

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

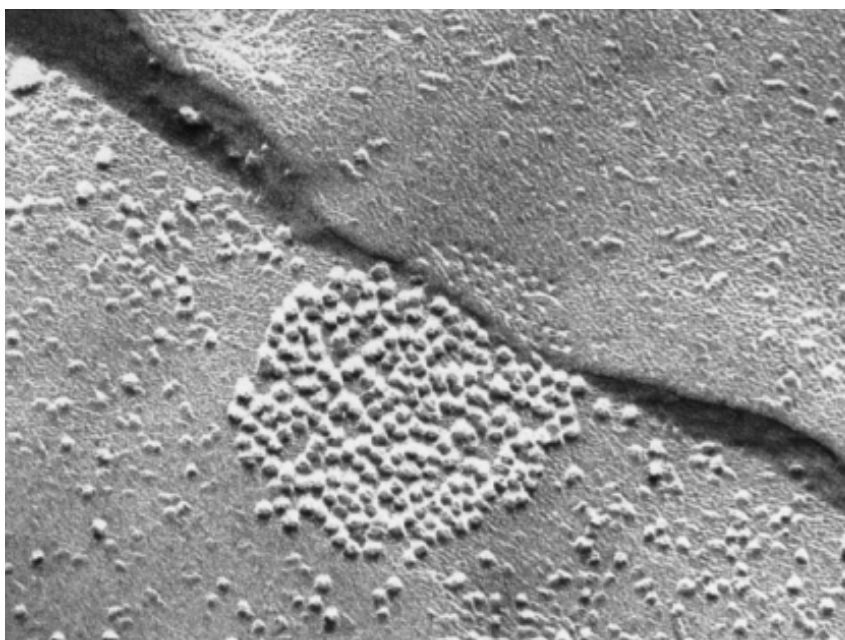
À chaque jonction sa fonction

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.

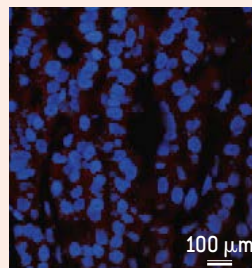
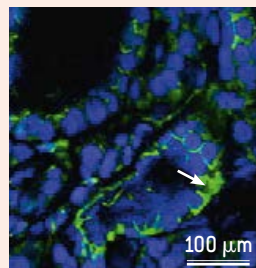
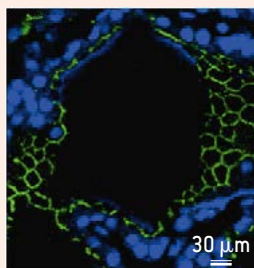
Hormis quelques exceptions notables, toutes les données accumulées depuis 1966 vont dans le même sens : elles suggèrent que les connexines sont des régulateurs négatifs de la prolifération cellulaire. Mais

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.