

## APC, $\beta$ -caténine et cancer : les diaboliques

De nombreuses altérations génétiques ont été mises en évidence dans des tumeurs colorectales, en particulier des mutations du gène *APC* qui sont très précoces, présente aussi bien dans les formes sporadiques que familiales de la maladie [1]. Le gène *APC*, est celui en cause dans la polypose colique familiale et semble également muté dans les formes familiales non polyposiques (HPNCC, *hereditary non polyposis colon cancer*), dues à des mutations d'enzymes de réparation des mésappariements (*m/s n° 11, vol. 12, p. 1268*), ce qui suggère qu'il joue un rôle fondamental dans l'apparition et l'évolution de la maladie. Bien que nombre de travaux aient été consacrés à l'étude du mécanisme d'action de la protéine APC dans la transformation néoplasique, celui-ci reste encore mal compris. Différents partenaires d'APC ont été décrits, mais leurs rôles réels dans la perte du contrôle de la croissance cellulaire n'est pas encore élucidé [1]. Toutefois, divers indices permettent d'impliquer non seulement APC mais

aussi la  $\beta$ -caténine dans la prédisposition au cancer du côlon. En effet l'association d'APC à la kinase GSK3 $\beta$  permet de contrôler le taux de  $\beta$ -caténine libre [2]. Ainsi dans des cellules normales du côlon, le complexe APC-GSK3 $\beta$  lie la  $\beta$ -caténine et permet d'en maintenir le niveau cytosolique à une valeur faible en stimulant sa dégradation [3]. Au contraire, dans les tumeurs colorectales, les mutations d'APC empêchent la dégradation de la  $\beta$ -caténine qui s'accumule alors (*figure 1*). Dès lors, de forts soupçons pesaient sur le rôle d'une accumulation de la  $\beta$ -caténine dans la progression tumorale. La  $\beta$ -caténine est une protéine multifonctionnelle, intervenant à la fois dans l'adhérence cellulaire grâce à un complexe cadhérine-caténine et dans la transmission d'un signal de prolifération relayé par Wiggless/Wnt1 [3-6]. Les gènes *Wiggless/Wnt1* jouent un rôle fondamental au cours du développement de l'axe dorso-ventral de la drosophile et antéro-postérieur du xénope et ont été impliqués dans la formation de

tumeurs mammaires (*m/s n° 10, vol. 3, p. 625*) [7]. En l'absence d'un signal Wnt, la concentration de  $\beta$ -caténine libre est faible; à l'inverse, le signal Wnt permet de stabiliser la  $\beta$ -caténine et donc d'en augmenter la concentration libre. Récemment, le mode d'action de la  $\beta$ -caténine sur l'expression génique a pu être précisé. La recherche de partenaires par la technique des doubles hybrides dans la levure et par co-immunoprécipitation a montré, en effet, que la  $\beta$ -caténine s'associe dans le cytoplasme au facteur de transcription LEF-1 (*lymphocyte enhancer factor*) et Tcf-3 (*T-cell factor*) [8, 9], et des études récentes chez le xénope suggèrent que le complexe  $\beta$ -caténine-Tcf-3 est important pour la formation de l'axe dorso-ventral [9]. Ces résultats ont conduit deux équipes à étudier dans des cellules coliques humaines le rôle de ce complexe  $\beta$ -caténine-Tcf sur la transcription de gènes rapporteurs comprenant des sites de liaison à Tcf et à étudier les possibilités de modulation de ce système d'activation [10-12].

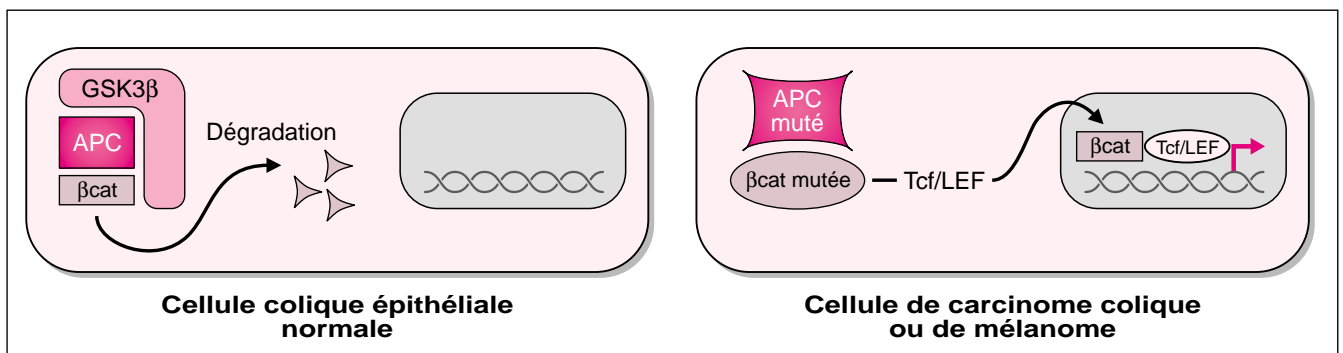


Figure 1. La  $\beta$ -caténine dans les cellules coliques normales et tumorales. Dans des cellules coliques normales, le complexe APC-GSK3 $\beta$  lie la  $\beta$ -caténine et permet d'en maintenir un faible niveau cytosolique en stimulant sa dégradation. Au contraire, dans les tumeurs colorectales, mais aussi dans des cellules issues de mélanomes humains, les mutations d'APC ou de  $\beta$ -caténine empêchent la dégradation de la  $\beta$ -caténine et stimulent dès lors la formation du complexe  $\beta$ -caténine-Tcf/LEF. Ce complexe est alors transporté dans le noyau et active la transcription de gènes cibles non encore identifiés dont la transcription dépend aussi des facteurs Tcf/LEF.  $\beta$ -cat :  $\beta$ -caténine.

Les protéines Tcf/LEF constituent une famille de facteurs de transcription de type HMG (*high mobility group*), dont les gènes respectifs partagent une région similaire contenant le domaine de fixation à l'ADN. Cette famille comprend au moins quatre membres: LEF-1, Tcf-1, Tcf-3 et Tcf-4. Ces facteurs ne se comportent pas comme des facteurs de transcription classiques en ce qu'ils sont dépourvus de domaine d'activation transcriptionnelle. Ainsi, dans le complexe bipartite  $\beta$ -caténine-Tcf, la  $\beta$ -caténine jouerait le rôle d'un domaine d'activation transcriptionnelle tandis que Tcf apporterait le domaine de liaison à l'ADN.

Des travaux récents d'une équipe des Pays-Bas suggèrent que hTcf-4 est synthétisé dans l'épithélium colique [11]. Les auteurs ont cloné et caractérisé son ADNc, et démontré par des techniques de transfection de cellules en culture que l'activation transcriptionnelle des gènes cibles de hTcf4 n'était possible qu'en présence du complexe  $\beta$ -caténine-hTcf4. L'utilisation de cellules issues d'un carcinome colique suggère, en outre, qu'en absence d'APC, le complexe  $\beta$ -caténine-hTcf4 est constitutivement actif et permet alors l'activation constitutive de gènes cibles. La réintroduction du gène APC permet d'inverser ce phénomène, probablement en diminuant le taux de  $\beta$ -caténine libre et donc en empêchant la formation du complexe  $\beta$ -caténine-hTcf4. Ces résultats confirment que la perte d'APC entraîne une surproduction de  $\beta$  caténine libre, et démontre que la formation d'un complexe  $\beta$ -caténine-hTcf4 aboutit à l'activation transcriptionnelle de gènes cibles, non encore identifiés.

Une autre équipe, de Baltimore (MD, USA), s'est attachée à étudier les mécanismes qui conduisent de la mutation d'APC à l'accumulation de la  $\beta$ -caténine et, dès lors, à la formation du complexe  $\beta$ -caténine-Tcf [12]. En accord avec les résultats précédents, une délétion d'APC au niveau de son domaine d'interaction avec la  $\beta$ -caténine et/ou de dégradation permet une accumulation de cette dernière et entraîne donc l'activation transcriptionnelle de gènes cibles de Tcf. Les auteurs américains ont également travaillé sur deux lignées cellulaires de cancer du côlon (HCT116 et SW48)

produisant une protéine APC normale et ont trouvé, en revanche, des mutations hétérozygotes de la  $\beta$  caténine entraînant, soit une délétion de la sérine 45, soit une mutation non sens C→A (Ser<sup>33</sup>→Tyr). Ces mutations siègent dans le domaine reconnu par la kinase GSK3 $\beta$ , dont la phosphorylation semble déstabiliser les molécules de  $\beta$ -caténine. Nous nous trouvons donc là face à un exemple supplémentaire de mutations activatrices stabilisant la  $\beta$ -caténine, ce qui aboutit à une activation transcriptionnelle constitutive des gènes cibles de hTcf-4. Il faut noter que, de ce fait, ces mutations de la  $\beta$ -caténine ont le même résultat que l'inactivation du gène APC. Ces résultats permettent de proposer un modèle cohérent de la cancérogenèse colique (*figure 1*). En situation normale, en l'absence de signal Wnt, la GSK3 $\beta$  est active et la  $\beta$ -caténine est phosphorylée par le complexe APC-GSK3 $\beta$ , son catabolisme est accéléré et sa concentration libre est basse; le complexe  $\beta$ -caténine-Tcf ne se forme pas. En revanche, un signal d'activation relayé par la voie Wnt aboutit à l'inhibition de la GSK3 $\beta$ , à l'absence de phosphorylation et à la stabilisation de la  $\beta$ -caténine qui, à forte concentration dans le cytoplasme, se complexe à Tcf, est transportée dans le noyau et active la transcription de gènes cibles. Deux altérations géniques peuvent aboutir au même résultat: soit une délétion d'APC au niveau de la séquence codant pour le domaine d'interaction et/ou de dégradation de la  $\beta$ -caténine, soit une mutation de la  $\beta$ -caténine empêchant sa dégradation par le complexe APC-GSK3 $\beta$ . De manière surprenante, le même type d'observation a pu être mise en évidence dans des lignées cellulaires de mélanome humain dont la  $\beta$ -caténine est mutée et stabilisée [13]. Ainsi, la surexpression de  $\beta$ -caténine pourrait être un mécanisme important au cours de la progression tumorale de plusieurs types cellulaires. La prochaine étape sera de débusquer les complices du coupable identifié, c'est-à-dire les gènes cibles des facteurs Tcf/LEF ■

## RÉFÉRENCES

1. Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 1996; 87: 159-70.

2. Rubinfeld B, Albert I, Porfiri E, Fiol C, Munemitsu S, Polakis P. Binding of GSK3 $\beta$  to the APC- $\beta$ -catenin complex and regulation of complex assembly. *Science* 1996; 1023-6.

3. Romagnolo B. APC: de nouveaux partenaires, de nouveaux indices... *Med Sci* 1996; 10: 1109-10.

4. Bornens M, Camonis J, Goud B, Thiéry J, Louvard D. Le nouvel âge de la cellule. *Med Sci* 1996; 12 (suppl 10): 50-66.

5. Peifer M, Rauskolb, Williams M, Riggleman B, Wieschaus E. The segment polarity gene armadillo interacts with the wingless signaling pathway in both embryonic and adult pattern formation. *Development* 1991; 111: 1029-43.

6. Deutsch J, Busson D. Des récepteurs pour les protéines de signalisation de la famille Wnt, enfin? *Med Sci* 1997; 13: 222-4.

7. McCrea PD, Brieher WM, Gumbiner BM. Induction of a secondary body axis in *Xenopus* by antibodies to  $\beta$ -catenin. *J Cell Biol* 1993; 123: 477-84.

8. Behrens J, Von Kries JP, Kühl M, Bruhn L, Wedlich D, Grosschedl R, Birchmeier W. Functional interaction of  $\beta$ -catenin with the transcriptional factor LEF-1. *Nature* 1996; 382: 638-42.

9. Molenaar M, Van de Wetering M, Oosterwegel M, Peterson-Maduro J, Godsave S, Korinek V, Roose J, Destree O, Clevers H. Xtcf-3 transcriptional factor mediates  $\beta$ -catenin-induced axis formation in *Xenopus* embryos. *Cell* 1996; 86: 391-9.

10. Peifer M.  $\beta$ -catenin as oncogene: the smoking gun. *Science* 1997; 275: 1752-3.

11. Korinek V, Barker N, Morin PJ, Van Wicheen D, De Weger R, Kinzler KW, Vogelstein B, Clevers H. Constitutive transcriptional activation by a  $\beta$ -catenin-Tcf complex in APC<sup>-/-</sup> colon carcinoma. *Science* 1997; 275: 1784-7.

12. Morin PJ, Sparks AB, Korinek V, Barker N, Clevers H, Vogelstein B, Kinzler KW. Activation of  $\beta$ -catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutation in  $\beta$ -catenin or APC. *Science* 1997; 275: 1787-90.

13. Rubinfeld B, Robbins P, El-Gamil M, Albert I, Porfiri E, Polakis P. Stabilization of  $\beta$ -catenin by genetics defects in melanoma cell lines. *Science* 1997; 275: 1790-2.

## Béatrice Romagnolo

Inserm U. 129, 24, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

## TIRÉS À PART

B. Romagnolo.