



adenylate cyclase-activating polypeptide and growth hormone-releasing hormone-like peptide in the frog, *Rana ridibunda*. *J Comp Neurol* 2000 ; 421 : 234-46.

7. McRory JE, Parker RL, Sherwood NM. Expression and alternative processing of a chicken gene encoding both growth hormone-releasing hormone and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide. *DNA Cell Biol* 1997 ; 16 : 95-102.
8. Vaudry D, Gonzalez BJ, Basille M, et al. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and its

receptors: from structure to functions. *Pharmacol Rev* 2000 ; 52 : 269-324.

9. Parker DB, Power ME, Swanson P, et al. Exon skipping in the gene encoding pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in salmon alters the expression of two hormones that stimulate growth hormone release. *Endocrinology* 1997 ; 138 : 414-23.
10. Montero M, Yon L, Kikuyama S, et al. Molecular evolution of the growth hormone-releasing hormone/pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide

gene family. Functional implication in the regulation of growth hormone secretion. *J Mol Endocrinol* 2000 ; 25 : 157-68.

11. Lee LT, Siu FK, Tam JK, et al. Discovery of growth hormone-releasing hormones and receptors in nonmammalian vertebrates. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 2133-8.
12. Conlon JM, Larhammar. The evolution of neuroendocrine peptides. *Gen Comp Endocrinol* 2005 ; 142 : 53-9.

NOUVELLE

WTX, un nouveau gène suppresseur de tumeur muté dans la tumeur de Wilms

Stéphane Angers

Chaire de recherche du Canada en architecture fonctionnelle des complexes de signalisation, Leslie Dan Faculty of Pharmacy, University of Toronto, Toronto, Ontario, M5S 3M2 Canada.

stephane.angers@utoronto.ca

► La tumeur de Wilms est un cancer rénal affectant principalement les enfants [1]. Chez 15 % de ces patients, les tumeurs contiennent des mutations du gène suppresseur de tumeur WT1 et de la β -caténine, la protéine centrale de la voie de signalisation Wnt. Malgré de nombreuses études, les gènes supplémentaires qui pourraient contribuer à l'étiologie de ce cancer tardent à être identifiés. Récemment, la protéine WTX, qui n'avait jusqu'alors aucune fonction connue, a été suspectée car son expression est éteinte dans 30 % des tumeurs de Wilms [2]. Indépendamment, au cours de notre travail sur la voie de signalisation Wnt, nous avons aussi identifié WTX et démontré que cette protéine était importante pour le contrôle de l'activité de la β -caténine [3]. Ces travaux offrent donc une base moléculaire pour la compréhension du mode de fonctionnement normal de WTX, mais également pour celle de son dysfonctionnement lorsqu'elle est mutée dans la tumeur de Wilms.

Voie de signalisation Wnt et cancers humains

Conservée au cours de l'évolution, la voie de signalisation Wnt- β -caténine contrôle plusieurs aspects du développement embryonnaire ainsi que l'homéos-

tasie cellulaire dans plusieurs tissus chez l'adulte [4, 5]. À l'état basal, la protéine β -caténine est constitutivement entraînée vers le processus d'ubiquitinylation, avec pour conséquence sa destruction par le protéasome. Les protéines APC (*adenomatous polyposis coli*), Axine, Caséine kinase 1a et GSK-3 β (*glycogen synthase kinase 3 beta*) font partie du même complexe protéique appelé le complexe de destruction. Le complexe de destruction facilite la phosphorylation de la β -caténine, un signal qui est requis pour son recrutement vers la machinerie d'ubiquitinylation. Lorsque cette voie de signalisation est activée par la liaison du ligand Wnt aux récepteurs Frizzled et LRP5/6 à la surface de la cellule, le complexe de destruction est inhibé, ce qui entraîne la stabilisation de la β -caténine. Cette accumulation soudaine de β -caténine permet son cheminement vers le noyau où elle pourra réguler l'expression d'un programme génique qui mènera à la réponse biologique désirée. Plusieurs cancers chez l'humain sont associés à des mutations des protéines du complexe de destruction ou, encore plus directement, au niveau des sites de phosphorylation de la β -caténine qui sont ciblés par les kinases de ce complexe. Dans ces cancers, il y a une

accumulation nucléaire de β -caténine, et par conséquent une hyperactivation de la voie Wnt qui résulte en l'activation incontrôlée de la prolifération cellulaire. Toutefois dans d'autres cancers, dont la tumeur de Wilms, l'accumulation nucléaire de la β -caténine est parfois observée, mais elle ne s'accompagne pas de mutations causatives connues des membres identifiés du complexe de destruction ou de la β -caténine elle-même. Bien qu'une activation constitutive de la voie Wnt puisse découler du dysfonctionnement de protéines agissant en amont du complexe de destruction, ou encore de défauts épigénétiques entraînant la surexpression des ligands Wnt ou la réduction de différents régulateurs négatifs, il est plausible de faire l'hypothèse selon laquelle des protéines supplémentaires participent à la régulation de la stabilité de la β -caténine au niveau du complexe de destruction.

Identification de la protéine WTX comme partenaire de la voie de signalisation Wnt

Avec l'objectif d'identifier ces régulateurs supplémentaires, nous avons entrepris une étude systématique des complexes protéiques formant le complexe de destruction de la β -caténine.

Notre approche a consisté en la purification biochimique des différentes protéines formant le complexe de destruction à partir de cellules humaines, suivie de l'analyse de leur composition par spectroscopie de masse. L'analyse itérative de plusieurs membres connus du complexe de destruction nous a permis d'établir une architecture détaillée des interactions protéines-protéines survenant entre les différents membres du complexe et dont on pouvait prédire qu'elles étaient requises pour son fonctionnement [3]. Nous avons logiquement identifié tous les membres connus du complexe de destruction de la β -caténine, mais nous avons aussi découvert que la protéine WTX s'associait à toutes les protéines de ce complexe que nous avons examinées. Ces résultats posi-

tionnaient physiquement WTX au niveau du complexe de destruction de la β -caténine et laissent entrevoir un rôle de cette protéine dans le contrôle de la stabilité de la β -caténine en réponse aux protéines Wnt (Figure 1).

Nous avons ensuite déterminé que WTX exerçait un rôle de régulateur négatif de la voie de signalisation Wnt. Cette conclusion découle de résultats obtenus dans des expériences mesurant le niveau d'activation de la voie Wnt dans des cellules humaines en culture grâce à un gène rapporteur luciférase bien caractérisé, et en réduisant les niveaux de WTX dans ces cellules via la technologie d'ARN interférence [3]. De plus, la diminution des niveaux de WTX conduit à une augmentation importante des niveaux de β -caténine, suggérant que

WTX, comme les autres membres du complexe de destruction, contrôle la stabilité protéique de la β -caténine. À l'appui de cette hypothèse, nous avons démontré que lors de la reconstitution biochimique de l'activité du complexe de destruction en utilisant des extraits d'oocytes de Xénope, l'ajout de protéines WTX purifiées accélérât la cinétique d'ubiquitinylation et de dégradation de la β -caténine [3]. Des expériences supplémentaires de gain et de perte de fonction dans les embryons de xénope et de poisson-zèbre, deux modèles classiques d'analyse de la voie de signalisation Wnt, ont confirmé ces résultats et ont permis de démontrer que WTX exerçait ce rôle de régulateur négatif dans le contexte d'un animal multicellulaire en développement [3].

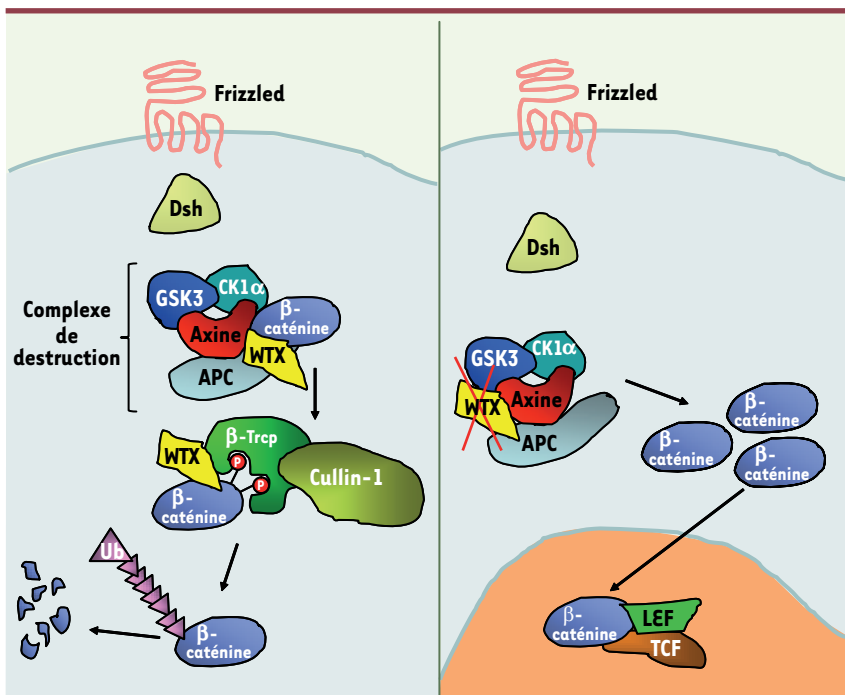


Figure 1. Rôle joué par WTX dans le complexe de destruction de la β -caténine. A. À l'état basal, le complexe de destruction (APC, Axine, GSK3b, CK1 α) catalyse la phosphorylation de la β -caténine. Phosphorylée, la β -caténine devient un substrat de haute affinité pour une E3 ubiquitine ligase de type SCF (Skp1, F-Box [β -Trcp], Culline-1) qui entraîne sa dégradation. WTX est retrouvée dans les complexes protéiques d'Axine, d'APC, de β -caténine et de β -TrCP soulevant la possibilité que WTX puisse agir au niveau de la phosphorylation ou de l'ubiquitinylation de la β -caténine. B. Dans les tumeurs de Wilms, WTX est mutée, ce qui compromet le bon fonctionnement du complexe de destruction et entraîne l'accumulation de la β -caténine. La β -caténine est alors transloquée constitutivement dans le noyau où, en se liant aux protéines Lef et Tcf, elle pourra modifier l'expression de gènes.

Perspectives

D'autres efforts sont maintenant nécessaires pour mieux comprendre le mode d'action précis de WTX. WTX agit-elle de concert avec l'Axine et les kinases du complexe de destruction pour phosphoryler la β -caténine ? Puisque WTX interagit aussi avec β -TrCP, la protéine adaptatrice qui recrute la β -caténine vers la machinerie d'ubiquitinylation, participe-t-elle plutôt à la réaction d'ubiquitinylation ?

Étonnamment, WTX est le premier gène suppresseur de tumeur situé sur le chromosome X. Puisque seulement l'un des deux chromosomes X est actif dans les cellules somatiques, la mutation d'un gène présent sur ce chromosome pourrait être suffisante pour l'initiation ou la progression de tumeurs. Ce n'est pas le cas pour la majorité des autres gènes suppresseurs de tumeur où deux événements indépendants sont requis pour l'inactivation de chaque allèle. WTX représente donc un troisième membre du complexe de destruction qui est fonctionnellement inactivé dans différents cancers humains. On connaît les mutations d'APC et de l'Axine dans le cancer du côlon. Des mutations



de WTX pourraient-elles être détectées dans d'autres cancers que les tumeurs de Wilms, incluant le cancer du côlon, et, inversement, des mutations d'APC et de l'Axine seront-elles détectées dans les tumeurs de Wilms ? On ne peut pas exclure qu'il y ait une spécificité fonctionnelle de chaque gène suppresseur de tumeur dont l'importance serait fonction du contexte cellulaire. Comme c'est le cas pour chaque nouvelle percée scientifique,

l'identification de WTX comme un nouveau gène suppresseur de tumeur modulant la voie de signalisation Wnt soulève maintenant plusieurs questions, mais contribue simultanément à une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires régissant le cancer. ♦

The tumor suppressor gene WTX, mutated in Wilms tumours, is a member of the β -catenin destruction complex

NOUVELLE

Un retournement de situation à l'origine des vertébrés

Guillaume Balavoine

> Depuis une dizaine d'années, un débat agite le monde des évolutionnistes et généticiens du développement : une inversion de l'axe dorso-ventral s'est-elle produite au cours de l'évolution des animaux, inversion qui serait à l'origine des vertébrés [1, 2] ? La proposition ne date pas d'hier. Déjà dans les années 1820, le naturaliste Étienne Geoffroy-Saint-Hilaire avait remarqué que l'organisation suivant l'axe dorso-ventral des organes internes chez un invertébré, le homard, était inversée par rapport à celle des vertébrés. Le constat est particulièrement frappant en ce qui concerne le système nerveux : chez beaucoup d'invertébrés, le système nerveux est fortement condensé (les neurones étant regroupés en une ou plusieurs chaînes longitudinales de ganglions) et se trouve en position ventrale par rapport à l'intestin, alors que chez les cordés, c'est-à-dire les vertébrés et leurs plus proches parents, les céphalocordés (le fameux amphioxus) et les urocordés (ascidies et salpes), le système nerveux est encore plus condensé (plus de ganglions multiples mais un cerveau et une moelle épinière) et en position dorsale. Les progrès

de la phylogénie moléculaire ont permis d'établir que tous les animaux à système nerveux condensé appartiennent à une même grande branche phylétique, les bilatériens ou triploblastes [3]. Ces bilatériens sont eux-mêmes divisés en deux grands groupes : les protostomiens (arthropodes, annélides, mollusques notamment), chez lesquels le système nerveux est généralement en position ventrale, et les deutérostomiens qui comprennent les vertébrés. Deux interprétations simples de l'architecture des systèmes nerveux peuvent être avancées : soit les systèmes nerveux condensés des protostomiens et des vertébrés se sont formés indépendamment sur des faces opposées (c'est le point de vue notamment de John Gehrart de l'Université de Berkeley [4]), soit le système nerveux était déjà largement condensé sur la face ventrale du dernier ancêtre des bilatériens, et un ancêtre des cordés s'est littéralement mis à vivre « sur le dos » avant que n'apparaissent le cerveau et la moelle épinière.

Des travaux récents de l'équipe de Detlev Arendt à l'*European Molecular Biology Laboratory* de Heidelberg (Allemagne)

RÉFÉRENCES

1. Rivera MN, Haber DA. Wilms' tumour: connecting tumorigenesis and organ development in the kidney. *Nat Rev Cancer* 2005 ; 5 : 699-712.
2. Rivera MN, Kim WJ, Wells J, et al. An X chromosome gene, WTX, is commonly inactivated in Wilms tumor. *Science* 2007 ; 315 : 642-5.
3. Major MB, Camp ND, Berndt JD, et al. Wilms tumor suppressor WTX negatively regulates WNT/beta-catenin signaling. *Science* 2007 ; 316 : 1043-6.
4. Wodarz A, Nusse R. Mechanisms of Wnt signaling in development. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1998 ; 14 : 59-88.
5. Moon RT, Kohn AD, De Ferrari GV, Kaykas A. WNT and beta-catenin signalling: diseases and therapies. *Nat Rev Genet* 2004 ; 5 : 691-701.

Centre de Génétique Moléculaire,
CNRS, Avenue de la Terrasse,
91198 Gif-sur-Yvette, France.
guillaume.balavoine@cgm.cnrs-gif.fr

apportent un soutien décisif à l'hypothèse du retournement [5]. Cette équipe s'intéresse à la génétique du développement de l'architecture du système nerveux, c'est-à-dire aux gènes qui, au cours de l'embryogenèse, vont, par leur expression différenciée dans les tissus précurseurs du système nerveux, déterminer sa forme et l'agencement des nombreux types de neurones qu'il comprend. On sait que, chez les vertébrés, le développement du système nerveux est très particulier puisque le cerveau et la moelle épinière proviennent de la différenciation d'un tube neural qui se forme sur toute la longueur de l'animal par le rapprochement et la fusion de replis latéraux de l'ectoderme dorsal de l'embryon. Dès avant cette fusion, une batterie de gènes régulateurs appartenant notamment aux familles des gènes à homéobôites NK et Pax est exprimée en une série de colonnes longitudinales symétriques et intervient pour spécifier les différents types de cellules neurales qui vont se différencier le long de ce tissu nerveux, notamment des neurones moteurs à proximité de la face ventrale du tube, et des neurones sensoriels en position dorsale.