

Le gène suppresseur de tumeur APC : une navette pour la β -caténine

Le gène suppresseur de tumeur APC (*adenomatous polyposis coli*) a été défini par Kinzler et Vogelstein comme le gardien de la cellule épithéliale intestinale [1]. En effet, son produit contrôle à la fois la prolifération, l'apoptose et la migration de la cellule épithéliale, trois éléments fondamentaux dans le contrôle de l'homéostasie de cet épithélium soumis à un renouvellement incessant. Des mutations inactivatrices du gène APC sont responsables des formes héréditaires de cancer du côlon que sont les polyposes familiales coliques, et de plus de 80 % des formes sporadiques de cancer du côlon ([2] et *m/s* 1995, n° 3, p. 443). La plupart de ces mutations ont pour conséquence la production de protéines tronquées d'une plus ou moins grande partie de leur région carboxy-terminale. Il existe une zone où s'accumulent les mutations, appelée MCR (*mutation cluster region*), située dans la région centrale de la molécule [2] (figure 1). Il est maintenant clairement établi que la principale conséquence physiologique des mutations inactivatrices du gène APC est l'accumulation dans le cytosol et le noyau de β -caténine, un régulateur transcriptionnel de la voie de signalisation relayée par les facteurs Wnt (*m/s* 1997, n° 6-7, p. 872). Cette voie de signalisation joue un rôle très important au cours du développement embryonnaire et contrôle, chez l'adulte, la prolifération cellulaire dans certains tissus. Elle comprend plusieurs étapes qui peuvent être résumées ainsi : en l'absence de signal Wnt, la β -caténine est phosphorylée par la kinase GSK3 β au sein d'un complexe multimérique qui comprend plusieurs partenaires dont la protéine APC et l'axine (ou une protéine apparentée). La β -caténine est alors ubiquitinylée et dégradée par le protéasome. En présence d'un

signal Wnt, la kinase GSK3 β est inhibée, la β -caténine non étiquetée pour la dégradation va s'accumuler dans le cytoplasme, migrer dans le noyau et, en association avec des partenaires de transcription appartenant à la famille LEF-TCF (*T cell factor*) contrôler la transcription de gènes cibles impliqués dans le contrôle de la prolifération cellulaire [3]. Il faut savoir que la β -caténine n'exerce pas seulement un rôle de signalisation mais joue aussi un rôle dans l'adhérence cellulaire en étant le relais entre les

cadhérines et le cytosquelette d'actine au niveau des plaques d'adhérence. Ainsi, la β -caténine est présente sous deux formes, cytoplasmique impliquée dans la signalisation, et sous-membranaire à fonction structurale. Des mutations de différents partenaires de la voie de signalisation relayée par la β -caténine, mutations inactivatrices des gènes APC et axine, mutations activatrices du gène de la β -caténine, sont responsables d'un grand nombre de tumeurs chez l'homme, toutes ces

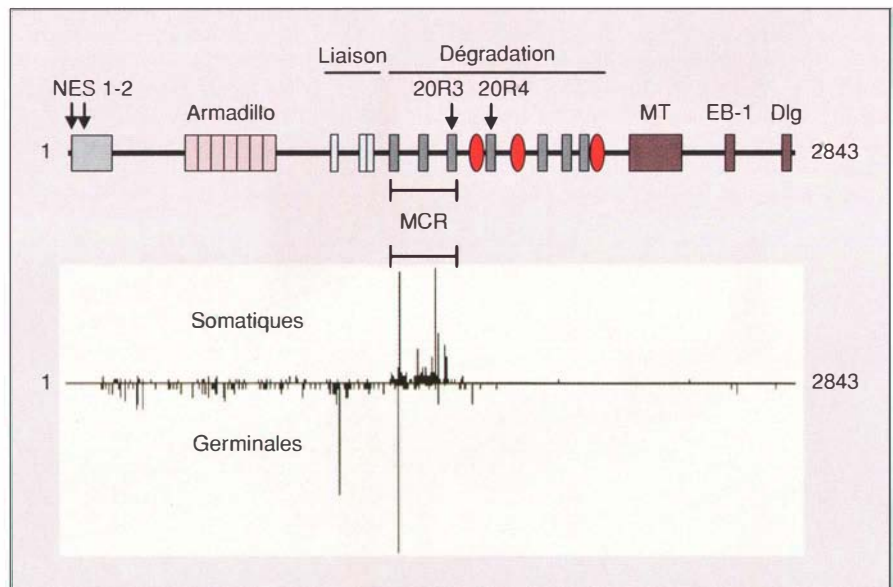


Figure 1. Structure de la protéine APC montrant la position des différents sites d'export nucléaire. Les sites NES1, NES2, 20R3 et 20R4 sont représentés par des flèches. La protéine APC est composée de 2843aa. Les différents domaines qui la composent sont représentés sur ce schéma. Côté amino-terminal, un domaine Arm est composé de plusieurs domaines armadillo dont la fonction est encore mal connue. Le domaine central est impliqué dans le contrôle de la dégradation de la β -caténine et comprend un domaine de liaison à la β -caténine, composé d'une répétition de 15aa barres verticales grises, et un domaine de dégradation de la β -caténine, composé d'une répétition de 20aa barres verticales noires. Les régions de liaison à l'axine sont représentées en rouge. Côté C-terminal, un domaine de liaison aux microtubules (MT) et aux protéine EB-1 et Dlg a aussi été caractérisé [2]. L'encart montre, dans la mutation cluster region (MCR), la position des différentes mutations d'APC caractérisées et leur position par rapport au site d'export nucléaire 20R3.

mutations induisant une activation constitutive de cette voie engendrant alors une prolifération cellulaire incontrôlée [4].

Le rôle exact d'APC dans le contrôle de la β -caténine est encore mal connu. Il a été proposé qu'APC joue un rôle de plate-forme moléculaire permettant l'interaction fonctionnelle des différents partenaires nécessaires à la phosphorylation de la β -caténine. L'axine joue également ce rôle et plusieurs études montrent qu'elle est indispensable à l'activité de la GSK3 β [4]. Dans certaines conditions expérimentales où elle est fortement surexprimée, l'axine est capable d'assurer la dégradation de la β -caténine en l'absence d'une protéine APC fonctionnelle [5]. Ces résultats suggèrent qu'APC devait posséder une autre fonction.

Récemment, plusieurs études ont en effet révélé que APC pouvait assurer le transport de la β -caténine du noyau vers le cytoplasme [6-8]. APC possède en effet plusieurs signaux d'export nucléaire (ou NES pour *nuclear export signal*) (figure 1) permettant son transport du noyau vers le cytoplasme.

L'export d'APC est dépendant des récepteurs d'export, les exportines CRM1, dont l'activité est inhibée par la drogue leptomycine B. Deux premiers sites d'export ont été caractérisés dans la région amino-terminale, NES1 et NES2 [7, 8]. Tous deux sont capables d'induire l'export nucléaire d'une protéine étiquette, et la mutagenèse des leucines cryptiques inhibe l'export nucléaire [7, 8]. En outre, l'efficacité de NES1 est supérieure à celle de NES2, et similaire à celle de la séquence de la protéine Rev du VIH-1. De façon très intéressante, B.R. Henderson a montré que l'export de la β -caténine du noyau vers le cytoplasme nécessite aussi l'exportine CRM1 et est relayé par APC [7]. Dans les cellules de cancer du côlon HCT-116 dans lesquelles le gène de la β -caténine est muté sur un des acides aminés cibles de la phosphorylation par la GSK3 β , mais qui possèdent un gène APC sauvage, seule une localisation sous-membranaire de β -caténine est visible. Le traitement de ces cellules par la leptomycine B provoque en revanche une importante délocalisation nucléaire à la fois d'APC et de

la β -caténine. Ce résultat suggère que dans ces cellules, la β -caténine est rapidement exportée par APC du noyau vers le cytoplasme et s'accumule à la membrane. Il se pourrait cependant que les deux sites d'export NES1 et NES2 ne soient pas suffisamment efficaces pour provoquer à eux seuls l'export nucléaire de la β -caténine. Dans les cellules de cancer colique SW 480, qui expriment une protéine APC tronquée incapable de dégrader la β -caténine mais possédant toujours les deux signaux NES1 et NES2, la localisation de β -caténine est principalement nucléaire. Toutefois, la surexpression dans cette lignée cellulaire de mutants d'APC qui possèdent aussi les deux signaux d'export nucléaire NES1 et NES2 (mais qui sont toujours incapables de dégrader la β -caténine) provoque la relocalisation de la β -caténine vers le cytoplasme, ce phénomène étant inhibé par la leptomycine B.

Deux autres sites d'export nucléaires, 20R3 et 20R4, ont été identifiés par le groupe de M. Bien par le même type d'approche (caractérisation d'un système d'export bloqué par la leptomycine B, recherche de signaux de type NES, mutagenèse) [8]. Ces deux sites sont situés dans les répétitions de 20 aminoacides composant le domaine d'APC impliqué dans le contrôle de la dégradation de la β -caténine (figure 1). De façon similaire, les auteurs ont montré qu'APC était capable d'exporter la β -caténine vers le cytoplasme. Ces auteurs ont ensuite recherché la position des sites d'export nucléaires 20R3 et 20R4 par rapport aux mutations situées dans la région MCR du gène APC d'un très grand nombre de tumeurs sporadiques du côlon. Ils ont ainsi observé que la très grande majorité des mutations éliminaient les deux signaux 20R3 et 20R4 (figure 1), suggérant qu'il existe une forte sélection pour la perte de ces sites d'export nucléaires qui devraient donc participer à la fonction de gène suppresseur de tumeur d'APC [6]. Ainsi, la majorité des mutations du gène APC conduirait à la synthèse de protéines tronquées pour ces sites d'export nucléaires, retenant APC dans le noyau et, par voie de conséquence, la β -caténine. Cette dernière étude pose

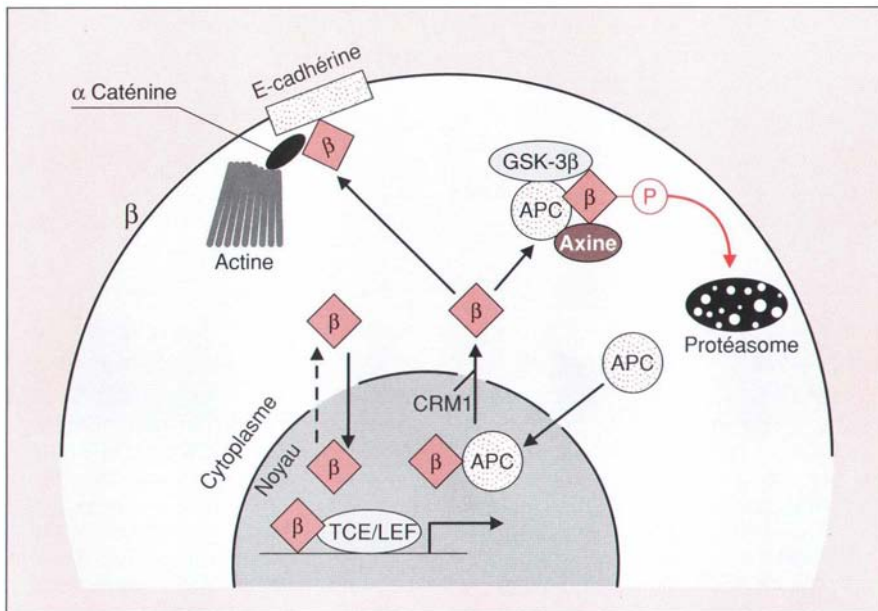


Figure 2. **Modèle pour l'export nucléaire de la β -caténine par APC.** La β -caténine libre se lie aux facteurs de transcription LEF-1/TCF, et le complexe ainsi formé active la transcription de gènes cibles. APC, en se liant à la β -caténine localisée dans le noyau, permet son export vers le cytoplasme (un processus dépendant de l'exportine CRM1), où elle peut soit être dégradée (après son interaction et sa phosphorylation par la GSK-3 β), soit interagir avec la membrane plasmique notamment au niveau des jonctions cellulaires.

à nouveau le problème de la réalité physiologique des deux autres signaux d'export nucléaires situés dans la région amino-terminale, NES1 et NES2, qui sont conservés dans la plupart des protéines APC mutées.

Quoi qu'il en soit, ces études ont apporté de nouvelles données sur le rôle d'APC dans le contrôle de la β -caténine en montrant qu'APC sert de navette pour exporter la β -caténine du noyau vers le cytoplasme et la transporter vers les sites de dégradation mais aussi vraisemblablement vers les autres sites cellulaires où la β -caténine exerce un rôle comme les sites d'adhérence membranaire (figure 2). Si aucune mutation ponctuelle sur les sites d'export nucléaires d'APC n'a encore été décrite, il serait intéressant de les rechercher afin de

déterminer si elles sont impliquées dans le développement de certains cancers. Enfin, les mécanismes qui permettent l'import d'APC vers le noyau restent à déterminer.

1. Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 1996; 87: 159-70.
2. Polakis P. The adenomatous polyposis coli (APC) tumor suppressor. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1332: F127-47.
3. Cadigan KM, Nusse R. Wnt signaling: a common theme in animal development. *Genes Dev* 1997; 11: 3286-305.
4. Polakis P. Wnt signaling and cancer. *Genes Dev* 2000; 14: 1837-51.
5. Hart MJ, de los Santos R, Albert IN, Rubinfeld B, Polakis P. Downregulation of beta-catenin by human Axin and its association with the APC tumor suppressor, beta-catenin and GSK3 beta. *Curr Biol* 1998; 8: 573-81.

6. Rosin-Arbesfeld R, Townsley F, Bienz M. The APC tumour suppressor has a nuclear export function. *Nature* 2000; 406: 1009-12.
7. Henderson BR. Nuclear-cytoplasmic shuttling of APC regulates beta-catenin subcellular localization and turnover. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 653-60.
8. Neufeld KL, Nix DA, Bogerd H, et al. Adenomatous polyposis coli protein contains two nuclear export signals and shuttles between the nucleus and cytoplasm. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 12085-90.

Christine Perret

Inserm U. 129, ICGM, Faculté de médecine Cochin, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques 75014 Paris, France.