

# ROLE DU GENE ZNRF3 DANS LES CORTICOSURRENALOMES

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

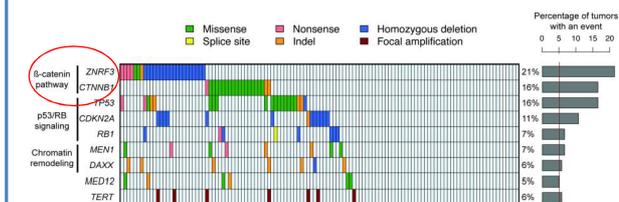
Institut Cochin, Inserm U1016, CNRS UMR8104 24 rue du Faubourg Saint-Jacques 75014 Paris

## 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.

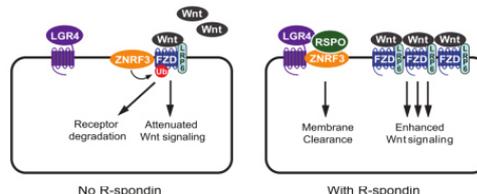
L'objectif de ce travail est de mettre en évidence le rôle exact de *ZNRF3* dans la tumorigénèse des CS et d'identifier les voies de signalisation dans lesquelles il est impliqué.

## 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).

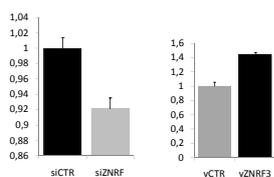
## ZNRF3: un régulateur négatif de la voie Wnt/βcaténine



*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).

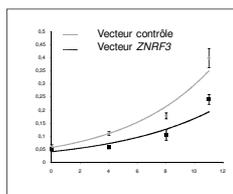
## ZNRF3, gène suppresseur de tumeur et rôle dans la voie Wnt/βcaténine dans les cellules corticosurrénales

Apoptose (Activité caspase 3/7)



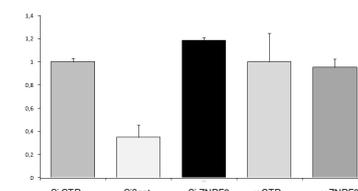
La surexpression de *ZNRF3* augmente l'apoptose induite à la staurosporine; Alors que son invalidation la protège.

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.

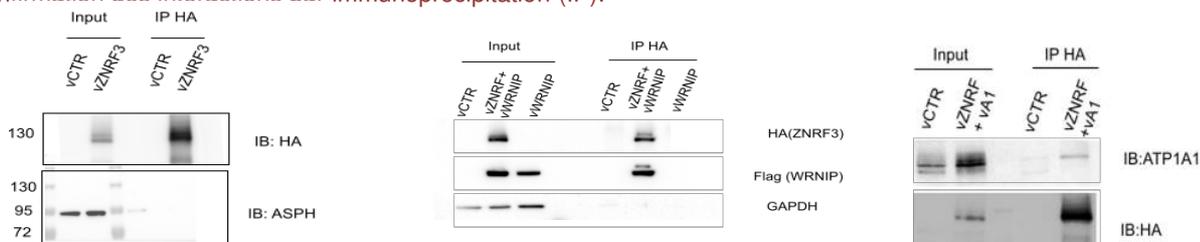
**Ces observations suggèrent que *ZNRF3* pourrait être impliqué dans d'autres voie de signalisation que la voie Wnt/βcaténine.**

## Identification des partenaires de *ZNRF3* par spectrométrie de masse:

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

## 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: WRIP1 et ATP1A1.

*ZNRF3* appartient à la famille des E3 ubiquitine ligase. D'après les premières analyses réalisées, WRIP1 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.