

Éditorial

Un quart de siècle plus tard :
R. A. S. ?

Pierre Chardin

> Rien À Signaler ? Au contraire, près d'un quart de siècle après la caractérisation de l'oncogène *Ras*, la recherche sur les protéines de cette famille et leurs cousines reste très dynamique. Dès 1981, et indépendamment, les équipes de G. Cooper, R. Weinberg et M. Wigler avaient réussi à montrer que la transfection d'ADN extrait de tumeurs humaines pouvait provoquer une « transformation » morphologique de cellules de souris (les fibroblastes NIH-3T3). Le premier chercheur à réussir cet exploit, M. Goldfarb, transportait ses réactifs dans une camionnette, qu'il conduisait d'un labo à l'autre pour réaliser ces expériences de transfection « à la demande » [1]. Un an plus tard, le premier gène capable de provoquer cette transformation était isolé, il s'agissait du gène *Ras* [2-4]. Plus précisément, il existe trois gènes, codant pour des isoformes différentes : *H-Ras*, *K-Ras* et *N-Ras*, qui ont été isolés à partir de tumeurs d'origines différentes. *H-Ras* et *K-Ras* sont aussi les gènes transformants présents dans des rétrovirus provoquant des sarcomes chez la souris (dits de Harvey et de Kirsten respectivement, d'où les lettres H et K). Le gène *N-Ras* est un homologue, isolé pour la première fois d'un neuroblastome (d'où la lettre N). Mais *Ras* ne fut pas le premier oncogène. Depuis que le président Nixon avait entrepris la « guerre contre le cancer », en décembre 1971, deux écoles s'affrontaient, l'une privilégiait une origine virale du cancer, l'autre une accumulation de mutations somatiques. C'est en 1976 que D. Stehelin, alors en stage post-doctoral dans le laboratoire de M. Bishop, a découvert que le gène transformant présent dans un rétrovirus qui provoque des sarcomes chez le poulet (virus du sarcome de Rous) est un gène d'origine cellulaire appelé *Src* [5]. La découverte de ce premier oncogène, *Src*, a valu en 1989 le Prix Nobel de médecine à M. Bishop et H. Varmus [6].

L'idée que des réarrangements géniques peuvent participer à la cancérisation est encore plus ancienne puisque les anomalies chromosomiques dans les cancers sont connues depuis longtemps et que la découverte du « chromosome Philadelphie »¹ date de 1960. Ces deux approches différentes, caractérisation de virus oncogènes et étude de l'ADN des tumeurs, ont convergé pour aboutir à la découverte des gènes *Ras*.

C'est donc en 1982 que plusieurs équipes montrèrent que les gènes *Ras* « transformants » ne différaient de leurs homologues normaux, présents dans toutes les cellules, que par une mutation provoquant une substitution des acides aminés Glycine 12 ou Glutamine 61. Il est ensuite apparu rapidement que près d'un tiers des tumeurs humaines portait une mutation dans l'un des gènes *Ras* (le plus souvent il s'agit du gène *K-Ras*), proportion atteignant 50 % des cancers du côlon et 95 % des cancers du pancréas.

L'étude de nouveaux rétrovirus oncogènes et la technique de transformation des fibroblastes NIH-3T3 ont ensuite permis de caractériser un grand nombre d'oncogènes, souvent moins puissants que *Ras* ou *Src*.

¹ Le chromosome Philadelphie (Ph1) résulte d'une translocation réciproque entre les bras longs des chromosomes 9 et 22, créant une fusion entre le gène *Abl* (chromosome 9) et le gène *bcr* sur le chromosome 22.

Un seul oncogène ne suffit pas...

Les études d'épidémiologie des années 1950 indiquaient que l'apparition d'un cancer est due à l'accumulation de 5 à 7 événements différents (mutations). Nous savons maintenant que, pour qu'une cellule devienne cancéreuse, avec une forte agressivité, il lui faut franchir plusieurs obstacles :

1. contourner la dépendance des cellules aux facteurs de croissance (souvent *via* l'activation d'une voie de signalisation tyrosine kinase, MAP-kinase) ;
2. contourner l'arrêt du cycle cellulaire normalement induit lorsque le génome est endommagé (*via* une inactivation de la voie p53) ;
3. échapper à l'apoptose ;
4. échapper à la sénescence (*via* l'activation de la télomérase) ;
5. échapper à l'inhibition de contact ;
6. retourner à un stade moins différencié, plus proche de celui d'une cellule souche (activation des voies Wnt, Notch ou Hedgehog) ;
7. être moins sensible à l'appauvrissement en oxygène ou induire une forte vascularisation (néo-angiogenèse) ou encore migrer vers la périphérie de la tumeur, mieux irriguée.

Il n'est pas indispensable que ces événements interviennent dans un ordre précis, et il existe le plus souvent au moins une dizaine de façons de contourner ces mécanismes de régulation, le nombre de combinaisons est donc d'au moins 10⁷, expliquant pourquoi il n'y a pas 2 cancers strictement identiques.

Pourquoi les gènes *Ras* sont-ils les oncogènes les plus fréquemment trouvés en utilisant cette technique de « transformation des fibroblastes » ? Probablement parce qu'ils sont suffisamment puissants pour permettre à la cellule de contourner au moins 3 des obstacles cités ci-dessus. En activant la voie MAP-kinase, ils confèrent aux cellules l'indépendance aux facteurs de croissance ; en activant la voie Akt, ils lui permettent de résister à l'apoptose ; en activant la voie Rac/PAK-kinase, ils induisent des changements morphologiques (cellules fusiformes contenant moins de fibres de stress) et la perte de l'inhibition de contact.

25 ans de recherche sur les mécanismes du cancer

Le contournement des mécanismes normaux du contrôle de la prolifération cellulaire peut se faire par des mutations conduisant à une activité anormalement élevée, ou constitutive (non régulée) de certaines protéines régulatrices, ou par la perte

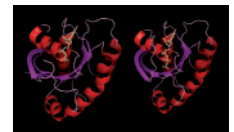
de protéines exerçant normalement un contrôle négatif, on parle dans ce cas de la perte d'anti-oncogènes (couramment appelés à mauvais escient « supprimeurs de tumeur »). Dès la fin des années 1970, E. Scolnick s'est intéressé aux protéines codées par les oncogènes présents dans les rétrovirus murins de Harvey et Kirsten. Ces premières études ont montré qu'elles pouvaient s'auto-phosphoryler, suggérant une activité kinase intrinsèque. Un peu plus tard cette même équipe a montré que ces protéines fixent en fait le GTP (guanosine tri-phosphate), ou le GDP, et que l'activité d'auto-phosphorylation, très faible, n'a probablement pas de signification physiologique [7]. Ces protéines sont majoritairement sous la forme liée au GDP (inactive) dans une cellule au repos, une fraction est activée, en réponse aux facteurs de croissance, par le départ du GDP et son remplacement par le GTP. Le retour à l'état inactif se fait par hydrolyse du GTP, stimulée par des protéines GAP (*GTPase activating protein*). C'est ce retour à l'état inactif qui est rendu impossible par les mutations trouvées dans les tumeurs.

Les recherches se sont ensuite orientées vers les régulateurs de Ras, et le premier régulateur négatif, découvert rapidement, a été p120-RasGAP, puis la recherche sur Ras a connu une nouvelle fièvre en 1992, avec la découverte du complexe Grb2/Sos, adaptateur/facteur d'échange qui permet l'activation normale de Ras par les récepteurs de facteurs de croissance, et avec la démonstration que la sérine-thréonine kinase Raf est un effecteur direct de Ras [8]. Depuis, de nombreuses autres cibles (effecteurs) de Ras ont été caractérisées. Pour jouer leur rôle de relais entre récepteurs à activité tyrosine kinase et kinases intracellulaires (MAP-kinase, Akt, etc.), les protéines Ras doivent être ancrées par leur extrémité carboxy-terminale dans le feuillet interne de la membrane plasmique. Des drogues bloquant cet ancrage (par leur inhibition de la farnésylation de l'extrémité carboxy-terminale) ont été testées en clinique, mais se sont révélées décevantes. On s'oriente maintenant vers des drogues bloquant des cibles de Ras, comme Raf, MEK, PI3-kinase, ou d'autres kinases, et/ou vers des drogues modifiant l'activité des régulateurs de Ras, facteurs d'échange et GAP.

L'une des découvertes récentes les plus étonnantes est que certaines mutations de Ras, de ses régulateurs, ou de kinases cibles, comme Raf ou MEK, provoquent des maladies génétiques rares caractérisées par des malformations, souvent associées à des retards mentaux (syndromes de Noonan et de Costello, malformations cardio-faciales et cutanées). Des mutations de la protéine p120-RasGAP sont impliquées dans des angiomes et autres anomalies des capillaires. Jusqu'alors chacun aurait parié qu'un embryon portant une mutation activatrice de Ras dans chacune de ses cellules ne pourrait pas se développer, ou que le patient serait rapidement atteint de nombreux cancers. Ces cas de mutations de Ras dans la lignée germinale montrent qu'il peut exister tous les intermédiaires entre une mutation « douce » d'un gène responsable d'une prolifération légèrement anormale, et une mutation « forte » de Ras ou de Src, qui confère un rôle oncogénique plus actif.

Les recherches actuelles montrent qu'une protéine Ras peut être activée dans différents micro-domaines membranaires, ou différents compartiments intracellulaires, en réponse à différents facteurs d'échange, y activer des effecteurs spécifiques, et être inactivée localement par des protéines GAP spécifiques. Sans nul doute, les protéines Ras vont continuer à nous surprendre, dans différents domaines.

Elles ont en tout cas révélé ce qu'H. Varmus [9] a appelé l'« *oncogene addiction* » ou « *oncogene dependence* » des cellules cancéreuses, qu'une thérapeutique efficace doit s'efforcer de réduire. Depuis 1981, des mutations somatiques dans 350 gènes répartis dans tous les chromosomes (à l'exception du chromosome Y), ont déjà été décrites dans des cancers humains, et cette liste s'allonge déjà [10] puisque le répertoire complet des mutations oncogéniques a été récemment entrepris², mais nous ne prendrons aucun pari sur le nombre de mutations attendu... en 2021. Enfin, notons qu'il était possible de lire, dans le même numéro de *Nature* de 1981, un article de R. Dawkins sur le « gène égoïste », théorie dont Bertrand Jordan analyse (dans ce numéro de *m/s*) l'influence, à tort ou à raison [11] pour un regard critique 30 ans après la publication du livre-concept. Vingt-cinq ans après la déclaration de guerre contre le cancer, victoire royale ? Pas encore, mais nous connaissons maintenant les principales armes et stratégies de notre adversaire ! ♦



25th Birthday: My heart belong to Ras

RÉFÉRENCES

1. Goldfarb M, Shimizu K, Perucho M, Wigler M. Isolation and preliminary characterization of a human transforming gene from T24 bladder carcinoma cells. *Nature* 1982 ; 296 : 404-9.
2. Shilo BZ, Weinberg RA. Unique transforming gene in carcinogen-transformed mouse cells. *Nature* 1981 ; 289 : 607-9.
3. Der CJ, Krontiris TG, Cooper GM. Transforming genes of human bladder and lung carcinoma cell lines are homologous to the ras genes of Harvey and Kirsten sarcoma viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982 ; 79 : 3637-40.
4. Tapparowsky E, Shimizu K, Goldfarb M, Wigler M. Structure and activation of the human *N-ras* gene. *Cell* 1983 ; 34 : 581-6.
5. Stehelin D, Varmus HE, Bishop JM, Vogt PK. DNA related to the transforming gene(s) of avian sarcoma viruses is present in normal avian DNA. *Nature* 1976 ; 260 : 170-3.
6. Kahn A. La découverte des proto-oncogènes. *Med Sci (Paris)* 1989 ; 5 : 704.
7. Gibbs JB, Sigal IS, Poe M, Scolnick EM. Intrinsic GTPase activity distinguishes normal and oncogenic ras p21 molecules. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984 ; 81 : 5704-8.
8. Chardin P. Protéine Ras et transmission des signaux mitotiques. *Med Sci (Paris)* 1994 ; 10 : 657-64.
9. Varmus H. The New Era in Cancer Research. *Science* 2006 ; 312 : 1162-5.
10. Hamelin R. Moisson exhaustive des mutations génétiques dans les cancers. *Med Sci (Paris)* 2006 ; 22 : 1047.
11. Jordan B. Apologie d'un paria. *Med Sci (Paris)* 2006 ; 22 : 1113-5.



P. Chardin

Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS
UMR 6097, 660, route des Lucioles,
06560 Valbonne, France.
chardin@ipmc.cnrs.fr

TIRÉS À PART

P. Chardin

² TCGA : The Cancer Genome Atlas project piloté par le NCI (National Cancer Institute).