

propositions évoluent pour former, au bout d'une longue période, une construction plus complexe: «Mon frère, qui vit en Arkansas, aime jouer du piano.» Ou ces mécanismes peuvent faire évoluer progressivement une phrase comme «J'ai poussé Marie, et elle est tombée par terre» vers «J'ai poussé Marie par terre».

De plus, il semblerait que notre espèce ait une capacité spécifique à décoder les intentions communicatives des autres – ce qu'un locuteur a l'intention de dire. Par exemple, on dit: «Je me rappelle/remémore mon premier chat», et non: «Je me souviens mon premier chat.» Des recherches récentes ont montré que plusieurs mécanismes empêchent les enfants de faire des analogies inappropriées. Par exemple, les enfants ne font pas d'analogies dépourvues de sens. Ils ne seraient donc jamais tentés de dire: «Je me réveille mon premier chat.» De plus, si les enfants entendent relativement souvent: «Je me souviens de mon premier chat», alors cet usage évite qu'ils soient tentés de dire: «Je me souviens mon premier chat.»

Des mécanismes si contraignants réduisent considérablement les analogies qu'un enfant pourrait faire, ne laissant que celles compatibles avec les intentions communicatives de la personne qu'il est en train d'essayer de comprendre. Nous utilisons tous ce type de décodage d'intention quand nous comprenons: «Pouvez-vous ouvrir la porte?» comme une demande d'aide, et non comme une question concernant notre aptitude à ouvrir une porte.

Noam Chomsky avait prévu une place pour ce type de «pragmatique» – comment nous utilisons la langue en contexte – dans sa théorie sur le fonctionnement du langage. La langue est tellement ambiguë qu'il était contraint de le faire. Mais il semble qu'il ait considéré que le rôle de la pragmatique est périphérique par rapport à celui de la grammaire, qui, elle, joue un rôle central. D'une certaine façon, les contributions des approches fondées sur l'usage ont déplacé le débat dans la direction opposée en se demandant ce que la pragmatique peut apporter à la langue avant que les locuteurs aient besoin de faire appel aux règles de la syntaxe.

Les théories fondées sur l'usage sont loin d'offrir une explication complète sur le fonctionnement du langage. Les généralisations signifiantes que les enfants font à partir de phrases et de propositions qu'ils ont

entendu prononcer n'expliquent pas entièrement non plus comment ils construisent des phrases – il y a des généralisations qui ont du sens, mais qui ne sont pas grammaticales (par exemple: «Elle a disparu l'oiseau»). Bien que les possibilités soient nombreuses, les enfants semblent néanmoins faire très peu de généralisations de ce type – apparemment parce qu'ils sont sensibles au fait que la communauté linguistique à laquelle ils appartiennent se conforme à une norme et communique une idée seulement «de cette façon».

L'équilibre est cependant délicat chez les enfants, puisque leur langage est à la fois créatif («J'ai pris un crayon») et conforme aux normes grammaticales («J'ai pris un crayon»). Les partisans des théories fondées sur l'usage ont encore beaucoup de chemin à faire pour expliquer comment ces forces interagissent pendant l'enfance d'une façon qui rende compte exactement de la trajectoire du développement du langage.

Quelles perspectives ?

À l'époque où le paradigme chomskyen a été proposé, il était en rupture totale avec les approches plus informelles qui prévalaient à l'époque, et il a attiré l'attention sur toutes les complexités cognitives mises en œuvre pour devenir un locuteur compétent dans la production et la compréhension de la langue. Mais alors que des théories comme celle de Chomsky nous ont permis de voir de nouvelles choses, elles nous ont aussi aveuglés sur d'autres aspects. En linguistique et dans les domaines qui lui sont reliés, de nombreux chercheurs sont de plus en plus insatisfaits par une approche totalement formelle du langage comme la grammaire universelle – sans parler des inadéquations empiriques de la théorie. Par ailleurs, aujourd'hui, les analyses purement théoriques trouvent de moins en moins de partisans: on dispose aujourd'hui de corpus volumineux de données linguistiques permettant de tester une théorie, et beaucoup d'entre eux sont en ligne.

On peut ainsi faire de nouvelles découvertes passionnantes en examinant en détail les différentes langues du monde, en quoi elles sont semblables ou différentes les unes des autres, comment elles changent dans le temps, et comment les jeunes enfants acquièrent une ou plusieurs d'entre elles, sans s'enfermer dans des paradigmes qui semblent dépassés. ■

■ BIBLIOGRAPHIE

Collectif, *La linguistique fondée sur l'usage : approches théoriques et analyses*, *Travaux de Linguistique*, n° 62, 2011.

J. Bybee, *Language, Usage and Cognition*, Cambridge University Press, 2010.

A. Goldberg, *Constructions at Work : The Nature of Generalization in Language*, Oxford University Press, 2006.

M. Tomasello, *Constructing a Language : A Usage-Based Theory of Language Acquisition*, Harvard University Press, 2005.

L'indispensable dialogue

Dale Laird, Paul Lampe et Ross Johnson

La plupart des cellules communiquent avec leurs voisines *via* des myriades de minuscules canaux. Un système de signalisation essentiel tant aux battements cardiaques qu'à la cicatrisation.

Les cellules de notre corps maîtrisent l'art de la communication. À l'instar des personnes qui partagent des nouvelles *via* Twitter, Facebook ou LinkedIn, elles utilisent divers systèmes pour échanger des informations, selon leur fonction. Certaines libèrent des hormones, lesquelles voyagent dans tout l'organisme *via* la circulation sanguine ; d'autres émettent des neurotransmetteurs, molécules qui véhiculent des signaux d'un neurone à un autre. Mais un mode de communication est commun à pratiquement toutes les cellules : deux voisines sont directement connectées grâce à une multitude de canaux nanométriques qui traversent leurs membranes et permettent le passage d'ions et de petites molécules hydrophiles entre leurs milieux intérieurs.

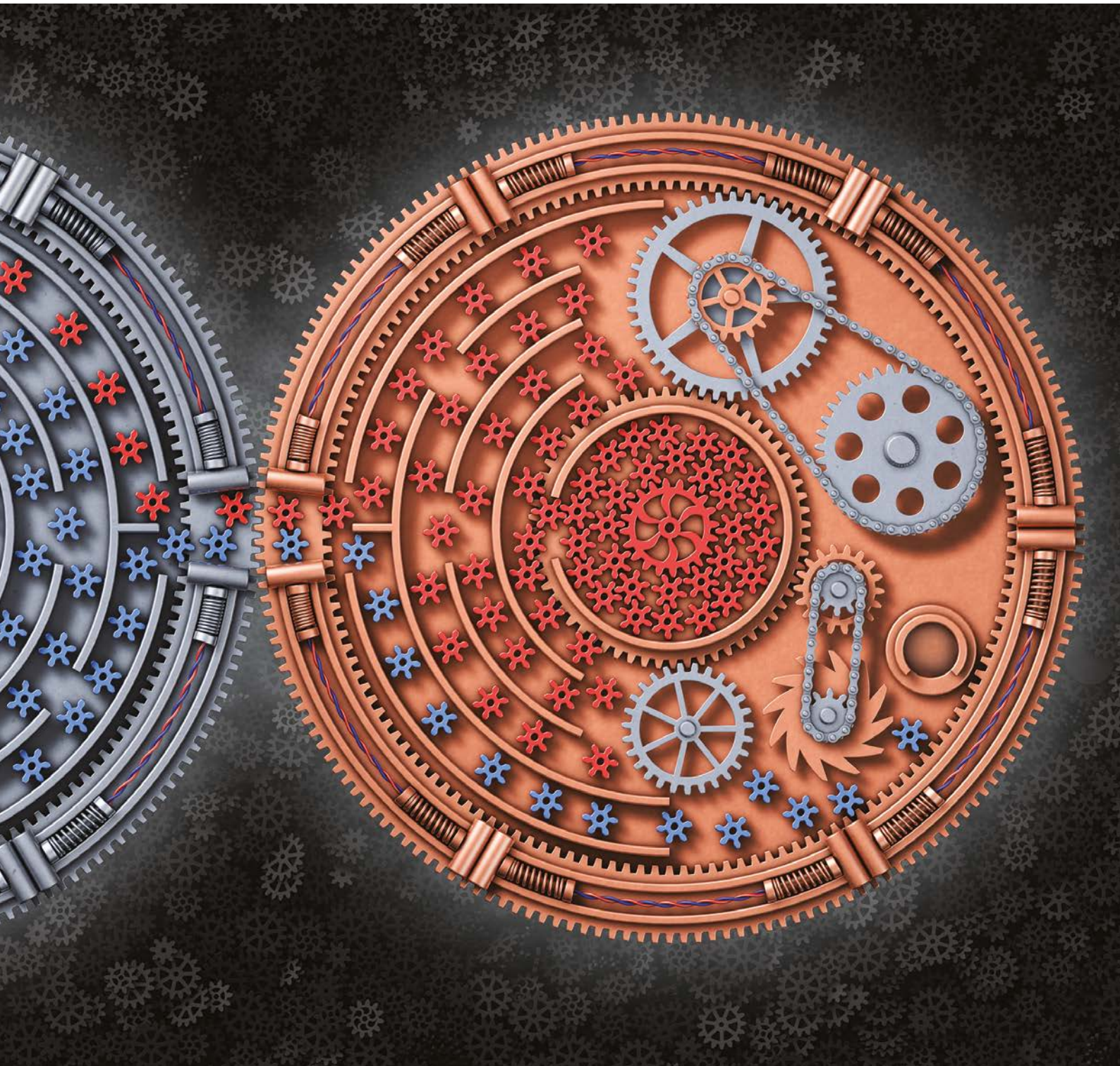
Des fuites fluorescentes

Vers le milieu des années 1960, Werner Loewenstein, de l'université Columbia, à New York, et ses collègues ont observé un effet spectaculaire de cette forme de communication. Ils ont injecté des molécules d'un colorant fluorescent dans une cellule enserrée au milieu d'un tapis de ses congénères. Au microscope, ils ont vu que la fluorescence se propageait



© Peter Kraemer

des **cellules**



rapidement de la cellule injectée aux cellules environnantes, atteignant parfois des centaines d'entre elles. Des études antérieures avaient suggéré que des ions transmettaient des signaux électriques entre cellules voisines, mais l'observation de la propagation de molécules de colorant, plus grosses que des ions, a confirmé l'existence de canaux que les molécules empruntent abondamment pour circuler d'une cellule à l'autre.

Depuis, les biologistes savent que ces canaux sont partout. On en détecte des regroupements dans les tissus de tous les animaux, y compris l'homme, où ils participent à une variété extraordinaire de fonctions. Ces regroupements, nommés jonctions communicantes ou jonctions gap (de l'anglais *gap junctions*), interviennent dans la synchronisation des battements des cellules musculaires cardiaques comme dans la contraction de l'utérus lors de l'accouchement. Les jonctions communicantes aident l'œil à s'ajuster à différentes intensités de lumière. Elles jouent même un rôle dans la formation des organes au cours du développement embryonnaire.

Au cours des vingt dernières années, des scientifiques ont découvert que des anomalies dans l'assemblage des jonctions communicantes ou dans leur activité contribuent à diverses maladies humaines, notamment la perte d'audition, la cataracte, des maladies de peau, des troubles neurologiques, des maladies cardiaques et même certains cancers. Une unique mutation sur une protéine d'une jonction communicante de l'oreille interne explique la perte d'audition chez 40% des personnes atteintes de surdité héréditaire. Et le nombre de maladies où l'on découvre un lien avec les jonctions communicantes ne cesse d'augmenter. Plusieurs liens ont encore été mis en évidence ces toutes dernières années, notamment avec un type d'épilepsie infantile.

Du calmar aux mammifères

Aujourd'hui, les études s'intéressent à la structure des jonctions communicantes et commencent à révéler comment la perturbation de l'assemblage d'une jonction communicante et de son activité précipite la maladie. Avec l'espoir de mener à de nouvelles thérapies pour de nombreuses pathologies qui surviennent lorsque les

■ LES AUTEURS



Dale W. LAIRD est professeur de biologie cellulaire et titulaire de la chaire « Jonctions communicantes et maladie » de l'université Western Ontario, au Canada.



Paul D. LAMPE est codirecteur et membre du programme de recherche translationnelle des départements des Sciences de santé publique et de biologie humaine du Centre de recherche sur le cancer Fred Hutchinson, à Seattle aux États-Unis.



Ross G. JOHNSON est professeur émérite de génétique, biologie cellulaire et développement à l'université du Minnesota, aux États-Unis.

cellules ne peuvent plus communiquer directement de cette façon.

Lorsque les premières expériences avec le colorant fluorescent ont eu lieu, les biologistes ne pensaient pas du tout en termes de portée médicale. Dans les années 1960 et 1970, ils recherchaient des preuves supplémentaires de cette mystérieuse communication entre cellules voisines et voulaient en apprendre davantage sur ses propriétés. Avant même que les jonctions communicantes aient été identifiées et nommées, des physiologistes ont observé que ce partage d'informations moléculaires a lieu dans des organes et organismes variés, allant des embryons du calmar et du poisson électrique à divers types de cellules de mammifères. Et ils ont confirmé que les molécules fluorescentes se déplacent directement d'une cellule à une autre à des endroits où leurs membranes sont en contact étroit.

À la fin des années 1960, l'objectif était de déterminer à quoi les canaux ressemblent et comment ils se forment. Des études microscopiques antérieures avaient révélé de grandes plaques où les membranes de deux cellules voisines sont juxtaposées. À ces endroits, les cellules paraissaient séparées d'un interstice très mince, de seulement quelques nanomètres, qui leur avait valu le nom de *gap junctions* (jonctions à interstice) en anglais. Ce nom leur est resté même après la découverte que cet espace n'est pas vide, mais rempli des parties des canaux qui relient une cellule à une autre.

Des milliers de canaux par jonction

Pour explorer le rôle de ces plaques membranaires dans la « connectivité cellulaire » observée lors des expériences de diffusion de colorant et d'ions chargés, l'un de nous (Ross Johnson) s'est mis à étudier l'assemblage de ces jonctions. Avec ses collègues de l'université du Minnesota, il a délicatement séparé des cellules en culture issues d'une tumeur hépatique, puis les a de nouveau mélangées. En quelques minutes sont apparues des plaques sur les membranes des cellules, mais uniquement aux endroits où un contact s'était établi entre deux cellules. Cette observation confirmait l'idée que l'assemblage d'une jonction communicante est un projet commun de deux cellules adjacentes, nécessitant la collaboration de chacune. Au fur et à mesure que ces

L'ESSENTIEL

- Les cellules échangent des signaux avec leurs voisines *via* des jonctions communicantes, des structures qui relient une cellule à une autre.
- Constituées de plus de 100 000 protéines, ces jonctions se renouvellent en permanence.
- Cette restructuration minutieusement contrôlée permet aux cellules de répondre rapidement à une lésion ou au stress.
- Des mutations de gènes codant des protéines des jonctions sont à l'origine de pathologies variées telles que des formes de surdité, d'épilepsie ou de maladie cardiaque.

plaques s'étendaient et se densifiaient, le courant électrique passant à travers les cellules augmentait également. Ces jonctions semblaient donc faciliter l'échange d'ions.

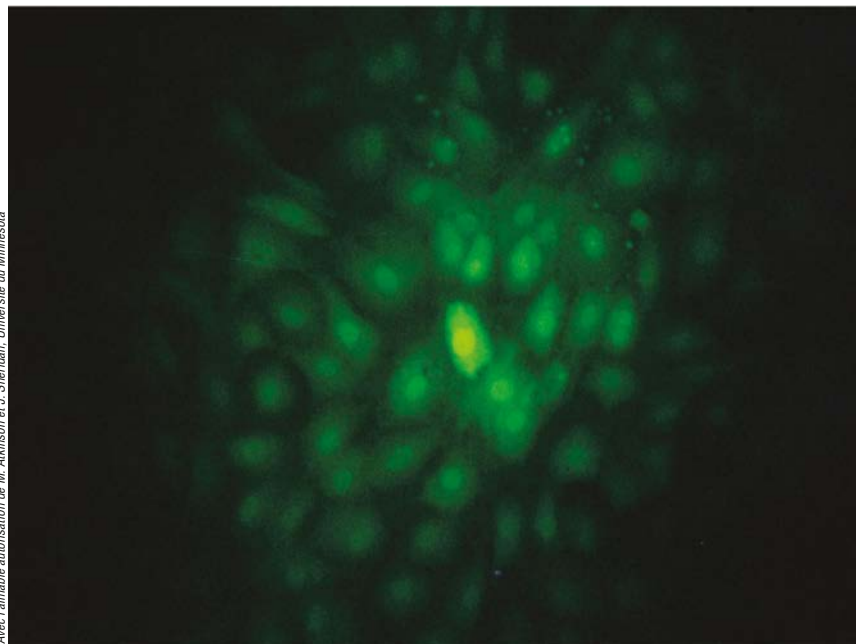
En détachant les membranes des cellules connectées pour les examiner de plus près, Ross Johnson et son équipe ont observé des sortes de grosses particules accumulées dans les plaques. Par la suite, ces particules se sont révélées être les canaux qui, assemblés, constituent les jonctions communicantes (voir l'encadré pages 48 et 49). Chaque canal est formé de protéines d'une même famille – les connexines – identifiée à la fin des années 1980.

Six connexines s'assemblent en un anneau nommé hémicanal. Ce dernier s'insère dans la membrane de la cellule, où il peut alors interagir avec un hémicanal d'une cellule voisine. Lorsque les connexines de ces deux hémicanaux complémentaires interagissent, elles forment un pore continu qui relie les cellules d'une telle façon que les cytoplasmes des deux cellules jointes – c'est-à-dire leurs contenus – communiquent directement. Ce pore est en fait un seul des centaines ou milliers de canaux qui constituent une jonction communicante.

L'édification de ces énormes conglomerats de communication est une entreprise colossale. Une seule jonction peut contenir 10 000 canaux. Chaque canal étant composé de deux hémicanaux, une jonction compte donc environ 120 000 connexines. Or le cœur, par exemple, est constitué à lui seul de milliards de cellules, dont chacune interagit avec plusieurs voisines *via* des jonctions communicantes. Une merveille de l'ingénierie moléculaire !

Plus remarquable encore, ces jonctions communicantes ne sont pas permanentes, ni même de longue durée, mais continuellement démontées et reconstruites. Il a été montré que la moitié des connexines d'une jonction communicante cardiaque sont remplacées toutes les deux heures. En une journée, chaque jonction communicante du cœur humain est très probablement dissociée et remplacée par des canaux nouvellement assemblés.

Au vu de la complexité de ces structures extraordinaires, il semblait vraisemblable que des systèmes de régulation existent, assurant le bon déroulement de leur construction et maintenant ainsi ininterrompues les communications entre cellules. Pour comprendre ces mécanismes



DU COLORANT FLUORESCENT INJECTÉ dans une cellule en culture (au centre) se propage rapidement de proche en proche *via* les canaux des jonctions communicantes qui relient chaque cellule à ses voisines.

de régulation, nous avons décidé – nous étudions tous trois les jonctions communicantes – de mettre en commun nos compétences ; nous voulions notamment comprendre comment l'assemblage et le démontage de ces jonctions sont contrôlés.

Les connexines, bandes Velcro cellulaires

Nous avons élaboré notre plan d'attaque en 1991, durant la pause-café d'une conférence sur les jonctions communicantes au Centre de conférence d'Asilomar, en Californie. L'un de nous (Paul Lampe) était alors postdoctorant dans le laboratoire de Ross Johnson, à l'université du Minnesota, où l'on s'intéressait désormais à la régulation de l'assemblage des jonctions communicantes. Le dernier membre de notre trio (Dale Laird), postdoctorant dans le laboratoire de Jean-Paul Revel, à l'Institut de technologie de Californie, venait de développer un ensemble d'anticorps se liant spécifiquement aux connexines. Ces anticorps nous permettraient d'interagir avec les connexines et de voir quelles parties de ces molécules sont essentielles pour l'assemblage des jonctions communicantes et leur activité.

Les anticorps de Dale Laird reconnaissaient une connexine particulière nommée Cx43. Le génome humain code

21 connexines, et chaque type cellulaire produit son propre « cocktail » de connexines. Les cellules cutanées, notamment, produisent pas moins de neuf connexines différentes. La protéine Cx43 est le membre le plus répandu de la famille. Elle est présente dans de nombreux organes, notamment la peau, le cœur, le cerveau, les poumons et les os.

Comme toutes les connexines, la protéine Cx43 est constituée de quatre segments transmembranaires qui l'ancrent dans la membrane cellulaire. Sa queue, qui pointe à l'intérieur de la cellule, contient divers éléments qui, nous l'avons montré plus tard, interviennent dans la régulation de son activité et de son assemblage en canaux puis en jonctions. Par ailleurs, en traversant plusieurs fois la membrane cellulaire, la protéine forme deux boucles qui ressortent dans l'espace entre les cellules. Certains anticorps que Dale Laird avait produits visaient ces segments extracellulaires.

Les boucles dépassant de la cellule, elles fonctionnaient peut-être comme des bandes Velcro accrochant les connexines les unes aux autres. Pour tester cette hypothèse, nous avons là encore séparé des cellules en culture, puis nous les avons mélangées à nouveau, mais cette fois en y ajoutant les anticorps de Dale Laird ciblant les boucles. Aucune jonction communicante ne s'est formée : d'aucune cellule testée, le colorant

injecté n'a diffusé vers les cellules voisines, et nous n'avons observé aucune plaque caractéristique du développement de jonctions communicantes. En se fixant sur les boucles, les anticorps avaient empêché les connexines d'une cellule de s'amarrer à celles de ses voisines.

Ces travaux montraient que la liaison des connexines est essentielle pour la construction des jonctions communicantes. Il s'agissait à présent d'observer les connexines en temps réel, au fil de leur activité au sein d'une cellule vivante. Toutefois, nous allions avoir besoin d'une autre technique pour y parvenir.

En 1994, nous nous sommes retrouvés tous trois à l'occasion d'une autre conférence – cette fois-ci à San Francisco. Au fil de discussions jusqu'au bout de la nuit sur les présentations auxquelles nous avons assisté, nous nous sommes passionnés pour la protéine fluorescente verte ou GFP (de l'anglais *green fluorescent protein*), un outil moléculaire qui a depuis été récompensé par un prix Nobel, en 2008. Une intervenante avait décrit comment elle avait lié ce marqueur fluorescent à sa protéine d'intérêt pour suivre ses trajets dans des cellules vivantes. Nous nous sommes donc demandé si nous pourrions utiliser la GFP pour suivre les déplacements des connexines.

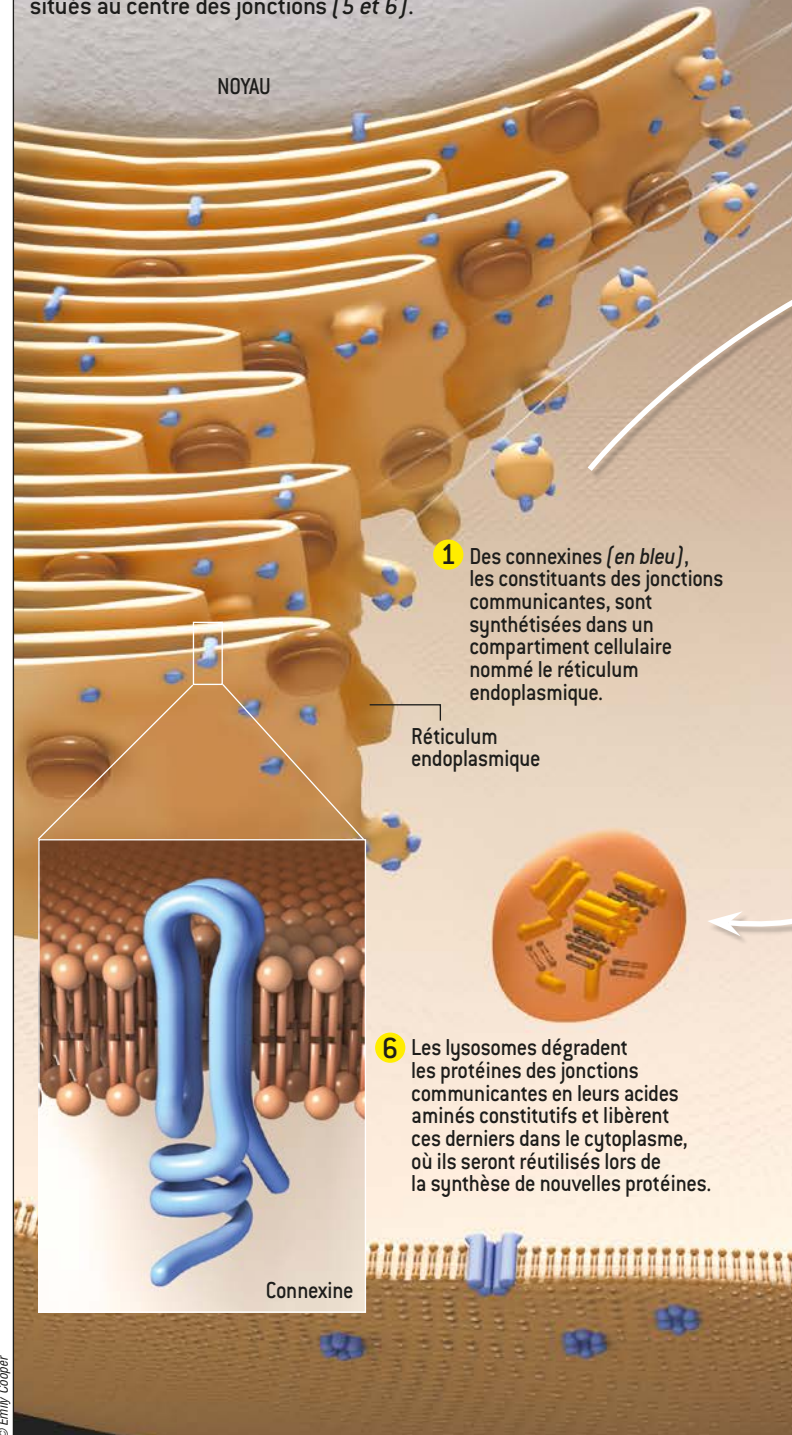
Nous avons commencé par attacher la GFP à la queue des connexines : nous avons introduit dans des cellules de mammifères un ADN codant la connexine Cx43 associée à la GFP. À notre grand plaisir, cette approche a fonctionné : les connexines ainsi marquées se sont bien intégrées dans la membrane cellulaire, où elles se sont assemblées en jonctions communicantes fonctionnelles qui présentaient pratiquement toutes les propriétés de celles formées à partir de connexines non modifiées. Nous disposions désormais d'un moyen puissant pour observer le comportement de connexines dans les cellules – une tâche que Dale Laird a poursuivie à son nouveau poste à l'université de Western Ontario, au Canada.

Suivez cette connexine !

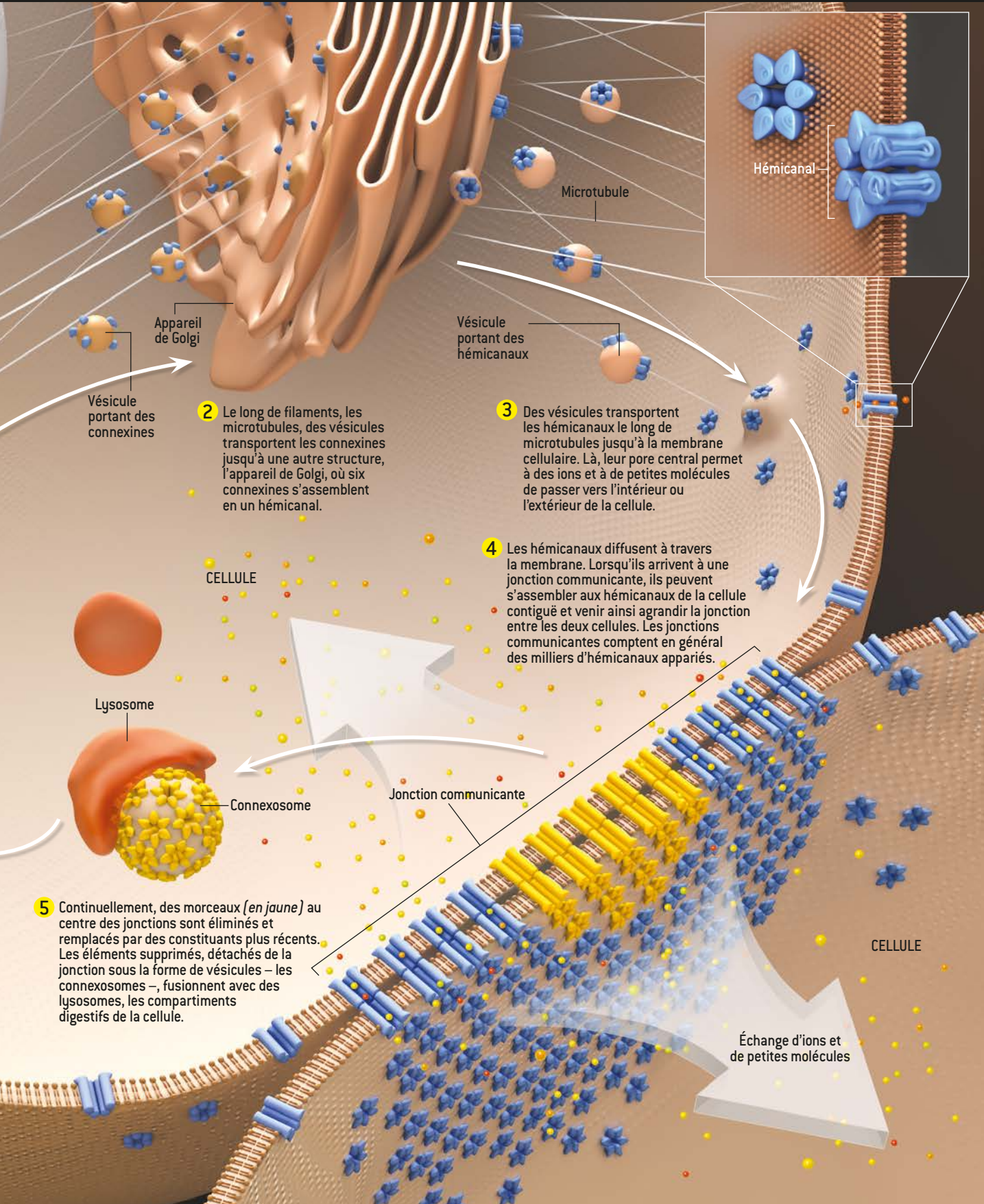
Nos toutes premières observations furent surprenantes. Nous avons d'abord pris des photos des cellules toutes les dix minutes, pensant que nous pourrions les monter en un film accéléré mettant en évidence le déplacement des connexines fluorescentes. Toutefois, ces dernières se déplaçaient si vite que nous étions incapables de suivre une protéine d'une photo à la suivante. Nous avons réessayé en espaçant les photos de deux minutes, mais c'était toujours insuffisant. Pour suivre nos molécules dans la cellule, nous avons finalement dû prendre des photos séparées de quelques secondes seulement.

Le film obtenu nous a permis non seulement de suivre les connexines, mais aussi d'observer le transport d'hémicanaux vers l'intérieur des cellules sur de longs filaments nommés microtubules. Nous avons par

Continuellement, les cellules construisent et remodelent leurs jonctions communicantes (*en bas, à droite*), ces vastes structures qui leur permettent de communiquer avec leurs voisines. La construction commence par la synthèse de protéines nommées connexines [1], leur arrangement en anneaux – les hémicanaux [2] – et l'insertion de ces derniers dans la membrane cellulaire [3]. Si un hémicanal rencontre une jonction communicante existante, il peut alors s'amarrer à un hémicanal de la cellule voisine connectée à cet endroit, formant ainsi un nouveau passage entre les cellules [4]. Parallèlement, les cellules suppriment et dégradent les canaux les plus anciens, situés au centre des jonctions [5 et 6].



DES JONCTIONS COMMUNICANTES EN PERPÉTUELLE RÉNOVATION



ailleurs constaté, comme d'autres chercheurs, que de petites jonctions communicantes se combinent parfois pour en former de plus grandes – ce que nos études au microscope électronique suggéraient déjà. Et à l'inverse, lorsque les cellules croissent, se déplacent, se déforment et se divisent, de grandes jonctions communicantes se scindent et en forment de plus petites.

En concevant de nouvelles méthodes de marquage qui permettaient de différencier les nouvelles connexines des anciennes, nos collègues ont montré que les jonctions communicantes s'étendent par l'ajout d'hémicanaux à leur périphérie, de sorte que le centre d'une jonction communicante représente la partie la plus « ancienne » de la plaque. Les composants de cette zone centrale disparaissent à mesure qu'elles vieillissent, ce qui suggère que les jonctions communicantes subsistent grâce à l'afflux de canaux plus récents de la périphérie vers l'intérieur, venant remplacer les plus anciens.

Des kinases aux commandes

Mais la découverte la plus marquante de cette série d'études fut peut-être celle-ci : il arrive qu'une cellule arrache un morceau de sa voisine, un mécanisme que d'autres chercheurs avaient proposé auparavant à partir de clichés de microscopie électronique. Cette manœuvre consiste à ingérer d'un coup les composants de la jonction provenant des deux cellules – un processus qui fournirait un moyen sûr d'interrompre rapidement la communication entre deux cellules lorsqu'elle n'est plus souhaitable. Une telle élimination massive de jonctions communicantes a notamment lieu dans l'utérus après l'accouchement, mettant hors d'action les réseaux de communication qui s'étaient formés pour coordonner les contractions.

Nous savions désormais que les jonctions communicantes se renouvellent constamment. Nous avons donc décidé d'explorer comment les cellules supervisent cette restructuration. Des études préliminaires suggéraient que des protéines nommées kinases régulaient le processus. Les kinases sont capables de modifier l'activité d'une protéine ou sa localisation dans la cellule simplement en lui ajoutant

des groupes phosphate (une réaction que l'on nomme phosphorylation).

Le défi était de déterminer si les kinases régulent le comportement des connexines et, si tel est le cas, de mettre en évidence l'effet de la phosphorylation sur leur fonctionnement. Paul Lampe prit la direction

De nouvelles mutations ont été identifiées et, aujourd'hui, on compte 14 maladies ayant comme origine des défauts dans les connexines des jonctions communicantes

de cette série d'études lorsqu'il monta son laboratoire au Centre de recherche sur le cancer Fred Hutchinson à Seattle, en 1994. En isolant la connexine Cx43 et en examinant la protéine par petites sections, Paul Lampe et ses collègues ont découvert que, sur l'ensemble de sa durée de vie, cette connexine est phosphorylée en 15 endroits différents le long de sa queue. Cette information nous a permis de trouver une partie du code de régulation qui contrôle la formation de jonctions communicantes contenant la protéine Cx43. L'action de kinases spécifiques sur certaines parties de la queue de Cx43 augmente l'assemblage de jonctions contenant cette protéine ; d'autres kinases agissant sur des parties différentes de la queue inhibent quant à elles la formation ou l'activité des jonctions ou en limitent la taille.

La connaissance d'une partie du code de régulation nous a donné une piste pour explorer les liens entre maladies humaines et jonctions communicantes : dans des échantillons de tissus humains, nous recherchons à présent des indices sur la façon dont des changements de phosphorylation dus à une lésion ou à une maladie modifient l'assemblage et le fonctionnement des jonctions communicantes. Notamment, nous commençons à comprendre, ainsi que d'autres équipes, comment la communication *via* ces jonctions change lorsque des cellules cardiaques essaient de se remettre d'un manque d'oxygène après une crise cardiaque ou lorsque des cellules cutanées se mobilisent pour guérir une coupure ou une éraflure.

Dans les deux cas, l'équipe de Paul Lampe a montré que la phosphorylation augmente sur un site particulier de la queue de la connexine Cx43. Cette phosphorylation accroît brièvement la taille des jonctions communicantes dans ces tissus en empêchant la connexine d'interagir avec une protéine qui, en temps normal, limite l'intégration de nouvelles connexines dans les jonctions existantes. Les jonctions s'étendant plus, la communication entre cellules s'intensifie – ce qui est essentiel au cours des premières minutes qui suivent une lésion – et aide à préserver la fonction du tissu cardiaque ou à faciliter la migration des cellules de la peau jusqu'à une plaie.

Ces découvertes ont conduit au développement de traitements fondés sur la stimulation ou l'inhibition de l'activité des kinases concernées. De telles stratégies nécessitent cependant de la prudence. Une extension des jonctions communicantes à un stade d'une maladie peut se révéler nocive par la suite. Par exemple, en temps normal, bien que les jonctions communicantes s'agrandissent brièvement juste après une blessure, elles sont ensuite vite dégradées, ce qui favorise la guérison. Chez les personnes diabétiques, en revanche, une surproduction continue de la protéine Cx43 retarde la cicatrisation d'une blessure. Et en cas d'éraflure de la cornée, il arrive que la production de connexines entraîne une inflammation et la formation d'une lésion persistante au lieu d'une réparation. Dans ces cas, en limitant la production ou la fonction de la protéine Cx43 dans les cellules au voisinage de la blessure chez des rongeurs, on observe une réparation rapide sans cicatrice – une approche sur laquelle travaillent plusieurs sociétés de biotechnologie.

Mais comprendre l'évolution des profils de phosphorylation des connexines lors d'une maladie ou d'une lésion ne suffit pas pour concevoir des thérapies efficaces. Les chercheurs ont besoin de mieux comprendre comment les connexines s'assemblent dans les différents tissus et sous diverses conditions – et comment leur agrégation et leur activité sont perturbées en cas de maladie. L'étude de mutations pathogènes dans les gènes

codant les connexines commence à fournir des informations intéressantes dans ce sens.

La première preuve génétique de l'implication de connexines dans une maladie remonte au milieu des années 1990. Plusieurs études ont montré que diverses mutations du gène codant la connexine Cx32 provoquent une forme de la maladie de Charcot-Marie-Tooth, une pathologie neurologique. Dans cette forme, les jonctions communicantes qui habituellement maintiennent la gaine isolante des nerfs disparaissent. Cette gaine, dite de myéline, est constituée de spirales membranaires jointives que des cellules enroulent autour des nerfs. Sans les jonctions, la gaine se dégrade et la conduction nerveuse diminue; cette perte entraîne l'atrophie et l'affaiblissement des muscles, en particulier au niveau des membres.

De la maladie de Charcot à la dysplasie oculo-dento-digitale

Après la découverte que des mutations des connexines ont de graves effets physiologiques, l'intérêt des chercheurs pour les jonctions communicantes a explosé. De nouvelles mutations ont été identifiées et, aujourd'hui, on compte 14 maladies ayant comme origine des défauts dans les connexines des jonctions communicantes.

La caractéristique la plus frappante de ces maladies est leur diversité. Outre la maladie de Charcot-Marie-Tooth, les mutations répertoriées produisent perte d'audition, épilepsie, maladie cardiaque, troubles cutanés, cataracte ou différentes anomalies survenant au cours du développement embryonnaire. Comme on peut s'y attendre, des mutations de connexines différentes contribuent à des maladies distinctes. Toutefois, les connexines mutantes n'affectent pas forcément tous les tissus ou organes de la même façon: lorsqu'une connexine mutante donnée est produite dans deux organes, il arrive que seule la fonction de l'un d'eux soit perturbée.

De nombreuses équipes cherchent à comprendre ce phénomène. Une explication serait que dans certains tissus, d'autres connexines normales compensent l'effet d'un variant défectueux, maintenant ainsi une communication suffisante. Ce mécanisme serait absent d'autres tissus. Une connexine donnée pourrait aussi jouer un

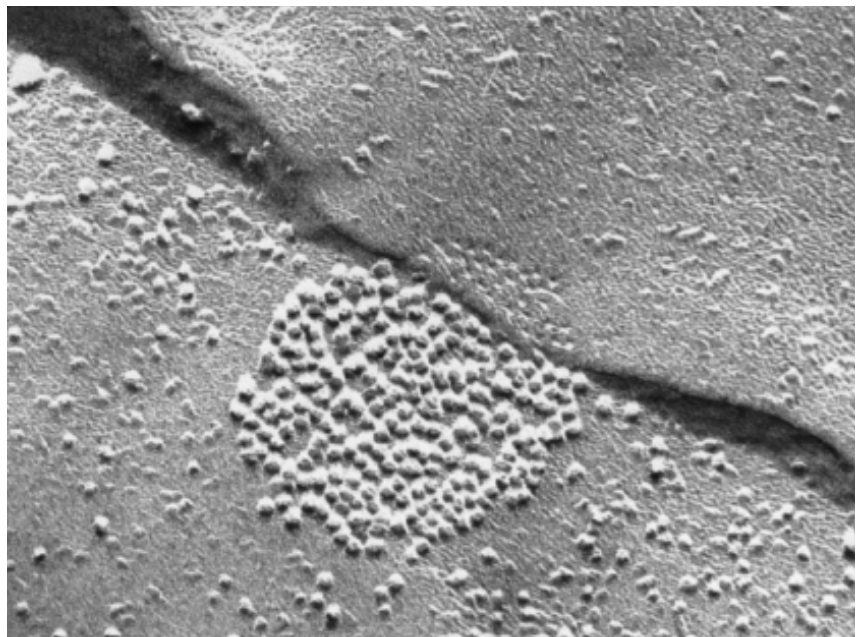
À chaque jonction sa fonction

Chez les vertébrés, trois principaux types de jonctions relient les cellules, chacun assurant une fonction spécifique. Les jonctions communicantes créent un passage par lequel circulent de petites molécules et des ions. Les jonctions d'ancrage arriment les cellules les unes aux autres et à la matrice extracellulaire. Enfin, dans les cellules épithéliales (les cellules de la peau et des tissus recouvrant les organes), des jonctions dites serrées maintiennent un contact étanche entre les cellules, ce qui empêche toute molécule de traverser le tapis cellulaire autrement que *via* les cellules elles-mêmes.

rôle dans un tissu et remplir des fonctions différentes dans d'autres, selon le cocktail de connexines présent. Les membres de la famille des connexines pourraient également se combiner et produire des canaux hybrides susceptibles de faciliter le passage de divers signaux moléculaires, dont certains seraient plus importants dans un tissu que dans un autre.

Dans le cas de certaines connexines, cependant, les mutations perturbent le fonctionnement de multiples tissus. Par exemple, les personnes atteintes de dysplasie oculo-dento-digitale, une pathologie due à des mutations du gène de la connexine Cx43, présentent un ensemble de symptômes parmi lesquels une microphthalmie (yeux de petite taille), un sous-développement des dents, des malformations du squelette du visage et du crâne, et la fusion de doigts ou d'orteils. Certaines développent en plus une maladie cutanée produisant d'épais cals squameux sur la paume des mains et la plante des pieds. De récentes études sur le cycle de vie des connexines ont apporté quelques indices sur la raison pour laquelle certaines formes de la maladie sont plus graves que d'autres.

Plus de 70 mutations du gène de la protéine Cx43 ont été identifiées chez



CETTE VISION LUNAIRE est une jonction communicante (au centre) entre deux cellules, déchirée et observée au microscope électronique à balayage par l'un des auteurs (Ross Johnson) et son équipe en 1978. Les biologistes ont congelé les cellules, puis ont fracturé leur membrane à l'aide d'une lame de rasoir. Dans la cellule à gauche, les hémicanaux de la jonction sont restés dans la membrane, tandis qu'il ne reste que les creux qui hébergeaient ceux de la cellule de droite. La superficie de la jonction est d'environ 0,04 μm^2 .

Jonctions communicantes et cancer

Depuis cinquante ans, le lien entre jonctions communicantes et cancer ne fait aucun doute. Toutefois, ces dernières années, le rôle des constituants de ces jonctions, les connexines, dans la cancérogenèse est apparu plus complexe qu'on ne le pensait.

Le premier lien a été établi en 1966 : Werner Loewenstein et Yoshinobu Kanno, de l'université Columbia, à New York, ont montré l'absence de dialogue intercellulaire par jonction communicante dans des tumeurs hépatiques alors que celui-ci existe dans le foie normal. Depuis cette observation, une série d'expérimentations jusqu'à nos jours a confirmé que la perte de ce type de communication accompagne ou favorise l'apparition de tumeurs et leur croissance.

Par exemple, les jonctions communicantes sont souvent réduites, voire absentes, dans les tumeurs solides, quelle que soit leur origine. Par ailleurs, appliquées sur des cultures de cellules, des substances cancérogènes non mutagènes (pesticides, perturbateurs endocriniens) diminuent la

communication intercellulaire en réduisant le nombre de jonctions ou en provoquant leur fermeture. En outre, des souris dont les gènes des connexines sont altérés sont plus susceptibles de développer une tumeur induite ou spontanée. À l'inverse, dans d'autres approches où l'on rétablit des jonctions communicantes dans des cellules cancéreuses, par traitement à l'aide de substances chimiopréventives (extraits de thé vert, caroténoïdes...) ou par réintroduction de gènes de connexines, la prolifération cellulaire diminue.

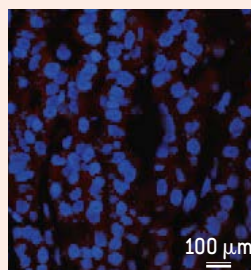
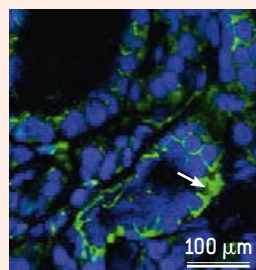
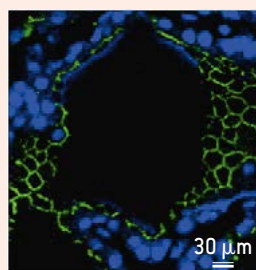
Hormis quelques exceptions notables, toutes les données accumulées depuis 1966 vont dans le même sens : elles suggèrent que les connexines sont des régulateurs négatifs de la prolifération cellulaire. Mais

depuis une décennie, leur rôle dans la cancérogenèse se révèle plus complexe. Des études montrent que ces protéines sont aussi capables de favoriser la migration de cellules cancéreuses qui les portent et l'invasion de tissus (mélanomes, gliomes), voire d'agir sur leur dissémination et la destination des métastases (cancer prostatique). Les connexines auraient ainsi un double visage : elles seraient à la fois capables de réduire la prolifération des cellules tumorales, mais aussi d'augmenter leur dissémination.

De nombreuses incertitudes demeurent quant aux mécanismes moléculaires sous-jacents qu'elles contrôlent. Une hypothèse est que ces protéines, ou certaines d'entre elles, seraient capables d'agir sans établir de communication intercellulaire, en interagissant directement avec des protéines à l'intérieur des cellules. Affaire à suivre...

– Marc Mesnil

Laboratoire STIM, ERL 7368, CNRS, université de Poitiers



Les jonctions communicantes disparaissent peu à peu lors de la progression de cancers thyroïdiens, comme le montrent ces images de microscopie à épifluorescence, où la connexine Cx43, détectée à l'aide d'un anticorps, est en vert et où les noyaux des cellules sont colorés en bleu. Dans la thyroïde normale (à gauche), les jonctions communicantes sont nombreuses et tellement riches en Cx43 que son marquage délimite le contour des cellules. Dans des tumeurs bénignes (adénomes, au centre), la connexine, moins bien localisée, se retrouve parfois à l'intérieur des cellules (flèche). Elle disparaît complètement dans les cancers (à droite).

des personnes souffrant de la dysplasie oculo-dento-digitale, et nous avons commencé à explorer l'effet de ces mutations sur la protéine et sur la construction des jonctions communicantes. Dale Laird et ses collègues ont ainsi montré que de nombreuses mutations produisent une connexine qui atteint la membrane cellulaire, mais ne forme pas de jonction communicante fonctionnelle : les colorants ne diffusent pas d'une cellule à une autre à travers ces jonctions, ce qui indique que les canaux soit ne sont pas assemblés correctement, soit ne permettent pas le passage des signaux moléculaires. Quoi qu'il en soit, ces mutations diminuent la communication de cellule à cellule.

D'autres mutations empêchent les connexines d'atteindre la membrane cellulaire. Les patients qui les portent souffrent en général de la forme la plus grave de la maladie, qui inclut la maladie cutanée parmi les symptômes. Cela suggère que les hémicanaux de connexines n'interviennent pas que dans l'assemblage des jonctions communicantes. Peut-être jouent-ils un autre rôle à la membrane, ce qui expliquerait pourquoi, lorsque les connexines n'atteignent jamais la membrane, les troubles associés sont plus sévères.

Des canaux isolés ouverts sur l'extérieur

Au lieu de s'assembler par paires et former des canaux, par exemple, certains hémicanaux pourraient rester non appariés, formant de petits canaux isolés qui relieraient les cellules au milieu extérieur. Ces hémicanaux permettraient aux cellules d'émettre des signaux vers leur environnement ou d'y prélever des molécules. Ces molécules seraient peut-être différentes de celles qui passent habituellement à travers les canaux des jonctions communicantes.

Une telle activité a été observée expérimentalement, notamment dès 1996 avec la connexine Cx46, ce qui ajoute une nouvelle dimension à notre compréhension du rôle des connexines dans la communication entre cellules. Les chercheurs poursuivent l'étude des hémicanaux mutants, avec l'espoir de trouver de nouvelles cibles (notamment les molécules jusqu'ici non identifiées qui traversent les hémicanaux non appariés) pour le traitement de la dysplasie oculo-dento-digitale ou d'autres maladies dues à des connexines défectueuses.

L'étude de l'impact des mutations sur l'assemblage des jonctions communicantes et sur leur fonctionnement pourrait aussi conduire à des thérapies hautement ciblées, qui contrediraient les conséquences d'une mutation sans provoquer de graves effets indésirables. Par exemple, le fait qu'une mutation donnée perturbe l'assemblage d'une jonction communicante, mais pas le transport des connexines vers la surface cellulaire, ouvre une piste pour concevoir un médicament qui rendrait la connexine à nouveau capable de former un canal fonctionnel. De telles thérapies ciblées fourniraient un moyen de rétablir la communication entre cellules sans avoir à remplacer la connexine mutante par une protéine fonctionnelle – une opération nécessitant une thérapie génique, une approche encore risquée et expérimentale.

Mais la découverte de mutations des connexines à l'origine de maladies apporte bien plus que des cibles thérapeutiques

prometteuses. Elle fournit un nouvel ensemble d'outils pour l'étude de la biologie des jonctions communicantes. Par exemple, notre compréhension des molécules qui les traversent reste très limitée. Dans le cas des cellules cardiaques, nous savons que les ions qui circulent *via* ces jonctions transmettent un signal électrique d'une cellule à une autre. Mais nous n'avons aucune idée de la nature du message véhiculé entre les cellules de l'appareil auditif ou entre celles qui interviennent dans la cicatrisation d'une lésion cutanée. En poursuivant l'étude des hémicanaux et de leurs liens avec des maladies, nous serons un jour en mesure d'aborder les questions fondamentales ultimes concernant cette forme de communication : que se chuchotent les cellules et comment ces messages moléculaires gouvernent-ils l'assemblage et le fonctionnement d'organismes aussi complexes que l'humain ? ■

■ BIBLIOGRAPHIE

T. Aasen *et al.*, Gap junctions and cancer : Communicating for 50 Years, *Nature Reviews Cancer*, vol. 16(12), pp. 775-788, 2016.

J. L. Solan et P. D. Lampe, Specific Cx43 phosphorylation events regulate gap junction turnover *in vivo*, *FEBS Letters*, vol. 588, pp. 1423-1429, 2014.

R. G. Johnson *et al.*, Gap junction assembly : Roles for the formation plaque and regulation by the C-terminus of connexin43, *Molecular Biology of the Cell*, vol. 23(1), pp. 71-86, 2012.

K. Jordan *et al.*, Trafficking, assembly and function of a connexin43-green fluorescent protein chimera in live mammalian cells, *Molecular Biology of the Cell*, vol. 10(6), pp. 2033-2050, 1999.



LES RENDEZ-VOUS DU MUSÉUM

Partagez les savoirs

Entrée gratuite

FILMS Dès 10 ans

Samedi 6 mai - 15h : Le jardin en mouvement par O. Comte (52', 2013)
16h30 : People's park par J.-P. Sniadecki (7', 2012)

CONFÉRENCES Redouté au Jardin

Lundi 15 mai - 18h : Regards croisés en lien avec l'exposition :
Le pouvoir des fleurs, au Musée de la vie romantique
C. de Bourgoing, commissaire scientifique de l'exposition, **A. Lemaire**, chef du service des collections, Bibliothèque centrale du Muséum

UNE EXPO, DES DÉBATS

Lundi 22 mai - 18h : La biodiversité dans nos jardins en lien avec la journée mondiale de la biodiversité
M. Flandrin, jardinier, Jardin des Plantes, Muséum, **B. Fontaine**, observatoire de papillons, Vigie nature, centre d'écologie et des sciences de la conservation, Muséum, **P. Gourdain**, coordinateur des inventaires des jardins, service du patrimoine naturel, Muséum

Auditorium de la Grande Galerie de l'Évolution - 36 rue Geoffroy St-Hilaire, Paris 5^e

BAR DES SCIENCES DES EXTRÊMES

Dimanche 21 mai - 17h30 :
Quelles adaptations possibles du vivant en milieux extrêmes ?
 Animé par **M.-O. Monchicourt**, journaliste scientifique à France Inter, créatrice des Lab'Origins dans le cadre de la fête de la nature,
J.-P. Concordet, biologiste moléculaire, Inserm-Muséum,
A. Couté, spécialiste de micro-organismes, Muséum,
Ch. Lasseur, responsable du programme Melissa, entraîneur de spationautes, Agence européenne spatiale

Café-restaurant la Baleine - 47 rue Cuvier, Paris 5^e

Au Jardin des Plantes

Détails sur mnhn.fr, rubrique : "les rendez-vous du Muséum"

POUR LA SCIENCE





© Jon Foster