

Activation inappropriée de la protéine kinase A dans les tumeurs endocrines du complexe de Carney

La voie de signalisation impliquant l'AMP cyclique (AMPc) joue un rôle important dans la différenciation de nombreux types cellulaires et exerce une action complexe sur la prolifération cellulaire. Dans de nombreux tissus, elle inhibe la prolifération cellulaire, tandis que dans certains tissus endocriniens, comme la thyroïde ou les cellules somatotropes de l'antéhypophyse, elle exerce au contraire un effet prolifératif. Dans ces tissus endocriniens, l'AMPc est habituellement le second messager d'hormones peptidiques, dont la liaison à un récepteur à sept domaines transmembranaires couplé à une protéine Gs active l'adénylyl cyclase. Ces hormones jouent le plus souvent un rôle indispensable dans le développement, la différenciation et la prolifération cellulaires, comme le peptide hypothalamique GHRH (*growth hormone-releasing hormone*) dans l'antéhypophyse. Ce rôle important est illustré par les mutations inactivatrices du récepteur du GHRH qui, chez l'homme comme chez la souris, sont responsables d'une hypoplasie hypophysaire avec nanisme par déficit somatotrope [1]. Inversement, la stimulation excessive de la voie de signalisation de l'AMPc entraîne une hyperplasie et une hyperactivité des tissus cibles [1]. Cette stimulation peut être due à une sécrétion ectopique tumorale de l'hormone comme la GHRH, la TSH (*thyroid stimulating hormone*) ou l'ACTH responsables respectivement d'adénome hypophysaire somatotrope avec acromégalie, de goitres avec hyperthyroïdie, et d'hyperplasie

simple ou nodulaire des surrénales avec syndrome de Cushing. Depuis dix ans, des anomalies cellulaires conduisant à une activation de la voie de signalisation de l'AMPc ont été décrites dans les tumeurs endocrines. Il peut s'agir de mutations somatiques activatrices d'un récepteur comme celui de la TSH dans les adénomes toxiques de la thyroïde [2], de l'expression ectopique d'un récepteur [3], *m/s* 1998, n° 12, p. 1382 et 2000, n° 3, p. 452), ou de mutations activatrices de la protéine de couplage Gs α (oncogène Gsp) (*figure 1*). Ces dernières peuvent être somatiques comme dans certains adénomes hypophysaires somatotropes ou tumeurs de la thyroïde [4]. Elles peuvent aussi être présentes à l'état de mosaïque chez des patients atteints de syndrome de McCune-Albright qui associe des taches cutanées café au lait, une dysplasie fibreuse des os, et différentes tumeurs endocrines, adénomes hypophysaires à GH, puberté précoce avec kystes ovariens, hyperplasie nodulaire des surrénales avec hypercorticisme... ([5] et *m/s* 1995, n° 1, p. 105). Une autre pathologie de transmission autosomique dominante, le complexe de Carney, rappelle par certaines de ses manifestations le syndrome de McCune-Albright [6]. Il associe des tumeurs des glandes endocrines et d'autres tissus, ainsi qu'une atteinte cutanée. Les manifestations endocriniennes sont nombreuses mais variables selon les patients: adénomes hypophysaires somatotropes, hypercorticisme indépendant de l'ACTH par hyperplasie

nodulaire pigmentée des surrénales, tumeurs testiculaires et thyroïdiennes. La particularité de ce syndrome sur le plan histologique est le caractère pigmenté des nodules surrénaux, et l'on observe souvent une lentiginose périorificielle se traduisant par des petites zones d'hyperpigmentation. Des myxomes cardiaques (ou parfois cutanés ou mammaires), souvent présents, peuvent représenter une des principales atteintes tumorales du complexe de Carney et, par leurs potentielles complications thromboemboliques, une des manifestations les plus sévères. Enfin, d'autres tumeurs comme les schwannomes mélanocytaires ou les adénomes mammaires peuvent être observées.

Bien que comportant des tumeurs endocrines variées, le complexe de Carney est différent des néoplasies endocriniennes multiples de type 1 et 2 dont les gènes, localisés respectivement sur les chromosomes 11 et 10, ont été identifiés. Deux locus du complexe de Carney, en 2p16 et en 17q22-24, ont été identifiés par des études de liaison. L'existence, dans certaines des tumeurs, soit d'une amplification génomique en 2p16 [6], soit au contraire d'une perte allélique en 17q22-24 [7, 8] faisait suspecter que le premier locus soit associé à un oncogène et le deuxième à un gène suppresseur de tumeur. L'homologie existant entre certaines manifestations du complexe de Carney et le syndrome de McCune-Albright lié à une mutation activatrice de la protéine Gs a fait initialement

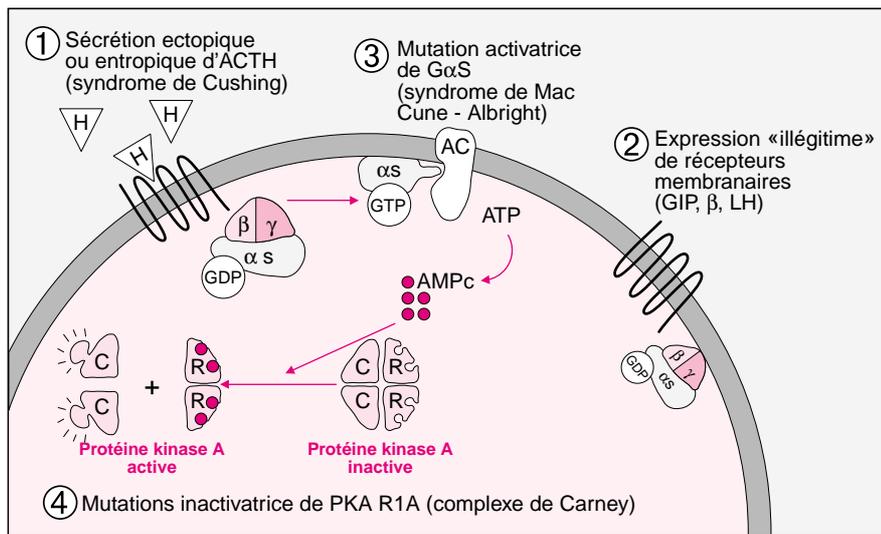


Figure 1. **Mécanismes d'activation de la voie de signalisation de l'AMP cyclique dans le syndrome de Cushing.** 1. Hypersécrétion entropique ou ectopique de l'hormone. Dans le cas du syndrome de Cushing, il s'agit d'ACTH d'origine hypophysaire. 2. L'expression illégitime de récepteurs membranaires (GIP-gastric inhibitory peptide, β -adrénergique, LH), couplés positivement à l'adénylyl cyclase (AC) est également responsable de certains syndromes de Cushing. 3. Les mutations activatrices de la sous-unité α de la protéine Gs entraînent une activation constitutive de la protéine Gs en l'absence de ligand. 4. Enfin, les mutations inactivatrices de la sous-unité régulatrice R1 α de la PKA provoquent une activité enzymatique PKA augmentée en réponse à l'AMPc dans les tumeurs nodulaires pigmentées du complexe de Carney.

rechercher une anomalie du gène codant pour G α s, mais ces travaux ont été négatifs. De même aucune mutation du gène codant pour la protéine liant le GTP (G α 13) n'a été retrouvée [8].

La redéfinition de l'intervalle 17q22-24 chez certaines familles atteintes du complexe de Carney a permis récemment à deux équipes d'identifier simultanément le gène impliqué: il s'agit de la sous-unité régulatrice I- α de la protéine kinase A (PKAR1A) [7, 8]. La PKA est un tétramère comprenant deux sous-unités catalytiques et deux sous-unités régulatrices. Quatre gènes codant pour les sous-unités régulatrices ont été identifiés: R1 α , R2 α , R1 β , et R2 β . Le tétramère est inactif, et la liaison de l'AMPc à la sous-unité régulatrice conduit à sa dissociation, libérant alors les sous-unités catalytiques porteuses de l'activité enzymatique. Ce système est complexe, la distribution des différentes sous-unités régulatrices étant variable

selon les tissus, et l'activité de la PKA dépend de l'équilibre entre les différentes sous-unités régulatrices et catalytiques. Les patients présentent à l'état hétérozygote une mutation germinale, le plus souvent une délétion d'une ou deux bases dans les exons 4 à 8 du gène de la PKAR1A (qui contient 11 exons) provoquant la formation d'un codon stop précoce qui touche le premier des deux domaines de liaison de l'AMP cyclique [7, 8]. Le mécanisme de ce syndrome est très probablement une haplo-insuffisance. On observe en effet, dans les lymphocytes des sujets atteints, une réduction de 60 % de la protéine sauvage tandis que la protéine mutante tronquée n'est pas détectable [8]. Cette réduction de la sous-unité régulatrice R1 α n'est pas compensée par une élévation de R2 β , entraînant ainsi une diminution du rapport R1 α /R2 β .

Les conséquences des mutations de PKAR1A sur l'activité enzymatique de

la PKA sont très vraisemblablement complexes. Dans les tumeurs surrenaliennes des patients, l'activité basale de la PKA n'est pas différente de celle qui est observée dans des tumeurs sporadiques. En revanche, sa stimulation par l'AMPc est très fortement augmentée, ce qui suggère, qu'au moins dans ces tumeurs, les mutations de PKAR1A sont responsables d'une activation de la PKA [7]. Il est en fait fort possible que les effets de ces mutations sur l'activité de la PKA soient variables, voire opposés, selon les tissus. Ceci pourrait expliquer la présence de tumeurs dans certains tissus où l'AMPc stimule la prolifération cellulaire (hypophyse, thyroïde, surrenales), les mutations inactivatrices de PKAR1A activant dans ce cas la PKA. Inversement, dans d'autres tissus où l'AMPc est connu pour inhiber la prolifération cellulaire, comme les Schwannomes, l'équilibre subtil et variable entre les différentes sous-unités régulatrices de la PKA pourrait conduire à son inactivation. Concernant l'hyperpigmentation cutanée de la lentiginose périorificielle, on peut envisager que la stimulation transcriptionnelle par la voie de l'AMPc de la tyrosine hydroxylase, enzyme qui contribue à la synthèse de la mélanine, en soit responsable [8]. En conclusion, les anomalies moléculaires activant la voie de signalisation de l'AMPc dans les tumeurs endocrines n'avaient jusqu'à présent été décrites que sur des protéines membranaires. L'identification d'un des gènes du complexe de Carney représente le premier exemple d'une anomalie moléculaire touchant un élément assez distal de la voie de signalisation de l'AMPc, remplaçant cette dernière au centre de nombreuses questions sur la physiopathologie des tumeurs endocrines. Il reste en effet à déterminer les conséquences fonctionnelles des mutations de PKAR1A sur l'activité de la PKA. Quant à l'identification du gène localisé en 2p16 qui pourrait être impliqué dans plus de la moitié des familles atteintes du complexe de Carney, il serait passionnant que le produit de ce gène contrôle aussi la voie de signalisation de l'AMPc...

1. Bertherat J. Nuclear effects of the cAMP pathway activation in somatotrophs. *Hormone Research* 1997; 47: 245-50.

2. Parma J, Duprez L, Van Sande J, et al. Somatic mutations in the thyrotropin receptor gene cause hyperfunctioning thyroid adenomas. *Nature* 1993; 365: 649-51.

3. Lacroix A, Bolté E, Tremblay J, et al. Gastric inhibitory polypeptide-dependent cortisol secretion in macronodular adrenal hyperplasia: a new etiology of Cushing's syndrome. *N Engl J Med* 1992; 327: 974-80.

4. Landis CA, Masters SB, Spada A, et al. GTPase inhibiting mutations activate the alpha chain of Gs and stimulates adenyl cyclase in human pituitary tumors. *Nature* 1989; 340: 692-6.

5. Weinstein LS, Shenker A, Gejman PV, et al. Activating mutations of the stimulatory G protein in the McCune-Albright syndrome. *N Engl J Med* 1991; 325: 1688-95.

6. Stratakis CA, Carney JA, Lin JP, et al. Carney complex, a familial multiple neoplasia and lentiginosis syndrome: analysis of 11 kindreds and linkage to the short arm of chromosome 2. *J Clin Invest* 1996; 97: 699-705.

7. Kirschner LS, Carney JA, Pack SD, et al. Mutations of the gene encoding the protein kinase A type 1-a regulatory subunit in patients with the Carney complex. *Nat Gen* 2000; 26: 89-92.

8. Casey M, Vaughan CJ, He J, et al. Mutations in the protein kinase A R1a regulatory subunit cause familial cardiac myxomas and Carney complex. *J Clin Invest* 2000; 106: R31-R38.

Lionel Groussin
Dan Rosenberg
Karine Perlemonne
Jérôme Bertherat

Groupe d'étude en physiopathologie endocrinienne (GEPE), Cnrs UPR 1524, Institut Cochin de génétique moléculaire, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014, Paris, France.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **Rôle antitumoral des « mini-greffes » de cellules souches allogéniques.** La médiane de survie des patients avec un cancer du rein métastasé est inférieure à un an. Ce cancer est résistant à la chimiothérapie et les traitements par immunothérapie (interleukine-2 et interféron α) ne permettent d'obtenir une réponse antitumorale que dans moins de 20 % des cas. Une des particularités du cancer du rein étant sa capacité immunogénique [1], l'équipe de J. Barrett a développé une nouvelle approche thérapeutique par l'utilisation d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques à partir de donneurs familiaux [2]. Cette approche est fondée sur les données obtenues chez les patients en rechute de leucémie myéloïde chronique chez lesquels, après greffe de moelle ou réinjection de lymphocytes allogéniques du donneur, on observe un effet de type « greffon contre leucémie » (ou GVL pour *graft versus leukemia*). Dans l'étude de J. Barrett,

19 patients ayant un cancer du rein avec métastases et résistant aux traitements habituels ont tout d'abord reçu une chimiothérapie induisant un état d'immunosuppression afin de permettre la prise du greffon, sans induire les complications habituelles de l'aplasie profonde. Les patients ont ensuite reçu une greffe de cellules souches hématopoïétiques CD34⁺ associée à une immunosuppression courte par la ciclosporine A afin d'éviter une maladie générale du greffon contre l'hôte. Pendant cette période, et après levée de cette immunosuppression, des réinjections de lymphocytes T allogéniques provenant du même donneur ont été pratiquées. Les résultats sont intéressants car 10 patients sur 19 (53 %) ont eu une réponse antitumorale. Dans trois cas, celle-ci a été complète et s'est maintenue jusqu'à 27 mois après la greffe. La mise en évidence d'un intervalle de 4 mois entre la transplantation et la régression des métastases, d'une régression des tumeurs après obtention d'un

chimérisme T complet, et de l'association d'une régression tumorale avec maladie du greffon contre l'hôte sont très évocatrices d'un effet antitumoral induit par les lymphocytes T du donneur. Si tous les patients ayant eu une régression tumorale n'ont pas développé de maladie du greffon contre l'hôte sévère, deux patients sont décédés des complications du traitement. Ces résultats intéressants justifient de poursuivre des études permettant d'améliorer la tolérance de ce traitement antitumoral. L'observation d'une régression des tumeurs chez les patients réfractaires au traitement immunologique comme l'IL-2 ou l'interféron α suggère que le transfert de cellules allogéniques pourrait être au moins aussi efficace que les traitements actuels, ou permettrait d'augmenter leur efficacité.

[1. Van Den Eynde BJ, et al. *J Exp Med* 1999; 190: 1793-800.]

[2. Childs R, et al. *N Engl J Med* 2000; 343: 750-8.]