

## Détecter la pression ?

### Identification de deux protéines activées par les forces mécaniques

Bertrand Coste

Laboratory of Ardem Patapoutian,  
The Scripps Research Institute,  
10550 North Torrey Pines Road,  
92037, La Jolla, Californie, États-Unis.  
[coste@scripps.edu](mailto:coste@scripps.edu)



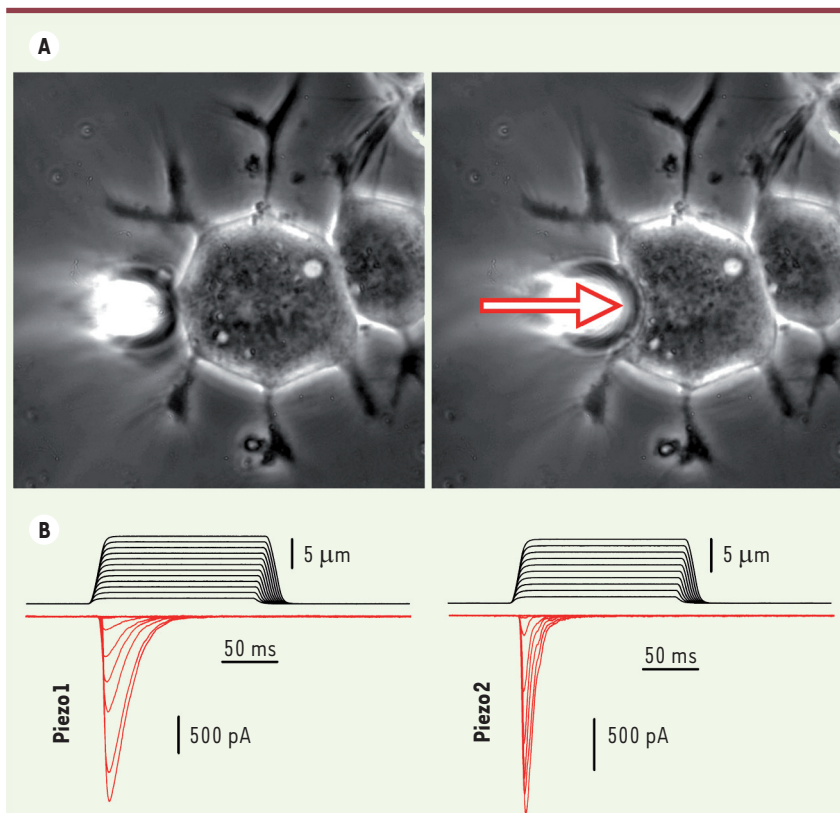
La transduction mécanique correspond à la conversion de forces mécaniques en signaux biologiques et participe de façon majeure à la physiologie et au comportement de tous les êtres vivants. Chez les plantes par exemple, la croissance des racines est largement dirigée par les forces mécaniques générées lors de la rencontre de matériaux résistants [1]. Les eucaryotes unicellulaires tels que les Ciliés réagissent eux aussi au toucher par un changement de direction [2]. Enfin chez les vertébrés, un grand nombre de fonctions sont influencées par des stimulations mécaniques, telles que le toucher ou encore l'audition, qui

correspond à la détection des vibrations sonores par l'oreille interne [8]. La douleur, la proprioception, le contrôle du tonus vasculaire ou du flux rénal, l'homéostasie musculaire et osseuse ainsi que l'embryogenèse sont autant d'exemples de processus contrôlés par des forces mécaniques [3, 4].

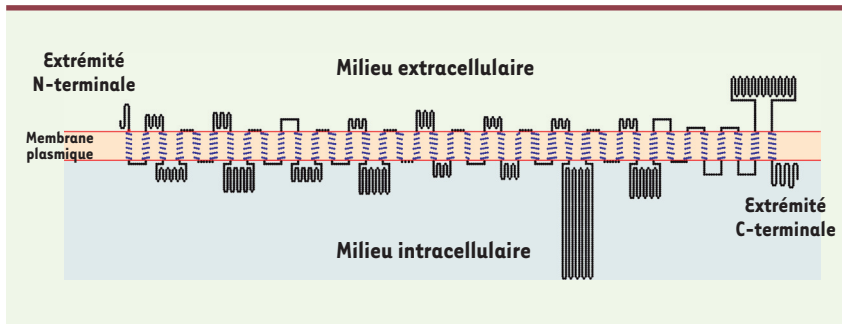
#### La quête de canaux ioniques activés mécaniquement

Depuis des décennies et à la suite des premiers enregistrements des courants activés mécaniquement dans l'oreille interne de vertébrés [5], les scientifiques ont cherché à identifier les canaux

ioniques activés directement en réponse à des stimulations mécaniques. De nombreuses études ont décrit la présence de tels courants dans divers types cellulaires. En particulier, les neurones sensoriels des ganglions dorsaux rachidiens (GDR), qui innervent notamment la peau, expriment différents types de courants activés mécaniquement [6]. Ces courants, définis par leurs propriétés d'adaptation, sont responsables de l'activation des neurones impliqués dans le toucher, la proprioception ou la douleur. Un certain nombre de canaux ioniques activés mécaniquement ont été décrits à ce jour [3, 4], mais aucun



**Figure 1. Courants activés par la stimulation mécanique des corps cellulaires de cellules exprimant Piezo1 ou Piezo2.** A. Dispositif expérimental permettant de stimuler mécaniquement les cellules (la pipette d'enregistrement n'est pas présente pour plus de clarté). À gauche, la photo illustre une cellule N2A à côté de laquelle est positionnée la pipette de stimulation. À droite, la pipette de stimulation qui est déplacée vers la cellule (flèche rouge) produit une déformation mécanique de la membrane plasmique. B. Exemple de courants activés mécaniquement enregistrés à un potentiel de maintien de  $-80$  mV dans des cellules surexprimant Piezo1 (à gauche) et Piezo2 (à droite). Les traces en noir représentent les mouvements effectués par la pipette de stimulation, dont le déplacement est augmenté de  $1 \mu\text{m}$  à chaque nouvelle stimulation. Les traces en rouge représentent le courant activé qui augmente parallèlement au mouvement de la pipette de stimulation.



**Figure 2. Prédiction de la topologie membranaire de la protéine Piezo2.** La protéine Piezo2 isolée à partir des GDR de souris est formée de 2 823 acides aminés. Le programme Phobius (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/phobius/>) prédit 39 domaines transmembranaires (en bleu) dispersés le long de la séquence protéique. Notez que cette prédiction est basée sur les propriétés hydrophobes des acides aminés et varie selon le programme utilisé.

n'a été impliqué de manière conclusive dans la détection des forces mécaniques chez les mammifères. La découverte de tels canaux ioniques représente un enjeu important en neurobiologie, et ce notamment dans le champ sensoriel, que ce soit pour les sens du toucher ou de l'audition.

### Piezo1 et Piezo2 contribuent à former des canaux activés mécaniquement

Notre étude a eu pour but d'identifier les canaux ioniques qui sous-tendent l'activité induite par les stimulations mécaniques. Nous avons examiné les réponses mécaniques d'un certain nombre de lignées cellulaires immortalisées (dont l'intérêt est leur facilité d'utilisation, la disponibilité de nombres illimités de cellules, et le fait qu'elles représentent une population homogène). Notre protocole expérimental a consisté à enregistrer des courants à l'aide d'une pipette de *patch-clamp* en configuration « cellule entière », et d'appliquer une pression sur cette même cellule au moyen d'une autre pipette finement contrôlée, afin de provoquer l'ouverture des canaux activés mécaniquement (Figure 1). Cette caractérisation nous a conduits à nous focaliser sur les cellules Neuro2A (N2A), issues de neuroblastes de souris et qui expriment un courant activé mécaniquement de manière stable. La comparaison des gènes exprimés dans ces cellules et dans les autres lignées que nous avons testées grâce à l'utilisation de puces à ADN nous a permis de dresser une liste de gènes dont l'expression est enrichie dans les cellules

N2A. Seuls les candidats pour lesquels les prédictions bio-informatiques indiquaient la présence d'au moins deux domaines transmembranaires (une propriété commune aux canaux ioniques) ont été considérés. Cette liste d'environ 450 candidats a été réduite à une centaine sur la base de ce qui était connu dans la littérature. Nous nous sommes focalisés sur les gènes codant pour des canaux ioniques et sur ceux dont la fonction est inconnue à ce jour. L'inhibition de l'expression de chacun de ces candidats, testée individuellement, *via* l'utilisation de petits ARN interférents (siARN) dans les cellules N2A, a conduit à l'identification de *Piezo1* dont l'expression est nécessaire à la présence du courant activé mécaniquement. Des expériences dans lesquelles *Piezo1* est surexprimé dans différentes lignées cellulaires ont montré qu'il était suffisant à l'induction d'un courant activé mécaniquement. La surexpression de *Piezo2*, un gène homologue de *Piezo1* chez les mammifères, induit également un courant activé mécaniquement. Les deux protéines codées par ces gènes génèrent des courants aux propriétés légèrement différentes en termes d'adaptation à la stimulation mécanique (Figure 1).

### Piezo2 dans les neurones sensoriels somatiques

Dans les neurones des GDR, alors que *Piezo1* est absente, *Piezo2* est, elle, exprimée dans une sous-population de neurones qui comprend à la fois des neurones exprimant des marqueurs de neurones nociceptifs, impliqués dans

la douleur, ainsi que d'autres neurones non nociceptifs impliqués dans le toucher et la proprioception. Des expériences de siARN dans les neurones de GDR ont montré que *Piezo2* sous-tend les courants activés mécaniquement dont la cinétique d'adaptation est la plus rapide, et qui représentent environ 30 % de la population totale de ces neurones. Ces résultats suggèrent que *Piezo2* joue un rôle dans le toucher, la proprioception et/ou la douleur mécanique.

### Piezo1 et 2 sont de grandes protéines transmembranaires conservées dans diverses espèces

Beaucoup d'animaux, de plantes et d'autres espèces eucaryotes ne possèdent qu'un seul gène *Piezo*, et l'on trouve deux gènes chez les vertébrés, mais aucun homologue chez les levures et les bactéries. Cette conservation suggère que ces protéines jouent un rôle important, qui serait apparu chez les eucaryotes au cours de l'évolution. Les différentes protéines *Piezo* prédites chez ces espèces sont formées de 2 100 à 4 800 acides aminés, et sont formées d'un très grand nombre de domaines transmembranaires. Par exemple, *Piezo1* et *Piezo2* chez la souris possèdent 30 à 39 domaines transmembranaires selon différentes prédictions bioinformatiques, ces domaines étant distribués le long de la protéine (Figure 2). Chez la souris, *Piezo1* et *Piezo2* sont exprimées dans différents tissus mécanosensibles tels que les poumons, la vessie, le rein, le côlon ou la peau, suggérant un rôle possible de ces protéines dans la sensibilité mécanique de ces organes.



## Conclusion

Nos travaux ont permis de découvrir une famille de protéines qui sont impliquées directement dans l'étape initiale de la mécanotransduction [7], et qui constituent des cibles importantes dans l'exploration des fonctions affectées par les stimulations mécaniques. De futures études permettront d'adresser plus précisément le rôle des protéines Piezo dans ces organes. De plus, l'expression de Piezo2 dans les neurones sensoriels des GDR fait de cette protéine potentiellement une cible de choix pour traiter certains types de douleurs mécaniques inflammatoires ou chroniques. ♦

### Feeling the pressure?

### Identification of two proteins activated by mechanical forces

## REMERCIEMENTS

L'auteur tient à remercier tout le personnel du laboratoire du Dr Ardem Patapoutian, ainsi que le Dr N. Grillet pour ses commentaires pertinents sur le manuscrit.

## CONFLIT D'INTÉRÊTS

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

## RÉFÉRENCES

1. Monshausen GB, Gilroy S. Feeling green: mechanosensing in plants. *Trends Cell Biol* 2009 ; 19 : 228-35.
2. Iwatsuki K, Hirano T. Induction of the thigmotaxis in *Paramecium caudatum*. *Comp Biochem Physiol A Physiol* 1995 ; 110 : 167-70.
3. Chalfie M. Neurosensory mechanotransduction. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009 ; 10 : 44-52.
4. Hamill OP, Martinac B. Molecular basis of mechanotransduction in living cells. *Physiol Rev* 2001 ; 81 : 685-740.

5. Corey DP, Hudspeth AJ. Response latency of vertebrate hair cells. *Biophys J* 1979 ; 26 : 499-506.
6. Coste B, Crest M, Delmas P. Pharmacological dissection and distribution of nan/Nav1.9, T-type  $Ca^{2+}$  currents, and mechanically activated cation currents in different populations of DRG neurons. *J Gen Physiol* 2007 ; 129 : 57-77.
7. Coste B, Mathur J, Schmidt M, et al. Piezo1 and Piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels. *Science* 2010 ; 330 : 55-60.
8. El-Amraoui A, Petit C. Thérapie cellulaire dans l'oreille interne : nouveaux développements et perspectives. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 981-5.

## NOUVELLE

### Force de traction à l'interface cellule-matrice extracellulaire et destin des cellules souches mésenchymateuses

Sidi A. Bencherif, Fabien Guillemot, Nathaniel Huebsch, David A. Edwards, David J. Mooney

S.A. Bencherif, N. Huebsch, D.A. Edwards, D.J. Mooney : École des sciences de l'ingénieur et des sciences appliquées, Université de Harvard, 29 Oxford Street, Cambridge MA 02138, États-Unis.  
F. Guillemot : Inserm U577, Biomatériaux et réparation tissulaire, Université de Bordeaux 2, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux, France. [sidi@seas.harvard.edu](mailto:sidi@seas.harvard.edu)

► Les cellules souches, cellules dotées des capacités combinées d'autorenouvellement et de différenciation, sont l'objet de toutes les attentions pour leurs applications en médecine régénératrice. Elles seraient utilisées *via* des approches de thérapie cellulaire ou d'ingénierie tissulaire pour remplacer ou réparer des tissus ou organes endommagés par une lésion, une maladie ou tout simplement le vieillissement [1]. Parmi les cellules souches adultes, les cellules souches mésenchymateuses (CSM) ont démontré leur propriété de multipotence, c'est-à-dire de se différencier en un certain nombre de cellules spécialisées sous l'action d'inducteurs solubles et/ou des facteurs biochimiques

et biophysiques constituant leur micro-environnement [2]. De ce fait, ces cellules souches sont devenues, au cours des dernières années, un modèle cellulaire passionnant au cœur de nombreuses études sur la régénération tissulaire. Identifier, isoler et apprendre à utiliser des cellules souches adultes pour la médecine régénératrice est ainsi devenu un enjeu majeur de la recherche biomédicale [3, 4].

### Contrôle du devenir des CSM par les propriétés mécaniques du microenvironnement en conditions 2D et 3D

La démonstration en 2006 par Engler et al. [5] que les propriétés mécaniques des

substrats sur lesquels reposent les cellules souches pouvaient orienter la différenciation de ces dernières vers des lignages spécifiques a ouvert la voie à un nombre important d'études portant sur les processus de mécanotransduction au contact de matrices extracellulaires artificielles. L'observation principale de ce travail était l'importance de la rigidité du substrat pour la spécification des CSM vers un lignage ou un autre. Par exemple, les CSM cultivées sur des substrats mous se différenciaient vers un phénotype myogénique alors que les CSM cultivées sur des substrats rigides s'orientaient vers une voie ostéogénique.

Parallèlement, de nombreux travaux publiés au cours de ces dix dernières années ont