

## DERNIÈRE HEURE

## Notch, un gène clé de l'équilibre entre prolifération et différenciation des cellules épithéliales de l'intestin

Sylvie Robine, Silvia Fre, Mathilde Huyghe, Spyros Artavanis-Tsakonas, Daniel Louvard

► Le gène *Notch*, qui code un récepteur transmembranaire, a été identifié initialement chez la drosophile et joue un rôle majeur dans la biologie des eucaryotes [1]. Plusieurs études portant sur des analyses de gain ou de perte de fonction ont démontré le rôle de la signalisation Notch aussi bien au cours du développement que chez l'adulte. Cette voie de signalisation est impliquée dans l'inhibition de la différenciation cellulaire de plusieurs

tissus mais aussi dans l'amplification des cellules souches neuronales et hématopoïétiques. Dans l'intestin, les cellules épithéliales présentent un taux de renouvellement très rapide (3 à 5 jours), assuré par la prolifération des cellules précurseurs constamment produites dans la région profonde des cryptes. Cela constitue une propriété remarquable de ce tissu. Cependant, il persiste de nombreuses zones d'ombre sur les mécanismes qui contrôlent la

différenciation de ces cellules en cellules épithéliales matures. Deux approches réciproques, par gain de fonction [2] ou par perte de fonction [3], illustrent le rôle essentiel de la voie Notch dans le devenir des cellules précurseurs de l'épithélium intestinal et sont rapportées simultanément dans la revue *Nature* du 16 juin 2005 (Figure 1).

L'expression constitutive de la forme activée du récepteur Notch1 (Nlic) [2] est obtenue par croisement de souris qui présentent un allèle floxé de *Nlic* dans le locus *rosa 26* [4] avec les souris qui expriment la Cre recombinase sous le contrôle des régions promotrices du gène de la villine [5]. L'inhibition de la voie Notch [3] est obtenue par croisement de souris invalidées pour un effecteur de Notch, RBP-J [6], avec deux types de souris : (1) la Cre recombinase sous le con-

S. Robine, M. Huyghe, D. Louvard : Morphogénèse et signalisation intracellulaires, Institut Curie, CNRS UMR144, 26, rue d'Ulm, 75248 Paris, France.

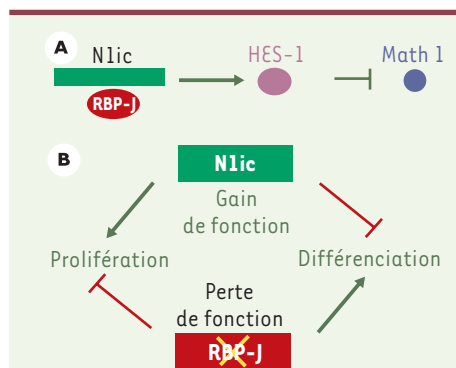
S. Fre : Morphogénèse et signalisation intracellulaires, Institut Curie, CNRS UMR144, 26, rue d'Ulm, 75248 Paris, France et Department of Cell Biology, Harvard Medical School, Massachusetts General Hospital Cancer Center, Charlestown, Massachusetts 02129, États-Unis.

S. Artavanis-Tsakonas : Department of Cell Biology, Harvard Medical School, Massachusetts General Hospital Cancer Center, Charlestown, Massachusetts 02129, États-Unis et Collège de France, 11, place Marcelin Berthelot, 75231 Paris, France.

[Sylvie.Robine@curie.fr](mailto:Sylvie.Robine@curie.fr)

trôle du promoteur inductible P450 [7] permettant une expression hépatique et intestinale du transgène ; (2) la Cre recombinase fusionnée au domaine de liaison des œstrogènes sous le contrôle du promoteur villine, permettant de restreindre l'expression exclusivement à l'épithélium intestinal [5].

L'article de S. Fre *et al.* [2] montre que l'expression constitutive de la forme activée du récepteur Notch1 (Nlic) dans l'épithélium intestinal de souris aboutit à une mortalité des animaux dans les jours qui suivent la naissance. Ce phénotype se manifeste par une absence presque complète des populations de cellules du lignage sécrétoire de l'épithélium intestinal. Au niveau transcriptionnel, la surexpression de *Nic* conduit à l'expression d'une des cibles connues de la voie Notch, la protéine *Hes-1*, sans affecter l'expression d'autres gènes cibles de la même famille tels que *Hes-5* ou de *Hey-1*. Ce résultat démontre que *Hes-1* est l'effecteur majeur de la voie Notch dans l'intestin. La surexpression de *Hes-1* entraîne une répres-



**Figure 1.** Représentation schématique de la signalisation Notch dans l'intestin de mammifère. **A.** Après clivage membranaire, le domaine intracellulaire de Notch (Nlic) interagit avec un co-activateur (RBP-J), ce qui aboutit à la translocation nucléaire du complexe. Il en résulte la transcription de gènes tels que *Hairy-enhancer of spli* (*Hes-1*). Cette famille de protéines de liaison à l'ADN, à domaine bHLH conduit à une répression de l'expression de gènes tels que *Math 1*. **B.** Phénotype « en miroir » de l'activation de la voie Notch (gain de fonction) et de l'inactivation de la voie Notch (perte de fonction).



sion de l'expression des protéines qui codent les gènes proneuronaux *math1* et *neurogenin-3*, impliqués dans la spécification des cellules sécrétoires (Figure 1).

La prolifération cellulaire analysée par ces auteurs à l'aide du marqueur de prolifération Ki67, en combinaison avec l'incorporation de bromodésoxyuridine (BrdU), montre clairement que l'activation de Notch aboutit à une expansion du compartiment prolifératif. Ce compartiment s'étend au-delà de la région inter-villositaire chez la souris nouveau-né (Figure 2). L'analyse à l'échelle ultrastructurale du pôle apical des cellules des animaux *Nlic* le long de l'axe villositaire, comparée à celle d'un animal témoin, montre une densité faible de microvillosités. Cette structure ressemble aux bordures en brosse des cellules indifférenciées des cryptes intestinales.

En conclusion, les résultats présentés par S. Fre *et al.* mettent en valeur le rôle de la voie Notch dans le contrôle de

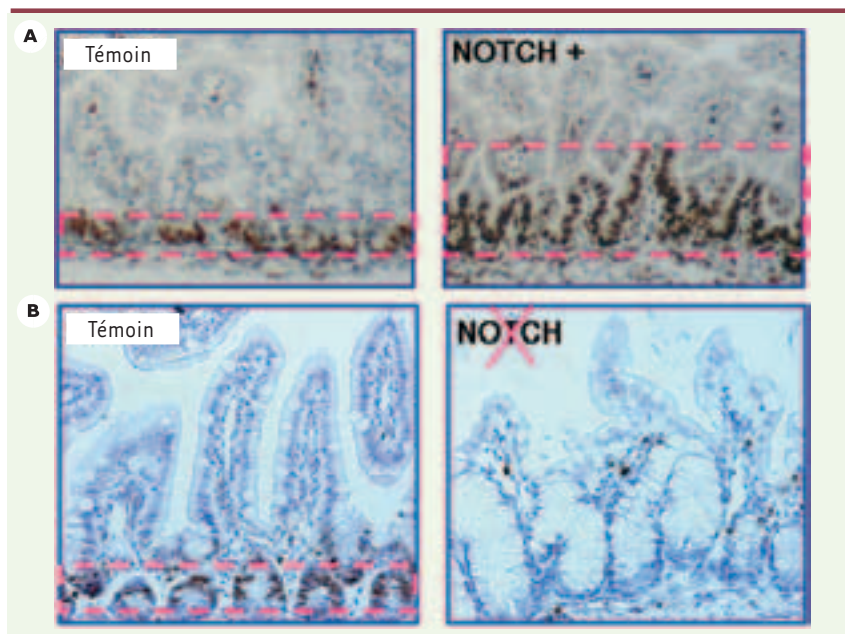
la population des cellules progénitrices de l'épithélium intestinal et dans celui de la différenciation terminale de l'intestin (Figure 1). Cependant, l'identification et la caractérisation des cellules progénitrices induites par Notch restent à établir. Les conclusions apportées par ces auteurs sont en accord avec les travaux de J.H. Van Es *et al.* qui ont obtenu un phénotype « en miroir » en inhibant la voie de signalisation Notch par deux approches. En effet, soit par la délétion d'un effecteur de Notch CSL/RBP-J, soit par l'utilisation d'un inhibiteur des  $\gamma$ -sécrétases, enzyme responsable du clivage du domaine intracellulaire de Notch, ces auteurs montrent une conversion très rapide des cellules prolifératives des cryptes intestinales en cellules différenciées produisant du mucus (Figure 2). Par la suite, ils montrent l'activation de la voie Notch dans les processus hyperprolifératifs de type adénome développés par les souris Min qui présentent une mutation germinale dans le gène *apc*. Ce résultat les

conduit à tester l'effet de l'inhibiteur des  $\gamma$ -sécrétases sur les souris Min et à montrer une réduction importante de la prolifération des adénomes et une conversion de ces cellules en cellules à mucus quand la voie Notch est réprimée par cette approche. Ce résultat démontre pour la première fois que la stratégie de conversion du processus prolifératif vers la voie de différenciation, déjà utilisée avec succès dans certaines pathologies du système hématopoïétique comme les leucémies promyéloïdes [8], pourrait être appliquée aux tumeurs solides. Il ouvre la voie vers une nouvelle approche thérapeutique des cancers colorectaux. ♦

**Notch signals control the fate of immature progenitor cells in the intestine**

## RÉFÉRENCES

1. Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science* 1999 ; 284 : 770-6.
2. Fre S, Huyghe M, Mourikis P, Robine S, Louvard D, Artavanis-Tsakonas S. Notch signals control the fate of immature progenitor cells in the intestine. *Nature* 2005 ; 435 : 964-8.
3. Van Es JH, Van Gijn ME, Riccio O, *et al.* Notch / $\gamma$ -secretase inhibition turns proliferative cells in intestinal crypts and neoplasia into Goblet cells. *Nature* 2005 ; 435 : 959-63.
4. Murtaugh LC, Stanger BZ, Kwan KM, Melton DA. Notch signalling controls multiple steps of pancreatic differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 14920-5.
5. El Marjou F, Janssen KP, Chang BHJ, *et al.* Tissue-specific and inducible Cre-mediated recombination in the gut epithelium. *Genesis* 2004 ; 39 : 186-93.
6. Han H, Tanigaki K, Yamamoto N, *et al.* Inducible gene knockout of transcription factor recombination signal binding protein-J reveals its essential role in T versus B lineage decision. *Int Immunol* 2002 ; 14 : 637-45.
7. Ireland H, Kemp R, Houghton C, *et al.* Inducible Cre-mediated control of gene expression in the murine gastrointestinal tract: effect of loss of beta-catenin. *Gastroenterology* 2004 ; 126 : 1236-46.
8. Lallemand-Breitenbach V, Guillemin MC, Janin A, *et al.* Retinoic acid and arsenic synergize to eradicate leukemic cells in a mouse model of acute promyelocytic leukemia. *J Exp Med* 1999 ; 189 : 1043-52.



**Figure 2.** Analyse de la prolifération cellulaire dans deux modèles d'animaux transgéniques permettant soit l'activation de la voie Notch [2] ou l'inhibition de la voie Notch [3] comparée à celle des animaux témoins à la naissance (panneau A réalisé sur des nouveau-nés, témoins et Notch+) ou chez l'adulte (panneau B réalisé sur des adultes, témoins et Notch invalidé). Le marquage des cellules en division (Ki67) met en évidence l'expansion du compartiment prolifératif des animaux Notch+ et l'absence complète de prolifération des animaux dont la voie Notch est invalidée.

# Annances Congrès

## 7<sup>th</sup> International Symposium on VIP, PACAP and related peptides

> New York Academy of Sciences

**11-14 septembre 2005**  
Rouen, France

Organisateurs : Hubert Vaudry (Inserm U.413) et Marc Laburthe (Inserm U.410)

### Renseignements

Hubert Vaudry, Institut Fédératif de Recherches Multidisciplinaires sur les Peptides, IFRMP23, Inserm U.413, Université de Rouen, 76821 Mont-Saint-Aignan, France  
Tél : 02 35 14 66 24 - Fax : 02 35 14 69 46 - E-mail : hubert.vaudry@univ-rouen.fr  
Marc Laburthe, UFR de Médecine Xavier Bichat, IFR2, Inserm U.410, Université de Paris VII, 75870 Paris, France  
Tél : 01 44 85 61 35 - Fax : 01 42 28 77 65 - Email : laburthe@bichat.inserm.fr  
Site : <http://vip-pacap2005.crihan.fr>

## Cytométrie 2005

> Ateliers thématiques – Sessions scientifiques

**4-7 octobre 2005**  
Grenoble, France

Organisateur : Association française de cytométrie

### Renseignements

Alpha Visa Congrès, 624, rue des Grèzes,  
34070 Montpellier, France  
Tél : 04 67 03 03 00 - Fax : 04 67 45 57 97  
E-mail : [afc2005@alphavisa.com](mailto:afc2005@alphavisa.com)

## J2R Journées de Recherche Respiratoire

> Infection-Inflammation-Cancer-Asthme

**14-15 octobre 2005**  
Reims, France

Organisateur : Société de pneumologie de langue française

### Renseignements

E-mail : [j2r@splf.org](mailto:j2r@splf.org)

## JIB Journées Internationales de Biologie

> Exposition-Salon-Conférences scientifiques

**2-5 novembre 2005**  
Paris, France

Organisateur : Reed Exhibitions

### Renseignements

Manon Gousset, Conférences Reed Exposition France,  
70, rue Rivay, 92532 Levallois-Perret Cedex France  
Tél : 01 47 56 21 08 - Fax : 01 47 56 52 58  
E-mail : [manon.gousset@reedexpo.fr](mailto:manon.gousset@reedexpo.fr)  
Site : [www.jib-sdbio.fr](http://www.jib-sdbio.fr)

## Association pour l'Étude de la Pathologie Pédiatrique

> Deux Prix de Recherche en pathologie pédiatrique

**Prix 2005**  
**10 000 € et 5 000 €**  
**Date limite de dépôt**  
**30 octobre 2005**

Organisateur : Pr Christian Nezelof

### Renseignements

Corinne Touzé, Laboratoire de pathologie pédiatrique,  
Pavillon François Lepage, Hôpital Cochin-Saint Vincent de Paul, 74-82, avenue Denfert-  
Rochereau, 75674 Paris Cedex 14, France  
Fax : 01 40 48 83 47  
E-mail : [secre.anapath-cytogen@svp.ap-hop-paris.fr](mailto:secre.anapath-cytogen@svp.ap-hop-paris.fr)

## Valorisation de la recherche appliquée et innovation biomédicale

> Diplôme d'Université

**11-13 janvier 2006**  
**25-27 janvier 2006**  
**7-11 mars 2006**  
Paris, France

Organisateur : Pr Alain Sezeur

### Renseignements

Professeur Alain Sezeur, Hôpital des Diaconesses,  
18, rue du Sergent Bauchat, 75571 Paris Cedex 12, France  
Tél : 01 44 74 28 74 - Fax : 01 44 74 28 75  
E-mail : [dflanquart@hopital-dcss.org](mailto:dflanquart@hopital-dcss.org)  
Site : [www.chusa.jussieu.fr/gbm](http://www.chusa.jussieu.fr/gbm)