



4^e édition

Communications **et** signalisations cellulaires

Yves Combarous

TEC
& DOC

Lavoisier

Structures et mécanismes d'action des récepteurs membranaires

Les hormones et autres médiateurs intercellulaires peuvent être classés en deux grandes catégories pour ce qui concerne leur site d'action initial : certains, comme les hormones protéiques mais aussi des médiateurs hydrophiles de petite taille, ne peuvent traverser les membranes et leurs récepteurs se trouvent donc à la surface de leurs cellules cibles, au niveau de la membrane plasmique. D'autres hormones telles que les hormones stéroïdiennes ou thyroïdiennes sont hydrophobes, traversent les membranes plasmiques et se lient à leurs récepteurs, localisés à l'intérieur de leurs cellules cibles.

Dans le premier cas, les ligands interagissent avec les récepteurs membranaires du côté extracellulaire à la surface de la cellule et l'information est transmise vers l'intérieur de la cellule. Dans le second cas, les ligands doivent pénétrer dans la cellule où ils interagissent avec leurs récepteurs. La figure 3.1 schématise ces deux situations.

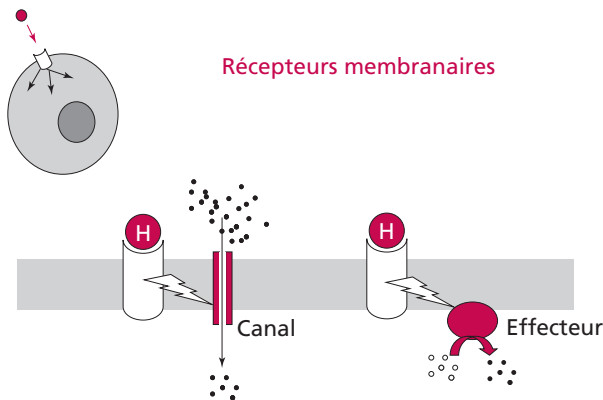


Figure 3.1. Mécanismes d'action des récepteurs membranaires.

À gauche : ouverture d'un canal permettant l'entrée d'un second messager.

À droite : activation d'un effecteur permettant la synthèse d'un second messager.

La multiplication des échanges d'information entre des types cellulaires qui devenaient de plus en plus spécialisés et nombreux chez les organismes supérieurs (environ 200 chez les mammifères) a nécessité, au cours de l'évolution, une augmentation considérable du nombre de molécules médiatrices participant aux communications intercellulaires.

Nous avons vu dans le chapitre précédent que les hormones, les neuromédiateurs et les cytokines appartenaient pratiquement toutes à des familles de molécules apparentées suggérant qu'elles descendent de molécules messagères ancestrales qui se sont diversifiées au cours de l'Évolution. Ainsi, il apparaît que la multiplication et la diversification de ces molécules découlent de duplications répétées des gènes des médiateurs ancestraux et de l'évolution, par petites touches, des copies disponibles. Ceci suggère que « l'invention » d'un nouveau couple médiateur-récepteur original était plus improbable que le « bricolage » des copies d'un couple pré-existant.

L'affinité et la spécificité des interactions hormone-récepteur sont les propriétés essentielles à leur activité. On peut concevoir que ces deux propriétés ne soient pas dépendantes des mêmes structures et qu'elles aient donc pu évoluer de manière indépendante au cours de l'évolution. En effet, la diversification des communications intercellulaires spécifiques ne nécessite que des modifications des propriétés de spécificité et pas obligatoirement de leurs propriétés d'affinité. Ainsi, des copies d'une molécule messagère ancestrale ont pu être soumises à des modifications préservant leur haute affinité mais modifiant leur spécificité d'interaction. Nous avons décrit plus haut, le modèle de « spécificité négative » d'interaction des hormones glycoprotéiques pour leurs récepteurs qui répond bien à cette vision. La diversification des couples hormone-récepteur implique évidemment que les récepteurs ancestraux aient subi le même type d'évolution que les médiateurs ancestraux. À des familles d'hormones correspondent donc des familles de récepteurs.

La figure 3.2 schématise les étapes par lesquelles des couples hormone- récepteur spécifiques ont pu se diversifier à partir d'un couple ancestral h_0 - r_0 .

À chaque étape de l'Évolution, interviennent des mutations parallèles mais totalement indépendantes des molécules messagères et de leurs récepteurs. La duplication (ou la multiplication) des gènes de l'hormone et du récepteur a pu offrir aux animaux qui les portaient des opportunités de mutations « expérimentales » ne mettant pas leur existence ou leur descendance en péril. Dans l'exemple décrit sur la figure 2, on observe d'abord une duplication du gène de l'hormone (étapes A-B). Les deux copies du gène (Ho' et Ho'') codent d'abord pour des molécules d'hormones identiques (ho' et ho'') puis divergentes ($h1$ et $h2$) se liant de manière identique au récepteur ro codé par le gène Ro puis au deux copies du récepteur ($r1$ et $r2$) provenant de sa duplication (étapes C-D).

Des mutations peuvent donc intervenir sur l'une ou l'autre copie de chacun des gènes sans que la fonction de régulation exercée par l'hormone soit suppri-

mée. Dans l'exemple choisi, la molécule h1 perd sa capacité à se lier à la forme mutée r2 du récepteur (étape E). Ensuite, des mutations affectant h2 entraînent la perte de sa liaison à r1 (étape F) conduisant à l'apparition de deux couples (h1-r1 et h2-r2) spécifiques (étape G).

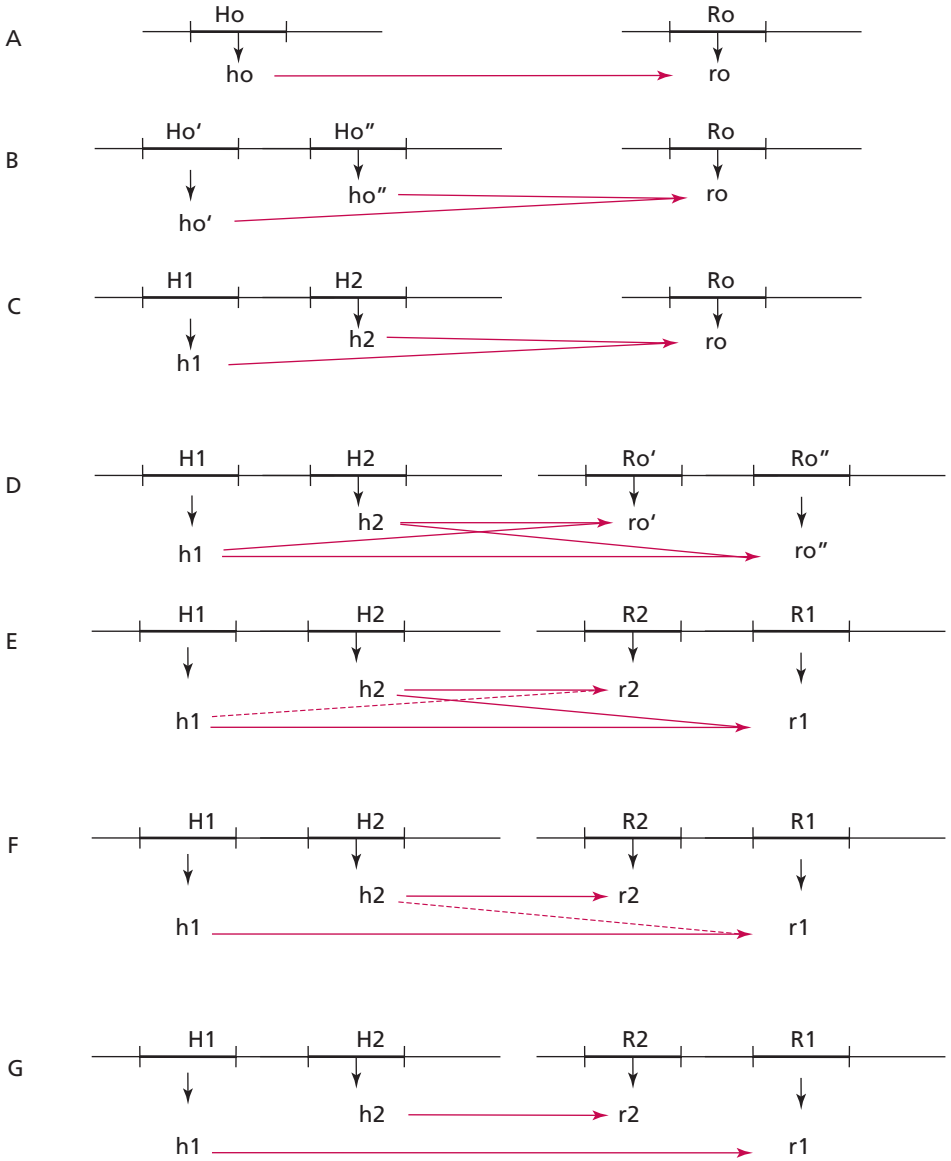


Figure 3.2. A. Étapes de duplication d'un couple hormone-récepteur ancestral.

Les flèches rouges indiquent les interactions des ligands avec les récepteurs.

B. Spécialisation des couples hormone-récepteur dérivés d'un couple hormone-récepteur ancestral.

Les différents gènes pourront être exprimés spécifiquement par des types cellulaires distincts permettant une diversification des régulations intercellulaires. Chacun des nouveaux gènes peut, à son tour, subir les mêmes étapes de duplication et de mutation. La préservation ou l'élimination d'une mutation ne dépend jamais directement des propriétés nouvelles de la molécule mutante mais de l'aptitude de l'animal qui la possède à survivre et à se reproduire. Cette sélection qui conduit à une évolution des structures des médiateurs et des récepteurs donne l'impression d'être coordonnée. Elle n'est en fait que le reflet de l'élimination de tous les mutants chez qui la perte de fonction de communication a été létale.

L'étude structurale des récepteurs des médiateurs intercellulaires montre non seulement qu'ils appartiennent à des *familles* de molécules mais encore que le nombre de ces familles est bien plus restreint que celui des familles d'hormones.

Nous décrirons d'abord, les mécanismes d'action des médiateurs dont les récepteurs sont membranaires puis ensuite, ceux des médiateurs à récepteurs nucléaires.

Les récepteurs d'une très grande majorité d'hormones et ceux des facteurs de croissance, des cytokines, des neurotransmetteurs et des phéromones sont membranaires et la stimulation initiale des cellules-cibles s'effectue donc à ce niveau. La transmission transmembranaire du signal intervient selon diverses modalités et conduit le plus souvent, en une ou plusieurs étapes, à l'activation d'une ou plusieurs protéine kinases intracellulaires et, en conséquence, à la phosphorylation spécifique de substrats protéiques. La modification des activités de ces protéines par leur phosphorylation induit alors les modifications métaboliques, génomiques et/ou morphologiques spécifiques de la réponse cellulaire à l'hormone.

Les récepteurs membranaires peuvent être classés en deux grandes familles sur une base structurale : les récepteurs à sept domaines transmembranaires (R7TM) et les récepteurs à un seul domaine transmembranaire. Les R7TM constituent une famille homogène par le fait qu'au-delà de leur parenté structurale, ils partagent un mécanisme d'action commun par leur couplage fonctionnel à des protéines G hétérotrimériques. De ce fait, ils sont communément dénommés récepteurs couplés aux protéines G (RCPG ou plus souvent GPCR : *G protein-coupled receptors*). À l'inverse des R7TM/GPCR, les récepteurs à un seul domaine transmembranaire ne constituent pas une famille homogène mais cette classification nous permettra de mieux appréhender les points communs et différences entre ces différents récepteurs (figure 3.3).

Bien que les hormones et les cellules cibles d'un organisme soient extrêmement diverses, il n'existe qu'un nombre très restreint de mécanismes de transmission transmembranaire des actions hormonales et par conséquent un nombre tout aussi restreint de types de molécules engagées dans ces mécanismes (récepteurs, protéines de couplage, effecteurs, seconds messagers, kinase phosphatases, protéines plateformes, etc.).

La stimulation des cellules cibles par leurs messagers spécifiques conduit de manière quasi systématique à la stimulation d'une ou plusieurs protéine kinases. Les protéine kinases ainsi stimulées ont des spécificités différentes sur des résidus soit à fonction alcool (Ser/Thr-kinases), soit à fonction phénolique (Tyr-kinases) appartenant à des séquences spécifiques (dites consensus car conservées dans les différents substrats d'une kinase).

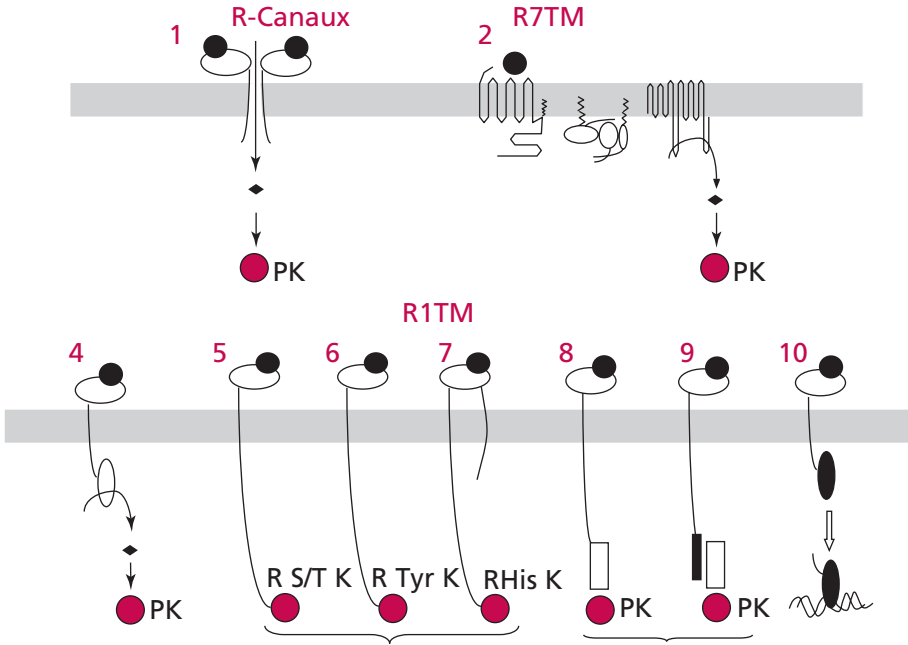


Figure 3.3. Schéma comparatif de l'ensemble des voies de signalisation en aval des récepteurs membranaires. De l'interaction du ligand à l'activation d'une protéine kinase (PK), le nombre d'étapes varie d'une seule (5-7) à au moins quatre (2).

Les protéine kinases sont activées après le déroulement d'un nombre variable d'étapes selon les voies de signalisation. Le nombre d'étapes élémentaires entre la liaison du ligand et l'activation de la (ou les) protéine kinase(s) varie de une à cinq ou plus. Le système le plus fréquent est celui qui fait intervenir les récepteurs à sept domaines transmembranaires (R7TM) qui stimulent la biosynthèse de seconds messagers intracellulaires par un mécanisme faisant intervenir plusieurs protéines membranaires dont en premier lieu, les protéines G, ce qui a conduit à les dénommer GPCR.

Récepteurs à sept domaines transmembranaires

1. ■ Structure-activité des R7TM et de leurs effecteurs

Les récepteurs à sept domaines transmembranaires présentent de grandes similitudes dans leurs voies de signalisation intracellulaires, en particulier par le fait que ces voies mettent presque toutes à l'œuvre des protéines G trimériques. La plus connue est celle conduisant à l'augmentation de la concentration du second messager intracellulaire qu'est l'AMPc. D'autres conduisent à la production de deux seconds messagers, DAG et IP3 et à l'intervention d'un « troisième » messager, le calcium. Certains R7TM se passent néanmoins de protéine G et de seconds messagers.

Le nombre de familles de récepteurs est faible par rapport au nombre de familles de ligands. En effet, des médiateurs de structures aussi diverses que le calcium, l'adrénaline, la thrombine, la GnRH, le glucagon, les hormones glycoprotéiques et même les phéromones et les photons possèdent des récepteurs de la même famille, celle des récepteurs à sept domaines transmembranaires (R7TM). Ces récepteurs sont phylogénétiquement très anciens puisqu'ils existent déjà chez les bactéries et ont connu un grand succès évolutif. En effet, on a déjà recensé et cloné depuis 20 ans un millier de R7TM et on considère qu'il existerait environ 500 gènes codant pour ces récepteurs chez l'homme, soit environ 1,5 % du nombre total des gènes de notre espèce, ce qui est considérable ; il s'agit en effet de la superfamille la plus nombreuse de protéines chez les vertébrés.

Les mécanismes moléculaires de couplage fonctionnel des R7TM à des enzymes membranaires (adénylate-cyclase, canaux) ou sous-membranaires (phospholipase C, gmp-PDE) sont similaires et impliquent des protéines G hétérotrimériques sous-membranaires. C'est pourquoi les R7TM sont également dénommés GPCR (*G protein-coupled receptors*). Les GPCR, les protéines G hétérotrimériques et leurs effecteurs en aval forment des complexes macromoléculaires complexes extrêmement efficaces dans l'établissement de voies de signalisation sensibles, réactives, et spécifiques.

Nous présenterons d'abord les acteurs essentiels de la transduction membranaire proprement dite, les R7TM et les protéines G, puis nous décrirons plus précisément les principales voies de signalisation en aval de l'activation des protéines G suite à l'occupation des R7TM.

1.1. Propriétés des R7TM

1.1.1. Structure générale des R7TM

Les récepteurs à sept domaines transmembranaires ne possèdent pas une très grande homologie globale sauf, justement, de posséder sept segments transmembranaires en α -hélice (TM1 à TM7) connectés par des boucles, alternativement, intra- (i1, i2, i3) et extracellulaires (e1, e2, e3). En outre, leur extrémité N-terminale est toujours extracellulaire (eNT) et leur extrémité C-terminale toujours intracellulaire (iCT). Les boucles e1 et e2 sont généralement connectées entre elles par un pont disulfure entre des cystéines de chacune d'elles. Un tel pont limite les mouvements des segments TM3 et TM4 l'un par rapport à l'autre.

La structure primaire des R7TM comprend donc à partir de l'extrémité N-terminale les segments suivants :

eNT-TM1-i1-TM2-e1-TM3-i2-TM4-e2-TM5-i3-TM6-e3-TM7-iCT.

Cette structure générale est schématisée sur la figure 3.4.

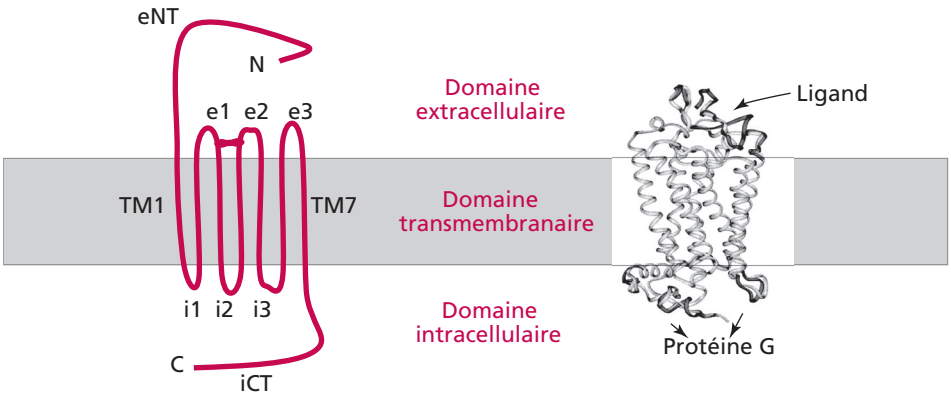


Figure 3.4 Schéma général de la structure des récepteurs à sept domaines transmembranaires.

Les R7TM sont caractérisés par leurs sept domaines transmembranaires TM1 à TM7 en α -hélice connectés par trois boucles intracellulaires (i1 à i3) et trois boucles extracellulaires (e1 à e3). Une séquence N-terminale extracellulaire (eNT) se trouve en amont de TM1 et une séquence C-terminale intracellulaire (iCT) se trouve en aval de TM7.

Les segments eNT et e1, e2 et e3 sont donc extracellulaires, les segments TM1 à TM7 transmembranaires et les segments i1, i2, i3 et iCT intracellulaires.

La structure tridimensionnelle des R7TM n'est pour l'instant pas connue et ne peut qu'être modélisée en s'appuyant sur la seule structure haute-résolution, connue depuis 2000, d'une molécule de cette famille : celle de la rhodopsine. Avec ce seul modèle, il est impossible de distinguer les caractéristiques de la structure qui sont communes à tous les R7TM de celles qui sont particulières au

modèle. On constate par exemple l'existence d'un huitième segment en α -hélice à la suite du TM7 mais qui est perpendiculaire et qui, par conséquent, court le long de la surface membranaire intracellulaire. La modélisation des autres récepteurs sur la seule structure de la rhodopsine doit donc être réalisée avec prudence. Néanmoins, l'ensemble des données indirectes et des modélisations permette d'avoir une vision générale assez crédible de la structure tridimensionnelle des R7TM.

Le domaine transmembranaire forme le cœur de la structure de ces récepteurs et ses transconformations jouent un rôle majeur dans la transduction du signal de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule. C'est essentiellement en modifiant les orientations relatives des segments TM que les ligands provoquent des changements de conformation des boucles intracellulaires, en particulier i2 et i3, qui peuvent ainsi interagir ensuite avec leurs partenaires sous-membranaires et cytoplasmiques.

Outre leur ancrage transmembranaire par leurs sept domaines α -hélicaux, de nombreux R7TM possèdent également des ancrages lipidiques en particulier des thioesterification de cystéines de leur extrémité C-terminale intracellulaire iCT par des chaînes d'acide palmitique. Cette palmitoylation a un caractère dynamique car elle est réversible et l'équilibre palmitoylation/dépalmitoylation de ces sites constitue un mécanisme complémentaire de contrôle des fonctions des R7TM. Certains récepteurs peuvent ainsi être modifiés sur trois sites différents et la dynamique de leurs différents profils de palmitoylation peut affecter de manière complexe leurs interactions (dimérisation, interaction avec les protéines G, etc.) et leurs fonctions.

Récemment, la structure d'un R7TM, le récepteur 2 de l'adénosine, a été déterminée avec une résolution accrue à 1.8 Å et a permis de localiser précisément les molécules d'eau, de sodium et de cholestérol qui lui sont associées. Ainsi, sur les 177 molécules d'eau associées au récepteur, 57 forment un canal quasi continu à l'intérieur de la structure depuis le site de liaison extracellulaire au ligand jusqu'au site d'interaction intracellulaire avec les protéines G. Dans la partie centrale de ce « canal » se trouve un atome de sodium entouré de résidus très conservés de ces récepteurs. La présence de cet ion Na^+ à cet endroit stratégique expliquerait les effets allostériques du sodium sur les réponses aux agonistes et antagonistes de ce récepteur. Le récepteur est en outre étroitement associé à trois molécules de cholestérol qui jouent un rôle sur sa stabilité et possiblement aussi sur ses propriétés allostériques.

Le cholestérol affecte en outre les réactions de palmitoylation/dépalmitoylation cités plus haut et, inversement, sa liaison au récepteur est affectée par la palmitoylation. Enfin, le cholestérol agit indirectement en rigidifiant la bicouche lipidique et en concentrant les récepteurs au niveau des rafts et en augmentant ainsi leur probabilité d'interaction (dimérisation).

Communications et signalisations cellulaires

Les activités des cellules d'un organisme complexe doivent être coordonnées *via* des régulations intégratives d'ordre supérieur (endocrines, nerveuses, immunitaires). Ces coordinations mettent en jeu des communications intercellulaires grâce à des messagers (hormones, neuromédiateurs, cytokines, phéromones) qui, en se liant à des récepteurs spécifiques de leurs cellules cibles, déclenchent, en aval, l'activation de voies de signalisation intracellulaires. Celles-ci sont largement conservées chez tous les eucaryotes multicellulaires, y compris l'espèce humaine.

Cette nouvelle édition de *Communications et signalisations cellulaires*, entièrement remise à jour et remaniée, dresse un état des lieux des connaissances dans ce vaste domaine avec pour principal objectif non pas d'accumuler de trop nombreuses données, mais d'offrir au lecteur des éléments simples et pertinents lui permettant de situer ses molécules d'intérêt dans un cadre plus général.

Pratique, didactique et toujours agrémenté d'un lexique franco-anglais des sigles, cet ouvrage s'adresse aux enseignants, chercheurs et étudiants en biologie, biochimie et médecine pour lesquels il constitue une véritable référence et un guide indispensable.

Yves Combarrous est directeur de recherche émérite au CNRS et est spécialiste des relations structure-activité des gonadotropines. Il poursuit ses recherches au sein de l'unité INRA-CNRS de Tours-Nouzilly et enseigne dans différents masters à Paris et à Tours.

www.editions.lavoisier.fr



978-2-7430-1508-4