



deux voies de signalisation contrôlant la prolifération et la survie cellulaire. Ces résultats mettent en évidence les propriétés profibrogéniques du récepteur CB1. Ils démontrent également que l'utilisation d'antagonistes du récepteur CB1 tels que le rimonabant pourrait offrir de nouvelles perspectives dans le traitement de la fibrose hépatique au cours des maladies chroniques du foie. Cette étude, associée à nos travaux antérieurs démontrant les effets antifibrosants des récepteurs CB2 [8], suggère qu'une approche antifibrosante optimale pourrait combiner l'utilisation d'antagonistes du récepteur CB1 et d'agonistes du récepteur CB2 (Figure 2). ♦

CB1 cannabinoid receptor antagonists: a novel approach for the treatment of liver fibrosis

RÉFÉRENCES

1. Lotersztajn S, Julien B, Teixeira-Clerc F, et al. Hepatic fibrosis : molecular mechanisms and drug targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005 ; 45 : 605-28.
2. Mallat A, Lotersztajn S. Endocannabinoids as novel mediators of liver diseases. *J Endocrinol Invest* 2006 ; 29 : 58-65.
3. Di Marzo V, Bifulco M, De Petrocellis L. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nat Rev Drug Discov* 2004 ; 3 : 771-84.
4. Van Gaal LF, Rissanen AM, Scheen AJ, et al. Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients : 1-year experience from the RIO-Europe study. *Lancet* 2005 ; 365 : 1389-97.
5. Despres JP, Goyat A, Sjöström L. Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. *N Engl J Med* 2005 ; 353 : 2121-34.
6. Steffens S, Veillard NR, Arnaud C, et al. Low dose oral cannabinoid therapy reduces progression of atherosclerosis in mice. *Nature* 2005 ; 434 : 782-6.
7. Ofek O, Karsak M, Leclerc N, et al. Peripheral cannabinoid receptor, CB2, regulates bone mass. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 696-701.
8. Julien B, Grenard P, Teixeira-Clerc F, et al. Antifibrogenic role of the cannabinoid receptor CB2 in the liver. *Gastroenterology* 2005 ; 128 : 742-55.
9. Teixeira-Clerc F, Julien B, Grenard P, et al. CB1 cannabinoid receptor antagonism : a new strategy for the treatment of liver fibrosis. *Nat Med* 2006 ; 12 : 671-6.
10. Hezode C, Roudot-Thoraval F, Nguyen S, et al. Daily cannabis smoking as a risk factor for progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005 ; 42 : 63-71.

NOUVELLE

Endocytose et voie de signalisation Notch

Christel Brou, Frédérique Logeat

Unité de Signalisation Moléculaire et Activation Cellulaire, URA 2582, CNRS, Institut Pasteur, 25, rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.
cbrou@pasteur.fr

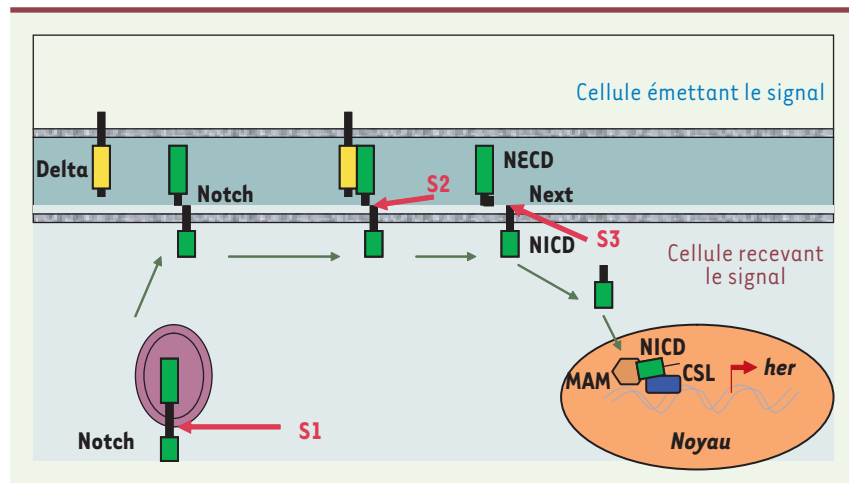


Figure 1. Schéma simplifié de la voie de signalisation Notch. Pendant la maturation de la protéine, Notch subit un premier clivage par la furine (S1). Après l'interaction avec son ligand, ici Delta, Notch subit un second clivage (S2) par une métalloprotéase TACE. Le domaine extracellulaire (NECD) du récepteur Notch est relargué, et le fragment tronqué du domaine extracellulaire restant devient le substrat du complexe γ -sécrétase qui libère le fragment intracellulaire du récepteur (NICD). Celui-ci migre dans le cytoplasme et migre dans le noyau où il forme un complexe activateur de la transcription avec CSL et MAM (*mastermind*) qui active les gènes cible de la famille *hes/hey* (*hairy enhancer of split*) (d'après [13]).

> Depuis *C. elegans* jusqu'aux vertébrés supérieurs, la voie de signalisation Notch contrôle la compétence de multiples types cellulaires à se différencier. L'activation du récepteur transmembranaire Notch (un gène chez la drosophile, 4 chez les mammifères) est déclenchée par son interaction avec un ligand transmembranaire de la famille DSL (Delta ou Serrate chez la drosophile, Delta 1, 3, 4, ou Jagged 1, 2 chez les mammifères) présenté par une cellule voisine. Le récepteur subit alors deux coupures protéolytiques successives, dans son domaine extracellulaire par une protéase de la famille ADAM (*a disintegrin and metalloprotease*), puis au sein du domaine transmembranaire par un complexe multiprotéique, la γ -sécrétase (Figure 1). Le domaine intracellulaire du récepteur est ainsi libéré dans le cytoplasme et migre dans le noyau, où il interagit avec la protéine CSL (CBF1, aussi appelé RBP-J κ chez

les vertébrés, Su(H) chez la drosophile, et Lag-1 chez *C. elegans*) pour reconstituer un activateur transcriptionnel. Les ligands comme les récepteurs sont soumis à des processus comparables de clivages protéolytiques successifs et d'endocytose, sans que, concernant les ligands, leurs rôles soient encore bien compris. L'importance de l'endocytose des ligands et du récepteur Notch pour la signalisation a été initialement décrite chez la drosophile [1] grâce à l'utilisation de mutants pour la dynamine, et fait l'objet de nombreux travaux récents.

Endocytose du récepteur Notch

L'endocytose du récepteur Notch est nécessaire pour le maintien d'une quantité fixe de récepteurs activables à la membrane, en ciblant et accompagnant les molécules surnuméraires ou défectueuses vers la dégradation, mais elle intervient aussi après activation du

récepteur pour le diriger vers le compartiment où peut agir la γ -sécrétase. Nous avons montré que le récepteur Notch, après activation, doit être internalisé et mono-ubiquitinylé pour être clivé par la γ -sécrétase [2]. Chez la drosophile, Sanpodo, une molécule à 4 domaines transmembranaires, joue probablement un rôle positif dans l'activation de Notch en régulant son internalisation de façon antagoniste à Numb [3].

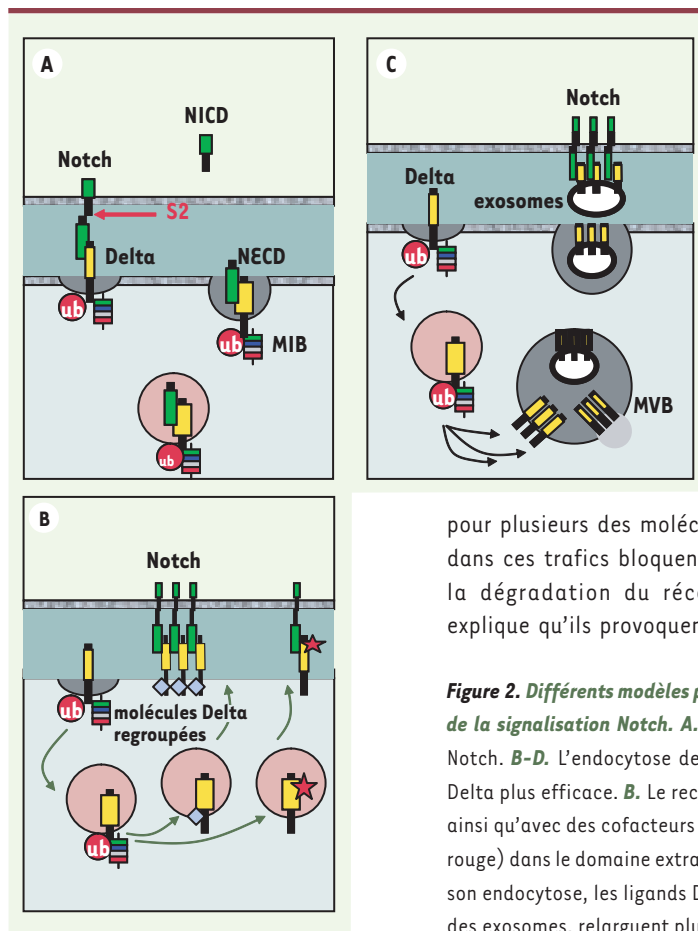
Lorsqu'il n'est pas activé, le récepteur Notch est internalisé et transporté dans des vésicules d'endocytose jusqu'aux lysosomes. Une des premières étapes de ce voyage est l'ubiquitinylation de Notch. Ce signal encore mal caractérisé lui permet probablement d'être trié par interaction avec Hrs/Vps27, puis dirigé vers les vésicules contenant les complexes ESCRT-I (*endosomal sorting complex required for transport*) puis ESCRT-II et ESCRT-III.

Les protéines sont alors invaginées dans des petites vésicules au sein des MVB (corps multivésiculaires) et finalement dégradées.

C'est le cas pour Vps25, Vps22, et Vps32 [4, 5]. En revanche, si les voies d'endocytose sont bloquées plus en amont, par diminution de Hrs, Avl (homologue des syntaxines 7 ou 12, localisé dans les endosomes précoces) ou Rab5, Notch s'accumule à la surface cellulaire mais son activité globale n'augmente pas [6]. Ces résultats sont compatibles avec l'idée selon laquelle le récepteur, qu'il soit activé par liaison du ligand ou pas, subit le processus d'endocytose par une voie dépendant de Rab5 et Avl, et qu'une étape de tri a alors lieu. Selon l'état d'ubiquitinylation du récepteur ou son association avec certaines molécules, il pourrait alors poursuivre sa route vers l'activation ou la dégradation. L'étude des ubiquitinylation subies par le récepteur, et des E3 ubiquitine ligases spécifiques de chacune d'entre elles permettra d'élucider ces phénomènes. L'ubiquitinylation par Nedd4 ou Itch/Su(Dx) et cbl pourrait permettre au récepteur d'être dégradé, tandis que son unique mono-ubiquitinylation lui serait nécessaire pour être reconnu par le complexe γ -sécrétase et donc activer ses gènes cibles.

Endocytose des ligands

Des études génétiques menées chez la drosophile et le poisson zèbre ont montré qu'un certain nombre de gènes régulent l'activité des ligands [7]. Ils agissent sur l'endocytose des ligands et sont indispensables à l'activation du récepteur porté par une cellule voisine. Neuralized et Mind bomb, deux E3 ubiquitine ligases, sont conservées chez les mammifères, et ont des fonctions partiellement redondantes qui permettent le recrutement des ligands et le transfert de l'ubiquitine sur



pour plusieurs des molécules impliquées dans ces trafics bloquent effectivement la dégradation du récepteur, ce qui explique qu'ils provoquent une augmen-

Figure 2. Différents modèles proposés pour le rôle de l'endocytose de Delta dans le fonctionnement de la signalisation Notch. **A.** L'endocytose de Delta facilite le second clivage (S2) du récepteur Notch. **B-D.** L'endocytose de Delta et son recyclage résulte en une présentation des molécules Delta plus efficace. **B.** Le recyclage de Delta entraîne son regroupement avec d'autres molécules ainsi qu'avec des cofacteurs et sa localisation dans un microdomaine, ou sa modification (étoile rouge) dans le domaine extracellulaire facilitant son interaction avec le récepteur Notch. **C.** Après son endocytose, les ligands Delta sont internalisés dans des corps multivésiculaires (MVB), et via des exosomes, relarguent plusieurs molécules Delta groupées (d'après [13]).



ces derniers. De telles modifications sont nécessaires pour l'internalisation des ligands : en l'absence de ces enzymes, les ligands s'accumulent à la surface de la cellule. Cette endocytose de Delta a lieu en l'absence de toute interaction entre le récepteur et le ligand [8]. Le trafic du ligand Delta et donc son activité de signalisation peuvent être abolis par un antagoniste de Neuralized, apparten-

ant à la famille des protéines Bearded [9, 10]. Lqf, homologue de l'epsine de mammifère, joue un rôle dans le recrutement d'AP-2 et la formation des puits recouverts de clathrine. Elle ciblerait, via son domaine d'interaction avec l'ubiquitine, les ligands mono-ubiquitinylés vers certains compartiments d'endocytose. La quantité disponible de Lqf est contrôlée par Fat Facets (Faf), qui empêche

la dégradation de Lqf en catalysant sa désubiquitinylation [11]. Chez la drosophile, Rab11 et son effecteur Sec15, ce dernier initialement identifié comme composant des vésicules d'exocytose, sont également requis pour le recyclage et l'activité du ligand Delta [12].

Plusieurs modèles ont été proposés pour expliquer comment l'endocytose des ligands et leur trafic dans la cel-

lule émettrice du signal étaient nécessaires à l'activation du récepteur dans la cellule voisine [13] (Figure 2).

1. La *trans*-endocytose de la région extracellulaire du récepteur associée au ligand serait une étape nécessaire au clivage activateur (S2) du récepteur (Figure 2A).

2. Lors de l'endocytose et du recyclage vers la membrane, les ligands subirait des modifications, ou s'associeraient à des cofacteurs, les rendant plus affins pour le récepteur (Figure 2B).

3. Le recyclage ciblerait les ligands vers des microdomaines membranaires où, en association avec des cofacteurs, ils pourraient se regrouper et établir des liaisons plus fortes avec les récepteurs eux-mêmes agglutinés sur la cellule voisine (Figure 2B).

4. Les ligands internalisés et regroupés dans les MVB seraient libérés dans le milieu extracellulaire sous la forme d'exosomes (Figure 2C).

Les modèles proposés expliquent comment l'endocytose des ligands est nécessaire à l'activation du récepteur en *trans*. Les ligands du récepteur

Drosophile	Mammifères	Fonctions
Régulateurs positifs de la voie Notch, jouant sur les ligands		
Mib1	<i>Mind bomb</i>	
Mib2	Skeletrophine	
neuralized	<i>Neuralized 1,2</i>	Ubiquitinylation et endocytose des ligands
Liquid facets (Lqf)	Epsine	
Fat facets (Faf)	<i>Fat facets in mouse</i> (FAM)	Désubiquitinylation de Lqf/ epsine
Sec15	Sec15	Régulation du trafic de Delta, Notch et Sanpodo en association avec Rab11
Rab11	Rab11	Régulation et activation de Delta par endocytose-recyclage
Régulateurs négatifs de la voie Notch, jouant sur les ligands		
Famille Bearded	?	Inhibition de <i>neuralized</i>
Régulateurs positifs de la voie Notch, jouant sur le récepteur		
Deltex	Deltex 1-4	Ubiquitinylation et endocytose du récepteur
Sanpodo	Pas d'orthologue	Interaction avec Notch et numb
Avalanche	Syntaxines 7 ou 12	
Rab5	Rab5	Endocytose précoce du récepteur
Hrs	Hrs	
Régulateurs négatifs de la voie Notch, jouant sur le récepteur		
Su(dx)	Itch/AIP4	
Nedd4	Nedd4	Ubiquitinylation et endocytose du récepteur
Numb	Numb	Interaction avec Notch, Sanpodo et α -adaptine
Erupted	Vps23/Tsg101	Composant ESCRT-I
Vps22, Vps25	Vps22, Vps25	Composant ESCRT-II
Vps32	Vps32/Snf7	Composant ESCRT-III
Krz	β -arrestines 1, 2	Interaction avec Deltex, Notch

Tableau I. Conservation et rôles des facteurs impliqués dans le trafic de Notch et de ses ligands.

Notch ayant une ou des fonction(s), dans la cellule où ils sont exprimés, autre(s) que celle d'activer le récepteur, il reste à étudier le lien entre les processus d'endocytose et ces fonctions (adhérence, mobilité, signalisation...). La recherche de partenaires du ligand Delta a abouti à la caractérisation de protéines appartenant à la famille des protéines à domaines PDZ [14, 15] dont on ne sait pas encore si elles jouent un rôle dans le trafic de Delta. ♦

Endocytosis and Notch signalling

RÉFÉRENCES

1. Seugnet L, Simpson P, Haenlin M. Requirement for dynamin during Notch signaling in *Drosophila* neurogenesis. *Dev Biol* 1997; 192 : 585-98.
2. Gupta-Rossi N, Six E, LeBail O, et al. Monoubiquitination and endocytosis direct g-

- secretase cleavage of activated Notch receptor. *J Cell Biol* 2004; 166 : 73-83.
3. O'Connor-Giles KM, Skeath JB. Numb inhibits membrane localization of Sanpodo, a four-pass transmembrane protein, to promote asymmetric divisions in *Drosophila*. *Dev Cell* 2003; 5 : 231-43.
 4. Thompson BJ, Mathieu J, Sung HH, et al. Tumor suppressor properties of the ESCRT-II complex component Vps25 in *Drosophila*. *Dev Cell* 2005; 9 : 711-20.
 5. Vaccari T, Bilder D. The *Drosophila* tumor suppressor vps25 prevents nonautonomous overproliferation by regulating Notch trafficking. *Dev Cell* 2005; 9 : 687-98.
 6. Lu H, Bilder D. Endocytic control of epithelial polarity and proliferation in *Drosophila*. *Nat Cell Biol* 2005; 7 : 1232-9.
 7. Le Borgne R. Regulation of Notch signalling by endocytosis and endosomal sorting. *Curr Opin Cell Biol* 2006; 18 : 213-22.
 8. Morel V, Le Borgne R, Schweisguth F. Snail is required for Delta endocytosis and Notch-dependent activation of single-minded expression. *Development* 2003; 130 : 65-72.
 9. Bardin AJ, Schweisguth F. Bearded family members inhibit neuralized-mediated endocytosis and signaling activity of Delta in *Drosophila*. *Dev Cell* 2006; 10 : 245-55.

10. De Renzis S, Yu J, Zinzen R, et al. Dorsal-ventral pattern of Delta trafficking is established by a Snail-Tom-neuralized pathway. *Dev Cell* 2006; 10 : 257-64.
11. Overstreet E, Fitch E, Fischer JA. Fat facets and liquid facets promote Delta endocytosis and Delta signaling in the signaling cells. *Development* 2004; 131 : 5355-66.
12. Emery G, Hutterer A, Berdnik D, et al. Asymmetric Rab11 endosomes regulate Delta recycling and specify cell fate in the *Drosophila* nervous system. *Cell* 2005; 122 : 763-73.
13. Chitnis AB. Why is Delta endocytosis required for effective activation of Notch? *Dev Dyn* 2006; 235 : 886-94.
14. Six EM, Ndiaye D, Sauer G, et al. The Notch ligand Delta1 recruits Dlg1 at cell-cell contacts and regulates cell migration. *J Biol Chem* 2004; 279 : 5818-26.
15. Wright GJ, Leslie JD, Ariza-McNaughton L, et al. Delta proteins and MAGI proteins: an interaction of Notch ligands with intracellular scaffolding molecules and its significance for zebrafish development. *Development* 2004; 131 : 5659-69.

NOUVELLE

Origine des vertébrés : la tunique fait-elle le moine ?

Frédéric Delsuc, Denis Baurain, Hervé Philippe

> Depuis plus d'un siècle, les biologistes débattent de l'origine des vertébrés, groupe animal auquel appartient l'espèce humaine. Au sein des Deutérostomiens (Figure 1), les vertébrés, avec les Céphalochordés et les Urochordés, forment l'embranchement des Chordés (Figure 2A), notamment caractérisés par la présence d'un tube nerveux dorsal appelé chorde. Le plus célèbre représentant des Céphalochordés est l'Amphioxus, qui ressemble superficiellement à une larve de poisson (Figure 1A), tandis que les Urochordés, également connus sous le nom de Tuniciers, sont des organismes marins à distribution cosmopolite.

Avec plus de 2 500 espèces, les Tuniciers présentent une variété morpho-écologique remarquable. La majorité appartient aux Ascidiacés qui, à l'instar de la cione intestinale

(Figure 1B), possèdent des larves pélagiques qui se métamorphosent en adultes fixés au substrat. Toutefois, on dénombre également des groupes de Tuniciers exclusivement planctoniques, tels que les Appendiculaires (Figure 1C). Au sein de l'arbre du vivant, les Tuniciers et les Céphalochordés se situent à la frontière entre « invertébrés » et vertébrés. Ils constituent dès lors des modèles de choix pour comprendre l'origine des vertébrés. Outre les Chordés, deux autres embranchements doivent être considérés dans l'étude de cette question. Il s'agit des Échinodermes (lys de mer, ophiures, concombres de mer, oursins et étoiles de

F. Delsuc : Laboratoire de paléontologie, phylogénie et paléobiologie-CC064, Institut des Sciences de l'évolution UMR 5554/CNRS, Université Montpellier II, Place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier Cedex 05 France.
delsuc@isem.univ-montp2.fr

D. Baurain : Canadian Institute for Advanced Research, Département de biochimie, Centre Robert-Cedergren, Université de Montréal, CP 6128, Succursale Centre-ville, Montréal (Québec), H3C 3J7 Canada.
Département des Sciences de la vie, Université de Liège, B22, Sart Tilman, 4000 Liège, Belgique.
denis.baurain@ulg.ac.be

H. Philippe : Canadian Institute for Advanced Research, Département de biochimie, Centre Robert-Cedergren, Université de Montréal, CP 6128, Succursale Centre-ville, Montréal (Québec), H3C 3J7 Canada.
herve.philippe@umontreal.ca

mer, Figure 1D) et des Hémichordés (Entéropeustes et Ptérobranches, Figure 1E).

Selon la vision traditionnelle fondée sur la morphologie comparée, l'histoire évolutive des Deutérostomiens est interprétée comme une marche progressive vers la complexité allant des formes « simples » vers les formes plus « complexes », lesquelles « culminent »