



## RÉFÉRENCES

1. Voges D, Zwickl P, Baumeister W. The 26S proteasome: a molecular machine designed for controlled proteolysis. *Annu Rev Biochem* 1999; 68: 1015-68.
2. Weissman AM. Themes and variations on ubiquitinylation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2: 169-78.
3. Verma R, Aravind L, Oania R, et al. Role of Rpn11 metalloprotease in deubiquitination and degradation by the 26S proteasome. *Science* 2002; 298: 611-5.
4. Lyapina S, Cope G, Shevchenko A, et al. Promotion of NEDD-CUL1 conjugate cleavage by COP9 signalosome. *Science* 2001; 292: 1382-5.
5. Cope GA, Suh GS, Aravind L, et al. Role of predicted metalloprotease motif of Jab1/Csn5 in cleavage of Nedd8 from Cul1. *Science* 2002; 298: 608-11.
6. Yao T, Cohen RE. A cryptic protease couples deubiquitination and degradation by the proteasome. *Nature* 2002; 419: 403-7.

## NOUVELLE

### L'activation/dégradation protéasomique des GTPases Rho par CNF1 confère des capacités invasives aux *E. coli* uropathogènes

Luce Landraud, Anne Doye, Caroline Buisson-Touati, Patrice Boquet, Emmanuel Lemichez

Inserm U.452,  
Laboratoire de Biologie  
Cellulaire et Moléculaire  
des micro-organismes  
pathogènes et  
de leurs toxines,  
Faculté de médecine de Nice,  
28, avenue de Valombrose,  
06107 Nice Cedex 02, France.  
[landraud@unice.fr](mailto:landraud@unice.fr)

► Parmi les maladies infectieuses humaines les plus fréquentes, les infections urinaires représentent un problème important de santé publique en termes de morbidité et de coût. L'agent étiologique isolé dans les infections urinaires non compliquées est presque exclusivement *Escherichia coli* [1]. L'épithélium urinaire constitue une barrière fortement imperméable et un environnement hostile aux bactéries qui ne le colonisent normalement pas. Les souches d'UPEC (*uropathogenic E. coli*) ont acquis la capacité de coloniser cet épithélium, propriété conférée par un ensemble de facteurs de virulence comprenant des facteurs d'attachement de type *P-fimbriae* et des exotoxines. Ainsi, les toxines hémolysine- $\alpha$  et facteur cytotoxique nécrosant-1 (CNF1) caractérisent respectivement 40 % et 30 % des UPEC [2]. Le gène *cnf1* est aussi retrouvé dans 10 % des souches *E. coli* K1 responsables de méningites ainsi que chez *Yersinia pseudotuberculosis* (pour revue, voir [3]). La toxine CNF1 possède une structure classique composée de trois domaines fonctionnels, chacun responsable d'une

des trois étapes du processus d'intoxication [4]. Le tiers amino-terminal de CNF1 confère la capacité de liaison de la toxine à un récepteur de la membrane de la cellule hôte. Cette association permet à la toxine de pénétrer dans des compartiments d'endocytose acides [5]. Cette acidité est responsable de l'insertion de la partie médiane de CNF1 dans la bicouche lipidique et de l'injection du domaine carboxy-terminal dans le cytoplasme [6]. Le domaine carboxy-terminal de CNF1, véritable composant enzymatique de la toxine, catalyse alors la désamidation de la glutamine 63 de Rho (ou 61 de Rac et CDC42) en acide glutamique [7]. Les protéines Rho appartiennent à la super-famille des petites protéines GTPasiques Ras, régulatrices de l'homéostasie cellulaire [8] (→). Elles fixent et hydrolysent le GTP en GDP et oscillent ainsi entre une forme respectivement active, membranaire, capable de fixer et d'activer des protéines effectrices, et une forme inactive cytosolique. La glutamine est essentielle à l'hydrolyse du GTP et sa modification par

CNF1 produit donc l'activation permanente des GTPases Rho (Figure 1). CNF1 partage, avec une vingtaine de facteurs de virulence bactériens connus, la propriété biochimique de modification des GTPases Rho (pour revue, voir [3]). Les protéines Rho semblent être en amont de cascades moléculaires commandant les remaniements du cytosquelette d'actine nécessaires à la phagocytose, à la migration et à la différenciation cellulaires [8]. L'activation de Rac et de CDC42 produit la formation de projections membranaires notamment impliquées dans la phagocytose de type Fc $\gamma$  alors que le contrôle de l'état de contraction de l'actine par Rho participe à la phagocytose de type complément [9]. Rac contrôle également la formation d'espèces actives de l'oxygène en réponse aux pathogènes. Il partage aussi avec Rho et CDC42 le contrôle de la régulation de la synthèse de produits inflammatoires et de molécules pro- ou anti-apoptotiques. Il est vraisemblable que la forte occurrence de facteurs de virulence dirigés contre ces protéines soit la consé-

(→) m/s  
2003, n° 3,  
p. 358

quence de l'implication des protéines Rho dans les mécanismes de défense cellulaire (pour revue, voir [3]). Dans ce contexte, une activation soutenue des protéines Rho par CNF1 est toujours apparue difficile à concilier avec une vue finaliste de la physiologie bactérienne et cela d'autant plus que la majorité des toxines ciblant les protéines Rho sont connues pour les inactiver.

Le travail que nous venons de publier offre une nouvelle vision du mode d'action intracellulaire de cette toxine et permet une meilleure compréhension du mode d'invasion des cellules épithéliales par les bactéries pathogènes [10]. Nous avons mis en évidence que CNF1 induit, *in vivo*, une activation transitoire des protéines Rho qui est corrélée avec leur déplétion. En effet, la modification par la toxine de la protéine Rac (activation) produit sa dégradation par le protéasome (inactivation par déplétion). Cette observation mise en évidence grâce à CNF1 nous a alors conduit à découvrir qu'il existe dans les cellules un système de vigilance capable de contrôler le niveau de protéines Rho actives. Ainsi, l'activation soutenue de la protéine Rac, par mutation ou expression d'un facteur cellulaire activateur, induit sa sensibilisation à l'ubiquitinylation, proportionnellement à son niveau d'activation. Cet ensemble de résultats constitue un modèle capable de réconcilier certaines observations contradictoires sur le caractère oncogénique des GTPases Rho: bien que la surexpression de protéines de la famille Rho confère des caractéristiques oncogéniques, aucune mutation activatrice de ces protéines n'a encore été observée dans les cancers [11].

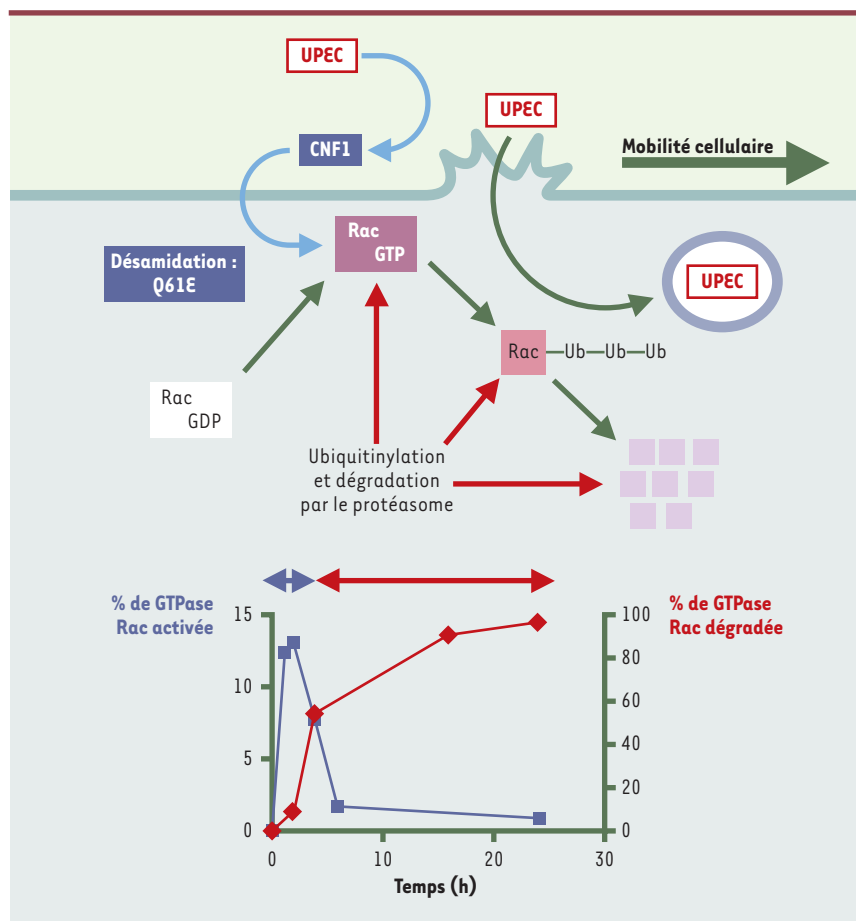
Ce mécanisme d'activation-dégradation des protéines Rho par le protéasome conduit à une seconde phase d'activation modérée de ces protéines. C'est pendant cette seconde phase que les cellules épithéliales de vessie ou d'endothélium ombilical deviennent mobiles et douées d'une forte capacité

de phagocytose. Cela doit permettre, d'une part, la disjonction de l'épithélium et, d'autre part, l'invasion des cellules par les UPEC. L'internalisation des UPEC dans les cellules épithéliales pourrait leur offrir une niche protectrice contre l'attaque par des cellules effectrices de la réponse immunitaire. L'implication de CNF1 en tant que facteur d'invasion s'inscrit dans une évolution globale du concept de la maladie infectieuse urinaire, suggérant qu'elle constitue une pathologie extra- et intracellulaire.

De plus, par analogie à CNF1, nous

avons proposé que les facteurs de virulence SopE et SptP, respectivement activateur et inhibiteur de Rac et de CDC42, présents chez *Salmonella*, pourraient être responsables d'une activation limitée des protéines Rho, nécessaire à l'obtention d'une forte efficacité d'invasion des cellules épithéliales de l'hôte par les bactéries [12]. Cela permet de comprendre l'existence de facteurs antagonistes, activateurs et inhibiteurs des GTPases Rho, au sein d'une même bactérie pathogène. ♦

### Action of cytotoxic necrotizing factor from *E. coli*



**Figure 1. Représentation schématique du mécanisme d'intoxication des cellules épithéliales par la toxine CNF1 des *E. coli* uropathogènes (UPEC).** L'étude de CNF1 (cytotoxic necrotizing factor) a permis de mettre en évidence l'existence d'un système de vigilance cellulaire capable de produire l'ubiquitinylation et la dégradation par le protéasome des protéines Rho en réponse à leur activation soutenue. L'activation transitoire des protéines GTPasiques Rho (Rho, Rac et CDC42) due à leur rapide ubiquitinylation et à leur dégradation par le protéasome produite en réponse à la toxine est représentée sur le graphique. La résultante de l'activation-dégradation des protéines Rho produit leur activation modérée et confère aux cellules hôtes des capacités de migration et de phagocytose.



## RÉFÉRENCES

- Warren JW. Clinical presentation and epidemiology of urinary tract infections. In: Mobley HTL, Warren JW, eds. *Urinary tract infections. Molecular pathogenesis and clinical management*. Washington: American Society for Microbiology, 1996 : 3-27.
- Landraud L, Gauthier M, Fosse T, Boquet P. Frequency of *Escherichia coli* strains producing the cytotoxic necrotizing factor (CNF1) in nosocomial urinary tract infections. *Lett Appl Microbiol* 2000; 30: 213-6.
- Boquet P, Lemichez E. Bacterial virulence factors targeting Rho GTPases: parasitism or symbiosis. *Trends Cell Biol* 2003 (sous presse).
- Lemichez E, Flatau G, Bruzzone M, Boquet P, Gauthier M. Molecular localisation of the *Escherichia coli* cytotoxic necrotizing factor CNF1 cell-binding and catalytic domains. *Mol Microbiol* 1997; 97: 1061-70.
- Contamin S, Galmiche A, Doye A, Flatau G, Benmerah A, Boquet P. The p21 Rho-activating toxin cytotoxic necrotizing factor 1 is endocytosed by a clathrin-independent mechanism and enters the cytosol by an acidic-dependent membrane translocation step. *Mol Biol Cell* 2000; 11: 1775-87.
- Pei S, Doye A, Boquet P. Mutation of specific acidic residues of the CNF1 T domain into lysine alters cell membrane translocation of the toxin. *Mol Microbiol* 2001; 41: 1237-47.
- Flatau G, Lemichez E, Gauthier M, et al. Toxin-induced activation of the G protein p21 Rho by deamidation of glutamine. *Nature* 1997; 387: 729-33.
- Hall A. Rho GTPases and the actin cytoskeleton. *Science* 1998; 279: 509-14.
- Caron E, Hall A. Identification of two distinct mechanisms of phagocytosis controlled by different Rho GTPases. *Science* 1998; 282: 1717-21.
- Doye A, Mettouchi A, Bossis G, et al. CNF1 exploits the ubiquitin-proteasome machinery to restrict Rho GTPase activation for bacterial host cell invasion. *Cell* 2002; 111: 553-64.
- Rihet S, Vielh P, Camonis J, Goud B, Chevillard S, de Gunzburg J. Mutation status of genes encoding RhoA, Rac1, and Cdc42 GTPases in a panel of invasive human colorectal and breast tumors. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 127: 733-8.
- Galan JE, Zhou D. Striking a balance: modulation of the actin cytoskeleton by *Salmonella*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 8754-61.

## NOUVELLE

### CD44, un régulateur de la croissance et de l'invasion cellulaire

Véronique Orian-Rousseau

> C'est à la surface des lymphocytes T que l'antigène CD44 a été décrit pour la première fois [1]. Diverses appellations ont été attribuées à cette molécule, par référence tantôt à sa fonction tantôt à sa structure, soulignant ainsi l'impact de CD44 dans de nombreux processus physiologiques.

CD44 représente une famille de glycoprotéines transmembranaires de type I. La diversité de cette famille de protéines résulte, d'une part, de l'épissage alternatif des 10 exons, situés au centre du gène, désignés « variants » (pour revue, voir [2]). L'expression différentielle de ces variants explique l'importante diversité de la partie extracellulaire de la molécule (plus de 20 isoformes ont déjà été identifiées). De multiples modifications post-traductionnelles, correspondant principalement à des N- et O-glycosylations et à l'ajout de chondroïtine sulfate, contribuent

aussi à la variabilité protéique au sein de cette famille (pour revue, voir [2]). La plus petite isoforme, dépourvue de va-

riant, est appelée CD44 « standard » et est exprimée dans la plupart des tissus. En revanche, l'expression des isoformes comportant des variants caractérise certains tissus à renouvellement rapide, comme la peau. En pathologie, en particulier dans les cancers, l'expression des variants est déterminante pour le développement de la maladie (pour revue, voir [2]).

Plus de 5000 articles consacrés à l'étude de CD44 ont été publiés depuis sa découverte. Dans un premier temps, c'est surtout le rôle de CD44 dans l'activation des lymphocytes (*homing*, migration, *rolling*) et la réponse immunitaire [3] qui a été étudié. La fonction de CD44 comme récepteur de l'acide hyaluronique, un composant crucial de la

matrice extracellulaire, a également été très étudiée [4].

La découverte en 1991 de l'expression spécifique d'une nouvelle isoforme de CD44 contenant le variant v6 dans les cellules métastatiques de carcinome pancréatique de rat - et son absence dans les cellules non métastatiques correspondantes - a apporté un regain d'intérêt [5].

Des anticorps neutralisant l'activité de cette isoforme ont eu pour conséquence d'inhiber le pouvoir métastatique des cellules et, à l'inverse, l'introduction de cette isoforme dans des cellules non métastatiques leur a conféré la capacité de développer des métastases [5, 6]. Depuis cette découverte, de nombreuses études corrélatives ont révélé l'expression accentuée de certains variants de CD44 dans des tumeurs humaines, et dans certaines, comme le cancer du côlon, l'expression de certains variants est de mauvais pronostic. À l'inverse, le degré de malignité de certains cancers, comme les neuroblastomes ou encore le cancer de la prostate, est associé à la perte de CD44, suggérant que CD44 pourrait être un suppresseur de tumeur [2].

Forschungszentrum  
Karlsruhe,  
Institut für Genetik und  
Toxikologie,  
H. von Helmholtz platz 1,  
76344 Eggenstein-  
Leopoldshafen, Allemagne.