



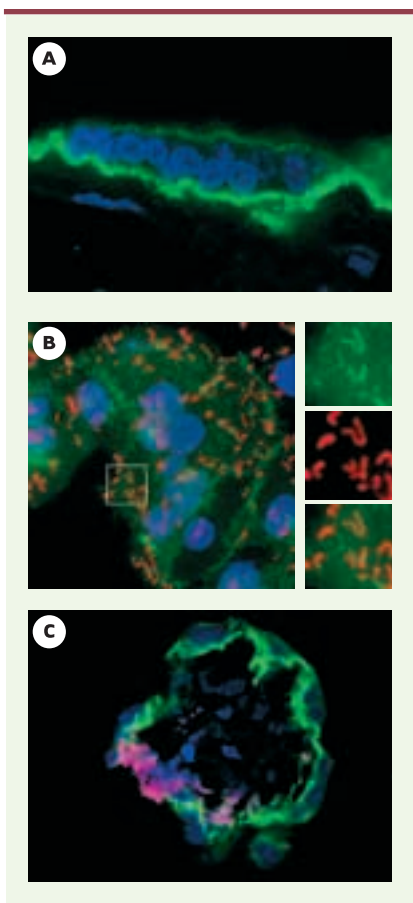
faire intervenir l'interaction entre l'internaline et la E-cadhérine. Cette interaction constituerait alors non seulement la clé du tropisme d'hôte de *L. monocytogenes*, mais également celle de son tropisme d'organe. D'autres micro-organismes pathogènes pour l'homme, tels que *Toxoplasma gondii*,

le cytomégalo-virus ou *Treponema pallidum*⁴ utilisent une porte d'entrée muqueuse et possèdent un tropisme pour le système nerveux central et l'unité fœtoplacentaire. Une approche visant à étudier les similitudes et les spécificités de ces trois barrières pourrait permettre une meilleure compréhension des stratégies utilisées par les micro-organismes pathogènes, afin de les circonvenir. ♦

Molecular basis of *Listeria monocytogenes* fetoplacental tropism

⁴ Espèce bactérienne responsable de la syphilis.

◀ **Figure 2. Rôle de l'internaline dans la traversée de la barrière placentaire.** **A.** Coupe d'une villosité placentaire humaine centrée sur le syncytiotrophoblaste, immunomarcuée avec un anticorps dirigé contre la E-cadhérine humaine. La E-cadhérine apparaît en vert, les noyaux en bleu. **B.** Adhérence et entrée de bactéries exprimant l'internaline dans du syncytiotrophoblaste humain en culture. Les bactéries apparaissent en rouge, la E-cadhérine en vert, les noyaux en bleu. Il existe un recrutement de E-cadhérine au site d'entrée des bactéries dans le syncytiotrophoblaste. **C.** Coupe d'une villosité placentaire infectée *ex vivo* par *Listeria monocytogenes*. Les bactéries ont envahi le syncytiotrophoblaste, franchi la barrière placentaire, et permis la constitution de micro-abcès villositaires semblables à ceux observés au sein de placentas issus de femmes enceintes ayant eu une listériose materno-fœtale.



REMERCIEMENTS

Nous remercions Christine Jacquet, Charles Babinet, Sandrine Vandormael-Pournin, Michael Nelson, Michel Huerre, Huot Kuhn et Marie-Cécile Vacher-Lavenue pour leur contribution aux résultats présentés dans cet article. Nous remercions également la Fondation Philips pour sa participation au financement de ce travail.

RÉFÉRENCES

- Cossart P, Pizarro-Cerda J, Lecuit M. Invasion of mammalian cells by *Listeria monocytogenes*: functional mimicry to subvert cellular functions. *Trends Cell Biol* 2003; 13: 23-31.
- Lecuit M, Cossart P. Genetically-modified-animal models for human infections: the *Listeria* paradigm. *Trends Mol Med* 2002; 8: 537-42.
- Gaillard JL, Berche P, Frehel C, et al. Entry of *L. monocytogenes* into cells is mediated by internalin, a repeat protein reminiscent of surface antigens from Gram-positive cocci. *Cell* 1991; 65: 1127-41.
- Mengaud J, Ohayon H, Gounon P, et al. E-cadherin is the receptor for internalin, a surface protein required for entry of *L. monocytogenes* into epithelial cells. *Cell* 1996; 84: 923-32.
- Lecuit M, Dramsi S, Gottardi C, et al. A single amino acid in E-cadherin responsible for host specificity towards the human pathogen *Listeria monocytogenes*. *EMBO J* 1999; 18: 3956-63.
- Schubert WD, Urbanke C, Ziehm T, et al. Structure of internalin, a major invasion protein of *Listeria monocytogenes*, in complex with its human receptor E-cadherin. *Cell* 2002; 111: 825-36.
- Lecuit M, Vandormael-Pournin S, Lefort J, et al. A transgenic model for listeriosis: role of internalin in crossing the intestinal barrier. *Science* 2001; 292: 1722-5.
- Jacquet C, Doumith M, Gordon JL, et al. A molecular marker for evaluating the pathogenic potential of foodborne *Listeria monocytogenes*. *J Infect Dis* 2004; 189: 2094-100.
- Lecuit M, Nelson DM, Smith SD, et al. Targeting and crossing of the human maternofetal barrier by *Listeria monocytogenes*: role of internalin interaction with trophoblast E-cadherin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 6152-7.

NOUVELLE

« Cycler » sans cycline D

Valérie Lobjois

> La division des cellules eucaryotes est réglée par des complexes cycline-CDK (kinases dépendantes des cyclines) qui contrôlent la progression des cellules dans chaque phase du cycle cellulaire (Figure 1). Ces CDK sont, comme leur nom l'indique, en partie activées par

leur association aux sous-unités régulatrices, les cyclines, dont l'abondance varie au cours du cycle cellulaire. L'activité de ces complexes est inhibée par deux familles d'inhibiteurs (CKI): les CKI de la famille des Ink4 inhibent CDK4 et CDK6; ceux de la famille Cip/Kip inhi-

Centre de Biologie du développement, CNRS UMR 5547, IEFG IFR109, 118, route de Narbonne, 31062 Toulouse, France.
lobjois@cict.fr

bent l'activité de tous les complexes cycline-CDK [1]. La progression des cellules de mammifères en phase G1, dépendante des signaux mitogènes, est contrôlée par l'association des cyclines D (D1, D2 et D3) aux kinases CDK4 et CDK6, ces complexes phosphorylant la

protéine du rétinoblastome pRB (Figure 1) [1].

Leur expression étant sensible aux signaux mitogènes [1], il est admis que les cyclines D couplent la signalisation extracellulaire à la machinerie du cycle. Afin d'étudier *in vivo* la fonction des cyclines D et de CDK4/6, des lignées murines invalidées pour chacun de ces gènes avaient été établies [2-5]. Ces souris sont pour la plupart viables, les phénotypes observés étant restreints à certains organes (Tableau 1). Ces données suggéraient une redondance fonctionnelle entre les cyclines D1, D2 et D3 et entre CDK4 et CDK6 mais elles n'avaient pas permis de préciser leur rôle physiologique, éventuellement spécifique d'un tissu, ni de savoir si ces cyclines et CDK étaient les seuls médiateurs entre la signalisation extracellulaire et le cycle cellulaire.

Récemment, l'obtention de souris invalidées pour les trois cyclines D ($D1/2/3^{-/-}$) ou pour $CDK4$ et $CDK6$ ($CDK4/6^{-/-}$) a apporté de nouveaux éléments de

réponse à ces questions [4, 6]. Les premières meurent à 16,5 jours et les secondes à 18,5 jours de développement. Dans les deux cas, les embryons ont une taille réduite mais la majorité des organes ont une morphogenèse normale. Seul un défaut cardiaque est décrit pour les embryons $D1/2/3^{-/-}$. Cette létalité embryonnaire est due à une anémie sévère consécutive à un défaut majeur d'hématopoïèse, lié à une diminution du taux de prolifération spécifique des cellules hématopoïétiques (Tableau 1). Ainsi, il est surprenant de constater que, dans ces embryons, seules les cellules du lignage hématopoïétique prolifèrent de façon dépendante des complexes cycline D-CDK4/6, la majorité des tissus étant indépendants de leur activité.

Les complexes cycline D-CDK4/6 étant considérés comme les capteurs de la signalisation extracellulaire lors de la ré-entrée dans le cycle des cellules quiescentes, la réponse aux signaux extracellulaires de fibroblastes dérivés

des deux types d'embryons mutants a été étudiée. En culture, ces cellules prolifèrent, mais moins activement que des cellules sauvages. Elles répondent cependant à une stimulation mitogénique, puisque, arrêtées en phase de quiescence (G0) par privation en sérum, elles ont une cinétique d'entrée en phase S, après stimulation, similaire à celle de cellules sauvages.

D'un point de vue moléculaire, M. Malumbres *et al.* montrent que dans les cellules $CDK4/6^{-/-}$, un complexe cycline D-CDK2 se forme et est, en partie, responsable de la phosphorylation de pRB, permettant ainsi la prolifération de ces cellules [4]. Cependant, les auteurs précisent que leurs expériences ne sont pas suffisantes pour prouver une compensation totale de la perte des activités CDK4 et CDK6 par CDK2. K. Kozar *et al.* montrent que les fibroblastes cycline $D1/2/3^{-/-}$ ont une prolifération dépendante de CDK2 [6]. Dans ces cellules, après stimulation sérique, les complexes cycline E- et

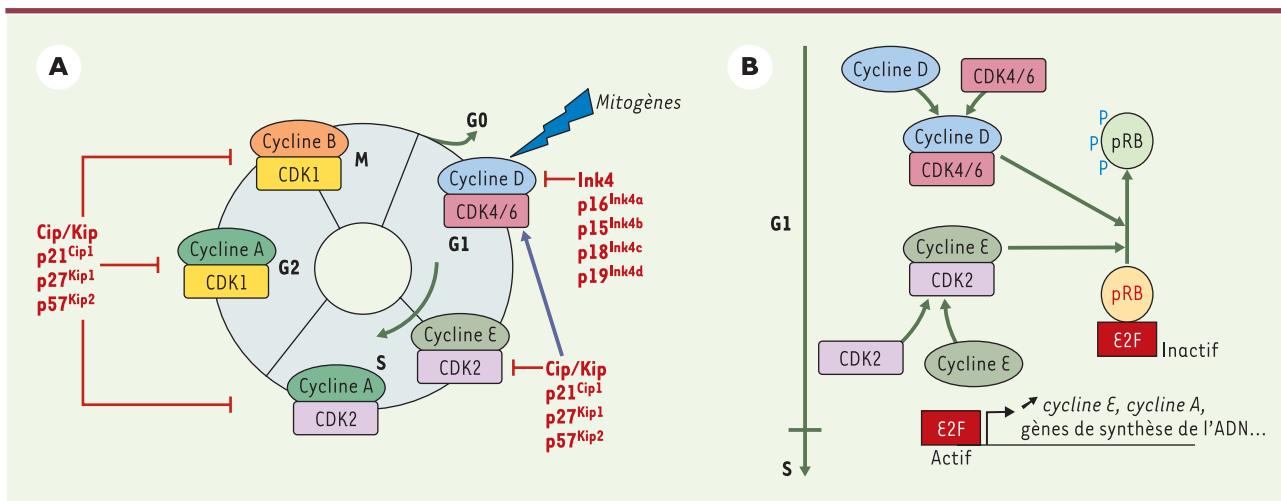


Figure 1. Cycle cellulaire chez les mammifères et complexes cyclines-CDK. A. Le cycle cellulaire est composé de quatre phases G1, S, G2 et M. La progression entre chaque phase est contrôlée par différents complexes cycline-CDK. L'induction de l'expression des cyclines D par des signaux mitogènes est nécessaire à la progression des cellules en début de phase G1. L'activité des complexes cycline-CDK est inhibée par deux familles d'inhibiteurs de CDK : la famille des protéines Ink4 ($p16^{Ink4a}$, $p15^{Ink4b}$, $p18^{Ink4c}$ et $p19^{Ink4d}$) est spécifique des complexes cycline D-CDK4/6 ; les protéines de la famille Cip/Kip ($p21^{Cip1}$, $p27^{Kip1}$ et $p57^{Kip2}$) agissent sur tous les complexes cycline-CDK. L'association de $p27^{Kip1}$ ou $p21^{Cip1}$ aux complexes cycline D-CDK4/6 libère les complexes cycline E-CDK2, alors actifs. **B.** Dans les cellules de mammifères, la progression des cellules en début de phase G1, dépendante des signaux mitogènes, est contrôlée par l'association des cyclines D (D1, D2 et D3) aux kinases CDK4 et CDK6. Quand ils sont actifs, les complexes cycline D-CDK4/6 déclenchent la phosphorylation de la protéine du rétinoblastome (pRB), poursuivie en fin de phase G1 par les complexes cycline E-CDK2. Sous sa forme hyperphosphorylée, pRB est inactive et libère le facteur de transcription E2F, permettant ainsi l'expression des gènes essentiels à la transition G1-S dont le gène *cycline E*.



cycline A-CDK2 sont activés avec une cinétique identique à celle observée dans les cellules sauvages et l'activité de ces complexes suffit à inactiver pRB. Dans les deux types d'inactivations étudiées, les cellules entrent en phase S malgré une phosphorylation incomplète de pRB.

Ainsi, ces études montrent que les complexes cycline D-CDK4/6 ne sont pas indispensables à la prolifération et à l'entrée dans le cycle cellulaire de cellules quiescentes et révèlent l'existence d'un mécanisme indépendant des cyclines D, capable de coupler l'acti-

tion des complexes impliquant la kinase CDK2 à la signalisation extracellulaire. Néanmoins, l'absence des cyclines D se traduit tout de même par une susceptibilité réduite des cellules à une transformation oncogénique par Ras et Myc. De plus, le modèle actuellement admis pour

expliquer la progression en phase G1 suggère une séquestration de l'inhibiteur p27^{Kip1} par les complexes cycline D-CDK4/6 (Figure 1). Or, dans les cellules mutantes *D1/2/3*^{-/-} et *CDK4/6*^{-/-}, les concentrations de p21^{Cip1} et p27^{Kip1} sont diminuées et l'association de p27^{Kip1} à CDK2 n'est apparemment pas modifiée.

Ces résultats bouleversent donc les modèles établis, puisque, de façon inattendue, les mutants *D1/2/3*^{-/-} et *CDK4/6*^{-/-} ne montrent pas d'anomalie majeure de la prolifération. Au contraire, l'étude de ces mutants montre que la majorité des cellules de mammifères peut proliférer indépendamment des complexes cycline D-CDK4/6. La nature des mécanismes compensateurs et leur implication dans l'intégration des signaux extracellulaires avec le contrôle de la prolifération restent maintenant à élucider.

Ces études révèlent également l'existence d'une spécificité de fonction de CDK4/6 et des cyclines D dans les cellules hématopoïétiques. Or, chez la souris et le poulet, on sait que les cyclines D présentent une expression régionalisée et dynamique au

Génotype	Principaux phénotypes <i>in vivo</i>	Phénotypes observés en culture
<i>D1</i> ^{-/-}	Létalité post-natale Taille réduite Anomalies du comportement et troubles neurologiques Réduction du nombre de cellules de la rétine Défaut de lactation due à une absence de prolifération de l'épithélium mammaire	Fibroblastes embryonnaires : croissance réduite mais prolifération normale
<i>D2</i> ^{-/-}	Femelles stériles Certains mâles sont fertiles mais présentent une réduction de taille des testicules Réduction de taille du cervelet Réduction du nombre de cellules β-pancréatiques	Lymphocytes B : phase G1 prolongée.
<i>D3</i> ^{-/-}	Défaut d'expansion des lymphocytes T immatures	Lymphocytes T : diminution de la prolifération
<i>D1/D2</i> ^{-/-}	Taille réduite Défaut de développement du cervelet	
<i>D1/3</i> ^{-/-}	Létalité néonatale (apparemment due à des atteintes neurologiques) Taille réduite Rétine hypoplasique	
<i>D2/3</i> ^{-/-}	Létalité embryonnaire (18,5 jours de développement) Taille réduite Anémie sévère	
<i>D1/2/3</i> ^{-/-}	Létalité embryonnaire (16,5 jours de développement) Diminution de prolifération des différentes lignées hématopoïétiques Taille réduite Anomalies cardiaques	Cellules hématopoïétiques et fibroblastes : diminution de la prolifération, sensibilité réduite aux oncogènes
<i>CDK4</i> ^{-/-}	Viables (homozygotes présents avec un faible <i>ratio</i>) Taille réduite Anomalies du comportement et troubles neurologiques Mâles fertiles mais présentant une réduction de taille des testicules Diminution du nombre de cellules β-pancréatiques	Fibroblastes embryonnaires : diminution de la prolifération
<i>CDK6</i> ^{-/-}	Défaut d'expansion des lymphocytes T immatures	Lymphocytes T : diminution de la prolifération
<i>CDK4/6</i> ^{-/-}	Létalité embryonnaire (entre 14,5 et 18,5 jours de développement) Diminution de prolifération des différentes lignées hématopoïétiques Taille réduite	Cellules T et fibroblastes : diminution de la prolifération

Tableau I. Phénotypes des mutants dont les gènes codant pour les cyclines D1, D2 et D3 et CDK4 et CDK6 ont été invalidés (d'après [10]).

cours du développement [7-9]. Les analyses phénotypiques des souris invalidées pour CDK4/6 et les cyclines D ayant été réalisées à des stades tardifs du développement, des phénomènes compensatoires ont pu se produire. L'étude de stades plus précoces du développement ainsi que l'inactivation ciblée dans le temps de ces gènes devraient permettre de préciser les fonctions et les spécificités tissulaires de ces acteurs du cycle cellulaire. ♦

Cycling without D-type cyclin

REMERCIEMENTS

Je remercie le Pr B. Ducommun pour son aide à la rédaction du manuscrit.

RÉFÉRENCES

1. Sherr CJ, Roberts JM. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev* 1999; 13: 1501-12.
2. Rane SG, Dubus P, Mettus RV, et al. Loss of Cdk4 expression causes insulin-deficient diabetes and Cdk4 activation results in β -islet cell hyperplasia. *Nat Genet* 1999; 22: 44-52.
3. Tsutsui T, Hesabi B, Moons DS, et al. Targeted disruption of CDK4 delays cell cycle entry with enhanced p27(Kip1) activity. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 7011-9.
4. Malumbres M, Sotillo R, Santamaria D, et al. Mammalian cells cycle without the D-type cyclin-dependent kinases Cdk4 and Cdk6. *Cell* 2004; 118: 493-504.
5. Ciemerych MA, Kenney AM, Sicinska E, et al. Development of mice expressing a single D-type cyclin. *Genes Dev* 2002; 16: 3277-89.
6. Kozar K, Ciemerych MA, Rebel VI, et al. Mouse development and cell proliferation in the absence of D-cyclins. *Cell* 2004; 118: 477-91.
7. Lobjois V, Benazeraf B, Bertrand N, et al. Specific regulation of cyclins D1 and D2 by FGF and Shh signaling coordinates cell cycle progression, patterning, and differentiation during early steps of spinal cord development. *Dev Biol* 2004; 273: 195-209.
8. Wianny F, Real FX, Mummery CL, et al. G1-phase regulators, cyclin D1, cyclin D2, and cyclin D3: up-regulation at gastrulation and dynamic expression during neurulation. *Dev Dyn* 1998; 212: 49-62.
9. Aguzzi A, Kiess M, Ruedi D, Hamel PA. Cyclins D1, D2 and D3 are expressed in distinct tissues during mouse embryogenesis. *Transgenics* 1996; 2: 29-39.
10. Pagano M, Jackson PK. Wagging the dogma: tissue-specific cell cycle control in the mouse embryo. *Cell* 2004; 118: 535-8.

NOUVELLE

Rod-derived cone viability factor : un espoir de thérapie des dégénérescences rétinienne ?

Thierry Lèveillard, Saddek Mohand-Saïd, Olivier Poch, José-Alain Sahel

> Les rétinopathies pigmentaires, qui affectent 40 000 personnes en France, font partie d'une large liste d'affections orphelines jusqu'ici incurables. Chez les personnes atteintes, les bâtonnets sont détruits et, en conséquence, les premiers signes cliniques sont une cécité nocturne et un champ visuel qui se rétrécit en périphérie. Le champ visuel diminue progressivement jusqu'à rendre la vision «tubulaire», traduisant la perte secondaire des cônes qui assurent non seulement la vision colorée, mais aussi la vision à contraste élevé, l'acuité visuelle et toutes les fonctions visuelles en atmosphère lumineuse normale. À mesure que la maladie progresse, la vision centrale se réduit, menaçant le sujet de cécité. L'hétérogénéité génétique des rétinopathies pigmentaires (<http://www.sph.uth.tmc.edu/Retnet>) et le mode autosom-

me dominant de certaines formes représentent une limitation importante à la thérapie génique corrective. Nous avons privilégié une approche par neuroprotection des cônes, plus à même d'être généralisable à de nombreux gènes et modes de transmission. Les mutations décrites depuis 1990 dans les dystrophies héréditaires rétinienne humaines affectent, dans une très grande proportion, des gènes codant pour des protéines localisées dans le segment externe des bâtonnets [1]. Le lien entre la perte des bâtonnets et la raréfaction des cônes a été étudié sur un modèle murin, la souris *rd1*, qui porte une mutation sur le gène codant pour la phosphodiesterase

T. Lèveillard,
S. Mohand-Saïd, J.A. Sahel :
Inserm U.592, Laboratoire de
Physiopathologie cellulaire
et moléculaire de la rétine,
Université Pierre et Marie
Curie, Hôpital Saint-Antoine,
Bâtiment Kourilsky, 184, rue
du Faubourg Saint-Antoine,
75571 Paris Cedex 12,
France.
O. Poch : Institut de
Génétique et de biologie
moléculaire et cellulaire,
BP 163, 67404 Illkirch Cedex,
CU de Strasbourg, France
leveilla@st-antoine.inserm.fr

des bâtonnets [2]. Il s'agit d'une forme récessive de dégénérescence séquentielle bâtonnets-cônes retrouvée chez l'homme. Nos travaux ont montré que, lorsque des couches pures en photorécepteurs étaient transplantées dans l'espace sous-rétinien de souris *rd1* âgées de 5 semaines (à cet âge, il reste très peu de bâtonnets [$< 0,02\%$] mais encore la plupart des cônes), le transplant induit la survie d'un nombre de cônes significativement supérieur (en moyenne 40%, $p < 0,001$) à celui relevé dans la rétine de l'œil congénère, non traitée [3]. Cet effet trophique, constaté à distance du transplant, suggérait l'existence de facteurs diffusibles libérés par les cellules greffées. Des tests effectués *in vitro* par coculture de rétines *rd1* et de rétines normales, ont confirmé cette hypothèse [4, 5]. Des travaux de purification partielle ont montré que l'activité de viabi-