

TGF-β et cancer

Les protéines de la famille du TGF-β sont aujourd'hui l'objet d'un intérêt considérable. C'est qu'elles comportent de nombreux facteurs jouant un rôle essentiel au cours du développement, dans la régulation normale ou pathologique de la croissance et de la différenciation cellulaire, ainsi que dans les processus de fibrose. Des intermédiaires de l'action de ces facteurs sur la machinerie transcriptionnelle ont aujourd'hui été détectés : les gènes de certains d'entre eux pourraient se comporter comme des suppresseurs de tumeurs, notamment au cours de la cancérogenèse colique. En réalité, les relations entre TGF-β et cancer sont nombreuses : outre l'intervention de ces nouveaux gènes de la famille Mad on sait que TGF-β bloque le cycle cellulaire en induisant des inhibiteurs des kinases liées au cycle cellulaire (Cdk) et que son récepteur de type II est souvent altéré dans les cancers coliques ou anomalies de la réparation de l'ADN. Dans ces formes de tumeurs, le gène APC, dont la mutation est responsable des polyposes rectocoliques familiales, peut également être altéré, confirmant ainsi son rôle-clé dans tous les cancers coliques. Dans la polypose rectocolique familiale, la région où siège la mutation a une importante valeur pronostique : le même phénomène sera-t-il observé dans les cas avec mutation somatique du gène APC ?

La famille des facteurs TGF-β et leur connexion au noyau

Les facteurs de croissance TGF-β (*transforming growth factors β*) constituent maintenant une superfamille de facteurs comprenant environ quarante protéines impliquées dans des fonctions biologiques aussi diverses que la fonction immunitaire, le contrôle de la croissance, la différenciation cellulaire, la formation squelettique et la morphogénèse embryonnaire [1, 2]. En outre, les TGF-β ont la capacité de se lier à des protéines du plasma comme l'α2-macroglobuline pour former différents complexes latents, activés par l'action de protéinases (plasmine, cathepsine D) [3]. On distingue actuellement quatre sous-familles de facteurs TGF-β : la sous-famille des protéines TGF-β comprend quatre membres (TGF-β1, TGF-β2, TGF-β3 et TGF-β5), la sous-famille des activines comprend deux membres, A et B, la sous-famille du gène de la Drosophile *Decapentaplegic* (*dpp*) comprend aussi les gènes codant pour les facteurs de la morphogénèse osseuse, les facteurs BMP2 et BMP4 (*bone morphogenetic*

protein) [4] et, enfin, la sous-famille 60A, dénommée ainsi à cause de sa localisation chromosomique, qui code pour des facteurs ostéogénétiques (BMP3 et BMP5, BMP6, BMP7, BMP8). Tous ces facteurs ont une activité inductrice sur la formation du cartilage et de l'os ; les deux dernières sous-familles sont plus étroitement reliées entre elles qu'à la sous-famille des TGF-β et des activines et ont été, de ce fait, regroupées sous le nom de molécules DVR (*dpp and Vgl related*) (Tableau I) [5]. A ces groupes il faut ajouter les gènes *Inha*, *AMH* (codant pour l'hormone anti-müllérienne, produite par les cellules de Sertoli et responsable chez les hommes de l'atrophie des canaux de Müller), le gène *GDF9* dont les transcrits sont synthétisés seulement dans les ovaires des animaux adultes et le *GDNF* ou *glial derived neurotrophic growth factor* qui a la propriété de promouvoir la survie et la différenciation des neurones dopaminergiques du tronc cérébral. La famille des TGF-β présente, en outre, une grande similitude avec les

Tableau I					
SUPERFAMILLE DES PROTÉINES TGF-β					
TGF-β	Activines	dpp	60A	Autres protéines	
Sous-groupe des protéines DVR					
TGF-β1	Inhibine A	Nodal	BMP5	BMP3	Inha
TGF-β2	Inhibine B	BMP2	BMP6	Vg1	AMH
TGF-β3		BMP4	BMP7	GDF1	GDF9
TGF-β5		dpp	BMP8	GDF3	GDNF
			60A	dorsaline	

DVR: *dpp and Vgl related*.

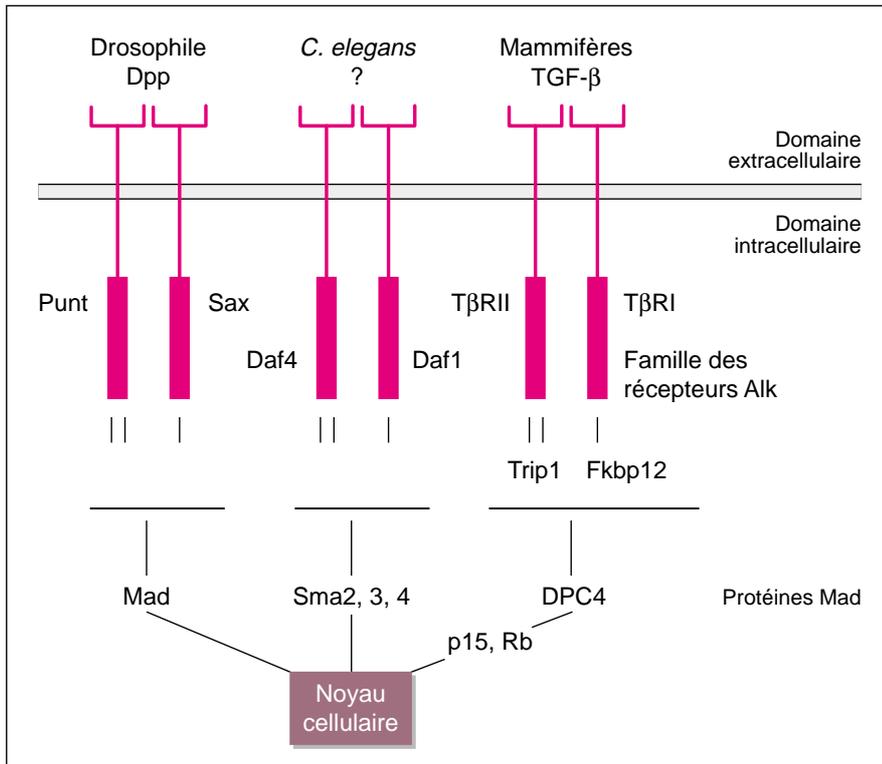


Figure 1. **Famille des TGF- β et leurs connexions au noyau.** Les membres de la famille des facteurs TGF- β chez *Drosophila*, *C. elegans* et les mammifères se fixent à des récepteurs transmembranaires à activité sérine-thréonine kinase de type II et I, codés par des gènes différents, respectivement Punt et sax pour *Drosophila*, Daf4 et Daf1 pour *C. elegans*. Pour les mammifères, le récepteur de type II (T β RII) lie la protéine TRIP1 (TGF- β receptor-interacting protein 1) et le récepteur de type I (ALK5) fixe l'immunophiline ou FKBP12. Des études génétiques chez *Drosophila* et *C. elegans* ont impliqué, respectivement, Mad et sma-2, -3, -4 comme facteurs de transduction du signal TGF- β au noyau. Récemment, on a identifié chez les mammifères DPC4 comme l'analogue de Mad et sma-2, sma-3, sma-4. En outre, la protéine Rb, produit du gène de susceptibilité au rétinoblastome, est impliquée dans cette voie et interagit directement avec les protéines dépendantes des cyclines. La protéine dont dépend l'inhibition de la phosphorylation de Rb est la p15^{ink4B}. Ces deux protéines agissent en aval de DPC4 et leurs gènes agissent comme gènes suppresseurs de tumeurs.

membres des autres facteurs de croissance, en particulier les NGF (*nerve growth factors*) et les PDGF (*platelet derived growth factors*) comme l'ont montré les études cristallographiques [6], car elles possèdent en commun un motif appelé « nœud de cystéines » composé de trois ponts disulfures rigidifiant la structure protéique de quatre feuillettes β antiparallèles [7]. Des résultats initiaux montrant comment les signaux étaient transmis en aval des facteurs TGF- β ont été obtenus en clonant les gènes codant pour leurs récepteurs et en effectuant des

réactions de pontage qui ont permis de mettre en évidence deux types de récepteurs trans-membranaires, type I et type II, qui fixent TGF- β avec une forte affinité (figure 1). Ces récepteurs consistent en au moins deux domaines transmembranaires doués d'une activité protéine sérine/thréonine kinase intrinsèque, indiquant que la phosphorylation est sans doute impliquée dans la transduction du signal au noyau [8]. Chez *Drosophila melanogaster* le signal du gène *dpp* est transmis par le complexe hétéromérique des récepteurs de

type I et de type II codés par les gènes *punt* et *saxophone (sax)* (figure 1) [9]. En outre, la voie de transmission cytoplasmique des signaux des TGF- β a été clairement mise en évidence chez *Caenorhabditis elegans* par la caractérisation des gènes *sma-2*, *sma-3* et *sma-4* qui codent pour les protéines identifiées sous le nom de *dwarfins*. Chez les mammifères, on a identifié des protéines cytoplasmiques comme l'immunophiline ou FKBP-12 qui interagissent avec le récepteur de type I (*m/s n° 11, vol. 10, p. 1180*) et la protéine TRIP-1 (*TGF- β receptor interacting protein-1*); celle-ci possède cinq domaines WD (motif d'acides aminés de longueur variable commençant par Gly-Ala et se terminant par Trp-Asp), est phosphorylée par une tyrosine kinase et interagit avec le récepteur de type II. Enfin, les facteurs ostéogéniques, l'activine et le TGF- β , se lient aux six types de récepteurs de type I, baptisés ALK [4]. TGF- β se lie en particulier avec une grande affinité au récepteur ALK5 en présence de TGF β R-II (récepteur de type II) [4]. Mais, si les fonctions des facteurs TGF- β ont été décrites à l'échelle cellulaire et au niveau de l'embryon, peu de connaissances étaient acquises sur leurs actions à l'étape nucléaire. Or trois publications récentes [10-12] viennent de mettre l'accent sur le mode de transmission du signal des récepteurs de ces facteurs au noyau en identifiant une nouvelle classe de protéines, les protéines Mad (*mothers against dpp*) d'une masse moléculaire de 50 kDa environ. Il semble que les protéines MAD constituent une nouvelle classe de facteurs de transcription dont la synthèse est sous la dépendance du signal BMP. Ces protéines contiennent des domaines amino- et carboxy-terminaux bien conservés et séparés par une zone riche en proline. Mais elles ne possèdent pas de motifs orientant vers leur mode de fonctionnement, en particulier en ce qui concerne l'activation transcriptionnelle de gènes spécifiques. Les gènes codant pour ces protéines ont été d'abord mis en évidence chez la *Drosophila* et le Xénope (*Xmad1* et *Xmad2*) et chez *Caenorhabditis elegans* (gène *cem*) [13]. Ils sont tous impli-

qués dans la différenciation embryonnaire, en particulier mésodermique. *Xmad1* transmet les signaux de BMP en vue de l'induction du mésoderme ventral chez le Xénope tandis que *Xmad2* transmet le signal de la cascade des gènes *activine/Vg1/Nodal/TGF-β* en vue de l'induction du mésoderme dorsal.

De nouveaux membres de cette famille Mad viennent d'être découverts chez le xénope, *Xmad3* et *Xmad4*, et d'autres tout récemment chez l'homme.

Ces recherches ont un intérêt particulier du fait de leur lien à la pathologie humaine. C'est ainsi que des gènes analogues à *Mad* et candidats au rôle de suppresseurs de tumeurs viennent d'être mis en évidence. Il s'agit du gène *JV18-1* qui code pour une protéine de 467 acides aminés (62 % d'identité avec *Mad*) peut-être impliquée dans les cancers colo-rectaux [14]. D'autres gènes qui pourraient être eux aussi impliqués dans les cancers du poumon, du sein, de l'œsophage, de l'estomac, analogues à *JV18-1*, ont été identifiés et baptisés *JV15-1*, *JV15-2*, *JV5-1*. Un cinquième gène, dont la fonction est moins bien connue, est le gène *JV4-1*.

Ces cinq gènes présentent une forte analogie de séquence avec le gène *Mad* dans leur partie carboxy-terminale (58 des 59 acides aminés pour *JV4-1* et 57 sur 59 pour *JV5-1*). La localisation chromosomique de ces gènes a pu être précisée grâce à l'utilisation d'amorces et de conditions qui amplifient spécifiquement l'ADN humain. Ainsi vient d'être démontrée la proximité de ces gènes avec la localisation de gènes candidats suppresseurs de tumeurs. Cette localisation est particulièrement suggestive pour le gène *JV18-1* sur le chromosome 18q21, puisque l'on sait que cette région est remaniée dans 60 % des cancers colo-rectaux. Comme pour les autres gènes suppresseurs de tumeurs, on observe des délétions homozygotes, en particulier une délétion dans un territoire compris entre les marqueurs *D18S535* et *D18S858* (16 cM) à une distance d'environ 3 Mb du gène *DPC4*. Une telle délétion n'est pas retrouvée dans le colon sain, indiquant bien qu'il s'agit d'une altération somatique. Une autre délé-

tion somatique de 42 paires de bases très conservées parmi les membres de la famille *MAD* a également été mise en évidence dans un exon. C'est pourquoi, le gène *JV18-1* devient un bon candidat à ce rôle de gène suppresseur de tumeur dans le domaine chromosomique 18q21. Le rôle de TGFβ dans la cancérogenèse colique est aussi suggéré par la fréquence des mutations du gène codant pour le récepteur de type II de ce facteur chez les malades avec des cancers coliques familiaux non polyposiques (syndromes de Lynch) (*m/s n° 8, vol. 11, p. 1176*).

En outre, un autre gène suppresseur de tumeurs, analogue à *Mad* et aux gènes *sma-2*, *sma-3* et *sma-4* de *Caenorhabditis elegans*, le gène *DPC4*, vient d'être localisé sur le même chromosome humain 18q21. La plus grande analogie de séquences de ces protéines est trouvée dans les segments codés par les exons 1, 2 et 11 de *DPC4*. Ce gène se trouve délété dans la plupart des carcinomes pancréatiques (*m/s n° 4, vol. 12, p. 525*) [15]. Enfin le produit du gène de susceptibilité au rétinoblastome (*Rb*), l'un des premiers anti-oncogènes à avoir été identifié est lui aussi impliqué dans la voie de transmission du signal TGF-β. En effet, la phosphorylation de cette protéine *Rb* dépend de l'activité des protéines kinases dépendantes des cyclines pour induire la progression normale du cycle de croissance cellulaire G1/S: une diminution de la phosphorylation de *Rb* empêche la progression du cycle cellulaire [16]. Or, de nouvelles protéines inhibitrices de la phosphorylation de *Rb*, stimulées par l'action de TGF-β, viennent d'être identifiées: il s'agit des inhibiteurs *p15^{ink4B}* codé par le gène suppresseur de tumeur *MTS2* [17], et *p27^{Kip1}*. C'est dire l'importance de la voie des TGF-β dans la suppression tumorale [18] et des progrès accomplis dans la compréhension de cette voie jusqu'à l'étape nucléaire.

Ces études précisent la cascade de signaux des TGF-β, depuis la membrane cellulaire jusqu'au noyau, et ouvrent un champ nouveau de découverte de nouvelles protéines. Elles viennent une fois de plus confirmer l'analogie de structure entre des gènes très étudiés de *Drosophila mel-*

nogaster et de *Caenorhabditis elegans* et des gènes humains impliqués, soit dans des maladies héréditaires, soit dans la cancérogenèse ■

RÉFÉRENCES

1. Massagué J. The transforming growth factor-β family. *Ann Rev Cell Biol* 1990; 6: 597-641.
2. Kingsley DM. The TGF-β superfamily: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. *Genes Dev* 1994; 8: 133-46.
3. Feige JJ, Quirin N, Souchelnitskiy S. Un peptide biologique sous contrôle: formes latentes et mécanismes d'activation. *médecine/sciences* 1996; 12: 929-39.
4. Sautier JM, Forest N. Les protéines de la morphogénèse osseuse: BMP. *médecine/sciences* 1996; 12: 364-70.
5. McDonald NQ, Lapatto R, Murray-Rust J, Gunning J, Wlodawer A, Blundell TL. New protein fold revealed by a 2.3 Å resolution crystal structure of nerve growth factor. *Nature* 1991; 354: 411-4.
6. McDonald NQ, Hendrickson WA. A structural superfamily of growth factors containing a cystine knot motif. *Cell* 1993; 73: 421-4.
7. Daopin S, Piez KA, Ogawa Y, Davies DR. Crystal structure of transforming growth factor-β2. An unusual fold for the superfamily. *Science* 1992; 257: 369-73.
8. Massagué J, Attisano L, Wrana JL. The TGF-β family and its composite receptors. *Trends Cell Biol* 1994; 4: 172-8.
9. Xie T, Finelli A, Padgett RW. The *Drosophila* saxophone gene: a serine-threonine kinase receptor of the TGF-β superfamily. *Science* 1994; 263: 1756-59.
10. Liu F, Hata A, Baker JD, Carcamo J, Harland RM, Massagué J. A human Mad protein acting as a BMP-regulated transcriptional activator. *Nature* 1996; 381: 620-3.
11. Graff J, Bansal A, Melton DA. Xenopus Mad proteins transduce distinct subsets of signals for the TGFβ superfamily. *Cell* 1996; 85: 479-87.
12. Hoodless PA, Haerry T, Abdollah S, Stapleton M, O'Connor MB, Attisano L, Wrana JL. Madr1, a Mad-related protein that functions in BMP2 signaling pathways. *Cell* 1996; 85: 489-500.

RÉFÉRENCES

13. Savage C, Das P, Finelli A, Townsend SR, Sun CY, Baird SE, Padgett RW. *Caenorhabditis elegans* genes *sma-2*, *sma-3*, and *sma-4* define a conserved family of transforming growth factor β pathway components. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 790-4.

14. Riggins GJ, Thiagalingam S, Rozenblum E, Weinstein CL, Kern SE, Hamilton SR, Willson JKV, Markowitz SD, Kinzler K, Vogelstein B. Mad-related genes. *Nature Genet* 1996, 13: 347-9.

15. Hahn SA, Schutte M, Hoque ATMS, Moskaluk CA, Da Costa LT, Rozenblum E, Weinstein CL, Fischer A, Yeo CJ, Hruban RH, Kern SE. DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1. *Science* 1996; 271: 350-3.

16. Wolowiec D, Ffrench M. Kinases dépendantes des cyclines: rôle biologique et implications dans la pathologie humaine. *médecine/sciences* 1996; 12: 165-73.

17. Hannon GJ, Beach D. p15(ink4B) is a potential effector of TGF-induced cell cycle arrest. *Nature* 1994; 371: 257-60.

18. Alexandrow MG, Moses HL. Transforming growth factor β and cell cycle regulation. *Cancer Res* 1995; 155: 1452-7.

Jean-François Rouayrenc

Chargé de recherches Inserm. Laboratoire de Biologie cellulaire et hormonale, CHU A.-de-Villeneuve, 371, avenue du Doyen-G.-Giraud, 34295 Montpellier Cedex 5, France.

TIRÉS À PART

J.F. Rouayrenc.

■■■■ Le gène *APC* est muté dans les cancers du côlon avec défaut de réparation. On connaît deux formes de cancer du côlon: la polyposose colique familiale, liée à la mutation du gène *APC* sur le chromosome 5; et le cancer du côlon héréditaire non polyposique, associé à des mutations pouvant intéresser l'un de quatre gènes intervenant dans la réparation des mésappariements (*m/s* n° 2, vol. 10, p. 228). Dans les cancers sporadiques, le gène *APC* est aussi le plus souvent muté, à la suite d'événements somatiques. Une certaine proportion de ces cancers sporadiques montre, de plus, des stigmates d'anomalies de la réparation de l'ADN typiques des erreurs de mésappariements, notamment une instabilité des séquences micro-satellites. Ce phénotype est appelé RER (*repairation errors*). Huang *et al.*, avec un groupe de chercheurs internationaux de Grande-Bretagne, États-Unis et Chine, montrent que les mutations du gène *APC* sont observées aussi bien dans les tumeurs avec phénotype RER⁺ que dans les tumeurs RER⁻. Cependant, les mutations détectées dans les tumeurs RER⁺ sont d'un type différent de celles notées dans les tumeurs RER⁻ et sont compatibles avec un mécanisme impliquant l'erreur de réparation: les décalages de phase de lecture du gène *APC* sont ainsi cantonnés aux

tumeurs avec défaut de réparation. Le même type de modification est retrouvé dans les cancers observés chez des malades atteints de cancer familial non polyposique du côlon avec mutation constitutive d'un gène de réparation [1]. Nous rapportons récemment que, chez ces malades, le gène codant pour le récepteur de type II du TGF β était très souvent altéré par instabilité d'une répétition interne de nucléotides (*m/s* n° 8-9, vol. 12, p. 1176). Une telle interruption de la voie du TGF β , qui est un inhibiteur de la prolifération des cellules épithéliales, peut naturellement intervenir dans la progression tumorale. Cependant, les résultats actuels montrent qu'elle est le plus souvent associée, comme dans les autres types de cancers coliques, à une mutation du gène *APC*. Il sera intéressant de déterminer l'éventail complet des désordres géniques rencontrés dans les tumeurs coliques avec ou sans désordre de la réparation. Dans ces derniers, on connaît bien la séquence d'événements coopérant dans la tumorigenèse colique: mutation des gènes *APC*, *K-RAS*, *DCC* et *P53*. Dans les cancers avec anomalie de la réparation, il semble bien que l'on trouve une mutation d'*APC* et du récepteur du TGF β ; cela suffit-il?

[1. Huang J, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 9049-54.]



Vient de paraître
Numéro spécial

30 ANS DE RECHERCHE
AU DÉPARTEMENT
DES SCIENCES
DE LA VIE DU CNRS