

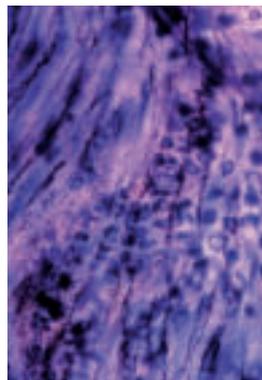
> La production des formes réactives de l'oxygène par la NADPH oxydase phagocytaire a été longtemps considérée comme restreinte aux phagocytes professionnels. Récemment, six homologues de la sous-unité catalytique de la NADPH oxydase phagocytaire (gp91<sup>phox</sup> ou Nox-2) ont été identifiés et appartiennent à la famille des Nox : Nox-1, Nox-3, Nox-4, Nox-5, Duox-1 et Duox-2. Ces enzymes ont la capacité de transporter des électrons à travers la membrane plasmique et produisent de l'anion superoxyde, lui-même précurseur des autres formes réactives de l'oxygène. Cependant, la distribution tissulaire et les mécanismes d'activation des membres de la famille Nox sont très différents, suggérant qu'ils exercent des fonctions physiologiques distinctes dans des mécanismes aussi variés que la défense de l'hôte, la croissance, la différenciation et l'apoptose. La modulation de la fonction des différentes Nox peut être à l'origine d'une grande variété d'événements physiopathologiques. <

Les NADPH oxydases de la famille Nox sont des protéines facilitant le transfert des électrons à travers les membranes biologiques. En général, l'accepteur d'électron est l'oxygène et le produit du transfert d'électron est l'anion superoxyde, précurseur des formes réactives de l'oxygène (FRO). Historiquement, la NADPH oxydase des phagocytes est la première Nox mise en évidence et est à l'origine de la formation des FRO impliquées dans l'immunité innée. Cette enzyme est constituée au repos de protéines membranaires (gp91<sup>phox</sup> ou Nox-2 et p22<sup>phox</sup>, formant le cytochrome b<sub>558</sub> et d'une petite protéine G Rap1A) et de protéines cytosoliques (p40<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup>, p67<sup>phox</sup> et une petite protéine G Rac2). L'activation de la NADPH oxydase met en jeu différentes voies de signalisation aboutissant à la phosphorylation des sous-unités cytosoliques p47<sup>phox</sup> et p67<sup>phox</sup> et conduit à un regroupement des différents composants à la membrane des granulations et à la membrane plasmique des phagocytes (Figure 1) [1-5]. Le cytochrome b<sub>558</sub> est le composant central sur lequel se fixent les sous-unités

## Les Nox/Duox

### Une nouvelle famille de NADPH oxydases

Cécile Guichard, Eric Pedrucci, Michèle Fay,  
 Sanae Ben Mkaddem, Nicolas Coant,  
 Fanny Daniel, Eric Ogier-Denis



Inserm U773,  
 Centre de Recherche  
 Bichat Beaujon CRB3, Université  
 Paris 7 Denis Diderot, BP416,  
 46, rue Henri Huchard,  
 75018 Paris, France.  
[ogier@bichat.inserm.fr](mailto:ogier@bichat.inserm.fr)

de la NADPH oxydase après stimulation. Il intervient dans l'organisation du complexe oxydasique actif par interaction des domaines cytoplasmiques carboxyterminaux avec les facteurs cytosoliques. La liaison de la sous-unité p67<sup>phox</sup> avec le cytochrome b<sub>558</sub> induit la transition d'une conformation inactive à active de ce dernier, permettant ainsi le transfert d'électrons [6]. Le cytochrome b<sub>558</sub> fixe du NADPH et du FAD et contient deux hèmes dont les potentiels d'oxydoréduction extrêmement bas (-225 et -265 mV à pH 7,0) lui permettent de réduire directement l'oxygène de l'air ; l'emplacement exact des hèmes est encore débattu. Il se forme ainsi une chaîne de transport d'électrons depuis le NADPH vers l'O<sub>2</sub> moléculaire : NADPH, FAD, hèmes, O<sub>2</sub>. Récemment, de nouvelles NADPH oxydases, appelées Nox (NADPH oxydase), ont été caractérisées sur la base de leur homologie de séquence avec la sous-unité catalytique Nox-2. Six homologues ont été ainsi identifiés et répartis en trois groupes à partir de critères évolutifs : le groupe proche de Nox-2 rassemblant Nox-1, Nox-3, Nox-4, le groupe des Duox (*dual oxidase*), Duox-1 et Duox-2, et Nox-5 (Figure 2) [7-11].

#### Nox-1

Le premier homologue de Nox-2 décrit, Nox-1, a été cloné à partir d'une banque d'ADNc issue de cellules épithéliales de côlon [11]. Sa surexpression a permis de mettre en

Article reçu le 18 janvier 2006, accepté le 8 mars 2006.

évidence une activité oxydase productrice de faibles concentrations de FRO. Sa co-expression avec des sous-unités régulatrices homologues de la p47<sup>phox</sup> et de la p67<sup>phox</sup>, NOX01 et NOXA1, augmente considérablement la production de FRO. Cette protéine de 564 acides aminés (aa) possède 56 % d'homologie avec Nox-2 avec une forte identité pour les domaines transmembranaires et de fixation des hèmes, du FAD et du NADPH (Figure 3). Deux variants provenant d'un épissage alternatif de l'isoforme longue de

Nox-1 ont été décrit. Banfi *et al.* [7] ont isolé un ARNm produit par le gène *NOX-1* codant pour une forme courte de Nox-1, NOH-1S, et spécifiant un canal à proton. Cependant, NOH-1S serait un produit artéfactuel engendré lors de la reverse transcription. Un épissage alternatif engendre un autre transcrit de Nox-1, dépourvu de l'exon 11 (résidu 433-482), décrit par la même équipe, qui a été identi-

	<b>Nox-1</b>	<b>Nox-2</b>	<b>Nox-3</b>	<b>Nox-4</b>	<b>Nox-5</b>	<b>Duox-1</b>	<b>Duox-2</b>	
<b>Distribu- tion tissulaire</b>	Côlon Estomac (cochon d'inde) Utérus Prostate Rein Artères Inductible par le PDGF dans les cellules musculaires lisses aortiques	Neutrophiles Monocytes Macrophages Éosinophiles Tissu adipeux Ovaire Placenta Artères Cardiomyocytes Microglie	Oreille interne Tissus fœtaux	Rein Cellules endothéliales et musculaires lisses Cœur Pancréas Tissu adipeux Placenta Muscle squelettique Ovaire Testicules Ostéoclastes Fibroblastes Astrocytes, neurones		Tissu lymphoïde Testicules Ovaires Placenta Artères	Thyroïde Poumon Intestin Muscle lisse aortique	Thyroïde Poumon Intestin
<b>Fonctions</b>	Défense de l'hôte Régulation de la pression sanguine Différen- ciation ? Réduction du fer	Défense de l'hôte Régulation du pH phagosomal et de la concen- tration ionique Régulation du taux de métal- loprotéases	Sénescence	Sénescence ; rôle senseur de l'O <sub>2</sub> dans le rein, apoptose, <i>signa- ling</i> de l'insuline, interaction TLR4, inhibition de Tyr phosphatase PTP1B	Rôle dans la différenciation des lymphocytes Spermatogenèse	Défense de l'hôte Iodination des hormones thyroïdiennes		
<b>Physio- pathologie</b>	Athérosclérose Maladies cardio- vasculaires Adéno- carcinome prostatique	Maladie granulomateuse chronique Maladies cardio- vasculaires Neuro- dégénération (Alzheimer) Pathogénie VIH Angiogenèse Obésité ?	Otoconies dans l'oreille interne entraînant des vertiges Souris déficientes ( <i>head-tilt</i> ) ayant des troubles de l'équilibre <i>Crosslink</i> des protéines au cours de la formation des otoconies	Athérosclérose Cancers coliques ? Maladies cardio- vasculaires Diabète Maladies neuro- dégénératives Angiogenèse Obésité	Infertilité masculine Adénocarcinome prostatique	Hypothyroïdisme <i>Crosslink</i> matrice extracellulaire		

Tableau I. Distribution tissulaire et fonctions des Nox/Duox.

fié dans le colon normal ou cancéreux et code pour une oxydase non fonctionnelle [12]. La distribution tissulaire de Nox-1 concerne principalement le colon, l'estomac, l'utérus et la prostate (Tableau 1). Malgré son absence constitutive dans certains tissus, son expression pourrait être induite dans d'autres types cellulaires, tels que les cellules musculaires lisses aortiques, par le PDGF (*platelet derived growth factor*) [13].

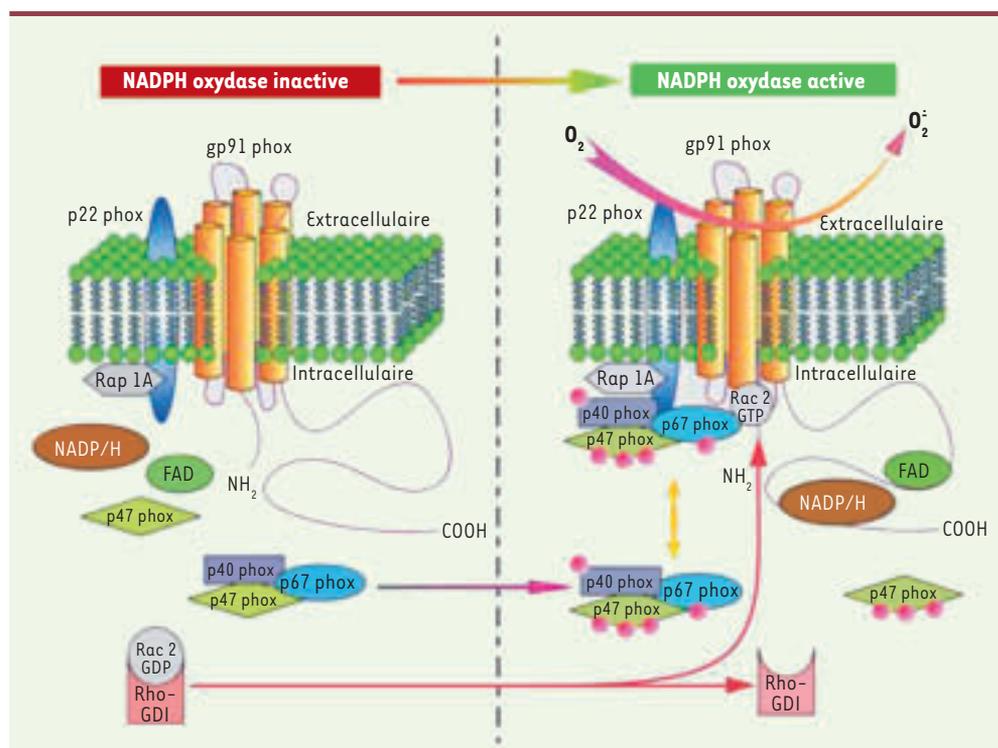
### Nox-2

Nox-2 est le prototype des NADPH oxydases. Le gène de Nox-2 est localisé sur le chromosome X en position Xp21.1. Le déficit génétique et certaines mutations de Nox-2 ou de l'un de ses partenaires (syndrome CGD, *chronic granulomatous disease*) engendrent des infections récurrentes pyrogéniques accompagnées de réactions granulomateuses, de lymphadénopathie et d'hypergammaglobulinémie. Nox-2 a été première-

ment décrit dans les phagocytes et les polynucléaires neutrophiles et se distribue également dans un nombre croissant de tissus (Tableau 1). Son expression est inductible, notamment en réponse à l'interféron- $\gamma$  et à l'angiotensine II, respectivement dans les cardiomyocytes et dans les tissus adipeux et pancréatique.

### Nox-3

Nox-3 présente 58 % d'homologie avec Nox-2 et comprend 568 aa (Figure 3) [14]. Les ARNm de Nox-3 n'ont pas été détectés dans les tissus adultes. Cependant, des expériences de RT-PCR ont permis de détecter les ARNm de Nox-3 dans différents tissus fœtaux tels que le rein, le foie, le poumon et la rate [8, 14]. Chez l'adulte, son expression est exclusivement réduite à l'oreille interne et joue un rôle majeur dans la formation des otoconies, dépôts de carbonate de calcium qui reposent sur les cellules sensorielles ciliées de la macule de l'oreille interne. Les otoconies proviennent d'un traumatisme qui fragmente l'otolithe et provoquent des vertiges importants [15].



**Figure 1. NADPH oxydase phagocytaire au repos et sous forme active.** Dans les cellules au repos, les composants de la NADPH oxydase sont associés aux membranes (gp91<sup>phox</sup> ou Nox-2 et p22<sup>phox</sup> formant le cytochrome b<sub>558</sub>) et présents dans le cytosol (p47<sup>phox</sup>, p40<sup>phox</sup>, p67<sup>phox</sup> et Rac2 couplé à son inhibiteur Rho-GDI). p47<sup>phox</sup> existe sous deux formes : seule ou liée au complexe de 240 kDa incluant : p47<sup>phox</sup>, p40<sup>phox</sup> et p67<sup>phox</sup>. Après activation, la p47<sup>phox</sup> est phosphorylée (ainsi que p40<sup>phox</sup> et p67<sup>phox</sup>) et se retrouve associée au cytochrome b<sub>558</sub> avec le reste des composants pour produire l'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>-</sup>. Rac2 échange son GDP pour du GTP, migre à la membrane et participe activement à la production d'O<sub>2</sub><sup>-</sup>. Rho GDI : *Rho GDP-dissociation inhibitor*; FAD : flavine adénine dinucléotide; NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit; cercle rouge : groupement phosphate (d'après [4]).

### Nox-4

Nox-4 possède 578 aa et 39 % d'homologie avec Nox-2 (Figure 3) et a été décrite, à l'origine, comme une oxydase rénale. La distribution intrarénale de Nox-4 varie entre l'homme et la souris. Des techniques d'hybridation *in situ* sur des sections de reins de souris ont permis de montrer que les tubules proximaux exprimaient Nox-4 alors que des expériences d'immunohistochimie et d'hybridation *in situ* sur des reins humains ont mis en évidence une expression de Nox-4 dans la partie distale du néphron. De plus, quatre variants d'épissage alternatif ont récemment été mis en évidence dans des lignées cellulaires pulmonaires et dans les tissus correspondants [16]. Actuellement, il semble que l'expression de Nox-4 soit bien plus diversifiée que celle décrite initialement (Tableau 1).

## Nox-5

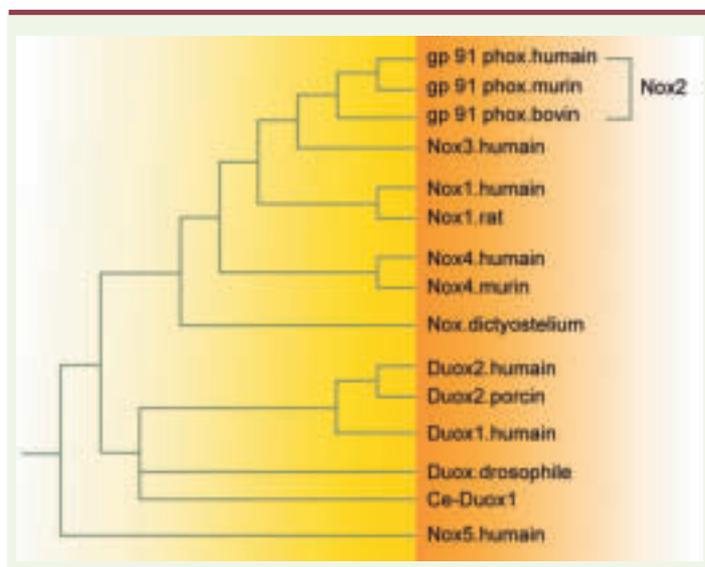
Parmi les Nox, Nox-5 est la plus éloignée du point de vue de son homologie avec Nox-2 (27 %). Elle comprend 737 aa et présente dans sa partie aminoterminal une extension contenant quatre domaines liant le  $\text{Ca}^{2+}$  (*EF hand*) (Figure 3). L'ARNm de Nox-5 est présent dans la rate et les testicules où plusieurs variants d'épissage alternatif ont été mis en évidence : Nox-5 $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ . Une cinquième isoforme, Nox-5 $\epsilon$ , a été décrite et serait dépourvue de la région liant le  $\text{Ca}^{2+}$ . Nox-5 est également présente dans les lymphocytes tissulaires alors qu'elle ne semble pas être présente dans les lymphocytes circulants.

## Duox-1 et 2

Les Duox, appelées à l'origine Thox pour *thyroid oxidase*, ont été clonées à partir de glandes thyroïdes humaines et porcines. Outre cette localisation thyroïdienne, il a été récemment montré que Duox-1 est exprimée dans l'épithélium respiratoire et Duox-2 dans les épithélia salivaire et digestif. Les Duox-1 et 2 contiennent respectivement 1551 et 1548 aa, possèdent 83 % d'homologie entre elles, et contiennent un domaine aminoterminal *peroxidase-like*, un domaine transmembranaire additionnel et deux domaines de liaison au  $\text{Ca}^{2+}$  (Figure 3). De plus, le domaine *peroxydase-like* des Duox n'est pas habituel dans le sens où il ne contient pas les résidus histidine indispensables à la fixation des hèmes.

## Fonctions des Nox

Les FRO jouent un rôle important dans nombre de processus physiologiques et physiopathologiques. Leur rôle délétère sur les composants



**Figure 2. Arbre phylogénétique des membres de la famille Nox/Duox.** Trois groupes sont définis sur des bases évolutives : le groupe de Nox-2 comprenant Nox-1, Nox-3 et Nox-4, le groupe des Duox, et celui comprenant Nox-5.

cellulaires (protéines, lipides, ADN) est bien caractérisé. Cependant, elles ont des effets positifs dans la défense contre l'introduction d'agents pathogènes et sont considérées comme des seconds messagers intracellulaires [17]. Les FRO ont donc des effets et des propriétés différentes en fonction de leur lieu d'émission et de la concentration à laquelle elles sont produites. En effet, les FRO, toxiques à forte dose, peuvent être bénéfiques voire indispensables à faible concentration. De plus, elles doivent posséder à la fois une haute réactivité envers une cible spécifique et la potentialité de l'atteindre. Cela nécessite souvent un compromis entre réactivité et compartimentalisation cellulaire. Les Nox apparaissent donc comme des enzymes dont les rôles physiologiques sont susceptibles d'être divers et variés du fait de leur localisation différente et de leur régulation complexe. Ainsi, toute modification de leur expression est susceptible d'être impliquée dans différentes maladies humaines [18-20].

## Défense de l'organisme

De nombreuses données, malgré l'absence de preuve tangible, suggèrent que les Nox puissent avoir un rôle dans la défense de l'organisme au même titre que Nox-2. L'expression des Nox dans les cellules des barrières épithéliales du côlon (Nox-1), des reins (Nox-4), de la peau (Nox-1 et Duox-1) et du poumon (Duox-1) suggère un rôle de première ligne de défense de l'organisme avant l'arrivée des phagocytes. L'induction des ARNm de Nox-1 par l'IFN- $\gamma$  et son activation par le LPS (lipopolysaccharide de la membrane des bactéries Gram négatif) via TLR4 (*Toll-like receptor 4*) (impliqué dans la reconnaissance du LPS), ainsi que l'interaction directe de Nox-4 et de TLR4 récemment mise en évidence après traitement par le LPS dans des cellules embryonnaires rénales HEK293 [21], vont dans ce sens. L'expression des Duox dans les épithéliums bronchiques, de la trachée et des glandes salivaires a également été interprétée comme jouant un rôle dans le contexte immunitaire. Le domaine peroxydase des Duox pourrait agir comme une seconde ligne de défense capable de tuer les microorganismes qui échappent à la destruction dans les sécrétions biologiques [10].

## Prolifération cellulaire

De nombreuses évidences se sont accumulées concernant le rôle des FRO dans la croissance cellulaire, l'apoptose et la sénescence. Deux études [11, 22] corrélant les FRO produites par Nox-1 et la croissance, ont fortement souligné le rôle potentiel de Nox-1 dans la régulation mitogénique et le cancer. Dans les cellu-

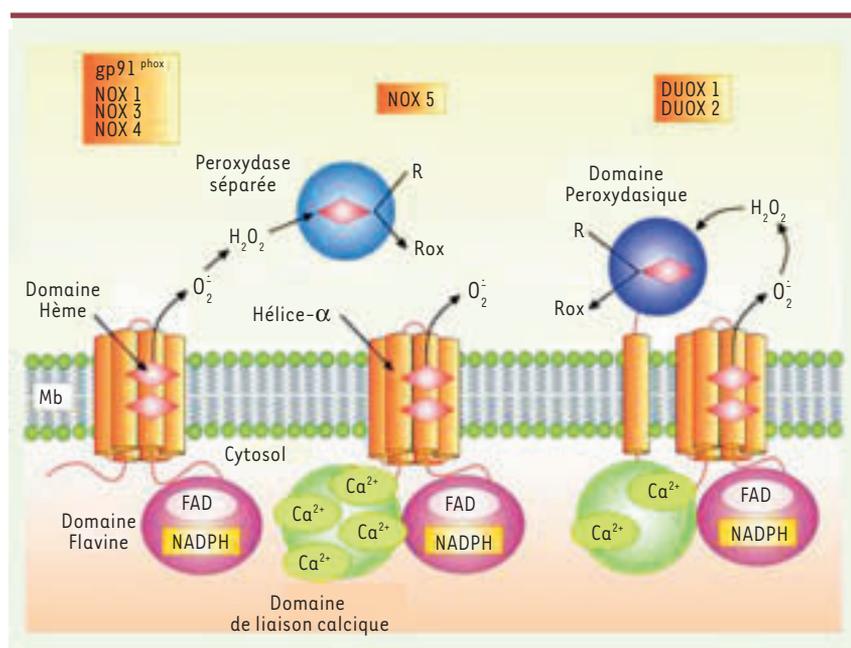
les dérivées de tumeurs coliques exprimant Nox-1, le taux de FRO est plus important dans les cellules non-confluentes que dans les cellules confluentes. De plus, une croissance cellulaire dépendante de la surexpression des Nox a été observée dans les cancers coliques humains (Nox-1), dans les cancers prostatiques (Nox-5) et les mélanomes (Nox-4). Nox-1 et Nox-4 joueraient un rôle dans la mitogenèse et l'hypertrophie du système cardiovasculaire et pourraient donc être impliquées dans les maladies athérosclérotiques et l'hypertension. Ces données indiquent que la surexpression ou la dérégulation des Nox pourraient avoir un effet important sur la croissance anormale des cancers [10]. Cependant plusieurs études récentes réfutent ce rôle pour Nox-1 dans les cancers colorectaux. Cette enzyme est exprimée à la fois dans les cryptes et les villosités intestinales [23], suggérant qu'elle jouerait un rôle préférentiel dans la différenciation plutôt que dans la prolifération.

### Apoptose

L'effet pro-mitotique des FRO produites par les Nox ne doit pas être généralisé. En effet, alors que Nox-4 semble impliquée dans l'angiogenèse induite lors de l'ischémie cérébrale [24], elle joue un rôle crucial dans l'apoptose des cellules musculaires lisses vasculaires au cours de l'athérosclérose [25]. La concentration et l'expression de cibles des FRO selon le type cellulaire ainsi que les conditions expérimentales pourraient expliquer ces divergences. En effet, de faibles concentrations de FRO réagissent avec les cibles les plus sensibles à l'oxydation alors que des concentrations plus importantes ont un spectre d'effet plus large. Il est donc peu surprenant que les FRO dérivées des Nox induisent des phénotypes cellulaires spécifiques. Ces phénotypes divergents pourraient être fonction des localisations des Nox : dans les cellules musculaires lisses humaines, Nox-1 co-localise avec la cavéoline 1 à la surface cellulaire [26] alors que Nox-4 est exprimée dans le noyau et dans la région périnucléaire où elle co-localise avec la calnexine, un marqueur du réticulum endoplasmique [25]. La présence de variants de Nox-4 dans le cytosol renforce cette hypothèse.

### Signalisation

L'oxydation des protéines pourrait être un mode général de signalisation similaire aux phosphorylations. L'oxydation réversible de certains aa (Tyr, Cys) peut moduler de façon temporelle l'activité de médiateurs du signal. En effet, les Nox, par l'intermédiaire des FRO qu'elles produisent, participent à la réponse signalétique de nombreuses hormones et facteurs de croissance. Nox-1 est impliquée dans la signalisation induite par le PDGF et l'angiotensine II. L'inactivation de Nox-1 par ARN interférence inhibe la production de FRO induite par l'angiotensine II ou le PDGF et diminue l'activation des voies de signalisation sensibles à l'équilibre redox activées par l'angiotensine II [27, 28]. Récemment, l'établissement de souris transgéniques *Nox-1<sup>-/-</sup>* par l'équipe du Pr K.H. Krause (Genève, Suisse) a permis de démontrer le rôle de Nox-1 dans la régulation de la pression sanguine et dans la réponse vasculaire à l'angiotensine II [29]. Nox-4 joue un rôle d'amplificateur des voies de signalisation de l'insuline par



**Figure 3. Structure des Nox et Duox.** Nox-1, Nox-3 et Nox-4 sont similaires en taille et en structure à Nox-2. Elles contiennent un domaine hydrophobe aminoterminal à six hélices transmembranaires. Cette région comporte cinq résidus histidine dont quatre sont impliqués dans les liaisons aux deux hèmes. Les hèmes sont des groupements prosthétiques contenant du fer trouvé dans les enzymes, les protéines de transfert d'électrons et les pigments liant l'oxygène comme l'hémoglobine. Le fer des hèmes peut être réduit et ré-oxdé, et fonctionne comme un transporteur d'électron. Les deux hèmes sont localisées approximativement à l'intérieur de la bicouche lipidique et, ensemble, fournissent aux électrons un canal leur permettant de passer la membrane plasmique. La partie carboxyterminale de la molécule se replie pour former un domaine cytoplasmique indépendant contenant les domaines de liaison pour les coenzymes NADPH et FAD. Les Nox catalysent la réduction de l'oxygène à partir du NADPH et du FAD en anion superoxyde. Nox-5 contient le même corps catalytique que Nox-2 mais possède en plus un domaine aminoterminal liant le  $\text{Ca}^{2+}$ . Les Duox sont formées sur la même base structurale que Nox-5 et possède en plus, au niveau du domaine aminoterminal, une région transmembranaire suivie d'un domaine homologue aux peroxidases tel que la myéloperoxydase. Ce domaine *peroxydase-like* semble être extramembranaire et pourrait produire, à partir des anions superoxyde engendrés par le corps catalytique, des FRO afin d'oxyder des substrats extracellulaires (R) (d'après [10]).

l'intermédiaire des FRO engendrées. Ces dernières inhibent l'activation de tyrosine phosphatases, notamment PTP1B impliquée dans la résistance à l'insuline [30]. Une étude récente a permis de mettre en évidence une amplification des signaux de transduction induits lors de l'activation du récepteur aux antigènes des lymphocytes B (BCR) et un rétrocontrôle positif rapidement établi entre deux seconds messagers induits par le récepteur BCR, le  $Ca^{2+}$  et les FRO produites par Duox-1. Ce rétrocontrôle fonctionnerait comme un rhéostat en augmentant l'amplitude et la durée de la signalisation par le récepteur BCR [31].

### Matrice extracellulaire

Les hormones thyroïdiennes sont synthétisées par iodination oxydative et par interaction avec des résidus tyrosine de la thyroglobuline, une protéine de la matrice extracellulaire. Les Duox ont été identifiées comme étant la source d' $H_2O_2$  de l'épithélium thyroïdien et des mutations sur le gène *DUOX-2* ont été associées à une forme d'hypothyroïdisme congénital. Dans ce cas, l'absence d' $H_2O_2$  conduit à une incapacité des peroxydases thyroïdiennes à catalyser les réactions de biosynthèse. Un rôle plus général des Duox a été révélé à partir d'études sur *C. elegans*. Dans cet organisme, les Duox stabilisent la cuticule, une structure de la matrice extracellulaire qui sert de support à l'exosquelette du nématode. Lorsque l'expression des Duox est invalidée par une stratégie d'ARN interférence, la cuticule du ver disparaît. Bien que la fonction exacte des Duox dans les organismes supérieurs ne soit pas clairement définie, excepté pour leur rôle dans la biosynthèse des hormones thyroïdiennes, la structure et l'activité biochimique de ces enzymes impliquent un rôle général dans les modifications d'oxydation des protéines de la matrice extracellulaire. Récemment, les études utilisant les souris transgéniques *Nox-1<sup>-/-</sup>* ont révélées que Nox-1 était impliquée dans la médiation de l'accumulation de matrice extracellulaire induite par l'angiotensine II dans la média aortique [29].

### Conclusions

La connaissance des fonctions physiologiques des Nox et leur implication dans l'étiologie de nombreuses maladies humaines sont en plein essor. La production de FRO par l'expression différentielle des Nox semble être une caractéristique de nombreux tissus. Leurs fonctions physiologiques proposées concernent, entre autres, la défense de l'hôte et la signalisation cellulaire conduisant, en cas de dérèglement, à des modifications de la croissance et de l'apoptose. Actuellement, différents champs d'investigation cliniques tentent d'élaborer des connexions entre les Nox et des affections telles que les maladies inflammatoires et les cancers ainsi que le vieillissement. Notamment, la présence de mutations fonctionnelles et/ou d'un polymorphisme et la régulation anormale des Nox (expression aberrante ou ectopique) pourraient avoir des conséquences directes sur le déterminisme de ces maladies. ♦

### REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier chaleureusement Mr Jean-Pierre Laigneau (Inserm U773) pour la réalisation des illustrations de cette synthèse. Nous remercions les différents organismes publics ou associatifs pour leur financement : l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm), la Ligue Nationale contre le Cancer (Eric Ogier-Denis financement projet n° R05/75-103 2005-2006) et l'Association pour la Recherche sur le Cancer (ARC) (Cécile Guichard, financement post-doctoral 2006).

### SUMMARY

#### The Nox/Duox family of ROS-generating NADPH oxidases

Reactive oxygen species (ROS) generated by the NADPH oxidases are conventionally thought to be cytotoxic and mutagenic and at high levels induce an oxidative stress response. The phagocyte NADPH oxidase catalyzes the NADPH-dependent reduction of molecular oxygen to generate superoxide  $O_2^-$ , which can dismutate to generate ROS species. Together, these ROS participate in host defence by killing or damaging invading microbes. Flavocytochrome  $b_{558}$  is the catalytic core of the phagocyte NADPH oxidase and consists of a large glycoprotein gp91<sup>phox</sup> or Nox-2 and a small protein p22<sup>phox</sup>. The other components of the NADPH oxidase are cytosolic proteins, namely p67<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup>, p40<sup>phox</sup> and Rac. A defect in any of the genes encoding gp91<sup>phox</sup>, p22<sup>phox</sup>, p67<sup>phox</sup> or p47<sup>phox</sup> results in chronic granulomatous disease, a genetic disorder characterized by severe and recurrent infections. Evidence is rapidly accumulating that low level of ROS were produced by NADPH oxidase homologs in non-phagocytic cells. To date, six human homologs (Nox-1, Nox-3, Nox-4, Nox-5, Duox-1 and Duox-2) have been recently identified in a variety of non-phagocytic cells. The identification of Nox-1 was quickly followed by the cloning of Nox-3, Nox-4, and Nox-5. In parallel, two very large members of the Nox family were discovered, namely Duox-1 and Duox-2, initially also referred to as thyroid oxidases. The physiological functions of Nox-dependent ROS generation are in progress and still require detailed characterization. Activation mechanisms and tissue distribution of the different members of the Nox family are very different, suggesting distinct physiological functions. Nox family enzymes are likely to be involved in a variety of physiological events including cell proliferation, host defence, differentiation, apoptosis, senescence and activation of growth-related signaling pathways. An increase and a decrease in the function of Nox enzymes can contribute to a wide range of pathological processes. ♦

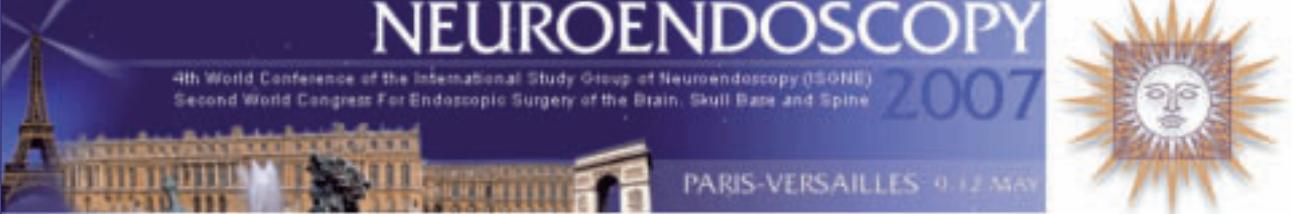
### RÉFÉRENCES

1. Clark RA. Activation of the neutrophil respiratory burst oxidase. *J Infect Dis* 1999 ; 179 (suppl 2) : S309-17.
2. Babior BM. NADPH oxidase: an update. *Blood* 1999 ; 93 : 1464-76.
3. Wientjes FB, Segal AW, Hartwig JH. Immunoelectron microscopy shows a clustered distribution of NADPH oxidase components in the human neutrophil plasma membrane. *J Leukoc Biol* 1997 ; 61 : 303-12.
4. DeLeo FR, Quinn MT. Assembly of the phagocyte NADPH oxidase: molecular interaction of oxidase proteins. *J Leukoc Biol* 1996 ; 60 : 677-91.
5. Chanock SJ, El Benna J, Smith RM, Babior BM. The respiratory burst oxidase. *J Biol Chem* 1994 ; 269 : 24519-22.
6. Paclét MH, Coleman AW, Vergnaud S, Morel F. P67-phox-mediated NADPH oxidase assembly: imaging of cytochrome b558 liposomes by atomic force microscopy. *Biochemistry* 2000 ; 39 : 9302-10.
7. Banfi B, Maturana A, Jaconi S, et al. A mammalian H<sup>+</sup> channel generated through alternative splicing of the NADPH oxidase homolog NOH-1. *Science* 2000 ; 287 : 138-42.
8. Cheng G, Cao Z, Xu X, et al. Homologs of gp91phox: cloning and tissue expression of Nox3, Nox4, and Nox5. *Gene* 2001 ; 269 : 131-40.
9. Geiszt M, Kopp JB, Várnai P, Leto TL. Identification of renox, an NAD(P)H oxidase in kidney. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 ; 97 : 8010-4.

10. Lambeth JD. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nat Rev Immunol* 2004 ; 4 : 181-9.
11. Suh YA, Arnold RS, Lassegue B, et al. Cell transformation by the superoxide-generating oxidase Mox1. *Nature* 1999 ; 401 : 79-82.
12. Geiszt M, Leto TL. The Nox family of NAD(P)H oxidases: host defense and beyond. *J Biol Chem* 2004 ; 279 : 51715-8.
13. Krause KH. Tissue distribution and putative physiological function of NOX family NADPH oxidases. *Jpn J Infect Dis* 2004 ; 57 : S28-9.
14. Kikuchi H, Hikage M, Miyashita H, Fukumoto M. NADPH oxidase subunit, gp91(phox) homologue, preferentially expressed in human colon epithelial cells. *Gene* 2000 ; 254 : 237-43.
15. Paffenholz R, Bergstrom RA, Pasutto F, et al. Vestibular defects in head-tilt mice result from mutations in Nox3, encoding an NADPH oxidase. *Genes Dev* 2004 ; 18 : 486-91.
16. Goyal P, Weissmann N, Rose F, et al. Identification of novel Nox4 splice variants with impact on ROS levels in A549 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2005 ; 329 : 32-9.
17. Aguirre J, Rios-Momberg M, Hewitt D, Hansberg W. Reactive oxygen species and development in microbial eukaryotes. *Trends Microbiol* 2005 ; 13 : 111-8.
18. Shackelford RE, Kaufmann WK, Paules RS. Oxidative stress and cell cycle checkpoint function. *Free Radic Biol Med* 2000 ; 28 : 1387-404.
19. Halliwell B, Gutteridge, M. Lipid peroxidation in brain homogenates: the role of iron and hydroxyl radicals. *J Neurochem* 1997 ; 69 : 1330-1.
20. Ames BN, Shigenaga MK, Gold LS. DNA lesions, inducible DNA repair, and cell division: three key factors in mutagenesis and carcinogenesis. *Environ Health Perspect* 1993 ; 101 (suppl 5) : 35-44.
21. Park HS, Jung HY, Park EY, et al. Cutting edge: direct interaction of TLR4 with NAD(P)H oxidase 4 isozyme is essential for lipopolysaccharide-induced production of reactive oxygen species and activation of NF-kappa B. *J Immunol* 2004 ; 173 : 3589-93.
22. Arnold RS, Shi J, Murad E, et al. Hydrogen peroxide mediates the cell growth and transformation caused by the mitogenic oxidase Nox1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 5550-5.
23. Szanto I, Rubbia-Brandt L, Kiss P, et al. Expression of NOX1, a superoxide-generating NADPH oxidase, in colon cancer and inflammatory bowel disease. *J Pathol* 2005 ; 207 : 164-76.
24. Vallet P, Charnay Y, Steger K, et al. Neuronal expression of the NADPH oxidase NOX4, and its regulation in mouse experimental brain ischemia. *Neuroscience* 2005 ; 132 : 233-8.
25. Pedrucci E, Guichard C, Ollivier V, et al. NAD(P)H oxidase Nox-4 mediates 7-ketocholesterol-induced endoplasmic reticulum stress and apoptosis in human aortic smooth muscle cells. *Mol Cell Biol* 2004 ; 24 : 10703-17.
26. Hilenski LL, Clempus RE, Quinn MT, et al. Distinct subcellular localizations of Nox1 and Nox4 in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004 ; 24 : 677-83.
27. Lassegue B, Sorescu D, Szocs K, et al. Novel gp91(phox) homologues in vascular smooth muscle cells: nox1 mediates angiotensin II-induced superoxide formation and redox-sensitive signaling pathways. *Circ Res* 2001 ; 88 : 888-94.
28. Lassegue B, Clempus RE. Vascular NAD(P)H oxidases: specific features, expression, and regulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003 ; 285 : R277-97.
29. Gavazzi G, Banfi B, Deffert C, et al. Decreased blood pressure in NOX1-deficient mice. *FEBS Lett* 2006 ; 580 : 497-504.
30. Mahadev K, Motoshima H, Wu X, et al. The NAD(P)H oxidase homologue Nox4 modulates insulin-stimulated generation of H2O2 and plays an integral role in insulin signal transduction. *Mol Cell Biol* 2004 ; 24 : 1844-54.
31. Singh DK, Kumar D, Siddiqui Z, et al. The strength of receptor signaling is centrally controlled through a cooperative loop between Ca<sup>2+</sup> and an oxidant signal. *Cell* 2005 ; 121 : 281-93.

**TIRÉS À PART**

E. Ogier-Denis



**NEUROENDOSCOPY**  
4th World Conference of the International Study Group of Neuroendoscopy (ISONE)  
Second World Congress For Endoscopic Surgery of the Brain, Skull Base and Spine  
2007  
PARIS-VERSAILLES 9-12 MAY

**Congrès:** NEUROENDOSCOPY 2007  
**Dates:** 9 - 12 MAI 2007  
**Lieu:** Paris, Versailles, FRANCE

*Secrétariat du congrès:*

**NEUROENDOSCOPY 2007 c/o MCI France**  
 24 rue Chauchat - 75009 Paris - FRANCE  
**Téléphone:** +33 (1) 53 85 82 53 - **Fax:** +33 (1) 53 85 82 83  
**Email:** [neuroendo2007info@mci-group.com](mailto:neuroendo2007info@mci-group.com)

**Thèmes:**

- hydrocéphales
- tumeurs ventriculaires
- l'approche Endoscopique de base de crâne

**[www.neuroendoscopy2007.com](http://www.neuroendoscopy2007.com)**

## Ateliers de formation 2007

Renseignements et inscriptions :  
Ateliers de formation Inserm  
101, rue de Tolbiac  
75654 Paris Cedex 13  
Tél. : 33 (0)1 44 23 62 03 — Fax : 33 (0)1 44 23 62 93  
ateliers@tolbiac.inserm.fr

# Inserm



Institut national  
de la santé et de la recherche médicale

## ■ Atelier de formation n° 174

### Applications des microtechnologies à la biologie cellulaire et à la recherche médicale

**Organisateurs :** Franz Bruckert (CEA, Grenoble), Bertrand Fourcade (CEA, Grenoble)

#### Phase I • Le point sur...

15-16 mars 2007 • La Londe-Les-Maures (Toulon)

**Objectifs** • La capacité de créer des objets et de manipuler des molécules ou des ensembles de molécules à l'échelle micrométrique offre de nouvelles perspectives pour la recherche en biologie cellulaire et l'ingénierie biomédicale. Cet Atelier propose de montrer comment les nombreuses techniques disponibles en micro- et nanotechnologies peuvent être mises à profit et combinées pour déboucher sur des applications concrètes. Les concepts et les problèmes pratiques seront illustrés par des exemples choisis dans les domaines des neurosciences, des dispositifs implantables, de la reconstruction tissulaire, de la miniaturisation du diagnostic *in vitro* et de la biologie cellulaire. Lors de tables rondes, des questions d'intérêt général comme la sélection des matériaux biocompatibles et la conception de dispositifs implantables autonomes seront également abordées.

**Public** • Médecins, pharmaciens, chercheurs, post-doctorants, doctorants, ingénieurs et techniciens travaillant dans les domaines de la reconstruction tissulaire, des prothèses médicales, du diagnostic *in vitro* et/ou participant à des projets de nanobiotechnologies.

Les conférences seront données en anglais.

**Nombre maximum de participants :** 80.

**Programme** • Le programme couvrira un grand nombre de techniques expérimentales, mais mettra l'accent sur les applications en biologie et en médecine. Plus précisément, les techniques suivantes seront abordées dans cet Atelier : chambres miniaturisées et dispositifs microfluidiques, revêtements de surface et dépôts localisés de molécules à l'échelle du micron, surfaces excitables, dispositifs électro-mécaniques miniatures, nouvelles méthodes pour la détection de molécules au voisinage de surfaces.

**Avec la participation de** • Peter Fromherz (Martinsried, Allemagne), Alexandra Fuchs (Grenoble, France), Piotr Garstecki (Varsovie, Pologne), Noo-Li Jeon (Irvine, Etats-Unis), Ali Khademhosseini (Boston, Etats-Unis), Benoît Ladoux (Paris, France), Thierry Livache (Grenoble, France), Patrice Marche (Grenoble, France), Buddy Ratner (Washington, Etats-Unis), Hervé Rigneault (Marseille, France), Thomas Stieglitz (Freiburg, Allemagne), Jean-Claude Voegel (Strasbourg, France), Janos Vörös (Zurich, Suisse).

#### Phase II • Maîtrise technique

23-26 avril 2007 • Grenoble

**Programme** • — Cette partie sera consacrée à la mise en oeuvre pratique des méthodes et approches présentées durant la phase I. Plusieurs stages seront proposés : dépôt localisé de protéines de la matrice extracellulaire, multicouches de poly-électrolytes, utilisation de dispositifs miniaturisés (lab-on-chip), imagerie par résonance plasmonique de surface.

**Sélection** • 24 stagiaires seront choisis parmi les participants de la phase I.

**Date limite d'inscription :** 15 janvier 2007