

facteurs de transcription à proximité du GR sont déterminants dans le choix de recrutement des p160 par le GR.

Nous avons aussi étudié le mode d'assemblage du GR avec SRC-1a dans les cellules gliales (Figure 2). Le modèle classique décrit une interaction exclusive entre le GR et le domaine d'interaction avec les récepteurs nucléaires en position carboxyterminale (NR2) de SRC-1a. Nous avons mis en évidence que, dans les cellules de Schwann, le GR peut contacter SRC-1a au niveau de ses deux domaines NR (NR1 central et NR2 carboxyterminal) [4] alors que, dans les astrocytes, seul le NR1 central est impliqué dans l'interaction avec le GR.

La perturbation du premier étage du complexe transcriptionnel mis en place par le GR dans ces cellules modifie l'implication de CBP et de p300 dans la signalisation du GR. Dans les cellules de Schwann, p300 (coactivateur du GR) se comporte comme un corépresseur, alors que CBP n'est pas impliquée dans la signalisation du récepteur. Dans ces cellules, le facteur qui remplace CBP dans la signalisation du GR est la β -caténine (coactivateur de la voie canonique Wnt), capable d'interagir avec SRC-1 et

de potentialiser l'effet transcriptionnel du récepteur [5]. La β -caténine est un coactivateur qui joue un rôle majeur dans l'inflammation; son recrutement par le GR laisse donc présager un mécanisme anti-inflammatoire inédit dans les cellules gliales.

Ainsi, l'analyse du complexe transcriptionnel mis en place par le GR dans les cellules gliales démontre que le recrutement des p160 par le GR n'est pas un processus guidé par le hasard et que, loin d'être interchangeables [6], les membres de cette famille interviennent spécifiquement dans la signalisation du GR. Ce processus influence l'activité de CBP et de p300 dans cette voie de signalisation. L'implication différentielle de ces coactivateurs dans la signalisation du récepteur explique en partie les effets pléiotropiques mais spécifiques des GC dans les cellules gliales. Enfin, nos résultats montrent que le complexe transcriptionnel du GR dans les cellules gliales ne peut pas être calqué à partir des organes périphériques, ce qui permet d'envisager les coactivateurs comme de nouvelles cibles thérapeutiques dans le traitement des maladies neurologiques. Le recrutement des corégulateurs de la transcription par les récepteurs n'est donc pas le fruit du hasard des chocs moléculaires ou des mouvements browniens

mais un processus multiparamétrique guidé par la nature du ligand [6], de l'élément de réponse du promoteur, de la cellule cible et de la cinétique d'induction. ♦

Unusual mechanism of action and assembly of the glucocorticoid receptor and its coactivators in glial cells

RÉFÉRENCES

1. Kellendonk C, Gass P, Kretz O, et al. Corticosteroid receptors in the brain: gene targeting studies. *Brain Res Bull* 2002; 57 : 73-83.
2. Grenier J, Trousson A, Chauchereau A, et al. Differential recruitment of p160 coactivators by glucocorticoid receptor between Schwann cells and astrocytes. *Mol Endocrinol* 2006 (sous presse)
3. Grenier J, Tomkiewicz C, Trousson A, et al. Identification by microarray analysis of aspartate aminotransferase and glutamine synthetase as glucocorticoid target genes in a mouse Schwann cell line. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006 (sous presse)
4. Grenier J, Trousson A, Chauchereau A, et al. Selective recruitment of p160 coactivators on glucocorticoid-regulated promoters in Schwann cells. *Mol Endocrinol* 2004; 18 : 2866-79.
5. Fonte C, Grenier J, Trousson A, et al. Involvement of β -catenin and unusual behavior of CBP and p300 in glucocorticosteroid signaling in Schwann cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102 : 14260-5.
6. Mark M, Yoshida-Komiya H, Gehin M, et al. Partially redundant functions of SRC-1 and TIF2 in postnatal survival and male reproduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101 : 4453-8.
7. Meijer OC, Kalkhoven E, van der Laan S, et al. Steroid receptor coactivator-1 splice variants differentially affect corticosteroid receptor signaling. *Endocrinology* 2005; 146 : 1438-48.

NOUVELLE

Contrôle de la réponse inflammatoire de l'hôte lors de l'infection par *Shigella flexneri*

Claude Parsot

Activation de NF- κ B et réponse pro-inflammatoire

L'invasion de la barrière intestinale par des micro-organismes pathogènes, extra- ou intracellulaires, est détectée par différentes voies de signalisation convergeant vers le facteur de

transcription NF- κ B. En condition de non-stimulation, NF- κ B est associé, dans le cytoplasme, à des protéines inhibitrices ($\text{I}\kappa\text{B}$) qui masquent son signal d'adressage au noyau. La stimulation des cellules par des agents infectieux conduit à l'activation des protéines IKK qui phosphorylent alors

Unité de Pathogénie microbienne moléculaire, Inserm U.389, Institut Pasteur, 28, rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France. cparsot@pasteur.fr

$\text{I}\kappa\text{B}\alpha$. La protéine $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ phosphorylée ($\text{p-I}\kappa\text{B}\alpha$) est ensuite ubiquitinylée, ce qui constitue un signal d'adressage au protéasome où elle est dégradée.



La dégradation de $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ libère NF- κB qui transite alors vers le noyau pour activer la transcription des gènes cibles et conduire à l'établissement d'une réponse pro-inflammatoire [1]. La voie d'ubiquitinylation comprend trois étapes : la première, catalysée par l'enzyme $\text{E}1$ en présence d'ATP et d'ubiquitine, conduit à la formation d'une liaison entre le résidu carboxy-terminal de l'ubiquitine et un résidu Cys de $\text{E}1$; la deuxième, catalysée par l'enzyme $\text{E}2$ (Ubc), conduit au transfert de l'ubiquitine de $\text{E}1$ vers un résidu Cys de $\text{E}2$; la troisième, catalysée par l'enzyme $\text{E}3$, conduit au transfert de l'ubiquitine de $\text{E}2$ vers un résidu Lys de la protéine cible [2]. Dans les cellules humaines, il existe un seul $\text{E}1$, environ 25 $\text{E}2$ et plus de 500 $\text{E}3$. Chaque $\text{E}3$ reconnaît un petit nombre de cibles et fonctionne avec un $\text{E}2$ spécifique. L'ubiquitinylation de p- $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ met en jeu le $\text{E}2$ UbcH5b et le $\text{E}3$ SCF β -TrCP comprenant quatre protéines [3].

La voie de sécrétion de type III chez les bactéries pathogènes

Les bactéries du genre *Shigella* sont responsables de la shigellose chez l'homme, caractérisée par la destruction de l'épithélium, provoquée par l'invasion de la muqueuse colique par les bactéries. Celles-ci utilisent un système de sécrétion de type III pour interagir avec les cellules de l'hôte. Ce système, présent également dans de nombreuses autres bactéries pathogènes à Gram négatif, comprend un appareil de sécrétion qui injecte, lors du contact de la bactérie avec la cellule cible, des effecteurs protéiques dans la cellule [4]. *S. flexneri* présente un répertoire de 25 effecteurs spécifiés par un plasmide de virulence [5]. Certains effecteurs interviennent sur l'organisation du cytosquelette d'actine, ce qui conduit à l'internalisation des bactéries dans les cellules épithéliales [6]. Des résultats récents indiquent que l'ef-

fecteur OspG inhibe l'ubiquitinylation de $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ et empêche l'activation de NF- κB [7].

L'effecteur OspG inhibe l'activation de NF- κB

La séquence d'OspG (196 résidus) présente des motifs caractéristiques d'une kinase. Pour identifier des partenaires d'interaction de OspG dans la cellule, cette protéine a été utilisée comme appât pour cribler, dans un système double hybride, une banque de proies construites à partir de l'ADNc de cellules humaines. Ce test a détecté une interaction entre OspG et plusieurs $\text{E}2$, dont UbcH5b, UbcH5c, UbcH7, UbcH8, UbcH9 et RIG-B. Des études biochimiques ont indiqué que OspG interagit avec les protéines $\text{E}2$ ubiquitinylées (Ub- $\text{E}2$). Cette interaction n'interfère pas avec l'ubiquitinylation de $\text{E}2$ par $\text{E}1$ et ne conduit pas à la phosphorylation de Ub- $\text{E}2$. UbcH5 intervenant dans l'ubiquitinylation de $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ par SCF β -TrCP, nous avons recherché si OspG - exprimé dans des cellules à partir d'un plasmide recombinant ou injecté dans des cellules épithéliales par *S. flexneri* - interférait avec l'ubiquitinylation et la dégradation de p- $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$. La transfection des cellules HEK293T par un plasmide spécifiant OspG a inhibé la dégradation d' $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ et l'activation d'un promoteur contrôlé par NF- κB (les deux étant induites par une stimulation des cellules par le TNF α). L'infection de cellules HeLa par la souche sauvage de *S. flexneri*, détectée par la voie Nod1 [8], a induit la dégradation d' $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ une heure après l'entrée des bactéries dans les cellules. Cette dégradation a été observée après seulement 20 minutes d'infection par un mutant chez lequel le gène *ospG* avait été inactivé. De plus, une accumulation de p- $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ a été observée après 20 minutes d'infection par la souche sauvage, mais pas par le mutant *ospG*. Ces résultats indiquent que l'entrée de la souche sauvage dans les cellules induit la phosphorylation de $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ et que OspG inhibe l'ubiquitinylation,

et donc la dégradation de p- $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ et l'activation de NF- κB . Le rôle de OspG lors de l'infection *in vivo* a été analysé dans le modèle d'infection d'anses ligaturées de lapin. La réponse inflammatoire et la destruction des tissus étaient plus importantes après infection par le mutant *ospG* qu'après infection par la souche sauvage. Le mécanisme par lequel OspG inhibe l'activité de SCF β -TrCP mettrait en jeu l'association d'OspG à UbcH5, permettant à OspG d'être ciblé sur SCF β -TrCP, et la phosphorylation par OspG d'un constituant de SCF β -TrCP. Outre sa capacité d'inhiber la dégradation de $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$, OspG pourrait interférer avec l'ubiquitinylation d'autres substrats de SCF β -TrCP, tels que le β -caténine. De plus, la capacité d'OspG à s'associer à différentes protéines $\text{E}2$ suggère qu'OspG pourrait interférer avec les activités d'autres protéines $\text{E}3$.

Contrôle de l'inflammation par d'autres effecteurs

Le recrutement de polymorphonucléaires neutrophiles au site d'infection facilite l'accès de *S. flexneri* au pôle basolatéral des cellules épithéliales par lequel les bactéries pénètrent dans les cellules [9]. L'analyse fonctionnelle de OspG indique que *S. flexneri* possède au moins un effecteur capable de contrôler de façon négative la réponse immunitaire innée que les bactéries déclenchent lors de l'infection. Des effecteurs d'autres pathogènes, tels que la protéase à cystéine YopJ et la phospho-tyrosine phosphatase YopH de *Yersinia*, sont également impliqués dans le contrôle de l'inflammation [10]. La caractérisation des effecteurs des systèmes de sécrétion de type III, issus de la longue co-évolution des micro-organismes pathogènes avec leurs hôtes, pourrait nous mettre sur la piste de nouvelles cibles cellulaires pour le développement de molécules anti-inflammatoires. ♦

Control of the host inflammatory response during *Shigella flexneri* infection

RÉFÉRENCES

1. Li QT, Verma IM. NF- κ B regulation in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2002 ; 2 : 725-34.
2. Pickart CM. Mechanisms underlying ubiquitination. *Annu Rev Biochem* 2001 ; 70 : 503-33.
3. Zheng N, Schulman BA, Song LZ, et al. Structure of the Cul1-Rbx1-Skp1-F box(Skp2) SCF ubiquitin ligase complex. *Nature* 2002 ; 416 : 703-9.
4. Hueck CJ. Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998 ; 62 : 379-433.
5. Buchrieser C, Glaser P, Rusniok C, et al. The virulence plasmid pWR100 and the repertoire of proteins secreted by the type III secretion apparatus of *Shigella flexneri*. *Mol Microbiol* 2000 ; 38 : 760-71.
6. VanNieu GT, BenZeev A, Sansonetti PJ. Modulation of bacterial entry into epithelial cells by association between vinculin and the *Shigella* IpaA invasin. *EMBO J* 1997 ; 16 : 2717-29.
7. Kim DW, Lenzen G, Page AL, Legrain P, Sansonetti PJ, Parsot C. The *Shigella flexneri* effector OspG interferes with innate immune responses by targeting ubiquitin-conjugating enzymes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102 : 14046-51.
8. Girardin SE, Boneca IG, Carneiro LAM, et al. Nod1 detects a unique muropeptide from Gram-negative bacterial peptidoglycan. *Science* 2003 ; 300 : 1584-7.
9. Sansonetti PJ. War and peace at mucosal surfaces. *Nat Rev Immunol* 2004 ; 4 : 953-64.
10. Espinosa A, Alfano JR. Disabling surveillance : bacterial type III secretion system effectors that suppress innate immunity. *Cell Microbiol* 2004 ; 6 : 1027-40.

NOUVELLE

L'aspirine, les cyclo-oxygénases et les effets cardiovasculaires délétères de l'angiotensine II Rôle des cyclo-oxygénases dans les effets de l'angiotensine II

Rong Wu, Marc-André Laplante, Jacques de Champlain

Département de physiologie,
Université de Montréal,
CP 6128-Succursale Centre-Ville,
Montréal (Québec), H3C 3J7 Canada.
jacques.de.champlain@umontreal.ca

► Un nombre croissant de données cliniques et expérimentales confirme le rôle important joué par le stress oxydant dans la pathogénie et la progression des maladies cardiovasculaires, particulièrement l'athérosclérose et l'hypertension [1]. Par exemple, une corrélation directe a été établie entre le développement de l'hypertension et la proportion d'anions superoxydes (O_2^-) dans les vaisseaux des rats spontanément hypertendus (SHR) [2].

Des études récentes ont établi que l'aspirine (AAS) est un agent antioxydant puissant qui réduit l'activité de la NAD(P)H oxydase et la production de l' O_2^- dans le cœur et les vaisseaux. Le rétablissement de l' O_2^- à des valeurs normales par le traitement de rats SHR à l'AAS a été accompagné d'une atténuation de la hausse de la tension artérielle (TA) et d'une amélioration des fonctions endothéliales de la vasodilatation chez ces animaux [3]. Le traitement à l'AAS a aussi prévenu le stress oxydant, l'hypertension artérielle et l'hypertrophie cardiaque provoquées, chez le rat, par l'ad-

ministration chronique d'angiotensine II (Ang II) [4], un agent causal majeur de la pathogénie de plusieurs maladies cardiovasculaires : athérosclérose, hypertension, insuffisance cardiaque et remodelage ou hypertrophie cardiaque [5]. Plusieurs études suggèrent donc que l'activation de la NAD(P)H oxydase et l'augmentation de la production de l' O_2^- , qui y est associée, constituent l'un des mécanismes majeurs qui sous-tendent les effets délétères de l'activation des récepteurs AT1 sur le système cardiovasculaire. De plus, il a été proposé que l'Ang II contribue à augmenter, entre autres, la surexpression de la COX-2 dans les tissus cardiovasculaires. Nous avons donc cherché à évaluer les rôles respectifs des cyclo-oxygénases de type 1 et 2 (COX-1 et 2) pour contrer les effets inflammatoires et pro-oxydants de l'Ang II [6].

Les deux isoformes des COX convertissent l'acide arachidonique en différents types de prostaglandines et de thromboxanes. La COX-1 est exprimée de façon ubiquitaire dans la plupart des tissus de mam-

mifère, principalement dans l'estomac, les plaquettes et les vaisseaux sanguins. L'activité de la COX-1 est constitutive des prostanoïdes dont elle assure la production de façon relativement stable. À l'opposé, la COX-2 est indétectable dans la plupart des tissus, mais peut être induite par plusieurs cytokines dans les macrophages, le cerveau, les chondrocytes, les fibroblastes et les cellules synoviales.

Les agents anti-inflammatoires non-stéroïdiens inhibent l'activité des COX et sont divisés en trois classes, l'AAS (inhibiteur irréversible des COX-1 et COX-2) les inhibiteurs sélectifs de COX-2 (par exemple, rofécoxib) et les inhibiteurs non sélectifs de COX (par exemple, ibuprofène) [7]. Il n'existe aucune donnée montrant une relation causale entre l'activité des COX et le degré de stress oxydant, mais des études suggèrent que la COX-2 intervient dans l'amorce de la production de radicaux libres [8].