

Rôle en cancérologie et ciblage du récepteur à activité tyrosine kinase PTK7

Laetitia Ganier¹, Xavier Morelli², Jean-Paul Borg^{1,3*}

PTK7 et polarité cellulaire en cancérologie

Les signaux gouvernant la mise en place et le maintien de l'homéostasie des tissus épithéliaux, dont ceux impliqués dans leur architecture, sont des processus finement régulés. La dérégulation de ces cascades de signalisation peut conduire au développement d'un phénotype tumoral. Parmi ces voies, la voie de signalisation WNT¹, fondamentale pour le développement embryonnaire des vertébrés et invertébrés, est classiquement divisée en deux axes qui se différencient par leur dépendance ou indépendance de la protéine β -caténine. D'une part, la voie canonique WNT/ β -caténine subit fréquemment des altérations pendant la tumorigenèse, en particulier dans les cancers colorectaux (CCR) [1]. D'autre part, la voie WNT non canonique (indépendante de la β -caténine) est divisée en deux axes principaux : la voie WNT/ Ca^{2+} utilisant le calcium intracellulaire en tant que messager secondaire et la voie WNT/PCP (polarité cellulaire planaire) initialement décrite chez la drosophile et très conservée au cours de l'évolution, y compris chez l'homme. Les protéines impliquées dans la voie WNT/PCP et leurs complexes moléculaires associés participent au cours du développement embryonnaire à la morphogénèse tissulaire mais également à la migration et à la division cellulaire grâce à des mécanismes moléculaires encore mal compris. De récentes études ont pu mettre en évidence un lien entre la voie WNT/PCP et le cancer, en particulier ceux touchant le sein et le côlon où l'hyperactivation de cette voie est corrélée à un mauvais pronostic et à une résistance aux traitements [2]. Dans ces maladies, certaines cellules tumorales sont le siège d'une réactivation de la voie WNT qui joue un rôle déterminant dans plusieurs étapes du processus cancéreux dont l'auto-renouvellement des cellules souches cancéreuses, l'ini-



tiation tumorale, le développement métastatique, ainsi que la résistance aux traitements [3].

PTK7 (*protein tyrosine kinase*)7 est un récepteur membranaire appartenant à la superfamille des récepteurs à tyrosine kinase (RTK) qui a été initialement identifié dans les mélanocytes et les carcinomes du côlon [4]. Ce récepteur est considéré comme une pseudokinase du fait de l'absence d'activité enzymatique de son domaine tyrosine kinase. PTK7 peut néanmoins s'hétérodimériser avec des RTK actifs comme le VEGFR (*vascular endothelium growth factor*) et ROR (*receptor tyrosine kinase-like orphan receptor*)2 et jouer un rôle d'amplificateur de signal ou de co-récepteur [4, 5]. PTK7 est un acteur commun des voies de signalisation WNT/ β -caténine et WNT/PCP et peut agir positivement ou négativement sur ces deux voies de signalisation. Par exemple, PTK7 peut interagir directement avec la β -caténine, favorisant la signalisation WNT/ β -caténine durant le développement du xénope ou avec ROR2, activant la signalisation WNT/PCP (Figure 1) [5-7].

PTK7 est surexprimé dans de nombreux types de cancers d'origine épithéliale (cancers du sein, du côlon, du poumon, de l'œsophage...), des sarcomes ainsi que des cancers d'origine hématologique. Bien que la plupart des études corrélient l'expression de PTK7 à un mauvais pronostic, de rares études ont montré un bon pronostic associé à son expression, par exemple dans le cas des cancers gastriques [8]. Dans les leucémies aiguës myéloïdes, PTK7 est surexprimé dans les cellules souches leucémiques et représente un marqueur de mauvais pronostic lié à une augmentation de la résistance aux chimiothérapies (anthracyclines) [9]. Ce phénomène de résistance corrélié à la surexpression de PTK7 a également été décrit pour le cancer du sein [10] et les cancers

¹Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (CRCM), Équipe labellisée Ligue Cell polarity, cell signaling and cancer, Aix-Marseille Université, Inserm, CNRS, Institut Paoli Calmettes, 13009 Marseille, France.

²Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (CRCM), Aix-Marseille Université, Inserm, CNRS, Institut Paoli Calmettes, 13009 Marseille, France.

³Institut Universitaire de France, Paris, France.

*Auteur correspondant : jean-paul.borg@inserm.fr

¹ Wnt (prononcez « wint ») est une famille de glycoprotéines riches en cystéines, d'environ 350 acides aminés chacune, sécrétées dans le milieu extracellulaire et impliquées chez tous les animaux dans l'embryogenèse et l'homéostasie des tissus adultes. Wnt est la contraction de Wg, wingless ou « sans ailes » et Int pour « integration site ».

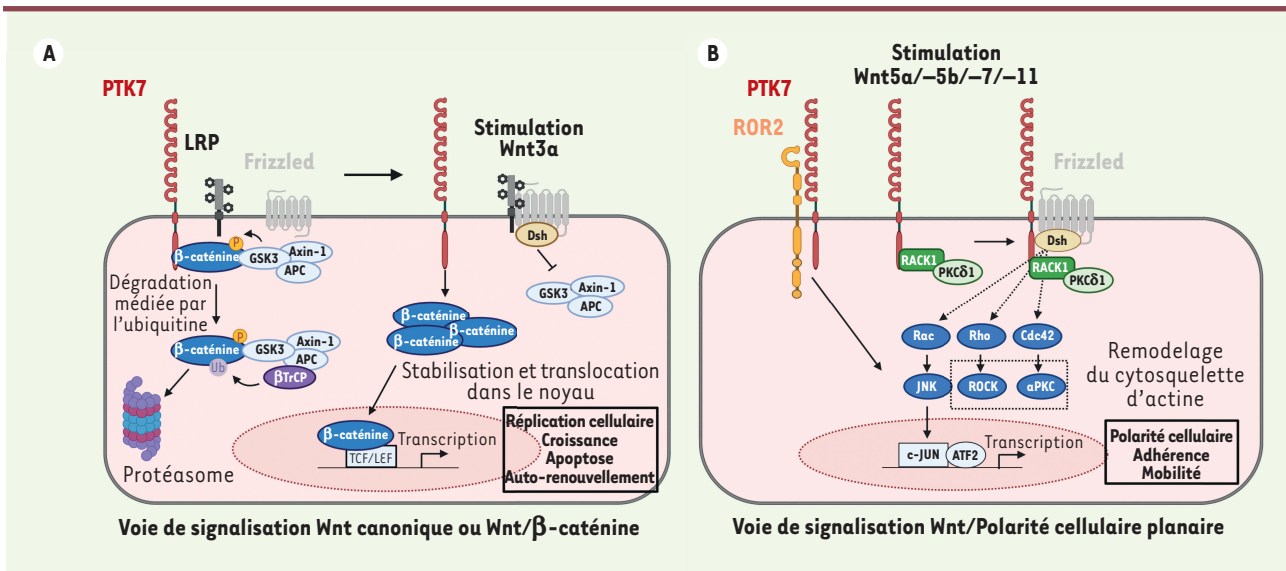


Figure 1. Les différents modes d'action de PTK7 dans la signalisation Wnt. **A.** Voie de signalisation Wnt canonique : en l'absence de ligands Wnt, la β -caténine est séquestrée à la membrane avec PTK7 et s'associe au complexe *Adenomatous polyposis coli* (APC), Axine-1 et glycogène synthase kinase 3β (GSK3 β) qui va la phosphoryler, induisant sa dégradation par le protéasome. La stimulation par Wnt3a induit une dissociation du complexe, la β -caténine s'accumule alors dans le cytosol et subit une translocation dans le noyau où elle s'associe aux facteurs de transcription LEF (*lymphoid enhancer binding factor*)/TCF (*T-cell specific transcription factor*) pour induire l'expression des gènes cibles. **B.** Voie de signalisation Wnt/PCP : cette signalisation est activée par des ligands tels que Wnt5a, Wnt7 ou Wnt11. PTK7 va participer à la signalisation Wnt/PCP au travers de différentes interactions. D'une part, PTK7 va interagir avec RACK (*receptor for activated C kinase*)1 qui va recruter l'enzyme PKC δ (*protein kinase C delta*)1 afin de promouvoir le recrutement de Dishevelled (Dsh) à la membrane. La transduction du signal est alors permise par le récepteur Frizzled et Dsh qui active des petites protéines G (RhoA, Rac), activant à leur tour leurs cibles respectives. PTK7 se lie à Dsh en présence de Frizzled mais peut également se lier à ROR2 conduisant à l'activation de la voie Wnt/PCP via JNK (*c-Jun N-terminal kinase*) [3, 4].

colorectaux (CCR) [11]. Dans les CCR, la surexpression de PTK7 est associée *in vitro* à l'induction d'un phénotype pro-migratoire et prométastatique et, *in vivo*, à la survenue de métastases et à une réduction de la survie des patients non métastatiques [2]. Il a également été montré que PTK7 est fortement exprimé sur les cellules initiateuses de tumeurs (TIC, *tumor initiating cells*) issues de xéno greffes dérivées de patients (ou PDX, *patient-derived xenografts*) atteints de cancer du sein triple négatif (TNBC), de cancer ovarien (OVCA) et de cancer du poumon non à petites cellules (NSCLC) [12]. Il n'a pas encore été montré si ces fonctions favorisant le processus tumoral sont associées à la voie WNT/ β -caténine, à la voie WNT/PCP ou à un autre mécanisme encore non élucidé, mais ces données font de PTK7 une cible de choix pour le développement de nouvelles thérapies ciblées.

Stratégies thérapeutiques en développement ciblant PTK7

L'absence d'activité enzymatique dans les pseudokinases comme PTK7 rend impossible le développement de stratégies classiques comme les petites molécules chimiques inhibant les fonctions catalytiques de protéines kinases actives. Au même titre que ces dernières, les pseudokinases ont un rôle important dans la signalisation cellulaire et sont souvent dérégulées dans les cancers : leur ciblage constitue donc un défi thérapeutique [13]. Dans le cas de PTK7, deux approches

actuellement développées reposent sur le même principe : cibler les cellules tumorales surexprimant PTK7 et les détruire grâce à un agent thérapeutique vectorisé (Figure 2).

La première approche, en cours de développement clinique, repose sur l'utilisation d'un conjugué anticorps-médicament (ADC, *antibody-drug conjugate*), le cofétuzumab pélidotine. Les ADC sont des molécules anticancéreuses ayant une action ciblée permettant de combiner la sélectivité tumorale des anticorps avec la puissance des petites molécules cytotoxiques afin d'en limiter les effets indésirables bien connus grâce au ciblage des cellules tumorales, permettant également une diminution de la dose injectée. L'ADC en développement est constitué d'un anticorps monoclonal (AcM) anti-PTK7 humanisé conjugué à l'aurostatine, un puissant agent antimitotique inhibant la division cellulaire par blocage de la polymérisation de la tubuline, via un *linker* valine-citrulline (« vc »). Les études précliniques menées chez la souris ont permis d'observer une régression importante de la masse tumorale dans les xéno greffes issues de patients TNBC, OVCA et NSCLC, avec une efficacité supérieure ou égale à celle obtenue avec

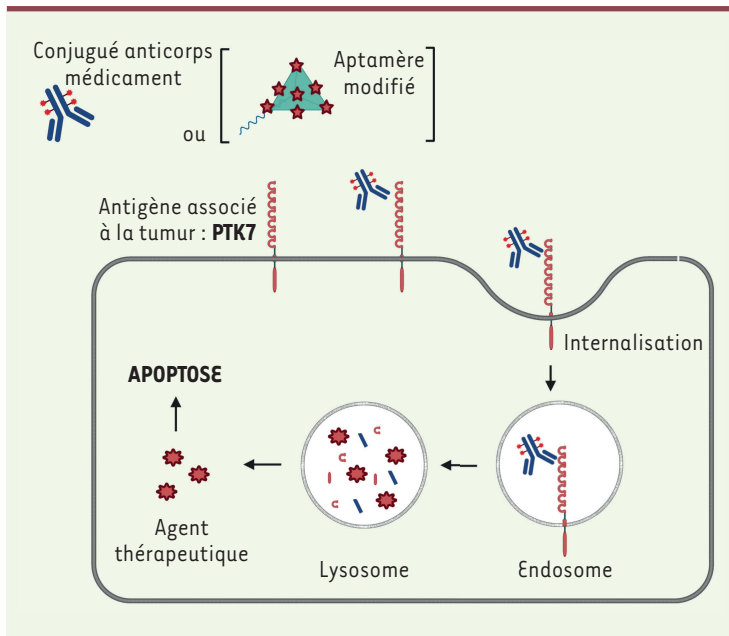


Figure 2. Stratégies thérapeutiques en développement ciblant PTK7. Ces stratégies reposent sur un principe consistant à cibler les tumeurs surexprimant PTK7, par ailleurs peu exprimé dans les tissus sains. Conjugué anticorps-médicament (ADC) et aptamère modifié présentent une bonne affinité et spécificité pour PTK7 et permettent une vectorisation de molécules thérapeutiques directement dans les cellules tumorales afin d'y induire une mort cellulaire par apoptose. Pour cela, la fixation de l'ADC ou de l'aptamère à PTK7 va induire une internalisation du récepteur par un mécanisme d'endocytose. Le clivage de l'ADC (clivage du *linker* et/ou dégradation de l'anticorps accompagné de la libération du médicament, ici l'auristatine) ou de l'ADN tétraèdre (contenant la doxorubicine) associé à l'aptamère se produit au cours du trafic dans la voie endo-lysosomale. Cela conduit à la diffusion des molécules bioactives dans le cytosol où les effets cytotoxiques surviennent. Certaines molécules pourront diffuser du cytosol vers le noyau afin d'accéder à leur cible (ADN par exemple).

des chimiothérapies de référence, ainsi qu'une réduction spécifique de la population de TIC. Cet ADC anti-PTK7 pourrait également présenter un effet anti-angiogénique et stimuler le système immunitaire du fait d'une expression de PTK7 par les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins et par les cellules dendritiques. Une première étude clinique de phase I (protocole NCT02222922) a été réalisée afin d'évaluer la sécurité et tolérabilité du cofétuzumab pélidotine chez des patients présentant des TNBC, OVCA et NSCLC avancés et résistants aux chimiothérapies standards. Les données préliminaires de l'étude présentées lors de la conférence internationale *American Society of Clinical Oncology* (ASCO) en 2018 ont montré une activité anti-tumorale prometteuse ainsi qu'un profil de sécurité gérable chez ces patients. Deux nouvelles études cliniques sont actuellement en cours. Une première étude, dite de phase I associant le cofétuzumab pélidotine au gédatisib, un inhibiteur des voies de signalisation PI3K (*phosphoinositide 3-kinase*)/mTOR (*mammalian target of rapamycin*), consiste à évaluer la sécurité chez des patientes atteintes de TNBC métastatiques. La deuxième étude, dite de phase Ib, évalue l'efficacité et la sécurité du traitement chez des patients NSCLC dont les tumeurs présentent spécifiquement une forte expression de PTK7 [12].

Une deuxième stratégie qui repose sur l'utilisation d'un aptamère ou « anticorps chimique » est également en développement, mais les preuves d'efficacité *in vivo* n'ont pas encore été démontrées. Un aptamère est un oligonucléotide synthétique (ADN simple brin ou ARN) capable de fixer un ligand spécifique. Tout comme l'anticorps anti-PTK7 transformé en ADC par couplage avec l'auristatine, l'ADN de l'aptamère Sgc8 spécifique de PTK7 a été modifié par l'association d'un ADN tétraèdre afin de transporter des molécules de doxorubicine (une anthracycline) spécifiquement au sein de cellules de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) exprimant PTK7. Cette stratégie présente des avantages par rapport aux anticorps monoclonaux tels qu'une

grande stabilité, une meilleure compatibilité et une production chimique rapide ce qui fait des aptamères des candidats prometteurs pour le développement de nouvelles thérapies ciblées [14].

Bien que les premiers résultats cliniques de l'ADC aient confirmé que PTK7 constitue une cible de choix pour le développement de nouvelles thérapies ciblées, il sera important de proposer dans le futur des voies alternatives à ces stratégies, en particulier capables de bloquer sélectivement la fonction de PTK7.

Approches alternatives pour le ciblage de PTK7

Les deux stratégies citées ci-dessus n'utilisent en fait que la capacité de PTK7 à être surexprimé par les tumeurs. Malgré l'absence d'activité catalytique de PTK7, il est cependant possible de développer des composés s'attaquant à l'expression ou à la fonction du récepteur (fixation d'un ligand, dimérisation avec un autre récepteur) et d'ainsi spécifiquement intervenir sur ses propriétés anti-apoptotique et pro-invasive.

La première approche repose sur l'utilisation de petites molécules chimiques capables de se fixer de façon orthostérique sur le site de liaison à l'ATP (adénosine triphosphate) ou de façon allostérique (à distance du site de liaison à l'ATP) à une protéine kinase cible. Cette liaison pourra alors interférer avec la dimérisation de PTK7, la fixation à l'un de ses ligands, le stabiliser dans une conformation inactive ou dans un complexe inactif [13]. Au sein de notre laboratoire, nous expérimentons le développement de molécules chimiques inhibitrices

Enfin, la dernière approche repose sur l'utilisation d'AcM ciblant la partie extracellulaire de PTK7, empêchant sa dimérisation ou son hétérodimérisation avec un corécepteur (par exemple ROR2) ou avec un ligand (par exemple WNT3A ou WNT5A). Dans le cadre de cette approche pourront également être développés des formats d'anticorps bispécifiques « Fab-like » (bsFab) permettant de bénéficier de la spécificité de liaison de deux AcM afin de bloquer une interaction protéine-protéine [13].

Un autre domaine d'application de ces anticorps bispécifiques consiste à associer le ciblage direct des cellules tumorales (via la reconnaissance d'antigènes tumoraux, dont PTK7), et la reconnaissance de récepteurs activateurs exprimés à la surface des cellules effectrices (lymphocytes T, cellules *natural killer*) du système immunitaire. Ce dernier joue un rôle-clé dans la réponse anti-tumorale, mais son action est souvent freinée par des mécanismes mis en place par les tumeurs et leur microenvironnement afin de perturber l'action des effecteurs immuns et de rendre l'hôte permissif au développement tumoral. La révolution de l'immunothérapie ouvre de nouvelles perspectives pour réinitialiser les défenses immunitaires du patient et offrir de nombreuses options de ciblage des cellules tumorales, en particulier en augmentant le recrutement de cellules immunitaires effectrices spécifiquement au sein de la tumeur. Cette approche a notamment été lancée pour cibler le récepteur ROR1, une pseudokinase de la voie WNT, à l'aide des technologies CAR (*chimeric antigen receptor*)-T cells et BiTE (*bispecific T-cell engager*) [15]. Les CAR-T cells (lymphocytes T porteurs d'un récepteur chimérique) sont des lymphocytes T modifiés génétiquement et exprimant un récepteur chimérique conçu pour reconnaître un antigène associé aux tumeurs (TAA, *tumor-associated antigen*), membranaire. La technologie BiTE constitue une classe d'AcM bispécifiques qui se lie d'une part aux lymphocytes T via la molécule CD3 et, d'autre part, au TAA (ex : le blinatumomab, anti-CD3 x anti-CD19²). Ces approches seraient tout à fait adaptées au ciblage de cellules tumorales surexprimant PTK7.

Bien que l'inhibition fonctionnelle de RTK de la famille des pseudokinases comme PTK7 constitue un challenge du fait de l'absence d'activité catalytique mais également en raison de leur mode d'action encore mal compris, il est évident que ces récepteurs constituent des cibles thérapeutiques prometteuses. Différentes stratégies thérapeutiques sont actuellement disponibles et leur développement pourrait permettre la conception de nouveaux candidats-médicaments capables de cibler ces récepteurs surexprimés dans de nombreux cancers et associés à un mauvais pronostic. ♦

Role in oncology and targeting of the PTK7 tyrosine kinase receptor

REMERCIEMENTS

Le laboratoire de JPB est soutenu par la Ligue Nationale Contre le Cancer (équipe labellisée 2019) et l'Institut Paoli-Calmettes. LG est financée pendant sa thèse par la Ligue Nationale Contre le Cancer. JPB est membre sénior de l'Institut Universitaire de France.

² CD19 est une molécule exprimée par une très grande partie des lymphocytes B mais aussi très fortement par les lymphocytes B tumoraux (notamment dans les leucémies).

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Shang S, Hua F, Hu ZW. The regulation of beta-catenin activity and function in cancer: therapeutic opportunities. *Oncotarget* 2017 ; 8 : 33972-89.
- Lhoumeau AC, Martinez S, Boher JM, et al. Overexpression of the promigratory and prometastatic PTK7 receptor is associated with an adverse clinical outcome in colorectal cancer. *PLoS One* 2015 ; 10 : e0123768.
- Daulat AM, Borg JP. Wnt/planar cell polarity signaling: new opportunities for cancer treatment. *Trends Cancer* 2017 ; 3 : 113-25.
- Peradziryi H, Tolwinski NS, Borchers A. The many roles of PTK7: a versatile regulator of cell-cell communication. *Arch Biochem Biophys* 2012 ; 524 : 71-6.
- Martinez S, Scerbo P, Giordano M, et al. The PTK7 and ROR2 protein receptors interact in the vertebrate Wnt/planar cell polarity (PCP) pathway. *J Biol Chem* 2015 ; 290 : 30562-72.
- Puppo F, Thome V, Lhoumeau AC, et al. Protein tyrosine kinase 7 has a conserved role in Wnt/beta-catenin canonical signalling. *EMBO Rep* 2011 ; 12 : 43-9.
- Lu X, Borchers AG, Jolicœur C, et al. PTK7/CCK-4 is a novel regulator of planar cell polarity in vertebrates. *Nature* 2004 ; 430 : 93-8.
- Lin Y, Zhang LH, Wang XH, et al. PTK7 as a novel marker for favorable gastric cancer patient survival. *J Surg Oncol* 2012 ; 106 : 880-6.
- Prebet T, Lhoumeau AC, Arnoulet C, et al. The cell polarity PTK7 receptor acts as a modulator of the chemotherapeutic response in acute myeloid leukemia and impairs clinical outcome. *Blood* 2010 ; 116 : 2315-23.
- Ataseven B, Angerer R, Kates R, et al. PTK7 expression in triple-negative breast cancer. *Anticancer Res* 2013 ; 33 : 3759-63.
- Meng L, Sefah K, O'Donoghue MB, et al. Silencing of PTK7 in colon cancer cells: caspase-10-dependent apoptosis via mitochondrial pathway. *PLoS One* 2010 ; 5 : e14018.
- Damelin M, Bankovich A, Bernstein J, et al. A PTK7-targeted antibody-drug conjugate reduces tumor-initiating cells and induces sustained tumor regressions. *Sci Transl Med* 2017 ; 9.
- Kung JE, Jura N. Prospects for pharmacological targeting of pseudokinases. *Nat Rev Drug Discov* 2019 ; 18 : 501-26.
- Liu M, Ma W, Li Q, et al. Aptamer-targeted DNA nanostructures with doxorubicin to treat protein tyrosine kinase 7-positive tumours. *Cell Prolif* 2019 ; 52 : e12511.
- Karvonen H, Perttilä R, Niininen W, et al. Targeting Wnt signaling pseudokinases in hematological cancers. *Eur J Haematol* 2018 ; 101 : 457-65.

TIRÉS À PART

L. Ganier



m/s
médecine/sciences

Abonnez-vous à médecine/sciences

www.medecinesciences.org