

Les tétraspanines, molécules d'adhésion encore bien mal connues

Jacques Robert

Inserm U916, Institut Bergonié et Université de Bordeaux Segalen, France

j.robert@bordeaux.unicancer.fr

Introduction

Les tétraspanines (TSPAN) constituent une importante famille de protéines membranaires (33 membres) possédant quatre domaines de traversée (*spanning*) de la membrane plasmique, d'où leur nom. Elles ne semblent pas, malgré quelques résultats anciens qui n'ont pas été confirmés, dotées de propriétés de réception de signaux extracellulaires ; cependant, elles interagissent avec plusieurs types de récepteurs dont elles facilitent ou inhibent les fonctions, selon les cas. Ce sont des protéines impliquées dans l'adhésion cellulaire et, à ce titre, elles intéressent bien évidemment l'oncologue car leurs propriétés les conduisent à jouer un rôle dans l'oncogénèse, la métastase et l'angiogénèse, comme le font d'autres protéines impliquées dans l'adhésion cellulaire, dotées ou non d'une fonction de réception : sélectines, cadhérines, sémaphorines, intégrines et IgCAM, pour ne citer que les mieux connues.

Nous essaierons de dégager dans cette revue quelques points intéressants les domaines de la métastase et de l'angiogénèse, en avouant d'emblée que nous savons vraiment peu de choses et que, si les tétraspanines doivent devenir un jour des cibles thérapeutiques pertinentes, beaucoup de travail reste à faire sur le plan fondamental.

Si ces connaissances émergent plus vite que prévu, du moins serons-nous prêts à les intégrer dans notre savoir !

Structure et nomenclature

Une nomenclature trop simple est celle qui les numérotait de 1 à 33 grâce au préfixe TSPAN... Malheureusement, les tétraspanines 20 à 30 ont reçu un autre nom dans la nomenclature officielle des gènes (HUGO), tiré de la numérotation des *clusters de différenciation* (CD). Les autres (1 à 19 et 31 à 33) sont donc référencées officiellement comme TSPANx. Les tétraspanines possèdent 4 domaines transmembranaires (*figure 1*). Les extrémités N- et C-terminales sont intracellulaires, très courtes (6 à 19 acides aminés), et la boucle intracellulaire entre les domaines 2 et 3 est également très courte (4 acides aminés). Les deux boucles extracellulaires sont, l'une de grande taille, entre les domaines 3 et 4 (70 à 130 acides aminés distribués en 3 hélices α), l'autre plus petite, entre les domaines 1 et 2 (13 à 30 acides aminés). Le grand domaine extracellulaire des tétraspanines est rigidifié par l'existence de 4 ponts covalents disulfure dans la région inter-hélices. Les tétraspanines sont stabilisées dans la membrane par des liaisons covalentes entre des résidus cystéine localisés

au niveau de la face interne de la membrane, et des groupements acide palmitique.

Ces groupements hydrophobes permettent également l'association des molécules de tétraspanines entre elles et avec d'autres protéines membranaires, formant des microdomaines membranaires riches en tétraspanines, appelés TEM. Cette disposition n'est pas sans rappeler l'agrégation des molécules d'intégrines au niveau des contacts focaux. Participent à ces TEM, outre les tétraspanines, diverses protéines d'adhésion cellulaire (VCAM, ICAM, EPCAM), des intégrines, des récepteurs à activité tyrosine kinase et, dans les cellules de l'immunité, des protéines du complexe majeur d'histocompatibilité et des immunoglobulines membranaires comme les protéines EWI qui possèdent la séquence caractéristique Glu-Trp-Ile comme leur nom l'indique.

Fonctions des tétraspanines

Il faut donc rechercher la fonction des tétraspanines au niveau de leurs interactions avec d'autres protéines membranaires, avec lesquelles elles pourront jouer des rôles divers dans l'adhésion, la migration et l'invasion cellulaires, toutes fonctions qui intéressent la dissémination métastatique, l'angiogénèse et l'immunité.

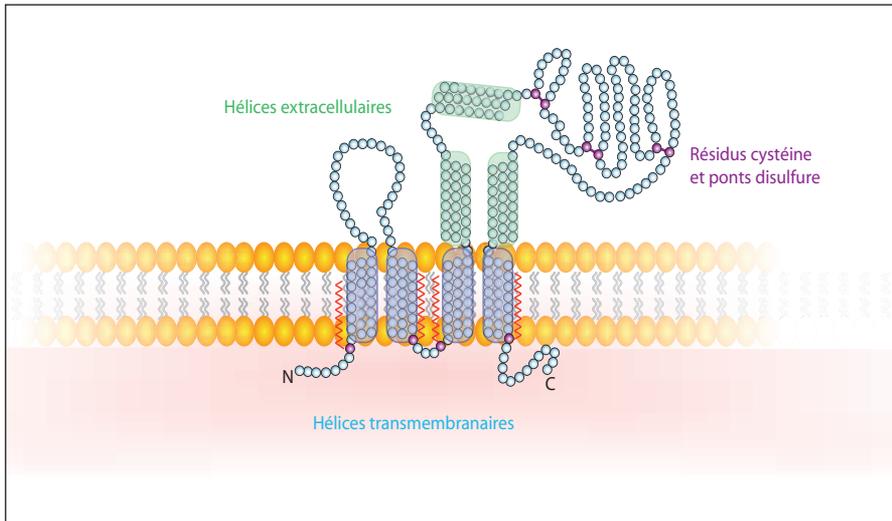


Figure 1. Organisation transmembranaire des tétraspanines. Les tétraspanines sont constituées de quatre hélices α transmembranaires (en bleu) réunies par une boucle intracellulaire très courte et deux boucles extracellulaires. L'une d'elles est assez courte ; l'autre, plus longue, est responsable des interactions moléculaires qui engagent les tétraspanines. Ce segment extracellulaire est constitué de trois domaines à hélice α (en vert) dont les deux derniers sont reliés par un domaine d'interaction variable, spécifique de chaque tétraspanine, stabilisé par des ponts disulfure intramoléculaires. La palmitoylation de résidus cystéine dans le domaine juxtamembranaire interne (en rouge) assure l'insertion des tétraspanines dans la membrane plasmique.

Certaines tétraspanines sont essentiellement exprimées dans les lymphocytes B (TSPAN25 [CD53], TSPAN26 [CD37]) et peuvent présenter un intérêt en immunologie. D'autres sont exprimées dans les cellules épithéliales et endothéliales, comme TSPAN24 (CD151), TSPAN29 (CD9), TSPAN27 (CD82) et TSPAN8, qui peuvent être surexprimées dans les cellules cancéreuses, ce qui suggère *a priori* un intérêt en tant que cibles thérapeutiques. Nous ne nous intéresserons ici qu'à quelques-unes de ces dernières.

Le rôle du CD151 dans la dissémination métastatique a été montré dans plusieurs modèles expérimentaux, en particulier un modèle de cancer du sein et un modèle de cancer de la prostate développant spontanément des métastases : dans les deux cas, le knock-out du gène CD151 entraîne une diminution du nombre de métastases pulmonaires, sans affecter la taille des métastases, indiquant bien

un effet sur la dissémination en tant que telle et non sur la prolifération des cellules métastatiques. Une surexpression du CD151 a été notée dans les cancers colorectaux, mais des observations divergentes laissent en suspens la question de son caractère pro-oncogénique. Le CD151 a essentiellement pour partenaires les intégrines dotées d'une chaîne α_3 et α_6 , et son knock-out entraîne précisément une diminution de la phosphorylation des chaînes β , nécessaire à l'activation de leur signalisation *outside-in* via les kinases FAK (*Focal adhesion kinase*) et ILK (*Integrin-linked kinase*). Les cellules endothéliales dépourvues de CD151 perdent la capacité de faciliter *in vitro* l'intravasation des cellules tumorales B16 de mélanome murin, ce qui suggère que le rôle du CD151 sur la métastase passe bien par une stimulation de l'angiogénèse.

La TSPAN8 est, elle, surexprimée de façon constante dans les hépatocar-

cinomes, les cancers pancréatiques et les mélanomes ; cette surexpression est associée à un mauvais pronostic de ces cancers. La TSPAN8 favorise la dissémination métastatique de tumeurs expérimentales dans plusieurs modèles. Les partenaires de cette tétraspanine sont également les intégrines α_3 et α_6 , ainsi que la molécule d'adhésion cellulaire EPCAM, la claudine 7 et la E-cadhérine. Elle facilite la migration et l'invasion cellulaire en régulant les interactions entre cytosquelette et matrice extracellulaire assurées par les intégrines. La TSPAN8 est vraisemblablement impliquée dans le *switch* angiogénique par activation des cellules endothéliales, comme l'ont montré des expériences sur une lignée de cancer pancréatique xéno-greffée en intrapéritonéal chez le rat : les cellules surexprimant la TSPAN8 forment des tumeurs mésentériques hautement vascularisées, et un anticorps dirigé contre cette tétraspanine diminue considérablement cette vascularisation. En utilisant une préparation de mésentère *ex vivo*, les auteurs confirment ce rôle direct de la TSPAN8 sur la densité microvasculaire. Le CD9 (TSPAN29) est également une tétraspanine impliquée dans métastase et angiogénèse, mais dans le sens inverse : plusieurs études ont montré qu'elle présentait un rôle de suppresseur de métastases. Son knock-out expérimental, à l'inverse de celui du CD151, entraîne une augmentation du nombre de métastases mais pas de leur taille, indiquant, pour cette tétraspanine également, un effet sur la migration transendothéliale et l'intravasation des cellules tumorales et non sur la prolifération cellulaire. On ne peut toutefois passer sous silence des observations apparemment contradictoires où le CD9 présente un effet pro-métastatique ; ces différences pourraient s'expliquer par l'existence de partenaires distincts selon le tissu

en cause. Les tétraspanines CD63 (TSPAN30) et CD82 (TSPAN27) se comportent expérimentalement comme le CD9, c'est-à-dire comme des suppresseurs de métastases et non comme des inducteurs.

Ciblage thérapeutique des tétraspanines

Ces molécules membranaires ont attiré l'attention des oncologues et des laboratoires pharmaceutiques, afin d'identifier des approches thérapeutiques innovantes. Les anticorps monoclonaux ont été au premier rang de ces approches, avec l'objectif de bloquer les interactions des tétraspanines avec ses partenaires et diminuer leurs effets pro-angiogéniques et pro-métastatiques. Une difficulté réside dans le fait que certaines tétraspanines importantes, comme le CD151, sont ubiquitaires et que les effets des anticorps sur les tissus non-tumoraux peuvent se révéler néfastes. En revanche, pour une tétraspanine comme le CD37 (TSPAN26), qui est essentiellement exprimée dans les lymphocytes B et, partant, dans les lymphomes non-Hodgkiniens, on peut envisager plus facilement le développement d'un anticorps monoclonal, à l'image des anticorps anti-CD20, très utilisés en clinique. Ont également été envisagés une protéine de fusion conservant les propriétés de reconnaissance

des anticorps, ainsi qu'un couplage de l'anticorps avec un agent radioactif, comme le ^{177}Lu . Des anticorps anti-CD151 ont été développés par plusieurs laboratoires pharmaceutiques sans atteindre le passage chez l'homme ; ces anticorps ont montré un effet satisfaisant sur la dissémination métastatique, sans effet sur la prolifération cellulaire. Afin de pallier la distribution ubiquitaire du CD151, il a été imaginé d'utiliser des anticorps de plus faible affinité, qui ne seraient actifs que sur les cellules exprimant fortement la tétraspanine à leur surface et non sur les cellules normales qui l'expriment à un niveau moins élevé ; ou encore de concevoir des anticorps qui ne seraient efficaces que lorsque le CD151 n'est pas intégré dans des complexes multiprotéiques avec ses partenaires, intégrines en particulier.

Conclusion

Il est difficile, devant le peu de travaux encore consacrés aux tétraspanines, de savoir si elles peuvent constituer une cible thérapeutique prometteuse. Plusieurs laboratoires se sont engagés dans ce type de recherche et ont conçu et développé des anticorps à visée thérapeutique ; cependant, les résultats précoces négatifs leur ont fait abandonner, peut-être un peu prématurément, ce domaine encore

mal connu. Il est certain que l'on ne peut attendre de ce ciblage que des effets anti-métastatiques et non anti-prolifératifs ; je serais personnellement d'avis que les modèles classiques d'évaluation des nouvelles molécules ne sont pas adéquats pour la découverte de molécules purement anti-métastatiques et qu'une optimisation des modèles d'étude, jointe à un renouveau du design des essais cliniques qui doivent succéder aux études précliniques, pourrait permettre des avancées originales dans le domaine de la thérapeutique anticancéreuse.

Liens d'intérêts : L'auteur déclare ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Bibliographie

- Bailey RL, et al. *Biochem Soc Trans* 2011 ; 39 : 1667-73.
- Hemler ME. *Nat Rev Drug Discov* 2008 ; 7 : 747-58.
- Hemler ME. *Nat Rev Cancer* 2014 ; 14 : 49-60.
- Richardson MM, et al. *Clin Exp Metastasis* 2011 ; 28 : 261-70.
- Rubinstein E. *Biochem Soc Trans* 2011 ; 39 : 501-5.
- Sala-Valdés M, et al. *Expert Opin Ther Targets* 2012 ; 16 : 985-97.
- Wang HX, et al. *Biochem Soc Trans* 2011 ; 39 : 547-52.

• **Directeur de la publication :** Gilles Cahn
• **Rédacteurs en chef :** Bernard Lévy, Jacques Robert
• **Comité de rédaction :** Eric Dansin, Gaël Deplanque, Anne Floquet, Joseph Gligorov, David Malka
• **John Libbey Eurotext :** 127, avenue de la République, 92120 Montrouge, France - Tél. : 01 46 73 06 60
• **Secrétaire de rédaction :** Fanny Biancale • 4 numéros par an, Tarif France 40 €
Autres tarifs : contacts@jle.com