

## Microtubules, compartiments cellulaires et GTPases Rho : ménage à trois pour une migration efficace

Stéphane Ory  
Pierre Jurdic

Les cellules des eucaryotes supérieurs sont capables de se déplacer activement grâce à la nature dynamique et plastique de leur membrane et de leur cytosquelette. La migration cellulaire est une résultante de la coordination précise de signaux d'origine extracellulaire et intracellulaire qui aboutit à la formation de structures d'adhérence et à une organisation du cytosquelette d'actine propice au déplacement. Les GTPases Rho sont maintenant bien connues pour contrôler l'organisation du cytosquelette d'actine et apparaissent de ce fait comme des protéines essentielles au contrôle de la migration cellulaire. Néanmoins, la différence de dynamique des structures d'actine entre les parties antérieure et postérieure d'une cellule en mouvement suppose une activation polarisée et antagoniste de ces GTPases au sein de la même cellule. Des données récentes permettent d'émettre des hypothèses sur le rôle des microtubules et des compartiments cellulaires dans la distribution des GTPases Rho au sein de la cellule en migration.

### ADRESSES

S. Ory : NCI-FCRF, RCGL, Bldg 560, Rm22-31, PO Box B, Frederick, MD 21702-1201, États-Unis. P. Jurdic : Laboratoire de biologie moléculaire et cellulaire, UMR 5665, Cnrs/ENS, équipe Inra 913, École normale supérieure de Lyon, 46, allée d'Italie, 69364 Lyon Cedex 07, France.

**L**a migration cellulaire intervient dans de nombreux processus biologiques, normaux ou pathologiques, de l'embryogenèse à l'âge adulte. Au cours du développement, d'intenses mouvements cellulaires sont requis pour la mise en place des feuilletts embryonnaires et pour le développement du système nerveux. Chez l'adulte, dans la plupart des tissus, la migration cellulaire est réprimée

mais une blessure ou la transformation par un oncogène suffisent à l'activer. Dans le cas d'une lésion cutanée, par exemple, le déclenchement de la migration va concerner les cellules proches de la blessure, et aussi des cellules circulantes telles que les leucocytes qui peuvent être considérés comme des cellules spécialisées dans le mouvement. Ils migrent vers les sites d'inflammation au sein desquels ils peuvent ensuite

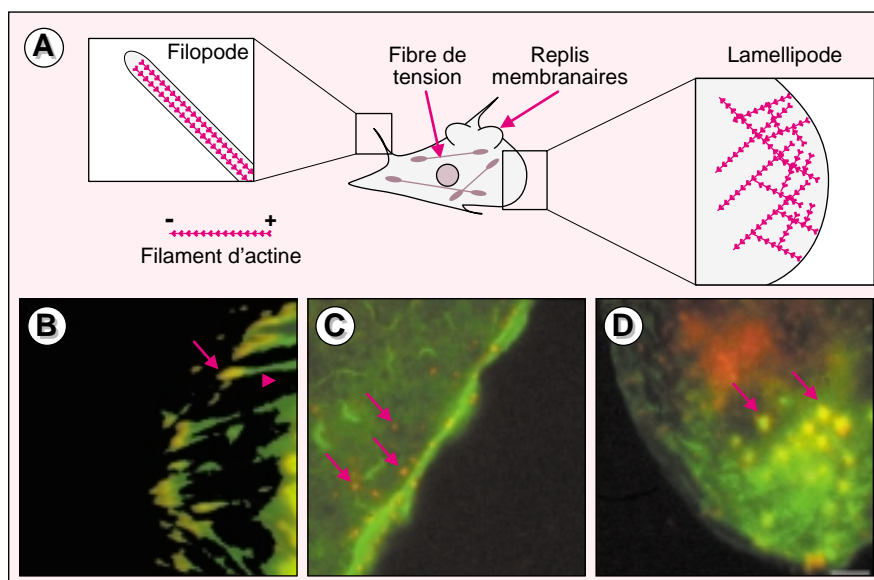
assurer directement l'élimination du pathogène et promouvoir une réponse immunitaire. Dans le cas de la transformation cellulaire, la forme la plus dramatique et la plus dangereuse pour un organisme correspond à la dissémination par migration de cellules tumorales qui ont, de plus, perdu leur capacité de se différencier et de répondre aux signaux de contrôle extracellulaires. Ces deux exemples illustrent, d'une part, que la migration peut être déclenchée à tout moment et, d'autre part, qu'elle doit être finement réglée pour la survie d'un organisme pluricellulaire. Le développement des cultures cellulaires *in vitro* a permis de mettre en évidence la dynamique et la plasticité des membranes cellulaires. Qu'elles soient statiques ou mobiles, les cellules engendrent en permanence des prolongements membranaires tels que les filopodes, les lamellipodes ou les replis membranaires qui sont le résultat de remaniements du cytosquelette d'actine sous-jacent à la membrane plasmique. Les filopodes sont des extensions fines et cylindriques de la membrane plasmique contenant des filaments d'actine, tandis que les lamellipodes correspon-

dent à un fin feuillet membranaire résultant d'une polymérisation croisée de filaments d'actine (*figure 1A*). Ces deux structures, contrairement aux replis membranaires qui peuvent être assimilés à des feuillets membranaires se formant à la surface de la cellule, sont stabilisées par la formation à leur extrémité de structures d'adhérence de type complexes focaux (*figure 1B*) [1]. Deux autres grands types d'adhérence cellulaire peuvent être distingués: les plaques d'adhérence (*figure 1C*) qui permettent la connexion des fibres de tension d'actine cytoplasmique à la matrice extracellulaire, et les podosomes (*figure 1D*), initialement décrits dans des fibroblastes embryonnaires de poulet infectés par le proto-oncogène *v-src* [2], qui sont des structures d'adhérence typiques des macrophages et des ostéoclastes. Ils sont organisés en un très court filament d'actine entouré d'un anneau de vinculine et de taline [2, 3] (*figure 1D*). Une cellule en migration a une morphologie caractéristique qui provient de l'acquisition d'une asymétrie spatiale qui équivaut à une polarisation cellulaire. La partie antérieure de la cellule s'organise en un large lamelli-

pode nécessaire pour l'établissement de nouvelles adhérences cellulaires alors qu'à la partie postérieure, la cellule doit rompre les adhérences et se rétracter pour permettre une migration efficace, ce qui suppose la mise en place de forces de contraction temporaires et locales. La migration apparaît donc comme le résultat d'un équilibre entre la formation et le maintien d'excroissances membranaires à la partie antérieure et de forces de contraction à l'arrière et dans les régions où les excroissances membranaires pourraient s'opposer au mouvement [4, 5] (*figure 2*). Cela suggère que l'organisation des membranes du front de migration est différente de celle de la partie postérieure de la cellule.

## Les GTPases Rho sont des interrupteurs moléculaires

Le cytosquelette d'actine, ainsi que les protéines capables de contrôler son architecture, sont les éléments modulateurs clés de la migration cellulaire [6]. Les premières preuves de l'implication des GTPases Rho (dont RhoA, Rac1 et Cdc42 sont les membres les plus étudiés) dans le contrôle de l'organisation du cytosquelette d'actine ont été apportées en 1992. La micro-injection des protéines constitutivement activées V14RhoA et V12Rac1 (protéines mutées respectivement en position 14 et 12) induit la réorganisation du cytosquelette d'actine en fibres de tension pour la première mutation et en replis membranaires pour la seconde [7, 8]. En 1995, il a été montré que Cdc42 contrôle la formation des filopodes [1, 9] et que la modification de l'activité des GTPases Rho entraîne, parallèlement à la réorganisation du cytosquelette d'actine, un réarrangement des structures d'adhérence en plaques d'adhérence pour RhoA et en complexes focaux pour Rac1 et Cdc42 [1]. D'un point de vue biochimique, les GTPases de la famille Rho (appartenant à la large famille des GTPases Ras) permettent à la cellule de transformer une information extracellulaire en un signal intracellulaire par recrutement d'effecteurs à activité protéine kinase. Leur mode de fonctionnement les assimile à des interrupteurs biolo-



**Figure 1. Organisation des structures d'actine et d'adhérence.** A. Représentation schématique d'un fibroblaste en migration émettant des filopodes, des replis membranaires et des lamellipodes. Schématisation de l'organisation de l'actine dans ces structures. B, C, D. Marquage en immunofluorescence de la vinculine (rouge) et de l'actine (vert) (barre: 5  $\mu$ m). B. Plaques d'adhérence (flèche) associées à des fibres de tension (pointe de flèche). C. Complexes focaux (flèches): pas d'association avec des structures d'actine particulières. D. Podosomes (flèches): la vinculine forme un anneau autour de l'actine.

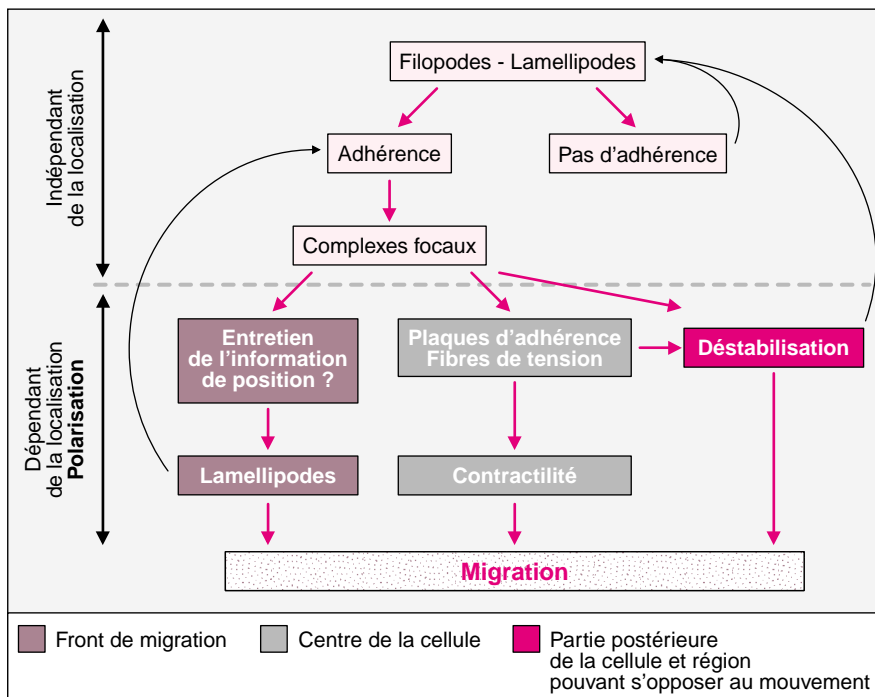


Figure 2. **Décomposition de l'ensemble des événements nécessaires à la migration cellulaire.** Schématiquement, deux types d'activité peuvent être distingués : l'une, indépendante de la localisation, correspondant à l'activité membranaire « spontanée ». Elle ne débouche pas nécessairement sur la formation de nouvelles adhérences, ni sur la migration ; une autre qui suit la formation d'adhérences et qui dépend de l'endroit où elles se forment. La migration est la résultante des forces engendrées par l'évolution des structures d'actine et d'adhérence des différentes régions de la cellule. Pour une migration efficace, il faut imaginer qu'une « information de position » existe dans la cellule.

giques grâce à leur activité GTPase intrinsèque qui leur permet d'hydrolyser le GTP en GDP et d'osciller entre des états que l'on peut qualifier d'« éteint » (lié au GDP) et d'« allumé » (lié au GTP). La transition d'un état à l'autre n'est pas spontanée et nécessite l'intervention de protéines régulatrices. En effet, la forte affinité des GTPases pour les nucléotides à guanine, la concentration relative en GTP supérieure à celle du GDP dans la cellule et leur faible activité GTPase intrinsèque devraient produire une grande quantité de GTPase complexée au GTP et empêcher le retour à une forme inactive, liée au GDP. Pourtant, la majorité des GTPases est liée au GDP et, comme il a été montré pour Ras, une augmentation incontrôlée de leur forme activée conduit à la transformation cellulaire. Des mécanismes de contrôle sont donc indispensables pour mesurer le niveau de GTPase

activée. Deux catégories de protéines sont impliquées : les protéines GEF (*guanine nucleotide exchange factor*) qui permettent l'échange du GDP en GTP, et des protéines GAP (*GTPase activating protein*) qui augmentent l'activité GTPase intrinsèque de la protéine et accélèrent son retour à l'état inactif [6]. Pour les GTPases Rho, une famille de protéines supplémentaire intervient : les GDI (*guanine nucleotide dissociation inhibitor*). Grâce à des modifications post-traductionnelles qui sont indispensables à la fonction des GTPases [10] et qui conduisent à l'ajout de groupements lipidiques isoprénoïdes à l'extrémité carboxy-terminale des protéines, les GTPases Ras (et donc Rho) ont la propriété de s'associer aux membranes cellulaires [11, 12]. Malgré cette séquence d'adressage membranaire, les GTPases Rho sont majoritairement cytosoliques, retenues dans le cytoplasme par les GDI.

## Cdc42 contrôle la polarisation cellulaire

La réorganisation du cytosquelette d'actine est une étape nécessaire à la migration mais demeure insuffisante pour expliquer la polarisation cellulaire. L'étude de la levure *S. cerevisiae* a permis d'attribuer une fonction prépondérante à Cdc42 dans la polarisation cellulaire. Au moment de la mitose, *S. cerevisiae* adopte une morphologie polarisée, caractérisée par la formation d'un bourgeon d'où émergera la cellule fille. Un complexe de signalisation incluant Bud1p et Cdc42p (deux GTPases dont Rap1 et Cdc42 sont les homologues respectifs chez les eucaryotes supérieurs) s'assemble à la cicatrice de l'ancien site de bourgeonnement et, ainsi, permet la réorganisation de l'actine et des septines (protéines de liaison à l'actine) pour former le nouveau bourgeon [13]. Les levures exprimant une protéine Bud1p mutée forment leur bourgeon à partir de sites aléatoires, alors que les mutants de Cdc42p ne sont plus polarisés [13], indiquant que Bud1p est impliquée dans le choix du site de bourgeonnement et Cdc42 dans le contrôle de la polarisation.

La fonction de transport d'ions et de solutés à travers un épithélium est étroitement dépendante de la polarisation des cellules épithéliales. En réponse à l'adhérence puis à l'agrégation, les cellules épithéliales développent des membranes spécialisées, la membrane apicale et les membranes basolatérales qui permettent la mise en place des interactions intercellulaires [13]. Les protéines nouvellement synthétisées, destinées aux membranes basolatérales ou apicales, sont triées dans des vésicules distinctes du réseau trans-golgien et les protéines internalisées par endocytose sont recyclées vers les membranes apicales ou basolatérales [14]. La perturbation de l'activité de Cdc42 dans ces cellules affecte considérablement leur polarité. L'inhibition de la fonction de Cdc42, par micro-injection d'un dominant négatif N17-Cdc42, entraîne une perte de la polarité basolatérale aussi bien de la voie de biosynthèse que de la voie de recyclage par les endosomes. La surexpression de V12Cdc42, constitutivement activée, a un effet encore plus

drastique affectant à la fois la morphologie cellulaire et la polarité des cellules [15], indiquant que Cdc42 et son cycle d'activation contrôlent la polarité des cellules épithéliales. Cette idée est renforcée par la découverte récente d'une association entre Cdc42-GTP et PAR-6 en double hybride [16, 17]. Or, les protéines PAR (*PARtitioning defective*, PAR-1 à 6) ont une fonction capitale lors des premières divisions asymétriques qui ont lieu dans l'embryon précoce du nématode *C. elegans* et dans la détermination de l'axe antéro-postérieur de la drosophile [18, 19]. Dans des cellules épithéliales, la surexpression de l'homologue mammifère de PAR-6 entraîne, comme pour Cdc42, une perturbation de leurs jonctions intercellulaires. La formation d'un complexe tétramoléculaire, incluant Cdc42, PAR-6, PAR-3 et la protéine kinase C atypique  $\zeta$ , serait important pour la polarisation cellulaire [16, 17]. Il reste à déterminer s'il existe un lien entre trafic vésiculaire et polarisation cellulaire et dans quelle mesure Cdc42 est impliqué.

L'implication de Cdc42 dans la polarisation au cours des déplacements cellulaires est bien illustrée par l'analyse de la migration de macrophages en réponse à un gradient de chemoattraction. Lorsque des macrophages sont placés dans un gradient de M-CSF (*macrophage-colony stimulating factor*), ils migrent rapidement vers la source de M-CSF. Leur vitesse de migration est considérablement réduite, ou accélérée, par la micro-injection de V12Cdc42, ou par celle de N17Cdc42. En revanche, dans cette dernière configuration, la direction de migration est totalement aléatoire, ce qui montre l'importance de Cdc42 dans le choix de la direction [20]. Dans un test de cicatrisation d'une blessure affectant une couche de fibroblastes, l'inhibition de Cdc42 ralentit la vitesse à laquelle les cellules vont combler la cicatrice [21], ce qui peut être interprété comme une perte de polarisation puisque les cellules vont moins fréquemment migrer vers la cicatrice. Cette notion est renforcée par le fait que, dans une cellule en migration, l'appareil de Golgi, qui possède une fonction centrale dans la maturation des protéines destinées à être secrétées, fait face au

front de migration. Or, dans les cellules micro-injectées par N17Cdc42, seules 50 % d'entre elles possèdent un appareil de Golgi faisant face au front de migration [21]. De même, dans les cellules épithéliales, l'inhibition ou l'activation de Cdc42 perturbe l'organisation de l'appareil de Golgi [15].

### Appareil de Golgi, vésicules endosomiques : réservoirs des GTPases Rac et Cdc42 ?

L'appareil de Golgi se trouve au carrefour de la voie de sécrétion en recevant des vésicules provenant du réticulum endoplasmique et en assurant leur sortie vers différentes destinations, dont la membrane plasmique. De nombreuses protéines ont été localisées au niveau de l'appareil de Golgi, dont Cdc42 et deux de ses cibles, IQGAP et PAK4 [22-24]. IQGAP est aussi localisée au niveau des membranes basolatérales des cellules épithéliales et règle négativement la formation des jonctions cellulaires relayées par les cadhérines lorsque Cdc42 et Rac sont inactifs [25, 26]. Cette double localisation de IQGAP et la fonction de Cdc42 dans le contrôle de la polarisation cellulaire laissent penser que des complexes protéiques, contenant IQGAP et Cdc42, peuvent se former au niveau de l'appareil de Golgi et être transportés à la périphérie cellulaire simultanément à des protéines membranaires telles que les cadhérines. Cette hypothèse est renforcée par la mise en évidence récente d'une association entre Cdc42-GTP et le complexe COPI (un complexe protéique recruté au niveau des membranes golgiennes lors de la formation des vésicules) [27] et par l'étude de PAK4, une protéine de la famille PAK (*p21 activated kinases*), qui se lie à Cdc42-GTP. L'interaction Cdc42/PAK4 est essentielle à la redistribution de PAK4 du réticulum endoplasmique vers l'appareil de Golgi; de plus, l'activité kinase de PAK4 est indispensable à la formation des filopodes, mais pas à sa localisation [24]. Ainsi, ces observations suggèrent que Cdc42 pourrait contrôler à distance la formation des structures d'actine périphériques en permettant le ciblage de vésicules chargées à la fois

de Cdc42 et de complexes de signalisation spécifiques.

Des observations impliquant le trafic vésiculaire et les GTPases Rho ont été rapportées pour la formation des replis membranaires qui caractérisent l'activation de Rac. L'étude de Arf6, une petite protéine G de la famille Arf impliquée dans le trafic des vésicules de type endosomes [28-30], a introduit une nouvelle notion pour la modulation de l'activité de Rac1, à savoir que son adressage membranaire est nécessaire à sa fonction mais pas toujours suffisant. L'activation de Arf6 est indispensable à la formation des replis membranaires [31, 32] et l'expression d'un dominant négatif de Arf6 empêche la formation des replis membranaires induite par une forme constitutivement activée de Rac1 (Q61LRac1). De plus, Q61LRac1 est retenu au niveau d'un compartiment endosomique [32]. Cela suggère qu'au-delà de l'adressage membranaire, la localisation subcellulaire est importante pour la fonction de Rac. De même, l'induction de replis membranaires par des facteurs tels que le M-CSF sur les macrophages, l'EGF (*epidermal growth factor*) sur les cellules HeLa ou la bombésine sur des cellules CHO nécessite que Arf6 et Rac1 soient fonctionnels [33-35]. Ces résultats établissent un lien entre le trafic vésiculaire et les remaniements du cytosquelette d'actine. Ils indiquent aussi que les membranes des compartiments cellulaires pourraient constituer un réservoir de protéines nécessaires à la formation des structures d'actine requises pour la migration, qui ne seraient mobilisables que lors d'une distribution subcellulaire adéquate. Récemment, l'analyse en temps réel de la distribution des GTPases Rho fusionnées à la GFP (*green fluorescent protein*) a confirmé les différentes localisations des GTPases Rho et l'importance fonctionnelle de ces localisations subcellulaires [36]. De plus, il a pu être montré, par la technique de transfert d'énergie par fluorescence (FRET), que l'interaction de Rac-GTP avec un domaine de l'un de ses effecteurs survient essentiellement dans les replis membranaires et qu'un gradient de Rac-GTP se forme du lamellipode vers le noyau des cellules en migration [37].

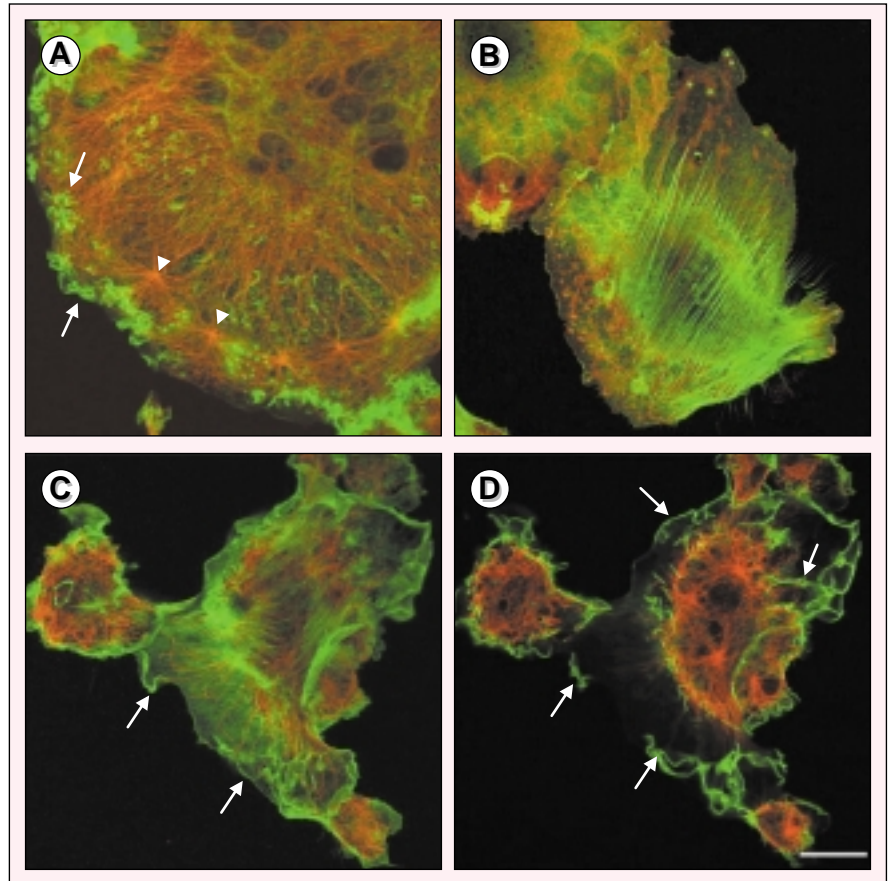
## Microtubules : organiseurs de la régionalisation des activités des GTPases Rho ?

Comment ce ciblage et de tels gradients peuvent-ils prendre place ? Les microtubules constituent, avec le cytosquelette d'actine, un autre type de réseau de filaments très dynamique dans la cellule. La fonction la mieux caractérisée des microtubules dans les cellules en interphase est de servir de « rails » pour le transport des vésicules entre les différents compartiments cellulaires (réticulum endoplasmique, appareil de Golgi, lysosomes, endosomes). Ils assurent aussi l'organisation tridimensionnelle des compartiments cellulaires. La distribution du réticulum endoplasmique, par exemple, suit la distribution radiale des microtubules alors que l'appareil de Golgi est regroupé autour du centrosome, près du noyau des cellules mononucléées [38]. Il est connu depuis longtemps que l'intégrité des microtubules est nécessaire au maintien de la polarisation et à la migration cellulaire [39]. Plus précisément, l'inhibition de la polymérisation des microtubules par l'administration de faibles doses de nocodazole bloque la migration cellulaire [40] tandis que leur dépolymérisation complète inhibe la formation spontanée des replis membranaires et des lamellipodes [41]. Dans cette dernière circonstance, la formation des fibres de tension et de plaques d'adhérence est augmentée [42, 43]. L'ensemble de ces données a permis d'établir un parallèle avec la fonction des GTPases Rho et Rac. Enomoto [44] a montré que l'exoenzyme C3, une toxine bactérienne connue pour inhiber Rho, empêche la formation des fibres de tension dans les fibroblastes en réponse à la dépolymérisation des microtubules et, plus récemment, en utilisant les techniques de précipitation par affinité des formes Rho-GTP et Rac-GTP, il a pu être montré que Rho est activé par la dépolymérisation des microtubules alors que leur repolymérisation active Rac [45, 46]. Ces observations, réalisées dans des lignées de fibroblastes, suggèrent que la dynamique des microtubules pourrait régler

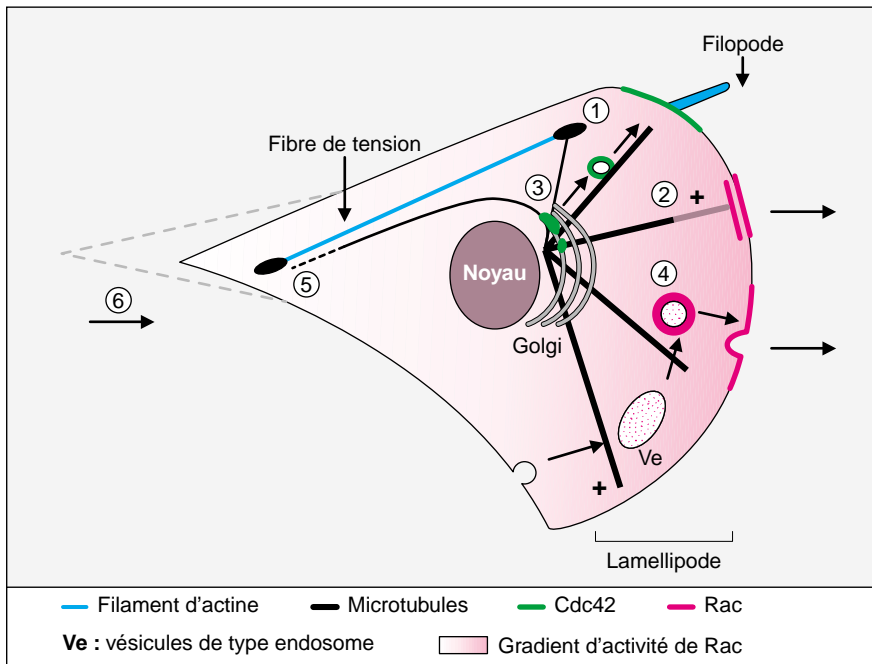
l'activité des GTPases Rho et Rac dans une cellule.

Nous avons pu observer la même relation entre les microtubules, les GTPases Rho et le cytosquelette d'actine dans des cultures primaires de cellules de type macrophages polycaryoniques. Ces cellules ont une organisation du cytosquelette atypique ressemblant à celle des

ostéoclastes, les cellules responsables de la résorption osseuse chez les vertébrés. L'actine s'organise en filaments corticaux, en podosomes et en replis membranaires [3] tandis que les microtubules forment un réseau dense, organisé à partir de centrosomes périphériques [47] (figure 3A). Lorsque les microtubules sont dépolymérisés par un traite-



**Figure 3. Effet des variations de polymérisation des microtubules sur l'organisation du cytosquelette d'actine des macrophages polycaryoniques.** Images d'immunofluorescence réalisées par microscopie confocale et révélant l'organisation du cytosquelette d'actine (vert) et de la tubuline (rouge). **A.** Macrophages polycaryoniques non traités. Les pointes de flèche indiquent les centrosomes et les flèches, les petits replis membranaires apicaux. **B.** Macrophages polycaryoniques traités 30 minutes par le nocodazole ( $2 \mu\text{M}$ ). L'ensemble des structures d'actine, habituellement présent dans les macrophages polycaryoniques, a disparu au profit de la formation de fibres de tension associées aux plaques d'adhérence. **C, D.** Effet de la repolymérisation des microtubules sur l'organisation du cytosquelette d'actine. Les cellules ont d'abord été traitées 30 minutes par le nocodazole ( $2 \mu\text{M}$ ) puis maintenues sans nocodazole pour permettre la re-polymérisation des microtubules. Deux coupes optiques, espacées de  $1 \mu\text{M}$ , ont été réalisées avec un microscope confocal. Dans le plan de base (C), on peut encore distinguer les fibres de tension désordonnées et les microtubules, qui ont été repolymérisés. Des replis membranaires sont visibles en périphérie (flèches en C). Au plan supérieur, les replis membranaires sont abondants (flèches en D). L'organisation normale des macrophages polycaryoniques n'est retrouvée qu'une heure après le retrait du nocodazole.



**Figure 4. Relations entre les microtubules, les GTPases Rho et les compartiments subcellulaires.** ① Les microtubules peuvent cibler les plaques d'adhérence, ce qui a pour conséquence, soit la stabilisation du microtubule et le maintien de la plaque d'adhérence, soit la destruction de la plaque d'adhérence. ② La croissance des microtubules a pour effet d'activer Rac et d'induire la formation des replis membranaires. Par ce fait, la dynamique des microtubules pourrait permettre « l'entretien » du lamellipode et du gradient d'activité de Rac. ③ Cdc42 est, en partie, localisé au niveau de l'appareil de Golgi et est capable d'induire la formation de filopodes en périphérie. Cdc42 permettrait ainsi le ciblage de vésicules vers le front de migration pour l'entretenir dans une direction donnée par formation de filopodes utilisés comme des capteurs. ④ Les vésicules de type endosome pourraient servir de réservoir pour Rac-GTP qui ne serait ainsi capable de promouvoir la formation du lamellipode qu'une fois distribué à la membrane plasmique. ⑤ A la partie postérieure de la cellule, les microtubules se dépolymérisent et augmentent ainsi les forces de contraction par activation de Rho. ⑥ Ces forces de contraction facilitent la rétraction du corps cellulaire. Il reste cependant à savoir comment les adhérences cellulaires se dissocient.

ment au nocodazole, l'actine se désorganise et s'agence en fibres de tension, habituellement absentes dans ces cellules (*figure 3B*), tandis que le niveau de Rho-GTP augmente alors que celui de Rac diminue. A l'inverse, la repolymérisation des microtubules, consécutive au retrait du nocodazole, provoque la formation de replis membranaires (*figures 3C et 3D*) associée à une augmentation de l'activité de Rac et à une diminution de celle de Rho. Le niveau de polymérisation des microtubules peut donc contrôler l'organisation de l'actine en influant sur les

niveaux d'activité des GTPases Rho dans des cellules de morphologie aussi différente que des fibroblastes et des ostéoclastes.

Le lien fonctionnel entre les microtubules et les GTPases Rho n'est pas connu. Récemment, le groupe de S. Narumiya a proposé que mDia – un effecteur de Rho capable de promouvoir la formation de fibres de tension – puisse être un de ces liens [48]. Sa capacité d'interagir avec la profiline, une protéine régulatrice de la polymérisation des filaments d'actine, suggère que mDia peut coupler directement Rho aux réarrange-

ments de l'actine. Lorsque mDia est surexprimé dans les cellules HeLa, des fibres de tension se forment et les microtubules semblent s'aligner sur ces fibres. Cependant, les preuves d'un lien moléculaire n'ont pas été apportées. De même, il a été montré qu'un certain nombre de facteurs d'échange des GTPases Rho sont capables d'interagir avec la tubuline ou d'être co-localisés avec les microtubules, mais leur fonction reste à déterminer.

Les changements de niveau de polymérisation peuvent être reliés à l'analyse de la dynamique des microtubules dans une cellule en migration de type fibroblaste. Il existe en effet des différences de stabilité des microtubules suivant la région de la cellule considérée. Les microtubules proches du front de migration connaissent des phases de croissance plus longues et persistantes qu'à la partie postérieure de la cellule [49, 50]. Ainsi, la différence de dynamique des microtubules suivant les domaines subcellulaires pourrait localement régler l'activité des GTPases Rho avec, à la partie antérieure, des phases de croissance prolongées des microtubules, une activation de Rac et le maintien du lamellipode, et, dans la partie postérieure, des phases de dépolymérisation régulières qui activent Rho et favorisent la contraction cellulaire. Enfin, grâce à des expériences permettant de suivre en temps réel la dynamique des microtubules, un lien étroit entre structure d'adhérence et microtubules a été mis en évidence par le groupe de V. Small. Ils ont montré que certains microtubules orientent leur croissance vers les plaques d'adhérence des fibroblastes, ce qui a pour conséquence de stabiliser le microtubule ou de dissocier la plaque d'adhérence [51, 52]. En ce qui concerne les podosomes, le rôle des microtubules pourrait être très différent, puisque, contrairement aux plaques d'adhérence, les microtubules sont nécessaires à la formation des podosomes [53].

L'ensemble des données présentées permet de dessiner les pièces d'un puzzle au contour encore imprécis ne permettant pas leur assemblage (*figure 4*). Il apparaît désormais nécessaire de déterminer la distribution spatio-temporelle relative des diffé-

rentes GTPases Rho activées et de leurs protéines régulatrices pour une meilleure compréhension de ces mécanismes impliqués à la fois dans la migration et la polarisation des cellules eucaryotes ■

#### Remerciements

S. Ory a bénéficié d'une bourse de thèse du ministère de la Recherche, puis d'une subvention de l'ARC. Les travaux du laboratoire sont soutenus par l'ARC et la Ligue contre le Cancer du Rhône.

#### RÉFÉRENCES

- Nobes C, Hall A. Rho, Rac, and Cdc42 GTPases regulate the assembly of multimolecular focal complexes associated with actin stress fibers, lamellipodia, and filopodia. *Cell* 1995; 81: 53-62.
- Marchisio PC, Cirillo D, Naldini L, Primavera MV, Teti A, Zamboni-Zallone A. Cell-substratum interaction of cultured avian osteoclasts is mediated by specific adhesion structures. *J Cell Biol* 1984; 99: 1696-705.
- Ory S, Munari-Silem Y, Fort P, Jurdic P. Rho and Rac exert antagonistic functions on spreading of macrophage-derived multinucleated cells and are not required for actin fiber formation. *J Cell Sci* 2000; 113: 1177-88.
- Mitchison T, Cramer L. Actin-based cell motility and cell locomotion. *Cell* 1996; 84: 371-9.
- Nabi IR. The polarization of the motile cell. *J Cell Sci* 1999; 112: 1803-11.
- Golsteyn RM, Arpin M, Friederich E, Louvard D. Les protéines du cytosquelette d'actine: bien placées pour la motilité. *Med Sci* 2000; 16: 722-31.
- Ridley AJ, Hall A. The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* 1992; 70: 389-99.
- Ridley AJ, Paterson HF, Johnston CL, Diekmann D, Hall A. The small GTP-binding protein rac regulates growth factor-induced membrane ruffling. *Cell* 1992; 70: 401-10.
- Kozma R, Ahmed S, Best A, Lim L. The Ras-related protein Cdc42Hs and bradykinin promote formation of peripheral actin microspikes and filopodia in Swiss3T3 fibroblasts. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 1942-52.
- Prendergast G, Davide J, de Solms S, et al. Farnesyltransferase inhibition causes morphological reversion of ras-transformed cells by a complex mechanism that involves regulation of the actin cytoskeleton. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 4193-202.
- Adamson P, Marshall CJ, Hall A, Tilbrook PA. Post-translational modifications of p21rho proteins. *J Biol Chem* 1992; 267: 20033-8.
- Boguski MS, McCormick F. Proteins regulating Ras and its relatives. *Nature* 1993; 366: 643-54.
- Drubin DG, Nelson WJ. Origins of cell polarity. *Cell* 1996; 84: 335-44.
- Keller P, Simons K. Post-Golgi biosynthetic trafficking. *J Cell Sci* 1997; 110: 3001-9.
- Kroschewski R, Hall A, Mellman I. Cdc42 controls secretory and endocytic transport to the basolateral plasma membrane of MDCK cells. *Nat Cell Biol* 1999; 1: 8-13.
- Lin D, Edwards AS, Fawcett JP, Mbalalu G, Scott JD, Pawson T. A mammalian PAR-3-PAR-6 complex implicated in Cdc42/Rac1 and aPKC signalling and cell polarity. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 540-7.
- Joberty G, Petersen C, Gao L, Macara IG. The cell-polarity protein Par6 links Par3 and atypical protein kinase C to Cdc42. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 531-9.
- Kemphues K. PARsing embryonic polarity. *Cell* 2000; 101: 345-8.
- Cox DN, Lu B, Sun T, Williams LT, Jan YN. Drosophila par-1 is required for oocyte differentiation and microtubule organization. *Curr Biol* 2001; 11: 75-87.
- Allen WE, Zicha D, Ridley AJ, Jones GE. A role for Cdc42 in macrophage chemotaxis. *J Cell Biol* 1998; 141: 1147-57.
- Nobes CD, Hall A. Rho GTPases control polarity, protrusion, and adhesion during cell movement. *J Cell Biol* 1999; 144: 1235-44.
- Erickson JW, Cerione RA, Hart MJ. Identification of an actin cytoskeletal complex that includes IQGAP and the Cdc42 GTPase. *J Biol Chem* 1997; 272: 24443-7.
- Erickson JW, Zhang C, Kahn RA, Evans T, Cerione RA. Mammalian Cdc42 is a brefeldin A-sensitive component of the Golgi apparatus. *J Biol Chem* 1996; 271: 26850-4.
- Abo A, Qu J, Cammarano MS, et al. PAK4, a novel effector for Cdc42Hs, is implicated in the reorganization of the actin cytoskeleton and in the formation of filopodia. *EMBO J* 1998; 17: 6527-40.
- Braga VM, Machesky LM, Hall A, Hotchin NA. The small GTPases Rho and Rac are required for the establishment of cadherin-dependent cell-cell contacts. *J Cell Biol* 1997; 137: 1421-31.
- Fukata M, Kuroda S, Nakagawa M, et al. Cdc42 and Rac1 regulate the interaction of IQGAP1 with beta-catenin. *J Biol Chem* 1999; 274: 26044-50.
- Wu WJ, Erickson JW, Lin R, Cerione RA. The gamma-subunit of the coatomer complex binds Cdc42 to mediate transformation. *Nature* 2000; 405: 800-4.
- D'Souza-Schorey C, Li G, Colombo MI, Stahl PD. A regulatory role for ARF6 in receptor-mediated endocytosis. *Science* 1995; 267: 1175-8.
- Radhakrishna H, Donaldson JG. ADP-ribosylation factor 6 regulates a novel plasma membrane recycling pathway. *J Cell Biol* 1997; 139: 49-61.
- D'Souza-Schorey C, van Donselaar E, Hsu VW, Yang C, Stahl PD, Peters PJ. ARF6 targets recycling vesicles to the plasma membrane: insights from an ultrastructural investigation. *J Cell Biol* 1998; 140: 603-16.
- Franco M, Peters PJ, Boretto J, et al. EFA6, a sec7 domain-containing exchange factor for ARF6, coordinates membrane recycling and actin cytoskeleton organization. *EMBO J* 1999; 18: 1480-91.
- Radhakrishna H, Al-Awar O, Khachikian Z, Donaldson JG. ARF6 requirement for Rac ruffling suggests a role for membrane trafficking in cortical actin rearrangements. *J Cell Sci* 1999; 112: 855-66.
- Honda A, Nogami M, Yokozeki T, et al. Phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase alpha is a downstream effector of the small G protein ARF6 in membrane ruffle formation. *Cell* 1999; 99: 521-32.
- Zhang Q, Calafat J, Janssen H, Greenberg S. ARF6 is required for growth factor- and rac-mediated membrane ruffling in macrophages at a stage distal to rac membrane targeting. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 8158-68.
- Boshans RL, Szanto S, van Aelst L, D'Souza-Schorey C. ADP-ribosylation factor 6 regulates actin cytoskeleton remodeling in coordination with Rac1 and RhoA. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 3685-94.
- Michaelson D, Silletti J, Murphy G, D'Eustachio P, Rush M, Philips MR. Differential localization of Rho GTPases in Live Cells. Regulation by hypervariable regions and rhogdi binding. *J Cell Biol* 2001; 152: 111-26.
- Kraynov VS, Chamberlain C, Bokoch GM, Schwartz MA, Slabaugh S, Hahn KM. Localized Rac activation dynamics visualized in living cells. *Science* 2000; 290: 333-7.
- Bloom GS, Goldstein LS. Cruising along microtubule highways: how membranes move through the secretory pathway. *J Cell Biol* 1998; 140: 1277-80.
- Vasiliev JM, Gelfand IM, Domnina LV, Ivanova OY, Komm SG, Olshevskaia LV. Effect of colcemid on the locomotory behaviour of fibroblasts. *J Embryol Exp Morphol* 1970; 24: 625-40.
- Liao G, Nagasaki T, Gundersen GG. Low concentrations of nocodazole interfere with fibroblast locomotion without significantly affecting microtubule level: implications for the role of dynamic microtubules in cell locomotion. *J Cell Sci* 1995; 108: 3473-83.
- Bershadsky AD, Vaisberg EA, Vasiliev JM. Pseudopodial activity at the active edge of migrating fibroblast is decreased after drug-induced microtubule depolymerization. *Cell Motil Cytoskel* 1991; 19: 152-8.

## RÉFÉRENCES

42. Danowski BA. Fibroblast contractility and actin organization are stimulated by microtubule inhibitors. *J Cell Sci* 1989; 93: 255-66.
43. Bershadsky A, Chausovsky A, Becker E, Lyubimova A, Geiger B. Involvement of microtubules in the control of adhesion-dependent signal transduction. *Curr Biol* 1996; 6: 1279-89.
44. Enomoto T. Microtubule disruption induces the formation of actin stress fibers and focal adhesions in cultured cells: possible involvement of the rho signal cascade. *Cell Struct Funct* 1996; 21: 317-26.
45. Ren XD, Kiosses WB, Schwartz MA. Regulation of the small GTP-binding protein Rho by cell adhesion and the cytoskeleton. *EMBO J* 1999; 18: 578-85.
46. Waterman-Storer CM, Worthylake RA, Liu BP, BurridgeK, Salmon ED. Microtubule growth activates Rac1 to promote lamellipodial protrusion in fibroblasts. *Nat Cell Biol* 1999; 1: 45-50.
47. Moudjou M, Lanotte M, Bornens M. The fate of the centrosome-microtubule network in monocyte-derived giant cells. *J Cell Sci* 1989; 94: 237-44.
48. Ishizaki T, Morishima Y, Okamoto M, Furuhashiki T, Kato T, Narumiya S. Coordination of microtubules and the actin cytoskeleton by the Rho effector mDia1. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 8-14.
49. Waterman-Storer CM, Salmon ED. Actomyosin-based retrograde flow of microtubules in the lamella of migrating epithelial cells influences microtubule dynamic instability and turnover and is associated with microtubule breakage and treadmilling. *J Cell Biol* 1997; 139: 417-34.
50. Yvon AM, Wadsworth P. Region-specific microtubule transport in motile cells. *J Cell Biol* 2000; 151: 1003-12.
51. Kaverina I, Rottner K, Small JV. Targeting, capture, and stabilization of microtubules at early focal adhesions. *J Cell Biol* 1998; 142: 181-90.
52. Kaverina I, Krylyshkina O, Small JV. Microtubule targeting of substrate contacts promotes their relaxation and dissociation. *J Cell Biol* 1999; 146: 1033-44.
53. Linder S, Hufner K, Wintergerst U, Aepfelbacher M. Microtubule-dependent formation of podosomal adhesion structures in primary human macrophages. *J Cell Sci* 2000; 113: 4165-76.

## TIRÉS À PART

P. Jurdic.

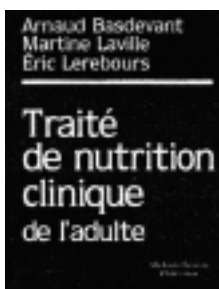
## Summary

### Microtubules, cell compartments and Rho GTPases: a «ménage à trois» for efficient migration

Dynamic cytoskeleton and membrane plasticity allow higher eucaryotic cells to actively migrate. To move, cells need to correctly integrate both extra and intracellular signals in order to completely reorganize their actin cytoskeleton and corresponding adhesion structures. It is well established that RhoGTPases are pivotal regulators of actin organization making them key players in the control of cell migration. Actin organisation between the leading and the rear edges of migrating cells is different, implying the existence of polarized activation and antagonistic activities of the RhoGTPases within the same cell. Recent data suggest that both microtubules and subcellular compartments influence the local distribution and polarized activity of RhoGTPases in migrating cells.

## PRATIQUE, ACTUEL, EXHAUSTIF : UN OUVRAGE DE RÉFÉRENCE UNIQUE ET ORIGINAL.

A l'heure où la sécurité alimentaire est au premier plan des préoccupations des européens, où les personnels de santé et les pouvoirs publics ont pris conscience de l'importance de la composante nutritionnelle dans l'apparition des maladies de civilisation – maladies cardio-vasculaires, obésités, diabètes, cancers, etc. – le **TRAITÉ DE NUTRITION CLINIQUE DE L'ADULTE** apporte des réponses claires et fiables aux questions de grande actualité que l'on se pose sur l'alimentation.



2001 – Collection Traités, un volume relié, 660 pages.

## TRAITÉ DE NUTRITION CLINIQUE DE L'ADULTE

ARNAUD BASDEVANT, MARTINE LAVILLE et ERIC LEREBOURS

Tout ce qu'il faut savoir sur la nutrition normale et pathologique en 6 grandes parties divisées en 71 chapitres : • physiologie • nutriments et aliments • alimentation des populations • évaluation clinique • maladies et nutrition • nutrition et santé publique. Les auteurs, spécialistes de renom, ont travaillé en collaboration avec 80 rédacteurs, tous choisis pour leur compétence dans le domaine étudié. Un ouvrage de référence unique et original qui traite de tous les aspects d'une discipline nouvelle et essentielle.

En vente : chez votre libraire spécialisé, en ligne [www.medecine-flammarion.com](http://www.medecine-flammarion.com), ou par correspondance.

**BON DE COMMANDE** à retourner à FLAMMARION MÉDECINE, 4, rue Casimir-Delavigne – 75006 PARIS

NOM : ..... Prénom : ..... Adresse : .....

Code postal : ..... Ville : .....

Je commande et je règle par chèque à l'ordre de Flammarion (une facture acquittée sera jointe au colis) :

**TRAITÉ DE NUTRITION CLINIQUE DE L'ADULTE** : ..... (prix unitaire TTC) 595FF. + 30FF. (frais de port) soit 625FF. ou 95.27€

**Venez nous rendre visite sur notre site internet : [www.medecine-flammarion.com](http://www.medecine-flammarion.com)**