

## EpCAM, une protéine versatile impliquée dans l'oncogénèse

Olivier Gires

Clinical Cooperation  
Group Molecular Oncology,  
Ludwig-Maximilians-University,  
Head and neck Research,  
et Helmholtz Center Munich,  
Marchioninistrasse 15,  
D-81377 Munich, Allemagne.  
[Olivier.gires@med.uni-muenchen.de](mailto:Olivier.gires@med.uni-muenchen.de)



> La protéine EpCAM (*epithelial cell adhesion molecule*) a été découverte il y a à présent 30 ans et décrite comme un antigène dominant dans les cancers du côlon ; l'expression d'EpCAM déclenche une réaction immunitaire aboutissant à la production d'anticorps chez la souris [1]. À la suite de cette découverte, de nombreux groupes de recherche décriront EpCAM sous de multiples noms différents correspondant généralement à ceux des anticorps utilisés lors de la purification de cet antigène. La nomenclature a été depuis unifiée, et il est convenu de nommer la protéine EpCAM et le gène *EpCAM* [2]. Du point de vue structurel, EpCAM est une protéine transmembranaire composée d'une partie extracellulaire (265 acides aminés), d'un seul domaine transmembranaire, et d'une très courte région cytoplasmique contenant 26 acides aminés n'ayant aucune ressemblance avec les séquences consensus habituellement exprimées dans le groupe des récepteurs membranaires tels que HER-2, EGF-R (*epidermal growth factor receptor*) et autres. La partie extracellulaire, quant à elle, comporte deux séquences riches en cystéine et comparables à celles qui ont été décrites dans l'EGF-R. Elles seraient nécessaires lors du contact homophile des molécules EpCAM sur la même cellule et sur les cellules opposées [3].

### EpCAM : une cible thérapeutique attractive

La fréquente et forte surexpression de cette protéine explique que d'innombrables approches thérapeutiques utilisent EpCAM comme molécule cible d'anticorps, de vaccins composés de pro-

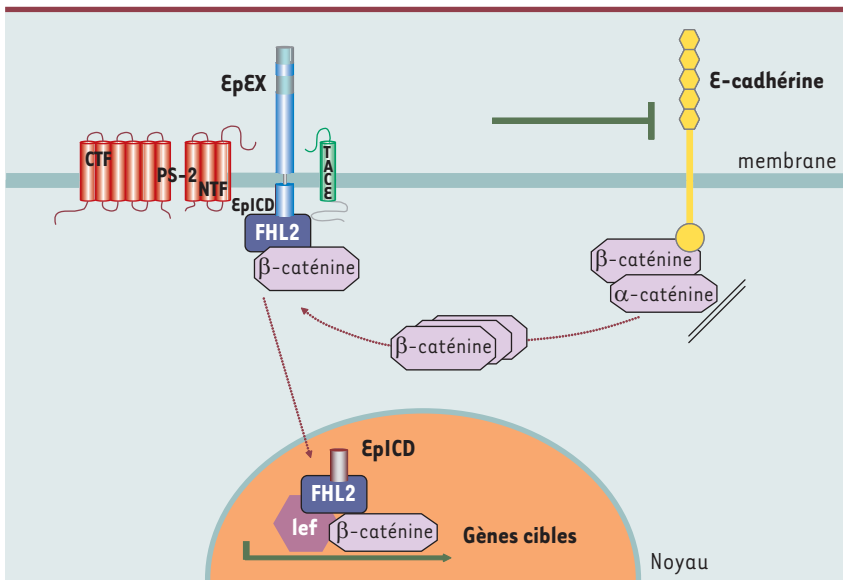
téines ou d'ADN, ou de cellules immunitaires spécifiques [2]. Trois types d'anticorps thérapeutiques se sont imposés au cours d'études cliniques : les anticorps monoclonaux, les anticorps bispécifiques reconnaissant EpCAM et la protéine CD3 exprimée sur les cellules lymphocytaires T, ainsi que les fragments d'anticorps synthétisés de manière recombinante. Ces anticorps et leurs dérivés agissent en opsonisant les cellules tumorales exprimant EpCAM, en induisant une réaction immunitaire avec comme conséquence un effet cytotoxique (*AICC, antibody-induced cell cytotoxicity*). Removab®, un anticorps thérapeutique bispécifique, exerce une triple fonction : il recrute les cellules lymphocytaires T ainsi que toutes les cellules immunitaires exprimant à leur surface un récepteur pour le fragment Fcγ des immunoglobulines, et les dirige vers les cellules cibles, c'est-à-dire les cellules de tumeur exprimant EpCAM. Removab® reçut récemment l'autorisation d'être utilisé en thérapeutique chez les patients ayant une ascite secondaire à des métastases péritonéales de carcinomes de l'ovaire, du sein, et de l'utérus (<http://www.trionpharma.de/index.php?id=49>). D'autres anticorps, par exemple Adecatimumab® (MT201) de la compagnie Micromet Inc. sont actuellement testés dans des essais cliniques de phases I et II, et seront probablement disponibles sur le marché dans les 2 à 5 ans à venir.

### EpCAM, un signal de prolifération

Si nous considérons les trois décennies passées depuis la découverte d'EpCAM en 1979, il est surprenant de réaliser que la grande majorité du travail scientifique

a été consacrée à élucider la localisation, le degré d'expression, ainsi que la valeur pronostique de la molécule EpCAM [2, 4]. Rares sont les résultats concernant la fonction d'EpCAM dans les cellules épithéliales normales et dans les carcinomes, alors même qu'EpCAM est l'un des antigènes de tumeurs les plus fréquemment surexprimés. Les premiers éléments furent publiés par le groupe de Sergey Litvinov et dévoilèrent la fonction d'adhésion d'EpCAM dans les cellules épithéliales, d'où son nom [5, 6].

Mais la restriction de la fonction d'EpCAM à ce seul rôle dans l'adhésion était difficilement compatible avec la fréquente surexpression de la molécule dans les tumeurs d'origine épithéliale et dans les cellules souches embryonnaires et adultes. En 2004, Osta *et al.* [7] et notre groupe [8] décrivent EpCAM comme un intermédiaire dans la transduction du signal de la membrane au noyau. Une surexpression d'EpCAM dans les cellules épithéliales humaines ainsi que dans des fibroblastes de souris induit une prolifération supérieure à celle des cellules recevant un vecteur contrôle. La surexpression d'EpCAM stimule également la transcription du gène *c-myc*, lui-même un régulateur du cycle cellulaire [8]. Réciproquement, une diminution de l'expression d'EpCAM dans les cellules de carcinomes, grâce à l'utilisation d'ADN antisens ou bien d'oligonucléotides inhibiteurs (*silencing RNA*), entraîne une décroissance de la prolifération des cellules cibles [7, 8]. Ces résultats furent les premiers à témoigner d'une fonction de la protéine EpCAM dans la régulation de la prolifération et du cycle cellulaires.



**Figure 1. Mécanisme d'action de EpCAM.** La molécule transmembranaire EpCAM (associant EpEx, domaine extracellulaire, et EpICD, domaine intracytoplasmique) est clivée par les deux protéases TACE et Préséniline (PS-2). Cette protéolyse libère le domaine intracytoplasmique qui s'associe à FHL2 et la  $\beta$ -caténine, le complexe migrant dans le noyau où il va se fixer sur son gène cible, *TCF/lef-1*, et l'activer, induisant à son tour l'expression de ses gènes cibles. Dans les cellules, EpCAM module l'adhésion intercellulaire contrôlée par les cadhérines, et lorsqu'elle est surexprimée, elle inhibe les liaisons homophiles entre cellules impliquant la cadhérine E.

### Le fin mot de l'histoire : clivage protéolytique membranaire d'EpCAM et libération d'un domaine intracytoplasmique actif

À la suite de ces découvertes, cinq années de recherches intenses furent nécessaires pour élucider les mécanismes à la base de la transmission du signal mitogène relayé par EpCAM (Figure 1). EpCAM est clivée à la membrane par deux protéases, TACE (*TNF-alpha converting enzyme*) et un complexe  $\gamma$ -sécrétase contenant la préséniline-2, ce qui libère sa partie intracytoplasmique, désormais nommée EpICD (*EpCAM intracellular domain*). Celle-ci forme un complexe avec FHL2 (*four and a half LIM domains 2*) et la  $\beta$ -caténine, qui se localise dans le noyau, se lie aux facteurs de transcription de la famille TCF/Lef, s'attache à l'ADN sur des séquences spécifiques de Lef-1 et finalement active la transcription de différents gènes dont *c-myc* [9]. Il est important de noter que EpICD tout seul est apte à induire la transcription de gènes, l'excès de prolifération cellulaire, et la formation de tumeurs lorsque les cellules sont greffées dans un modèle de souris immunodéficientes (SCID, *severe combined immunodeficient*). De plus, les inhibiteurs de TACE et des présénilines bloquent le clivage d'EpCAM et de ce fait empêchent la fonction proliférative de cet oncogène; cela pourrait représenter une nouvelle option

thérapeutique [9]. Dorénavant, EpCAM doit être reconnu comme un membre de la famille des récepteurs oncogéniques clivés, et dont la partie intracellulaire dicte la transcription de gènes dans le noyau (ce qui est le cas du récepteur Notch1 par exemple [13]). Ces observations firent décrire EpCAM comme « *another surface-to-nucleus missile* » [10]. Une nouvelle forme de stratégie thérapeutique dirigée contre les cellules cancéreuses exprimant la molécule EpCAM peut désormais être envisagée. L'utilisation de molécules inhibitrices de TACE et des présénilines, combinées avec des anticorps thérapeutiques dirigés contre EpCAM, si ces molécules s'avèrent efficaces *in vivo* chez la souris, devrait pouvoir être couronnée de succès. En résumé, EpCAM est une protéine oncogénique exprimée par une multitude de tumeurs. EpCAM est impliquée dans la régulation du cycle cellulaire *via* sa partie intracellulaire clivée à la membrane puis libérée dans le noyau où elle induit la transcription de gènes. Le fait qu'EpCAM est souvent exprimée sur les cellules souches cancéreuses ne fait qu'augmenter l'intérêt et la nécessité de comprendre la biologie moléculaire de cette protéine qui apparaît comme une excellente cible thérapeutique [11, 12]. ♦

**EpCAM a proteolytically cleaved oncogene and an excellent therapeutic target in cancer**

### RÉFÉRENCES

- Herlyn D, Herlyn M, Steplewski Z, Koprowski H. Monoclonal antibodies in cell-mediated cytotoxicity against human melanoma and colorectal carcinoma. *Eur J Immunol* 1979; 9: 657-9.
- Baeuerle PA, Gires O. EpCAM (CD326) finding its role in cancer. *Br J Cancer* 2007; 96: 417-23.
- Balzar M, Briaire-de Bruijn IH, Rees-Bakker HA, et al. Epidermal growth factor-like repeats mediate lateral and reciprocal interactions of Ep-CAM molecules in homophilic adhesions. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 2570-80.
- Balzar M, Winter MJ, de Boer CJ, Litvinov SV. The biology of the 17-1A antigen (Ep-CAM). *J Mol Med* 1999; 77: 699-712.
- Litvinov SV, Bakker HA, Gourevitch MM, Velders MP, Warnaar SO. Evidence for a role of the epithelial glycoprotein 40 (Ep-CAM) in epithelial cell-cell 8. adhesion. *Cell Adhes Commun* 2001; 2: 417-28.
- Litvinov SV, Balzar M, Winter MJ, et al. Epithelial cell adhesion molecule (Ep-CAM) modulates cell-cell interactions mediated by classic cadherins. *J Cell Biol* 1997; 139: 1337-48.
- Osta WA, Chen Y, Mikhitarian K, et al. EpCAM is overexpressed in breast cancer and is a potential target for breast cancer gene therapy. *Cancer Res* 2004; 64: 5818-24.
- Munz M, Kieu C, Mack B, et al. The carcinoma-associated antigen EpCAM upregulates *c-myc* and induces cell proliferation. *Oncogene* 2004; 23: 5748-58.
- Maetzel D, Denzel S, Mack B, et al. Nuclear signalling by tumour-associated antigen EpCAM. *Nat Cell Biol* 2009; 11: 162-71.
- Carpenter G, Red Brewer M. EpCAM: another surface-to-nucleus missile. *Cancer Cell* 2009; 15: 165-6.
- Gires O, Klein CA, Baeuerle PA. On the abundance of EpCAM on cancer stem cells. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 143; 143.
- Visvader JE, Lindeman GJ. Cancer stem cells in solid tumours: accumulating evidence and unresolved questions. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 755-68.
- Kastner P, Chan S. La voie Notch au centre du mécanisme de leucémogénèse dans un modèle murin de leucémies T. *Med Sci (Paris)* 2006; 22: 708-10.