

RÉFÉRENCES

1. Khalife M, Young R, Passet B, et al. Transcriptomic analysis brings new insight into the biological role of the prion protein during mouse embryogenesis. *PLoS One* 2011 ; 6 : e23253.
2. Malaga-Trillo E, Solis GP, Schrock Y, et al. Regulation of embryonic cell adhesion by the prion protein. *PLoS Biol* 2009 ; 7 : e55.
3. Caughey B, Baron GS, Chesebro B, Jeffrey M. Getting a grip on prions: oligomers, amyloids, and pathological membrane interactions. *Annu Rev Biochem* 2009 ; 78 : 177-204.
4. Collinge J, Clarke AR. A general model of prion strains and their pathogenicity. *Science* 2007 ; 318 : 930-6.
5. Tixador P, Herzog L, Reine F, et al. The physical relationship between infectivity and prion protein aggregates is strain-dependent. *PLoS Pathog* 2010 ; 6 : e1000859.
6. Beringue V, Vilotte JL, Laude H. Prion agent diversity and species barrier. *Vet Res* 2008 ; 39 : 47.
7. Beringue V, Herzog L, Jaumain E, et al. Facilitated cross-species transmission of prions in extraneural tissue. *Science* 2012 ; 335 : 472-5.
8. Asante EA, Linehan JM, Desbruslais M, et al. BSE prions propagate as either variant CJD-like or sporadic CJD-like prion strains in transgenic mice expressing human prion protein. *EMBO J* 2002 ; 21 : 6358-66.
9. Bishop MT, Hart P, Aitchison L, et al. Predicting susceptibility and incubation time of human-to-human transmission of vCJD. *Lancet Neurol* 2006 ; 5 : 393-8.
10. Health Protection Agency, UK. <http://www.hpa.org.uk/hpr/archives/2011/news3611.htm>.
11. Hilton DA, Ghani AC, Conyers L, et al. Prevalence of lymphoreticular prion protein accumulation in UK tissue samples. *J Pathol* 2004 ; 203 : 733-9.
12. Bachy V, Aucouturier P. Maladies à prions. Quel rôle pour les cellules dendritiques dans la pathogenèse des formes transmises ? *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 615-20.

NOUVELLE

Un transporteur du magnésium

Nouvel intermédiaire dans les voies de signalisation du TCR

Gilles Besin^{1,2}

¹In-Cell-Art ; ²Institut du thorax, UMR 1087 Inserm/UMR 6291 CNRS/IRT-UN, 8, quai Moncoussu, 44007 Nantes Cedex 1, France.
Gilles.Besin@univ-nantes.fr

> Les ions magnésium (Mg^{2+}) sont les cations les plus abondants dans les cellules de mammifères et constituent un cofacteur essentiel pour l'ATP, les acides nucléiques, et de nombreuses enzymes chez les animaux et les plantes [1, 2]. Toutefois, contrairement aux ions calcium (Ca^{2+}) pour lesquels les concentrations intracellulaires d'ions libres ($[Ca^{2+}]_{int}$ environ 0,1 mM) et les concentrations extracellulaires ($[Ca^{2+}]_{ex}$ environ 1 mM) permettent des mouvements et flux ioniques, aucune étude n'a démontré clairement le rôle des ions Mg^{2+} en tant que messagers secondaires dans la signalisation intracellulaire. Les ions magnésium intracellulaires ($[Mg^{2+}]_{int}$ environ 20 mM) sont surtout complexés avec l'ATP, l'ADN, des enzymes ou d'autres molécules, et seulement 1 à 5 % de ces ions magnésium cellulaires (0,2-1 mM) sont sous une forme libre dans le cytosol. Fait intéressant, dans diverses études, l'utilisation de sondes sensibles aux flux d'ions magnésium a permis de démontrer des changements dans la concentration intracellulaire de ces ions dans certaines cellules du système immunitaire comme les

lymphocytes (après stimulation par des lectines) [3-5].

Le système immunitaire représente la principale défense contre les infections virales, bactériennes ou les cancers, et tout défaut du système immunitaire entraîne une sensibilité à ces agressions pouvant avoir de graves conséquences. Le décryptage moléculaire de multiples déficits immunitaires primaires révèle souvent de nouveaux acteurs intervenant dans l'activation lymphocytaire. Ainsi, en étudiant trois patients immunodéficients, l'équipe de M. Lenardo (National Institutes of Health [NIH], Bethesda, États-Unis) a identifié récemment le *Magnesium transporter protein 1* (MAGT1) comme un nouveau maillon de la voie d'activation des lymphocytes T [6].

L'activation des lymphocytes T est déclenchée par l'interaction entre le récepteur des lymphocytes T (TCR) et une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) chargée d'un peptide antigénique, exprimée à la surface d'une cellule présentatrice d'antigènes (APC). Cet engagement du TCR entraîne l'activation des enzymes

kinases Lck, ZAP-70 (*zeta-chain-associated protein kinase of 70 kDa*) et Itk (*IL-2 inducible T-cell kinase*) qui phosphorylent la protéine PLC γ 1 (phospholipase γ) ainsi que d'autres protéines. La phosphorylation de la PLC γ entraîne l'augmentation de la concentration intracellulaire en ions calcium ($[Ca^{2+}]_{int}$) et l'activation de plusieurs facteurs de transcription : NFAT (*nuclear factor of activated T-cells*), NF- κ B (*nuclear factor kappa B*), etc. Des mutations de ces molécules clés de l'activation de la voie du TCR (Lck, ZAP-70, Itk, LAT [*linker of activation of T cell*], PLC γ 1) ont été identifiées chez plusieurs patients immunodéficients [7].

Un nouveau déficit immunitaire lié à l'X

Le groupe de M. Lenardo a étudié trois patients issus de deux familles différentes. Le déficit immunitaire de ces patients était classé comme lymphopénie CD4 idiopathique (ICL)¹ et

¹ Défini par un taux de $CD4^+ < 300/mm^3$ ou $< 20\%$ du total de lymphocytes en l'absence d'infection par le VIH ou d'autres causes évidentes de lymphopénie.



caractérisé par des taux bas de lymphocytes T CD4⁺, alors que les autres populations de lymphocytes étaient présentes en nombre normal ou élevé et que les taux d'immunoglobulines et les réponses vaccinales n'étaient anormales que de façon intermittente. Le rapport des lymphocytes CD4⁺/CD8⁺ était inversé et une réduction des cellules CD31⁺ au sein de la population des lymphocytes T CD4⁺ naïfs suggérait une diminution de la production thymique. L'activation des lymphocytes T en réponse au signal du TCR ou à un anti-CD3 agoniste était très anormale et le défaut a été localisé précisément à une étape précoce de la cascade d'activation. La réponse immunitaire humorale était normale. Cliniquement, ces patients étaient atteints d'infections récurrentes mal contrôlées, mais essentiellement virales, en particulier par le virus d'Epstein-Barr. Orientés par l'atteinte de deux garçons dans une des deux familles et un biais d'inactivation du chromosome X chez la mère, les auteurs ont suspecté une atteinte liée à l'X. Celle-ci a été confirmée par séquençage haut débit et capture d'exon, qui ont mis en évidence une délétion de 10 paires de bases dans le gène *MAGT1* des deux frères ; elle était absente chez la mère, mais présente

chez la grand-mère et l'arrière grand-mère des 2 patients. Cette délétion supprime un site donneur d'épissage situé à la jonction exon-intron de l'exon 7. Les transcrits sont effondrés et la protéine indétectable. Chez le troisième patient, il s'agissait d'une mutation non-sens de l'exon 3 de *MAGT1*.

Implication fonctionnelle du gène *MAGT1*

Le gène *MAGT1* code pour un transporteur membranaire du magnésium, *MAGT1*, dont les fonctions physiologiques ne sont pas encore totalement élucidées. Alors que la stimulation du TCR induit une entrée massive des ions Mg²⁺ dans les cellules T normales [3-5], cet influx est indétectable dans les lymphocytes T des patients. Une analyse précise a montré que ce défaut était très spécifique : il n'affectait pas les processus métaboliques cellulaires dont le Mg²⁺ est un cofacteur, mais intervenait uniquement sur les événements d'activation en aval de la phosphorylation de la protéine PLCγ1 qui est diminuée dans les lymphocytes T des patients. Les fonctions des lymphocytes B, qui expriment le gène *MAGT1*, n'étaient pas touchées chez ces patients par l'absence de fonction du transporteur *MAGT1* (mais c'est la PLCγ2 qui est impliquée dans l'acti-

vation du récepteur des lymphocytes B [BCR]). Des expériences complémentaires *in vitro* de délétion transitoire du gène *MAGT1* dans des lymphocytes normaux, par ARN interférence, et de restauration de l'expression du gène *MAGT1* normal *via* des vecteurs lentiviraux dans les lymphocytes T de ces patients, ont confirmé le rôle du transporteur *MAGT1* dans ces défauts d'activation lymphocytaire. Curieusement, cette perte de flux ionique d'ions Mg²⁺ était associée à une baisse de l'influx de Ca²⁺ qui, lui, est tout à fait connu lors de l'activation des lymphocytes T. Cette baisse concomitante de l'influx calcique n'est pas complètement expliquée.

Des études antérieures avaient déjà démontré le rôle important des ions Mg²⁺ dans l'activation des lymphocytes T [8, 9]. Des influx de magnésium ont aussi été observés dans deux lignées de cellules épithéliales en réponse à l'EGF (*epidermal growth factor*) qui agit également *via* la PLCγ1. Dans ce modèle aussi, des flux de calcium accompagnent l'influx de Mg²⁺, comme lors de l'activation des lymphocytes T *via* le TCR. Cette corrélation entre les deux influx ioniques n'existe pas lorsque d'autres PLC sont impliquées, PLCγ2 ou PLCβ.

Conclusion

Le travail de ce groupe révèle l'importance physiologique du transporteur *MAGT1*, qui relaie un influx transitoire de Mg²⁺ déclenché par l'activation d'un récepteur. Cet influx joue un rôle de second messenger dans les lymphocytes T activés (*via* l'activation de la PLCγ1 et l'influx de Ca²⁺) mais aussi dans les cellules épithéliales en réponse à l'EGF. Comme souvent en immunologie, c'est l'exploration d'un déficit immunitaire qui a permis cette découverte. Il faut toutefois démontrer que la diminution de la réponse des lymphocytes T associée à une diminution de la fonction de *MAGT1* est uniquement due à la baisse des flux de magnésium. Il se pourrait que le transporteur *MAGT1* possède d'autres fonctions importantes, mais

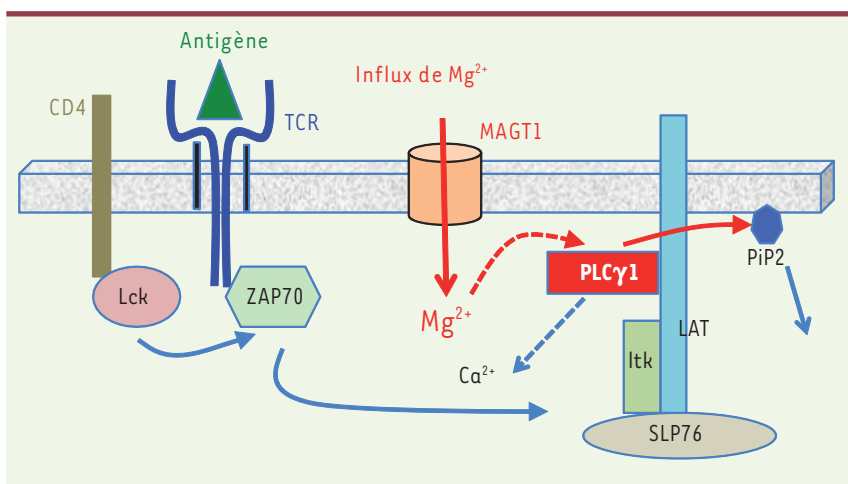


Figure 1. Localisation de l'action de l'influx de Mg²⁺ relayée par le transporteur *MAGT1* dans l'activation lymphocytaire T (adapté de [10]).

non encore identifiées, dans l'activation des lymphocytes T.

Enfin, il est curieux que les fonctions des lymphocytes B, qui expriment le gène *MAGT1*, ne semblent pas touchées chez ces patients par l'absence de fonction du transporteur *MAGT1*. Il serait intéressant de compléter l'analyse de l'expression de *MAGT1* dans les autres cellules du système immunitaire et de déterminer les éventuels défauts de fonction de ces dernières. Enfin, on ne peut exclure que d'autres défauts des lymphocytes T puissent être dus à l'absence de fonction de *MAGT1*. ♦

Magnesium transporter protein 1, a new intermediate in TCR signaling

LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Cowan JA. Structural and catalytic chemistry of magnesium-dependent enzymes. *Biomaterials* 2002 ; 15 : 225-35.
2. Yang W, Lee JY, Nowotny M. Making and breaking nucleic acids: two-Mg²⁺-ion catalysis and substrate specificity. *Mol Cell* 2006 ; 22 : 5-13.
3. Abboud CN, Scully SP, Lichtman AH, et al. The requirements for ionized calcium and magnesium in lymphocyte proliferation. *J Cell Physiol* 1985 ; 122 : 64-72.
4. Modiano JF, Kelepouris E, Kern JA, Nowell PC. Requirement for extracellular calcium or magnesium in mitogen-induced activation of human peripheral blood lymphocytes. *J Cell Physiol* 1988 ; 135 : 451-8.
5. Whitney RB, Sutherland RM. The influence of calcium, magnesium and cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate on the mixed lymphocyte reaction. *J Immunol* 1972 ; 108 : 1179-83.

6. Li FY, Chaigne-Delalande B, Kanelloupolou C, et al. Second messenger role for Mg²⁺ revealed by human T-cell immunodeficiency. *Nature* 2011 ; 475 : 471-6.
7. Casanova JL, Abel L. Primary immunodeficiencies: a field in its infancy. *Science* 2007 ; 317 : 617-9.
8. Rijkers GT, Griffioen AW. Changes in free cytoplasmic magnesium following activation of human lymphocytes. *Biochem J* 1993 ; 289 : 373-7.
9. Rijkers GT, Henriquez N, Griffioen AW. Intracellular magnesium movements and lymphocyte activation. *Magn Res* 1993 ; 6 : 205-13.
10. Wu N, Veillette A. Immunology: magnesium in a signalling role. *Nature* 2011 ; 475 : 462-3.

NOUVELLE

Un nouveau rôle de p27^{KIP1} dans la mitose ?

Bérénice Leclercq, Arnaud Besson

Inserm UMR1037, centre de recherche en cancérologie de Toulouse, Toulouse, France ; université de Toulouse, 118, route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex 09, France. CNRS équipe de recherche labellisée (ERL) 5294, Toulouse, France. arnaud.besson@inserm.fr

p27^{KIP1} : un inhibiteur des complexes cycline/CDK

La progression dans le cycle de division cellulaire est régie par l'activation séquentielle des complexes cycline/CDK (*cyclin-dependent kinases*). Ces complexes sont finement régulés à de multiples niveaux, notamment par des inhibiteurs de CDK dont p27^{KIP1} (*cyclin-dependent kinase inhibitor 1B* ou p27) [1, 2]. L'importance de p27 dans le contrôle des transitions de G0 (quiescence) à G1, et de G1 à S a été abondamment décrite depuis le clonage du gène codant pour p27 en 1994 [1]. Le niveau de p27 est élevé dans les cellules quiescentes, et diminue lors de la transition G1/S pour rester faible dans les phases S, G2 et M du cycle cellulaire. La dégradation de p27 est déclenchée par sa phosphorylation par le complexe cycline E/CDK2, ce qui crée un site de reconnaissance pour l'E3 ubiquitine ligase Skp2 (*S-phase kinase-associated protein 2*)

[1]. L'invalidation chez la souris du gène *cdkn1b*, qui code pour p27, souligne l'importance de p27 dans le contrôle de la prolifération cellulaire puisque la taille de ces animaux augmente d'environ 30 %, et que cette croissance s'accompagne d'une hyperplasie de divers organes et d'une prédisposition à la tumorigenèse spontanée ou induite par des carcinogènes [1]. De plus, la perte de l'expression nucléaire de p27 est un facteur de mauvais pronostic dans de nombreux types de cancers chez l'humain [1]. En outre, la diminution nucléaire de p27 n'est pas associée à des mutations génétiques, comme c'est le cas pour les suppresseurs de tumeurs classiques, mais elle résulte de l'augmentation de sa dégradation protéolytique ou de son exclusion du noyau.

p27^{KIP1} : protéine multifonctionnelle

De nombreuses études indiquent que le rôle de p27 ne se limite pas à l'inhibition

du cycle cellulaire, et que cette protéine participe en fait à la régulation d'autres processus cellulaires *via* son interaction avec divers partenaires protéiques [1, 2]. En effet, p27 est impliquée dans le contrôle de la migration cellulaire, de l'apoptose, de la transcription et du devenir des cellules souches progénitrices de p27 [1, 3, 4]. Afin d'étudier les fonctions indépendantes des complexes cycline/CDK, nous avons généré des souris *knock-in* exprimant un allèle de p27 incapable de lier les cyclines et les CDK (p27^{CK-}) [2, 4, 5]. À l'inverse des souris p27^{-/-} qui présentent des tumeurs spontanées uniquement au niveau de l'hypophyse, les souris p27^{CK-} développent des tumeurs dans divers organes dont les poumons. Ce modèle murin a donc révélé un rôle oncogénique pour p27, indépendant de ses fonctions d'inhibiteur de cycline/CDK.

Une autre caractéristique de la protéine p27^{CK-} est qu'en absence de