

Les deux voies du déclenchement de la division cellulaire

Les phénomènes cellulaires précoces qu'entraîne la stimulation par un mitogène commencent à être bien connus : ce sont, entre autres, l'alcalinisation du cytoplasme, l'augmentation de la concentration cytoplasmique du calcium ionisé, la phosphorylation de la protéine ribosomale S_6 , l'augmentation de l'expression des oncogènes cellulaires *c-fos* et *c-myc* et, enfin, la réinitiation de la synthèse d'ADN (figure 1). L'alcalinisation est due à l'activation de l'antiport Na^+/H^+ qui échange des protons, libérés dans le milieu extracellulaire, contre du sodium qui pénètre dans la cellule. L'activité de l'antiport pourrait être directement couplée (via des G-protéines ?) aux récepteurs pour les facteurs de croissance et être aussi modulée par phosphorylation, peut-être catalysée par la protéine kinase C. L'augmentation du calcium cytoplasmique peut avoir deux origines : soit la libération à partir des citernes du réticulum endoplasmique, sous l'action de l'inositol triphosphate (IP_3), soit l'ouverture de canaux calciques et la pénétration du calcium extra-cellulaire. La phosphorylation de la protéine ribosomale S_6 , associée à l'augmentation de la synthèse protéique, pourrait être catalysée par la protéine kinase C activée par le diacylglycérol (DG) ou/et par des protéines kinases dépendantes de l'AMP cyclique dont la concentration augmente lors de l'induction de la division cellulaire [1]. Rien n'est connu des messages exacts responsables de l'hyperexpression

des oncogènes cellulaires *c-fos* et *c-myc* dont on sait qu'elle pourrait être d'origine à la fois transcriptionnelle et post-transcriptionnelle (*m/s* n° 5, vol. 2, p. 286). De même, on ne connaît pas « in fine » les derniers signaux responsables de la réinitiation de la synthèse d'ADN dont on peut penser qu'elle dépend de l'action des oncogènes cellulaires. Une série d'expériences a d'ailleurs démontré qu'il était possible, grâce à l'emploi d'anticorps dirigés contre des oncogènes cellulaires, de bloquer la synthèse d'ADN stimulée par un signal mitogène.

Plusieurs études permettent de définir deux voies, alternatives ou associées, de stimulation de la division cellulaire. L'une est couplée, via une probable G-protéine (*m/s* n° 10, vol. 2, p. 583), à l'activation de la phospholipase C et à l'hydrolyse du phosphatidylinositol 4,5 diphosphate (Ptd Ins 4,5 P_2) en diacylglycérol (DG) et inositol-triphosphate (IP_3) lorsque des facteurs de croissance tels le PDGF, la thrombine ou la bombésine se lient au récepteur (figure 1) [1, 2].

L' IP_3 provoque une libération du calcium des citernes du réticulum endoplasmiques et le DG active la protéine kinase C qui, entre autres actions, pourrait moduler l'ouverture de l'antiport Na^+/H^+ , phosphoryler la protéine ribosomale S_6 , et, également par phosphorylation, inhiber l'affinité du récepteur à EGF pour ce facteur de croissance [2].

La seconde voie de stimulation

mitogénique est indépendante de l'hydrolyse du Ptd Ins 4,5 P_2 et de la stimulation de la protéine kinase C et est bien représentée par le mode d'action d'EGF et de FGF (*Fibroblast Growth Factor*). Le récepteur à EGF est une protéine kinase spécifique des résidus tyrosines (comme d'ailleurs le récepteur au PDGF)... très peu de choses étant connues du mécanisme de la stimulation mitogénique qui suit la fixation d'EGF à son récepteur et l'activation de l'activité tyrosine kinase. Rappelons que l'aptitude du récepteur à EGF à phosphoryler une lipocortine inhibitrice de la phospholipase A_2 , et donc à modifier probablement le métabolisme de l'acide arachidonique et des prostaglandines, constitue une piste intéressante (*m/s* n° 9, vol. 2, p. 522). Une inhibition par phosphorylation de la lipocortine, et donc une désinhibition de la phospholipase A_2 , pourrait en effet aboutir à une augmentation de la synthèse de prostaglandines qui pourraient, notamment, stimuler l'adénylate cyclase et la synthèse d'AMP cyclique [1] (figure 1). L'augmentation du calcium cytoplasmique qui suit la stimulation par EGF ou FGF serait due à l'ouverture des canaux calciques et à l'irruption du Ca^{++} extracellulaire et non à la libération du calcium stocké dans le réticulum endoplasmique. De même, l'alcalinisation serait due ici à un effet (direct ?) sur l'antiport Na^+/H^+ , non relayé par la protéine kinase C.

La dualité (ou la multiplicité... ?)

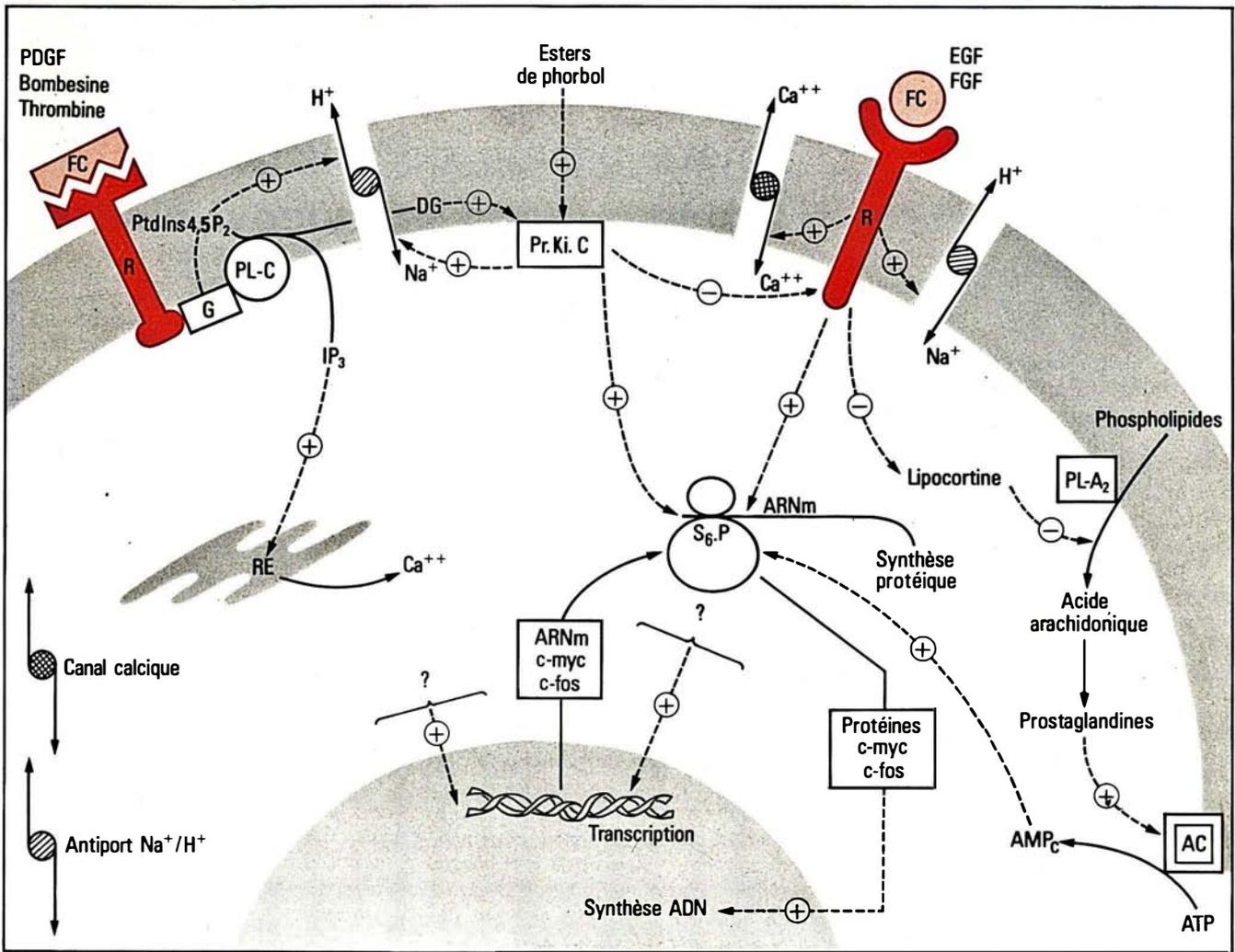


Figure 1. **Schéma des phénomènes précoces de la stimulation mitogénique d'une cellule.** R : récepteurs de facteurs de croissance ; FC : facteurs de croissance ; G : G-protéine ; PL-C : phospholipase C ; Pr.Ki.C : protéine kinase C ; PL-A₂ : phospholipase A₂ ; AC : adénylate cyclase ; PtdIns 4,5 P₂ : phosphatidyl inositol 4,5 P₂ ; DG : diacylglycérol ; IP₃ : inositol triphosphate ; RE : réticulum endoplasmique ; S₆.P : protéine S₆ ribosomale phosphorylée. Les réactions sont symbolisées par des lignes continues et les effets biologiques par des lignes discontinues. A gauche est représentée la voie de stimulation dépendant de l'activation de la PL-C hydrolysant le PtdIns 4,5 P₂ en DG (qui active la Pr.Ki.C) et IP₃ (qui entraîne la libération de Ca⁺⁺ stocké dans les citernes du RE). La fixation des facteurs de croissance au récepteur pourrait aussi, hypothétiquement via le couplage par une G-protéine, stimuler l'antiport Na⁺/H⁺ qui, provoquant un efflux de protons vers le milieu extracellulaire, conduit à l'alcalinisation du milieu intracellulaire. La Pr.Ki.C pourrait relayer l'activation de l'antiport Na⁺/H⁺ et phosphoryler la protéine ribosomale S₆, stimulant la synthèse protéique ; elle diminue l'affinité du récepteur à EGF pour ce facteur de croissance. Les mécanismes couplant la fixation d'EGF ou de FGF, à droite, à la stimulation de l'antiport Na⁺/H⁺ et à l'ouverture des canaux calciques, sont inconnus. L'inactivation de la lipocortine par phosphorylation sur une tyrosine, catalysée par le récepteur à EGF activé, est tout à fait hypothétique. Elle entraînerait une augmentation de la synthèse des prostaglandines, stimulants potentiels de l'AC et de la synthèse d'AMPc. La protéine S₆ est également substrat de protéines kinases stimulées par l'AMPc. Ces deux voies de stimulation aboutissent à la transcription des gènes codant pour c-fos et c-myc qui pourraient stimuler la synthèse d'ADN.

des mécanismes d'activation de la division cellulaire se retrouve au niveau de la stimulation transcriptionnelle du gène *c-fos*. Ce gène possède, dans sa région flanquante 5', un *enhancer* indispensable à l'augmentation de la transcription sous l'influence de facteurs mitogènes [3, 4]. Ce *enhancer* lie une protéine qui, probablement, l'active [4, 5] et qui est un exemple de ces facteurs diffusibles régulant l'expression des gènes dont nous avons tant parlé ici (*m/s* n° 7, vol. 2, p. 410). Prywes et Roeder viennent de démontrer que l'abondance de ce facteur se liant au *enhancer* de *c-fos* était régulée parallèlement à l'expression du gène lors du traitement de cellules A431 par EGF... mais pas par deux autres agents induisant néanmoins l'hyperexpression de *c-*

fos et la division cellulaire, un ester de phorbol et l'ionophore calcique A23187 [5]. Le premier agent agit par activation directe de la protéine kinase C (figure 1), le second augmentant la perméabilité membranaire au calcium et entraînant donc une augmentation du calcium cytoplasmique.

En conclusion, on peut définir, parmi les phénomènes impliqués dans la stimulation de la division cellulaire, ceux qui sont « obligatoires », constituant un véritable tronc commun, et ceux qui sont optionnels. Dans le tronc commun, il faut ranger l'alcalinisation, l'augmentation du Ca⁺⁺ cytoplasmique, la phosphorylation de la protéine S₆, l'hyperexpression d'oncogènes cellulaires et le déclenchement de la synthèse d'ADN. Les mécanismes de mise en jeu de ces modifications métaboliques ne sont pas univoques et peuvent être regroupés en deux voies de stimulation mitogénique. L'une, représentée par les effets de PDGF ou de la bombésine, implique l'activation de la phospholipase C, l'hydrolyse du phosphatidyl inositol 4,5 diphosphate et l'activation de la protéine kinase C. L'autre, illustrée par les effets d'EGF et de FGF, est indépendante de ces réactions et l'enchaînement des phénomènes y est moins connu.

A. K.

1. Rozengurt E. Early signals in the mitogenic response. *Science* 1986 ; 234 : 161-6.
2. Magnaldo L, L'Allemain G, Chambard JC, Moenner M, Barritault D, Pouységur J. The mitogenic signaling pathway of fibroblast growth factor is not mediated through polyphosphoinositide hydrolysis and protein kinase C activation in hamster fibroblasts. *J Biol Chem* 1986 ; 261 : 16916-22.
3. Treisman R. Transient accumulation of c-fos RNA following serum stimulation requires a conserved 5' element and c-fos 3' sequences. *Cell* 1986 ; 42 : 889-902.
4. Treisman R. Identification of a protein-binding site that mediates transcriptional response of the c-fos to serum factors. *Cell* 1986 ; 46 : 567-74.
5. Prywes R, Roeder RG. Inducible binding of a factor to the c-fos enhancer. *Cell* 1986 ; 47 : 777-84.

Anomalie de la régulation du métabolisme de l'acide arachidonique dans la mucoviscidose

L'analyse génétique de la mucoviscidose (ou fibrose kystique) a fait d'importants progrès. Elle a notamment abouti à un diagnostic prénatal et à la localisation du gène sur le bras long du chromosome 7 (m/s n° 8, vol. 1, p. 440 et n° 1, vol. 3, p. 47). Par contre le mécanisme physiologique reste inconnu. Une voie d'investigation explorée depuis quelques années est celle du métabolisme des acides gras. Parmi les travaux publiés, on peut citer ceux qui montrent sur des globules rouges en suspension une accélération du turnover de certains acides gras [1]. Une attention particulière s'est portée sur les acides gras à plusieurs doubles liaisons, dits essentiels, car l'organisme ne peut en faire la synthèse. Les travaux actuels se centrent sur l'acide arachidonique qui compte vingt carbonés et quatre doubles liaisons et qui est le précurseur de nombreux composés actifs tels que prostaglandines et thromboxane. Partant de l'hypothèse qu'un défaut de régulation de l'acide arachidonique pourrait être à la base de la mucoviscidose, Carlstedt-Duke et al. ont étudié en Suède [2] l'effet des glucocorticoïdes sur la libération de l'acide arachidonique dans des cellules de sujets normaux et de malades.

Des lymphocytes isolés du sang périphérique sont incubés dans un milieu de base ne contenant pas de sérum, en présence d'acide arachidonique marqué. Celui-ci s'incorpore dans des phospholipides de la membrane, dont il est ensuite libéré. L'addition de 1µM de dexaméthasone abaisse d'environ 70 % la libération de l'acide arachidonique à partir des cellules témoins. Elle n'a aucune action sur celles des malades. Ce résultat n'est pas dû à une perte de sensibilité des cellules de mucoviscidose aux glucocorticoïdes ; en effet le nombre des récepteurs et l'affinité pour le ligand sont normaux ; il en va de même pour l'effet inhibiteur de la dexaméthasone sur l'incorporation de thymidine. Il n'y a enfin aucune différence

de répartition de l'acide arachidonique dans les différentes fractions des phospholipides. L'anomalie portant sur la régulation du métabolisme de l'acide arachidonique est donc la seule observée dans la mucoviscidose et prend ainsi toute son importance.

On connaît le mécanisme d'action normal des glucocorticoïdes sur le métabolisme de l'acide arachidonique (m/s n° 9, vol. 2, p. 522). L'acide gras est libéré des phospholipides sous l'action de la phospholipase A₂. Cette enzyme peut être inhibée par une (peut-être plusieurs) protéine appelée lipocortine ou lipomoduline dont la production est induite par les glucocorticoïdes. On peut donc émettre l'hypothèse d'une anomalie primitive portant sur la lipocortine ou sur la phospholipase. Ces deux protéines n'ont pas encore été localisées sur un chromosome chez l'homme, mais le récent clonage de la lipocortine (m/s n° 9, vol. 2, p. 522) devrait rapidement permettre de savoir si elle est impliquée dans la maladie.

L'acide arachidonique et ses dérivés jouent un rôle dans le transport et l'équilibre du chlore et du calcium, ainsi que dans la sécrétion du mucus, qui sont perturbés dans la mucoviscidose. Les prostaglandines, en particulier, ont été impliquées dans les anomalies de l'eau et des électrolytes dans les tissus exocrines. Ces constatations renforcent l'opinion des auteurs, qui font jouer un rôle primordial au déficit en acides gras essentiels dans la genèse des symptômes cliniques de la maladie, et peut-être même dans son origine.

J.-C. D.

1. Rogiers V, Dale I, Michotte Y, et al. Abnormal fatty acid turnover in the phospholipids of the red blood cell membranes of cystic fibrosis patients (in vitro studies). *Pediatr Res* 1984 ; 18 : 704-9.
2. Carlstedt-Duke J, Brønnegard M, Strandvik B. Pathological regulation of arachidonic acid release in cystic fibrosis : The putative basic defect. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986 ; 83 : 9202-6.