

Tension cellulaire et trafic des intégrines

Anne-Pascale Bouin, Alexander Kyumurkov, Emmanuelle Planus, Corinne Albiges-Rizo

Université Grenoble Alpes, Inserm 1209, CNRS UMR5309, Institut pour l'avancée des biosciences, Grenoble, France.

anne-pascale.bouin@univ-grenoble-alpes.fr

emmanuelle.planus@univ-grenoble-alpes.fr

corinne.albiges-rizo@univ-grenoble-alpes.fr

> La tension cellulaire est associée à la contractilité cellulaire, un mécanisme dynamique gouvernant la forme, la migration et la différenciation cellulaires, ce qui explique son implication dans divers contextes physiologiques ou pathologiques [1]. La tension cellulaire est en partie régulée par l'activité de récepteurs transmembranaires, les intégrines. Celles-ci permettent à la cellule de percevoir son microenvironnement en détectant les signaux chimiques, physiques et mécaniques de la matrice extracellulaire, et en organisant des structures d'ancrage, appelées adhérences focales, connectées à son système contractile actine-myosine [2]. La contractilité d'une cellule explorant un microenvironnement riche en fibronectine résulte de l'interaction des intégrines $\alpha 5\beta 1$ et $\alpha v\beta 3$ avec leur ligand matriciel, ce qui provoque leur changement conformationnel à l'origine de la transition d'une forme repliée inactive (de faible affinité pour le ligand) à une forme déployée active (de forte affinité pour le ligand). Ces deux intégrines coopèrent pour ajuster la durée de vie des adhérences focales, ainsi que les forces d'adhérence et de traction, en réponse aux propriétés mécaniques de l'environnement [3]. Les intégrines $\alpha 5\beta 1$ et $\alpha v\beta 3$ sont fonctionnellement distinctes, mais il reste à découvrir comment elles sont régulées de manière coordonnée pour orchestrer l'assemblage et le désassemblage des sites d'adhérence, ainsi que les forces de traction.

Mécanisme de régulation de l'internalisation des intégrines pour contrôler la contractilité cellulaire

Le renforcement de l'adhérence et de la contractilité cellulaire résulte de

l'inhibition des processus impliqués dans le désassemblage des adhérences focales, comme la perte de tension cellulaire consécutive à l'inhibition de la GTPase Rho, le ciblage des structures d'adhérence par les microtubules, ou l'endocytose des intégrines [4]. Le trafic des intégrines dépendant de la clathrine, essentiel pour le désassemblage des adhérences focales, implique les domaines intracellulaires de leurs sous-unités α et β . L'état de tension de la cellule peut contrôler l'internalisation des intégrines en contrôlant la dynamique du manteau de clathrine à la membrane plasmique [5], mais on ignore si, réciproquement, l'internalisation des intégrines influe sur les propriétés mécaniques de la cellule. Des adaptateurs cytoplasmiques contrôlent le regroupement et l'activation des intégrines. Ils modulent l'affinité de liaison des intégrines pour leur ligand matriciel et permettent l'échafaudage d'un complexe moléculaire multi-modal qui permet notamment la connexion avec le complexe actine-myosine du cytosquelette [6]. Ainsi la taline et la kindline sont des adaptateurs qui activent les intégrines et participent à l'assemblage des adhérences focales, tandis que la protéine ICAP-1 (*integrin cytoplasmic domain-associated protein-1*) inhibe cet assemblage par compétition avec la kindline [7, 8]. Alors qu'on connaissait la contribution de la taline, un activateur de l'intégrine, dans le développement de la contractilité cellulaire et des forces de traction, l'implication des inhibiteurs comme ICAP-1 dans la régulation de ces processus était moins

documentée. ICAP-1 s'avérait être un bon candidat pour contrôler le lien entre internalisation des intégrines et propriétés mécaniques des cellules. En effet, ICAP-1 est un acteur majeur de l'adaptation mécanique des cellules à leur environnement [9, 10], et c'est un partenaire de la nucléoside diphosphate kinase NME2 [11], qui catalyse la synthèse des nucléosides triphosphates (GTP) et alimente la dynamine en GTP pour achever le processus d'endocytose dépendante de la clathrine [12]. Notre équipe de recherche est parvenue à mettre en évidence le mécanisme impliquant ICAP-1 dans l'endocytose des intégrines et la mécano-transduction cellulaire [13]. ICAP-1 agit ici comme une protéine adaptatrice en permettant le recrutement de NME2 pour contrôler l'endocytose des intégrines localisées en bordure des adhérences focales. En plaçant NME à proximité des intégrines $\alpha 5\beta 1$ et $\alpha v\beta 3$, avec AP2 (*adaptor protein 2*) et la dynamine, ICAP-1 permet d'alimenter la dynamine en GTP dans les puits à clathrine afin d'assurer la fission des vésicules et l'endocytose des intégrines (Figure 1). Ce trafic des intégrines limite non seulement la maturation des adhérences focales, mais aussi la contractilité cellulaire et par conséquent la formation des fibrilles de fibronectine¹ dans le microenvironnement.

¹ La fibronectine est sécrétée dans la matrice extracellulaire par la cellule sous la forme d'une macromolécule globulaire dimérique soluble, avant d'être convertie en un réseau fibrillaire insoluble. L'organisation de la fibronectine en fibrilles (fibrillogenèse) nécessite l'étirement mécanique de la molécule via sa liaison aux intégrines et la contraction du cytosquelette d'actine par la myosine.



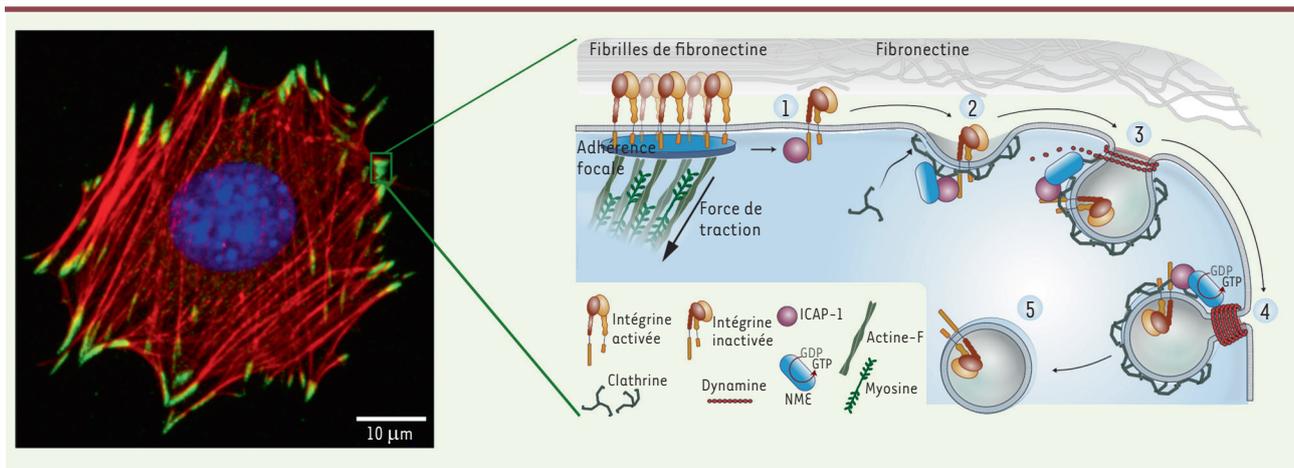


Figure 1. Recrutement de la protéine NME par ICAP-1 pour contrôler la force de traction cellulaire en favorisant l'internalisation des intégrines inactives. L'image de microscopie en fluorescence (à gauche) montre les structures d'ancrage de la cellule à la matrice extracellulaire, appelées adhérences focales, qui résultent du regroupement des intégrines (en vert), et qui sont connectées au système contractile actine-myosine de la cellule ou fibres de stress (en rouge). Le schéma (à droite) représente la séquence des événements moléculaires survenant au cours de l'endocytose de l'intégrine dépendante de la clathrine, qui se produit au bord de l'adhérence focale. La protéine ICAP-1 (*integrin cytoplasmic domain-associated protein-1*) agit comme une protéine adaptatrice : elle permet la sélection du cargo intégrine en positionnant la protéine NME (*nucleoside diphosphate kinase*) à proximité de l'intégrine (1), d'AP2 (*adaptor protein 2*) et de la dynamine (2), afin d'alimenter la dynamine en GTP (*guanosine triphosphate*) dans les puits recouverts de clathrine (3), ce qui permet la déformation de la membrane et la fission de la vésicule (4, 5) pour assurer le renouvellement des intégrines en périphérie des adhérences focales.

Une panoplie d'adaptateurs moléculaires pour contrôler l'endocytose des intégrines en fonction des propriétés biophysiques de l'environnement

En plaçant la machinerie de l'endocytose dépendante de la clathrine à proximité des deux intégrines $\alpha 5\beta 1$ et $\alpha v\beta 3$ présentes dans une même structure d'adhérence, ICAP-1 favoriserait une coordination dans la régulation du trafic des deux intégrines, ce qui paraît essentiel pour adapter de manière efficace et rapide l'adhérence, la contractilité et la migration des cellules. La fonction du trio ICAP-1/NME/intégrine au voisinage des sites d'adhérence est dépendante d'un environnement rigide, qui a la capacité d'induire la formation d'adhérences focales par un regroupement d'intégrines. Un regroupement minimum des intégrines pourrait être important pour positionner correctement la machinerie dynamine/NME nécessaire à la fission des puits à clathrine. Il convient de noter que l'inactivation

du gène codant ICAP-1 chez la souris entraîne des anomalies osseuses, ce qui peut constituer un argument en faveur d'un rôle important de ICAP-1 lorsque l'environnement de la cellule est très rigide [14]. D'autres protéines adaptatrices s'associent aux intégrines et aux puits à clathrine. Comme ICAP-1, les protéines Dab2 et Numb contiennent un domaine de liaison aux phosphotyrosines (domaine PTB) du domaine cytoplasmique des intégrines, et s'accumulent à proximité des structures d'adhérence avant leur désassemblage [5]. La pertinence physiologique de la présence de plusieurs adaptateurs comme ICAP-1, Numb ou Dab2 pourrait répondre soit à la spécificité des intégrines, soit aux propriétés physiques du microenvironnement. À titre d'exemple, Dab2 n'est pas présente dans les adhérences focales qui se forment sur des supports rigides comme le verre. D'ailleurs, la contractilité dépendante de l'actomyosine inhibe la liaison de Dab2 à l'intégrine $\alpha v\beta 3$. En revanche, un environnement

mou favorise la liaison de l'intégrine $\alpha v\beta 3$ à Dab2 et son internalisation [15]. ICAP-1 pourrait prendre le relais de Dab2 dans un microenvironnement plus rigide pour favoriser l'internalisation des intégrines, car ICAP-1 et Dab2 partagent le même site d'interaction avec l'intégrine dans son domaine cytoplasmique (motif Asn-Pro-X-Tyr ou NPXY, où X désigne un acide aminé quelconque). Ces résultats suggèrent l'existence d'une spécificité de certains adaptateurs en fonction de la rigidité du microenvironnement, pour contrôler l'endocytose des intégrines. Il reste à savoir si des adaptateurs d'intégrine à domaine PTB distincts sont nécessaires pour contrôler l'internalisation des intégrines ou empêcher leur endocytose (frustration endocyttaire) [16] (→), en fonction des propriétés physiques du microenvironnement. ♦

(→) Voir la Nouvelle de N. Elkhatabi et G. Montagnac, *m/s* n° 6-7, juin-juillet 2018, page 522

Cellular tension and integrin trafficking

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les membres du laboratoire Dynamique des systèmes d'adhérence et différenciation et des laboratoires collaborateurs (Mathieu Boissan au Centre de recherche Saint-Antoine, Philippe Chavrier à l'Institut Curie, et Guillaume Montagnac à l'Institut Gustave Roussy) pour leur implication dans ce projet. Les auteurs ont bénéficié de soutiens financiers de l'Agence nationale de la recherche (ANR), de la Fondation pour la recherche sur le cancer (ARC), de la Fondation pour la recherche médicale (FRM), de l'Institut national du cancer (INCA) et de la Ligue contre le cancer (Auvergne-Rhône-Alpes et Saône-et-Loire).

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Murrell M, Oakes PW, Lenz M, et al. Forcing cells into shape: the mechanics of actomyosin contractility. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2015 ; 16 : 486-98.
2. Albiges-Rizo C, Destaing O, Fourcade B, et al. Actin machinery and mechanosensitivity in invadopodia, podosomes and focal adhesions. *J Cell Sci* 2009 ; 122 : 3037-49.
3. Schiller HB, Fässler R. Mechanosensitivity and compositional dynamics of cell-matrix adhesions. *EMBO Rep* 2013 ; 14 : 509-19.
4. Wehrle-Haller B. Assembly and disassembly of cell matrix adhesions. *Curr Opin Cell Biol* 2012 ; 24 : 569-81.
5. Lock JG, Baschieri F, Jones MC, et al. Clathrin-containing adhesion complexes. *J Cell Biol* 2019 ; 218 : 2086-95.
6. Legate KR, Fässler R. Mechanisms that regulate adaptor binding to β -integrin cytoplasmic tails. *J Cell Sci* 2009 ; 122 : 187-98.
7. Brunner M, Millon-Frémillon A, Chevalier G, et al. Osteoblast mineralization requires β 1 integrin/ICAP-1-dependent fibronectin deposition. *J Cell Biol* 2011 ; 194 : 307-22.
8. Millon-Frémillon A, Bouvard D, Grichine A, et al. Cell adaptive response to extracellular matrix density is controlled by ICAP-1-dependent β 1-integrin affinity. *J Cell Biol* 2008 ; 180 : 427-41.
9. Bouin A-P, Kyumurkov A, Régent-Kloeckner M, et al. ICAP-1 monoubiquitylation coordinates matrix density and rigidity sensing for cell migration through ROCK2-MRCK α balance. *J Cell Sci* 2017 ; 130 : 626-36.
10. Faurobert E, Rome C, Lisowska J, et al. CCM1-ICAP-1 complex controls β 1 integrin-dependent endothelial contractility and fibronectin remodeling. *J Cell Biol* 2013 ; 202 : 545-61.
11. Fournier H-N, Dupé-Manet S, Bouvard D, et al. Integrin cytoplasmic domain-associated protein 1 α (ICAP-1 α) interacts directly with the metastasis suppressor nm23-H2, and both proteins are targeted to newly formed cell adhesion sites upon integrin engagement. *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 20895-902.
12. Boissan M, Montagnac G, Shen Q, et al. Nucleoside diphosphate kinases fuel dynamin superfamily proteins with GTP for membrane remodeling. *Science* 2014 ; 344 : 1510-5.
13. Kyumurkov A, Bouin AP, Boissan M, et al. Force tuning through regulation of clathrin-dependent integrin endocytosis. *J Cell Biol* 2023 ; 222 : e202004025.
14. Bouvard D, Aszodi A, Kostka G, et al. Defective osteoblast function in ICAP-1-deficient mice. *Development* 2007 ; 134.
15. Yu C, Rafiq NBM, Cao F, et al. Integrin- β 3 clusters recruit clathrin-mediated endocytic machinery in the absence of traction force. *Nat Commun* 2015 ; 6 : 8672.
16. Elkhatib N, Montagnac G. Une endocytose frustrée pour une migration accomplie. *Med Sci (Paris)* 2018 ; 34 : 522-4.

