

BIOLOGIE

MECANISMES DE LA SIGNALISATION PAR LES RECEPTEURS MEMBRANAIRES

I) Généralités

A) Principes de la signalisation cellulaire

La signalisation cellulaire est un ensemble de processus qui permettent à la cellule d'interpréter les signaux qui lui parviennent et d'y répondre correctement. La cellule répond à un signal extracellulaire par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique. R membranaire ou R intracellulaire.

Les jonctions communicantes relient les cellules adjacentes et permettent le partage de petites molécules : réponses cellulaires coordonnées.

Diversité des médiateurs extracellulaires et des modes de signalisation. Les signaux extracellulaires sont de nature très variée : stimulus physique, molécule chimique. Ils se transmettent localement (juxtacrine = contact cellulaire, autocrine ou paracrine, synaptique) ou à distance (endocrine ex des molécules hydrophobes qui diffusent le plus souvent à travers la membrane plasmique et se lient à des récepteurs intracellulaires).

Molécule de signalisation extracellulaire (ligand, 1 ^{er} messenger, médiateur extracellulaire)	Récepteur	Protéines effectrices : protéines de signalisation intracellulaire	2 nd messenger : médiateur intracellulaire	Effecteur secondaire : protéines cibles	Réponses cellulaires
--	-----------	--	---	---	----------------------

Spécificité du signal : spécificité de la liaison ligand récepteur selon le type de R et selon la machinerie cellulaire. Liaison ligand-R stéréospécifique, interaction faibles (liaisons non covalentes), réversible, saturable (nombre fini de R). La liaison du ligand entraîne une dimérisation du R

B) Bases de la signalisation par les récepteurs membranaires

Les seconds messagers intracellulaires sont produits en grand nombre et diffusibles, mais ils ont une durée de vie courte. Ils sont responsables avec les protéines d'échaffaudage ou d'ancrage de l'amplification du signal et de sa compartimentalisation ce qui permet des réponses lentes ou rapides.

Exemples de seconds messagers :

- Phosphatidyl Inositol 4, 5 bisphosphate
- AMPc
- Ca^{2+}
- Diacylglycérol
- Inositol 1, 4, 5 tri P

Les protéines de signalisation interagissent grâce à des domaines de reconnaissance spécialisés.

Complexité de la spécificité du signal car il y a activation de plusieurs voies de signalisation.

Il y a plusieurs niveaux de régulation négative du signal. La dégradation des 2nd messagers, le contrôle de la phosphorylation-déphosphorylation des protéines, la désensibilisation du R, la production de protéines inhibitrices, le contrôle de l'état d'activation des protéines G. Un 2nd messenger induit une réponse et une inhibition de la réponse.

C) Principales familles de récepteurs membranaires

R couplés aux canaux ioniques

RCPG

Lors de la fixation du ligand, le R s'active se qui active la protéine G, la protéine G va alors aller activer l'effecteur (souvent enzyme). Les ligands sont très hétérogènes.

R couplés aux enzymes

Le récepteur est composé d'une ou plusieurs chaînes polypeptidiques, c'est une famille très hétérogène. Le ligand est une protéine ou un peptide.

Activité TK (EGF, insuline), ou Ser/Thr K (R du TGFβ)

II) Signalisation par les récepteurs enzyme

A) RTK

Diversité des RTK. Ils ont tous un domaine de liaison au ligand à l'extérieur de la cellule et un domaine à activité TK à l'intérieur de la cellule.

Les mécanismes d'activation des RTK est une trans-autophosphorylation et le recrutement de médiateurs.

- 1) Liaison du ligand
- 2) Dimérisation du RTK
- 3) Phosphorylation mutuelle des deux récepteurs sur plusieurs tyrosines
- 4) – phosphorylation des tyrosines du domaine TK (augmentation de l'activité TK)
– phosphorylation d'autres tyrosines : sites d'ancrage pour d'autres protéines
- 5) Protéines de signalisation se lient à des tyrosines phosphorylées grâce à domaine spécifiques
- 6) Activation de ces médiateurs
- 7) Transmission du signal

Exemple de l'EGF (epidermal growth factor)

Fait partie d'une famille de récepteurs apparentés (HER1, HER2 (aucun ligand connu, s'associe à EGF-R pour transmettre le signal, surexprimé dans de nombreux cancers), HER3 (pas d'activité TK), HER4)

Il agit sur de nombreux types cellulaires, régulant la prolifération, la survie, la différenciation des cellules. Il a un domaine extracellulaire, un segment transmembranaire, un domaine intracellulaire comprenant un site catalytique (liaison ATP) et un site de phosphorylation.

Il a plusieurs ligands, EGF, EGF-like ils sont synthétisés en majorité sous forme de précurseurs transmembranaires qui sont clivés par des protéases elles même activées par d'autres voies de signalisation et qui permettent ainsi la solubilisation des ligands. Ces ligands ont ensuite différents mécanismes d'activation de l'EGF-R. Il active plusieurs voies de signalisation en formant un complexe transitoire avec plusieurs protéines adaptatrices.

Étapes de signalisation :

- 1) Liaison du ligand → transconformation du R :
- 2) Dimérisation du R grâce au changement de conformation du bras de dimérisation (pour quasi tous les R) : homodimérisation ou hétérodimérisation (HER2 avec EGF-R)
- 3) Autophosphorylation du récepteur sur plusieurs résidus tyrosine (ou transphosphorylation)
- 4) Recrutement des protéines sur les tyrosines phosphorylées

EGF-R est une protéine d'échafaudage. Il a deux domaines TK : un site actif liant l'ATP et une région C-term terminale activable. Il active plusieurs voies :

- La voie des MAP-K grâce à Grb2 qui va permettre la phosphorylation de l'ADP et ATP d'une protéine Ras (intermédiaire entre facteur de croissance et mécanisme mitogéniques) pour l'activer. MAP-K régule l'apoptose, la différenciation et la prolifération cellulaire
- La phospholipase C (PLC) qui coupe le Phosphatidyl inositol 4, 5 bisphosphate en 1, 2 diacylglycérol qui recrute la PKC+ Inositol 1, 4, 5 triphosphate qui active la PKC.
- La PI3 kinase qui transforme le Phosphatidyl inositol 4, 5 bisphosphate en PIP3 (qui recrute des protéines à domaine PH). Activation de l'EGF-R entraîne la phosphorylation de PKB par PDK1 qui permet de libérer une protéine inhibitrice de l'apoptose.

Les 2nd messager transmettent le signal dans le cytoplasme.

Terminaison du signal : désensibilisation. EGF active une phosphatase qui déphosphoryle EGF-R.

L'internalisation du complexe R/ligand dans un puits à clathrite entraîne la dégradation ou le recyclage. Les 2nd messagers sont dégradés et l'activité GTPase de Ras intrinsèque et stimulée par GAP qui réprime son activité.

Rôle de l'EGF-R dans la tumorigénèse : des anomalies de la signalisation de EGF-R sont impliqués dans de nombreux cancers (surexpression du R ou des ligands, mutations du R (activation constitutive ($\neq$ régulier)). Il est donc une cible thérapeutique (inhibiteurs de la voie de signalisation de l'EGF, Ac monoclonaux, inhibiteurs de la liaison du ligand, inducteurs de l'internalisation de R, inhibiteurs de l'activité TK, inhibiteurs de la liaison à l'ATP

B) R Ser/Thr K

L'exemple de TGF β -R :

TGF β appartient à une grande famille de ligands polypeptidiques synthétisés par clivage d'un précurseur soluble. Homo ou hétérodimères (reliés par un pont disulfure) régulant de nombreuses fonctions (développement, différenciation, production de MEC), inhibiteurs des facteurs de croissance et de la prolifération. C'est un facteur anti métastatique car il régule la cohésion des tissus qu'il augmente.

Il y a deux formes de TGF β -R :

- TGF β -RI a une activité Ser/Thr K déclenchée par le rapprochement du TGF β -RII ou s'est fixé TGF β . Il est donc dépendant de l'activation de TGF β -RII.
- TGF β -RII s'autophosphoryle en absence de ligand. La liaison du ligand permet la formation de complexes TGF β -RI - TGF β -RII actifs.

La voie des SMAD = transmission rapide du signal au noyau. C'est une voie de signalisation simple.

- 1) La liaison de TGF β à un RII entraîne le recrutement du RI et sa phosphorylation.
- 2) Le RI phosphoryle recrute et phosphoryle Smad 2 ou Smad 3
- 3) Smad 2 ou Smad 3 phosphorylé se dissocie de R recrute et s'oligomérisent avec Smad 4
- 4) L'oligomère Smad 2/3-Smad 4 migre vers le noyau et recrute protéines régulatrices des gènes et active la transcription de gènes cible spécifiques.
- 5) Transcription des gènes cibles

→ Arrêt du cycle cellulaire, différenciation ou apoptose.

Rôle de la signalisation TGF dans la tumorigénèse :

Dans de nombreuses tumeurs, on trouve des mutations inactives de TGF β -R ou des protéines Smad. Le TGF β favorise également la synthèse de la MEC et inhibe dégradation. Les défauts de signalisations de TGF β peuvent jouer un rôle dans la capacité des cellules tumorales à métastaser.

III) Signalisation par les RCPG

C'est la plus grande famille. 30% des molécules thérapeutiques ciblent des RCPG. Les signaux des RCPG et des R enzymes empruntent des voies spécifiques et des voies communes : coopération et signalisation croisée.

Signal EC	Récepteur	Protéine G (transducteur) sous forme GDP ou GTP	Effecteur (adénylate cyclase) Transforme ATP en AMPc	AMPc (second messenger)
-----------	-----------	---	--	-------------------------

Super famille des récepteur serpentins ou à 7 DTM : plus de 1000 R différents chez l'homme. Ils ont une structure très homogène. Les 3 boucles EC aident à la fixation du ligand, les 3 boucles IC à la transmission du signal.

Les ligands des RCPG sont très variés : photons, Ca^{2+} , odeurs, petites molécules endogènes, protéines. La liaison se fait en EC ou à l'intérieur du R au niveau de certains DTM (liaisons très diverses). Elle provoque une transconformation du R. Il n'y a pas toujours de signalisation directe.

A) Activation RCPG

- 1) liaison de l'hormone induit un changement conformationnel du R
- 2) Le R activé se lie à la sous unité α de la protéine G.
- 3) Cette liaison modifie la conformation de la sous unité α entraînant le remplacement du GDP par du GTP et la dissociation de la sous unité $\beta\gamma$.
- 4) L'hormone se dissocie du R et la sous unité α se lie à l'effecteur ce qu'il l'active.
- 5) Retour état initial : hydrolyse du GTP en GDP entraîne la dissociation de la sous unité α de l'effecteur et sa réassociation avec la sous unité $\beta\gamma$.

B) Les protéines G

Les protéines G sont hétérotrimériques (grandes protéines G) ou monomériques (petit protéine G). Ce sont des interrupteurs moléculaires (=transducteur). Elle est activée par GEF (facteur d'échange de nucléotide : $\text{GDP} \rightarrow \text{GTP}$) et inhibée par GAP (activation GTPase : $\text{GTP} \rightarrow \text{GDP}$)

Les protéines G sont très diverses car elles sont la combinaison d'une sous unité α avec un dimère $\beta\gamma$. Il existe des protéines :

- G_s qui activent l'adénylate cyclase qui transforme ATP en AMPc + PPi
- G_i qui inhibent l'adénylate cyclase
- G_q et active la PLC (est donc activée par deux voies $\neq$ au moins : RCPG et Renzymes) qui dégrade l'AMPc (se lie a PKA qui a des sous unités catalytiques Ser/Thr K) en AMP inactif
- G_{12} qui régule le cytosquelette.

Les PG et leurs R peuvent être oncogènes : la mutation oncogène du G_s est présente dans 40% des adénomes hypophysaires à GH.

C) Les effecteurs

- Certains ligands peuvent lier plusieurs récepteurs.
- Et certains récepteurs peuvent lier plusieurs PG
- Les PG peuvent avoir plusieurs effecteurs.
- Les sous unités α des PG peuvent agir sur l'adénylate cyclase, la PLC, mais aussi sur des canaux ioniques de la mbP, des PG monomériques.
- Les sous unités $\beta\gamma$ activées peuvent aussi agir sur certains effecteurs. Les seconds messagers activent des effecteurs secondaires.

D) Arrêt du signal

La β arrestine se lie au R phosphorylé qui est alors désensibilisé puis endocyté pour dégradation ou recyclage, ou recrute d'autres protéines pour activer d'autres voies de signalisation.

E) Fonctions médiées par les RCPG

- Signalisation très rapide (vision, odorat, goût, neurotransmission)
- Régulation métabolique (métabo glucido-lipidique, sécrétions exocrines, régulations endocrines, pression artérielle contraction des muscles lisses)
- Régulation immunitaire
- Développement, croissance, différenciation, prolifération