

La voie JAK-STAT disséquée in vivo

JAK (*Janus kinase*) et STAT (*signal transducers and activators of transcription*) sont des intermédiaires essentiels de la cascade d'événements intracytoplasmiques déclenchés par la fixation d'une cytokine à son récepteur et aboutissant à l'exécution de fonctions cellulaires [1]. Contrairement à la spécificité des couples cytokines-récepteurs de cytokines, les mêmes JAK et STAT sont utilisées en réponse à des cytokines différentes. L'analyse des conséquences de l'inactivation des gènes codant pour ces molécules, publiée pour quatre d'entre elles dans des numéros récents de *Cell* [2-5], n'en est que plus utile pour comprendre leur implication hématopoïétique et extra-hématopoïétique. Les expressions de *JAK2* et *STAT5* sont toutes deux activées en réponse à la thrombopoïétine et à l'érythropoïétine. L'absence de *JAK2* entraîne une anémie létale au jour 12-15 du développement alors que celle de *STAT5* n'entrave pas le développement hématopoïétique. Le phénotype des souris *JAK2*^{-/-} rappelle celui qui est obtenu par inactivation du récepteur de l'érythropoïétine (Epo), mais apparaît plus sévère, puisque aucun progéniteur érythroïde (BFU-E, *burst forming unit-erythroid*) et CFU-E (*colony forming unit-erythroid*) n'est détecté dans le foie des embryons *JAK2*^{-/-}, contrairement aux observations faites chez les mutants *Epo-R*^{-/-}, suggérant que le blocage survient en amont dans la hiérarchie hématopoïétique. En effet, l'absence de *JAK2* bloque la réponse proliférative de ces progéniteurs hématopoïétiques non seulement à l'érythropoïétine, mais à d'autres cytokines, comme l'interleukine-3 (IL-3) ou le GM-CSF (*granulocyte, macrophage-colony stimulating factor*) agissant en amont. Ainsi les cellules de foie des embryons *JAK2*^{-/-} cultivées en présence de thrombo-

poïétine, IL-3, GM-CSF ou IL-5 ne forment aucune colonie de cellules différenciées, alors que la réponse au CSF-1, au SCF (*stem cell factor*) et au G-CSF est intacte. Si leur différenciation est bloquée, les progéniteurs cibles de ces cytokines sont cependant présents, comme en témoignent : (1) la détection de transcrits de facteurs de transcription normalement exprimés à un stade précoce de l'hématopoïèse ; (2) la restauration d'une érythropoïèse après transduction des cellules de foie fœtal par *JAK2*; (3) la présence de cellules dont le phénotype (CD34^{low}C-kit⁺) correspond à celui de cellules primitives ; et enfin (4) l'intégrité de la différenciation lymphoïde. Les progéniteurs lymphoïdes B et T sont présents dans le foie fœtal des embryons *JAK2*^{-/-} en nombre normal et produisent, lorsqu'ils sont cultivés dans des conditions appropriées *in vitro* ou *in vivo*, des lymphocytes mûrs et fonctionnels. Il est intéressant de rappeler le rôle majeur de *JAK3* pour le développement lymphoïde. Il faut aussi souligner l'absence d'anomalies extra-hématopoïétiques, du moins à ce stade du développement. Les fibroblastes des embryons *JAK2*^{-/-} sont sensibles à l'interféron α , mais ne répondent pas à l'interféron γ . En revanche, la réponse aux cytokines de la famille de l'IL-6, dont les récepteurs utilisent la gp130, n'est pas affectée puisque les cellules ES *JAK2*^{-/-} répondent au LIF (*leukemia inhibiting factor*). Les souris dont les deux gènes *STAT5a* et *b* ont été invalidés sont viables et n'ont que très peu d'anomalies de l'hématopoïèse. L'absence de retentissement sur la lignée érythroïde est particulièrement surprenante. Outre l'érythropoïétine et la thrombopoïétine, l'IL-2, l'IL-3, le GM-CSF, l'hormone de croissance et la prolactine activent *STAT5 a* et *b*. Les cellules médullaires de ces ani-

maux donnent peu de colonies granulomacrophagiques en réponse à l'IL-3, l'IL-5, le GM-CSF, diminution qui n'est pas forcément la conséquence directe de l'absence de *STAT5 a* et *b*. La diminution de la population des précurseurs B est, elle aussi, mal expliquée, et peut être secondaire aux anomalies de prolifération des lymphocytes T mûrs, qui semblent majeures mais ne sont pas détaillées dans cette publication. Les principales anomalies sont toutefois extra-hématopoïétiques, caractéristiques d'animaux qui n'auraient ni hormone de croissance ni prolactine. En effet, les souris *STAT5a/b*^{-/-} ont un poids inférieur de 30 % à celui des souris sauvages et les femelles *STAT5a/b*^{-/-} sont stériles, conséquence d'une absence de développement du corps lutéal et d'une insuffisance de progestérone. Le facteur *STAT5* semble donc indispensable à la transmission du signal de l'hormone de croissance et de la prolactine mais pas à celui de l'érythropoïétine ni de la thrombopoïétine [5]. Quant aux conséquences de la délétion de *JAK1*, elles créent un tableau en miroir de celui de souris *JAK2*^{-/-}, puisque, chez ces souris, les lignées myéloïdes sont normales alors qu'il existe un déficit majeur du développement des lignées lymphocytaires B (blocage au stade pro-B) et T (réduction du nombre de thymocytes), rappelant celui des souris *IL-7*^{-/-}, ou *JAK3*^{-/-} [6]. *JAK1* est probablement un maillon essentiel de la réponse aux cytokines IL-2, IL-7, IL-9 et IL-15, dont les récepteurs partagent une chaîne γ commune. Les protéines *JAK 1* et *JAK3* s'avèrent donc être des partenaires obligatoires et non redondants dans le développement lymphoïde. Comme on pouvait s'y attendre, les fibroblastes ou les macrophages *JAK1*^{-/-} ne répondent pas aux interférons de type I et II

Tableau

INACTIVATION DES GÈNES *STAT* ET *JAK*: RÉCAPITULATIF DES PRINCIPALES ANOMALIES OBSERVÉES

Gène inactivé	Viabilité des homozygotes	Altérations hématopoïétiques	Altérations extra-hématopoïétiques	Récepteurs impliqués	Références
<i>JAK1</i>	mort à la naissance	– Absence de lymphopoïèse B et T	– Non-réponse aux IFN I et II – Anomalies de la survie neuronale?	– IFN α et γ – IL-10 – chaîne $\gamma\epsilon$ – gp130*	[2]
<i>JAK2</i>	Létal embryon (10-12 J)	– Anémie++ – Déficit de réponse des progéniteurs myéloïdes – Lymphopoïèse normale		– Tpo, Epo – IL-3, GM-CSF, IL-5 (chaîne $\beta\epsilon$) – IFN γ	[3, 4]
<i>JAK3</i>	Viables	– Déficit de la lymphopoïèse T et B (phénotype SCID)		– chaîne $\gamma\epsilon$	[6]
<i>STAT1</i> <i>STAT2</i>	Viables Aucun embryon homozygote		– Susceptibilité aux virus et au développement de tumeurs	– IFN	[7]
<i>STAT3</i>	Létal embryon (6-7 J)		– Développement du mésoderme	– gp130* – G-CSF – Leptine	[8]
<i>STAT4</i>		– Déficit de la fonction Th1 (<i>helper</i>)		– IL-12	[9]
<i>STAT5a</i>	Viable	– Réponse diminuée au GM-CSF	– Développement mammaire-lactation	– Prolactine – GM-CSF	[10, 11]
<i>STAT5b</i>	Viable		– Croissance diminuée – Sécrétion hormone de croissance, et hormones sexuelles – Développement mammaire	– Hormone de croissance	[12]
<i>STAT5a + b</i>	Viable (30% mortalité naissance)	– Déficit en progéniteurs GM et lymphocytaires B – Déficit réponse lymphocytes T?	– Femelles: stérilité – Anomalies du développement de l'ovaire	– IL-3, GM-CSF, IL-5 – Prolactine – Hormone de croissance	[5]
<i>STAT6</i>		– Déficit de la fonction Th2 (<i>helper</i>)		– IL-4, IL-13	[13, 14]

§ Récepteurs qui utilisent la chaîne $\gamma\epsilon$: IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15.

* Récepteurs qui utilisent la chaîne commune gp130: IL-6, LIF (leukemia inhibiting factor), CNTF (ciliary neurotrophic factor), OSM (oncostatine M), IL-11.

(IFN α et γ). Quant à la réponse aux cytokines de la famille de l'IL-6, utilisant la chaîne commune gp130, elle est présente, ce dont témoigne l'activation de STAT3, mais est très diminuée et n'entraîne pas de réponse biologiquement efficace, du moins dans les cardiomyocytes et les neurones. La constatation « biochimique » de l'activation d'un signal de transduction n'est donc pas le garant d'une réponse cellulaire efficace.

L.C.
D.D.

1. Vignais ML. Protéines JAK et STAT dans la signalisation cellulaire. *Med Sci* 1997; 13: 1277-84.
2. Rodig SJ, Meraz MA, White JM, et al. Disruption of the JAK1 gene demonstrates obligatory and

nonredundant roles of the JAKs in cytokine-induced biologic responses. *Cell* 1998; 93: 373-83.

3. Parganas E, Wang D, Stravopodis D, et al. JAK2 is essential for signaling through a variety of cytokines receptors. *Cell* 1998; 93: 385-95.

4. Neubauer H, Cumano A, Müller M, et al. JAK 2 deficiency defines an essential developmental checkpoint in definitive hematopoiesis. *Cell* 1998; 93: 397-409.

5. Teglund S, McKay C, Schuetz E, et al. STAT5a and Stat5b proteins have essential and nonessential, or redundant, roles in cytokines responses. *Cell* 1998; 93: 841-50.

6. Nosaka T, van Deursen JM, Tripp RA, et al. Defective lymphoid development in mice lacking JAK3. *Science* 1995; 270: 800-2.

7. Durbin JE, Hackenmiller R, Simon MC, Levy DE. Targeted disruption of the mouse *STAT1* gene results in compromised innate immunity to viral disease. *Cell* 1996; 84: 443-50.

8. Takeda K, Noguchi K, Shi W, et al. Targeted disruption of the mouse *STAT3* gene leads to early embryonic lethality. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 3801-4.

9. Thierfelder WE, van Deursen J, Yamamoto K, et al. Requirement for STAT4 in interleukin-12-mediated responses of natural killer and T cells. *Nature* 1996; 382: 171-4.

10. Liu X, Robinson GW, Wagner KU, Garrett L, Wynshaw-Boris A, Hennighausen L. STAT5a is mandatory for adult mammary gland development and lactogenesis. *Genes Dev* 1997; 11: 179-86.

11. Feldman GM, Rosenthal LA, Liu X, et al. STAT5A-deficient mice demonstrate a defect in granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-induced proliferation and gene expression. *Blood* 1997; 90: 768-76.

12. Udy GB, Towers RP, Snell RG, et al. Requirement of STAT5b for sexual dimorphism of body growth rates and liver gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 7239-44.

13. Kaplan MH, Schindler U, Smiley ST, Grusby MJ. STAT6 is required for mediating responses to IL-4 and for the development of Th2 cells. *Immunity* 1996; 4: 313-9.

14. Shimoda K, van Deursen J, Sangster MY, et al. Lack of IL-4-induced Th2 response and IgE class switching in mice with disrupted *STAT6* gene. *Nature* 1996; 380: 630-3.

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ **La sclérose tubéreuse, un trouble de l'endocytose?** La sclérose tubéreuse de Bourneville (TSC) est restée longtemps une maladie mystérieuse car il ne semblait pas exister de lien évident entre les principaux signes: retard mental avec épilepsie, adénomes sébacés du visage et hamartomes* siégeant dans de nombreux organes (cerveau, reins, cœur, peau, entre autres). Bien qu'il existât de nombreux cas sporadiques, la présence de familles avec cas multiples de transmission autosomique dominante ne laissait pas de doute sur la nature génétique de la TSC (*m/s* 1994, n° 5, p. 601). Deux locus furent trouvés par clonage positionnel, puis deux gènes. Le premier, *TSC2*, fut isolé en 1993 par le *European Chromosome 16 Tuberous Sclerosis Consortium* dans la région 16p13 (*m/s* 1995, n° 4, p. 636). Il code pour la tubérine. Le second, *TSC1*, se situe en 9q34 et code pour une pro-

téine appelée hamartine [1]. L'équipe hollandaise ayant isolé *TSC1* vient de démontrer que tubérine et hamartine s'associent *in vivo* pour interagir dans les cellules [2]. Le travail de ce groupe est d'autant plus convaincant que le produit des deux gènes (impliqués chacun dans environ 50 % des cas de TSC) a été étudié à l'aide de trois méthodes différentes. (1) Par la méthode des doubles hybrides en levure, il mit en évidence une forte interaction, spécifique, limitée au domaine *coil-coiled* de l'hamartine et de la tubérine. (2) Dans plusieurs lignées cellulaires transfectées par *TSC1* et *TSC2*, l'examen en immunofluorescence montrait une co-localisation des deux protéines dans certaines structures cytoplasmiques. (3) Enfin, à l'aide des antisérums spécifiques, après immunoprécipitation des protéines endogènes, l'hamartine a pu être récupérée par le sérum anti-tubérine et *vice versa*. Ainsi, on peut supposer que, dans la TSC, des mutations de *TSC1* ou *TSC2* empêchent la formation d'un complexe protéique fonctionnel.

On sait par ailleurs que la tubérine a une région homologue de la protéine GAP3 (*GTPase activating protein*) et qu'elle interagit avec la rabaptine 5, protéine cytosolique effectrice de la petite GTPase Rab5 endosomique [3]. Il est donc possible que les produits des gènes *TSC1* et *TSC2* entrent dans la composition d'un complexe protéique réglant les phénomènes de fusion endocytaire. Dans cette hypothèse, il faudrait chercher si d'autres protéines entrent aussi dans la formation de ce complexe afin de comprendre les mécanismes de ce dysfonctionnement et quel lien pourrait exister entre un trouble de l'endocytose et les différentes manifestations cliniques de la TSC, en particulier la survenue des hamartomes.

[1. Van Stegtenhordst M, et al. *Science* 1997; 277: 805-8.]

[2. Van Stegtenhordst M, et al. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 1053-7.]

[3. Xiao GH, et al. *J Biol Chem* 1997; 272: 6097-100.]

* Malformations pseudotumorales caractérisées par un excès de cellules présentes normalement dans le tissu concerné.