

***L* La cascade Notch : des protéases constitutives sont impliquées dans la transmission d'un signal inductible**

La voie de signalisation Notch est très généralement utilisée au cours du développement comme signal permissif pour la différenciation cellulaire. Son fonctionnement a été mis en évidence dans des phénomènes aussi divers que la différenciation neuronale ou musculaire, la somitogénèse ou l'émergence de l'oreille interne. Au sein d'un groupe de cellules équivalentes, certaines cellules portant le récepteur Notch reçoivent un signal d'inhibition latérale envoyé par une ou des cellules voisines. Elles sont alors restreintes dans leur capacité de se différencier, alors que les cellules émettrices du signal poursuivent leur différenciation [1]. Cette voie de signalisation est conservée au cours de l'évolution, depuis *C. elegans* jusqu'aux vertébrés. Un nombre croissant de gènes impliqués dans cette cascade sont connus, bien que les mécanismes moléculaires précis induisant l'activation ou la répression de gènes cibles restent partiellement incompris. Les récepteurs Notch (au nombre de 4 chez les mammifères, 1 chez la drosophile, 2 chez *C. elegans*), ainsi que leurs ligands (Delta et Serrate chez la drosophile, Delta 1 à 3 et Jagged 1 et 2 chez les mammifères) sont des protéines transmembranaires présentant des répétitions EGF à la surface cellulaire, nécessaires à l'interaction ligand-récepteur.

Il a été montré d'abord sur des formes constitutivement actives de Notch délétées des répétitions EGF [2] puis plus récemment sur le récepteur entier ([3] chez les mammifères,

[4] chez la drosophile) que la liaison du ligand induit un clivage protéolytique intracellulaire du récepteur (coupure 3 dans *figure 1B*). Le domaine intracytoplasmique de Notch migre alors dans le noyau où il utilise la protéine Su(H) (CBF1-RBP chez les mammifères) comme intermédiaire pour se fixer spécifiquement à l'ADN et stimuler la transcription de gènes cibles [1, 5].

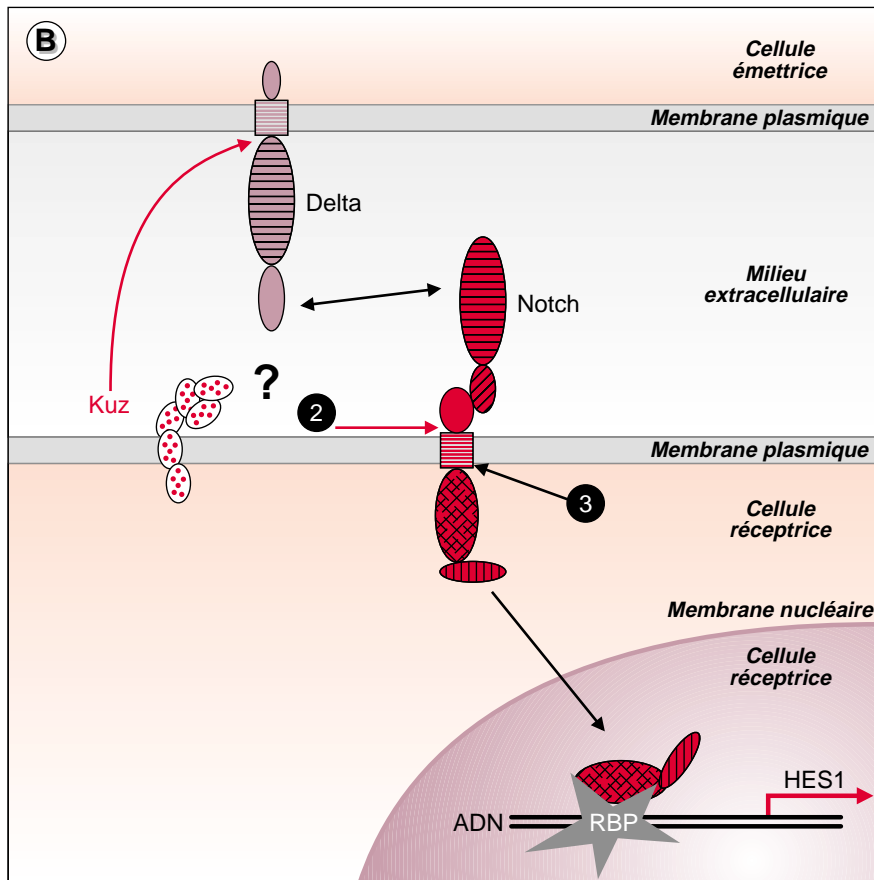
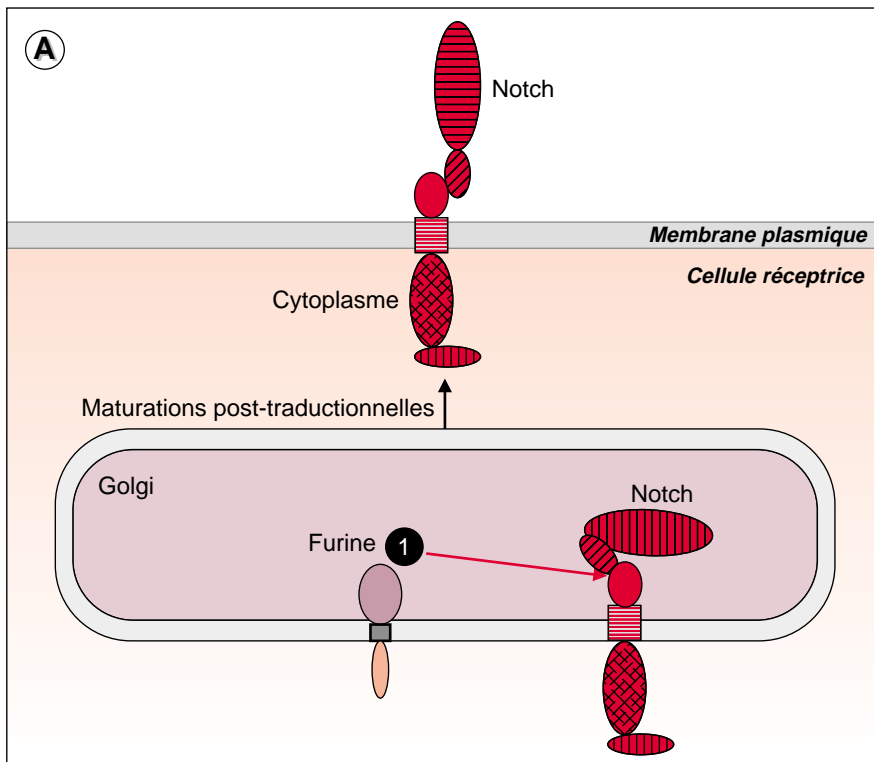
Alors que la protéase responsable de cette activité est encore inconnue, deux autres protéases ont été récemment impliquées dans cette voie de signalisation. Des données génétiques chez la drosophile ont mis en cause une métalloprotéase de la famille ADAM (*m/s* 1999, n° 1, p. 117), Kuzbanian (Kuz) ou ADAM 10, dans la voie de signalisation. Elle agirait dans la cellule receveuse du signal, mais en amont de la coupure intracellulaire [6-8] puisque l'activité n'est pas nécessaire pour les formes constitutivement actives de Notch. Par ailleurs, l'étude de la structure du récepteur avait révélé qu'il était présenté à la surface cellulaire sous forme hétérodimérique, probablement parce qu'il subit une maturation protéolytique post-traductionnelle dans le Golgi. Les auteurs avaient conclu que Kuz était responsable de cette coupure constitutive [7].

Cependant, les données biochimiques de Logeat *et al.* [9] mettent en cause une protéase de la famille des subtilisines, la furine, dans ce mécanisme (coupure 1 dans la *figure 1A*). En effet

le récepteur n'est ni mûri ni présenté à la membrane dans une lignée cellulaire déficiente en furine. En outre, l'enzyme pure recombinante est capable *in vitro* de couper Notch à un site dont la mutation abolit la maturation *in vivo* et *in vitro*. Afin de concilier les données biochimiques et génétiques, les auteurs ont proposé un modèle dans lequel Kuz interviendrait après la liaison du ligand sur le récepteur pour couper le récepteur près de la membrane (coupure 2, *figure 1B*) et fournir alors un substrat à la troisième protéase.

Un article récent du groupe de S. Artavanis-Tsakonas [10] modifie encore ce modèle puisqu'il montre que chez la drosophile, Kuz est capable de couper Delta et de relarguer un ligand soluble dans le milieu extracellulaire (*figure 1B*).

Un crible génétique chez la drosophile pour des gènes capables de moduler le phénotype associé à la surexpression d'une forme dominante négative de Kuz (KuzDN) a permis l'identification de Delta comme gène dont la duplication contre les effets de KuzDN. Puis la co-expression dans des cellules en culture de Delta et Kuz a permis de montrer qu'effectivement un fragment extracellulaire de Delta est sécrété dans le milieu en quantité proportionnelle à celle de Kuz, ce qui ne se produit pas pour Notch s'il est co-exprimé avec Kuz. En outre, le domaine extracellulaire de Delta soluble ainsi produit peut agir



comme un ligand fonctionnel de Notch pour inhiber la différenciation de neurones en culture. Ces données assez convaincantes ouvrent la voie à de nouvelles spéculations. Delta est-il vraiment un ligand fixé sur la cellule émettrice du signal, comme le veut le modèle classique d'inhibition latérale, ou agit-il comme ligand diffusible? Les deux possibilités sont conciliables puisque la génétique montre que Kuz est porté par la cellule réceptrice du signal: même si le ligand est formellement soluble lorsqu'il se lie au récepteur, les deux cellules doivent être voisines pour que la protéase Kuz, elle-même une protéine transmembranaire, fonctionne en *trans*. L'existence d'une protéase, qui pourrait même être Kuz, coupant Notch seulement après son interaction avec le ligand (coupure 2 dans *figure 1B*) reste théoriquement possible, même si aucune donnée ne le prouve actuellement. Enfin, il reste à savoir si tous les ligands fonctionnent de la même manière ou si des différences de mécanismes sont responsables de leurs différences fonctionnelles au cours du développement.

C.B.

1. Schweisguth F, Israël A. Signalisation intercellulaire par le récepteur Notch: conservation de la drosophile aux mammifères. *Med Sci* 1996; 12: 155-63.

2. Kopan R, Schroeter E, Weintraub H, Nye J. Signal transduction by activated mNotch: importance of proteolytic processing and its regulation by the extracellular domain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 1683-8.

◀ **Figure 1. Biologie du facteur Notch.** **A.** Maturation post-traductionnelle du récepteur Notch par la furine (coupure 1) et présentation sous forme hétérodimérique à la surface cellulaire. **B.** Modèle d'activation du récepteur Notch. La protéase Kuz, portée par la cellule receveuse du signal, couperait le ligand Delta. Notch activé par son ligand subirait une coupure protéolytique extracellulaire (coupure 2). Puis une protéase intracellulaire (coupure 3) libérerait sa partie transcriptionnellement active.

3. Schroeter E, Kisslinger J, Kopan R. Notch1 signaling requires ligand-induced proteolysis of intracellular domain. *Nature* 1998; 393: 382-6.
 4. Kidd S, Lieber T, Young M. Ligand-induced cleavage and regulation of nuclear entry of Notch in *Drosophila melanogaster* embryos. *Genes Dev* 1998; 12: 3728-40.
 5. Jarriault S, Brou C, Logeat F, Schroeter E, Kopan R, Israël A. Signaling downstream of activated mammalian Notch. *Nature* 1995; 377: 355-8.

6. Rooke J, Pan D, Xu T, Rubin G. KUZ, a conserved metalloprotease-disintegrin protein with two roles in *Drosophila* neurogenesis. *Science* 1996; 273: 1227-30.
 7. Pan D, Rubin G. Kuzbanian controls proteolytic processing of Notch and mediates lateral inhibition during *Drosophila* and Vertebrate neurogenesis. *Cell* 1997; 90: 271-80.
 8. Sotillos S, Roch F, Campuzano S. The metalloprotease-disintegrin Kuzbanian participates in

Notch activation during growth and patterning of *Drosophila* imaginal discs. *Development* 1997; 124: 4769-79.

9. Logeat F, Bessia C, Brou C, *et al.* The Notch1 receptor is cleaved constitutively by a furin-like convertase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 8108-12.
 10. Qi H, Rand M, Wu X, Sestan N, Wang W, Rakic P, Xu T, Artavanis-Tsakonas S. Processing of the Notch ligand Delta by the metalloprotease Kuzbanian. *Science* 1999; 283: 91-4.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **MyoR: un contre pouvoir à myoD dans les cellules musculaires embryonnaires.** La détermination et la différenciation des cellules participant à la formation des muscles squelettiques sont orchestrées par une famille de facteurs transcriptionnels spécifiques de ce lignage, les facteurs à domaine hélice-boucle-hélice basique (bHLH) de la famille MyoD [1]. Ces facteurs myogéniques bHLH activent la transcription des gènes musculaires en se fixant, sous forme d'hétérodimères avec des facteurs bHLH ubiquitaires (appelées protéines E), sur les « boîtes E » présentes dans les régions régulatrices de ces gènes. La surexpression de l'un ou l'autre des membres de cette famille (MyoD, Myf5, myogénine et MRF4) dans une variété de cellules non musculaires entraîne l'activation d'un programme de différenciation musculaire. L'invalidation génique de chacun de ces facteurs myogéniques et la combinaison des mutations correspondantes chez la souris ont permis de confirmer de façon éclatante leur rôle crucial à différentes étapes de la myogenèse (*m/s*

1996, n°5, p. 639) [2]. Compte tenu de leur forte potentialité à induire un programme myogénique, il n'est pas surprenant que l'on ait découvert divers mécanismes contrôlant ces propriétés, permettant ainsi d'éviter une différenciation prématurée des myoblastes proliférants (dans lesquels MyoD et Myf5 sont exprimés) et le développement ectopique de muscle. Dans ce cadre, un nouveau membre de la famille bHLH qui vient d'être décrit [3], MyoR (*myogenic repressor*), spécifique du lignage musculaire et exprimé dans les myoblastes proliférants, pourrait jouer un rôle essentiel dans la modulation du programme myogénique. Comme le facteur inhibiteur HLH Id, MyoR forme des hétérodimères avec les protéines E, mais alors que Id, dépourvu de domaine basique, agit uniquement en séquestrant les partenaires des bHLH myogéniques, MyoR est capable de se fixer sur les mêmes cibles que les facteurs myogéniques (les boîtes E) et agit comme un puissant répresseur transcriptionnel de la myogenèse. *In vitro* l'expression de *MyoR* cesse lorsque les myo-

blastes se différencient. Cependant *in vivo* chez la souris, l'expression de *MyoR* n'est importante que dans certains muscles du tronc en développement, et cela à un stade déjà avancé de la myogenèse (entre E10,5 et E16,6). A ce stade, les fibres musculaires qui expriment *MyoR* synthétisent les quatre facteurs myogéniques et des marqueurs de la différenciation comme les protéines contractiles. Les auteurs suggèrent que *MyoR* n'interviendrait pas dans la phase initiale du programme myogénique mais plutôt pour retarder, peut-être de façon sélective, l'expression de certains gènes musculaires au cours de la myogenèse primaire. Bien que ce dernier point reste à démontrer, il pourrait rendre compte de l'activation de certains gènes musculaires uniquement au cours de la myogenèse secondaire.

[1. Maire P, Spitz F. *Med Sci* 1997; 13: 1182-4.]

[2. Concordet J. *Med Sci* 1992; 8: 1091-6.]

[3. Lu J, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 552-7.]



INSTITUTO DI RICERCHE DI BIOLOGIA MOLECOLARE P. ANGIOLI



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA "LA SAPIENZA"