

La protéine Tiam-1 : facteur d'invasion tumorale et activateur de Rac

Comme cela a été récemment évoqué dans *m/s*, la définition des fonctions cellulaires et des voies de signalisation contrôlées par les petites protéines G de la famille Rho est en progrès rapide depuis quelques mois (*m/s* n°7, vol. 11, p. 1045) [1]. Ainsi, il a été montré que l'activation concertée des petites protéines G de la famille Rho (CDC42 → Rac → Rho) ou cascade des GTPases joue un rôle central dans la régulation du cytosquelette d'actine et contrôle, *via* la polymérisation de l'actine sous-membranaire, la formation de structures transitoires (filopodes, lamellipodes, câbles de tension, plaques d'adhérence, etc.) impliquées dans les propriétés d'adhérence et de migration cellulaires. Par ailleurs, il vient d'être clairement établi que les petites protéines G de la famille Rho contrôlent également des signaux nucléaires. Ainsi, CDC42 et Rac activent, *via* une cascade de kinases, des activités de type JNK/SAPK (*c-Jun N-terminal kinase* ou *stress-activated protein kinase*) (*m/s* n°3, vol. 11, p. 467); de même, l'activité du facteur SRF (*serum response factor*) semble dépendre d'au moins deux voies de signalisation indépendantes, contrôlées par le couple CDC42/Rac, d'une part, et par RhoA, d'autre part ([2] pour une mini-revue).

Une série de travaux récents provenant du groupe de J. Collard (Amsterdam, Pays-Bas), vient de démontrer que la dérégulation des voies de signalisation contrôlées par Rac peut rendre compte du caractère invasif d'une tumeur. Après mutagenèse rétrovirale d'un lymphome T de souris non invasif (BW5147T) et sélection *in vitro* pour l'invasivité, ce groupe a obtenu et analysé une série de clones

mutants ayant acquis un caractère invasif. Un gène impliqué avec une grande fréquence (40 %) dans l'apparition de clones invasifs a ainsi pu être isolé. Ce gène est activé le plus souvent par troncature dans la région codante 3' ou 5' mais peut l'être également par amplification. Il a été baptisé *Tiam-1* (*T lymphoma invasion and metastasis*). Le phénotype « invasif » induit par *Tiam-1* est caractérisé *in vitro* par la capacité des cellules lymphomateuses d'infiltrer une monocouche de fibroblastes et, *in vivo*, par l'obtention de métastases multiples chez la souris athymique [3]. Le gène *Tiam-1* qui a maintenant été cloné par le même groupe chez l'homme est fortement conservé au cours de l'évolution; les séquences nucléiques et protéiques dérivées des gènes murin et humain sont identiques respectivement à 88 % et 95 % [4]. Le produit du gène *Tiam-1*, une protéine de 200 kDa environ, contient des domaines de type DH (*Dbl homologous*) et PH (*pleckstrin homologous*). Le domaine DH, initialement décrit dans le produit de l'oncogène *Dbl*, confère à cette protéine une activité d'échange GDP/GTP, activant spécifiquement les protéines G de la famille Rho [5]. Toutefois, l'activité d'échange n'a pas pu être détectée dans plusieurs des protéines possédant un domaine DH et ce motif pourrait n'être alors qu'un domaine d'interaction avec les protéines G de la famille Rho.

Dans le cas de la protéine *Tiam-1*, les études biochimiques de l'équipe de J. Collard mettent clairement en évidence une activité d'échange, spécifique des protéines Rho et maximale sur la protéine Rac1 [6]. Le produit du gène *Tiam-1* est donc un activateur des pe-

tites protéines G de la famille Rho possédant, au moins *in vitro*, une certaine spécificité pour Rac1. L'introduction dans des fibroblastes NIH 3T3 de constructions rétrovirales exprimant *Tiam-1* conduit à un phénotype morphologique identique à celui qu'induit Rac1V12, une forme activée de Rac1 (ondulations membranaires ou *ruffles* multiples et nombreuses vésicules de pinocytose). De plus, les *ruffles* induits par *Tiam-1* dans les fibroblastes sont inhibés spécifiquement par la coexpression d'un mutant transdominant négatif de Rac1 (Rac1N17), alors que l'inactivation de la protéine RhoA ne les modifie pas. Enfin, les protéines Rac1 et *Tiam-1*, toutes deux présentes dans le cytoplasme, sont également colocalisées avec l'actine F au niveau des *ruffles*. Les effets cellulaires de *Tiam-1* sont donc clairement en rapport avec une activation de Rac1. Finalement, l'induction du phénotype invasif peut également être obtenue par l'expression d'un mutant activé de *Rac1*. Des expériences d'infection de cellules lymphomateuses par des constructions rétrovirales permettant la synthèse des protéines Rac1V12 ou RhoV14 (mutant activé de Rho) démontrent que seule la protéine Rac1V12 est capable de mimer l'induction du caractère invasif (*in vitro*) obtenu avec *Tiam-1* [5]. Au total, dans ce système expérimental de lymphome de souris, l'invasivité induite par le gène *Tiam-1* résulte de l'activation directe de Rac1 par l'activité d'échange liée au domaine Dbl de la protéine *Tiam-1*.

Naturellement, il reste à comprendre par quels mécanismes l'activation de *Rac1* rend les cellules invasives. Notamment, il sera important de préciser les parts respectives, dans l'in-

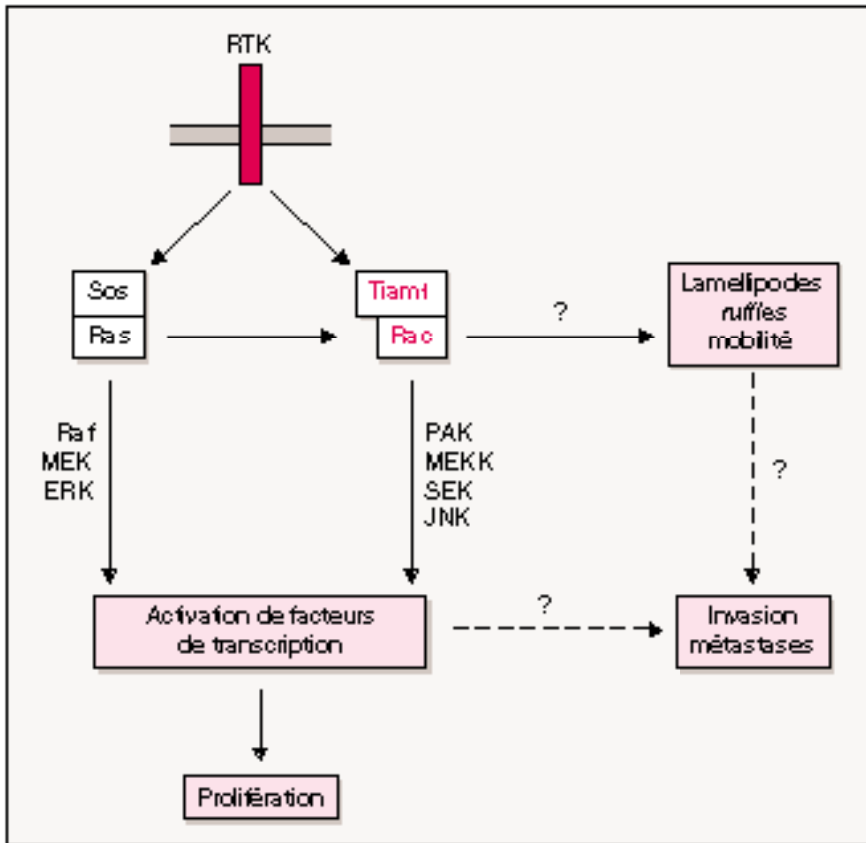


Figure 1. **Les voies de signalisation Ras et Rac: interrelations et contribution au phénotype tumoral.** La stimulation de récepteurs tyrosine kinases (RTK) active les deux voies. Ras activé est également capable d'activer Rac. La stimulation par Ras de la voie Raf-Erk conduit à l'activation de facteurs de transcriptions de la famille Ets. Parallèlement, Rac contrôle l'activation d'une cascade de kinases (Pak-Jnk) qui contribue à l'activation du complexe SRF. Par ailleurs, la voie Tiam1-Rac contrôle les modifications du cytosquelette d'actine (ondulations membranaires ou ruffles, lamellipodes) par des mécanismes moléculaires non élucidés. De même, il reste à déterminer la part respective de la régulation de l'actine et des activations transcriptionnelles, dans l'induction de la capacité invasive et métastasiante d'une tumeur.

duction du caractère invasif, des voies dépendantes de Rac « cytoplasmique » et « nucléaire ».

Par ailleurs, il a été montré que l'activation de la voie Rac est nécessaire à la transformation par Ras et suffisante pour induire la transformation oncogénique dans des fibroblastes de rat (*m/s* n° 7, vol. 11, p. 1045) [1]; dans le même ordre d'idées, le groupe de J. Collard a maintenant démontré que l'activation oncogénique de Tiam-1 peut être obtenue par une troncation N-terminale ne laissant persister que les domaines DH et PH

(J. Collard, communication personnelle).

La mise en évidence de la protéine Tiam-1 et la démonstration de son activité d'échange vis-à-vis de Rac1 contribuent à la définition d'un réseau de transmission du signal (*figure 1*) comprenant les voies Ras et Rac et contrôlant les différents aspects du phénotype tumoral (prolifération, invasivité, transformation morphologique).

Le caractère ubiquitaire de l'expression de Rac1 et de Tiam-1 suggère que cette voie est active dans de nom-

breux types cellulaires. Le groupe de J. Collard a également montré que le gène *Tiam-1* est transcrit dans de nombreuses lignées tumorales humaines et murines. Les travaux futurs devront dire si l'activation de la voie Tiam-Rac joue réellement un rôle *in vivo* dans la progression d'une tumeur vers un phénotype plus invasif et dans quels types de tumeurs.

G.G.
A.T.

1. Zalzman G, Closson V, Honoré N, Olofsson B, Tavittian A. Participation de la cascade des gènes *Rho* à la régulation du cytosquelette: rôle possible dans les mécanismes d'oncogénèse. *médecine/sciences* 1995; 11: 1551-6.
2. Vojtek AB, Cooper JA. Rho family members: activators of MAP kinase cascades. *Cell* 1995; 82: 527-9.
3. Habets GGM, Scholtes EHM, Zuydgeest D, van der Kammen RA, Stam JC, Berns A, Collard JG. Identification of an invasion-inducing gene, *TIAM1*, that encodes a protein with homology to GDP-GTP exchangers for Rho-like proteins. *Cell* 1994; 77: 537-49.
4. Habets GGM, van der Kammen RA, Stam JC, Michiels F, Collard JG. Sequence of the human invasion-inducing *TIAM1* gene, its conservation in evolution and its expression in tumor cell lines of different tissue origin. *Oncogene* 1995; 10: 1371-6.
5. Galland F, Birnbaum D. Le proto-oncogène *mcj2/dbl* et les facteurs d'échange GDP-GTP. *médecine/sciences* 1992; 8: 819-26.
6. Michiels F, Habets GGM, Stam JC, van der Kammen RA, Collard JG. A role for Rac in Tiam-1-induced membrane ruffling and invasion. *Nature* 1995; 375: 338-40.

* ABRÉVIATIONS *

- MEK:** MAP kinase/extracellular signal-regulated kinase /kinase.
ERK: extracellular signal-regulated kinase.
PAK: p21-activated kinase.
JNK: Jun N-terminal kinase.
SEK: SAPK/ERK kinase.
sos: son of sevenless, facteur d'échange de Ras.
Tiam1: T lymphoma invasion and metastasis, facteur d'échange de Rac.
MEKK: MAPkinase/extracellular signal-regulated kinase/kinase/kinase.