

## Cancer et facteurs extracellulaires de contrôle de la croissance cellulaire

*L'identification des gènes de susceptibilité aux formes familiales de cancer du sein, BRCA1 et BRCA2, est un progrès aux multiples implications, notamment diagnostiques et éthiques, dont nous avons abondamment parlé. Si, comme le suggèrent des résultats récents, les protéines BRCA1 et BRCA2 appartenaient à la famille des granines, étaient sécrétées et agissaient comme des inhibiteurs extracellulaires de la prolifération, les conséquences physiopathologiques et, peut-être, thérapeutiques pourraient être formidables: retenons notre souffle... Le seul exemple connu aujourd'hui d'une prolifération anormale peut être due, du moins en partie, à l'insuffisance d'action d'un facteur inhibiteur de croissance extracellulaire concerne le TGF $\beta$  dont la synthèse est réprimée dans des cancers du sein hormono-dépendants et dont le récepteur de type II est fréquemment muté dans les cancers héréditaires non polyposiques du côlon. En revanche, les phénomènes d'hyperstimulation par des facteurs de croissance sont mieux documentés. Le facteur IGF2 peut aussi entraîner un excès de prolifération lorsqu'il est produit en quantité augmentée, mais aussi en cas de défaut de protéines réceptrices entrant en compétition pour sa liaison avec le récepteur relayant le signal prolifératif, IGF1R. Ainsi, un déficit en IGF2R ou en glypicane, peuvent être à l'origine d'une hyperplasie par excès d'action de l'IGF2.*

## Gènes de prédisposition aux cancers du sein : et de deux

L'identification du gène *BRCA1*, découverte pourtant considérable, avait posé plus de problèmes qu'elle n'en résolvait: la diversité des mutations, leur dissémination dans les différentes régions du gène rendait impossible tout dépistage; et, en admettant qu'il fût mis au point pour certains groupes ethniques, un diagnostic prédictif, en l'absence d'une prévention efficace, était injustifié, ou pour le moins discutable (*m/s n° 4, vol. 12, p. 521*).

La publication de la séquence complète du second gène de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire, *BRCA2* (*m/s n° 3, vol. 12, p. 427*), ainsi qu'une meilleure connaissance du rôle du *BRCA1* et de sa protéine sécrétée ne résolvent rien encore, mais laissent entrevoir des espoirs de stratégie thérapeutique contre les cancers du sein, les plus fréquents des cancers chez les femmes des pays occidentaux.

Des anomalies dans l'un ou l'autre des deux gènes *BRCA* sont retrouvés dans la presque totalité des familles à cancers du sein à début précoce, une anomalie de *BRCA2* se rencontrant en outre dans des familles avec cancer mammaire chez des sujets masculins. En quelques années, ils furent localisés, *BRCA1* en 17q21 [1], et *BRCA2* en 13q12-13 [2], puis, le gène *BRCA1* fut isolé [3] ainsi qu'une séquence partielle du gène *BRCA2* [4]. Pour ne pas être en reste, le groupe coordonné par la société *Myriad Genetics*, qui avait déjà isolé le gène *BRCA1*, vient d'identifier la séquence codante complète de *BRCA2* [5]. Ce groupe, qui rassemble des chercheurs de nombreux pays, s'est servi de toutes les techniques possibles pour réunir dans les plus

brefs délais l'ensemble des séquences du transcrit: assemblage de petites séquences, piégeage d'exons, criblage de banques d'ADNc et, pour la terminaison 5', utilisation de la technique RACE (*rapid amplification of cDNA end*).

Le gène *BRCA2* est imposant puisque, composé de 27 exons, il s'étale sur 70 kb. Il code pour une protéine de 3 418 acides aminés qui, à première vue, ne correspond à aucune séquence déjà répertoriée dans une banque de données. Mais nous allons voir par la suite que cela n'est pas tout à fait exact. Dans les dix-huit familles étudiées, sélectionnées parce que le cancer ségrégeait avec le *locus BRCA2* ou parce qu'il existait dans la famille au moins un homme atteint de cancer mammaire, 9 mutations furent retrouvées qui entraînent toutes une rupture dans le cadre de lecture. Comme elles sont toutes différentes, disséminées dans les exons 2, 9, 10, 11, 18, 23, et qu'il ne semble pas exister de points chauds, on peut s'attendre à ce que le diagnostic moléculaire soit encore plus laborieux que pour *BRCA1*. A moins que, toutes les mutations produisant une protéine tronquée, il ne soit possible de mettre au point un test standardisé, fondé sur la détection de telles interruptions prématurées de la traduction des ARNm *BRCA1* et *BRCA2* mutés. Mais il est encore trop tôt pour l'envisager concrètement.

Les deux gènes *BRCA* se ressemblent, en ce sens qu'ils codent tous deux pour des protéines chargées, qu'ils ont beaucoup d'exons, dont un exon 11 volumineux, ainsi qu'un site de traduction dans l'exon 2.

Pour la petite histoire, l'équipe de Stratton, qui en avait isolé une partie [4], ainsi que le groupe *Myriad Genetics* qui l'a isolé en son entier [5], déposent tous deux une demande pour un brevet qui devra donc sans doute être partagé.

Mais les avancées dans la connaissance des *BRCA* ne s'arrêtent pas là. Afin de mieux connaître la protéine, des anticorps anti-*BRCA1* furent fabriqués, vérifiés, et utilisés sur des cellules afin de repérer sa localisation, son expression, et ses propriétés biochimiques [6]. Par immunoprécipitation, une protéine de 190 kDa fut obtenue, corroborant ainsi un travail antérieur [7] où une protéine de 185 kDa, sensible aux œstrogènes, avait été proposée. On la trouve dans la fraction membranaire des cellules, dans le noyau et le *trans*-Golgi et dans des vésicules sécrétoires. En comparant sa séquence aux séquences répertoriées dans les banques de données, l'équipe de Jensen [6] eut la surprise de découvrir qu'elle contient une séquence granine.

Rappelons que les granines constituent un groupe de protéines acides liant le calcium et précipitant en sa présence. Elles sont situées dans le *trans*-Golgi et participent à la régulation des protéines sécrétées, principalement les protéines dont la sécrétion est dépendante de signaux externes [8]. Elles les agrègent pour les emmagasiner dans des granules sécrétoires. Les granines agissent aussi sur les protéines régulièrement sécrétées, comme la prolactine ou l'hormone de croissance, qui peuvent être mises en réserve dans certaines conditions. Les granines peuvent aussi intervenir sur les protéines synthétisées sous forme inactive, qui doivent être activées par phosphorylation, glycosylation ou sulfatation, entre autres. Enfin, elles ont encore des fonctions extracellulaires car elles contiennent des peptides qui, libérés dans les granules sécrétoires par les convertases, sont capables de régler les fonctions autocrine et paracrine. On considère généralement que les granines ont une origine endocrine ou neuroendocrine [9]. Mais il n'est pas impossible que les cellules de la

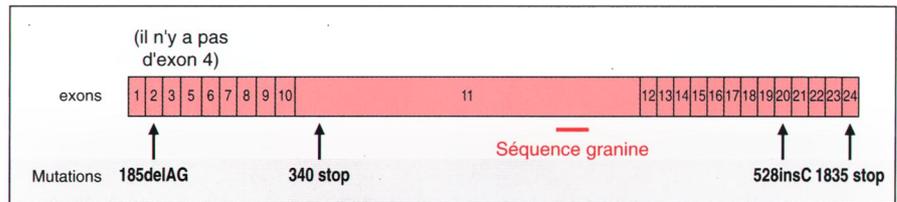


Figure 1. **Gène BRCA1.** La mutation stop, au site 340, entraîne la perte du pouvoir inhibiteur de *BRCA1* sur la multiplication cellulaire, pour les cancers du sein et pour les cancers de l'ovaire. En revanche, la mutation stop au site 1835 ne supprime pas le pouvoir inhibiteur sur la croissance des cancers de l'ovaire. Cette étude fonctionnelle de *BRCA1* corrobore la répartition des mutations: les mutations en 3' sont moins nombreuses dans les cancers de l'ovaire. Si l'on sépare les mutations en deux groupes, selon leur répartition le long du gène, la position de la séquence granine constitue une ligne de démarcation, suggérant que cette région pourrait jouer un rôle dans la détermination du type de cancer (d'après [11]).

glande mammaire aient aussi un système sécrétoire répondant à des *stimuli* externes. Bien des éléments de *BRCA1*, sans être spécifiques des granines, sont compatibles avec les caractéristiques de celles-ci: glycosylation, stabilité à la chaleur, régulation par l'AMPc, sensibilité aux œstrogènes. *BRCA1* fonctionnerait donc selon des mécanismes qui n'ont encore jamais été décrits dans les produits des gènes suppresseurs de tumeurs. Or, il vient d'être démontré avec certitude, par infection de lignées cellulaires de cancer du sein et de l'ovaire à l'aide d'un vecteur rétroviral, que le gène *BRCA1* a une action inhibitrice *in vitro* sur la multiplication cellulaire [10]. Cette inhibition est spécifique des tumeurs du sein et de l'ovaire. Elle disparaît en cas de mutation, et ce, quelle que soit la mutation pour le cancer du sein, alors que pour le cancer de l'ovaire, les mutations en 3' n'affectent pas l'action inhibitrice (figure 1). De plus, chez la souris *nude*, non seulement les cellules infectées avec le rétrovirus recombinant *BRCA1* ne donnent pas de tumeurs, mais encore, l'injection intrapéritonéale de ce rétrovirus inhibe le développement de la tumeur et prolonge la durée de survie de la souris. Ces perspectives nouvelles, qui demandent de nombreuses vérifications, sont passion-

nantes à plus d'un titre, en particulier par les espoirs de thérapie qu'elles laissent entrevoir.

Il reste une dernière surprise: dans la protéine déduite de *BRCA2*, à la région C terminale, on retrouve aussi une séquence granine [6, 12]! Imaginer que les deux *BRCA* auraient un fonctionnement analogue et tout à fait particulier paraît extrêmement séduisant. Il reste encore beaucoup à faire, mais toutes ces découvertes laissent penser que la connaissance des gènes *BRCA1* et *BRCA2* pourra déboucher sur l'identification de nouvelles stratégies thérapeutiques, surtout s'il s'avérait que tout ou partie des protéines *BRCA1* et *BRCA2* peuvent agir par voie extracellulaire.

S.G.

1. Hall JM, Lee MK, Newman B, *et al.* Linkage of early onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science* 1990; 250: 1684-9.
2. Wooster R, Neuhausen SL, Mansion J, *et al.* Localization of breast cancer susceptibility gene, *BRCA2*, to chromosome 13q12-13. *Science* 1994; 265: 2088-90.
3. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, *et al.* A strong candidate for the 17q-linked breast and ovarian cancer susceptibility gene *BRCA1*. *Science* 1994; 266: 66-7.

- 
4. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, *et al.* Identification of breast cancer gene *BRCA2*. *Nature* 1995 ; 378 : 789-91.
  5. Tavtigian S, Simard J, Rommens J, *et al.* The complete *BRCA2* gene and mutations in chromosome 13q-linked kindred. *Nature Genet* 1996 ; 12 : 333-7.
  6. Jensen RA, Thompson ME, Jetton TL, Szabo CI, van der Meer R, Helon B, Tronck SR, Page DL, King MC, Holt JH. *BRCA1* is secreted and exhibits properties of a granin. *Nature Genet* 1996 ; 12 : 303-8.
  7. Gudas J, Nguyen H, Li T, Cowan KH. Hormone dependant regulation of *BRCA1* in human breast cancer cells. *Cancer Res* 1995 ; 55 : 4561-5.
  8. Huttner WB, Gerdes HH, Rosa P. The granin (chromogranin-secretogranin) family. *Trends Biochem Sci* 1991 ; 16 : 27-30.
  9. Fischer-Colbrie R, *et al.* Sex related difference in chromogranin A, chromogranin B and secretogranin II gene expression in rat pituitary. *J Neuroendocrinol* 1991 ; 121 : 125-30.
  10. Holt JT, Thompson ME, Szabo C, Robinson-Benion C, Arteaga CL, King MC, Jensen RA. Growth retardation and tumour inhibition by *BRCA1*. *Nature Genet* 1996 ; 12 : 298-302.
  11. Goodman L. *BRCA1* tumour inhibition. *Nature Genet* 1996 ; 12 : 224.
  12. Steeg PS. Granin expectations in breast cancer ? *Nature Genet* 1996 ; 12 : 223-5.