

Régulation de l'adhérence intercellulaire pendant la morphogenèse épithéliale^{*}

Romain Levayer

Institut de Biologie du Développement de Marseille Luminy, CNRS UMR 7288, case 907, campus de Luminy, 13009 Marseille, France

Auteur correspondant : Romain Levayer, romain.levayer@ibdml.univmed.fr

Reçu le 30 avril 2012

Résumé – L'épithélium est l'un des tissus les plus abondants chez les Métazoaires. Il a pour fonction de créer une barrière chimique et mécanique entre les compartiments physiologiques (milieu extérieur/milieu intérieur). Cette fonction de barrière est basée sur l'existence de nombreuses liaisons intercellulaires qui imperméabilisent et stabilisent les contacts cellulaires au sein du tissu. Malgré cette stabilité, les épithéliums peuvent subir des remodelages considérables lors de la cicatrisation, de l'embryogenèse et de l'évolution des tumeurs. La capacité de générer de nouvelles formes tout en maintenant la cohésion cellulaire requiert une balance parfaite entre la stabilité et la plasticité des jonctions cellulaires. Cette balance se joue en partie au niveau de la régulation de l'adhérence intercellulaire dépendant des jonctions adhérentes et de la protéine transmembranaire E-cadhérine. Cette revue a pour but de comprendre quels sont les mécanismes moléculaires régulant la balance entre robustesse et plasticité des épithéliums. Nous nous intéresserons tout d'abord aux principes physiques pouvant expliquer la forme des cellules épithéliales, puis nous décrirons l'ensemble des processus impliqués dans la régulation de l'adhérence intercellulaire et leurs rôles dans la morphogenèse épithéliale, et terminerons par l'analyse des couplages entre les forces d'adhérence et la tension corticale.

Mots clés : Épithélium / morphogenèse / adhérence intercellulaire / tension corticale / E-cadhérine

Abstract – Regulation of intercellular adhesion during epithelial morphogenesis.

The epithelium is one of the most abundant tissues in metazoans. It is required to generate stable chemical and mechanical barriers between physiological compartments (fluid matrix/external environment). This function is based on multiple intercellular junctions, which insulate and stabilize cell-cell contacts in the tissue. Despite this apparent robustness, epithelia can be extensively remodeled during wound healing, embryogenesis and tumor progression. The capacity to be remodeled while keeping tissue cohesion requires a perfect balance between stability and plasticity of intercellular junctions. The balance is partially regulated by intercellular adhesion, which is mostly based on adherens junctions and the transmembrane protein E-cadherin. The aim of this review is to report the molecular basis of the balance between plasticity and robustness in the epithelium. We will first present the minimal physical framework used to describe epithelial cell shape. We will then describe the main processes involved in intercellular adhesion regulation and their functions during epithelial morphogenesis. Eventually, we will analyze the relationship and the coupling between adhesive forces and cortical tension.

Key words: Epithelium / morphogenesis / intercellular adhesion / cortical tension / E-cadherin

* Article extrait d'une thèse de Doctorat de l'Université de la Méditerranée soutenue le 7 octobre 2011.

Introduction

La complexité et l'organisation des formes qui apparaissent dans les organismes vivants suscitent depuis toujours l'admiration – ou la perplexité – et n'ont cessé de stimuler les interrogations scientifiques de l'Antiquité à nos jours. Nous devons la première tentative de rationalisation de cette complexité à D'Arcy Thompson, qui, dans son œuvre « *On Growth and Form* » (Thompson, 1917), tente d'expliquer ces phénomènes par les lois de la physique et les mathématiques. À ce titre, il est l'un des pères fondateurs de la morphogenèse, science qui vise à comprendre l'apparition des formes dans le vivant.

Parmi les différents tissus présents chez les Métazoaires, les épithéliums constituent un exemple frappant du haut niveau d'organisation géométrique et de la plasticité du vivant. L'épithélium est l'un des tissus les plus répandus dans le règne animal. Il a pour fonction de créer une barrière chimique et mécanique entre les compartiments physiologiques (milieu extérieur/milieu intérieur). Cette fonction de barrière est basée sur l'existence de nombreuses liaisons intercellulaires qui imperméabilisent et stabilisent les contacts cellulaires au sein du tissu (Tepass *et al.*, 2001). La robustesse mécanique des épithéliums vient en grande partie de l'existence des jonctions adhérentes. Localisées dans la partie « apicale » des cellules, ces jonctions sont principalement constituées d'E-cadhérine (E-cad), une protéine transmembranaire créant des liens *trans* homophiliques avec les protéines de la cellule voisine et indirectement connectée à un réseau dense d'actine et de myosine II par son domaine intracellulaire (Harris & Tepass, 2010). Les jonctions adhérentes sont donc une plateforme de transmission des forces d'une cellule à l'autre.

Malgré cette robustesse, les épithéliums peuvent subir des changements morphologiques considérables au cours du développement, de la cicatrisation ou lors de l'évolution de tumeurs. L'un des exemples les plus frappants est la transition épithélio-mésenchymateuse qui se manifeste par une perte totale de polarité et d'adhérence des cellules ; celles-ci, par conséquent, acquièrent des capacités migratoires et un comportement invasif (Thiery *et al.*, 2009). Néanmoins, les épithéliums peuvent changer de forme et d'organisation tout en conservant la cohésion du tissu. L'allongement, les invaginations, la formation de tubes ou encore la compaction sont autant de manifestations de la plasticité des épithéliums (Quintin *et al.*, 2008).

Quelle est la base moléculaire de cette plasticité et quels sont les leviers permettant la modification contrôlée de la forme des cellules et des tissus tout en conservant leur cohésion ? Nous allons traiter ici cette question en nous focalisant sur les modes de régulation de l'adhérence intercellulaire et leur impact sur la

morphogenèse épithéliale. Nous effectuerons dans un premier temps une description sommaire des principes physiques pouvant expliquer la forme des cellules épithéliales, puis nous décrirons les différents processus permettant de réguler l'adhérence intercellulaire et leur exploitation lors de la morphogenèse épithéliale. Nous terminerons enfin par l'analyse des couplages entre les forces d'adhérence et la contractilité.

Forme cellulaire et tension de surface

Définition de la tension de surface

Les épithéliums peuvent subir des changements considérables de leur organisation tout en maintenant la cohésion du tissu et leur rôle de barrière. Quatre éléments moteurs peuvent en modifier la structure : les divisions cellulaires polarisées, l'induction locale de morts cellulaires, des changements de forme cellulaire, ou un réarrangement des cellules au sein du tissu (Lecuit & Le Goff, 2007). Nous nous focalisons ici sur les remodelages qui ne nécessitent pas de changement du nombre de cellules. Dans cette situation, le remodelage d'un épithélium se résume bien souvent à une modification contrôlée de la taille et de la distribution des contacts intercellulaires, induisant un changement de la forme des cellules et/ou des réarrangements cellulaires. La description des forces régulant la taille des jonctions cellulaires est donc indispensable à la compréhension de la morphogenèse épithéliale.

La topologie d'un épithélium est très similaire à l'arrangement de bulles au sein d'une mousse en deux dimensions. Cette similarité a déjà été amplement décrite par D'Arcy Thompson au début du 20^e siècle (Thompson, 1917). Les forces régissant l'arrangement et la forme des bulles de savon ont été auparavant étudiées à la fin du 19^e siècle par Plateau (1873). Ces forces incluent la tension de surface, qui détermine aussi la forme d'une gouttelette d'eau dans l'huile. Au sein de la gouttelette, chaque molécule d'eau subit les forces d'attraction des molécules d'eau environnantes. La répartition des molécules étant homogène, la somme des forces s'annulent en chaque point au centre de la gouttelette (figure 1A). Néanmoins, les molécules d'eau situées à la frontière avec l'huile ne subissent des forces d'attraction que sur une face. La force résultante est une force de traction dirigée vers le centre de la gouttelette, qui tend à minimiser la surface de contact entre l'eau et l'huile, générant la forme sphérique de la gouttelette (figure 1A).

La tension de surface à l'échelle tissulaire et cellulaire

La même force peut expliquer certains phénomènes observés à l'échelle tissulaire. Ainsi, l'association et

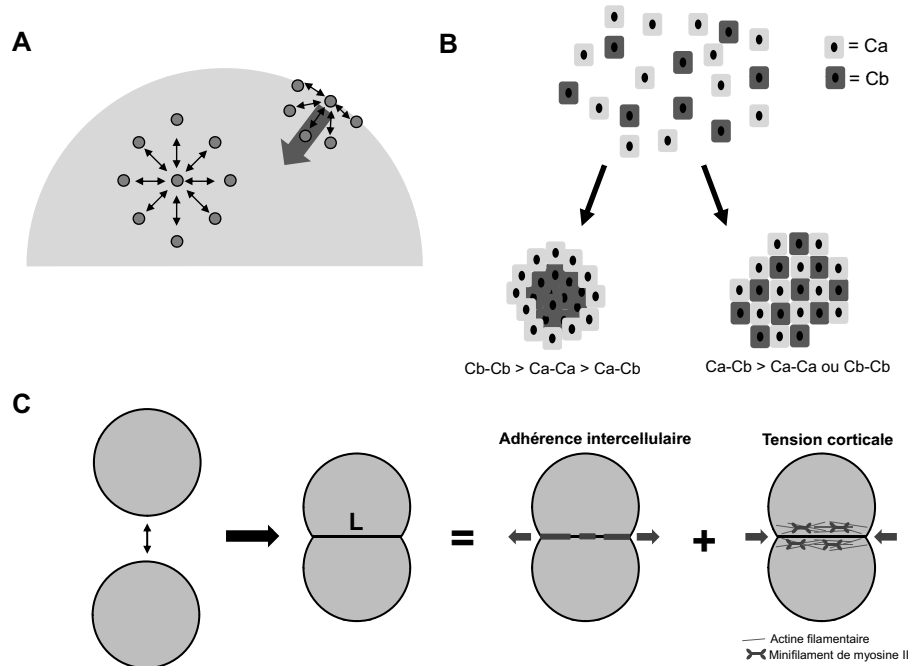


Fig. 1. La tension de surface dicte l'arrangement et la forme des cellules épithéliales. A : la tension de surface dans une goutte de liquide. La somme des forces d'attraction appliquées sur une molécule au centre de la goutte est nulle. En périphérie, les molécules subissent une force de traction dirigée vers le centre de la goutte générant ainsi la tension de surface. B : tri cellulaire et adhérence différentielle. Des cellules dissociées provenant de différents tissus se réagrègent différemment selon les forces d'adhérence mises en jeu. Si l'association Cb-Cb est la plus stable (ex : E-cad-E-cad versus N-cad-N-cad), les cellules Cb se localisent au centre de l'agrégat afin de minimiser la tension de surface. Si les liens hétérophiliques sont les plus stables (Ca-Cb > Cb-Cb ou Ca-Ca), la surface de contact Ca-Cb est maximisée, formant alors une structure en damier. C : La taille du contact (L) entre deux cellules adhérentes dépend de la balance entre l'adhérence intercellulaire qui tend à accroître la surface de contact et la tension corticale (générée par le réseau d'actine et de Myosine II) qui tend à diminuer la dimension du contact.

l'arrangement spontané *in vitro* des cellules en fonction de leur provenance tissulaire dépendent de la tension de surface. Ce phénomène, plus communément appelé tri cellulaire (Steinberg, 1963), peut s'expliquer par l'adhérence différentielle entre les types cellulaires, au même titre que la différence des forces d'interaction entre les molécules d'eau et d'huile (figure 1B). La séparation des cellules en fonctions de leur identité dépend de l'expression de différentes cadhérines. Les liens homophiliques (ex : E-cad – E-cad) étant plus stables que les liens hétérophiliques (ex : E-cad – N-cad), les cellules s'associent préférentiellement avec les partenaires exprimant la même cadhérine (Duguay *et al.*, 2003). De plus, les groupes cellulaires formant les liens les plus forts ou contenant les cellules ayant la plus forte tension corticale développeront la plus forte tension de surface. Par conséquent, ils formeront les groupes les plus compacts et se situeront au centre de l'agrégat (Foty *et al.*, 1996 ; Foty & Steinberg, 2005 ; Lecuit & Lenne, 2007) (figure 1B). L'arrangement des cellules pigmentaires et des cônes dans les ommatidies de *Drosophile* est un des exemples les plus frappants

de l'application de la théorie de la tension de surface (Hayashi & Carthew, 2004). Dans chaque ommatidie, quatre cellules cônes sont entourées par deux cellules pigmentaires. L'arrangement et la forme des cellules sont entièrement dictés par la tension de surface. Toutes les cellules expriment la E-cadhérine à des niveaux similaires, néanmoins seuls les cônes expriment la N-cadhérine. Cette différence génère une adhérence préférentielle entre les cônes ainsi que leur position centrale dans l'ommatidie et détermine totalement la taille et les angles de chaque jonction. Par ailleurs, l'adhérence différentielle peut aussi générer une organisation en damier. Ainsi, l'alternance des cellules sensorielles et des cellules de support dans la cochlée des Mammifères dépend de l'expression des molécules d'adhérence nectine1 et nectine3 respectivement (Togashi *et al.*, 2011). À l'inverse des cadhérines, les liens hétérophiliques des nectines sont plus stables que les liens homophiliques (N1-N3 > N1-N1 ou N3-N3). L'arrangement optimal des cellules correspond donc à une alternance en damier des cellules sensorielles et des cellules de support (figure 1B). Enfin,

la tension de surface est également impliquée dans la formation de compartiments tissulaires (Dahmann & Basler, 2000; Landsberg *et al.*, 2009; Dahmann *et al.*, 2011; Monier *et al.*, 2011) et permet la ségrégation spatiale de différents lignages cellulaires.

Par ailleurs, la tension de surface explique aussi les formes observées à l'échelle cellulaire. Ainsi, une cellule non adhésive adopte préférentiellement une forme sphérique (figure 1C). De plus, la surface apicale des cellules épithéliales prend souvent la forme de pentagones et d'hexagones (Gibson *et al.*, 2006) ce qui correspond à l'organisation optimale de compaction et minimise la surface du tissu.

La tension corticale et l'adhérence intercellulaire définissent la tension de surface

Quels sont les effecteurs moléculaires régissant la tension de surface à l'échelle cellulaire et la taille d'une jonction? D'une part, la contractilité du cortex cellulaire, générée par le réseau d'actine et le moteur moléculaire myosine II (Levayer & Lecuit, 2012), accroît la tension de surface et minimise la taille des jonctions intercellulaires (Evans & Yeung, 1989). Par opposition, l'adhérence intercellulaire diminue la tension de surface et tend à accroître la taille des contacts intercellulaires (De Vries *et al.*, 2004). La taille des jonctions est donc déterminée par la balance entre la tension corticale et l'adhérence intercellulaire (figure 1C). Nous allons à présent décrire les bases moléculaires de la régulation de l'adhérence cellulaire et leur implication dans la morphogenèse épithéliale. À titre de complément, une description détaillée de la régulation de la contractilité pendant la morphogenèse épithéliale peut se trouver dans les revues suivantes (Quintin *et al.*, 2008; Martin, 2010; Gorfinkiel & Blanchard, 2011; Kasza & Zallen, 2011; Lye & Sanson, 2011; Levayer & Lecuit, 2012).

Modulation de l'adhérence intercellulaire pendant la morphogenèse épithéliale

Organisation et composition des jonctions adhésives

L'adhérence intercellulaire dépend de multiples jonctions couvrant la surface de contact entre deux cellules épithéliales, celles-ci incluant les jonctions serrées, les jonctions adhésives, les desmosomes et les jonctions GAP (Tepass *et al.*, 2001). Compte tenu de leur rôle majeur dans la morphogenèse épithéliale précoce, nous nous focaliserons ici sur les jonctions adhésives (Gumbiner, 2005).

Les jonctions adhésives sont localisées dans le domaine apico-latéral des cellules. Elles furent initialement décrites en microscopie électronique sous le terme de *Zonula Adherens* (Rodewald *et al.*, 1976; Tepass & Hartenstein, 1994), une zone caractérisée par la présence d'une ceinture continue d'actomyosine (Hirano *et al.*, 1987) couplée à une population dense de protéines transmembranaires, principalement constituée de cadhérines (Yoshida & Takeichi, 1982; Yoshida-Noro *et al.*, 1984; Takeichi *et al.*, 1988). Les cadhérines forment une large famille de protéines transmembranaires dont l'association en *trans* dépend de Ca^{2+} , incluant notamment les protéines desmosomales, les protocadhérines, les cadhérines dites classiques (N, P, et E-cadhérines), les protéines Fat-Dashous, et Flamingo/Celsr (Hulpiau & van Roy, 2009). Nous nous focaliserons ici sur la cadhérine classique la mieux caractérisée et présente en abondance dans les jonctions adhésives des épithéliums : la E-cadhérine (E-cad).

L'adhérence des E-cadhérines est basée sur l'interaction de 5 domaines extracellulaires EC (*repeated E-cad domain*) (Overduin *et al.*, 1995), séparés par 4 domaines de liaison des ions Ca^{2+} (figure 2). La liaison des ions calcium induit un changement de conformation (formation d'un arc rigide par le domaine extracellulaire) nécessaire à l'adhérence en *trans* des E-cadhérines (Pokutta *et al.*, 1994; Boggon *et al.*, 2002). La conformation exacte de l'interaction en *trans* des E-cadhérines est encore sujette à débat (Trojanovsky, 2005), néanmoins le modèle actuellement privilégié implique l'interaction en *trans* des domaines EC les plus distaux (EC1/EC1, figure 2) (Shapiro *et al.*, 1995; Boggon *et al.*, 2002; Trojanovsky *et al.*, 2003; Haussinger *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2009; Harrison *et al.*, 2011). De manière surprenante, différentes mesures *in vitro* ont montré que les liens *trans* des molécules de E-cad sont faibles et très labiles (Baumgartner *et al.*, 2000; Perret *et al.*, 2002; Baumgartner *et al.*, 2003; Haussinger *et al.*, 2004). Ces données suggèrent la nécessité de former des agrégats de E-cad en *cis* pour constituer des liens cellulaires stables (Trojanovsky, 2005). La formation d'agrégats pourrait être induite par des interactions directes en *cis* des E-cadhérines, ou par l'interaction du domaine intracellulaire de E-cad avec le cytosquelette (Briehner *et al.*, 1996; Yap *et al.*, 1997; Baumgartner *et al.*, 2000; Baumgartner *et al.*, 2003).

Le domaine intracellulaire d'E-cad joue également un rôle prépondérant dans la stabilisation des contacts cellulaires et la transmission des forces. Cette fonction dépend principalement de la capacité du domaine intracellulaire à se lier à l'actine (Bershadsky, 2004; Braga & Yap, 2005; Cavey & Lecuit, 2009). Le domaine intracellulaire d'E-cad se lie à deux composants majeurs : la p120-caténine et la β -caténine

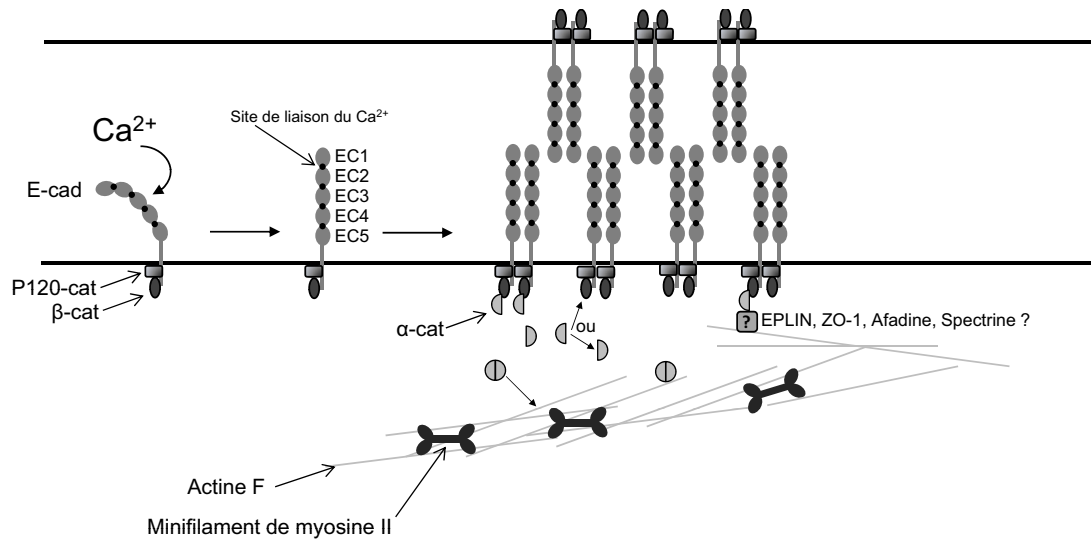


Fig. 2. Organisation d'une jonction adhérente. L'association d'un monomère d'E-cad avec les ions Ca^{2+} induit un changement de conformation permettant l'association en *trans* des cadhérines. L'association en *trans* se fait uniquement par l'interaction *trans* des domaines EC1. L'interaction avec le réseau d'actomyosine dépend de l'association avec la β -caténine (β -cat) et l' α -caténine (α -cat). Les protéines α -cat monomériques se lient à β -cat, tandis que les dimères d' α -cat se lient à l'actine. Par ailleurs, il existe d'autres intermédiaires potentiels entre l'actine et α -cat (EPLIN, ZO-1, Afadine, Spectrine).

(Armadillo chez la Drosophile) (Pokutta & Weis, 2007). Le lien avec l'actine dépend de l'association conjointe de l' α -caténine (α -cat) avec l'actine et la β -caténine (β -cat). Le modèle d'association entre l'actine et E-cad était donc jusqu'alors basé sur l'existence d'un complexe protéique quaternaire stable E-cad/ β -cat/ α -cat/actine, permettant un couplage fort entre l'adhérence extracellulaire et le cortex cellulaire. Cependant, ce paradigme est encore source de vifs débats puisque le complexe quaternaire n'a jamais pu être purifié (Drees *et al.*, 2005; Yamada *et al.*, 2005). En effet, les interactions α -cat/ β -cat et α -cat/actine sont exclusives, suggérant un couplage dynamique basé sur l'oscillation constante entre les dimères d' α -cat se liant à l'actine et les monomères d' α -cat se liant à β -cat (figure 2) (Drees *et al.*, 2005; Yamada *et al.*, 2005). Néanmoins, ce modèle est peu compatible avec les données expérimentales décrivant le rôle prépondérant d' α -cat dans le couplage mécanique entre la tension corticale et l'adhérence (Cavey *et al.*, 2008; Yonemura *et al.*, 2010). D'autres modèles impliquent de nouveaux intermédiaires entre l'actine et α -cat, tels que l'EPLIN (*Epithelial Protein Lost in Neoplasm*) (Abe & Takeichi, 2008), ou encore l'afadine, ZO-1 (Zonula Occludens 1) et la spectrine (Cavey & Lecuit, 2009) (figure 2). L'ancrage d'E-cad à l'actine est donc un processus complexe impliquant de nombreux interacteurs et des liens dynamiques, qui pourraient être une des sources de la plasticité des épithéliums.

Diversité des modes de régulation de l'adhérence cellulaire

L'adhérence intercellulaire est un paramètre clef régulant la forme des cellules épithéliales et, par conséquent, celle du tissu. La plasticité des épithéliums peut s'expliquer par la multiplicité des modes de régulation de l'adhérence intercellulaire, permettant de réguler finement, dans le temps et dans l'espace, la distribution des forces d'adhérence. Nous allons ici décrire les principaux modes de régulation de l'adhérence E-cad dépendante. Les processus morphogénétiques impliquant l'adhérence différentielle des cellules par le biais de l'expression de différentes cadhérines ont déjà été décrits dans la première partie.

Régulation transcriptionnelle de la quantité totale d'E-cad

Moduler la quantité totale d'E-cad par la régulation transcriptionnelle est un des mécanismes de base de la régulation de l'adhérence. Ce mode de contrôle a été largement étudié au cours de la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) (Thiery *et al.*, 2009). Snail est le premier facteur de transcription identifié en tant qu'inhibiteur spécifique de la transcription du gène d'E-cad, son expression étant nécessaire et suffisante pour induire la TEM (Cano *et al.*, 2000). Par la suite, de nombreux autres facteurs de transcription

inhibant la transcription d'E-cad ont été identifiés, incluant Slug, Zeb, E47 and KLF8 (Yang & Weinberg, 2008). Ces facteurs ont en commun un site de liaison aux motifs « E-boxes » du promoteur du gène d'E-cad. Ce mode de régulation de l'adhérence ne permet pas néanmoins de modulation au niveau subcellulaire et est limité par les temps caractéristiques de la transcription, de la traduction et de la dégradation de la protéine. Par conséquent, ces facteurs ne sont pas impliqués dans les processus rapides (< 1 h) de remodelage des tissus nécessitant une régulation subcellulaire de l'adhérence.

Modification post-traductionnelle des composants de l'adhérence cellulaire

La modulation de l'affinité des composants des jonctions adhérentes pour leurs partenaires est un autre mécanisme de régulation de l'adhérence intercellulaire. Ainsi, les phosphorylations de multiples sites du domaine intracellulaire d'E-cad et de la β -cat permettent de moduler leur affinité (Pokutta & Weis, 2007). Par exemple, l'affinité du domaine intracellulaire d'E-cad pour β -cat augmente d'un facteur 1000 à la suite de sa phosphorylation par la caséine kinase II ou la glycogène synthase kinase-3 β *in vitro* (Lickert *et al.*, 2000; Choi *et al.*, 2006). D'autres phosphorylations au contraire diminuent leur affinité, telle que la phosphorylation de β -cat sur la Tyr654 par la Src kinase et EGFR, qui divise par six l'affinité d'E-cad pour β -cat (Roura *et al.*, 1999). Enfin, l'interaction α -cat/ β -cat peut aussi être modulée par la phosphorylation de β -cat sur la Tyr142 par les Src kinases Fyr et Fer, ainsi que cMet (Piedra *et al.*, 2003; Brembeck *et al.*, 2004). Néanmoins, l'implication de ces modifications post-traductionnelles dans un contexte physiologique reste à démontrer (Tominaga *et al.*, 2008). Plus récemment, une modification post-traductionnelle de β -cat a été impliquée dans la morphogenèse épithéliale précoce de l'embryon de Drosophile. Lors de la gastrulation, l'épithélium ventro-latéral de l'embryon (la bandelette germinale) subit un remodelage rapide conduisant à son élongation le long de l'axe antéropostérieur (multiplication par 2 en moins de 40 min) (figure 3A). L'élongation est en grande partie induite par l'intercalation cellulaire (figure 3B), elle-même conduite par un remodelage polarisé et irréversible des jonctions cellulaires (nommé transition T1) : les jonctions parallèles à l'axe dorso-ventral (jonctions « verticales ») se contractent et disparaissent au profit de nouvelles jonctions parallèles à l'axe antéro-postérieur (jonctions « transverses ») (figure 3C). Dans ce contexte, la tyrosine kinase Abl est enrichie au niveau des jonctions verticales et permet d'augmenter localement le *turnover* de β -cat par le biais de sa phosphorylation sur la Tyr667 (Tamada *et al.*, 2012). Cette phosphorylation

est nécessaire au remodelage polarisé des jonctions. Néanmoins, cette phosphorylation ne semble pas affecter l'affinité de β -cat pour E-cad et implique donc des mécanismes différents (tels que l'endocytose ou l'interaction avec l'actine) de ceux décrits *in vitro*. Les modifications post-traductionnelles des composants des jonctions adhérentes pourraient donc constituer un mode rapide et efficace de modulation de l'adhérence cellulaire lors du remodelage des tissus, toutefois l'exploration de ces phénomènes *in vivo* reste très partielle.

Modulation de l'adhérence par l'organisation de l'actine et la tension

L'actine corticale joue un double rôle dans la régulation de l'adhérence intercellulaire : elle est nécessaire d'une part à la formation *de novo* de jonctions adhérentes (dans les cellules en culture ou lors de l'embryogenèse), et d'autre part à la maturation et la stabilisation de ces jonctions (Braga & Yap, 2005; Cavey & Lecuit, 2009; Baum & Georgiou, 2011). Ainsi, un réseau dynamique principalement constitué d'actine branchée Arp2/3-dépendante est nécessaire à la formation des jonctions, notamment par l'induction des protrusions cellulaires permettant la formation des premiers contacts cellulaires. Les jonctions matures sont, quant à elles, principalement associées à des faisceaux parallèles de filaments stables d'actine dépendant des formines (Formine1, Diaphanous) et de la protéine de coiffe Ena/VASP (Braga & Yap, 2005; Cavey & Lecuit 2009; Baum & Georgiou, 2011). Plusieurs hypothèses pourraient expliquer le rôle de l'actine dans la maturation des jonctions. En premier lieu la polymérisation de l'actine pourrait promouvoir l'adhérence en agrégeant à la membrane les molécules d'E-cad (Yap *et al.*, 1997). Ensuite la régulation à la baisse de la polymérisation et la génération de faisceaux d'actine pourrait faciliter l'alignement des membranes cytoplasmiques et optimiser l'association en *trans* et en *cis* des monomères d'E-cad. Enfin, la rigidité du réseau d'actine pourrait stabiliser les jonctions en restreignant le mouvement des agrégats d'E-cad dans le plan des jonctions (Cavey *et al.*, 2008).

La stabilisation des jonctions requiert aussi l'activité du moteur moléculaire myosine-II (MyoII). La maturation des épithéliums est corrélée à une augmentation de la tension corticale (Adams *et al.*, 1998; Yamada & Nelson, 2007), nécessaire d'une part pour inhiber les protrusions membranaires (Gloushankova *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 2005), et d'autre part pour faciliter l'agrégation d'E-cad en optimisant l'apposition des deux membranes cytoplasmiques (Krendel *et al.*, 1999; Delanoë-Ayari *et al.*, 2004) et en induisant le recrutement latéral des monomères d'E-cad (Shewan *et al.*, 2005). MyoII pourrait aussi participer

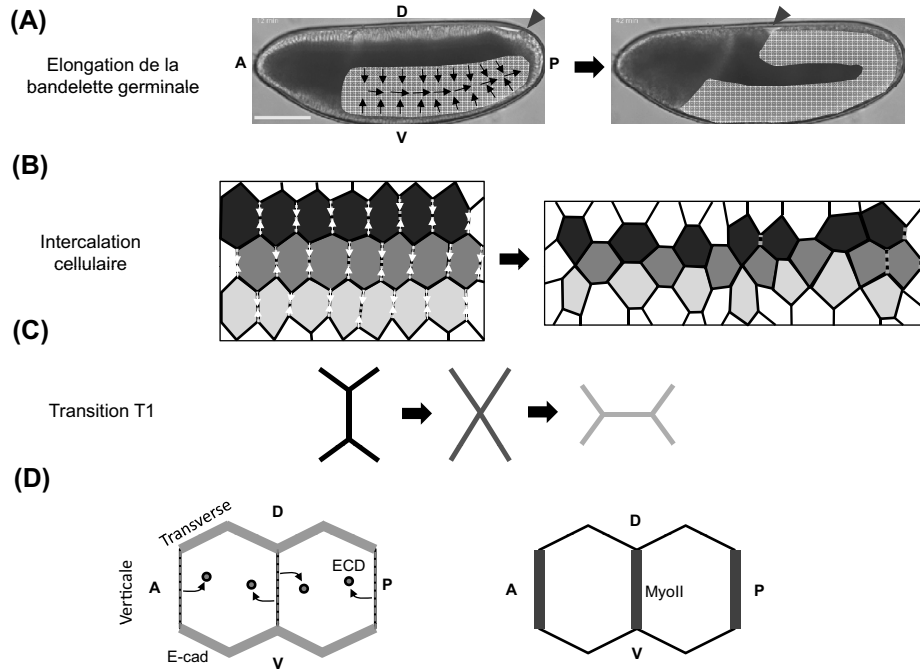


Fig. 3. Intercalation cellulaire lors de l'élongation de la bandelette germinale. (A) : acquisition Nomarski d'un embryon de *Drosophile* en cours de gastrulation en début et fin d'élongation de la bandelette germinale (tissu ombré en gris). L'élongation est induite par la convergence-extension des cellules (flèches noires). La pointe noire indique la position des cellules polaires le long de l'axe antéro-postérieur, un indicateur de l'état de l'allongement de la bandelette. A : antérieur, P : postérieur, D : dorsal, V : ventral. Barre d'échelle : 100 μm . (B) : l'allongement de la bandelette est induit par l'intercalation des cellules le long de l'axe DV. Les flèches blanches indiquent les jonctions où la tension est plus élevée. (C) : l'intercalation est induite par un remodelage polarisé et irréversible des jonctions (nommé transition T1). Les jonctions verticales (parallèles à l'axe DV) rétrécissent et forment de nouvelles jonctions parallèles à l'axe AP (jonctions transverses). (D) : polarité planaire de l'adhérence cellulaire et de la tension corticale. E-cad (et l'ensemble des composants des jonctions adhérentes) est enrichie dans les jonctions transverses. L'Endocytose Clathrine Dépendante (ECD) d'E-cad est activée dans les jonctions verticales et contribue à la localisation polarisée d'E-cad. Par opposition, le moteur moléculaire myosine II (MyoII) est enrichi dans les jonctions verticales. MyoII contribue aussi à la localisation polarisée d'E-cad en activant l'ECD dans les jonctions verticales. A : antérieur, P : postérieur, D : dorsal, V : ventral.

à la maturation des jonctions par un processus de mécano-transduction (Ladoux *et al.*, 2010; Yonemura *et al.*, 2010; Leckband *et al.*, 2011). L'application d'un stress mécanique aux jonctions adhérentes induit un changement de conformation d' α -cat qui libère un site d'interaction avec la vinculine. Le recrutement de vinculine accroît localement le recrutement d'actine et, par conséquent, le recrutement d'E-cad (Yonemura *et al.*, 2010). Plus récemment, une équipe a pu distinguer la contribution respective de différentes isoformes de MyoII lors de la formation et de la stabilisation des jonctions. Alors que le moteur MyoIIA (moteur ayant un taux élevé d'hydrolyse d'ATP et permettant la propulsion rapide de l'actine) (Vicente-Manzanares *et al.*, 2009) est principalement requis pour la formation *de novo* de jonctions, le rôle stabilisateur de l'isoforme MyoIIB (faible taux d'hydrolyse d'ATP et liaisons plus stables

avec l'actine) (Vicente-Manzanares *et al.*, 2009) est nécessaire à la distribution continue de E-cad le long des jonctions et au maintien de la ceinture apicale d'actine (Smutny *et al.*, 2010).

D'autres études ont, au contraire, montré le rôle de MyoII dans le désassemblage des jonctions cellulaires (Bhowmick *et al.*, 2001; Sahai & Marshall, 2002; Avizienyte *et al.*, 2004). Ces fonctions opposées de MyoII sont semblables à sa double fonction dans la régulation de l'adhérence cellule/substrat lors de la migration cellulaire : MyoII est requis pour la maturation et la croissance des points focaux d'adhérence au front de migration, mais est aussi indispensable au désassemblage des points d'adhérence dans la zone de rétraction cellulaire (Vicente-Manzanares *et al.*, 2009)

La régulation du *turnover* et de l'organisation de l'actine ainsi que le recrutement de MyoII est donc corrélée à la stabilité des jonctions adhérentes

et pourrait être impliquée dans le remodelage des épithéliums. Néanmoins cette contribution reste difficile à évaluer puisque l'organisation de l'actine et MyoII affectent conjointement l'adhérence intercellulaire et la tension corticale, deux paramètres clés régulant la taille des jonctions cellulaires.

L'organisation des microtubules et la stabilisation des jonctions

L'organisation des microtubules (MTs) contribue également à la stabilisation des jonctions adhérentes. La dépolymérisation des MTs ou la modification de leur dynamique affectent l'intégrité des jonctions (Stehbens *et al.*, 2006; Meng *et al.*, 2008). Les causes de ces défauts sont multiples : d'une part, le ciblage des vésicules contenant des protéines d'adhérence vers les jonctions en formation requiert la kinésine et une population intacte de MTs (Mary *et al.*, 2002; Meng *et al.*, 2008). Les MTs participent aussi au recrutement latéral des monomères de E-cad en ciblant l'activation de MyoII (Shewan *et al.*, 2005; Stehbens *et al.*, 2006). Par ailleurs, différents composants des jonctions adhérentes ont la capacité de recruter les MTs de manière directe ou indirecte (Chausovsky *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2003; Meng *et al.*, 2008). Par exemple, la protéine Nezha s'associe aux jonctions grâce à son partenaire PLEKHA7, un interacteur de la p120-caténine. Le complexe Nezha/PLEKHA7 recrute aussi aux jonctions le moteur KIF3C nécessaire à la stabilisation des jonctions (Meng *et al.*, 2008). Ainsi, les MTs et les jonctions mettent en place de multiples boucles de rétroaction positives, où le ciblage du transport vésiculaire des protéines d'adhérence et le recrutement latéral de E-cad par les MTs stabilisent les jonctions, qui, par la suite, augmentent le recrutement des extrémités « moins » des MTs. Le rôle des MTs dans la régulation de la morphogénèse épithéliale reste néanmoins un domaine inexploité.

Endocytose/exocytose d'E-cad et régulation de l'adhérence cellulaire

L'endocytose et le trafic d'E-cad constituent un des modes de régulation de l'adhérence les mieux décrits à ce jour (Bryant & Stow, 2004; D'Souza-Schorey, 2005; Yap *et al.*, 2007; Delva & Kowalczyk, 2009; Wirtz-Peitz & Zallen, 2009; Green *et al.*, 2010). Originellement, l'endocytose d'E-cad fut observée lors de la délamination des cellules après chélation des ions Ca^{2+} (Kartenbeck *et al.*, 1991). Par la suite, le rôle de l'endocytose d'E-cad a aussi été caractérisé lors de l'homéostasie des jonctions matures (Le *et al.*, 1999). Plus récemment, l'étude quantitative de la dynamique d'E-cad aux jonctions a démontré la contribution majoritaire de l'endocytose, par rapport à la

dissociation/association des monomères et leur diffusion membranaire, dans le contrôle de la concentration locale et de la dynamique d'E-cad (de Beco *et al.*, 2009). La régulation du trafic d'E-cad est un processus permettant de réguler finement dans le temps et l'espace la localisation des protéines d'adhérence, et constitue donc un mode prépondérant de régulation de l'adhérence lors du remodelage des tissus. Nous allons ici décrire les modes de régulation de l'endocytose d'E-cad et leurs implications dans la morphogénèse épithéliale et l'homéostasie de l'adhérence cellulaire dans les épithéliums matures.

Régulation des étapes précoces de l'endocytose d'E-cad

La voie principale d'internalisation d'E-cad est la voie clathrine dépendante (Endocytose Clathrine Dépendante, ECD) (Le *et al.*, 1999; Ivanov *et al.*, 2004; Izumi *et al.*, 2004; Xiao *et al.*, 2005), bien qu'il existe d'autres modes d'internalisation tels que la macropinocytose (Akhtar & Hotchin, 2001) ou la voie cavéoline dépendante (Akhtar & Hotchin, 2001). La formation d'endosomes précoces dans l'ECD se divise en deux étapes : une phase d'initiation permettant la concentration du cargo et l'invagination de la membrane, qui dépend du complexe AP2 et du recrutement de la clathrine (Traub, 2009; McMahan & Boucrot, 2011), puis la scission de la membrane cytoplasmique, qui requiert l'action concertée de la GTPase dynamine, la polymérisation d'actine branchée et le recrutement de protéines à domaines BAR (Bin-Amphiphysine-Rvs) favorisant la courbure de la membrane. La régulation de l'endocytose d'E-cad intervient à chacune de ces étapes.

Les caténines jouent un rôle fondamental dans la régulation du trafic vésiculaire d'E-cad. Ainsi, l'association de E-cad à β -cat est indispensable à son adressage aux jonctions et à la stabilité des complexes de E-cad à la membrane (Hinck *et al.*, 1994; Chen *et al.*, 1999; Huber *et al.*, 2001; Huber & Weis, 2001). En l'absence de β -cat, un motif dileucine du domaine intracellulaire d'E-cad cible son transport vers les lysosomes (Miyashita & Ozawa, 2007). Chez la *Drosophila*, l'adressage du pool vésiculaire d'E-cad vers les jonctions dépend aussi de l'interaction entre β -cat et la sous-unité Sec10 du complexe exocyste (un régulateur de l'exocytose) (Langevin *et al.*, 2005). La p120-caténine joue, elle aussi, un rôle clef dans la régulation de l'endocytose d'E-cad. La déplétion de la p120-caténine induit une internalisation massive d'E-cad et son adressage aux lysosomes (Davis *et al.*, 2003; Xiao *et al.*, 2003). L'association de p120-caténine au domaine intracellulaire d'E-cad inhibe son internalisation en masquant un site d'interaction avec le complexe AP2 situé dans le domaine juxtamembranaire d'E-cad (Xiao *et al.*, 2005;

Chiasson *et al.*, 2009). Ce motif dileucine fait partie d'un site consensus de liaison à la sous-unité σ d'AP2 (([ED]xxxL[LI]) (Miyashita & Ozawa, 2007; Kelly *et al.*, 2008). Plus récemment, la résolution de la structure protéique de l'association entre p120-caténine et E-cad a permis de formuler un modèle plus quantitatif du rôle protecteur de p120-caténine. Le site de liaison de p120-caténine à E-cad se compose d'un domaine stable de liaison à E-cad et d'un site de liaison dynamique recouvrant le motif dileucine (Ishiyama *et al.*, 2010). L'affinité du site dynamique est du même ordre de grandeur que l'affinité du motif dileucine pour AP2 (Kelly *et al.*, 2008) ($K_d = 0.85 \mu\text{M}$ AP2/motif LL; $0.6 \mu\text{M}$ site dynamique p120-cat/domaine intracellulaire de E-cad). Le niveau d'E-cad est donc régulé par la compétition permanente entre le site de liaison dynamique de p120-caténine et le complexe AP2 pour se lier au domaine juxtamembranaire d'E-cad. Malgré le rôle fondamental de p120-caténine chez les Mammifères, sa déplétion chez *C. elegans* et chez la Drosophile n'induit que des défauts mineurs dans l'organisation et la concentration aux jonctions d'E-cad (Myser *et al.*, 2003; Pacquelet *et al.*, 2003; Pettitt *et al.*, 2003; Fox *et al.*, 2005). De plus, le motif dileucine n'est pas conservé chez la Drosophile et le domaine intracellulaire d'E-cad ne contient aucun des sites consensus de liaison à AP2 caractérisés à ce jour (observation personnelle). Ces données suggèrent l'existence chez la Drosophile d'un ou plusieurs intermédiaires permettant l'interaction entre E-cad et la machinerie d'endocytose, au même titre que la β -arrestine 2 induit l'endocytose de VE-cad par son interaction avec la clathrine, AP2 et VE-cad chez les Mammifères (Gavard & Gutkind, 2006; Wolfe & Trejo, 2007).

Outre la régulation par la p120-caténine, l'internalisation d'E-cad est aussi régulée par la phosphorylation de certains résidus Tyrosines du domaine intracellulaire. Ainsi, la mono-ubiquitination d'E-cad par l'ubiquitine ligase E3 Hakai induit son internalisation et sa dégradation. L'interaction entre E-cad et Hakai requiert la phosphorylation de certains résidus tyrosines du domaine juxtamembranaire d'E-cad (Fujita *et al.*, 2002). Hakai pourrait être un régulateur clef de l'adhérence puisque sa surexpression est suffisante pour induire la délamination des cellules épithéliales (Fujita *et al.*, 2002). De plus, les deux tyrosines reconnues par Hakai font partie du domaine de liaison stable de p120-caténine au domaine intracellulaire de E-cad (Ishiyama *et al.*, 2010), suggérant une régulation conjointe de l'internalisation de E-cad par le détachement de p120-caténine et la liaison de Hakai. Une fois de plus, ce modèle ne semble pas s'appliquer à la Drosophile, puisque les tyrosines reconnues par Hakai ne sont pas conservées, et la déplétion ou la surexpression de l'homologue d'Hakai dans l'embryon

de Drosophile ne modifie pas les niveaux d'E-cad aux jonctions (Kaido *et al.*, 2009).

Enfin, la régulation de l'internalisation d'E-cad dépend aussi du contrôle de l'étape de scission des vésicules de la membrane cytoplasmique. Ainsi, la GTPase Arf6 promeut l'E-cad de E-cad en augmentant l'activité de la dynamine, grâce au recrutement de la kinase Nm23-H1 qui favorise l'échange GDP-GTP de la dynamine et par conséquent son activation (Palacios *et al.*, 2001; Palacios *et al.*, 2002).

Recyclage et dégradation d'E-cad

À la suite de l'internalisation, les vésicules couvertes de clathrine fusionnent avec les endosomes précoces (marqués par la GTPase Rab5) où s'effectue le tri des cargos pour différentes voies, incluant la voie de recyclage (passant par les endosomes Rab11) ou la voie de dégradation (passant par les endosomes Rab7 puis les lysosomes) (Segev, 2011). E-cad peut opter pour ces différentes voies en fonction du contexte physiologique (Bryant & Stow, 2004). Ainsi, les situations nécessitant une diminution de l'adhérence au long terme impliquent souvent la dégradation d'E-cad par son adressage vers les lysosomes. À titre d'exemple, l'activation de la Transition Epithélio-Mésenchymateuse (TEM) par la kinase Src induit la dégradation d'E-cad grâce à son internalisation et son adressage aux lysosomes (Palacios *et al.*, 2005). Au contraire, l'homéostasie des jonctions adhérentes dans les épithéliums matures ou les remodelages rapides d'épithéliums sans délamination requièrent l'endocytose et le recyclage d'E-cad pour relocaliser celle-ci et modifier son *turnover*. Ainsi, le recyclage d'E-cad par les endosomes Rab11 est nécessaire à la relocalisation du pool basal de E-cad vers les jonctions et au maintien de l'adhérence intercellulaire dans les épithéliums matures de la Drosophile (Langevin *et al.*, 2005) et les cellules de mammifères (Lock & Stow, 2005). Dans le notum (l'épithélium dorsal du thorax de la Drosophile), l'adressage aux jonctions des vésicules d'exocytose contenant E-cad requiert les sous-unités Sec5, Sec6 et Sec15 du complexe exocyste (Langevin *et al.*, 2005). La perturbation de cet adressage induit l'accumulation d'E-cad dans les endosomes de recyclage et la désorganisation des jonctions adhérentes. La régulation des routes empruntées par E-cad après son internalisation a donc un impact direct sur l'adhérence intercellulaire et explique la contribution ambivalente de l'endocytose à la stabilisation et la destruction des jonctions adhérentes. Une meilleure compréhension de la régulation du devenir d'E-cad après son internalisation pourrait ouvrir de nombreuses perspectives dans le domaine de la morphogenèse épithéliale.

Régulation de l'endocytose d'E-cad par l'organisation de l'actine

Outre son rôle clef dans la formation d'agrégats d'E-cad, l'organisation de l'actine peut aussi moduler l'endocytose d'E-cad. Ainsi, les GTPases Rac et Cdc42 inhibent *in vitro* cette endocytose par l'activation de la polymérisation de l'actine branchée (Izumi *et al.*, 2004). Dans le neurectoderme de la Drosophile, Cdc42 est nécessaire à la stabilisation des jonctions, notamment en inhibant l'endocytose d'E-cad et du complexe de polarité apicale Crumb (Harris & Tepass, 2008). Néanmoins, d'autres études ont mis en évidence le rôle positif de l'actine, de Rac et de Cdc42 sur l'internalisation d'E-cad. Ainsi, l'hyperactivation de Rac réduit l'adhérence cellulaire, soit en induisant l'endocytose d'E-cad cavéoline dépendante (Akhtar & Hotchin, 2001), soit par macropinocytose (Bryant *et al.*, 2007). De plus, la polymérisation de l'actine (sous le contrôle du complexe WASp – *Wiskott-Aldrich Syndrom protein* – ARP2/3 et la cortactine) est aussi une étape clef de la scission des vésicules pendant l'Endocytose Clathrine Dépendante (ECD) chez la levure et les mammifères (Kaksonen *et al.*, 2006; Kirchhausen, 2009; Galletta *et al.*, 2010). Cette fonction est aussi nécessaire à l'ECD d'E-cad puisque Cdc42 et WASp sont toutes deux requises pour son internalisation et l'homéostasie des jonctions dans les épithéliums matures de Drosophile (Georgiou *et al.*, 2008; Leibfried *et al.*, 2008). La déplétion de Cdc42, Par6 ou aPKC (complexes localisés dans le domaine apical de la cellule) induit l'accumulation d'E-cad aux jonctions et l'apparition de structures d'endocytose abortives similaires aux tubes membranaires observés lors de la perturbation de l'étape de scission des vésicules (Itoh *et al.*, 2005). Le même phénotype est observé après déplétion de dynamine, Arp2/3, WASp ou de Cip4 (un interacteur de Cdc42 contenant un domaine BAR) (Georgiou *et al.*, 2008; Leibfried *et al.*, 2008), ou la déplétion de Scar (un autre régulateur de l'actine branchée) dans l'embryon précoce de Drosophile (Levayer *et al.*, 2011). Pour chacune de ces conditions, les jonctions adhérentes subissent une désorganisation profonde à long terme, suggérant encore une fois le rôle clef de l'ECD et du recyclage d'E-cad dans l'homéostasie des épithéliums.

Par opposition au rôle de Rac, Cdc42 et de l'actine branchée, la contribution de l'actine filamentaire et de la contractilité (toutes deux régulées par la GTPase Rho) à l'ECD de E-cad n'est pas encore bien caractérisée. Rho a été décrite tour à tour comme inhibitrice de l'ECD dans les cellules non polarisées (Lamaze *et al.*, 1996) ou activatrice dans les cellules épithéliales MDCK (Leung *et al.*, 1999). La même ambivalence se retrouve *in vivo*, où Rho et son effecteur Diaphanous (formine impliquée dans l'allongement de l'actine

filamentaire) ont été, tour à tour, décrits comme stabilisateurs des jonctions adhérentes dans l'embryon tardif de Drosophile (Fox *et al.*, 2005; Homem & Peifer, 2008), ou éléments nécessaires à l'ECD d'E-cad et au remodelage de l'épithélium pendant la gastrulation de la Drosophile (Levayer *et al.*, 2011).

Pour conclure, la contribution de l'actine à l'ECD d'E-cad semble dépendre du contexte physiologique. La variabilité des résultats obtenus pourrait refléter des effets quantitatifs non linéaires des niveaux d'activité des régulateurs de l'actine tels que Rho, Rac et Cdc42, ou encore l'expression différentielle de cofacteurs permissifs ou inhibiteurs de l'ECD d'E-cad.

Implication de l'endocytose d'E-cad pendant la morphogenèse épithéliale

Les épithéliums ont la capacité de se remodeler sans perte de cohésion cellulaire, suggérant une certaine plasticité des contacts adhésifs. Nous avons décrit dans les sections précédentes les nombreux modes de régulation de l'adhérence qui n'impliquent pas une diminution drastique et irréversible de l'adhérence. L'endocytose constante d'E-cad et son recyclage pourraient constituer une solution simple permettant de maintenir la cohésion du tissu, grâce au maintien d'une forte concentration stationnaire d'E-cad, tout en générant la plasticité requise au remodelage grâce à la destruction et la reformation rapide des points d'adhérence. La contribution de l'endocytose d'E-cad aux remodelages peut être de deux types : l'endocytose peut jouer soit un rôle permissif en générant de manière isotrope la plasticité requise au remodelage, soit un rôle instructif, en ciblant spécifiquement les jonctions qui vont se remodeler et en déterminant la polarité de l'ensemble du processus de morphogenèse.

Le rôle permissif de l'ECD d'E-cad s'illustre bien lors de l'élongation des trachées de l'embryon de Drosophile (figure 4). Les trachées de l'embryon forment un réseau complexe de tubes constitués d'une ou plusieurs cellules entourant la lumière. L'élongation et la réduction du diamètre des branches dorsales s'effectuent par des intercalations cellulaires. Elles sont induites par les forces de traction exercées par la migration des cellules distales des tubes (figures 4A, 4B) (Schottenfeld *et al.*, 2010). Par opposition, le tronc dorsal des trachées conserve son diamètre et ne subit pas d'intercalation. L'intercalation dans les branches dorsales requiert l'endocytose d'E-cad et une faible concentration aux jonctions d'E-cad (Shaye *et al.*, 2008). En effet, l'inhibition de l'endocytose par l'expression de Rab5DN (Dominant Négatif) ou dynamine DN est suffisante pour augmenter la concentration aux jonctions d'E-cad et bloquer l'élongation des branches dorsales. Par opposition, la concentration

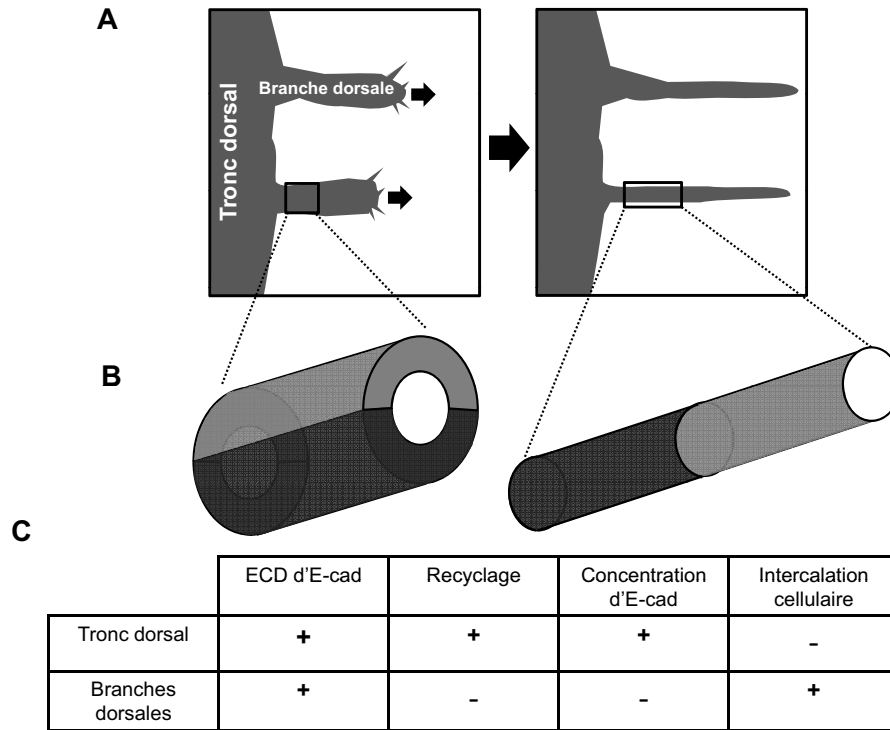


Fig. 4. Intercalation cellulaire et élongation des branches dorsales des trachées de la Drosophile. A : élongation des branches dorsales des trachées de l'embryon de Drosophile. La migration des cellules distales des branches dorsales génère les forces de traction nécessaires à l'élongation. B : l'élongation des branches dorsales requiert l'intercalation des cellules des trachées. L'intercalation conduit à une diminution du diamètre et une augmentation de la longueur du tube. C : niveaux relatifs d'Endocytose Clathrine Dépendante (ECD), de recyclage et de concentration à l'équilibre d'E-cad dans le tronc dorsal et les branches dorsales des trachées. Le faible niveau de recyclage dans les branches dorsales conduit à une diminution des niveaux d'E-cad et permet l'intercalation cellulaire.

d'E-cad reste élevée dans le tronc dorsal notamment grâce à l'activation de Rab11 et de la voie de recyclage (par l'expression localisée dans le tronc dorsal de *dRip11*, un activateur de Rab11). La localisation du remodelage est donc contrôlée par le devenir de la E-cad internalisée : l'activation du recyclage maintient des niveaux élevés d'E-cad et empêche l'intercalation dans le tronc dorsal tandis que les hauts niveaux d'endocytose et les faibles niveaux de recyclage génèrent la plasticité requise à l'intercalation dans les branches dorsales (figure 4C). De plus, lors du remodelage des trachées, l'endocytose d'E-cad est aussi régulée par l'homologue de Src (*Src42A*) (Shindo *et al.*, 2008). *Src42A* est active dans les trachées en cours d'élongation et joue un double rôle : elle réduit la concentration aux jonctions d'E-cad en activant son internalisation, tout en induisant la transcription du gène d'E-cad. Par conséquent, le niveau d'activité de *Src42A* agit principalement sur le *turnover* d'E-cad aux jonctions, tout en maintenant la concentration minimale d'E-cad nécessaire à la cohésion des cellules. Par opposition au modèle proposée par Shaye (Shaye *et al.*, 2008), cette étude suggère que le *turnover* de

E-cad, et non pas sa concentration à l'équilibre, est le paramètre clef générant la plasticité requise pour l'intercalation cellulaire. Récemment, deux études ont également montré l'implication de *Src42A* et du *turnover* d'E-cad dans l'élongation du tronc dorsal des trachées (Forster & Luschnig, 2012; Nelson *et al.*, 2012). Cette élongation dépend d'une augmentation générale de la surface apicale des cellules du tronc (par sécrétion) combinée au rôle instructif de *Src42A* qui polarise l'élongation de la surface apicale des cellules le long de l'axe du tronc. Le rôle instructif de *Src42A* reste partiellement compris puisque il n'y a ni données montrant une activité polarisée de *Src42A*, ni mise en évidence de l'endocytose polarisée d'E-cad.

Le rôle instructif de l'endocytose d'E-cad a aussi été caractérisé dans d'autres systèmes. L'épithélium de l'aile de la puppe de Drosophile est initialement peu organisé et se compose de cellules ayant un nombre variable de jonctions. Il se réorganise ensuite en un réseau régulier d'hexagones par un processus nommé « *packing cellulaire* ». Le *packing cellulaire* s'effectue par la contraction et la croissance sélective de certaines jonctions (Classen *et al.*, 2005) qui induisent

des réarrangements cellulaires. Le blocage de l'endocytose par l'inhibition de la dynamine perturbe le remodelage des jonctions et le *packing* cellulaire. La voie classique de polarité planaire (polarité dans le plan 2D de l'épithélium) est également indispensable au remodelage, probablement grâce au recrutement polarisé de Sec5 (une sous-unité du complexe « exocyste » nécessaire à l'exocytose d'E-cad) par la protéine de polarité Flamingo. Bien que la polarité de l'endocytose et du recyclage de la β -cad n'ait pas été complètement caractérisée dans ce système, ces résultats suggèrent un rôle actif et instructif de l'ECD et du recyclage d'E-cad. Le niveau relatif dans chaque jonction de l'endocytose et de l'exocytose (contrôlée par la localisation polarisée de Sec5) détermine son devenir (contraction ou extension).

Enfin, le rôle instructif de l'endocytose d'E-cad a aussi été caractérisé durant l'élongation de la bandelette germinale (EBG) de la *Drosophile*. Nous avons décrit précédemment l'implication du remodelage polarisé des jonctions cellulaires dans l'allongement de la bandelette germinale. Outre les modifications post-traductionnelles de la β -cat par Ab1 (Tamada *et al.*, 2012), les jonctions verticales et transverses se distinguent aussi par les niveaux relatifs d'E-cad et du moteur moléculaire MyoII (figure 3D) (Bertet *et al.*, 2004; Zallen & Wieschaus, 2004; Blankenship *et al.*, 2006; Simoes Sde *et al.*, 2010; Levayer *et al.*, 2011). Ainsi, les jonctions verticales (les jonctions qui se contractent) se caractérisent par une faible concentration d'E-cad et une forte concentration de MyoII par rapport aux jonctions transverses, contribuant toutes deux, en théorie, à l'augmentation de la tension de surface dans les jonctions verticales (voir première section). La distribution polarisée d'E-cad dépend de deux facteurs : la localisation de la protéine de polarité Par3 dans les jonctions transverses qui stabilise localement E-cad par un mécanisme encore inconnu (Simoes Sde *et al.*, 2010) et les hauts niveaux d'E-cad dans les jonctions verticales (Levayer *et al.*, 2011) nécessaires à la diminution de sa concentration dans ces jonctions (figure 3D). L'E-cad est régulé par l'enrichissement local de MyoII et d'actine filamentaire sous le contrôle de la forme Diaphanous, toutes deux régulées par Rho et RhoGEF2 (Levayer *et al.*, 2011). L'E-cad est nécessaire à l'allongement du tissu, puisque l'inhibition de l'endocytose (en inhibant la clathrine ou la dynamine) uniformise et augmente les niveaux d'E-cad aux jonctions et bloque l'intercalation cellulaire (Levayer *et al.*, 2011). Néanmoins, ce phénotype pourrait aussi s'expliquer par la perturbation de la dynamique et de la localisation de MyoII induite par le blocage de l'E-cad (Levayer *et al.*, 2011), MyoII étant nécessaire à l'intercalation cellulaire (Bertet *et al.*, 2004; Blankenship *et al.*, 2006; Rauzi *et al.*, 2008).

Nous reviendrons sur le couplage entre l'adhérence et la tension dans la dernière section.

Contractilité et adhérence intercellulaire : deux histoires conjointes

L'adhérence intercellulaire et la contractilité du cortex ont été majoritairement traitées comme deux paramètres indépendants affectant la tension de surface et le remodelage des tissus (Lecuit & Lenne, 2007). Néanmoins, ces deux moteurs de la morphogenèse sont difficilement séparables, dans la mesure où ils sont interdépendants. Ainsi, nous avons montré dans la section précédente que la MyoII et l'organisation de l'actine sont toutes deux impliquées dans la maturation des jonctions et participent aussi à la réduction de l'adhérence intercellulaire. En retour, le recrutement d'E-cad modifie l'organisation de l'actine et l'activité de la plupart des RhoGTPases (Cavey & Lecuit, 2009). L'existence de ces rétroactions pourrait s'expliquer par le rôle d'E-cad dans l'ancrage de l'actomyosine aux jonctions et la production d'une tension effective (Levayer & Lecuit, 2012). L'ancrage est aussi nécessaire à la propagation des forces d'une cellule à l'autre et à l'intégration des forces à l'échelle tissulaire. Ainsi, le couplage entre E-cad et MyoII est nécessaire à l'invagination du mésoderme chez la *Drosophile* (Dawes-Hoang *et al.*, 2005; Martin *et al.*, 2010). L'intégration à l'échelle tissulaire des contractions apicales de chaque cellule nécessite la présence d'E-cad. Le remodelage d'un tissu nécessite donc la coordination des machineries d'adhérence et de contractilité.

Cette interdépendance s'illustre dans différents processus morphogénétiques tels que le tri cellulaire ou l'intercalation cellulaire. Deux hypothèses alternatives ont été utilisées pour expliquer le phénomène de tri cellulaire (décrit en première section) : l'hypothèse de l'adhérence différentielle (Steinberg, 1963) et l'hypothèse de la tension différentielle (Krieg *et al.*, 2008). Dans le premier cas, la séparation des cellules en fonction de leur identité dépend de l'expression de différentes cadhérines (voir première section). D'autres phénomènes de tri cellulaire semblent au contraire impliquer la tension différentielle basée sur l'organisation du cortex d'actomyosine, notamment lors de la séparation des feuilletts embryonnaires de la gastrula du poisson zèbre (Krieg *et al.*, 2008). Ces deux hypothèses ne sont néanmoins pas incompatibles, la tension corticale et l'adhérence intercellulaire pouvant toutes deux contribuer à l'augmentation de la tension de surface du groupe de cellules. Ainsi, la ségrégation des clones mutants pour Echinoid (une protéine d'adhérence de la famille des nectines) s'explique par l'adhérence différentielle et la formation de

longs câbles d'actomyosine à la bordure des clones qui empêche le mélange des cellules mutantes et sauvages (Chang *et al.*, 2011). Ces résultats suggèrent l'existence d'une régulation conjointe de l'adhérence intercellulaire et de la tension corticale, contribuant toutes deux au phénomène de tri cellulaire.

Enfin, l'intercalation cellulaire lors de l'élongation de la bandelette germinale met aussi en jeu cette interdépendance. La contraction des jonctions verticales nécessite l'activité de deux populations distinctes de MyoII : une population médio-apicale qui apparaît de manière pulsatile et qui forment des flux contractiles de MyoII se dirigeant préférentiellement vers les jonctions verticales (Rauzi *et al.*, 2010), et une population jonctionnelle nécessaire à la stabilisation de chaque contraction des jonctions verticales (Bertet *et al.*, 2004; Blankenship *et al.*, 2006; Rauzi *et al.*, 2008; Fernandez-Gonzalez *et al.*, 2009; Rauzi *et al.*, 2010). La polarité des flux de MyoII nécessite l'ancrage de MyoII au jonctions adhérentes par α -caténine (Rauzi *et al.*, 2010). De plus, la perturbation de la distribution et des niveaux de E-cad en inhibant l'ECD induit une accumulation de MyoII dans le domaine médio-apical, au détriment de la population jonctionnelle (Levayer *et al.*, 2011). Enfin, la MyoII jonctionnelle est aussi nécessaire à l'ECD de E-cad dans les jonctions verticales (Levayer *et al.*, 2011). Ces résultats démontrent l'existence de régulations mutuelles entre E-cad et MyoII dans l'épithélium précoce qui ont jusqu'à présent empêché l'analyse de la contribution respective de l'adhérence cellulaire et de la tension corticale dans le processus d'intercalation cellulaire.

Plus récemment, nous avons proposé un nouveau modèle expliquant la relation entre les flux de MyoII et la distribution d'E-cad (données non publiées). La génération d'un flux de MyoII requiert une asymétrie dans la distribution d'E-cad. Cette asymétrie génère une instabilité mécanique et induit la traction de la MyoII vers la jonction présentant la plus forte concentration d'E-cad. Dans la bandelette germinale, les fortes concentrations d'E-cad dans les jonctions transverses inhibent la génération de flux en réduisant la probabilité d'obtenir une instabilité mécanique significative le long de l'axe dorso-ventral et en mettant le réseau d'actomyosine sous tension. À l'inverse, les faibles concentrations d'E-cad à l'équilibre et les forts niveaux d'endocytose dans les jonctions verticales génèrent des fluctuations des niveaux d'E-cad, suffisantes pour induire des flux de MyoII, alternant des mouvements vers le pôle antérieur et le pôle postérieur de la cellule. La génération d'un flux requiert l'endocytose d'E-cad, qui est l'élément déclencheur, et une amplification mécanique de l'asymétrie d'E-cad induite par le flux lui-même (le flux de MyoII augmente transitoirement la concentration d'E-cad dans la jonction lui faisant face). Ce modèle illustre encore une

fois le couplage entre la dynamique et la distribution d'E-cad et de MyoII, et suggère l'existence de nombreuses rétroactions entre ces deux composants qui pourraient expliquer l'émergence de comportements complexes tels que des flux et ou des oscillations.

Conclusions

Nous avons décrit dans cette revue l'ensemble des mécanismes permettant de réguler l'adhérence intercellulaire et leurs implications durant la morphogenèse épithéliale. Les modes de régulation de l'adhérence cellulaire sont multiples, néanmoins très peu ont été étudiés *in vivo*. À ce jour, seule l'endocytose d'E-cad a été clairement impliquée dans le remodelage des épithéliums. Néanmoins, les voies de régulation de l'initiation de l'endocytose d'E-cad restent peu connues, plus particulièrement chez la Drosophile et *C. elegans*, de même que la régulation du devenir des protéines internalisées (recyclage ou dégradation). Or ces leviers sont impliqués dans la bifurcation entre un épithélium statique et un épithélium subissant des remodelages, comme nous l'avons vu lors de l'élongation des trachées. La morphogenèse épithéliale constitue donc un terrain idéal pour caractériser les modes de régulation de l'endocytose et du trafic d'E-cad et pourrait apporter beaucoup à un domaine où l'on utilise majoritairement la culture cellulaire. Enfin, les nombreux couplages entre la tension corticale et l'adhérence cellulaire nous montrent que ces deux paramètres sont bien souvent indissociables. Une meilleure compréhension de la morphogenèse épithéliale nécessite donc l'utilisation d'approches intégrées et quantitatives permettant d'évaluer conjointement la dynamique des protéines impliqués dans l'adhérence et de l'actomyosine. L'existence de plusieurs rétroactions entre E-cad et MyoII pourrait générer spontanément des comportements complexes, tels que des oscillations, ou des flux. Les approches *in silico* basées sur des données quantitatives seront donc nécessaires pour comprendre ces comportements non intuitifs.

Remerciements. Je remercie la Fédération Réaumur et l'ensemble des associations membres de la Fondation pour m'avoir donné l'opportunité de présenter ce travail de thèse.

La thèse, dont cet article est issu, a été soutenue par Romain Levayer pour obtenir le titre de Docteur de l'Université de la Méditerranée le 7 octobre 2011, sous le titre « *Regulation of intercellular adhesion during epithelial morphogenesis* ». Elle a reçu le prix de thèse de la Fédération Réaumur.

Références

- Abe K., Takeichi M., EPLIN mediates linkage of the cadherin catenin complex to F-actin and stabilizes the circumferential actin belt. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105, 13–19.
- Adams C.L., Chen Y.T., Smith S.J., Nelson W.J., Mechanisms of epithelial cell-cell adhesion and cell compaction revealed by high-resolution tracking of E-cadherin-green fluorescent protein. *J Cell Biol*, 1998, 142, 1105–1119.
- Akhtar N., Hotchin N.A., RAC1 regulates adherens junctions through endocytosis of E-cadherin. *Mol Biol Cell*, 2001, 12, 847–862.
- Avizienyte E., Fincham V.J., Brunton V.G., Frame M.C., Src SH3/2 domain-mediated peripheral accumulation of Src and phospho-myosin is linked to deregulation of E-cadherin and the epithelial-mesenchymal transition. *Mol Biol Cell*, 2004, 15, 2794–2803.
- Baum B., Georgiou M., Dynamics of adherens junctions in epithelial establishment, maintenance, and remodeling. *J Cell Biol*, 2011, 192, 907–917.
- Baumgartner W., Hinterdorfer P., Ness W., Raab A., Vestweber D., Schindler H., Drenckhahn D., Cadherin interaction probed by atomic force microscopy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97, 4005–4010.
- Baumgartner W., Schutz G.J., Wiegand J., Golenhofen N., Drenckhahn D., Cadherin function probed by laser tweezer and single molecule fluorescence in vascular endothelial cells. *J Cell Sci*, 2003, 116, 1001–1011.
- Bershadsky A., Magic touch: how does cell-cell adhesion trigger actin assembly? *Trends Cell Biol*, 2004, 14, 589–593.
- Bertet C., Sulak L., Lecuit T., Myosin-dependent junction remodelling controls planar cell intercalation and axis elongation. *Nature*, 2004, 429, 667–671.
- Bhowmick N.A., Ghiassi M., Bakin A., Aakre M., Lundquist C.A., Engel M.E., Arteaga C.L., Moses H.L., Transforming growth factor-beta1 mediates epithelial to mesenchymal transdifferentiation through a RhoA-dependent mechanism. *Mol Biol Cell*, 2001, 12, 27–36.
- Blankenship J.T., Backovic S.T., Sanny J.S., Weitz O., Zallen J.A., Multicellular rosette formation links planar cell polarity to tissue morphogenesis. *Dev Cell*, 2006, 11, 459–470.
- Boggon T.J., Murray J., Chappuis-Flament S., Wong E., Gumbiner B.M., Shapiro L., C-cadherin ectodomain structure and implications for cell adhesion mechanisms. *Science*, 2002, 296, 1308–1313.
- Braga V.M., Yap A.S., The challenges of abundance : epithelial junctions and small GTPase signalling. *Curr Opin Cell Biol*, 2005, 17, 466–474.
- Brembeck F.H., Schwarz-Romond T., Bakkers J., Wilhelm S., Hammerschmidt M., Birchmeier W., Essential role of BCL9-2 in the switch between beta-catenin's adhesive and transcriptional functions. *Genes Dev*, 2004, 18, 2225–2230.
- Brieher W.M., Yap A.S., Gumbiner B.M., Lateral dimerization is required for the homophilic binding activity of C-cadherin. *J Cell Biol*, 1996, 135, 487–496.
- Bryant D.M., Stow J.L., The ins and outs of E-cadherin trafficking. *Trends Cell Biol*, 2004, 14, 427–434.
- Bryant D.M., Kerr M.C., Hammond L.A., Joseph S.R., Mostov K.E., Teasdale R.D., Stow J.L., EGF induces macropinocytosis and SNX1-modulated recycling of E-cadherin. *J Cell Sci*, 2007, 120, 1818–1828.
- Cano A., Perez-Moreno M.A., Rodrigo I., Locascio A., Blanco M.J., del Barrio M.G., Portillo F., Nieto M.A., The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression. *Nat Cell Biol*, 2000, 2, 76–83.
- Cavey M., Rauzi M., Lenne P.F., Lecuit T., A two-tiered mechanism for stabilization and immobilization of E-cadherin. *Nature*, 2008, 453, 751–756.
- Cavey M., Lecuit T., Molecular bases of cell-cell junctions stability and dynamics. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2009, 1, a002998.
- Chang L.H., Chen P., Lien M.T., Ho Y.H., Lin C.M., Pan Y.T., Wei S.Y., Hsu J.C., Differential adhesion and actomyosin cable collaborate to drive Echinoid-mediated cell sorting. *Development*, 2011, 138, 3803–3812.
- Chausovsky A., Bershadsky A.D., Borisy G.G., Cadherin-mediated regulation of microtubule dynamics. *Nat Cell Biol*, 2000, 2, 797–804.
- Chen Y.T., Stewart D.B., Nelson W.J., Coupling assembly of the E-cadherin/beta-catenin complex to efficient endoplasmic reticulum exit and basal-lateral membrane targeting of E-cadherin in polarized MDCK cells. *J Cell Biol*, 1999, 144, 687–699.
- Chen X., Kojima S., Borisy G.G., Green K.J., p120 catenin associates with kinesin and facilitates the transport of cadherin-catenin complexes to intercellular junctions. *J Cell Biol*, 2003, 163, 547–557.
- Chiasson C.M., Wittich K.B., Vincent P.A., Faundez V., Kowalczyk A.P., p120-catenin inhibits VE-cadherin internalization through a Rho-independent mechanism. *Mol Biol Cell*, 2009, 20, 1970–1980.
- Choi H.J., Huber A.H., Weis W.I., Thermodynamics of beta-catenin-ligand interactions: the roles of the N- and C-terminal tails in modulating binding affinity. *J Biol Chem*, 2006, 281, 1027–1038.
- Classen A.K., Anderson K.I., Marois E., Eaton S., Hexagonal packing of *Drosophila* wing epithelial cells by the planar cell polarity pathway. *Dev Cell*, 2005, 9, 805–817.
- D'Souza-Schorey C., Disassembling adherens junctions: breaking up is hard to do. *Trends Cell Biol*, 2005, 15, 19–26.
- Dahmann C., Basler K., Opposing transcriptional outputs of Hedgehog signaling and engrailed control compartmental cell sorting at the *Drosophila* A/P boundary. *Cell*, 2000, 100, 411–422.
- Dahmann C., Oates A.C., Brand M., Boundary formation and maintenance in tissue development. *Nat Rev Genet*, 2011, 12, 43–55.

- Davis M.A., Ireton R.C., Reynolds A.B., A core function for p120-catenin in cadherin turnover. *J Cell Biol*, 2003, 163, 525–534.
- Dawes-Hoang R.E., Parmar K.M., Christiansen A.E., Phelps C.B., Brand A.H., Wieschaus E.F., folded gastrulation, cell shape change and the control of myosin localization. *Development*, 2005, 132, 4165–4178.
- de Beco S., Gueudry C., Amblard F., Coscoy S., Endocytosis is required for E-cadherin redistribution at mature adherens junctions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106, 7010–7015.
- De Vries W.N., Evsikov A.V., Haac B.E., Fancher K.S., Holbrook A.E., Kemler R., Solter D., Knowles B.B., Maternal beta-catenin and E-cadherin in mouse development. *Development*, 2004, 131, 4435–4445.
- Delanoe-Ayari H., Al Kurdi R., Vallade M., Gulino-Debrac D., Riveline D., Membrane and acto-myosin tension promote clustering of adhesion proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101, 2229–2234.
- Delva, E., Kowalczyk A.P., Regulation of cadherin trafficking. *Traffic*, 2009, 10, 259–267.
- Drees F., Pokutta S., Yamada S., Nelson W.J., Weis W.I., Alpha-catenin is a molecular switch that binds E-cadherin-beta-catenin and regulates actin-filament assembly. *Cell*, 2005, 123, 903–915.
- Duguay D., Foty R.A., Steinberg M.S., Cadherin-mediated cell adhesion and tissue segregation: qualitative and quantitative determinants. *Dev Biol*, 2003, 253, 309–323.
- Evans E., Yeung A., Apparent viscosity and cortical tension of blood granulocytes determined by micropipet aspiration. *Biophys J*, 1989, 56, 151–160.
- Fernandez-Gonzalez R., Simoes Sde M., Roper J.C., Eaton S., Zallen J.A., Myosin II dynamics are regulated by tension in intercalating cells. *Dev Cell*, 2009, 17, 736–743.
- Forster D., Luschnig S., Src42A-dependent polarized cell shape changes mediate epithelial tube elongation in *Drosophila*. *Nat Cell Biol*, 2012
- Foty R.A., Steinberg M.S., The differential adhesion hypothesis: a direct evaluation. *Dev Biol*, 2005, 278, 255–263.
- Foty R.A., Pflieger C.M., Forgacs G., Steinberg M.S., Surface tensions of embryonic tissues predict their mutual envelopment behavior. *Development*, 1996, 122, 1611–1620.
- Fox D.T., Homem C.C., Myster S.H., Wang F., Bain E.E., Peifer M., Rho1 regulates *Drosophila* adherens junctions independently of p120ctn. *Development*, 2005, 132, 4819–4831.
- Fujita Y., Krause G., Scheffner M., Zechner D., Leddy H.E., Behrens J., Sommer T., Birchmeier W., Hakai, a c-Cbl-like protein, ubiquitinates and induces endocytosis of the E-cadherin complex. *Nat Cell Biol*, 2002, 4, 222–231.
- Galletta B.J., Mooren O.L., Cooper J.A., Actin dynamics and endocytosis in yeast and mammals. *Curr Opin Biotechnol*, 2010, 21, 604–610.
- Gavard J., Gutkind J.S., VEGF controls endothelial-cell permeability by promoting the beta-arrestin-dependent endocytosis of VE-cadherin. *Nat Cell Biol*, 2006, 8, 1223–1234.
- Georgiou M., Marinari E., Burden J., Baum B., Cdc42, Par6, and aPKC regulate Arp2/3-mediated endocytosis to control local adherens junction stability. *Curr Biol*, 2008, 18, 1631–1638.
- Gibson M.C., Patel A.B., Nagpal R., Perrimon N., The emergence of geometric order in proliferating metazoan epithelia. *Nature*, 2006, 442, 1038–1041.
- Gloushankova N.A., Alieva N.A., Krendel M.F., Bonder E.M., Feder H.H., Vasiliev J.M., Gelfand I.M., Cell-cell contact changes the dynamics of lamellar activity in nontransformed epitheliocytes but not in their ras-transformed descendants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94, 879–883.
- Gorfinkiel N., Blanchard G.B., Dynamics of actomyosin contractile activity during epithelial morphogenesis. *Curr Opin Cell Biol*, 2011, 23, 531–539.
- Green K.J., Getsios S., Troyanovsky S., Godsel L.M., Intercellular junction assembly, dynamics, and homeostasis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 2, a000125.
- Gumbiner B.M., Regulation of cadherin-mediated adhesion in morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6, 622–634.
- Harris K.P., Tepass U., Cdc42 and Par proteins stabilize dynamic adherens junctions in the *Drosophila* neuroectoderm through regulation of apical endocytosis. *J Cell Biol*, 2008, 183, 1129–1143.
- Harris T.J., Tepass U., Adherens junctions: from molecules to morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11, 502–514.
- Harrison O.J., Jin X., Hong S., Bahna F., Ahlsen G., Brasch J., Wu Y., Vendome J., Felsovalyi K., Hampton C.M., Troyanovsky R.B., Ben-Shaul A., Frank J., Troyanovsky S.M., Shapiro L., Honig B., The extracellular architecture of adherens junctions revealed by crystal structures of type I cadherins. *Structure*, 2011, 19, 244–256.
- Haussinger D., Ahrens T., Aberle T., Engel J., Stetefeld J., Grzesiek S., Proteolytic E-cadherin activation followed by solution NMR and X-ray crystallography. *EMBO J*, 2004, 23, 1699–1708.
- Hayashi T., Carthew R.W., Surface mechanics mediate pattern formation in the developing retina. *Nature*, 2004, 431, 647–652.
- Hinck L., Nathke I.S., Papkoff J., Nelson W.J., Dynamics of cadherin/catenin complex formation: novel protein interactions and pathways of complex assembly. *J Cell Biol*, 1994, 125, 1327–1340.
- Hirano S., Nose A., Hatta K., Kawakami A., Takeichi M., Calcium-dependent cell-cell adhesion molecules (cadherins): subclass specificities and possible involvement of actin bundles. *J Cell Biol*, 1987, 105, 2501–2510.
- Homem C.C., Peifer M., Diaphanous regulates myosin and adherens junctions to control cell contractility

- and protrusive behavior during morphogenesis. *Development*, 2008, 135, 1005–1018.
- Huber A.H., Weis W.I., The structure of the beta-catenin/E-cadherin complex and the molecular basis of diverse ligand recognition by beta-catenin. *Cell*, 2001, 105, 391–402.
- Huber A.H., Stewart D.B., Laurents D.V., Nelson W.J., Weis W.I., The cadherin cytoplasmic domain is unstructured in the absence of beta-catenin. A possible mechanism for regulating cadherin turnover. *J Biol Chem*, 2001, 276, 12301–12309.
- Hulpiau P., van Roy F., Molecular evolution of the cadherin superfamily. *Int J Biochem Cell Biol*, 2009, 41, 349–369.
- Ishiyama N., Lee S.H., Liu S., Li G.Y., Smith M.J., Reichardt L.F., Ikura M., Dynamic and static interactions between p120 catenin and E-cadherin regulate the stability of cell-cell adhesion. *Cell*, 2010, 141, 117–128.
- Itoh T., Erdmann K.S., Roux A., Habermann B., Werner H., De Camilli P., Dynamin and the actin cytoskeleton cooperatively regulate plasma membrane invagination by BAR and F-BAR proteins. *Dev Cell*, 2005, 9, 791–804.
- Ivanov A.I., Nusrat A., Parkos C.A., Endocytosis of epithelial apical junctional proteins by a clathrin-mediated pathway into a unique storage compartment. *Mol Biol Cell*, 2004, 15, 176–188.
- Izumi G., Sakisaka T., Baba T., Tanaka S., Morimoto K., Takai Y., Endocytosis of E-cadherin regulated by Rac and Cdc42 small G proteins through IQGAP1 and actin filaments. *J Cell Biol*, 2004, 166, 237–248.
- Kaido M., Wada H., Shindo M., Hayashi S., Essential requirement for RING finger E3 ubiquitin ligase Hakai in early embryonic development of *Drosophila*. *Genes Cells*, 2009, 14, 1067–1077.
- Kaksonen M., Toret C.P., Drubin D.G., Harnessing actin dynamics for clathrin-mediated endocytosis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7, 404–414.
- Kartenbeck J., Schmelz M., Franke W.W., Geiger B., Endocytosis of junctional cadherins in bovine kidney epithelial (MDBK) cells cultured in low Ca²⁺ ion medium. *J Cell Biol*, 1991, 113, 881–892.
- Kasza K.E., Zallen J.A., Dynamics and regulation of contractile actin-myosin networks in morphogenesis. *Curr Opin Cell Biol*, 2011, 23, 30–38.
- Kelly B.T., McCoy A.J., Spate K., Miller S.E., Evans P.R., Honing S., Owen D.J., A structural explanation for the binding of endocytic dileucine motifs by the AP2 complex. *Nature*, 2008, 456, 976–979.
- Kirchhausen T., Imaging endocytic clathrin structures in living cells. *Trends Cell Biol*, 2009, 19, 596–605.
- Krendel M., Gloushankova N.A., Bonder E.M., Feder H.H., Vasiliev J.M., Gelfand I.M., Myosin-dependent contractile activity of the actin cytoskeleton modulates the spatial organization of cell-cell contacts in cultured epitheliocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96, 9666–9670.
- Krieg M., Arboleda-Estudillo Y., Puech P.H., Kafer J., Graner F., Muller D. J., Heisenberg C.P., Tensile forces govern germ-layer organization in zebrafish. *Nat Cell Biol*, 2008, 10, 429–436.
- Ladoux B., Anon E., Lambert M., Rabodzey A., Hersen P., Buguin A., Silberzan P., Mege R.M., Strength dependence of cadherin-mediated adhesions. *Biophys J*, 2010, 98, 534–542.
- Lamaze C., Chuang T.H., Terlecky L.J., Bokoch G.M., Schmid S.L., Regulation of receptor-mediated endocytosis by Rho and Rac. *Nature*, 1996, 382, 177–179.
- Landsberg K.P., Farhadifar R., Ranft J., Umetsu D., Widmann T.J., Bittig T., Said A., Julicher F., Dahmann C., Increased cell bond tension governs cell sorting at the *Drosophila* anteroposterior compartment boundary. *Curr Biol*, 2009, 19, 1950–1955.
- Langevin J., Morgan M.J., Sibarita J.B., Aresta S., Murthy M., Schwarz T., Camonis J., Bellaiche Y., *Drosophila* exocyst components Sec5, Sec6, and Sec15 regulate DE-Cadherin trafficking from recycling endosomes to the plasma membrane. *Dev Cell*, 2005, 9, 365–376.
- Le T.L., Yap A.S., Stow J.L., Recycling of E-cadherin : a potential mechanism for regulating cadherin dynamics. *J Cell Biol*, 1999, 146, 219–232.
- Leckband D.E., le Duc Q., Wang N., de Rooij J., Mechanotransduction at cadherin-mediated adhesions. *Curr Opin Cell Biol*, 2011, 23, 523–530.
- Lecuit T., Le Goff L., Orchestrating size and shape during morphogenesis. *Nature*, 2007, 450, 189–192.
- Lecuit T., Lenne P.F., Cell surface mechanics and the control of cell shape, tissue patterns and morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8, 633–644.
- Leibfried A., Fricke R., Morgan M.J., Bogdan S., Bellaiche Y., *Drosophila* Cip4 and WASp define a branch of the Cdc42-Par6-aPKC pathway regulating E-cadherin endocytosis. *Curr Biol*, 2008, 18, 1639–1648.
- Leung S.M., Rojas R., Maples C., Flynn C., Ruiz W.G., Jou T.S., Apodaca G., Modulation of endocytic traffic in polarized Madin-Darby canine kidney cells by the small GTPase RhoA. *Mol Biol Cell*, 1999, 10, 4369–4384.
- Levayer R., Lecuit T., Biomechanical regulation of contractility: spatial control and dynamics. *Trends Cell Biol*, 2012, 22, 61–81.
- Levayer R., Pelissier-Monier A., Lecuit T., Spatial regulation of Dia and Myosin-II by RhoGEF2 controls initiation of E-cadherin endocytosis during epithelial morphogenesis. *Nat Cell Biol*, 2011, 13, 529–540.
- Lickert H., Bauer A., Kemler R., Stappert J., Casein kinase II phosphorylation of E-cadherin increases E-cadherin/beta-catenin interaction and strengthens cell-cell adhesion. *J Biol Chem*, 2000, 275, 5090–5095.
- Lock J.G., Stow J.L., Rab11 in recycling endosomes regulates the sorting and basolateral transport of E-cadherin. *Mol Biol Cell*, 2005, 16, 1744–1755.
- Lye C.M., Sanson B., Tension and epithelial morphogenesis in *Drosophila* early embryos. *Curr Top Dev Biol*, 2011, 95, 145–187.
- Martin A.C., Pulsation and stabilization: contractile forces that underlie morphogenesis. *Dev Biol*, 2010, 341, 114–125.

- Martin A.C., Gelbart M., Fernandez-Gonzalez R., Kaschube M., Wieschaus E.F., Integration of contractile forces during tissue invagination. *J Cell Biol*, 2010, 188, 735–749.
- Mary S., Charrasse S., Meriane M., Comunale F., Travo P., Blangy A., Gauthier-Rouvière C., Biogenesis of N-cadherin-dependent cell-cell contacts in living fibroblasts is a microtubule-dependent kinesin-driven mechanism. *Mol Biol Cell*, 2002, 13, 285–301.
- McMahon H.T., Boucrot E., Molecular mechanism and physiological functions of clathrin-mediated endocytosis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011, 12, 517–533.
- Meng W., Mushika Y., Ichii T., Takeichi M., Anchorage of microtubule minus ends to adherens junctions regulates epithelial cell-cell contacts. *Cell*, 2008, 135, 948–959.
- Miyashita Y., Ozawa M., Increased internalization of p120-uncoupled E-cadherin and a requirement for a dileucine motif in the cytoplasmic domain for endocytosis of the protein. *J Biol Chem*, 2007, 282, 11540–11548.
- Miyashita Y., Ozawa M., A dileucine motif in its cytoplasmic domain directs beta-catenin-uncoupled E-cadherin to the lysosome. *J Cell Sci*, 2007, 120, 4395–4406.
- Monier B., Pelissier-Monier A., Sanson B., Establishment and maintenance of compartmental boundaries: role of contractile actomyosin barriers. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68, 1897–1910.
- Myster S.H., Cavallo R., Anderson C.T., Fox D.T., Peifer M., *Drosophila* p120catenin plays a supporting role in cell adhesion but is not an essential adherens junction component. *J Cell Biol*, 2003, 160, 433–449.
- Nelson K.S., Khan Z., Molnar I., Mihaly J., Kaschube M., Beitel G.J., *Drosophila* Src regulates anisotropic apical surface growth to control epithelial tube size. *Nat Cell Biol*, 2012
- Overduin M., Harvey T.S., Bagby S., Tong K.I., Yau P., Takeichi M., Ikura M., Solution structure of the epithelial cadherin domain responsible for selective cell adhesion. *Science*, 1995, 267, 386–389.
- Pacquelet A., Lin L., Rorth P., Binding site for p120/delta-catenin is not required for *Drosophila* E-cadherin function in vivo. *J Cell Biol*, 2003, 160, 313–319.
- Palacios F., Price L., Schweitzer J., Collard J.G., D'Souza-Schorey C., An essential role for ARF6-regulated membrane traffic in adherens junction turnover and epithelial cell migration. *EMBO J*, 2001, 20, 4973–4986.
- Palacios F., Schweitzer J.K., Boshans R.L., D'Souza-Schorey C., ARF6-GTP recruits Nm23-H1 to facilitate dynamin-mediated endocytosis during adherens junctions disassembly. *Nat Cell Biol*, 2002, 4, 929–936.
- Palacios F., Tushir J.S., Fujita Y., D'Souza-Schorey C., Lysosomal targeting of E-cadherin: a unique mechanism for the down-regulation of cell-cell adhesion during epithelial to mesenchymal transitions. *Mol Cell Biol*, 2005, 25, 389–402.
- Perret E., Benoliel A.M., Nassoy P., Pierres A., Delmas V., Thiery J.P., Bongrand P., Feracci H., Fast dissociation kinetics between individual E-cadherin fragments revealed by flow chamber analysis. *EMBO J*, 2002, 21, 2537–2546.
- Pettitt J., Cox E.A., Broadbent I.D., Flett A., Hardin J., The *Caenorhabditis elegans* p120 catenin homologue, JAC-1, modulates cadherin-catenin function during epidermal morphogenesis. *J Cell Biol*, 2003, 162, 15–22.
- Piedra J., Miravet S., Castano J., Palmer H.G., Heisterkamp N., Garcia de Herreros A., Dunach M., p120 Catenin-associated Fer and Fyn tyrosine kinases regulate beta-catenin Tyr-142 phosphorylation and beta-catenin-alpha-catenin interaction. *Mol Cell Biol*, 2003, 23, 2287–2297.
- Plateau J., Statique Expérimentale et Théorique des Liquides Soumis aux Seules Forces Moléculaires, 1873, Gauthier-Villars, Paris
- Pokutta S., Weis W.I., Structure and mechanism of cadherins and catenins in cell-cell contacts. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2007, 23, 237–261.
- Pokutta S., Herrenknecht K., Kemler R., Engel J., Conformational changes of the recombinant extracellular domain of E-cadherin upon calcium binding. *Eur J Biochem*, 1994, 223, 1019–1026.
- Quintin S., Gally C., Labouesse M., Epithelial morphogenesis in embryos: asymmetries, motors and brakes. *Trends Genet*, 2008, 24, 221–230.
- Rauzi M., Vérand P., Lecuit T., Lenne P.F., Nature and anisotropy of cortical forces orienting *Drosophila* tissue morphogenesis. *Nat Cell Biol*, 2008, 10, 1401–1410.
- Rauzi M., Lenne P.F., Lecuit T., Planar polarized actomyosin contractile flows control epithelial junction remodelling. *Nature*, 2010, 468, 1110–1114.
- Rodewald R., Newman S.B., Karnovsky M.J., Contraction of isolated brush borders from the intestinal epithelium. *J Cell Biol*, 1976, 70, 541–554.
- Roura S., Miravet S., Piedra J., Garcia de Herreros A., Dunach M., Regulation of E-cadherin/Catenin association by tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem*, 1999, 274, 36734–36740.
- Sahai E., Marshall C.J., ROCK and Dia have opposing effects on adherens junctions downstream of Rho. *Nat Cell Biol*, 2002, 4, 408–415.
- Schottenfeld J., Song Y., Ghabrial A.S., Tube continued: morphogenesis of the *Drosophila* tracheal system. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22, 633–639.
- Segev, N., Coordination of intracellular transport steps by GTPases. *Semin Cell Dev Biol*, 2011, 22, 33–38.
- Shapiro L., Fannon A.M., Kwong P.D., Thompson A., Lehmann M.S., Grubel G., Legrand J.F., Als-Nielsen J., Colman D.R., Hendrickson W.A., Structural basis of cell-cell adhesion by cadherins. *Nature*, 1995, 374, 327–337.
- Shaye D.D., Casanova J., Llimargas M., Modulation of intracellular trafficking regulates cell intercalation in the *Drosophila* trachea. *Nat Cell Biol*, 2008, 10, 964–970.
- Shewan A.M., Maddugoda M., Kraemer A., Stehbens S.J., Verma S., Kovacs E.M., Yap A.S., Myosin 2 is a key Rho kinase target necessary for the local concentration of E-cadherin at cell-cell contacts. *Mol Biol Cell*, 2005, 16, 4531–4542.

- Shindo M., Wada H., Kaido M., Tateno M., Aigaki T., Tsuda L., Hayashi S., Dual function of Src in the maintenance of adherens junctions during tracheal epithelial morphogenesis. *Development*, 2008, 135, 1355–1364.
- Simoës Sde M., Blankenship J.T., Weitz O., Farrell D.L., Tamada M., Fernandez-Gonzalez R., Zallen J.A., Rho-kinase directs Bazooka/Par-3 planar polarity during *Drosophila* axis elongation. *Dev Cell*, 2010, 19, 377–388.
- Smutny M., Cox H.L., Leerberg J.M., Kovacs E.M., Conti M.A., Ferguson C., Hamilton N.A., Parton R.G., Adelstein R.S., Yap A.S., Myosin II isoforms identify distinct functional modules that support integrity of the epithelial zonula adherens. *Nat Cell Biol*, 2010, 12, 696–702.
- Stehbens S.J., Paterson A.D., Crampton M.S., Shewan A.M., Ferguson C., Akhmanova A., Parton R.G., Yap A.S., Dynamic microtubules regulate the local concentration of E-cadherin at cell-cell contacts. *J Cell Sci*, 2006, 119, 1801–1811.
- Steinberg M.S., Reconstruction of tissues by dissociated cells. Some morphogenetic tissue movements and the sorting out of embryonic cells may have a common explanation. *Science*, 1963, 141, 401–408.
- Takeichi M., Hatta K., Nose A., Nagafuchi A., Identification of a gene family of cadherin cell adhesion molecules. *Cell Differ Dev*, 1988, 25 Suppl, 91–94.
- Tamada M., Farrell D.L., Zallen J.A., Abl regulates planar polarized junctional dynamics through beta-catenin tyrosine phosphorylation. *Dev Cell*, 2012, 22, 309–319.
- Tepass U., Hartenstein V., The development of cellular junctions in the *Drosophila* embryo. *Dev Biol*, 1994, 161, 563–596.
- Tepass U., Tanentzapf G., Ward R., Fehon R., Epithelial cell polarity and cell junctions in *Drosophila*. *Annu Rev Genet*, 2001, 35, 747–784.
- Thiery J.P., Aclouque H., Huang R.Y., Nieto M.A., Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*, 2009, 139, 871–890.
- Thompson, D.A., *On Growth and Form*, 1917, Cambridge University Press, Cambridge
- Togashi H., Kominami K., Waseda M., Komura H., Miyoshi J., Takeichi M., Takai Y., Nectins establish a checkerboard-like cellular pattern in the auditory epithelium. *Science*, 2011, 333, 1144–1147.
- Tominaga J., Fukunaga Y., Abelardo E., Nagafuchi A., Defining the function of beta-catenin tyrosine phosphorylation in cadherin-mediated cell-cell adhesion. *Genes Cells*, 2008, 13, 67–77.
- Traub L.M., Tickets to ride: selecting cargo for clathrin-regulated internalization. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10, 583–596.
- Troyanovsky, S., Cadherin dimers in cell-cell adhesion. *Eur J Cell Biol*, 2005, 84, 225–233.
- Troyanovsky R.B., Sokolov E., Troyanovsky S.M., Adhesive and lateral E-cadherin dimers are mediated by the same interface. *Mol Cell Biol*, 2003, 23, 7965–7972.
- Vicente-Manzanares M., Ma X., Adelstein R.S., Horwitz A.R., Non-muscle myosin II takes centre stage in cell adhesion and migration. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10, 778–790.
- Wirtz-Peitz F., Zallen J.A., Junctional trafficking and epithelial morphogenesis. *Curr Opin Genet Dev*, 2009, 19, 350–356.
- Wolfe B.L., Trejo J., Clathrin-dependent mechanisms of G protein-coupled receptor endocytosis. *Traffic*, 2007, 8, 462–470.
- Xiao K., Allison D.F., Buckley K.M., Kottke M.D., Vincent P.A., Faundez V., Kowalczyk A.P., Cellular levels of p120 catenin function as a set point for cadherin expression levels in microvascular endothelial cells. *J Cell Biol*, 2003, 163, 535–545.
- Xiao K., Garner J., Buckley K.M., Vincent P.A., Chiasson C.M., Dejana E., Faundez V., Kowalczyk A.P., p120-Catenin regulates clathrin-dependent endocytosis of VE-cadherin. *Mol Biol Cell*, 2005, 16, 5141–5151.
- Yamada S., Nelson W.J., Localized zones of Rho and Rac activities drive initiation and expansion of epithelial cell-cell adhesion. *J Cell Biol*, 2007, 178, 517–527.
- Yamada S., Pokutta S., Drees F., Weis W.I., Nelson W.J., Deconstructing the cadherin-catenin-actin complex. *Cell*, 2005, 123, 889–901.
- Yang J., Weinberg R.A., Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis. *Dev Cell*, 2008, 14, 818–829.
- Yap A.S., Briehner 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.
- Yap A.S., Crampton M.S., Hardin J., Making and breaking contacts: the cellular biology of cadherin regulation. *Curr Opin Cell Biol*, 2007, 19, 508–514.
- Yonemura S., Wada Y., Watanabe T., Nagafuchi A., Shibata M., Alpha-Catenin as a tension transducer that induces adherens junction development. *Nat Cell Biol*, 2010, 12, 533–542.
- Yoshida C., Takeichi M., Teratocarcinoma cell adhesion: identification of a cell-surface protein involved in calcium-dependent cell aggregation. *Cell*, 1982, 28, 217–224.
- Yoshida-Noro C., Suzuki N., Takeichi M., Molecular nature of the calcium-dependent cell-cell adhesion system in mouse teratocarcinoma and embryonic cells studied with a monoclonal antibody. *Dev Biol*, 1984, 101, 19–27.
- Zallen J.A., Wieschaus E., Patterned gene expression directs bipolar planar polarity in *Drosophila*. *Dev Cell*, 2004, 6, 343–355.
- Zhang J., Betson M., Erasmus J., Zeikos K., Bailly M., Cramer L.P., Braga V.M., Actin at cell-cell junctions is composed of two dynamic and functional populations. *J Cell Sci*, 2005, 118, 5549–5562.
- Zhang Y., Sivasankar S., Nelson W.J., Chu S., Resolving cadherin interactions and binding cooperativity at the single-molecule level. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106, 109–114.