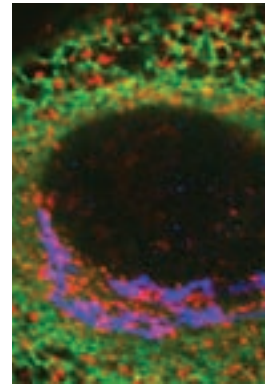


► La polarité est une caractéristique fondamentale de tous les organismes vivants au cours de leur développement comme chez l'adulte. Cela reflète l'importance de la polarité à l'échelle de la cellule. La polarité cellulaire joue en effet un rôle essentiel au cours de la division, de la différenciation et de la migration des cellules. Le contrôle de la polarité met en jeu des protéines très conservées au cours de l'évolution. Parmi ces régulateurs clés, Scribble, initialement identifié comme suppresseur de tumeur chez la drosophile, est impliqué dans la mise en place et le maintien de la polarité dans les cellules épithéliales. Plus récemment, son rôle dans le contrôle de la polarité a été révélé au cours de la différenciation neuronale et de la migration cellulaire. Scribble s'inscrit ainsi dans la famille qui s'élargit des suppresseurs de tumeur jouant un rôle crucial et conservé dans le contrôle de la polarité cellulaire. Scribble illustre ainsi le lien de plus en plus évident entre régulation de la polarité, transformation cellulaire et évolution tumorale. ◀

Scrib, un gène suppresseur de tumeurs impliqué dans la polarité cellulaire

Naël Osmani, Sandrine Etienne-Manneville



Groupe Polarité et Migration Cellulaires, Institut Pasteur, 25, rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex15, France. sandrine.etienne-manneville@pasteur.fr

Polarité cellulaire et développement tumoral

Les cellules tumorales sont généralement caractérisées par leur forte capacité à proliférer. Cependant une autre caractéristique essentielle des cellules tumorales est la perte de polarité, particulièrement évidente dans les tumeurs d'origine épithéliale. En effet, les cellules épithéliales présentent normalement un axe de polarité apico-basal selon lequel l'ensemble de la machinerie cellulaire (cytosquelette, trafic membranaire...) est organisé, et qui est indispensable à la fonction de barrière des épithéliums. L'importance de la polarité cellulaire ne se limite pas aux seules cellules épithéliales ; c'est un aspect essentiel de la biologie de tous les types cellulaires chez les organismes uni- ou pluricellulaires, que ce soit au cours du développement ou chez l'adulte. La polarité joue, en particulier, un rôle fondamental au cours de la migration et de la division cellulaire. Pour se déplacer, une cellule doit présenter une organisation polarisée avec

une zone protrusive qui définit l'avant de la cellule, et une région en rétraction correspondant à l'arrière. Dans le cas de la division cellulaire, le fuseau mitotique définit un axe de polarité qui est déterminé par l'adhérence des cellules au substrat. La formation du fuseau et son positionnement correct permettent une répartition équitable du matériel génétique entre les deux cellules filles. Ainsi, le dérèglement de la polarité pourrait jouer un rôle clé dans le développement et l'évolution des tumeurs malignes en affectant le contrôle de la migration et de la division cellulaires et, indirectement, celui de la stabilité génétique. La perte d'expression de certains gènes, appelés gènes suppresseurs de tumeurs, est responsable du développement de tumeurs et de la formation de métastases. De nombreuses études ont démontré le rôle de ces gènes suppresseurs de tumeur dans le contrôle du cycle cellulaire, permettant ainsi d'expliquer la prolifération exacerbée des cellules tumorales. Plus récemment, les gènes suppresseurs de tumeurs ont aussi été impliqués dans le contrôle de la polarité cellulaire [1-12]. Parmi ceux-ci, Scribble a initialement été identifié comme gène suppresseur de tumeur chez la drosophile et joue un rôle clé dans la polarité des cellules épithéliales [13]. Récemment, Scrib, son orthologue chez les mammifères, a été impliqué dans le contrôle de la polarité des cellules épithéliales et des astrocytes en migration [14, 15]. Ces travaux ont aussi permis de mieux caractériser le rôle de Scrib en le reliant à la petite protéine G Cdc42, acteur central du contrôle de la polarité cellulaire.

Scribble : de la drosophile à la migration astrocytaire

Chez la drosophile, les mutations nulles de *Scribble* induisent une croissance anarchique et une désorganisation des tissus épithéliaux comme l'épiderme, les follicules ovariens ou les disques imaginaux, et définissent donc ce gène comme suppresseur de tumeurs [16]. La protéine Scribble est localisée sur les membranes baso-latérales du côté basal des jonctions des cellules épithéliales de drosophile et contribue à délimiter les domaines apicaux et baso-latéraux et la position des jonctions cellulaires [17]. Outre son rôle dans la polarité des cellules épithéliales, Scribble est nécessaire à la différenciation des neuroblastes et au fonctionnement des synapses [4]. La comparaison des séquences montre que *Scribble* est fortement conservée au cours de l'évolution, et des études récentes indiquent que sa fonction de suppresseur de tumeurs serait aussi conservée chez les mammifères [13]. Scribble a été impliquée dans le contrôle de la polarité planaire chez la souris [18, 19]. Puis son rôle dans le contrôle de la polarité baso-apicale des cellules épithéliales a été étudié. Scribble est localisée au niveau des membranes latérales, et son inhibition altère les jonctions adhérentes des cellules épithéliales MDCK sans perturber significativement la polarité baso-apicale de ces cellules [20]. Cependant, en l'absence de Scribble, les cellules acquièrent une apparence de cellules mésenchymateuses, migrent plus rapidement et de manière aléatoire.

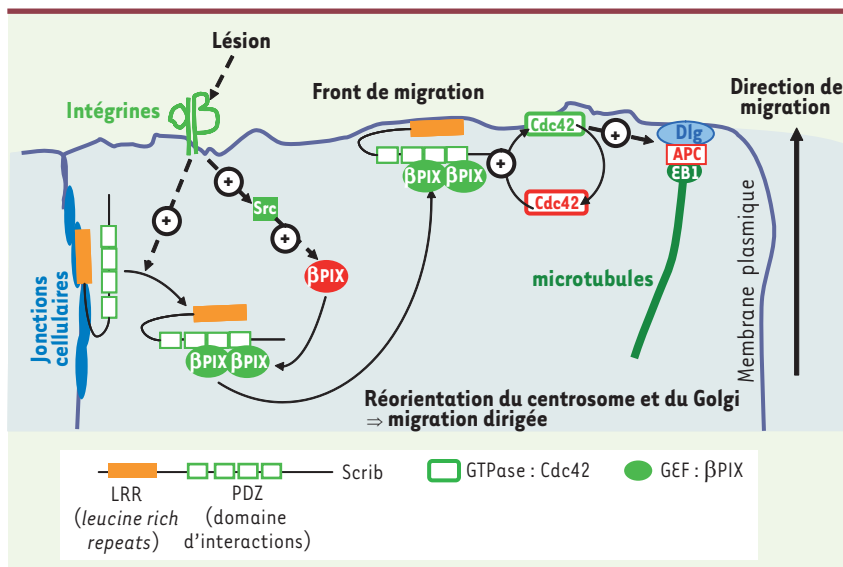


Figure 1. Scribble et βPIX contrôlent la polarité cellulaire au cours de la migration astrocytaire. Représentation de la cascade de signalisation induite à l'avant des cellules qui bordent la lésion. La lésion de la monocouche induit l'activation des intégrines à la membrane plasmique bordant la lésion. L'activation des intégrines conduit d'une part au recrutement de Scribble au front de migration et d'autre part à l'activation de la tyrosine kinase Src. Scribble contribue avec Src au recrutement et à l'activation du facteur d'échange βPIX. βPIX actif permet alors le recrutement et l'activation de Cdc42 ce qui détermine une région protrusive qui devient l'« avant » de la cellule en migration. L'activation de Cdc42 induit également la localisation d'APC aux extrémités « plus » des microtubules et de Dlg à la membrane plasmique. L'interaction entre APC et Dlg au niveau du front de migration conduit à la polarisation des cellules : réorientation des microtubules, du centrosome, de l'appareil de Golgi dans la direction de la migration (les protéines inactives sont en rouge ; les protéines actives sont en vert ; ⊕ indique l'activation d'une protéine.)

Le rôle de Scribble dans le contrôle de la polarité au cours de la migration cellulaire a été confirmé dans un autre type cellulaire, les astrocytes [14]. Scribble, normalement localisée au niveau des jonctions cellulaires, est recrutée dès l'initiation de la migration au front de migration des cellules épithéliales et des astrocytes [14, 15] (Figure 1). La déplétion de la protéine endogène par une approche d'interférence ARN inhibe la réorientation du centrosome et de l'appareil de Golgi vers le front de migration démontrant le rôle de Scribble dans la polarisation des cellules. La surexpression ou la délocalisation de Scribble perturbe aussi l'orientation des cellules et induit la formation de multiples régions protrusives [14]. Cela suggère que la localisation de Scribble est un aspect essentiel de sa régulation lors de la polarisation cellulaire. L'ensemble des résultats obtenus démontre que Scribble est une molécule fonctionnellement conservée contrôlant la polarité cellulaire. Ce suppresseur de tumeurs a une fonction essentielle dans le contrôle de la polarité cellulaire et la perte de cette fonction pourrait contribuer au développement tumoral. Alors que les études menées chez *D. melanogaster* n'ont pas encore permis d'élucider les bases moléculaires du

rôle de Scribble dans la polarité cellulaire, le modèle *in vitro* de migration dirigée des astrocytes [21] nous a permis d'étudier en détail la fonction de Scribble dans le contrôle de la polarité cellulaire.

L'interaction cruciale de Scribble avec le facteur d'échange βPIX

Scribble code une protéine d'échafaudage moléculaire associée à la membrane plasmique, et contient notamment un domaine LRR, essentiel à la localisation correcte de la protéine [22, 23]. Ce domaine permet, entre autres, son interaction avec Lgl [24], l'orthologue de *Lethal giant larvae*, un autre suppresseur de tumeurs génétiquement lié à Scribble chez la drosophile. Scribble possède aussi quatre domaines PDZ (*post synaptic disc-large zona ou zonula occludens*)¹ [16, 25]. La délétion du domaine LRR entraîne la délocalisation de Scribble et perturbe la polarisation cellulaire. De même les domaines PDZ semblent absolument nécessaires à la fonction de Scribble

¹ Le domaine PDZ est constitué de 90 acides aminés organisés en 2 hélices α et 4 feuillets β et interagit avec une forte affinité avec des motifs Thr/Ser-X-Val/Leu le plus souvent situés sur la partie carboxy-terminale des protéines [26].

car leur suppression ou leur surexpression bloque totalement la polarisation des astrocytes en migration [14]. Les domaines PDZ permettent la liaison de nombreux partenaires parmi lesquels la protéine β PIX [26]. Dans les astrocytes, Scrib interagit de manière constitutive avec β PIX et cette interaction augmente au cours de la polarisation des cellules. Les deux protéines colocalisent à la membrane plasmique au niveau du front de migration et Scrib est nécessaire au recrutement et au maintien de β PIX à la membrane plasmique (Figure 1). L'interaction entre Scrib et β PIX est essentielle à la polarisation astrocytaire. Ainsi, l'expression d'une forme tronquée de β PIX de laquelle est absent le domaine d'interaction avec Scrib, inhibe complètement la réorientation du MTOC (*microtubule-organizing center*) et la protrusion cellulaire. Enfin, l'inhibition de l'expression de β PIX par interférence ARN induit un phénotype tout à fait similaire à celui causé par la suppression de Scrib.

β PIX a été identifiée comme partenaire de PAK (*p21-activated kinase*), une kinase effectrice des petites protéines G Cdc42 et Rac [27]. Ces petites protéines G existent sous une forme active liée au GTP et une forme inactive liée au GDP. Leur activation peut être induite par des facteurs d'échange (GEF) qui catalysent l'échange du GDP par du GTP. β PIX a été initialement décrite comme potentiel facteur d'échange à la fois pour Rac et Cdc42, et son activité est régulée par phosphorylation et semble être plus spécifiquement dirigée vers Cdc42 [28]. Nous avons pu mettre en évidence, grâce à l'utilisation de mutants catalytiquement inactifs, que l'activité GEF de β PIX était absolument nécessaire à sa fonction dans le contrôle de la polarité des astrocytes en migration [14]. Ces résultats font écho à des observations démontrant le rôle de α PIX, une GEF de Cdc42 apparentée à β PIX et impliquée dans la polarisation des neutrophiles en réponse à un gradient de chimioattractant [8]. Par ailleurs, il est intéressant

de noter que d'autres protéines, dont le rôle dans le contrôle de la polarité est conservé, s'associent à des facteurs d'échange des petites protéines G de la famille Rho. C'est en particulier le cas de Par3 qui interagit avec Tiam, un facteur d'échange pour Rac [29].

Scrib contrôle la localisation et l'activité de Cdc42, un acteur central de la polarité cellulaire

Cdc42 est, aussi bien chez la levure que chez les vertébrés, un régulateur central de la polarité cellulaire au cours de la division cellulaire et de la différenciation des cellules polarisées (cellules épithéliales, neurones...). La fonction de Cdc42 dans la mise en place de la polarité passe avant tout par une activation très localisée au site de polarisation [30, 31]. Au cours de la polarisation des astrocytes, Cdc42 est activée et localisée spécifiquement au niveau du front de migration [32, 33] (Figure 2). L'expression d'un mutant dominant négatif de Cdc42, comme la délocalisation d'une forme active de la protéine, inhibent la polarisation des cellules [32]. Cdc42 assure ses fonctions en recrutant et en activant le complexe Par6-aPKC au front de migration [33], ce qui conduit au recrutement des protéines APC (*adenomatous polyposis coli*) et Dlg1 à l'avant des cellules en migration [1, 2]. La quantification biochimique de l'activité de Cdc42 dans ces cellules révèle qu'une diminution de l'expression de Scrib ou de β PIX inhibe l'activation de Cdc42 au cours de la polarisation astrocytaire. Le rôle de Scrib et β PIX dans le contrôle

de l'activité de Cdc42 est confirmé par le fait que la suppression de ces protéines affecte la voie de signalisation en aval de Cdc42 et en particulier le recrutement d'APC et de Dlg1 au front de migration (Figure 1).

La présence de Scrib et de β PIX à l'avant des cellules est indispensable à la localisation correcte de Cdc42 (Figure 2). Au cours de la migration astrocytaire, la polarité cellulaire est contrôlée de manière très précise grâce à une régulation spatio-temporelle très fine de l'activité de Cdc42. Le recrutement de Scrib au front de migration permet, par l'intermédiaire du facteur d'échange β PIX, de réguler l'activité et la localisation de Cdc42. Cette double régulation conduit à la formation du front de migration et permet ensuite d'assurer une migration persistante des cellules vers l'espace vide de la lésion (Figure 1).

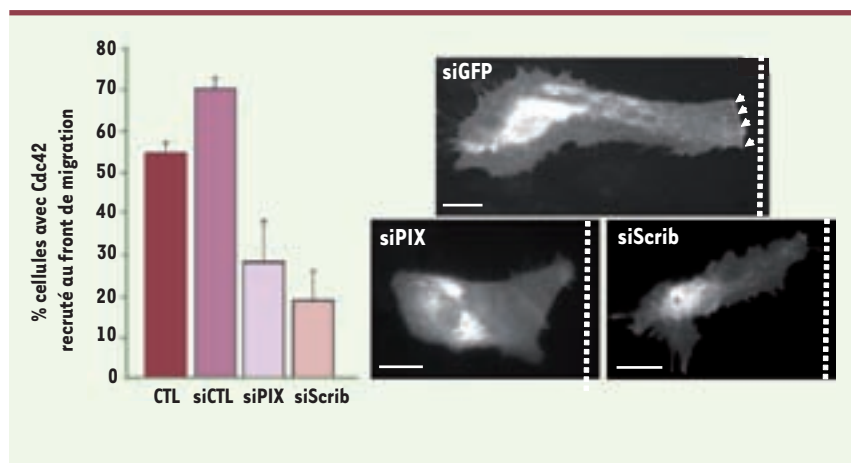


Figure 2. Scrib et β PIX sont nécessaires au recrutement polarisé de Cdc42 au cours de la migration astrocytaire. Des astrocytes primaires ont été transfectés par des siARN soit contre Scrib (siScrib) soit contre β PIX (siPIX). La monocouche cellulaire est rayée pour induire la migration des cellules qui bordent la lésion. Les cellules qui bordent la rayure ont été micro-injectées avec l'ADN codant pour GFP-Cdc42. Les cellules ont été fixées après 8h de migration et le recrutement de GFP-Cdc42 à la membrane du front de migration a été quantifié. Échelle : 20 μ m, la barre pointillée indique la position de la rayure.

Conclusions

Le suppresseur de tumeur Scrib régule la prolifération et contrôle également la polarité des cellules [34]. La fonction de Scrib dans le contrôle de la polarité cellulaire est conservée non seulement au cours de l'évolution mais aussi dans des processus cellulaires très différents comme la différenciation ou la migration cellulaires. Scrib, comme les produits d'autres gènes suppresseurs de tumeurs (APC, PTEN...), intervient dans trois processus cellulaires essentiels : la prolifération, la polarité et la migration. Capables de connecter ces trois fonctions cellulaires primordiales, ces gènes sont des acteurs centraux au cours de la vie des cellules. Il n'est pas étonnant que la perte de l'un d'eux soit à l'origine de tumeurs, avec tous les dérèglements cellulaires qui lui sont associés, et notamment la perte de la polarité qui constitue un événement crucial au cours de la tumorigénèse. Dans le cas d'une tumeur d'origine épithéliale, une mutation touchant de tels gènes peut, non seulement être à l'origine de l'augmentation anormale de la prolifération cellulaire, mais également conduire à la perte de la polarité apico-basale associée à une perturbation des jonctions cellulaires et entraîner un changement du type de migration : d'un comportement épithélial vers une migration mésenchymateuse, beaucoup plus rapide. Enfin, la perte de la polarité des cellules en migration pourrait être responsable d'une migration désorganisée, caractéristique des cellules tumorales. ♦

SUMMARY

Scrib, a tumor suppressor gene involved in cell polarity

Polarity is a fundamental feature of all organisms both during development and in the adult. This reflects the key role of cell polarity during basic fundamental processes such as cell division, cell differentiation and cell migration. The control of cell polarity relies on functionally conserved proteins. Among these, Scribble, initially identified as a tumor suppressor gene in *Drosophila*, has been first involved in epithelial polarity. More recently Scribble function has been implicated in neuronal polarity and polarized cell migration. Scribble joins the growing family of tumor suppressors that play a key and conserved function in cell polarity. Scribble illustrates the more and more obvious link between regulation of cell polarity, cell transformation and tumor formation. ♦

RÉFÉRENCES

1. Etienne-Manneville S, Manneville JB, Nicholls S, et al. Cdc42 and Par6-PKC ζ regulate the spatially localized association of Dlg1 and APC to control cell polarization. *J Cell Biol* 2005 ; 170 : 895-901.
2. Etienne-Manneville S, Hall A. Cdc42 regulates GSK3 and adenomatous polyposis coli (APC) to control cell polarity. *Nature* 2003 ; 421 : 753-6.
3. Forcet C, Etienne-Manneville S, Gaude H, et al. Functional analysis of Peutz-Jeghers mutations reveals that the LKB1 C-terminal region exerts a crucial role in regulating both the AMPK pathway and the cell polarity. *Hum Mol Genet* 2005 ; 14 : 1283-92.
4. Peng CY, Manning L, Albertson R, Doe CQ. The tumour-suppressor genes *Ig1* and *dlg* regulate basal protein targeting in *Drosophila* neuroblasts. *Nature* 2000 ; 408 : 596-600.
5. Woods DF, Hough C, Peel D, et al. Dlg protein is required for junction structure, cell polarity, and proliferation control in *Drosophila* epithelia. *J Cell Biol* 1996 ; 134 : 1469-82.
6. Boudeau J, Sapkota G, Alessi DR. LKB1, a protein kinase regulating cell proliferation and polarity. *FEBS Lett* 2003 ; 546 : 159-65.
7. Martin SG, St Johnston D. A role for *Drosophila* LKB1 in anterior-posterior axis formation and epithelial polarity. *Nature* 2003 ; 421 : 379-84.
8. Li Z, Hannigan M, Mo Z, et al. Directional sensing requires G beta gamma-mediated PAK1 and PIX alpha-dependent activation of Cdc42. *Cell* 2003 ; 114 : 215-27.
9. Iijima M, Devreotes P. Tumor suppressor PTEN mediates sensing of chemoattractant gradients. *Cell* 2002 ; 109 : 599-610.
10. Polakis P. Wnt signaling and cancer. *Genes Dev* 2000 ; 14 : 1837-51.
11. Avizienyte E, Loukola A, Roth S, et al. LKB1 somatic mutations in sporadic tumors. *Am J Pathol* 1999 ; 154 : 677-81.
12. Nezu J, Oku A, Shimane M. Loss of cytoplasmic retention ability of mutant LKB1 found in Peutz-Jeghers syndrome patients. *Biochem Biophys Res Commun* 1999 ; 261 : 750-5.
13. Dow LE, Brumby AM, Muratore R, et al. hScrib is a functional homologue of the *Drosophila* tumour suppressor Scribble. *Oncogene* 2003 ; 22 : 9225-30.
14. Osmani N, Vitale N, Borg JP, Etienne-Manneville S. Scrib controls Cdc42 localization and activity to promote cell polarization during astrocyte migration. *Curr Biol* 2006 ; 16 : 2395-405.
15. Dow LE, Kauffman JS, Caddy J, et al. The tumour-suppressor Scribble dictates cell polarity during directed epithelial migration: regulation of Rho GTPase recruitment to the leading edge. *Oncogene* 2007 ; 26 : 2272-82.
16. Bilder D, Li M, Perrimon N. Cooperative regulation of cell polarity and growth by *Drosophila* tumor suppressors. *Science* 2000 ; 289 : 113-6.
17. Bilder D, Schober M, Perrimon N. Integrated activity of PDZ complexes regulates epithelial polarity. *Nat Cell Biol* 2003 ; 5 : 53-8.
18. Murdoch JN, Henderson DJ, Doudney K, et al. Disruption of Scribble (Scrib1) causes severe neural tube defects in the circletail mouse. *Hum Mol Genet* 2003 ; 12 : 87-98.
19. Zarbalis K, May SR, Shen Y, et al. A focused and efficient genetic screening strategy in the mouse: identification of mutations that disrupt cortical development. *PLoS Biol* 2004 ; 2 : E219.
20. Qin Y, Capaldo C, Gumbiner BM, Macara IG. The mammalian Scribble polarity protein regulates epithelial cell adhesion and migration through E-cadherin. *J Cell Biol* 2005 ; 171 : 1061-71.
21. Etienne-Manneville S. Les molécules qui dirigent la migration des astrocytes. *Med Sci (Paris)* 2002 ; 18 : 142-4.
22. Zeitler J, Hsu CP, Dionne H, Bilder D. Domains controlling cell polarity and proliferation in the *Drosophila* tumor suppressor Scribble. *J Cell Biol* 2004 ; 167 : 1137-46.
23. Legouis R, Jaulin-Bastard F, Schott S, et al. Basolateral targeting by leucine rich repeat domains in epithelial cells. *EMBO Rep* 2003 ; 4 : 1096-100.
24. Kallay LM, McNickle A, Brenwald PJ, et al. Scribble associates with two polarity proteins, Lf12 and Vangl2, via distinct molecular domains. *J Cell Biochem* 2006 ; 99 : 647-64.
25. Hatem S, Godreau D, Neyroud N, Vranckx R. Les MAGUK : au-delà de l'accrochage des canaux ioniques. *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 84-8.
26. Audebert S, Navarro C, Nourry C, et al. Mammalian Scribble forms a tight complex with the betaPIX exchange factor. *Curr Biol* 2004 ; 14 : 987-95.
27. Manser E, Loo TH, Koh CG, et al. PAK kinases are directly coupled to the PIX family of nucleotide exchange factors. *Mol Cell* 1998 ; 1 : 183-92.
28. Feng Q, Baird D, Peng X, et al. Cool-1 functions as an essential regulatory node for EGFR-receptor- and Src-mediated cell growth. *Nat Cell Biol* 2006 ; 8 : 945-56.
29. Mertens AE, Rygiel TP, Olivo C, et al. The Rac activator Tiam1 controls tight junction biogenesis in keratinocytes through binding to and activation of the Par polarity complex. *J Cell Biol* 2005 ; 170 : 1029-37.
30. Adams AEM, Johnson DJ, Longnecker RM, et al. CDC42 and CDC43, two additional genes involved in budding and establishment of cell polarity in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J Cell Biol* 1990 ; 111 : 131-42.
31. Caviston JP, Tcheperegine SE, Bi E. Singularity in budding: a role for the evolutionarily conserved small GTPase Cdc42p. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ; 99 : 12185-90.
32. Etienne-Manneville S. Des mécanismes moléculaires conservés contrôlent la polarité cellulaire. *Med Sci (Paris)* 2003 ; 19 : 1063.
33. Etienne-Manneville S, Hall A. Integrin-mediated Cdc42 activation controls cell polarity in migrating astrocytes through PKC ζ . *Cell* 2001 ; 106 : 489-98.
34. Nagasaka K, Nakagawa S, Yano T, et al. Human homolog of *Drosophila* tumor suppressor Scribble negatively regulates cell-cycle progression from G1 to S phase by localizing at the basolateral membrane in epithelial cells. *Cancer Sci* 2006 ; 97 : 1217-25.

TIRÉS À PART

S. Etienne-Manneville