

ROLE DU GENE ZNRF3 DANS LES CORTICOSURRENALOMES

M. Weinandt, H. Omeiri, L. Lefevre, L. Drougat, G. Assie, M. Rizk-Rabin, J. Bertherat & B. Ragazzon

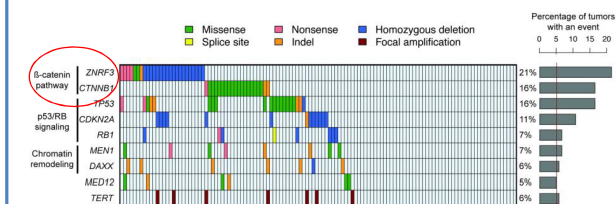
Institut Cochin, Inserm U1016, CNRS UMR8104 24 rue du Faubourg Saint-Jacques 75014 Paris

Introduction:

Les corticosurrénales (CS) sont des tumeurs de mauvais pronostic pour lesquelles il existe peu de thérapies. Récemment, de fréquentes altérations du gène *ZNRF3* (21%) ont été identifiées dans les CS (Assié, *et al*, *Nat Genet* 2014). Dans la majorité des cas des délétions homozygotes de *ZNRF3* sont observées. *ZNRF3* code pour une E3 ubiquitine ligase et n'a jamais été associé aussi fréquemment jusqu'à aujourd'hui à un autre type de tumeurs.

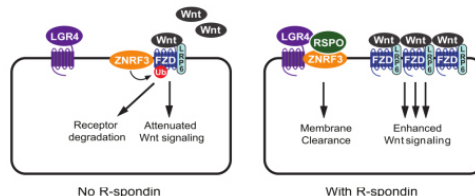
L'objectif de ce travail est de mettre en évidence le rôle exact de *ZNRF3* dans la tumorigénèse des CS et d'identifier les voies de signalisation dans lesquelles il est impliqué.

ZNRF3 est le gène le plus fréquemment altéré dans les CS



L'analyse d'une cohorte 121 CS a permis de mettre en évidence des altérations du gène *ZNRF3* dans 21% des cas (Assié, *et al*, *Nat Genet* 2014). Observation confirmée récemment par une autre étude du consortium TCGA (Zheng *et al*, *Cancer Cell* 2016).

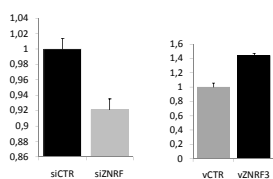
ZNRF3: un régulateur négatif de la voie Wnt/βcaténine



ZNRF3 appartient à la famille des E3 ubiquitine ligase et a été décrit comme étant un régulateur négatif de la voie de signalisation Wnt/βcaténine. (Hao H *et al*, *Nature* 2012).

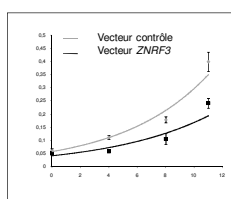
ZNRF3, gène suppresseur de tumeur et rôle dans la voie Wnt/βcaténine dans les cellules corticosurrénales

Apoptose (Activité caspase 3/7)



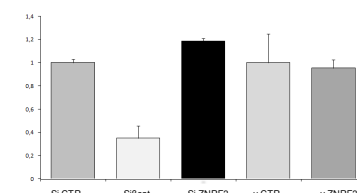
La surexpression de *ZNRF3* augmente l'apoptose induite à la staurosporine; Alors que son invalidation la protège.

Prolifération (test MTT)



La surexpression de *ZNRF3* diminue la prolifération cellulaire.

Activité voie Wnt/β-caténine (rapporteur TOP-Flash)



L'invalidation de *ZNRF3* dans la lignée H295R induit une légère augmentation de l'activité de la voie Wnt/βcaténine. La surexpression de *ZNRF3* n'a pas d'effet significatif sur la voie dans la lignée H295R.

Les cellules H295R présentent une forte activité de la voie de signalisation Wnt/βcaténine due à une mutation activatrice de la βcaténine masquant certainement les effets de la surexpression de *ZNRF3*. Cependant la surexpression de *ZNRF3* déclenche l'apoptose des cellules H295R.

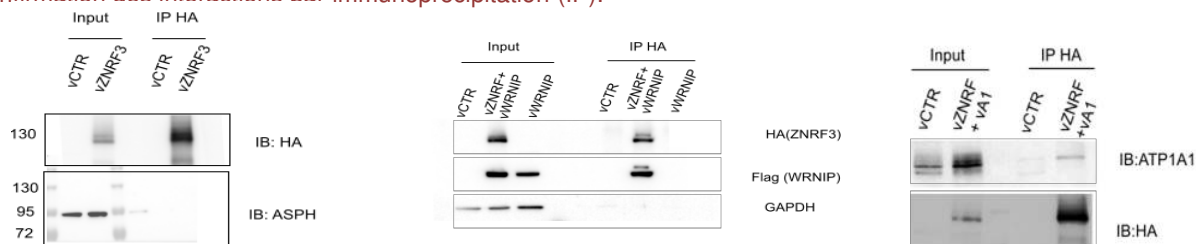
Ces observations suggèrent que *ZNRF3* pourrait être impliqué dans d'autres voie de signalisation que la voie Wnt/βcaténine.

Identification des partenaires de ZNRF3 par spectrométrie de masse:

	CTR	ZNRF3	CTR	ZNRF3
ZNRF3 HUMAN	-	11	-	16
ASPH HUMAN	-	4	-	3
WRIP1 HUMAN	-	5	-	2
LACTB HUMAN	-	4	-	1
IPO5 HUMAN	-	2	-	2
AT1A1 HUMAN	-	3	-	1

Après immunoprécipitation (IP) de *ZNRF3*, 5 protéines différentes ont été identifiées sur deux analyses indépendantes. Ces protéines ne sont pas retrouvées dans les IP contrôles.

Confirmation des interactions par immunoprécipitation (IP):



L'interaction avec *ZNRF3* a été confirmée pour 2 des 3 protéines testées : ATP1A1 et WRNIP1

Conclusion et perspectives

ZNRF3 se comporte bien comme un gène suppresseur de tumeur dans les cellules corticosurrénales. Il semble pouvoir moduler l'activité de la voie Wnt/βcaténine mais également agir sur d'autres voies de signalisation. L'analyse par spectrométrie de masse a permis de mettre en évidence de nouveaux partenaires: WRNIP1 et ATP1A1.

ZNRF3 appartient à la famille des E3 ubiquitine ligase. D'après les premières analyses réalisées, WRNIP1 et ATP1A1 ne semblent pas être des cibles d'ubiquitination de *ZNRF3*. Le rôle de ces interactions et l'impact potentiel sur ces partenaires reste à définir.

La poursuite de ce travail avec l'identification des voies de signalisation altérées, permettra de mieux comprendre les mécanismes du développement tumoral de la cortico-surrénale.