Journal de la Société de Biologie, 193 (2), 181-187 (1999)

Les jonctions intercellulaires endothéliales : relation entre adhérence et morphogenèse vasculaires

par Philippe Huber

CEA, Laboratoire de Transgenèse et Différenciation Cellulaire, Département de Biologie Moléculaire et Structurale, 17, rue des Martyrs, 38054 Grenoble, France.
Tél. : 33 476 88 41 18. Fax : 33 476 88 49 64. email: phuber@cea.fr

Reçu le 26 mars 1999

RÉSUMÉ

Les jonctions intercellulaires endothéliales sont nécessaires à l'intégrité du système vasculaire. Comme dans les épithéliums, la zone de contact interendothéliale contient des jonctions serrées, des jonctions adhérentes et des jonctions de communication, ainsi qu'un type de jonction récemment identifié, appelé *complexus adherentes*. Au cours des dernières années, les composants moléculaires de ces structures ont été caractérisés, ainsi que leurs interactions mutuelles. Ces données mettent en évidence les liens complexes qui unissent membrane cellulaire et cytosquelette. La contribution de ces structures à la formation et la perméabilité vasculaires est discutée dans cette revue.

SUMMARY The interendothelial junctions: relationship between vascular adhesion and morphogenesis

Endothelial cell-cell junctions are required for integrity of the vascular system. Similar to that of epithelial cells, the interendothelial cleft contains tight, adherens and gap junctions, and the newly-defined *complexus adherentes*. In the past few years, the molecular components of these organelles were identified as well as their mutual interactions. These data deciphered the complex link between the cell membrane and the cytoskeleton. The contribution of these junctions in vessel formation and permeability is discussed in this review.

INTRODUCTION

La formation de nouveaux vaisseaux, au cours du développement embryonnaire ou bien lors de processus de néovascularisation chez l'adulte, nécessite l'assemblage des cellules endothéliales provenant de vaisseaux à proximité (*i. e.* angiogenèse) ou bien de la différenciation *in situ* de précurseurs angiopoïétiques (*i.e.* vasculogenèse). Ces processus font intervenir des mécanismes morphogénétiques qui conduisent du simple cordon angiogénique à la structure vasculaire définitive comportant une lumière. La reconnaissance homophilique des cellules endothéliales permet la ségrégation et la cohésion de ces cellules au sein d'un tissu. Nous nous bornerons ici à la description des différents types de jonctions endothéliales, ainsi qu'à leur formation et à leur implication fonctionnelle.

LES DIFFÉRENTS TYPES DE JONCTIONS INTERENDOTHÉLIALES

Les structures jonctionnelles présentes dans la zone de recouvrement entre deux cellules endothéliales sont apparentées à celles localisées aux contacts intercellulaires épithéliaux. Elles ont été classées sur la base de leurs caractéristiques morphologiques et fonctionnelles en quatre types :

– les jonctions étanches, appelées également jonctions serrées ou *zonula occludens* (Anderson *et al.*, 1993 ; Gumbiner 1993),

– les jonctions adhérentes ou *zonula adherens* (Rubin, 1992),

– les *complexus adherentes* (Schmelz & Franke, 1993)

– les jonctions de communication (Beyer, 1993).

LES JONCTIONS ÉTANCHES

Ces jonctions ont deux fonctions : d'une part, elles assurent le contrôle des échanges entre le sang et les tissus, d'autre part, elles forment une barrière au sein de la membrane plasmique elle-même, en séparant les domaines apicaux et baso-latéraux. Ces deux régions ont des compositions lipidique et protéique propres et des voies de sécrétion distinctes. La formation des jonctions étanches est corrélée à un changement de l'état physiologique de la cellule.

L'observation par microscopie électronique indique que ces jonctions sont formées par une série de contacts discrets (Farquhar & Palade, 1963) dont on a pensé, dans un premier temps, qu'ils représentaient une fusion de la bicouche lipidique des deux cellules adjacentes (Kachar & Reese, 1982). Il est maintenant admis que ces contacts sont établis par des composants protéiques (Furuse *et al.*, 1996). Des filaments d'actine prennent naissance à ces contacts. Lorsqu'on observe ces jonctions « en face », par la technique de cryofracture, elles apparaissent sous la forme d'un réseau de cordons qui s'anastomosent, soudant les deux membranes entre elles (Staehelin *et al.*, 1969). Néanmoins, ce réseau est capable de réarrangements dynamiques au sein de la bicouche lipidique (Hull & Staehelin, 1976). La complexité de ce réseau varie de façon considérable parmi les différents types d'endothéliums. Cette variation est un aspect majeur de la diversité des endothéliums selon la taille du vaisseau et l'organe vascularisé. C'est dans les capillaires du cerveau formant la « barrière hémato-encéphalique » que les jonctions serrées sont le plus développées, aboutissant ainsi à une étanchéité totale des contacts intercellulaires, le transfert de molécules ne s'effectuant que par la voie transcellulaire. A l'inverse, les jonctions serrées sont peu développées dans les capillaires et quasiment absentes dans les veinules post-capillaires où la perméabilité est maximale (Simionescu & Simionescu, 1991).

Le composant transmembranaire majeur de ces jonctions est l'occludine, une protéine de 65 kDa traversant quatre fois la membrane et dont les extrémités N et C-terminales sont localisées dans le cytoplasme (Furuse *et al.*, 1993). La première boucle extracellulaire contient l'activité adhésive homotypique (Ando-Akatsuka *et al.*, 1996).

D'autres protéines, colocalisées avec l'occludine, forment un complexe jonctionnel sous-membranaire. Tout d'abord, trois protéines relativement homologues : ZO (*zonula occludens*)-1, ZO-2 et ZO-3 (Gumbiner *et al.*, 1991 ; Haskins *et al.*, 1998 ; Stevenson *et al.*, 1986). Au

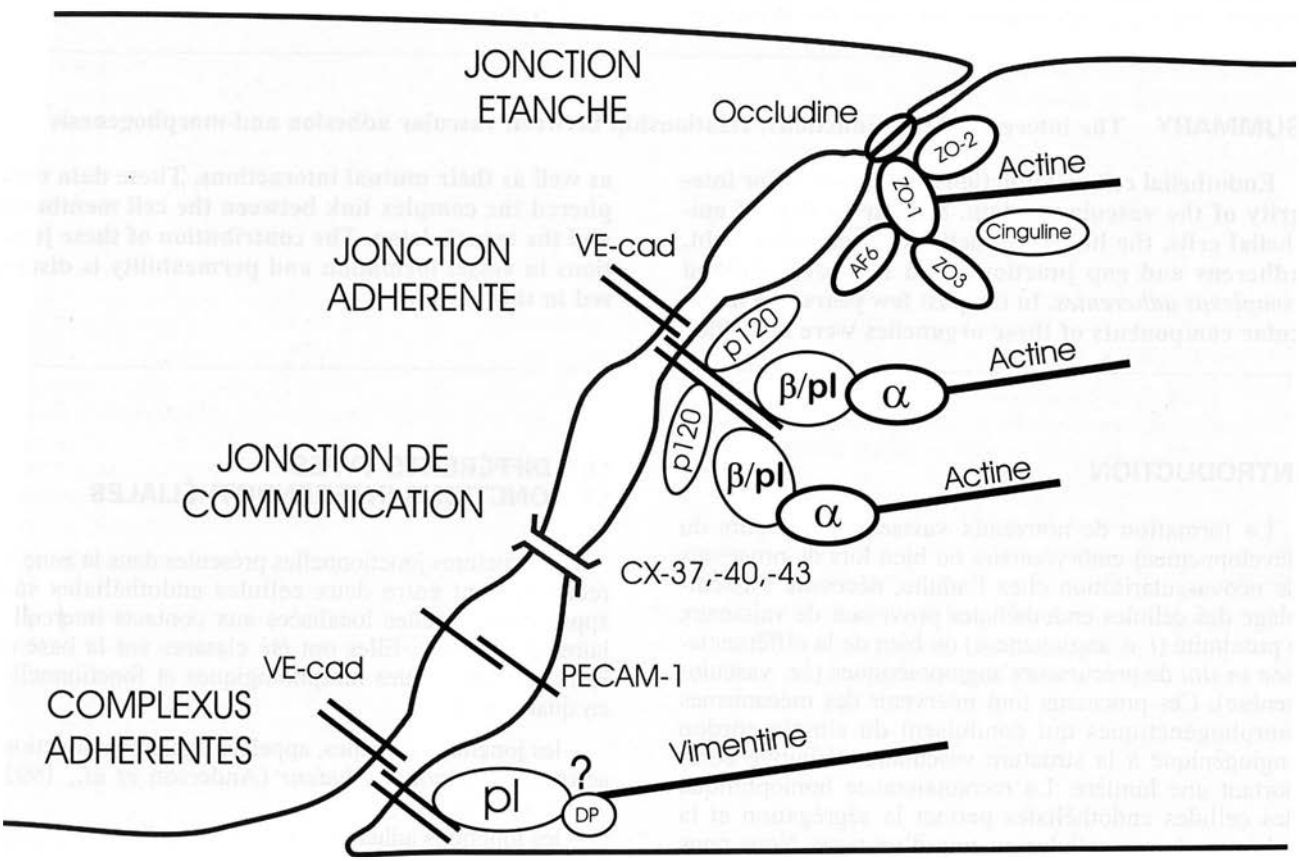

FIG. 1. – Les différents types de jonctions intercellulaires endothéliales.
Abréviations : α = α-caténine ; β = β-caténine ; CX = connexines ; DP = desmoplakine ; pl = plakoglobine ; VE-cad = VE-cadhérine.

cours de la formation des jonctions, ZO-1 est associée, en premier lieu, aux jonctions adhérentes avant sa localisation finale aux jonctions serrées (Rajasekaran *et al.*, 1996). Cette protéine joue un rôle clé dans l'assemblage des différents composants de la jonction puisqu'elle s'associe à la fois à l'occludine, à ZO-2 et 3 et aux filaments d'actine (Fig. 1) (Furuse *et al.*, 1994 ; Gumbiner *et al.*, 1991 ; Haskins *et al.*, 1998 ; Itoh *et al.*, 1997). Il existe deux isoformes de ZO-1, ZO-1α et ZO-1β (Willott *et al.*, 1992). Ces deux variants possèdent des rôles distincts dans la régulation de la plasticité jonctionnelle. Seule ZO-1α est présente dans les cellules endothéliales (Balda & Anderson, 1993). D'autres protéines telles que l'AF-6 et la cinguline sont associées directement ou indirectement à ce complexe (Fig. 1) (Stevenson *et al.*, 1989 ; Yamamoto *et al.*, 1997). Récemment, une nouvelle protéine transmembranaire, JAM (« molécule d'adhérence jonctionnelle »), a été identifiée au niveau des jonctions étanches (Martin-Padura *et al.*, 1995). Cette protéine, comprenant un seul domaine transmembranaire et deux motifs immunoglobulines dans sa partie extracellulaire, semble impliquée dans le contrôle de la diapédèse des monocytes. Le rôle de ces différentes protéines et de l'actine dans la formation et la régulation de la jonction étanche est encore largement inconnu. Néanmoins, il semble établi que leur degré d'organisation est dépendant du microenvironnement cellulaire. L'exemple le plus représentatif est celui des cellules de la barrière hémato-encéphalique où le phénotype étanche est induit et maintenu par les cellules gliales (Janzer & Raff, 1987).

LES JONCTIONS ADHÉRENTES

Le cytosquelette d'une cellule endothéliale est relié à celui de ses voisines par des jonctions d'ancrage qui forment des unités structurelles solides. En l'absence de desmosomes (et du cytosquelette de kératine associé) dans les cellules endothéliales, les jonctions adhérentes assurent majoritairement cette fonction. D'autres structures encore mal caractérisées semblent renforcer cette cohésion tissulaire (voir plus loin). Les jonctions adhérentes forment une ceinture (*zonula*) d'adhérence à la périphérie de la cellule (Farquhar & Palade, 1963). Comme pour les jonctions serrées, on peut définir trois éléments dans ces structures : des protéines de liaison transmembranaires, constituées par les membres de la famille des cadhérines, des protéines de la plaque sous-membranaire, dont les caténines, et des fibres d'actine, associées en câbles.

Les cadhérines sont des protéines à un seul domaine transmembranaire, dont la partie extracellulaire développe une activité adhérente homotypique et dépendante du Ca^{2+} (pour revue, Gumbiner, 1996)). Dans l'endothélium, la principale cadhérine localisée aux jonctions est la VE-cadhérine (cadhérine de l'endothélium vasculaire) (Lampugnani *et al.*, 1992). L'empilement des cadhérines, associées en dimères, constitue la partie extérieure de la jonction adhérente (Fig. 1). Dans leur partie cytoplasmique, ces molécules interagissent avec la β-caténine, la plakoglobine (ou γ-caténine) et la $p120^{cas}$, toutes trois membres de la famille *armadillo*, du nom de la protéine princeps chez la Drosophile (Yap *et al.*, 1997). La β-caténine et la plakoglobine possèdent le même site de liaison sur la partie C-terminale des cadhérines et leur fixation est mutuellement exclusive (Lampugnani *et al.*, 1997). Dans les cellules endothéliales, les étapes précoces de la formation de ces jonctions sont corrélées à l'association avec la β-caténine, alors que la maturation et la résistance mécanique dépendent de l'association avec la plakoglobine (Lampugnani *et al.*, 1997 ; Schnittler *et al.*, 1997). Ces molécules interagissent également avec l'α-caténine, permettant ainsi l'attachement de ce complexe aux filaments d'actine (Aberle *et al.*, 1996). La $p120^{cas}$ n'est associée à la VE-cadhérine que dans la jonction immature. Son rôle est mal connu et elle semble posséder un site de fixation différent des autres caténines, plus proche de la partie transmembranaire (Lampugnani *et al.*, 1997).

D'autres molécules telles que la vinculine et l'α-actinine, déjà associées à l'actine dans la plaque d'adhérence focale (interaction cellule-matrice) ont été colocalisées avec les protéines de la jonction adhérente. Leur contribution dans ce complexe est encore inconnue. On peut noter également la présence de tyrosine kinases et de tyrosine phosphatases dont la fonction pourrait être de réguler l'activité adhérente de la jonction. En effet, la VE-cadhérine, la β-caténine et la $p120^{cas}$ sont le siège de réactions de phosphorylation-déphosphorylation sur des résidus tyrosine, le taux de phosphorylation étant inversement corrélé au degré de confluence. La structure et la nature des cadhérines de l'endothélium ainsi que leur implication dans des phénomènes biologiques propres à l'endothélium et dans des voies de transduction *via* les caténines seront présentées plus loin.

LES *COMPLEXUS ADHERENTES*

Comme nous l'avons vu précédemment, les cellules endothéliales ne possèdent pas de desmosome et n'expriment pas leurs composants transmembranaires, les desmocollines et les desmogléines. Néanmoins, les protéines de leur plaque, la plakoglobine et la desmoplakine, sont exprimées par ces cellules. La desmoplakine, tout d'abord détectée dans l'endothélium du système lymphatique, semble avoir une distribution plus large dans l'ensemble du système vasculaire (Kowalczyk *et al.*, 1998 ; Schmelz & Franke, 1993 ; Valiron *et al.*, 1996). La desmoplakine est associée à la VE-cadhérine par l'intermédiaire de la plakoglobine dans des structures appelées *complexus adherentes* ou syndesmos. Ces structures, très polymorphes, sont pourvues de trous et de ramifications et semblent être moins continues que les jonctions adhérentes (Schmelz & Franke, 1993). Le fait que la desmoplakine puisse interagir avec la vimentine (un filament intermédiaire, au même titre que la kératine) et que des fibres de vimentine aient pu être localisées à ces jonctions suggère que le cytosquelette de vimentine parti-

cipe à la cohésion tissulaire endothéliale *via* les cadhérines (Fig. 1) (Kowalczyk *et al.*, 1998 ; Meng *et al.*, 1997). La formation des *complexus adherentes* qui s'effectue après celle des jonctions adhérentes pourrait constituer un degré d'organisation jonctionnelle supérieure.

LES JONCTIONS DE COMMUNICATION

Le couplage chimique entre des cellules en contact s'effectue par des jonctions de communication (pour revue, voir Sosinsky, 1996). Les canaux de liaison sont formés par des pores (appelés connexons), permettant l'échange d'ions et de molécules hydrosolubles de taille inférieure à 1 000 daltons entre cellules d'un même tissu. Ils sont constitués par l'assemblage de 12 sous-unités protéiques (les connexines), 6 pour chaque cellule, formant une structure hexagonale limitant un pore central. La famille des connexines comporte une douzaine de membres pouvant s'assembler de façon hétérogène au sein d'un même canal. De ce fait, les jonctions de communication ne semblent pas participer à la ségrégation tissulaire. Ces protéines ont néanmoins une distribution cellulaire distincte ; seules trois connexines ont été décrites dans les cellules endothéliales : Cx37, Cx40 et Cx43, dont le niveau d'expression varie en fonction du type d'endothélium (Delorme *et al.*, 1997 ; Van Rijen *et al.*, 1997). Comme l'occludine, les connexines contiennent quatre domaines transmembranaires et leurs extrémités N et C-terminales sont situées à l'intérieur du cytoplasme (Sosinsky, 1996).

Le rôle de ces jonctions est encore mal connu. En principe, le partage de petits métabolites et d'ions fournit un mécanisme pour la coordination des activités de chaque cellule du tissu. Etant donné que des médiateurs cellulaires tels que le Ca^{2+} et l'AMP cyclique peuvent traverser les jonctions de communication, les réponses cellulaires couplées à des signaux extracellulaires peuvent se propager de cette façon. L'ouverture et la fermeture de ces canaux sont contrôlées par des facteurs cytosoliques tels que la concentration en Ca^{2+} et le pH (Unwin & Ennis, 1984). La régulation dynamique de la perméabilité de ces jonctions pourrait intervenir dans des processus physiopathologiques. Par exemple, en présence d'une cellule endommagée, la fermeture des canaux pourrait bloquer la possibilité d'échanges entre les cellules voisines et le milieu extracellulaire.

En conclusion, ces différents types de jonctions possèdent des rôles spécifiques. Néanmoins, des données expérimentales montrent que les jonctions adhérentes participent également au contrôle de la perméabilité paracellulaire (Gotsch *et al.*, 1997 ; Rabiet *et al.*, 1996). Dans les cellules épithéliales, ces différentes structures sont réparties de façon distincte et ordonnée sur toute la hauteur de la zone de contact ; à l'inverse, ces quatre types de jonction sont entremêlés au sein de la zone de recouvrement des cellules endothéliales, ce qui rend leur identification difficile en microscopie électronique (Schulze & Firth, 1993).

Les jonctions adhérentes sont les premières à se former lors de l'établissement d'un contact intercellulaire, alors que la constitution des autres types de jonctions dépend de cette structure initiale. Ainsi, les jonctions adhérentes semblent bien impliquées dans la reconnaissance homophilique entre cellules endothéliales.

PECAM-1, UNE AUTRE MOLÉCULE ADHÉRENTE HOMOTYPIQUE

Outre les cadhérines, PECAM-1 (« molécule d'adhérence cellulaire des plaquettes et de l'endothélium ») est localisée aux contacts interendothéliaux sans être associée à une structure jonctionnelle ni interagir avec le cytosquelette (Albelda *et al.*, 1991). Cette molécule, de la famille des immunoglobulines, a la capacité de promouvoir l'interaction cellule-cellule et, à ce titre, peut être impliquée dans le premier contact entre cellules endothéliales. PECAM-1 intervient également dans la diapédèse leucocytaire, probablement en dirigeant le globule blanc à travers la jonction interendothéliale (Newman, 1997).

LES CADHÉRINES DE L'ENDOTHÉLIUM

Trois types de cadhérines ont pu être détectées dans les cellules endothéliales : la VE-cadhérine, la VE-cadhérine-2 et la N-cadhérine (Lampugnani *et al.*, 1992 ; Salomon *et al.*, 1992 ; Telo *et al.*, 1998). Toutes trois possèdent une partie extracellulaire comportant cinq domaines « cadhérines » ; cependant, seules la VE- et la N-cadhérines contiennent, dans leur partie cytoplasmique, un domaine de liaison aux caténines. La VE-cadhérine-2 est de ce fait une « proto-cadhérine » : une famille de protéines adhérentes n'interagissant pas avec le cytosquelette et dont le rôle reste inconnu à ce jour (Sano *et al.*, 1993). La découverte récente de ce type de molécules laisse penser que le motif cadhérine pourrait être utilisé pour la reconnaissance homophilique en dehors du contexte strict de la cohésion tissulaire. La VE-cadhérine et la VE-cadhérine-2 sont exprimées exclusivement par les cellules endothéliales, alors que la N-cadhérine est présente dans divers types cellulaires tels que les neurones et les cardiomyocytes (Goncharova *et al.*, 1992 ; Takeichi, 1991). Dans l'endothélium, la N-cadhérine n'est pas localisée aux jonctions (contrairement aux deux autres) mais elle est répartie sur l'ensemble de la surface cellulaire, ce qui rend sa fonction mystérieuse (Salomon *et al.*, 1992). Le fait que les péricytes et les cellules musculaires lisses entourant l'endothélium expriment également la N-cadhérine permet d'envisager sa participation dans l'interaction entre l'endothélium et les autres cellules de la paroi vasculaire (Gilbertson-Beadling & Fisher, 1993). Des expériences de transfection de la VE et/ou de la N-cadhérine dans des cellules CHO (cellules dérivant d'ovaires de hamster chinois) indiquent que la VE-cadhérine possède la capacité

de chasser la N-cadhérine des jonctions (Navarro *et al.*, 1998). Cet effet dominant nécessite la présence de la région cytoplasmique juxta-membranaire de la VE-cadhérine contenant le site de fixation de la p120^{cas}. La plus grande affinité de la p120^{cas} envers la VE-cadhérine favoriserait son ciblage aux jonctions par un mécanisme qui reste à élucider.

Par conséquent, au regard des connaissances actuelles, la VE-cadhérine semble être la seule cadhérine associée aux jonctions adhérentes des cellules endothéliales.

LA VE-CADHÉRINE DANS LA FORMATION ET LE MAINTIEN DE L'INTÉGRITÉ ENDOTHÉLIALE

Les expériences de transfection dans des cellules CHO ou des fibroblastes dépourvus de cadhérines ont révélé une grande partie des propriétés intrinsèques de la VE-cadhérine (Breviario *et al.*, 1995 ; Lampugnani *et al.*, 1992). Cette molécule développe une activité adhérente dépendante de la présence de Ca^{2+}. Néanmoins, cette activité est modeste comparée à celle d'autres cadhérines, comme la N-cadhérine par exemple. Cette propriété peut être corrélée à la nature dynamique et semi-perméable des jonctions endothéliales par rapport aux barrières épithéliales.

La VE-cadhérine a également la capacité d'assembler les différents constituants de la jonction adhérente (*i.e.* les caténines et l'actine) aux contacts cellule-cellule et sa présence diminue la perméabilité d'une monocouche cellulaire (Lampugnani *et al.*, 1995). Des expériences *in vivo* corroborent ce dernier point : l'injection systémique d'anticorps bloquant l'activité de la VE-cadhérine provoque une accélération du recrutement des neutrophiles dans un modèle d'inflammation induite, chez la Souris (Gotsch *et al.*, 1997). Par conséquent, la perméabilité endothéliale aux fluides et aux cellules est dépendante de l'activité biologique de la VE-cadhérine.

La VE-cadhérine est exprimée très précocement au cours du développement embryonnaire : dès l'apparition des angioblastes et des hémangioblastes (cellules souches bipotentes, hématopoïétiques et angiopoïétiques) (Breier *et al.*, 1996 ; Nishikawa *et al.*, 1998). Le rôle de la VE-cadhérine dans la formation des vaisseaux a tout d'abord été évoqué dans un bilan anatomo-pathologique qui indiquait une diminution de l'expression de cette molécule dans les cellules endothéliales désorganisées des angiosarcomes (Martin-Padura *et al.*, 1995). La preuve directe du rôle de la VE-cadhérine dans la morphogenèse vasculaire a été apportée par deux expériences pour lesquelles le gène de cette protéine a été inactivé. La première expérience utilise un modèle de vasculogenèse *in vitro* mettant à profit la capacité de cellules souches embryonnaires (provenant de la masse interne de blastocystes de souris) à se différencier en corps embryonnaires. Au cours de cette différenciation, des cellules endothéliales apparaissent et s'organisent en un plexus vasculaire (Vittet *et al.*, 1996). Lorsque des cellules souches, portant une mutation nulle sur les deux allèles du locus VE-cadhérine, se différencient, des cellules endothéliales sont produites, mais elles restent isolées ou associées en foyers de quelques cellules (Vittet *et al.*, 1997). Cette expérience montre que la formation de jonctions, dépendantes de la VE-cadhérine, est nécessaire à l'organisation vasculaire. La deuxième expérience a consisté à créer une souris transgénique dépourvue de VE-cadhérine (Gory-Fauré *et al.*, 1999). Alors que les souris hétérozygotes pour la mutation vivent normalement, les embryons homozygotes meurent à 11,5 jours p.c. (post coïtum) à la suite d'anomalies importantes du système cardiovasculaire. Dès 8,5 jours p.c., on peut observer un retard dans la vascularisation de l'embryon qui se traduit à 9,5 jours p.c. par la formation d'un réseau capillaire désorganisé et un déficit en gros vaisseaux. Dans le sac vitellin et l'allantoïde, le phénotype est encore plus sévère : des îlots sanguins (dans le sac vitellin) et des agrégats de cellules endothéliales (dans l'allantoïde) apparaissent, mais n'établissent pas de structure vasculaire. Malgré cela, des structures jonctionnelles, dont la nature reste à définir, ont pu être observées par microscopie électronique, aux contacts interendothéliaux. Plusieurs conclusions peuvent être tirées de cette expérience : 1) cette mutation illustre la différence de vascularisation entre embryon (désorganisation du réseau capillaire) et annexes extraembryonnaires (absence de tubulogenèse), 2) la VE-cadhérine n'est pas indispensable à l'adhérence endothéliale homophilique, mais 3) cette molécule a un (ou plusieurs) rôle(s) essentiel(s) dans la formation de l'architecture tridimensionnelle des vaisseaux. L'analyse des précurseurs sanguins du sac vitellin montre que l'hématopoïèse primitive est normale et ce, en dépit de l'absence d'expression de la VE-cadhérine au stade hémangioblastique. En conclusion, la présence de VE-cadhérine ne semble pas requise pour les différenciations endothéliale et hématopoïétique, mais elle est nécessaire dans les étapes terminales d'assemblage des cellules endothéliales. Enfin, bien que la ségrégation des cellules endothéliales ait pu avoir lieu, aucune protéine n'a pu compenser l'absence de VE-cadhérine dans la morphogenèse vasculaire. Le rôle des autres cadhérines et de PECAM-1 dans ce modèle reste à déterminer.

Une autre expérience vient à l'appui de l'approche génétique : l'utilisation d'anticorps bloquant l'activité biologique de la VE-cadhérine sur des cellules endothéliales empêche la formation de capillaires en gel matriciel (Bach *et al.*, 1998). Ce résultat est à rapprocher de celui obtenu par Pollack *et al.*, (1997) après mutation de la β-caténine dans des cellules épithéliales en culture. La délétion de la partie N-terminale de cette protéine entraîne la perte de la capacité de ces cellules à former des tubes en gel de collagène. Cette mutation exclut le site de fixation à la protéine APC (le produit d'un gène suppresseur de tumeurs, dont la mutation a été corrélée à la polypose adénomateuse du colon). En effet, la β-caténine et la protéine APC sont impliquées dans une cascade de transduction de signaux (voir Barth *et al.*, 1997 pour une revue à ce sujet) dont la relation avec la jonction adhérente est encore mal comprise. L'absence de VE-cadhérine pourrait perturber cette voie de trans-

duction et, par là, empêcher la formation d'une structure tridimensionnelle correcte. Une autre hypothèse serait d'envisager l'altération de la capacité des jonctions adhérentes à établir des connexions entre les cytosquelettes de deux cellules en contact. L'établissement d'un réseau d'actine intercellulaire provoque des tensions tissulaires impliquant la myosine (Adams *et al.*, 1996 ; Yonemura *et al.*, 1995). Ces phénomènes cytomécaniques pourraient être à l'origine de la formation des tubes épithéliaux et endothéliaux. Dans cette hypothèse, la VE-cadhérine, participant à la genèse des câbles d'actine interendothéliaux, serait impliquée dans l'enroulement du feuillet endothélial.

En conclusion, ces expériences constituent les premières étapes vers la compréhension des mécanismes moléculaires de la morphogenèse vasculaire. La contribution des autres molécules jonctionnelles dans ce phénomène et la relation entre l'adhérence cellule-cellule et cellule-matrice restent à définir. Enfin, la formation de contacts entre plusieurs cellules produit une inhibition de la migration et de la prolifération cellulaires. La mutation de gènes codant pour des molécules jonctionnelles telles que des connexines, des cadhérines, des caténines ou la protéine APC a été associée à divers types de cancer (Ben-Ze'ev & Geiger, 1998 ; Trosko & Ruch, 1998). Ces observations soulignent le rôle central des jonctions dans la régulation de l'état physiologique de la cellule.

BIBLIOGRAPHIE

Aberle H., Schwartz H. & Kemler R., Cadherin-catenin complex: protein interactions and their implications for cadherin function. *J. Cell Biochem.*, 1996, *61*, 514-523.

Adams C. L., Nelson W. J. & Smith S. J., Quantitative analysis of cadherin-catenin-actin reorganization during development of cell-cell adhesion. *J. Cell Biol.*, 1996, *135*, 1899-1911.

Albelda S. M., Muller W. A. Buck C. A. & Newman P. J., Molecular and cellular properties of PECAM-1 (endoCAM/CD31): a novel vascular cell-cell adhesion molecule. *J. Cell Biol.*, 1991, *114*, 1059-1068.

Anderson J. M., Balda M. S. & Fanning A. S., The structure and regulation of tight junctions. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1993, *5*, 772-778.

Ando-Akatsuka Y., Saitou M., Hirase T., Kishi M., Sakakibara,A., Itoh M., Yonemura S., Furuse M. & Tsukita S., Interspecies diversity of the occludin sequence: cDNA cloning of human, mouse, dog, and rat-kangaroo homologues. *J. Cell Biol.*, 1996, *133*, 43-47.

Bach T. L., Barsigian C., Chalupowicz D. G., Busler D., Yaen C. H., Grant D. S. & Martinez J., VE-Cadherin mediates endothelial cell capillary tube formation in fibrin and collagen gels. *Exp. Cell Res.*, 1998, *238*, 324-334.

Balda M. S. & Anderson J. M., Two classes of tight junctions are revealed by ZO-1 isoforms. *Am. J. Physiol.*, 1993, *264*, C918-C924.

Barth A. I., Nathke I. S. & Nelson W. J., Cadherins, catenins and APC protein: interplay between cytoskeletal complexes and signaling pathways. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1997, *9*, 683-690.

Ben-Ze'ev A. & Geiger B., Differential molecular interactions of beta-catenin and plakoglobin in adhesion, signaling and cancer. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1998, *10*, 629-639.

Beyer E. C., Gap junctions. *Int. Rev. Cytol.*, 1993, *137C*, 1-37.

Breier G., Breviario F., Caveda L., Berthier R., Schnurch H., Gotsch U., Vestweber D., Risau W. & Dejana E., Molecular cloning and expression of murine vascular endothelial-cadherin in early stage development of cardiovascular system. *Blood*, 1996, *87*, 630-641.

Breviario F., Caveda L., Corada M., Martin-Padura I., Navarro P., Golay J., Introna M., Gulino D., Lampugnani M. G. & Dejana E., Functional properties of human vascular endothelial cadherin (7B4/cadherin-5), an endothelium-specific cadherin. *Arterioscler. Thromb Vasc. Biol.*, 1995, *15*, 1229-1239.

Delorme B., Dahl E., Jarry-Guichard T., Briand J. P., Willecke K., Gros D. & Theveniau-Ruissy M., Expression pattern of connexin gene products at the early developmental stages of the mouse cardiovascular system. *Circ. Res.*, 1997, *81*, 423-437.

Farquhar M. G. & Palade G. E., Junctional complexes in various epithelia. *J. Cell Biol.*, 1963, *17*, 375-412.

Furuse M., Fujimoto K., Sato N., Hirase T. & Tsukita S., Overexpression of occludin, a tight junction-associated integral membrane protein, induces the formation of intracellular multilamellar bodies bearing tight junction-like structures. *J. Cell Sci.*, 1996, *109*, 429-435.

Furuse M., Hirase T., Itoh M., Nagafuchi A., Yonemura S. & Tsukita S., Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions [see comments]. *J. Cell Biol.*, 1993, *123*, 1777-1788.

Furuse M., Itoh M., Hirase T., Nagafuchi A., Yonemura S. & Tsukita S., Direct association of occludin with ZO-1 and its possible involvement in the localization of occludin at tight junctions. *J. Cell Biol.*, 1994, *127*, 1617-1626.

Gilbertson-Beadling S. K. & Fisher C., A potential role for N-cadherin in mediating endothelial cell-smooth muscle cell interactions in the rat vasculature. *Lab. Invest.*, 1993, *69*, 203-209.

Goncharova E. J., Kam Z. & Geiger B., The involvement of adherens junction components in myofibrillogenesis in cultured cardiac myocytes. *Development*, 1992, *114*, 173-183.

Gory-Fauré S., Prandini M.-H., Pointu H., Roullot V., Pignot-Paintrand I., Vernet M. & Huber P., Role of vascular endothelial-cadherin in vascular morphogenesis. *Development*, 1999, *126*, 2093-2102.

Gotsch U., Borges E., Bosse R., Boggemeyer E., Simon M., Mossmann H. & Vestweber D., VE-cadherin antibody accelerates neutrophil recruitment *in vivo*. *J. Cell Sci.*, 1997, *110*, 583-588.

Gumbiner B., Lowenkopf T. & Apatira D., Identification of a 160-kDa polypeptide that binds to the tight junction protein ZO-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1991, *88*, 3460-3464.

Gumbiner B. M., Breaking through the tight junction barrier [comment]. *J. Cell Biol.*, 1993, *123*, 1631-1633.

Gumbiner B. M., Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis. *Cell*, 1996, *84*, 345-357.

Haskins J., Gu L., Wittchen E. S., Hibbard J. & Stevenson B. R., ZO-3, a novel member of the MAGUK protein family found at the tight junction, interacts with ZO-1 and occludin. *J. Cell Biol.*, 1998, *141*, 199-208.

Hull B. E. & Staehelin L. A., Functional significance of the variations in the geometrical organization of tight junction networks. *J. Cell Biol.*, 1976, *68*, 688-704.

Itoh M., Nagafuchi A., Moroi S. & Tsukita S., Involvement of ZO-1 in cadherin-based cell adhesion through its direct binding to alpha catenin and actin filaments. *J. Cell Biol.*, 1997, *138*, 181-192.

Janzer R. C. & Raff M. C., Astrocytes induce blood-brain barrier properties in endothelial cells. *Nature*, 1987, *325*, 253-257.

Kachar B. & Reese T. S., Evidence for the lipidic nature of tight junction strands. *Nature*, 1982, *296*, 464-466.

Kowalczyk A. P., Navarro P., Dejana E., Bornslaeger E. A., Green K. J., Kopp D. S. & Borgwardt J. E., VE-cadherin and desmoplakin are assembled into dermal microvascular endothelial intercellular junctions: a pivotal role for plakoglobin in the recruitment of desmoplakin to intercellular junctions. *J. Cell Sci.*, 1998, *111*, 3045-3057.

Lampugnani M. G. Corada M., Andriopoulou P., Esser S., Risau W. & Dejana E., Cell confluence regulates tyrosine phosphorylation of adherens junction components in endothelial cells. *J. Cell Sci.*, 1997, *110*, 2065-2077.

Lampugnani M. G., Corada M., Caveda L., Breviario F., Ayalon O., Geiger B. & Dejana E., The molecular organization of endothelial cell to cell junctions: differential association of plakoglobin, beta-catenin, and alpha- catenin with vascular endothelial cadherin (VE-cadherin). *J. Cell Biol.*, 1995, *129*, 203-217.

Lampugnani M. G., Resnati M., Raiteri M., Pigott R., Pisacane A., Houen G., Ruco L. P. & Dejana E., A novel endothelial-specific membrane protein is a marker of cell-cell contacts. *J. Cell Biol.*, 1992, *118*, 1511-1522.

Martin-Padura I., De Castellarnau C., Uccini S., Pilozzi E., Natali P. G., Nicotra M. R., Ughi F., Azzolini C., Dejana E. & Ruco L., Expression of VE (vascular endothelial)-cadherin and other endothelial- specific markers in haemangiomas. *J. Pathol*, 11995, *75*, 51-57.

Meng J. J., Bornslaeger E. A., Green K. J., Steinert P. M. & Ip W., Two-hybrid analysis reveals fundamental differences in direct interactions between desmoplakin and cell type-specific intermediate filaments. *J. Biol. Chem.*, 1997, *272*, 21495-21503.

Navarro P., Ruco L. & Dejana E., Differential localization of VE- and N-cadherins in human endothelial cells: VE-cadherin competes with N-cadherin for junctional localization. *J. Cell Biol.*, 1998, *140*, 1475-1484.

Newman P. J., The biology of PECAM-1. *J. Clin. Invest.*, 1997, *99*, 3-8.

Nishikawa S. I., Nishikawa S., Hirashima M., Matsuyoshi N. & Kodama H., Progressive lineage analysis by cell sorting and culture identifies FLK1+VE-cadherin+ cells at a diverging point of endothelial and hemopoietic lineages. *Development*, 1998, *125*, 1747-1757.

Pollack A. L., Barth A. I. M., Altschuler Y., Nelson W. J. & Mostov K. E., Dynamics of beta-catenin interactions with APC protein regulate epithelial tubulogenesis. *J. Cell Biol.*, 1997, *137*, 1651-1662.

Rabiet M. J., Plantier J. L., Rival Y., Genoux Y., Lampugnani M. G. & Dejana E., Thrombin-induced increase in endothelial permeability is associated with changes in cell-to-cell junction organization. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1996, *16*, 488-496.

Rajasekaran A. K., Hojo M., Huima T. & Rodriguez-Boulan E., Catenins and zonula occludens-1 form a complex during early stages in the assembly of tight junctions. *J. Cell Biol.*, 1996, *132*, 451-463.

Rubin L. L., Endothelial cells: adhesion and tight junctions. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1992, *4*, 830-833.

Salomon D., Ayalon O., Patel-King R., Hynes R. O. & Geiger B., Extrajunctional distribution of N-cadherin in cultured human endothelial cells. *J. Cell Sci.*, 1992, *102*, 7-17.

Sano K., Tanihara H., Heimark R. L., Obata S., Davidson M., St John T., Taketani S. & Suzuki S., Protocadherins: a large family of cadherin-related molecules in central nervous system. *Embo. J.*, 1993, *12*, 2249-2256.

Schmelz M. & Franke W. W., Complexus adhaerentes, a new group of desmoplakin-containing junctions in endothelial cells: the syndesmos connecting retothelial cells of lymph nodes. *Eur. J. Cell Biol.*, 1993, *61*, 274-289.

Schnittler H. J., Puschel B. & Drenckhahn D., Role of cadherins and plakoglobin in interendothelial adhesion under resting conditions and shear stress. *Am. J. Physiol.*, 1997, *273*, H2396-H2405.

Schulze C. & Firth J. A., Immunohistochemical localization of adherens junction components in blood-brain barrier microvessels of the rat. *J. Cell Sci.*, 1993, *104*, 773-782.

Simionescu M. & Simionescu N., Endothelial transport of macromolecules: transcytosis and endocytosis. A look from cell biology. *Cell Biol. Rev.*, 1991, *25*, 5-78.

Sosinsky G. E., Molecular organization of gap junction membrane channels. *J. Bioenerg. Biomembr.*, 1996, *28*, 297-309.

Staehelin L. A., Mukherjee T. M. & Williams A. W., Freeze-etch appearance of the tight junctions in the epithelium of small and large intestine of mice. *Protoplasma*, 1969, *67*, 165-184.

Stevenson B. R., Heintzelman M. B., Anderson J. M., Citi S. & Mooseker M. S., ZO-1 and cingulin: tight junction proteins with distinct identities and localizations. *Am. J. Physiol.*, 1989, *257*, C621-C628.

Stevenson B. R., Siliciano J. D., Mooseker M. S. & Goodenough D. A., Identification of ZO-1: a high molecular weight polypeptide associated with the tight junction (zonula occludens) in a variety of epithelia. *J. Cell Biol.*, 1986, *103*, 755-766.

Takeichi M. Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science*, 1991, *251*, 1451-1455.

Telo P., Breviario F., Huber P., Panzeri C. & Dejana E., Identification of a novel cadherin (vascular endothelial cadherin-2) located at intercellular junctions in endothelial cells. *J. Biol. Chem.*, 1998, *273*, 17565-17572.

Trosko J. E. & Ruch R. J., Cell-cell communication in carcinogenesis [In Process Citation]. *Front. Biosci.*, 1998, *3*, D208-D236.

Unwin P. N. & Ennis P. D., Two configurations of a channel-forming membrane protein. *Nature*, 1984, *307*, 609-613.

Valiron O., Chevrier V., Usson Y., Breviario F., Job D. & Dejana E., Desmoplakin expression and organization at human umbilical vein endothelial cell-to-cell junctions. *J. Cell Sci.*, 1996, *109*, 2141-2149.

Van Rijen H., van Kempen M. J., Analbers L. J., Rook M. B., van Ginneken A. C., Gros D. & Jongsma H. J., Gap junctions in human umbilical cord endothelial cells contain multiple connexins. *Am. J. Physiol.*, 1997, *272*, C117-C130.

Vittet D., Buchou T., Schweitzer A., Dejana E. & Huber P., Targeted null-mutation in the vascular endothelial-cadherin gene impairs the organization of vascular-like structures in embryoid bodies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, *94*, 6273-6278.

Vittet D., Prandini M. H., Berthier R., Schweitzer A., Martin-Sisteron H., Uzan G. & Dejana E., Embryonic stem cells differentiate in vitro to endothelial cells through successive maturation steps. *Blood*, 1996, *88*, 3424-3431.

Willott E., Balda M. S., Heintzelman M., Jameson B. & Anderson J. M., Localization and differential expression of two isoforms of the tight junction protein ZO-1. *Am. J. Physiol.*, 1992, *262*, C1119-C1124.

Yamamoto T., Harada N., Kano K., Taya S., Canaani E., Matsuura Y., Mizoguchi A., Ide C. & Kaibuchi K., The Ras target AF-6 interacts with ZO-1 and serves as a peripheral component of tight junctions in epithelial cells. *J. Cell Biol.*, 1997, *139*, 785-795.

Yap A. S., Brieher W. M., Pruschy M. & Gumbiner B. M., Lateral clustering of the adhesive ectodomain: a fundamental determinant of cadherin function. *Curr. Biol.*, 1997, *7*, 308-315.

Yonemura S., Itoh M., Nagafuchi A. & Tsukita S., Cell-to-cell adherens junction formation and actin filament organization: similarities and differences between non-polarized fibroblasts and polarized epithelial cells. *J. Cell Sci.*, 1995, *108*, 127-142.