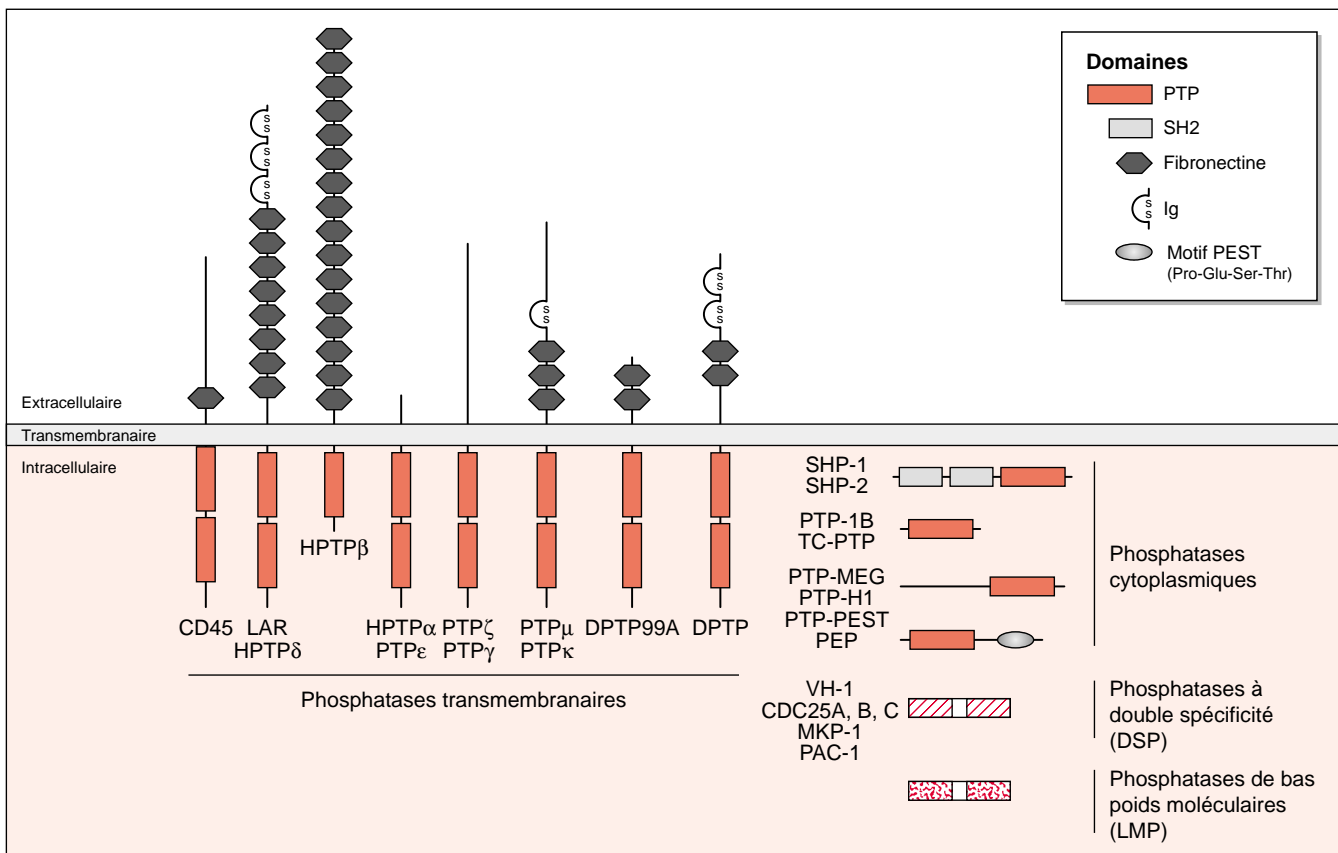


Figure 1. **Représentation schématique de la famille des PTP.** Les PTP constituent une vaste famille de molécules divisée en 4 sous-familles distinctes: les PTP transmembranaires, les PTP cytoplasmiques, les PTP de double spécificité et les PTP de bas poids moléculaires. Le domaine extracytoplasmique des PTP transmembranaires renferme des motifs caractéristiques (domaines immunoglobuline-Ig-, ou fibronectine III), le domaine cytoplasmique possède l'activité phosphatase. Les PTP cytoplasmiques ont des domaines d'association à d'autres protéines (domaine SH2, motif PEST). Les phosphatases à double spécificité sont capables de déphosphoryler les phospho-thréonines, les phospho-sérines et les phospho-tyrosines.

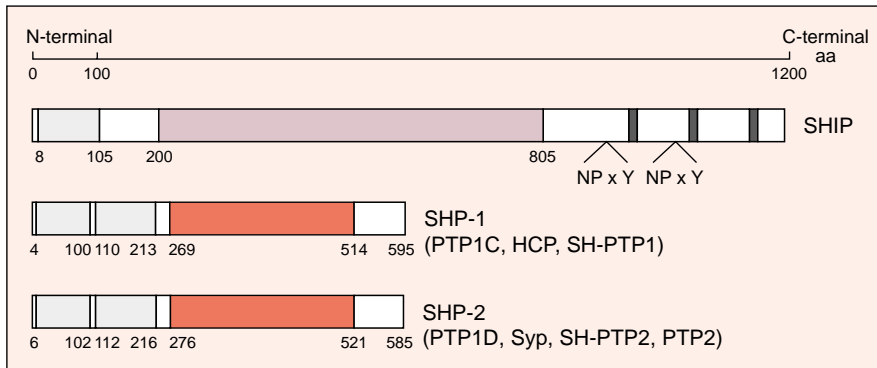


Figure 2. **Comparaison entre PTP à domaine SH2 et inositol phosphatase à domaine SH2.** Les caractéristiques majeures des PTP à domaine SH2 (SHP-1 et SHP-2) sont comparées à celles de SHIP, une inositol phosphatase à domaine SH2. Les longueurs respectives des phosphatases sont représentées à l'échelle de leur nombre d'acides aminés (aa). NPxY: séquences susceptibles d'être phosphorylées sur tyrosine et de recruter le domaine PTB de Shc.

mais des prévisions fondées sur la connaissance du génome laissent supposer l'existence d'au moins 500 PTP chez l'homme. La partie intracellulaire des phosphatases est composée d'au moins un domaine phosphatase conservé de 240 acides aminés (domaine PTP) contenant un motif [I/V]HCxAGxxR[S/T]G\* caractéristique de cette famille d'enzymes. Ce domaine PTP est souvent encadré par des séquences régulatrices non catalytiques qui sont impliquées dans les interactions protéine-protéine, la localisation cellulaire ou encore l'activité enzymatique. Comme nous allons le détailler à travers plusieurs exemples, ces phosphatases peuvent avoir un rôle de régulateur positif ou négatif sur la transmission intracellulaire du signal.

### Les PTP transmembranaires

Les phosphatases transmembranaires ou *receptor protein tyrosine phosphatases* (RPTP) sont constituées d'un segment intracytoplasmique comprenant un ou deux domaines phosphatase, un domaine transmembranaire et un domaine extracellulaire variable (*m/s n° 10, vol. 5, p. 783*) (figure 1). Le domaine extracytoplasmique renferme des motifs caractéristiques (domaines immunoglobuline, ou fibronectine III, par exemple). Les RPTP régulent le développement et la différenciation des neurones chez la drosophile et l'absen-

ce des phosphatases DPTP69D/99A aboutit à des anomalies du développement des motoneurones [4]. Chez les mammifères, la RPTP LAR règle les phénomènes d'adhérence cellulaire, notamment le renouvellement et l'étendue des points d'adhérence focaux [5]. En outre, LAR règle des voies de signalisation responsables de la migration cellulaire *via* son interaction avec la protéine Trio [6]. La PTP $\zeta$  (ou encore RPTP $\beta$ ) illustre bien l'importance que revêtent ces phosphatases dans le développement cellulaire : PTP $\zeta$  comporte un domaine anhydrase carbonique extracellulaire qui est dépourvu d'activité catalytique mais qui sert de récepteur à la contactine [7]. L'interaction PTP $\zeta$ -contactine favorise l'adhérence cellulaire et le développement des axones. Un autre exemple est apporté par les phosphatases PTP $\mu$ /PTP $\kappa$  et PTP $\lambda$  [8] (figure 1). Ces phosphatases sont capables d'interactions homophiliques et, dans de nombreux tissus, PTP $\mu$  et PTP $\kappa$  s'associent aux complexes cadhérines-caténines [9]. Ces phosphatases régulent l'adhérence cellulaire en maintenant les complexes cadhérines-caténines sous forme déphosphorylée.

La protéine CD45, quant à elle, est une phosphatase transmembranaire spécifique des tissus hématopoïétiques [10]. CD45 qui présente plusieurs isoformes, produits d'épissages alternatifs du même gène qui se distinguent par leurs domaines extracytoplasmiques (CD45RA, CD45RB, CD45RC, CD45RO), alors qu'elles partagent toutes le même domaine in-

tracytoplasmique. Celui-ci contient deux domaines phosphatases dont un (le domaine PTP amino-terminal) est majoritairement responsable de l'activité catalytique. La protéine CD45 joue un rôle positif dans la transmission du signal en aval du récepteur de l'antigène des lymphocytes T (complexe CD3/TCR) et B (BCR), du récepteur de forte affinité pour les IgE (Fc $\epsilon$ RI) des mastocytes, et le NKR-P1 exprimé sur les lymphocytes *natural killer* [11]. En effet, des lignées cellulaires déficientes en CD45 ne répondent pas à la stimulation du complexe CD3/TCR [10]. Seule l'activité catalytique de CD45 semble être requise. En outre, un blocage de la maturation thymique et la présence de cellules T non fonctionnelles sont observés chez la souris déficiente en CD45. La protéine CD45 déphosphoryle et active les PTK de la famille Src telles que p56<sup>lck</sup> et p59<sup>lyn</sup>. Celles-ci présentent à leur extrémité carboxy-terminale un site de régulation négative centré sur une tyrosine (Y<sub>505</sub> pour p56<sup>lck</sup>). La phosphorylation de ce résidu a pour conséquence une réduction de l'activité PTK. En déphosphorylant les tyrosines régulatrices de p56<sup>lck</sup> et de p59<sup>lyn</sup>, CD45 maintiendrait ces PTK à un niveau d'activation basal [12]. Malgré tout, on ne peut écarter pour CD45 un rôle de régulateur négatif. En effet, CD45 peut *in vitro* déphosphoryler les formes phosphorylées sur tyrosine du polypeptide CD3 $\zeta$  requises pour l'activation lymphocytaire T induite par le complexe CD3/TCR [13].

### Les PTP cytoplasmiques

Deux PTP intracytoplasmiques à domaine SH2 ont été identifiées chez les vertébrés : SHP-1 (connue aussi sous le nom de PTP1C, HCP ou SH-PTP1) et SHP-2 (connue aussi sous le nom de PTP1D, Syp, SH-PTP2 ou SH-PTP2C) dont l'homologue chez la drosophile est Corkscrew (CSW) (figure 2). Alors que SHP-1 est exprimée en abondance dans les cellules hématopoïétiques, SHP-2 est exprimée de façon ubiquitaire. SHP-1 renferme deux domaines SH2 impliqués dans les interactions avec de nombreuses molécules de signalisation cellulaire. SHP-1 règle négativement la signalisation cellulaire en aval des récepteurs des cytokines, comme le récepteur de l'IFN- $\alpha/\beta$ , en déphosphorylant et en inactivant les

\* I: Ileu, V: Val, H: His, C: Cys, A: Ala, G: Gly, R: Arg, S: Ser, T: Thr, x: n'importe quel acide aminé.

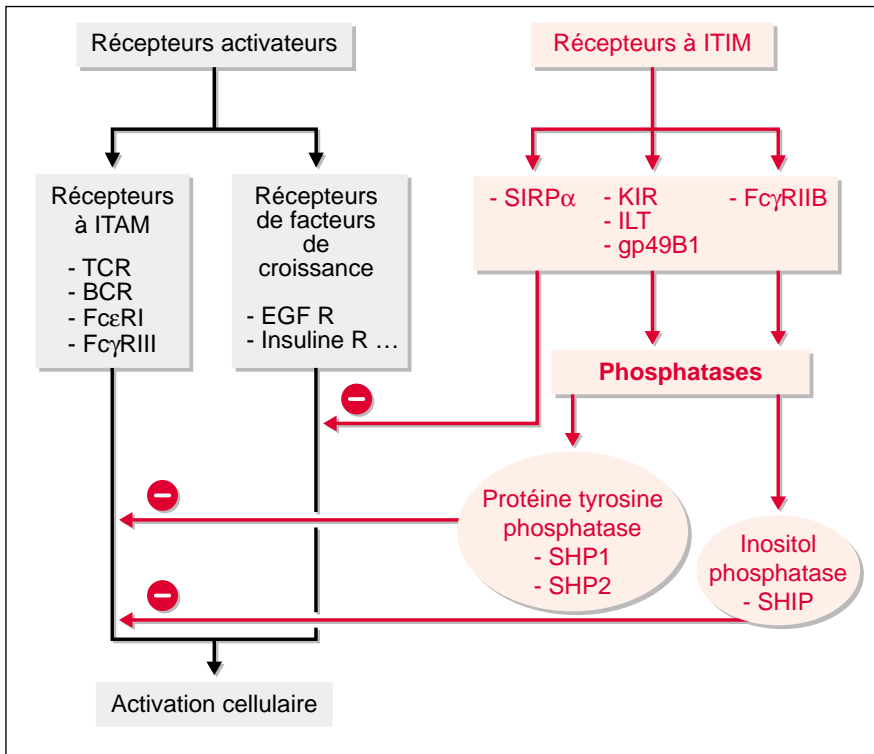


Figure 3. **Modèle de fonctionnement des récepteurs à ITIM** (immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif). Les récepteurs à ITIM sont capables d'inhiber les voies de transmission du signal activateur utilisées par au moins deux types de récepteurs : les récepteurs ayant une activité kinase intrinsèque et les récepteurs associés de manière transitoire à des phosphotyrosine-kinases. L'association entre les ITIM phosphorylés et les phosphatases est une caractéristique commune aux récepteurs à ITIM. ITAM : immunoreceptor tyrosine-based activation motif. Complexe CD3/TCR (T-cell receptor) : récepteur de l'antigène des lymphocytes T. BCR (B-cell receptor) : récepteur de l'antigène des lymphocytes B. FcεRI : récepteur de forte affinité des IgE présent sur les mastocytes et basophiles. FcγRIII : récepteur de basse affinité des IgG présent à la surface des monocytes et des lymphocytes NK. EGF R : epidermal growth factor receptor. SIRPα : signal-regulatory proteins, présentes de manière ubiquitaire à la surface des cellules. KIR : killer cell inhibitory receptor, récepteurs inhibiteurs présents à la surface des cellules T et NK. ILT : immunoglobulin-like transcripts exprimés à la surface des monocytes, lymphocytes B et NK. gp49B1 est présente à la surface des mastocytes et des NK murins. FcγRIIB : récepteur de basse affinité du fragment Fc des immunoglobulines G.

PTK de la famille Janus associées à ces récepteurs (JAK) [14]. SHP-1 s'associe également au récepteur de l'érythropoïétine (EpoR) et inactive la kinase Jak2, abrogeant ainsi la prolifération cellulaire induite par l'érythropoïétine (*m/s n° 6, vol. 11, p. 927*) [15]. De même, par son activité PTP, SHP-1 règle négativement les signaux d'activation en aval du récepteur du *stem cell factor* (c-Kit) et du récepteur de l'IL-3 [16]. SHP-1 règle aussi les cascades d'activation en aval du complexe CD3/TCR. En effet, les thymocytes et les lymphocytes T périphériques de la souris *motheaten*, génétiquement déficiente en SHP-1, prolifèrent de ma-

nière accrue en réponse à la stimulation du complexe CD3/TCR [17]. Parallèlement, on constate dans les lymphocytes T de ces souris, une hyperphosphorylation sur résidu tyrosine de nombreuses protéines. Ainsi, SHP-1 déphosphoryle les composants du complexe CD3/TCR et/ou des effecteurs de la cascade d'activation tels que ZAP-70 (*m/s n° 8-9, vol. 12, p. 990*) [18] ou ceux recrutés par les domaines SH2 de Vav ou de Grb2. Enfin, SHP-1 est aussi impliquée dans la régulation des voies d'activation cellulaire déclenchée par l'engagement du récepteur de l'IL-4 en induisant la déphosphorylation de la sous-unité régu-

latrice (85 kDa) de la phosphatidylinositol 3-kinase (PI 3-kinase) dans des cellules B humaines [19].

Malgré une homologie de séquence significative, il semblerait que SHP-1 et SHP-2 assurent des rôles biologiques distincts [20]. Ainsi, par ses domaines SH2, SHP-2 est recrutée par le récepteur du PDGF (PDGFR), le récepteur de l'IL-2 (IL-2R) [21], le récepteur de l'EGF (EGFR) [22]. SHP-2 est également recrutée par le récepteur de l'insuline (IR), et il a été clairement démontré que SHP-2 joue un rôle d'adaptateur pour le substrat du récepteur de l'insuline, IRS-1 [23]. En outre, après son recrutement, SHP-2 est phosphorylée sur de nombreux résidus tyrosine et s'associe à d'autres protéines telles que Grb2 [24], la sous-unité p85 de la PI3-kinase ou Shc [25]. De même, SHP-2 règle positivement les voies de signalisation dépendantes des kinases JAK/STAT que l'on retrouve en aval des récepteurs de l'IFN α/β [26], du récepteur de l'IL-3 et du GM-CSF [27], du récepteur de la prolactine (PRLR) [28]. À l'inverse, SHP-2 pourrait jouer un rôle de régulateur négatif de la transmission des signaux en aval du complexe CD3/TCR par son interaction avec le récepteur de surface CTLA-4 [29]. Pour conclure, il semble que SHP-1 et SHP-2 puissent avoir un rôle de régulateur négatif ou positif de la transmission du signal, fonction du type cellulaire envisagé et/ou de la nature de la stimulation [30].

### SHIP, une nouvelle polyphosphate-5 phosphatase

Le cas des inositol phosphatases fait actuellement l'objet de spéculations, notamment depuis la mise en évidence d'une inositol 5-phosphate phosphatase nommée SHIP (*SH2-containing inositol 5-phosphatase*) (*m/s n° 12, vol. 12, p. 1417*) [30]. A la différence de la plupart des 5-phosphatases qui hydrolysent des phosphatidylinositol<sub>4,5</sub> bisphosphate (PI<sub>4,5</sub>-P<sub>2</sub>) ou des inositol<sub>1,4,5</sub> trisphosphate (I<sub>1,4,5</sub>-P<sub>3</sub>), SHIP hydrolyse sélectivement le phosphate en position 5 des phosphatidylinositol<sub>3,4,5</sub> trisphosphates (PI<sub>3,4,5</sub>-P<sub>3</sub>) ou des inositol<sub>1,3,4,5</sub> tétraphosphates (I<sub>1,3,4,5</sub>-P<sub>4</sub>). SHIP semble impliquée dans des cascades de signalisation positive. Ainsi à la suite de la stimulation de nombreux récepteurs (PDGFR,



Superfamille	Molécule	Séquence	Résidu tyrosine
Immunoglobulines	FcγRIIB	AENT <b>ITY</b> SL <b>LM</b> HP	Y274
	KIR.1	DPQEV <b>TYAQL</b> NHC	Y303
	KIR.2	DPQEV <b>TYAQL</b> NHC	Y330
	CD22β.1	MDEG <b>ISY</b> T <b>TL</b> RFP	Y762
	CD22β.2	EDEG <b>IHY</b> SE <b>L</b> IQF	Y822
	CD22β.3	AQENV <b>DYV</b> ILK	Y842
	<i>ILT-2.1</i>	DPQAV <b>TYAEV</b> KHS	Y79
	<i>ILT-2.1</i>	APQD <b>VTYAQL</b> HSL	Y131
	<i>SIRPα.1</i>	DTND <b>ITYAD</b> L <b>N</b> LP	Y430
	<i>SIRPα.1</i>	SEDT <b>LTYAD</b> L <b>DM</b> V	Y471
	<i>CD66.1</i>	KMNE <b>VTYST</b> L <b>N</b> FE	Y492
<i>CD66.1</i>	TATE <b>IIV</b> SE <b>V</b> KKQ	Y520	
Lectines	NKG2A/B.1	DNQGV <b>IYSD</b> L <b>N</b> LP	Y8
	NKG2A/B.2	TEQE <b>ITYAE</b> L <b>N</b> LQ	Y40
	<i>CD72.1</i>	MAEA <b>ITYAD</b> L <b>R</b> FV	Y7
	<i>CD72.2</i>	DDGE <b>ITYEN</b> V <b>Q</b> VP	Y39

Figure 4. **Alignement des motifs ITIM chez l'homme.** Les enchaînements de 13 acides aminés contenant les ITIM (I/V/LxYxxL/V)\* connus chez l'homme sont indiqués. Les récepteurs en italiques représentent des récepteurs à ITIM potentiels, mais non encore démontrés comme tels. La tyrosine des ITIM a été numérotée à partir de la méthionine amino-terminale des divers récepteurs humains indiqués. Huit molécules (ou groupes de molécules, KIR par exemple) forment la famille des récepteurs à ITIM chez l'homme. Ces récepteurs sont très largement distribués dans le système hématopoïétique (FcγRIIB, ILT, par exemple), mais sont aussi exprimés en dehors du système hématopoïétique (exemple: SIRPα), et servent de récepteurs à une multitude de ligands (exemples: IgG pour FcγRIIB, MHC classe I pour les KIR, CD5 pour CD72).

Epo-R), SHIP coprécipite avec Shc [31]. De plus, la liaison de l'IL3 à son récepteur entraîne la phosphorylation de SHIP et son association au domaine PTB de Shc [32]. SHIP peut aussi se fixer *via* son domaine SH2 à des polypeptides (FcεRIγ) associés au récepteur de forte affinité pour le fragment Fc des IgE (FcεRI).

### Phosphatases et récepteurs inhibiteurs à ITIM

Les phosphatases SHP-1, SHP-2 et SHIP sont aussi impliquées dans le mode d'action d'une nouvelle famille de récepteurs inhibiteurs, les récepteurs à ITIM (*immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs*) (figure 3). Les ITIM sont présents dans de nombreux récepteurs hématopoïétiques (figure 4), et règlent négativement l'activation des lymphocytes (T, B, NK) et des mastocytes induite par les récepteurs des antigènes (complexe CD3/TCR, BCR) et des anticorps (FcγRIII, FcεRI). Les ITIM sont des motifs peptidiques intra-

cytoplasmiques (I/L/V)xYxx(L/V)\* qui transmettent des signaux de régulation négative de l'activation cellulaire. Les récepteurs à ITIM sont potentiellement impliqués dans plusieurs situations physiopathologiques telles que l'allergie, l'acceptation/rejet de greffe de moelle osseuse et l'auto-immunité [33]. Récemment, l'identification d'une nouvelle catégorie de récepteurs de surface, les SIRPα (*signal regulatory proteins α*) a étendu le concept des récepteurs à ITIM à l'extérieur du système hématopoïétique, puisque les SIRPα peuvent inhiber la prolifération cellulaire induite par les récepteurs des facteurs de croissance (récepteur de l'EGF, récepteur de l'insuline) et par la transformation tumorale [34]. Les motifs ITIM fonctionnent par phosphorylation de leur résidu tyrosine et les ITIM phosphorylés sont alors reconnus spécifiquement par les groupements SH2 de deux caté-

\*I: Ileu, L: Leu, V: Val, Y: Tyr, x: n'importe quel acide aminé.

gories de phosphatases: les PTP SHP-1 et SHP-2 et l'inositol phosphatase (SHIP). Les récepteurs à ITIM fonctionnent par co-agrégation (Tableau I). Ce dernier point est particulièrement important, car il assure la spécificité de l'inhibition relayée par les récepteurs à ITIM: seuls les récepteurs activateurs co-engagés avec les récepteurs à ITIM seront inhibés, laissant intact le fonctionnement d'autres récepteurs exprimés par la même cellule. On a récemment montré que le recrutement différentiel des phosphatases SHP-1 et SHIP par les KIR (*killer cell inhibitory receptor*) et FcγRIIb1 respectivement [35, 36], a des conséquences fonctionnelles importantes. Le recrutement de SHP-1 déclenche son activité phosphatasique et induit la déphosphorylation de protéines phosphorylées sur résidu tyrosine incluses dans les cascades d'activation (*m/s n° 8-9, vol. 12, p. 990*) (exemple: ZAP-70, PLC-γ et pp36-38). *A contrario*, il est suggéré que le recrutement de SHIP se traduit par une altération du métabolisme des phospholipides à inositol. En particulier, il est tentant de spéculer que la transformation de phosphatidyl inositol-3, 4, 5 trisphosphate en phosphatidyl inositol 3, 4 bisphosphate altère l'activité de la sérine/thréonine protéine-kinase B [37].

### Phosphatases et pathologie

Enfin, certains déficits génétiques spontanés ou induits ont permis de révéler le rôle majeur joué par les PTP dans le contrôle de l'homéostasie cellulaire. Ainsi, il est à noter que l'inactivation du gène codant pour SHP-2 entraîne une mort précoce des embryons [38].

#### • PTP et auto-immunité

La souris *motheaten* est une souris ayant une mutation spontanée dans le locus *me*, découverte il y a environ vingt ans. On a récemment localisé au niveau de ce locus, le gène codant pour SHP-1. La souris *me* n'exprime pas SHP-1 car la mutation est située dans la région codant pour le domaine SH2 de SHP-1, entraînant un épissage défectueux et une terminaison précoce de la transcription. Un allèle de *me*, nommé *viable motheaten* (*me<sup>v</sup>*) présente, quant à lui, une mutation

Tableau I

## DÉFINITION DES RÉCEPTEURS À ITIM

**Une définition provisoire des récepteurs à ITIM est proposée en fonction des données actuelles**

- Les molécules présentant des ITIM inhibent les cascades d'activation cellulaire dépendant des récepteurs activateurs à ITAM.
- Les molécules à ITIM présentent dans leurs domaines cytoplasmiques une séquence d'acides aminés conservées I/L/VxYxxL/V.
- Les molécules présentant des ITIM doivent être co-agrégées avec les récepteurs à ITAM pour exercer leurs fonctions inhibitrices.
- Les ITIM sont phosphorylés sur tyrosine après activation cellulaire.
- Après phosphorylation, les récepteurs à ITIM recrutent des phosphatases présentant des domaines SH2.

ITIM : immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif.

ITAM : immunoreceptor tyrosine-based activation motif.

ponctuelle dans la région codant pour le domaine catalytique de SHP-1. Cette souris exprime le gène *SHP-1* à des niveaux considérablement réduits [12]. Ces souris *me* et *me'* présentent

de courtes durées de vie (respectivement 3 et 9 semaines) et un profond syndrome de dysrégulation immunitaire, évoquant un tableau clinique d'auto-immunité.

## \* GLOSSAIRE \*

**BCR**: récepteur de l'antigène des lymphocytes B (B-cell receptor).

**ITAM**: motif d'activation des récepteurs du système immunitaire fondé sur les résidus tyrosine (immunoreceptor tyrosine-based activation motif)

**ITIM**: motif d'inhibition des récepteurs du système immunitaire fondé sur les résidus tyrosine (immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif).

**KIR**: récepteur inhibiteur des antigènes de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité exprimé sur les lymphocytes T et NK (killer-cell inhibitory receptor).

**MAPK**: mitogen-associated protein kinase.

**PTP**: protéine-tyrosine phosphatase.

**PTK**: protéine-tyrosine kinase.

**CD3/TCR**: récepteur de l'antigène des lymphocytes T (T-cell receptor).

**Shc**: protéine adaptatrice cellulaire qui s'associe en particulier à Fab-2.

**Grb2**: protéine adaptatrice cellulaire qui active, avec Sos, le proto-oncogène Ras et la cascade des MAPK.

**SHIP**: phosphatase contenant des domaines SH2 capable de déphosphoryler des phosphatidyl-inositol polyphosphates (SH2-containing inositol 5-phosphatase).

**SHP-1/2**: phosphatases contenant des domaines SH2 et déphosphorylant des tyrosines (Src homology phosphatase 1 ou 2).

## • PTP et cancers

Un gène potentiellement suppresseur de tumeurs et appelé *PTEN* (phosphatase and tensin homolog) ou *MMAC1* (mutated in multiple advanced cancers 1) a été récemment identifié (*m/s n° 6-7, vol. 13, p. 678; n° 8-9, vol. 13, p. 1078*) [39]. La séquence en acides aminés du produit de ce gène présente une analogie structurale avec les PTP. Un grand pourcentage de tumeurs de la prostate et de glioblastomes présentent un nombre élevé de mutations de *PTEN*. Il est donc tentant de formuler l'hypothèse selon laquelle le produit du gène suppresseur de tumeur *PTEN* pourrait, par son activité phosphatase, contrebalancer les actions de nombreuses PTK produits d'oncogènes.

## • PTP et infections bactériennes

L'implication des PTP dans la pathogénie de certaines maladies infectieuses a également été démontrée. En effet, les bactéries du genre *Yersinia* (groupe de bactéries responsables de la peste bubonique, de lymphadénopathies mésentériques et de troubles digestifs) sécrètent au contact de leurs cellules hôtes des protéines appelées Yop (*Yersinia outer proteins*) [40]. En particulier, YopH est une PTP qui, une fois sécrétée par la bactérie, pénètre dans la cellule hôte et déphosphoryle une série de molécules impliquées dans la ré-organisation du cytosquelette (telles que

p130<sup>Cas</sup> et FAK) [41, 42]. La déphosphorylation de ces protéines stoppe la phagocytose de la bactérie par la cellule, ce qui représente une étape-clé de la pathogénie des membres du genre *Yersinia*.

La famille des phosphatases regroupe des dizaines de molécules transmembranaires ou cytoplasmiques, qui sont impliquées dans de nombreuses cascades de signalisation utilisées par les eucaryotes aussi bien que les procaroytes. De même que les efforts de Recherche et Développement visant à moduler les kinases se sont déployés récemment, la manipulation des phosphatases apparaît comme un enjeu majeur de la pharmacologie de demain ■

## RÉFÉRENCES

1. Fischer EH, Charbonneau H, Tonks NK. Protein tyrosine phosphatases: a diverse family of intracellular and transmembrane enzymes. *Science* 1991; 253: 401-6.
2. Chardin P. Dieu ne joue pas aux dés, il préfère le Lego. *Med Sci* 1997; 13: 627-8.
3. Weiss A, Littman DR. Signal transduction by lymphocyte antigen receptors. *Cell* 1994; 76: 263-74.
4. Desai CJ, Gindhart JG, Goldstein LS, Zinn K. Receptor tyrosine phosphatases are required for motor axon guidance in the drosophila embryo. *Cell* 1996; 84: 599-609.
5. Serra-Pages C, Kedersha NK, Fazikas L, Medley Q, Debant A, Streuli M. The LAR transmembrane protein tyrosine phosphatase and a coiled-coil LAR-interacting protein colocalize at focal adhesions. *EMBO J* 1995; 14: 2827-38.
6. Debant A, Serra-Pages C, Seipel K, et al. The multidomain protein Trio binds the LAR transmembrane tyrosine phosphatase, contains a protein kinase domain, and has separate rac-specific and rho-specific guanine nucleotide exchange factor domains. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 11: 5466-71.
7. Peles E, Nativ M, Campbell PL, et al. The carbonic anhydrase domain of receptor tyrosine phosphatase  $\beta$  is a functional ligand for the axonal cell recognition molecule contactin. *Cell* 1995; 82: 251-60.
8. Cheng J, Wu K, Armanini M, O'Rourke N, Dowbenko D, Lasky LA. A novel protein-tyrosine phosphatase related to the homotypically adhering kappa and mu receptors. *J Biol Chem* 1997; 272: 7264-77.
9. Brady-Kalnay SM, Rimm DL, Tonk NK. Receptor protein tyrosine phosphatase PTPmu associates with cadherins and catenins *in vivo*. *J Cell Biol* 1995; 130: 977-86.
10. Richard Y, Galanaud P. Signaux de la coopération T-B et production d'anticorps. *Med Sci* 1995; 11: 691-702.

## RÉFÉRENCES

11. Okumura M, Thomas ML. Regulation of immune function by protein tyrosine phosphatases. *Curr Opin Immunol* 1997; 7: 312-9.
12. Thomas ML. Positive and negative regulation of leukocyte activation by protein tyrosine phosphatases. *Semin Immunol* 1995; 7: 279-88.
13. Furukawa T, Itoh M, Krueger NX, Streuli M, Saito H. Specific interaction of the CD45 protein-tyrosine phosphatase with tyrosine phosphorylated CD3  $\zeta$  chain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 10928-32.
14. David M, Chen HE, Goelz S, Larner AC, Neel BG. Differential regulation of the alpha/beta interferon-stimulated Jak/Stat pathway by the SH2 domain-containing tyrosine phosphatase SHPTP1. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 7050-8.
15. Klingmüller U, Lorenz U, Cantley C, Neel B, Lodish HF. Specific recruitment of SH-PTP1 to the erythropoietin receptor causes inactivation of JAK2 and termination of proliferative signals. *Cell* 1995; 80: 729-38.
16. Yi T, Mui ALF, Krystal G, Ihle JN. Hematopoietic cell phosphatase associates with the interleukin-3 (IL-3) receptor  $\beta$  chain and down-regulates IL-3-induced tyrosine phosphorylation and mitogenesis. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 7577-86.
17. Lorenz U, Ravichandran KS, Burakoff SJ, Neel BG. Lack of SHPTP1 results in src-family kinase hyperactivation and thymocyte hyperresponsiveness. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 9624-9.
18. Plas DR, Johnson R, Pingel JT, et al. Direct regulation of ZAP-70 by SHP-1 in T cell antigen receptor signaling. *Science* 1996; 272: 1173-6.
19. Imani F, Rager KJ, Catipovic B, Marsh DG. Interleukin-4 (IL-4) induces phosphatidylinositol 3-kinase (p85) dephosphorylation. *J Biol Chem* 1997; 272: 7927-31.
20. Neel BG, Tonks NK. Protein tyrosine phosphatases in signal transduction. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9: 193-204.
21. Nelson BH, McIntosh BC, Rosencrans LL, Greenberg PD. Requirement for an initial signal from the membrane-proximal region of the interleukin 2 receptor  $\gamma$  chain for Janus kinase activation leading to T cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 1878-83.
22. Wong L, Johnson GR. Epidermal growth factor induces coupling of protein-tyrosine phosphatase 1D to Grb2 via the COOH-terminal SH2 domain of Grb2. *J Biol Chem* 1996; 271: 20981-4.
23. Rocchi S, Tartare-Deckert S, Sawka-Verhelle D, Gamba A, Van Obbergen E. Interaction of SH2-containing protein tyrosine phosphatase 2 with the insulin-like growth factor receptor: studies of the domains involved using the yeast two-hybrid system. *Endocrinology* 1996; 137: 4944-52.
24. Yin T, Shen R, Feng GS, Yang YC. Molecular characterization of specific interactions between SHP-2 phosphatase and JAK tyrosine kinases. *J Biol Chem* 1997; 272: 1032-7.
25. Okada N, Wada K, Goldsmith BA, Koizumi S. SHP-2 is involved in neurotrophin signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 229: 607-11.
26. David M, Zhou GC, Pine R, Dixon JE, Larner AC. The SH2 domain-containing tyrosine phosphatase PTP1D is required for interferon  $\alpha/\beta$ -induced gene expression. *J Biol Chem* 1996; 271: 15862-5.
27. Watanabe S, Itoh T, Arai K. Role of JAK kinases in human GM-CSF receptor signal transduction. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98: S183-91.
28. Ali S, Chen Z, Lebrun JJ, Kharitonov A, Kelly PA, Ullrich A. PTP1D is a positive regulator of the prolactin signal leading to  $\beta$ -casein promoter activation. *EMBO J* 1996; 15: 135-42.
29. Marengère LEM, Waterhouse P, Duncan GS, Mitrücker HW, Feng GS, Mak TW. Regulation of T cell receptor signaling by tyrosine phosphatase SYP association with CTLA-4. *Science* 1996; 272: 1170-3.
30. Rivard N, McKenzie FR, Brondello JM, Pouyssegur J. The phosphotyrosine phosphatase PTP1D, but not PTP1C, is an essential mediator of fibroblast proliferation induced by tyrosine kinase and G protein-coupled receptors. *J Biol Chem* 1995; 270: 11017-24.
31. Damen JE, Liu L, Rosten P, et al. The 145-kDa protein induced to associate with Shc by multiple cytokines is an inositol tetraphosphate and phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate 5-phosphatase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 1689-93.
32. Lioubin MN, Algate PA, Tsai S, Carlberg K, Aebersold R, Rohrschneider LR. p150<sup>SHIP</sup>, a novel transduction molecule with inositol polyphosphate-5-phosphatase activity. *Genes Dev* 1996; 10: 1084-95.
33. Vivier E, Daéron M. Immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs (ITIMs). *Immunol Today* 1997; 18: 286-91.
34. Kharitonov A, Chen Z, Sures I, Wang H, Schilling J, Ullrich A. A family of proteins that inhibit signalling through tyrosine kinase receptors. *Nature* 1997; 386: 181-6.
35. Vély F, Olivero S, Olcese L, et al. Differential association of phosphatases with hematopoietic co-receptors bearing immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs. *Eur J Immunol* 1997; 27: 1994-2000.
36. Ono M, Okada H, Bolland S, Yanagi S, Kurosaki T, Ravetch JV. Deletion of SHIP or SHP-1 reveals two distinct pathways for inhibitory signaling. *Cell* 1997; 90: 293-301.
37. Hemmings BA. PtdIns(3,4,5)P3 gets its message across. *Science* 1997; 277: 534.
38. Saxton TM, Henkemeyer M, Gasca S, et al. Abnormal mesoderm patterning in mouse embryos mutant for the SH2 tyrosine phosphatase Shp-2. *EMBO J* 1997; 16: 2352-64.
39. Li J, Yen C, Liaw D, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science* 1997; 275: 1943-7.
40. Cornélis G. Le plasmide pYV, élément-clé de la virulence des *Yersinia*. *Med Sci* 1995; 11: 1295-304.
41. Finlay BB, Cossart P. Exploitation of mammalian host cell functions by bacterial pathogens. *Science* 1997; 276: 718-25.
42. Persson C, Carballeira N, Wolf-Watz H, Fällman M. The PTPase YopH inhibits uptake of *Yersinia*, tyrosine phosphorylation of p130<sup>Cas</sup> and FAK, and the associated accumulation of these proteins in peripheral focal adhesions. *EMBO J* 1997; 16: 2307-18.

## Summary

### Control of cell activation by phosphatases

Phosphatases constitute a group of enzymes which are distinguished by their cellular expression, their substrate specificity, as well as their function in the cellular homeostasis. Phosphatases can be expressed as transmembrane proteins, involved in cell adhesion, differentiation and/or cell migration. Phosphatases can also be cytosolic enzymes primarily involved in cell signal transduction. Among the members of the vast phosphatase family, protein tyrosine phosphatases (PTP) regulate the level of protein phosphorylation on tyrosine residues in concert with the reciprocal enzymes, protein tyrosine kinases (PTK). Tyrosine phosphorylation is a post-transcriptional modification which affects the intracytoplasmic domain of integral receptors as well as cytosolic molecules mainly involved in signal transduction pathways. Regulation of signal transduction ensured by SH2-domain containing phosphatases is of special interest. These protein tyrosine phosphatases control signal transduction downstream of various cell surface receptors and can act positively or negatively, either by dephosphorylating critical tyrosine residues or by acting as adaptor molecules. Taken together, these observations suggest that cells display a large variety of strategies based on phosphatases, which allow a fine tuning between activation and inhibitory pathways.