

## Monologues ou dialogues des Smad et contrôle du signal TGF-β/BMP

Les récepteurs des facteurs de type TGF-β et BMP (*bone morphogenic proteins*) sont dotés d'une activité de protéine kinase spécifique des résidus sérine et thréonine. La liaison du ligand entraîne la phosphorylation de protéines cellulaires dont le prototype est le produit du gène de *Drosophile* *Mad* (*mothers against dpp*) et sont maintenant désignées sous le terme général de Smad chez les vertébrés (*m/s n° 1, vol. 13, p. 97*) [1]. Il existe au moins deux types de Smad : ceux qui sont directement contrôlés par les récepteurs (Smad1, 2, 3 et 5) et Smad4, initialement connu sous le nom de DPC4 (*deleted in pancreatic carcinomas*). DPC4 est un gène suppresseur de tumeurs inactivé dans près de la moitié des carcinomes pancréatiques et, moins fréquemment, dans d'autres cancers (*m/s n° 4, vol. 12, p. 525*). Des inactivations touchant les autres Smad ont également été détectées dans divers cancers (par exemple, du côlon, du sein, de la tête et du cou, etc. Deux articles de l'équipe de Joan Massagué (New York, USA) ont permis de préciser le rôle de ces Smad dans la transmission du signal des facteurs de type TGF-β et BMP [2, 3]. La partie carboxy-terminale des Smad semblant nécessaire et suffisante à l'activation des gènes contrôlés par les facteurs TGF-β/BMP, Shi *et al.* ont étudié la diffraction aux rayons X de cristaux du domaine carboxy-terminal de Smad4/DPC4 [2]. Ce domaine est organisé sous la forme de trimères dont les sous-unités interagissent au niveau de domaines d'interface très conservés au cours de l'évolution. La plupart des mutations de la protéine Smad4/DPC4 observées dans des cancers intéressent ces domaines, ce qui suggère que le maintien du com-

plexe trimérique est essentiel à la transmission du signal. La mobilité de la protéine Smad4/DPC4 dans des expériences de filtration sur gel est également compatible avec une telle structure trimérique *in vivo*. Par ailleurs, les domaines carboxy-terminaux de Smad4/DPC4 et de Smad2 hyperproduits dans des cellules co-transfectées par des vecteurs

d'expression pour l'un et pour l'autre sont capables de former des hétéro-oligomères. Les mutants de Smad4/DPC4 incapables de former des homo-trimères ne forment pas non plus d'hétéro-oligomères. Une autre mutation du domaine carboxy-terminal de Smad4/DPC4 trouvée dans un cancer (boucle L3) n'affecte pas la formation des homo-

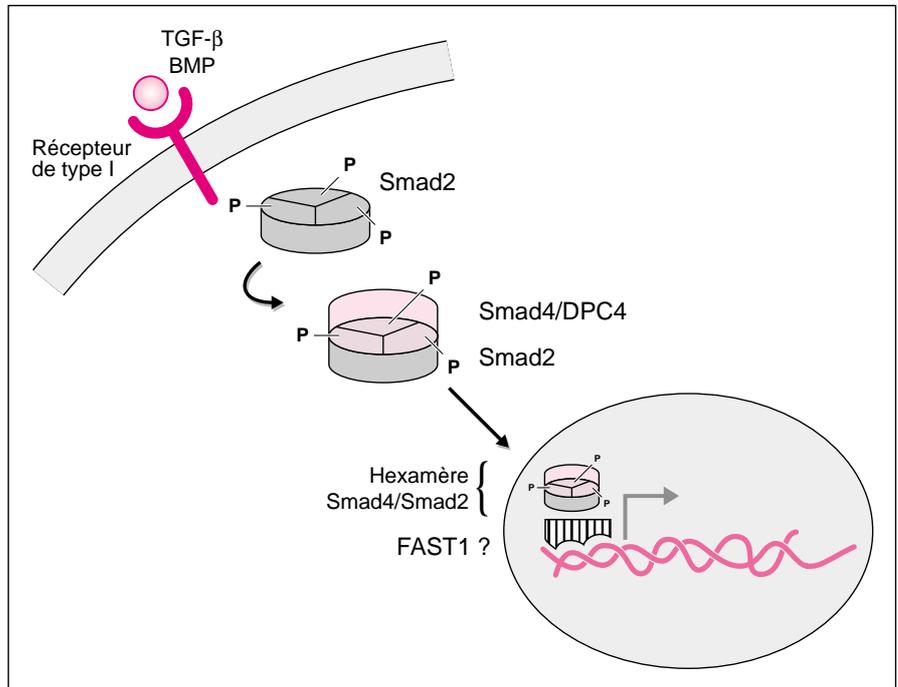


Figure 1. **Coopération Smad2/Smad4 dans la transmission du signal de type TGF-β/BMP.** La fixation du ligand sur un récepteur de type I provoque la phosphorylation de sérines carboxy-terminales de Smad1, 2, 3 ou 5. Un trimère de ce type de Smad phosphorylé interagit avec un trimère de Smad4/DPC4 ; l'hexamère serait alors transféré dans le noyau ou, avec une protéine de liaison à l'ADN telle que FAST1 (*m/s n° 1, vol. 13, p. 97*), il formerait un complexe d'activation transcriptionnelle des gènes cibles. Cependant, un article récent indique que au moins certaines protéines Smad, telle *Mad* de *drosophile*, pourraient se lier directement à l'ADN ; *Mad* se fixe en effet directement sur un élément ADN du enhancer du gène vestigial [4].

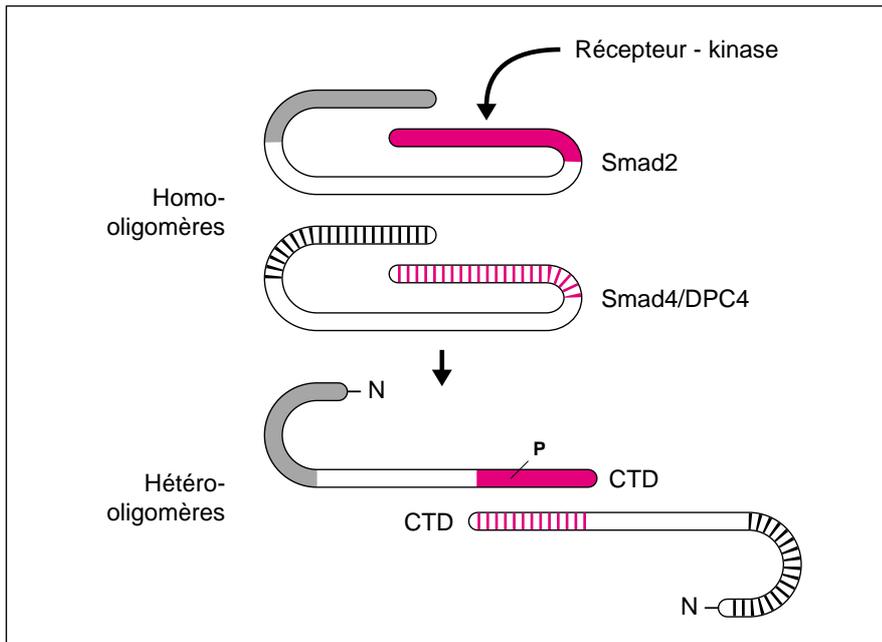


Figure 2. **Régulation de l'interaction entre les Smad contrôlés par le récepteur (Smad1, 2, 3 ou 5) et Smad4/DPC4 par phosphorylation.** L'extrémité amino-terminale (N) serait inhibitrice de l'hétéro-oligomérisation par séquestration intramoléculaire du domaine carboxy-terminal CTD. Les récepteur-protéine kinases des facteurs de type TGF- $\beta$  phosphorylent le CTD des Smad contrôlés par le récepteur (par exemple, Smad2). Cette phosphorylation aurait trois effets, directs ou indirects : augmentation de l'hétéro-oligomérisation avec le CTD de Smad4/DPC4, diminution de l'interaction inhibitrice avec l'extrémité amino-terminale et transfert vers le noyau du complexe hexamérique Smad2/Smad4.

oligomères mais empêche celles des hétéro-oligomères. Ces résultats suggèrent que des trimères Smad4 et Smad2 peuvent interagir les uns avec les autres pour former une structure hexamérique. Le signal TGF- $\beta$ /BMP est interrompu en cas d'impossibilité de former ces structures hexamériques, qu'il s'agisse d'un blocage au niveau de la formation du trimère Smad4/DPC4 ou de son aptitude à interagir avec un trimère Smad2 (figure 1). Hata *et al.*, de la même équipe, se sont également posés la

question du mode d'activation du signal lorsque des ligands TGF- $\beta$  ou BMP se lient à leurs récepteurs [3]. Par des expériences d'interaction entre des domaines protéiques utilisant la technique du double hybride dans la levure, ces auteurs ont observé que les domaines amino-terminaux et carboxy-terminaux des Smad interagissaient l'un avec l'autre en un monologue intramoléculaire (figure 2), bloquant probablement l'aptitude des extrémités carboxy-terminales à promouvoir la formation d'hétéro-oligo-

mères, c'est-à-dire à dialoguer avec d'autres Smad. La phosphorylation de sérines dans le domaine carboxy-terminal par le récepteur-protéine kinase semble avoir deux effets: la diminution de l'interaction inhibitrice avec le domaine amino-terminale et, à l'inverse, la stimulation de la formation d'hétéro-oligomères. Dans les cancers, certaines mutations de l'extrémité amino-terminale de Smad4/DPC4 ou de Smad2 sont observées, quoique beaucoup plus rarement que des mutations du domaine carboxy-terminal. En particulier, la mutation d'une arginine conservée augmente l'interaction avec le domaine carboxy-terminal et accroît donc le pouvoir inhibiteur de l'extrémité amino-terminale sur la formation d'hétéro-oligomères et sur la transmission du signal TGF- $\beta$ /BMP. Par conséquent, les mutations inactivatrices des Smad dans les cancers pourraient avoir plusieurs mécanismes: soit un gain de fonction de l'extrémité amino-terminale, augmentant son pouvoir inhibiteur; soit une perte de fonction du domaine carboxy-terminal, perdant son aptitude à oligomériser et (ou) à être phosphorylé.

A.K.

1. Rouayrenc J. La famille des facteurs TGF- $\beta$  et leurs connexions au noyau. *Med Sci* 1996; 12: 1265-8.
2. Shi Y, Hata A, Lo SR, Massagué J, Pavletich NP. A structural basis for mutational inactivation of the tumour suppressor Smad4. *Nature* 1997; 388: 87-93.
3. Hata A, Lo SR, Wotton D, Lagna G, Massagué J. Mutations increasing autoinhibition inactivate tumour suppressors Smad2 and Smad4. *Nature* 1997; 388: 82-7.
4. Kim J, Johnson K, Chen HJ, Carroll S, Laughon A. *Drosophila* Mad binds to DNA and directly mediates activation of *vestigial* by Decapentaplegic. *Nature* 1997; 388: 304-8.

### 3<sup>es</sup> JOURNÉES D'ACTUALITÉS EN PATHOLOGIE OSSEUSE L'HYPER-RÉSORPTION OSSEUSE ET SES TRAITEMENTS

3-4 avril 1998 – ANGERS - Centre de Congrès

**Organisation :**

Service de Rhumatologie, CHU d'Angers, LHEA Laboratoire d'Histologie - Embryologie, CHU et Faculté de Médecine d'Angers

**Sous les auspices de :**

GRIO (Groupe de Recherche et information sur l'ostéoporose), IFFSD (*International Federation for Skeletal Diseases*), Société Française de Rhumatologie, IFM (Institut Français du Myélome), SRO (Société de Rhumatologie de l'Ouest)

**Secrétariat :**

Mme D. Dumont, LHEA Laboratoire d'Histologie-Embryologie. Faculté de Médecine - 49045 Angers Cedex, France.

Tél. : 02 41 73 58 64 - Fax : 02 41 73 58 88