

CHAPITRE : Bases moléculaires de signalisation par les récepteurs tyrosines kinases (RTK)

1. Les protéines tyrosine kinases

De nombreuses voies de signalisation transmettent les signaux extracellulaires en modifiant l'état de phosphorylation des résidus tyrosine. La phosphorylation des protéines sur les résidus tyrosine, par les tyrosines kinases, représente seulement 0.1% de la phosphorylation totale des protéines chez les mammifères. Cependant, les tyrosines kinases, enzymes responsables de cette phosphorylation sur les acides aminés tyrosine, jouent un rôle primordial dans la régulation de nombreux phénomènes biologiques tels que la prolifération, la différenciation et la motilité cellulaires. Il existe deux familles de tyrosine kinases :¹ les tyrosine kinases cytoplasmiques et ²les récepteurs tyrosine kinases (RTK)

1.1. Les tyrosine kinases cytoplasmiques

Contrairement aux récepteurs tyrosine kinases, les tyrosines kinases cytoplasmiques ne possèdent pas de domaine extracellulaire ni transmembranaire. Ces protéines se trouvent localisées dans le cytoplasme au niveau interne de la membrane plasmique. Il existe 8 familles de tyrosine kinases cytoplasmiques regroupées selon leurs homologies structurales. On cite comme exemple les protéines de la famille Src

1.2. Les récepteurs tyrosine kinases

La famille des récepteurs tyrosine kinases est composée de protéines situées à la surface de la cellule, qui présentent une forte affinité pour des ligands extracellulaires de type polypeptidiques. Ces récepteurs sont impliqués dans la régulation de nombreuses réponses biologiques, notamment la croissance et la différenciation cellulaire. Il existe 14 sous-familles de récepteurs tyrosine kinases. La première sous-famille identifiée est celle des récepteurs pour les facteurs de croissance, mais la plus importante en nombre est la sous-famille Eph avec 12 membres. Ces récepteurs sont, pour la plupart, fortement exprimés dans le tissu du système nerveux. Cette famille aurait un rôle important au cours du développement.

Un **récepteur à activité tyrosine kinase (RTK)** est une protéine de la famille des récepteurs-enzymes. Ce sont tous des récepteurs transmembranaires monomériques à l'état inactif, à l'exception de l'insuline,

Les récepteurs à activité Tyrosine Kinase sont les récepteurs des facteurs de croissance.

Les facteurs de croissance permettent essentiellement :

- la prolifération
- la survie cellulaire (en protégeant la cellule de l'apoptose)

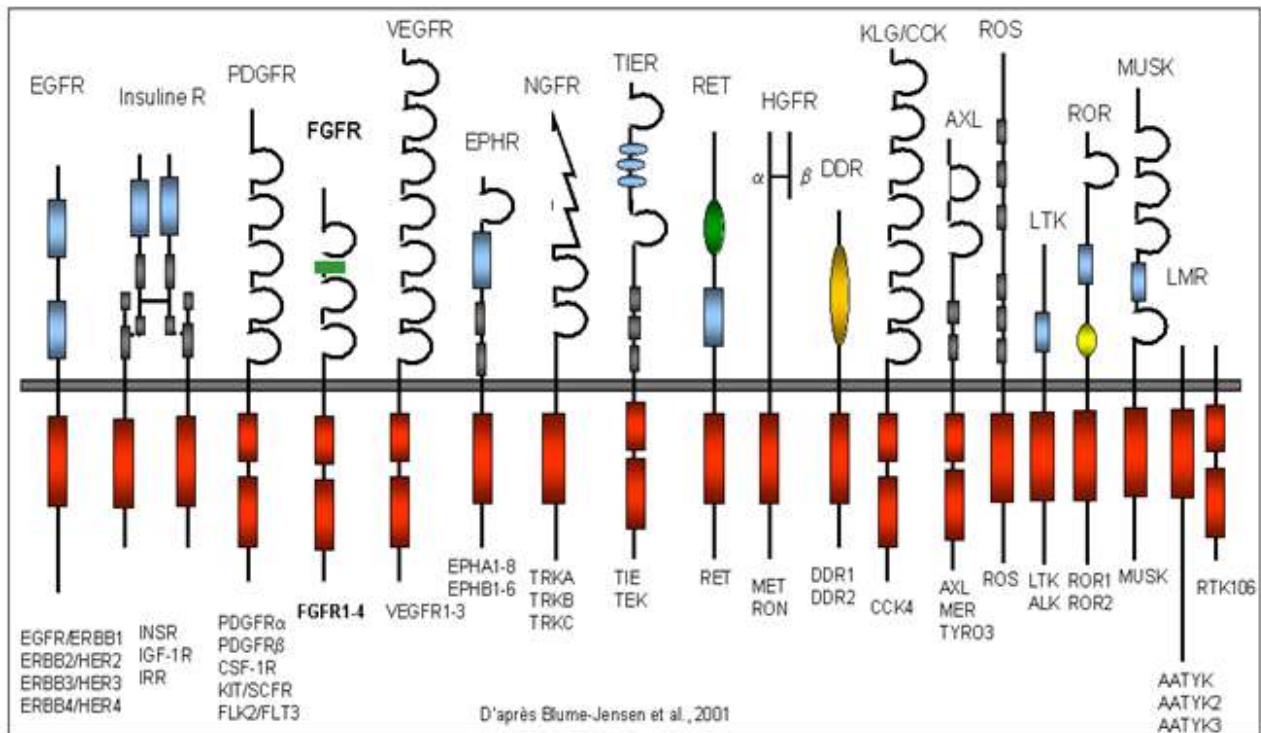


Figure 1 Classification des récepteurs à activité tyrosine kinase (RTKs). EGFR: epidermal growth factor receptor. INSR: Insulin receptor. PDGFR: platelet-derived growth factor receptor. FGFR: Fibroblast growth factor receptor. VEGFR: Vascular endothelial growth receptor. EphR: Ephrin receptor. NGFR: Nerve growth factor receptor. TIER: Tyrosine kinase receptor in endothelial cells. RET: Rearranged during transfection. HGFR: Hepatocyte growth factor receptor. DDR: Discoidin domain receptor. KLG/CCK: Colon carcinoma kinase. AXL: Tyro3 PTK. ROS: RTK exprimé dans certaines cellules épithéliales. LTK: Leukocyte tyrosine kinase. ROR: receptor orphan. MUSK: Muscle-specific kinase. LMR: Lemur
 ■ Domaine à activité tyrosine kinase ■ Domaine riche en cystéine ○ Domaine de type immunoglobuline ■ Boîte acide ↘ Domaine riche en leucine
 ● Domaine type EGF ● Domaine de type cadhérine ● Domaine de type dicodine ● Domaine Kringle ■ Domaine de type fibronectine III

1.2.1. Mécanisme d'activation des récepteurs tyrosines kinases

A. Activation : - par un ligand dimérique - par double stimulation avec 2 ligands

B. Dimérisation des récepteurs

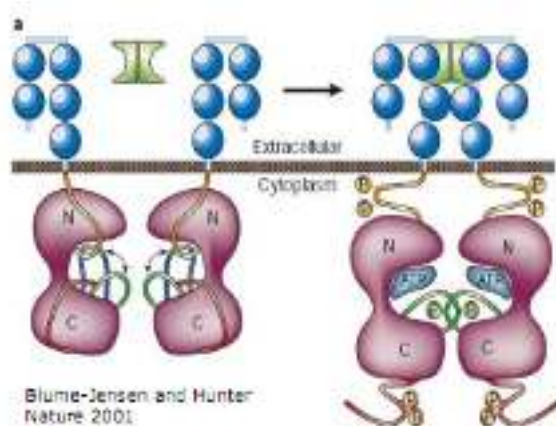
Au repos, les récepteurs TK sont sous forme de monomères fixés dans la membrane avec une fonction kinase qui n'est pas active.

Lorsque le ligand se fixe sur les récepteurs, Ceci entraîne une dimérisation du récepteur avec une mise à proximité des fonctions kinases de chacun des monomères.

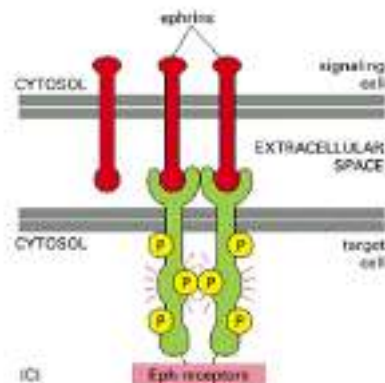
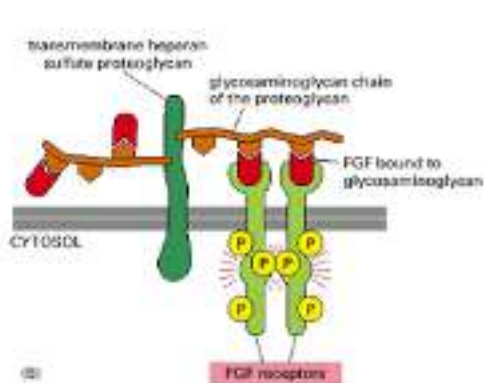
C. Autophosphorylation des récepteurs

La dimérisation des récepteurs permet une mise à proximité des domaines TK qui peuvent alors se phosphoryler mutuellement (auto-phosphorylation) transphosphorylation croisée (1 sous unité d'une partie du récepteur phosphoryle une sous unité de l'autre partie du récepteur et vice versa) au niveau d'une tyrosine intracellulaire du récepteur

Les tyrosines phosphorylées (phosphotyrosines) du récepteur vont attirer les protéines à domaine SH2.



- ligand dimérique ou 'double stimulation'
- dimérisation du RTK
- trans-phosphorylation du RTK



La phosphorylation des Tyr du récepteur a 2 effets :

- Activation d'une fonction enzymatique (ex : phospholipases, lipides kinases) suivie de la production d'une petite molécule (ex : PIP3)
- Activation d'une cascade (interactions en série entre macromolécules) (ex : protéines kinase)

Il y a donc une forte amplification du signal à chaque étape avec parfois des branchements (ou des interactions entre différentes voies).

Enfin, ce signal est inactivé d'une part, par des phosphatases qui vont déphosphoryler les tyrosines du récepteur et d'autre part, par l'endocytose des récepteurs

2. Activation de la cascade des Mitogen-activated Protein Kinases (MAP-Kinases)

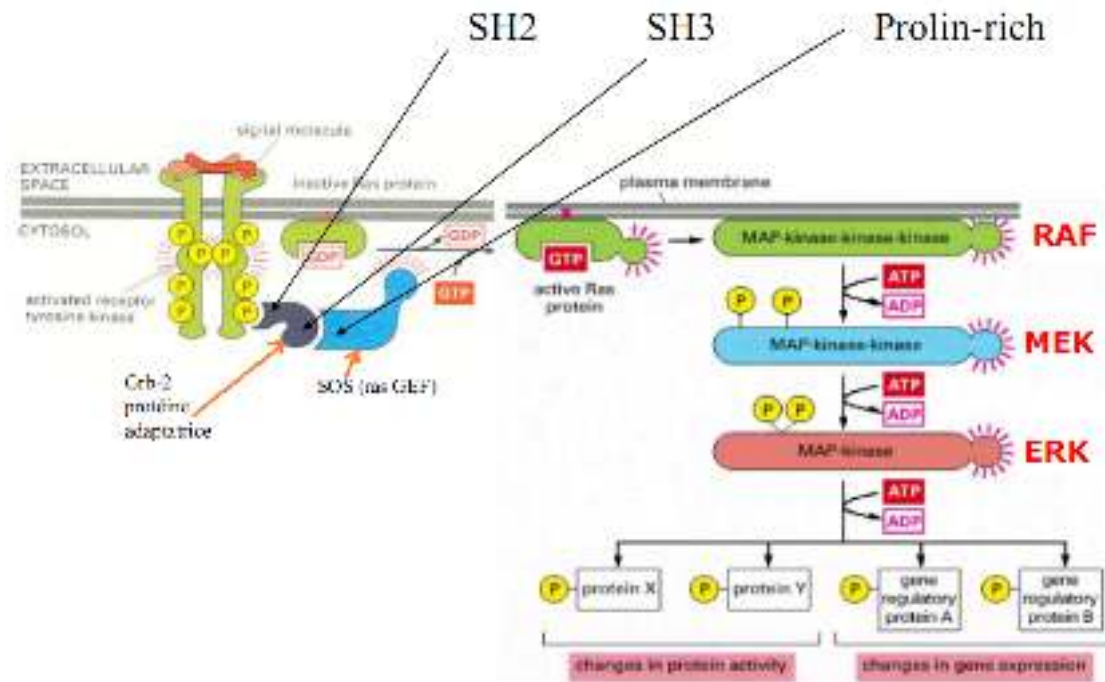


Figure 3. Activation de la cascade des Mitogen-activated Protein Kinases (MAP-Kinases)

Les MAP (Mitogen-Activated Protein) kinases font partie de la superfamille des protéines kinases. Ce sont des protéines ubiquitaires et d'importants médiateurs impliqués dans la transduction des signaux extracellulaires de la membrane plasmique au noyau.

Les étapes d'activation des MAPK sont comme suit :

- le message se lie à la partie extracellulaire d'un récepteur membranaire, par exemple le récepteur de l'insuline ou celui du PDGF (platelet derived growth factor) qui se dimérise et, par activité tyrosine kinase, est phosphorylé

- le récepteur interagit alors avec le domaine SH2 de la protéine Grb2 (growth factor receptor bound) qui, phosphorylée, interagit par son domaine SH3 avec la protéine SOS (son of sevenless) qui est phosphorylée.
- Cette dernière active la protéine Ras : de Ras-GDP inactive devient Ras-GTP active.
- Le Ras-GTP, par activité sérine/thréonine kinase, phosphoryle et active le Raf (MAPKKK).
- Ce dernier active le MAPKK (mitogen-activated protein kinase kinase)= MEK qui phosphoryle le MAPK, qui, par phosphorylation, active des facteurs de transcriptions.

Les MAP kinases sont activées par divers types de signaux, parmi lesquels des mitogènes, des cytokines, les antigènes des lymphocytes T, les UV, un stress osmotique, un choc thermique, un stress oxydant ; elles initient une variété de réponses cellulaires.

Une caractéristique de toutes les MAP kinases est leur activation par double phosphorylation au niveau des résidus Tyrosine et Thréonine présents dans un motif consensus Thr-X-Tyr (X = Glu, Gly ou Pro). De la même manière, elles ont une activité kinase « proline dirigée » puisqu'elles phosphorylent seulement des substrats ayant un résidu proline.

Les MAP kinases sont finement régulées par des phosphatases qui, par déphosphorylation d'un seul résidu, les inactivent. En réponse à des stimuli extérieurs, elles régulent l'activité transcriptionnelle de plusieurs facteurs de transcription via des phosphorylations sur des sites régulateurs activateurs ou inhibiteurs, et permettent ainsi l'expression d'une grande variété de gènes.

Toutes les cellules eucaryotes possèdent de multiples voies des MAPKs qui régulent de façon coordonnée diverses activités cellulaires : la prolifération cellulaire, la différenciation cellulaire, la survie et l'apoptose.

L'activation de la cascade des MAP kinases entraînent à la stimulation de la protéine activatrice 1 (AP-1) est un facteur de transcription.

Il est impliqué dans la régulation de l'expression de gènes qui sont impliqués dans la différenciation, la prolifération et l'apoptose.

3. Activation de la voie PI3K (Phosphatidyl Inositol 3 Kinase)

3.1. Activité lipide kinase de la PI3K

Il s'agit d'une voie de prolifération et de survie cellulaire. La PI3K est un lipide kinase qui permet la phosphorylation de lipides.

3.2. Classes de la PI3K :

3.2.1. Classe IA :

Les PI3K des classe IA sont des protéines hétérodimères constituées d'une sous-unité catalytique (p110) et d'une sous-unité régulatrice (la plupart du temps p85). La sous-unité régulatrice permet les interactions protéines-protéines.

3.2.2. PI3K classe IB

La PI3K de classe IB est un hétérodimère composé d'une sous-unité catalytique de p110 γ et d'une sous-unité p101 régulatrice. La p110 γ est principalement exprimée dans les leucocytes mais également présente dans le cœur, le pancréas, le foie et les muscles squelettiques

La PI3K est une protéine adaptatrice, permet la liaison protéine/protéine

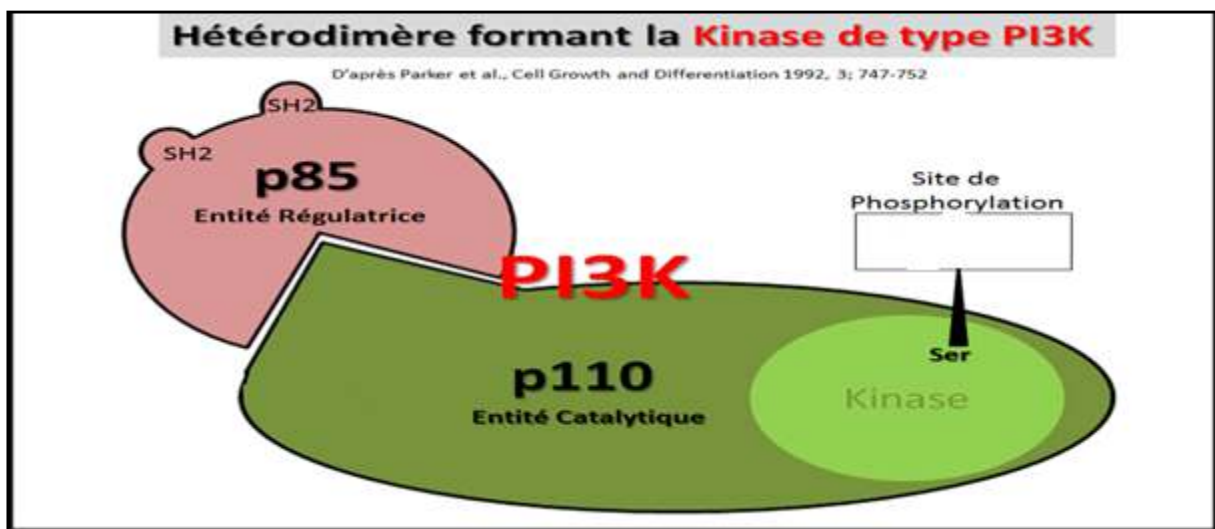


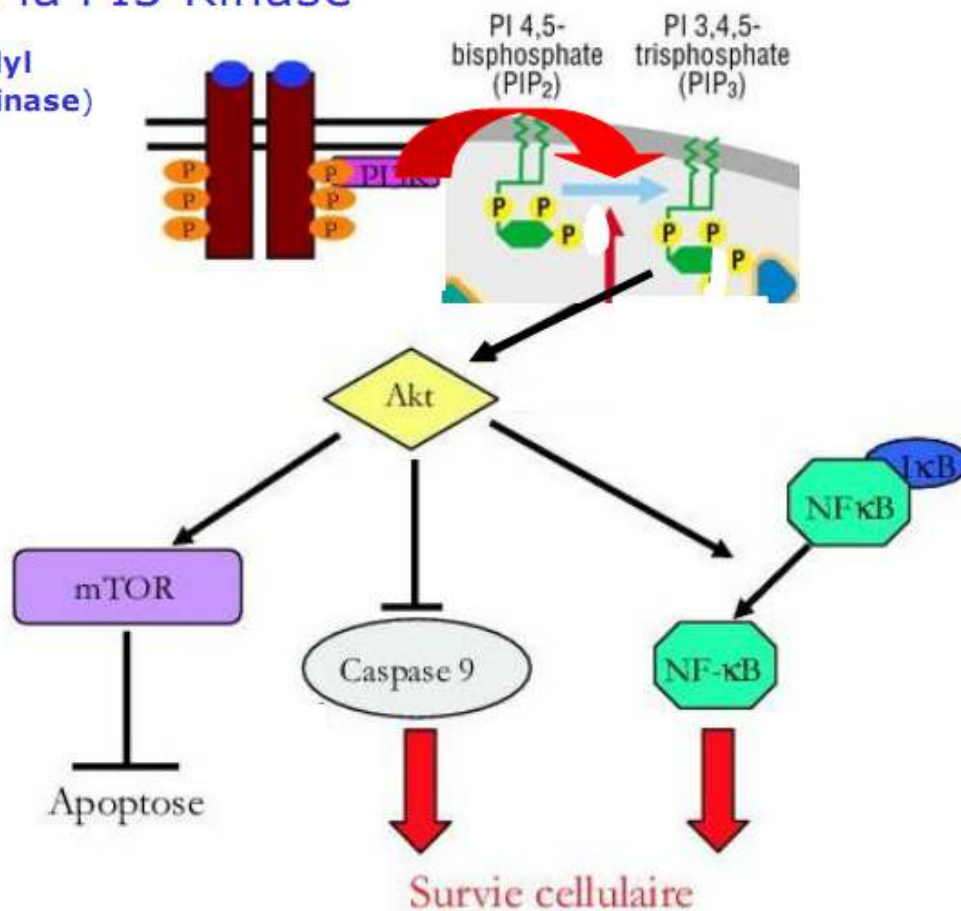
Figure 4. Représentation schématique de la structure la kinase de type PI3K

3.4. Mécanismes d'activation de la PI3K

3.4.1. Activation directe : en se fixant sur le récepteur à activité TK via les domaines SH2 de sa sous-unité P85.

Voie de la PI3 Kinase

(phosphatidyl
inositol-3 kinase)



PI3 kinase phosphoryle PIP₂ ⇒ PIP₃ qui va activer Akt ce qui entraîne l'activation de différentes voies qui ont pour finalité : - inhibition de l'apoptose

- survie cellulaire

3.4.2. Activation par la protéine adaptatrice IRS (Insulin receptor substrate 1)

La phosphorylation de la tyrosine des récepteurs de l'insuline lors de la liaison du ligand extracellulaire, induit la liaison cytoplasmique de l'IRS-1 à ces récepteurs, à travers ses domaines PTB (phosphotyrosine binding). Plusieurs résidus de tyrosine de l'IRS-1 lui-même sont ensuite phosphorylés par ces récepteurs. Cela permet à IRS-1 d'activer plusieurs voies de signalisation, y compris la voie PI3K et la voie MAP kinase.

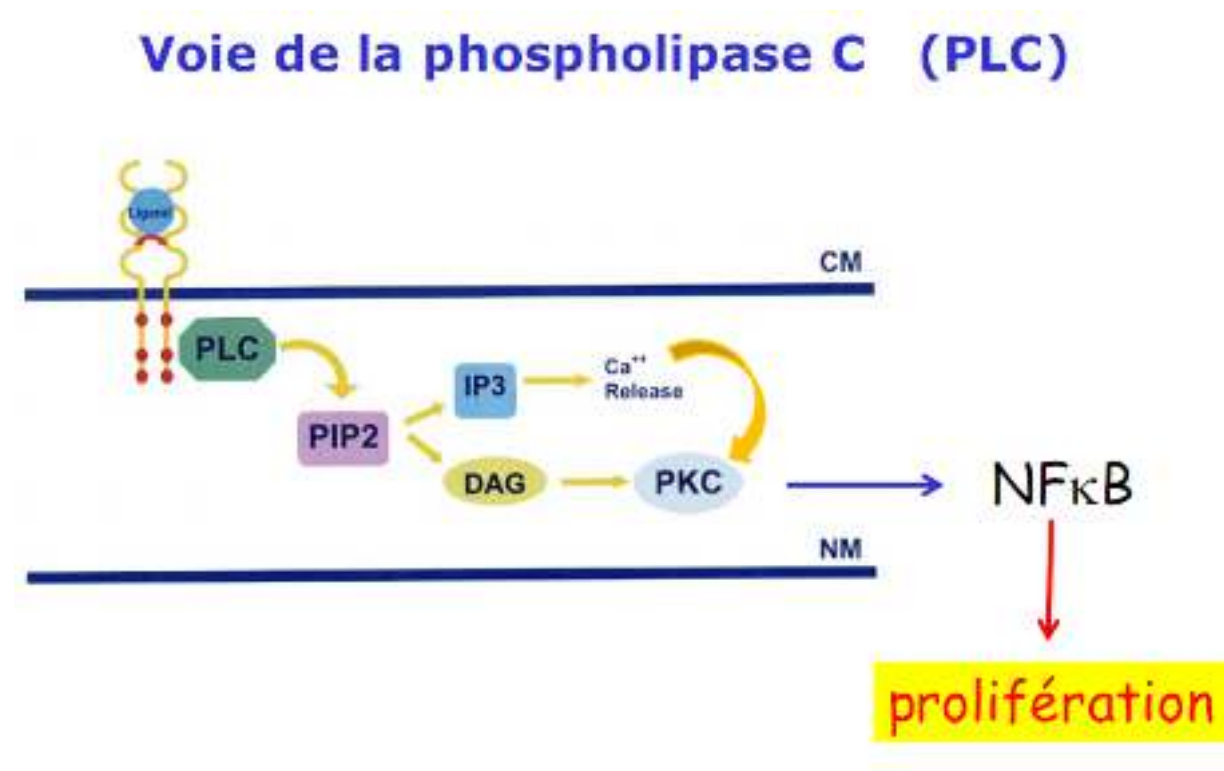
3.4.3. Activation par la protéine Ras

Les Ras sont de petites protéines, elles fonctionnent dans un réseau de signalisation complexe avec plusieurs activateurs et effecteurs, ce qui leur permet de réguler de nombreuses fonctions cellulaires.

La phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) est l'une des principales voies effectrices de RAS, la régulation de la croissance cellulaire, l'entrée dans le cycle cellulaire, la survie cellulaire, la réorganisation du cytosquelette et le métabolisme. La sous unité p110 catalytique du PI3K qui interagit avec la Ras.

Cependant, il s'agit d'une voie complexe avec de nombreuses boucles de rétroaction, et les interactions avec d'autres voies rendent difficiles les résultats de son inhibition.

4. Activation de la voie PLC

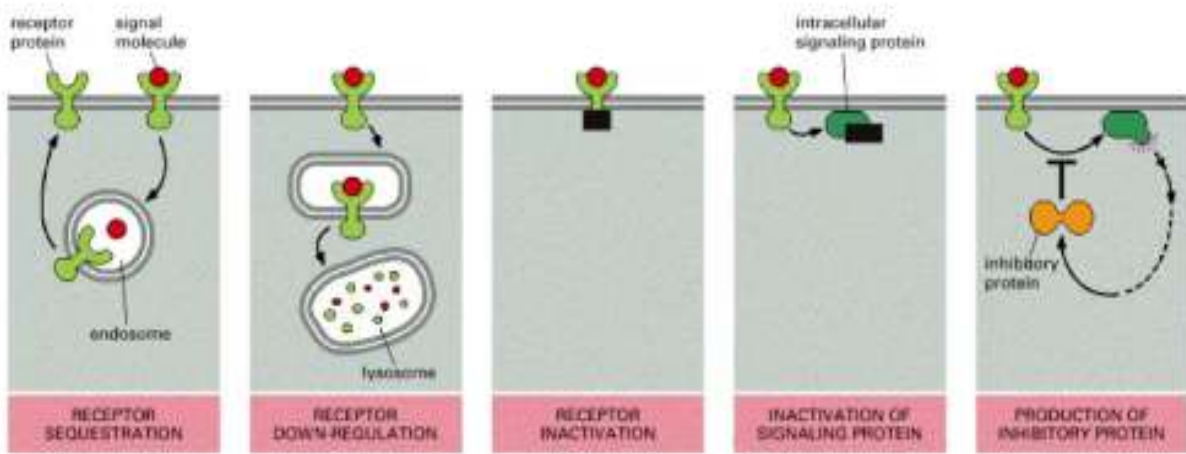


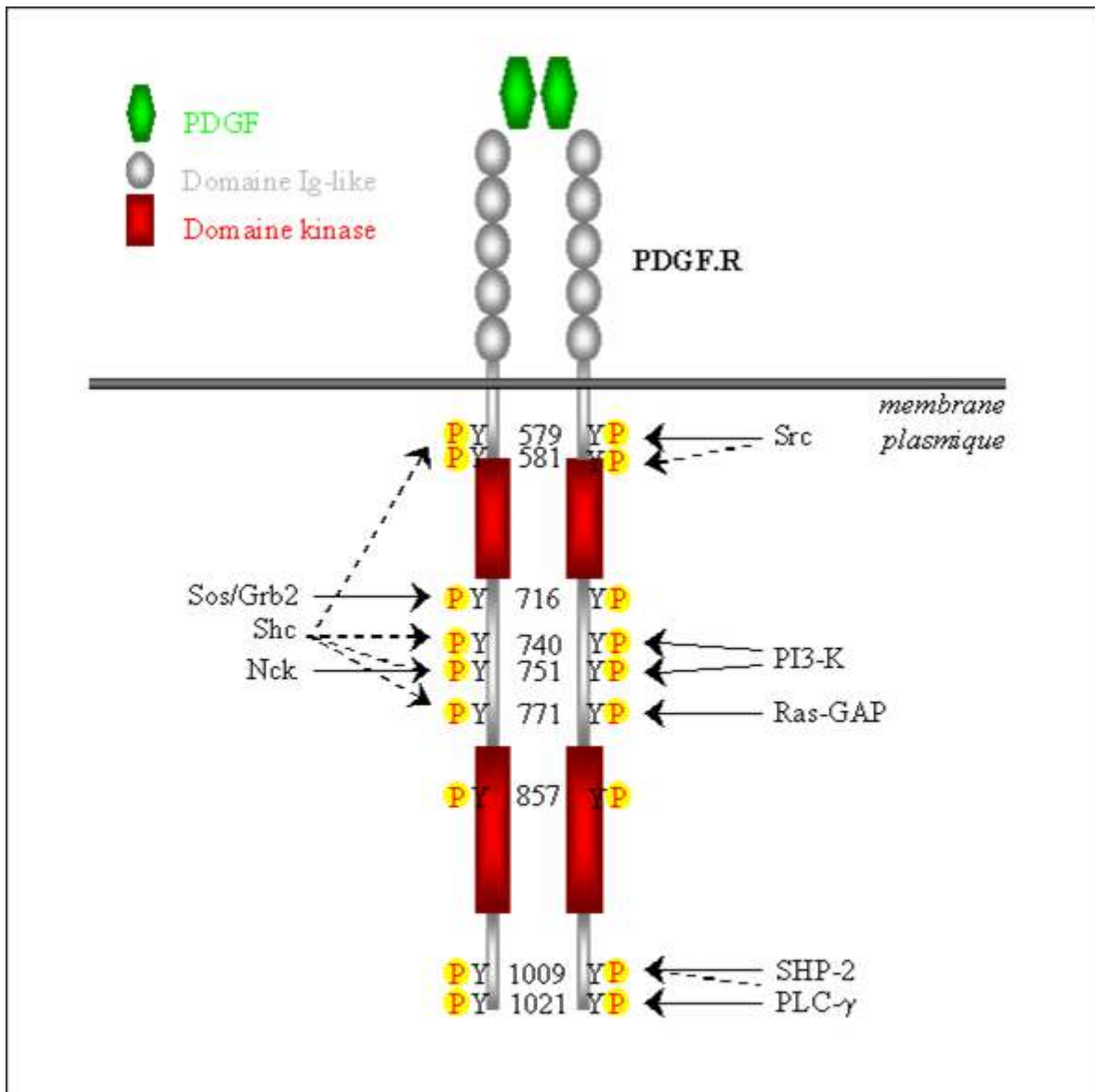
5. REGULATION DES VOIES DE SIGNALISATION :

Pour éviter l'emballement des voies des voies de signalisation :

- Séquestration du récepteur dans le cytoplasme
- Dégradation du récepteur (lysosome, protéasome)
- Inhibition du récepteur

- Inhibition des protéines avales de signalisation
- Boucle de rétrocontrôle





Représentation schématique du récepteur au PDGFβ activé et ses seconds messagers. La liaison avec son ligand induit la dimérisation et l'autophosphorylation du récepteur au PDGF. Les tyrosines phosphorylées servent alors de site de liaison pour les domaines SH2 de nombreuses protéines. Les protéines adaptatrices sont placées à gauche et les protéines enzymatiques à droite.