

P53: un gène touche à tout dans les points de contrôle du cycle cellulaire après lésions de l'ADN

En 1994, nous comparions le cycle cellulaire à un gigantesque casse-tête dont l'originalité serait un nombre de pièces inconnues et pour lequel il n'existerait pas de moule original [1]. Cette note dans *m/s* faisait état de l'identification des CDKI (inhibiteurs des kinases dépendantes des cyclines) p16 et p21^{WAF1/CIP1}. Depuis, les feux des projecteurs se sont braqués sur les études de la transition cellulaire G1/S qui est la cible d'un grand nombre de perturbations durant les phénomènes néoplasiques. Néanmoins, il est connu que les lésions génotoxiques provoquent également un arrêt du cycle cellulaire à plusieurs endroits du cycle, notamment au niveau de la transition G1/S mais aussi au niveau de la transition G2/M.

L'implication du gène suppresseur de tumeur *P53* dans cette transition G1/S est relativement bien documentée [2]. Le gène p21^{WAF1/CIP1} est l'une des cibles du gène *P53* après lésions, ce qui explique l'arrêt de la division cellulaire dans ces conditions. L'inactivation du gène p21^{WAF1/CIP1} par recombinaison homologue perturbe cet arrêt du cycle.

Depuis plusieurs années, il avait été suggéré que la protéine p53 pourrait aussi être impliquée dans l'arrêt G2/M. En utilisant une lignée cellulaire hématopoïétique exprimant un mutant thermosensible de p53 murine, Guillouf *et al.* (Philadelphie, PA, USA, et Institut Curie, Paris, France) avaient montré dès 1995 que la p53 normale pouvait moduler l'arrêt des cellules en G2 après irradiation par des rayons γ [3]. Même si plusieurs études abondaient dans ce sens, il n'en restait pas moins que l'on préférerait associer p53 à l'arrêt en

G1, l'arrêt en G2 étant considéré comme un épiphénomène [4, 5].

Plusieurs travaux récents montrent que cet arrêt en G2 après lésions génotoxiques dépend véritablement de p53. Pour cela, elle utilise une voie métabolique très conservée de la levure à l'homme. A la fin de l'année 1997, une série de trois articles parus dans la revue *Science* ont permis de proposer un modèle très élégant pour expliquer ce point de contrôle au niveau de la transition G2/M [6-8]. Ces études faites chez l'homme, la souris et la levure *Schizosaccharomyces pombe*, démontrent combien la conservation phylogénétique de ces fonctions est importante. Le facteur clé pour cette transition G2/M est la kinase CDC2 qui doit être sous une forme déphosphorylée pour être active. Cette modification est sous le contrôle de la phosphatase CDC25 qui est retrouvée chez toutes les espèces de la levure à l'homme [9]. L'activité de CDC25 est elle-même soumise à une régulation très fine par la kinase Chk1 de découverte récente. Cette kinase est aussi très conservée au cours de l'évolution et serait elle-même directement activée après une lésion génotoxique (*figure 1*). Dans la levure *Schizosaccharomyces pombe*, cette activation serait due à la protéine Rad3 dont l'équivalent chez les mammifères est la protéine ATM. Il en résulte une activation en cascade qui débute au niveau de la lésion et se termine au niveau de l'arrêt du cycle cellulaire en phase G2. La première étape de cette voie est l'activation de la kinase Rad3/ATM. La façon dont la lésion est perçue par cette kinase et la manière dont elle est activée sont encore obscures. La kinase

Rad3/hATM a pour cible la kinase Chk1, qu'elle active par phosphorylation. La forme activée Chk1-P inactive la phosphatase CDC25 en la phosphorylant sur le résidu 216. L'inactivation de cette phosphatase induit l'accumulation de la forme inactive CDC2-P qui est incapable d'activer la transition G2/M. Cette suite d'événements explique donc le blocage des cellules en phase G2 après lésions génotoxiques. Un autre niveau de régulation a été mis en évidence avec l'intervention de l'une des protéines 14-3-3. Les protéines de la famille 14-3-3 sont des petites protéines conservées au cours de l'évolution, impliquées à diverses étapes du cycle cellulaire. Durant l'analyse de la protéine CDC25 humaine, il est apparu que sa forme phosphorylée (inactive) interagit spécifiquement avec l'une des protéines de la famille 14-3-3 alors que la forme non phosphorylée (active) est dépourvue de cette activité. Il avait été suggéré que 14-3-3 pourrait procurer un mécanisme supplémentaire pour inactiver CDC25 en la séquestrant dans ces complexes.

Cette hypothèse prend une importance considérable avec les travaux récemment publiés par l'équipe de B. Vogelstein (Baltimore, MA, USA) [10]. En utilisant une approche de criblage différentiel (approche SAGE, *serial analysis for*) ces auteurs, ont montré que le gène *14-3-3 σ* est un gène cible de la p53 après lésions génotoxiques. La sur-expression de *14-3-3 σ* dans des cellules de mammifères induit un arrêt en phase G2 et une polyploidie. La localisation de *14-3-3 σ* dans le cytoplasme cellulaire suggère que cette protéine pourrait donc empêcher le transport de la protéine CDC25 vers le noyau.

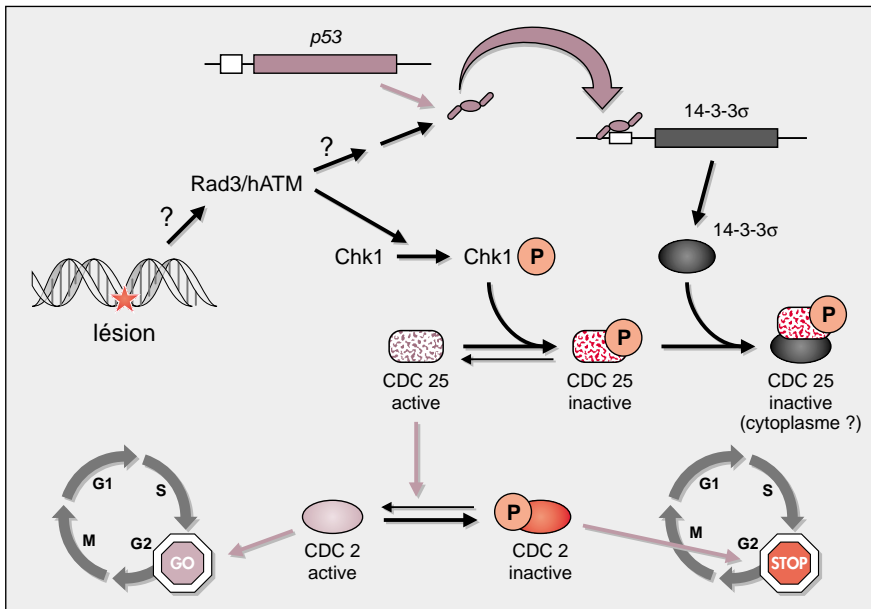


Figure 1. **Régulation de la transition G2/M.** Après lésion de l'ADN, un signal est transmis à la protéine Rad3/hATM qui phosphoryle la kinase Chk1. La kinase ainsi activée inactive la phosphatase CDC25 par phosphorylation sur le résidu Ser216. De plus, ce complexe CDC25 phosphorylé est capturé par la protéine 14-3-3σ qui la séquestrerait dans le cytoplasme. Le gène 14-3-3σ est transactivé par la protéine P53 lors de l'agression génotoxique. L'inactivation de CDC25 conduit à l'accumulation d'une protéine CDC2 phosphorylée, inactive et donc incapable d'activer la transition G2/M.

L'ensemble de ces travaux appelle plusieurs commentaires. Tout d'abord, ils montrent que les voies métaboliques qui assurent le contrôle de l'intégrité du génome sont très conservées d'un point de vue phylogénétique et que l'utilisation des modèles levure est essentielle. C'est en étudiant à la fois les convergences et les divergences entre ces systèmes que l'on aura une vision plus exacte

des spécificités retrouvées dans les cellules humaines normales ou pathologiques. Par ailleurs, p53 apparaît encore une fois comme un chef d'orchestre indispensable au contrôle de ces diverses voies dans les cellules de mammifères. Néanmoins, on peut se demander pourquoi un gène similaire n'a pas encore été identifié chez les invertébrés et les eucaryotes unicellulaires.

Finalement, l'ensemble de ces travaux permet d'ajouter quelques pièces supplémentaires à ce casse-tête qu'est le cycle cellulaire. La découverte de ces nouvelles voies nous propose de nouveaux chemins à tester pour l'élaboration de nouvelles cibles thérapeutiques.

T.S.

1. Soussi T. p16, p21^{WAF1/CIP1}, p53^{Kim}, et p53: rivales ou compagnes? *Med Sci* 1994; 10: 744-6.
2. Harper JW, Elledge SJ. Cdk inhibitors in development and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 1996; 6: 56-64.
3. Guillof C, Rosselli F, Krishnaraju K, Moustacchi E, Hoffman B, Liebermann DA. p53 involvement in control of G2 exit of the cell cycle: role in DNA damage-induced apoptosis. *Oncogene* 1995; 10: 2263-70.
4. Stewart N, Hicks GG, Paraskevas F, Mowat M. Evidence for a second cell cycle block at G2/M by p53. *Oncogene* 1995; 10: 109-15.
5. Aloni-Grinstein R, Schwartz D, Rotter V. Accumulation of wild-type p53 protein upon gamma-irradiation induces a G2 arrest-dependent immunoglobulin kappa light chain gene expression. *EMBO J* 1995; 14: 1392-401.
6. Peng CY, Graves PR, Thoma RS WZ, Shaw AS, Piwnica-Worms H. Mitotic and G2 checkpoint control: regulation of 14-3-3 protein binding by phosphorylation of Cdc25C on serine-216. *Science* 1997; 277: 1501-5.
7. Sanchez Y, Wong C, Thoma RS, Richman R, Wu Z, Piwnica-Worms H, et al. Conservation of the Chk1 checkpoint pathway in mammals: linkage of DNA damage to Cdk regulation through Cdc25. *Science* 1997; 277: 1497-501.
8. Furnari B, Rhind N, Russel P. Cdc25 mitotic inducer targeted by Chk1 DNA damage checkpoint kinase. *Science* 1997; 277: 1495-7.
9. Cans C, Baldin V, Mils V, Ducommun B. Les phosphatases CDC25: régulateurs du cycle cellulaire et oncogènes potentiels. *Med Sci* 1998; 14: 269-74.
10. Hermeking H, Lengauer C, Polyak K, He TC, Zhang L, Thiagalingam S, et al. 14-3-3σ is a p53-regulated inhibitor of G2/M progression. *Mol Cell* 1997; 1: 3-11.

le 23 octobre 1998 à la Faculté de Médecine de Lille

9 h 30	Accueil des participants : Ph. Roussel Introduction : J. Polonovski	14 h 30-14 h 55	F. Broly (CHU-Lille) – Cytochromes P450 et gènes de susceptibilité aux bronchopneumopathies chroniques
9 h 45-10 h 15	J.-P. Muh (Inserm-Tours) – Syndromes autistiques – Aspects génétiques et développementaux	14 h 55-15 h 20	A. Verbert (Cnrs-USTL) – Processus « glyco-déglyco » au cours de la synthèse des N-glycoprotéines
10 h 15-10 h 45	J.-C. Fruchart (Inserm-IPL) – PPARα: régulateur du métabolisme des lipoprotéines et de l'inflammation	15 h 20-15 h 45	G. Lamblin (Inserm-Lille) – Mucoviscidose et mucines bronchiques : physiopathologie des anomalies de glycosylation et de sulfatation
10 h 45-11 h 15	pause	15 h 45-16 h 15	pause
11 h 15-11 h 45	J. Demaille (Cnrs-Montpellier) – Le sous-génome olfactif	16 h 15-16 h 40	N. Porchet (Inserm-Lille) – Les mucines humaines : une famille multigénique
11 h 45-12 h 15	D. Stehelin (Cnrs-IBL) – Relations entre les tumeurs invasives et l'hôte	16 h 40-17 h 05	P. Formstecher (Inserm-Lille) – Pharmacologie moléculaire et cellulaire des rétinoïdes
12 h 15-12 h 45	P. Boulanger (Cnrs-Montpellier) – Les récepteurs cellulaires des adénovirus : applications à la thérapie génique	17 h 05-17 h 15	Conclusions : J. Montreuil
12 h 45-14 h 30	buffet		

Inscriptions à envoyer à :

Philippe Roussel, Inserm U. 377, place de Verdun, 59045 Lille – Tél. : 03 20 98 43 00 – Fax : 03 20 53 85 62

E-mail : roussel@lille.inserm.fr

avec un chèque de 100 F libellé à l'ordre de « l'agent comptable de l'Université de Lille 2 » (en cas de participation au buffet)