

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.

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.

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

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.

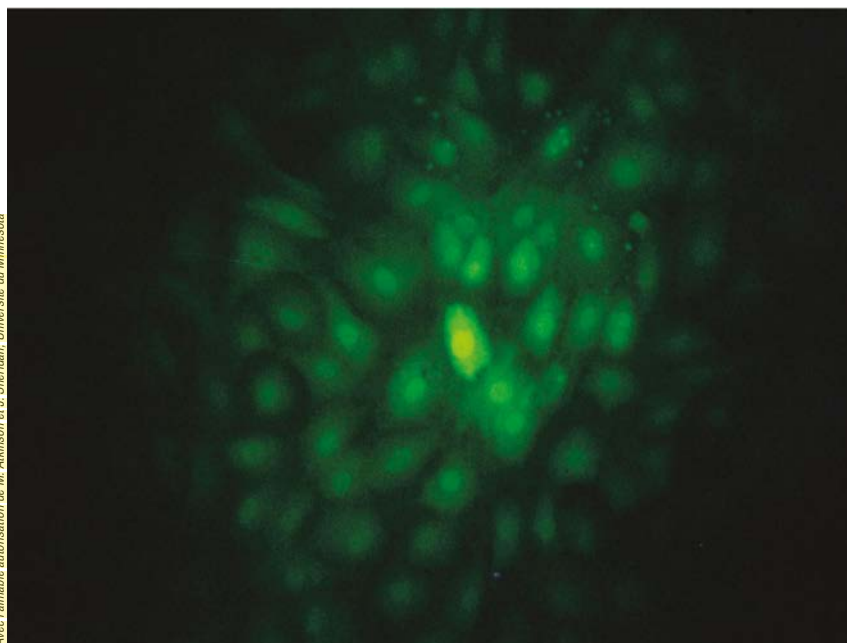
En détachant les membranes des cellules connectées pour les examiner de plus près, Ross Johnson et son équipe ont observé des sortes de grosses particules accumulées dans les plaques. Par la suite, ces particules se sont révélées être les canaux qui, assemblés, constituent les jonctions communicantes (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