

L'oncogène *v-erbA* : un inhibiteur d'inhibiteur

Durant leur différenciation, les cellules doivent coordonner leur activité proliférative et l'expression d'un programme génétique nouveau. On constate que, dans la plupart des tissus, la différenciation des cellules s'accompagne de la restriction de leur activité mitotique. Par ailleurs, on a observé, dans de nombreux modèles tissulaires, que l'engagement des cellules dans un programme morphogénétique spécifique ne peut se faire que durant une fenêtre de repos mitotique, généralement en phase G1. Ces données suggèrent l'existence de gènes maîtres dont les produits coordonneraient les programmes génétiques de la division et de la différenciation, par exemple en activant et réprimant simultanément la transcription de groupes de gènes impliqués respectivement dans ces programmes.

Les gènes qui codent pour les récepteurs de l'hormone thyroïdienne T3 et pour les récepteurs de l'acide rétinolique appartiennent vraisemblablement à cette catégorie de gènes maîtres. En effet, chez les vertébrés, l'hormone T3 et l'acide rétinolique sont deux médiateurs très importants dans la morphogénèse de certains tissus au cours du développement. Les récepteurs de ces médiateurs sont des facteurs de transcription appartenant à la superfamille des récepteurs hormonaux nucléaires [1] (*m/s* n° 3, vol. 3, p. 172 et n° 3, vol. 4, p. 196). Différentes isoformes des récepteurs de T3 et de l'acide rétinolique ont été clonées et il apparaît que ces deux familles de récepteurs sont fonctionnellement et structurellement très apparentées. Certaines formes du récepteur T3 sont codées par le proto-oncogène *c-erbA* dont la version oncogénique *v-erbA* a été identifiée dans le génome d'un rétrovirus leucémogène aviaire, le virus de l'érythroblastose aviaire (AEV) [1]. Dans ce virus, l'oncogène *v-erbA* est associé à l'oncogène *v-erbB* qui code pour une forme

altérée du récepteur de membrane du facteur de croissance EGF (*epidermal growth factor*). L'expression combinée de ces deux oncogènes dans les cellules infectées est nécessaire à la transformation néoplasique [2].

Nous avons montré que l'oncogène *v-erbA* agissant seul altère les programmes de multiplication et de différenciation de certaines cellules. Il active la prolifération des fibroblastes embryonnaires de poulet et contribue par là au développement de sarcomes *in vivo* [3]. Il bloque le programme de différenciation des précurseurs érythrocytiques et maintient ces cellules dans un cycle d'auto-renouvellement [4]. Ces observations suggèrent que *v-erbA* interfère avec des mécanismes centraux de contrôle des programmes de différenciation et de prolifération cellulaire.

La protéine codée par l'oncogène *v-erbA* est très largement réarrangée par rapport à son homologue normal codé par *c-erbA*. En particulier, *v-ErbA* ne peut fixer l'hormone T3 [1]. On sait maintenant que cette protéine se comporte comme un inhibiteur compétitif à la fois de *c-ErbA* et des récepteurs de l'acide rétinolique pour la régulation de la transcription de gènes cibles (*m/s* n° 8, vol. 5, p. 601) [5-8]. Ces effets de l'oncoprotéine pourraient résulter, soit d'une compétition directe avec les récepteurs normaux pour la fixation au niveau de séquences de régulation des gènes cibles, soit de la formation d'hétérodimères inactifs avec ces récepteurs. Aucune de ces deux hypothèses n'a encore reçu de démonstration absolue. Un des mécanismes d'action de l'oncogène *v-erbA* est donc d'interférer directement avec le contrôle de la transcription de certains gènes par T3 et l'acide rétinolique.

Afin d'expliquer les effets de *v-erbA* sur la croissance des fibroblastes, nous avons supposé que l'oncoprotéine altérée de la même façon une réponse

proliférative de ces cellules à T3 ou à l'acide rétinolique. En fait, nous n'avons pas observé d'effet significatif de T3 sur la croissance des fibroblastes de poulet, vraisemblablement parce que ces cellules possèdent très peu de récepteurs de l'hormone. En revanche, nous avons observé que l'acide rétinolique bloque la prolifération de ces cellules en altérant des processus moléculaires en début de phase G1, et que l'expression de *v-erbA* dans ces cellules lève cette inhibition [9]. Il fut très intéressant de constater que deux autres oncogènes nucléaires, les oncogènes *v-fos* et *v-jun*, montrent des effets identiques à ceux de *v-erbA* dans ce modèle. Les protéines *v-Fos* et *v-Jun* sont des formes altérées des protéines *c-Fos* et *c-Jun* qui entrent dans la composition du complexe de transcription AP-1 [10]. Cette observation nous suggéra immédiatement que la protéine *v-ErbA* pourrait interférer fonctionnellement avec le complexe AP-1. Cette hypothèse trouva un très fort soutien quand d'autres groupes et nous-mêmes montrèrent que les récepteurs de T3 et de l'acide rétinolique inactivent le complexe de transcription AP-1 et, par voie de conséquence, réduisent au silence des gènes dont la transcription est dépendante de AP-1 [11-13]. Il apparaît ainsi que les récepteurs de T3 et de l'acide rétinolique peuvent contrôler l'expression génétique par deux voies distinctes qui sont schématisées sur la *figure 1A*. Ce schéma permet d'imaginer comment deux groupes de gènes (marqués respectivement I et II sur la figure) peuvent voir leurs expressions modulées de façons opposées en réponse à une stimulation hormonale. Parmi les gènes du groupe II activés par la voie classique décrite initialement, on trouve de nombreux gènes impliqués dans le développement d'un programme de différenciation, comme par exemple des gènes homéo-

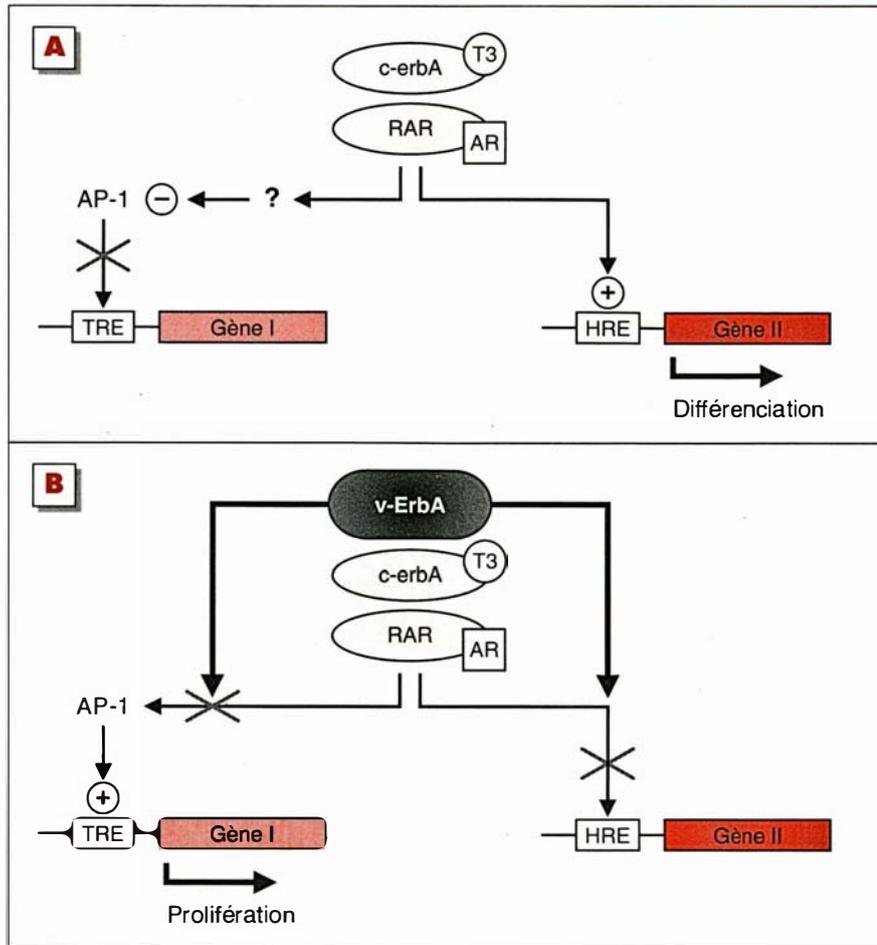


Figure 1. **Schéma montrant la dualité fonctionnelle des récepteurs de T3, de l'acide rétinoïque et de la protéine v-ErbA.** Sur la figure 1A on a représenté le fonctionnement des récepteurs de T3 et de l'acide rétinoïque au cours du développement de la cellule normale. Les récepteurs activent la transcription de gènes du groupe II par l'intermédiaire d'une séquence de réponse HRE (hormone response element). En parallèle, ces récepteurs inactivent le facteur de transcription AP-1 qui est incapable d'induire la transcription des gènes du groupe I par l'intermédiaire de la séquence de fixation de AP-1 appelée TRE (TPA response element). Sur le schéma, on considère que les gènes impliqués dans l'expression d'un programme de différenciation appartiennent au groupe II et que les gènes de groupe I renferment des gènes impliqués dans l'activité proliférative de la cellule. Sur la figure 1B, on a représenté la situation d'une cellule qui exprime l'oncoprotéine v-ErbA. La protéine v-ErbA se comporte en antagoniste des deux voies de régulation contrôlées par les récepteurs. Cet effet entraîne l'inhibition des gènes du groupe II et le maintien en activité des gènes du groupe I. (RAR : récepteur de l'acide rétinoïque ; AR : acide rétinoïque.)

tiques dans le bourgeon de membre, le gène de l'anhydrase carbonique II dans les érythroblastes, le gène de la chaîne lourde de myosine dans les myoblastes. Le complexe AP-1 joue un rôle déterminant dans la multiplication cellulaire, vraisemblablement en activant l'expression de gènes dont les

produits sont nécessaires à la progression dans le cycle cellulaire [10]. Parmi ces gènes du groupe I, on trouve, entre autres, le proto-oncogène *c-jun* et des gènes codant pour des protéases de la matrice extracellulaire. On comprend ainsi comment l'acide rétinoïque ou l'hormone T3 pourraient simultanément

enclencher un programme de différenciation et freiner la prolifération. Au vu de la dualité fonctionnelle de ces récepteurs, il apparaissait extrêmement intéressant d'analyser le comportement de la protéine v-ErbA dans ce modèle. Nous avons trouvé que l'oncoprotéine est incapable d'inactiver AP-1 et que, en outre, elle peut exercer un effet dominant sur les récepteurs de T3 et de l'acide rétinoïque en neutralisant l'action inhibitrice de ces récepteurs sur AP-1 [11]. La protéine v-ErbA se comporte donc comme un inhibiteur d'inhibiteur. On conclut donc que dans des cellules qui produisent v-ErbA, l'activité AP-1 n'est pas diminuée en présence de T3 ou d'acide rétinoïque. Afin de tester la signification physiologique de cette observation, nous avons analysé le comportement de divers mutants de *v-erbA* et de *c-erbA* et nous avons observé une corrélation inverse très nette entre leur capacité à inactiver AP-1 et leur aptitude à promouvoir la croissance de fibroblastes en culture. Ces analyses suggèrent fortement que l'interférence fonctionnelle entre AP-1, les récepteurs normaux et v-ErbA rend compte des effets sur la prolifération cellulaire.

Ces travaux mettent donc à jour une dualité de fonction de l'oncoprotéine v-ErbA qui est schématisée sur la figure 1B. L'oncoprotéine inhibe la transcription des gènes du groupe II, et, à l'inverse, maintient en activité les gènes du groupe I. On conçoit ainsi comment v-ErbA agit simultanément en inhibant la différenciation et en favorisant la prolifération des cellules, deux effets qui sont essentiels pour la transformation néoplasique.

Il est très intéressant de noter que l'oncogène *v-erbA* a évolué de sa version normale *c-erbA* pour devenir un puissant antagoniste à la fois des récepteurs de T3 et des récepteurs de l'acide rétinoïque. On peut imaginer que ce processus de sélection a permis de doter l'AEV de son pouvoir oncogénique maximal.

Au vu de ses mécanismes d'action, on comprend pourquoi l'oncogène *v-erbA* n'est pas suffisant pour induire à lui seul une transformation néoplasique. On peut cependant considérer qu'il crée dans la cellule une situation très favorable à cette transformation. Sur la figure 2, on voit que l'effet de *v-erbA* sur

RÉFÉRENCES

- Evans RM. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 1988 ; 240 : 889-95.
- Graf T, Beug H. Role of the *v-erbA* and *v-erbB* oncogenes of avian erythroblastosis virus in erythroid cell transformation. *Cell* 1983 ; 34 : 7-9.
- Gandrillon O, Jurdic P, Benchaibi M, Xiao JH, Ghysdael J, Samarut J. Expression of the *v-erbA* oncogene in chicken embryo fibroblasts stimulates their multiplication *in vitro* and enhances tumor growth *in vivo*. *Cell* 1987 ; 49 : 687-97.
- Gandrillon O, Jurdic P, Pain C, *et al.* Expression of *v-erbA*, an altered nuclear hormone receptor, is sufficient to transform erythrocytic cells *in vitro*. *Cell* 1989 ; 58 : 115-21.
- Sap J, Munoz A, Schmitt J, Stunnenberg H, Vennström B. Repression of transcription mediated at a thyroid hormone response element by the *v-erbA* oncogene product. *Nature* 1989 ; 340 : 242-4.
- Damm K, Thompson CC, Evans RM. Protein encoded by *v-erbA* functions as a thyroid-hormone receptor antagonist. *Nature* 1989 ; 339 : 593-7.
- Pain B, Melet F, Jurdic F, Samarut J. The carbonic anhydrase II gene, a gene regulated by thyroid hormone and erythropoietin, is repressed by the *v-erbA* oncogene in erythrocytic cells. *The New Biologist* 1990 ; 2 : 284-94.
- Sharif M, Privalsky ML. *v-erbA* oncogene function in neoplasia correlates with its ability to repress retinoic acid receptor action. *Cell* 1991 ; 66 : 885-93.
- Desbois C, Pain B, Guilhot C, *et al.* *v-erbA* oncogene abrogates growth inhibition of chicken embryo fibroblasts induced by retinoic acid. *Oncogene* 1991 ; 6 : 2129-35.
- Vogt PK, Bos TJ. *jun* : oncogene and transcription factor. *Adv Cancer Res* 1990 ; 55 : 1-55.
- Desbois C, Aubert D, Légrand C, Pain B, Samarut J. A novel mechanism of action for *v-ErbA* : abrogation of the inactivation of transcription factor AP-1 by retinoic acid and thyroid hormone receptors. *Cell* 1991 ; 67 : 731-40.
- Nicholson RC, Mader S, Nagpal S, Leid M, Rochette-Egly C, Chambon P. Negative regulation of the rat stromelysin gene promoter by retinoic acid is mediated by an AP1 binding site. *EMBO J* 1990 ; 9 : 4443-54.
- Schüle R, Rangarajan P, Yang N, *et al.* Retinoic acid is a negative regulator of AP-1-responsive genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 6092-6.
- Khazaie K, Panayotou G, Aguzzi A, Samarut J, Gazzolo L, Jurdic P. EGF promotes *in vivo* tumorigenic growth of primary chicken embryo fibroblasts expressing *v-myc* and enhances *in vitro* transformation by the *v-erbA* oncogene. *Oncogene* 1991 ; 6 : 21-8.
- Weinberg RA. Tumor suppressor genes. *Science* 1991 ; 254 : 1138-46.

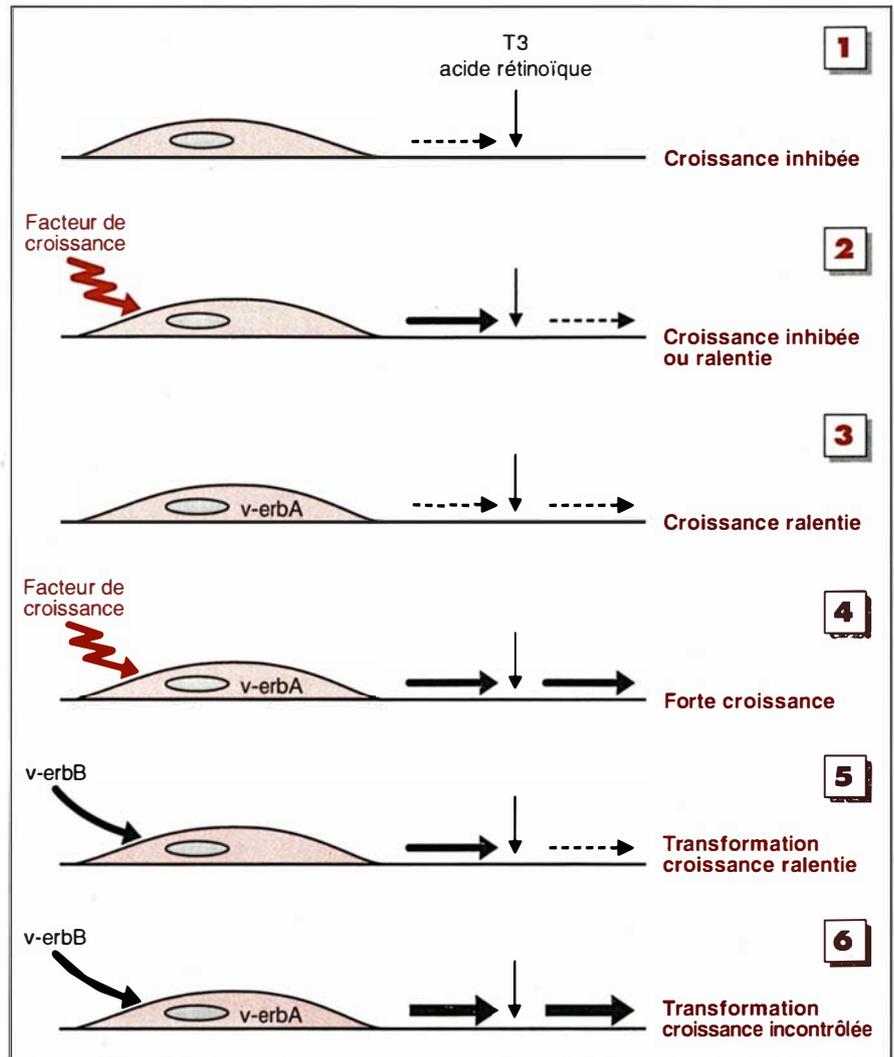


Figure 2. **Rôle de l'oncogène *v-erbA* dans le développement néoplasique.** Le schéma représente le comportement d'une cellule normale (situations 1 et 2) et d'une cellule qui exprime l'oncoprotéine *v-ErbA* (situations 3 à 6). On a supposé, dans ce modèle, que la cellule normale répond à l'hormone T3 ou à l'acide rétinoïque par une inhibition de croissance. Dans les situations 1 et 3, la cellule est cultivée en milieu minimal contenant très peu de facteur de croissance. Dans les situations 5 et 6, on a imaginé l'intégration de l'oncogène *v-erbB* dans la cellule. Les flèches horizontales représentent quantitativement l'activité proliférative des cellules.

la prolifération sera d'autant plus marquée que la prolifération de la cellule sera stimulée par ailleurs, dans le meilleur des cas par des facteurs de croissance, au pire, par l'action d'un autre oncogène. C'est ce qui est effectivement observé puisque des fibroblastes qui expriment *v-erbA* montrent une croissance exacerbée en réponse à une stimulation par EGF [14], et un déve-

loppement tumoral en réponse à l'oncogène *v-erbB* [3]. Si ces données permettent d'entrevoir le rôle que peuvent jouer certains récepteurs hormonaux dans la transformation cancéreuse, un certain nombre de questions restent posées. En particulier, on ne connaît pas encore les mécanismes moléculaires de l'interférence fonctionnelle entre les récepteurs

de T3 et de l'acide rétinoïque et, AP-1 d'une part, et v-ErbA, d'autre part. On imagine que toutes ces protéines interagissent physiquement entre elles, comme cela a été montré pour les protéines c-Fos, c-Jun et le récepteur des glucocorticoïdes (*m/s* n° 10, vol. 6, p. 1003), mais les complexes d'interaction n'ont pas encore été mis en évidence dans les cellules. Par ailleurs, le modèle proposé dans la *figure 1* est vraisemblablement encore simpliste. En effet, le degré d'interaction fonctionnelle entre AP-1 et les récepteurs dépend probablement du contexte créé par la nature et l'état physiologique des cellules. On peut enfin supposer que ce modèle s'applique aussi à d'autres facteurs de transcription apparentés ou non à AP-1. Néanmoins, ce modèle fournit une base de réflexion pour analyser le rôle d'autres oncogènes dans la transformation néoplasique. Compte tenu du rôle joué par les récepteurs de T3 et de l'acide rétinoïque dans la différenciation et la prolifération de certaines cellules, on peut se demander si les gènes qui codent pour ces récepteurs ne peuvent être considérés comme des anti-oncogènes [15]. L'identification de cancers humains causés par le dysfonctionnement de ces deux types de récepteurs permettra sans doute de répondre à cette question ■

Christelle Desbois

Boursier ARC, immuno-virologie moléculaire et cellulaire, université Claude-Bernard Lyon I, Cnrs UMR30, faculté de médecine Alexis-Carrel, 69372 Lyon Cedex 08, France.

Denise Aubert

Boursier ARC.

Claude Legrand, Bertrand Pain, Jacques Samarut

Laboratoire de biologie moléculaire et cellulaire, Cnrs UMR 49, Inra, école normale supérieure de Lyon, 46, allée d'Italie, 69364 Lyon Cedex 07, France.

TIRÉS A PART

J. Samarut.

m/s n° 2, vol. 8, février 92