

## SWI/SNF : la connexion chromatine, cycle cellulaire et cancer

La chromatine représente une barrière à l'accessibilité de l'ADN. Elle est en perpétuel équilibre entre état relâché et état fermé suivant les effets antagonistes de multiples complexes protéiques [1]. Son remodelage constitue notamment une étape cruciale dans la régulation de la transcription [2]. Parmi les complexes de remodelage de la chromatine, on distingue ceux qui sont susceptibles de modifier les histones elles-mêmes, en particulier l'acétylation de leurs queues aminoterminales, histones désacétylases et histones acétyltransférases, ceux qui influent sur la méthylation de l'ADN et enfin ceux qui utilisent l'énergie de l'ATP pour modifier la structure du nucléosome [3, 4].

Les complexes SWI/SNF constituent les complexes de remodelage de la chromatine dépendant de l'ATP les plus étudiés [5]. Ces complexes ont été observés dans la plupart des cellules eucaryotes et ils contiennent de 10 à 12 sous-unités le plus souvent fortement homologues d'une espèce à l'autre. Les sous-unités des complexes SWI/SNF de la levure du boulanger, de la drosophile et de l'homme, ainsi que leurs principaux domaines fonctionnels sont indiqués dans le *Tableau I*. Dans la levure, plusieurs sous-unités du complexe SWI/SNF sont codées par les gènes *swi* et *snf* initialement identifiés comme nécessaires à la fermentation du sucrose (*SNF* : *sucrose non-fermentor*) et au changement de type sexuel

(*SWI* : *switching defective*). Par la suite, différents travaux ont établi que ce complexe était impliqué dans l'activation transcriptionnelle de nombreux gènes en modifiant la structure chromatinienne au niveau de leurs régions promotrices. Plus récemment, des expériences, faisant appel au criblage de puces à ADN, ont montré qu'environ 6 % des gènes de levure étaient sous le contrôle de complexes SWI/SNF [6]. De façon surprenante, plus de la moitié de ces gènes sont activés en l'absence de *Swi2/Snf2*, la sous-unité ATPase du complexe, soulignant le rôle probable de ces complexes non seulement dans l'activation, mais aussi dans la répression de la transcription. Chez la drosophile, plusieurs gènes

Tableau I  
CORRESPONDANCE DES DIVERSES SOUS-UNITÉS DU COMPLEXE SWI/SNF ENTRE LA LEVURE, LA DROSOPHILE ET L'HOMME

Levure	Drosophile	Homme	Remarques
Swi2/Snf2	Brahma	hBRM/hSNF2a BRG1/hSNF2b	Activité ATPase
Snf5 Swi3	SNR1 BAP155/Moira	hSNF5/INI1/BAF47 hBAF170	Domaine SANT hBAF155
Swp73 Swp61/Arp7 Swp59/Arp9 Swi1/Adr6 Snf6	BAP60 BAP47 BAP55 Osa	hBAF60a/b/c b-actin hBAF53 hBAF250	Proche de l'actine Domaine ARID
SWP82SWP29/ TFG3/TAF30/ANC1 Snf1 1		Homologies avec ENL et AF9  hBAF110 hBAAF57	Associée également à TFIID et TFIIF  Domaine HMG

SWI: mating type SWItching; SNF: sucrose non fermenting; Swp: SWI/SNF protein; Arp: actin related protein; Tfg3: TFIIF factor g, third subunit of TFIIF; Anc1: Actin Non Complementing 1; Snr1: Snf5-Related 1; BAP: Brahma Associated Protein; Mor: Moira; BRG1: Brm/Swi2 related gene 1; BAF: BRG1 associated factor; AF9: ALL-1 fused gene on chromosome 9; ENL: eleven nineteen leukemia; HMG: high mobility group; SANT: Swi3-Ada2-N-Cor-TFIIB.

codant pour des membres des complexes SWI/SNF dont Brahma, sous-unité ATPase homologue à Swi2/Snf2, ont été classés dans le groupe trithorax de régulateurs positifs de l'expression des gènes homéotiques (Tableau I) [7].

Les complexes SWI/SNF humains (hSWI/SNF) contiennent l'une ou l'autre des sous-unités ATPase hBRM ou BRG1 [5]. Ces complexes semblent également, suivant les cas, être des co-facteurs d'activation ou de répression transcriptionnelle. En effet, la sur-expression de hBRM et BRG1 potentialise l'activation de la transcription induite par c-myc, C/EBP $\beta$ , EKLF (*erythroid Kruppel-like factor*) ainsi que par plusieurs récepteurs nucléaires dont les récepteurs des glucocorticoïdes, des œstrogènes et de l'acide rétinoïque. Dans la plupart de ces cas, il a été montré que l'activation transcriptionnelle est dépendante d'une part de l'activité ATPase de hBRM ou de BRG1 et d'autre part d'une interaction physique entre hSWI/SNF et ces facteurs de transcription. En revanche, dans d'autres cas, comme pour la régulation transcriptionnelle dépendante de E2F ou pour celle du promoteur de *c-fos*, hSWI/SNF semble être un cofacteur de répression de la transcription. Récemment, des sous-unités du complexe hSWI/SNF ont été impliquées dans la régulation de la croissance et de la prolifération cellulaire. Ainsi *hSNF5/INI1* présente toutes les caractéristiques d'un gène suppresseur de

tumeur et les protéines hBRM et BRG1 semblent jouer un rôle fondamental dans la régulation du cycle cellulaire, notamment par leur interaction avec la protéine du rétinoblastome et la cycline E.

#### ***hSNF5/INI1*, un authentique suppresseur de tumeur**

Le gène *hSNF5/INI1* a été identifié comme étant la cible de mutations bi-alléliques inactivatrices dans les tumeurs rhabdoïdes malignes, tumeurs très agressives du nourrisson et du jeune enfant ([9] et *m/s* 1998, n° 10, p. 1122). Le spectre de tumeurs humaines défini par la présence de mutations somatiques de *hSNF5/INI1* inclut en fait non seulement ces tumeurs rhabdoïdes, quelle que soit leur localisation (rein, tissu mou, système nerveux central...), mais aussi des tumeurs du système nerveux central comme les carcinomes des plexus choroïdes et certains médulloblastomes ou tumeurs neuro-ectodermiques primitives centrales, tout particulièrement chez l'enfant de moins de trois ans [10]. En revanche, *hSNF5/INI1* n'est pas le gène suppresseur de tumeur localisé sur le chromosome 22 dont on pense qu'il est impliqué dans l'oncogenèse des gliomes, des épépendymomes ou des cancers du sein, tumeurs associées à des pertes alléliques récurrentes du chromosome 22. L'altération de *hSNF5/INI1* définit ainsi un groupe

de tumeurs de localisation variable, très agressives, du jeune enfant, ne présentant pas nécessairement un phénotype rhabdoïde.

En ce qui concerne les mutations constitutionnelles de *hSNF5/INI1*, celles-ci définissent un nouveau syndrome de prédisposition aux tumeurs, dénommé RPS (*rhabdoid predisposition syndrome*). Le spectre de tumeurs observées dans ce syndrome héréditaire est similaire à celui défini par les mutations somatiques du gène, à savoir les tumeurs rhabdoïdes malignes, certains médulloblastomes, certaines tumeurs neuro-ectodermiques primitives centrales, et les carcinomes des plexus choroïdes [11]. Etant donné le phénotype extrêmement agressif des tumeurs associées aux mutations de *hSNF5/INI1* et l'âge de survenue des cancers, l'observation de deux générations successives atteintes est exceptionnelle et les cas familiaux correspondent dans leur grande majorité à un mosaïcisme germlinal chez l'un des parents. Comme attendu, l'âge de survenue des tumeurs observées dans un contexte familial est inférieur à celui des tumeurs sporadiques (11,7 *versus* 22,5 mois) (Tableau II). Un tiers des cas de tumeurs neuro-ectodermiques primitives centrales survenant avant l'âge de 3 ans est associé à une mutation constitutionnelle de *hSNF5/INI1*. Cette observation souligne l'intérêt majeur du dépistage de ces mutations pour assurer un conseil génétique.

Tableau II

#### ÂGE DE SURVENUE DES TUMEURS PRÉSENTANT UNE MUTATION DE *hSNF5/INI1*

	Nombre de cas	Âge moyen	< 36 mois	> 36 mois
<b>A. Cas sporadiques</b>				
Tumeurs extracérébrales	30	19,05	27	3
Tumeurs cérébrales	20	27	16	4
Total	<b>50</b>	<b>22,5</b>	<b>43 (86 %)</b>	<b>7 (14 %)</b>
<b>B. Cas héréditaires</b>				
Tumeurs extracérébrales	6	5,4	6	0
Tumeurs cérébrales	14	14,5	13	1
Total	<b>20</b>	<b>11,7</b>	<b>19 (95 %)</b>	<b>1 (5 %)</b>

A ce jour, 103 tumeurs présentant des mutations du gène *hSNF5/INI1* ont été décrites [10, 12-15]. Dans 40 cas, ces tumeurs présentent des délétions homozygotes et dans 63 cas des mutations ponctuelles (4 tumeurs présentant une double mutation ponctuelle, le total est donc de 67 mutations ponctuelles). Ces mutations, le plus souvent de type non-sens ou décalant le cadre de lecture, sont réparties sur toute la séquence codante de *hSNF5/INI1* (figure 1). De façon intrigante, il existe un lien entre le type de mutation observée et la localisation tumorale (Tableau III). En effet, si au sein des tumeurs extra-cérébrales la proportion de délétions homozygotes et de mutations ponctuelles est équilibrée (51,4 % versus 48,6 %), ces dernières sont beaucoup plus fréquentes dans les tumeurs cérébrales (87,2 % contre 12,8 % pour les délétions homozygotes). Cette observation est probablement directement liée à une certaine spécificité tissulaire des mécanismes d'inactivation de *hSNF5/INI1* [16]. Confirmant le caractère « suppressor de tumeur » de *hSNF5/INI1*, des souris hétérozygotes ayant un allèle de *hSNF5/INI1* inactivé développent avec une fréquence très supérieure à la normale des tumeurs indifférenciées au niveau de multiples organes dont le système nerveux central.

### Complexe SWI/SNF et contrôle de la prolifération cellulaire

Plusieurs auteurs ont étudié l'influence de l'expression de BRG1 ou hBRM sur la prolifération cellulaire. Le niveau d'expression de la protéine hBRM est élevé dans des cellules NIH3T3 quiescentes et diminue après stimulation mitogénique. Il est également faible voire nul dans des cellules transformées par des oncogènes tels que ras, raf et Moyen T de Polyome. Dans ces cellules, l'expression forcée de la protéine hBRM conduit à une réversion partielle du phénotype transformé [17]. De même, une expression ectopique de BRG1 est susceptible d'inhiber la prolifération cellulaire de lignées déficientes pour cette protéine. Par ailleurs, les souris invalidées pour

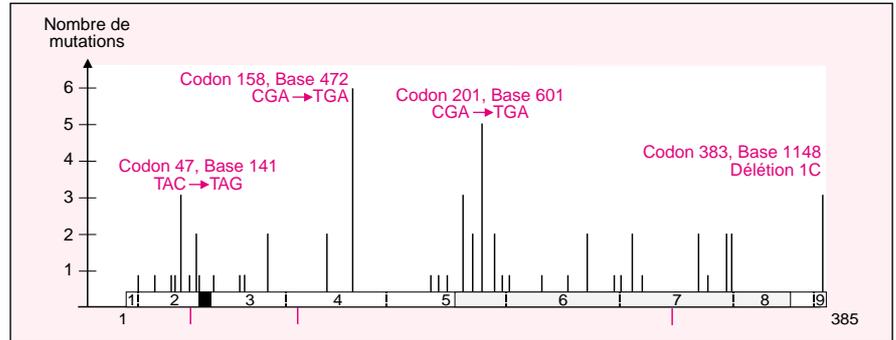


Figure 1. Répartition des mutations ponctuelles sur la séquence codante de *hSNF5/INI1*. Les chiffres contenus dans le diagramme de la séquence correspondent aux exons de *hSNF5/INI1*. Le rectangle noir correspond à une partie de l'exon 2, présente ou absente dans la protéine, suivant l'utilisation d'un site donneur d'épissage cryptique présent dans l'exon 2. La partie grisée correspond au domaine d'homologie SNF5. Les mutations inactivatrices sont indiquées sous forme de traits noirs au-dessus de la séquence codante, dont la longueur dépend du nombre de mutations observées à cette position. Les 4 mutations inactivatrices les plus fréquentes sont indiquées. Les 3 mutations faux-sens sont reportées (traits rouges) sous la séquence codante.

*mBrm* ont une taille et un poids augmentés, leurs cellules présentent un index mitotique élevé et les fibroblastes mutants sont déficients dans leur capacité à s'arrêter en phase G0/G1 [18].

Des données récentes suggèrent que la régulation de la prolifération cellulaire exercée par les complexes SWI/SNF fait intervenir d'une part la cycline E et d'autre part le complexe transcriptionnel composé de la protéine du rétinoblastome (Rb) et du facteur de transcription E2F, deux régulateurs essentiels de l'entrée en phase S. La cycline E s'accumule en fin de phase G1 du cycle cellulaire et se complexe à la kinase *cdk2* (*cyclin dependent kinase*). L'activité des com-

plexes cycline E-*cdk2* est nécessaire à l'entrée en phase S; cependant, les médiateurs de cet effet, hormis la phosphorylation de Rb sur certains sites spécifiques, sont encore largement inconnus. Plusieurs membres des complexes hSWI/SNF, dont BAF155, BRG1, hBRM et *hSNF5/INI1* ont été détectés au sein de complexes contenant la cycline E [19]. L'association de SWI/SNF à la cycline E présente une signification fonctionnelle puisqu'il a été observé que l'expression forcée de la cycline E pouvait entraîner la réversibilité du phénotype d'arrêt de croissance induit par la sur-expression de BRG1. Il est vraisemblable que le complexe cycline E-*cdk2* module, par phospho-

	Tumeurs extracérébrales	Tumeurs cérébrales	Total
Délétion homozygote	35 (51,4%)	5 (12,8%)	40 (37,4%)
Mutation ponctuelle	33 (48,6%)	34 (87,2%)	67 (62,6%)
Total	68 (63,5%)	39 (36,5%)	107

rylation de certaines sous-unités, l'activité transcriptionnelle de SWI/SNF. Récemment, la phosphorylation de SWI/SNF, par des kinases qui n'ont pas encore été identifiées, a été associée à son inactivation au cours de la mitose [20]. Ces observations suggèrent l'existence d'une régulation positive et négative de l'activité des complexes hSWI/SNF par phosphorylation au cours du cycle cellulaire.

Le facteur de transcription E2F contrôle l'expression de nombreux gènes nécessaires au déroulement de la phase S [21]. Il est contrôlé négativement par Rb, la protéine du rétinoblastome. En utilisant un phénotype de sur-expression de E2F au niveau de l'œil de drosophile, un criblage génétique a identifié des mutations activatrices de ce phénotype au niveau de gènes codant pour les protéines Brahma, Moira et Osa, membres des complexes SWI/SNF de drosophile [22]. Plus directement, hBRM ou BRG1 interagissent

physiquement avec les membres de la famille Rb et coopèrent avec ces protéines pour réprimer l'activité de E2F [23-26]. Cet effet est dépendant d'une part de leur interaction avec Rb et d'autre part de l'intégrité du domaine ATPase de hBRM et BRG1. Très récemment, un complexe répresseur a été identifié, qui associe Rb, BRG1 et l'histone désacétylase HDAC1, les interactions Rb-BRG1 et Rb-HDAC1 s'effectuant par l'intermédiaire de deux domaines distincts de Rb. Ce complexe est responsable, *via* son association avec E2F, de l'inhibition de la transcription des gènes codant la cycline E et la cycline A au cours des phases G0 et G1 du cycle cellulaire [26]. L'activation séquentielle des gènes des cyclines E et A lors de l'entrée en phase S reposerait sur l'existence de complexes répresseurs légèrement différents au niveau des promoteurs de ces deux gènes (figure 2). Ainsi, dans un premier temps, la phosphorylation de Rb par le complexe cycline D/cdk4

libérerait HDAC1, levant la répression transcriptionnelle exercée sur E2F au niveau du promoteur de la cycline E et permettant ainsi l'expression de cette protéine. Les complexes Rb-hSWI/SNF restants, associés à E2F mais sans HDAC1, suffiraient à maintenir la répression de la cycline A. Dans un second temps, l'activité accrue du complexe cycline E/cdk2, liée à l'augmentation de la quantité de cycline E disponible dans la cellule, aboutirait à une nouvelle vague de phosphorylation de Rb déstabilisant le complexe Rb-hSWI/SNF, levant ainsi la répression transcriptionnelle au niveau des sites E2F du promoteur de la cycline A, la synthèse de cette dernière permettant la poursuite du cycle (figure 2).

En conclusion, SWI/SNF participe à deux complexes apparemment indépendants mais essentiels à la régulation du cycle cellulaire, l'un contenant Rb et l'autre la cycline E. Lors de la phase G0/G1, SWI/SNF joue, avec Rb, un rôle de co-répresseur transcriptionnel des gènes nécessaires à la synthèse d'ADN; par son association avec la cycline E, il interviendrait également, suivant un mécanisme encore inconnu, dans l'induction et le déroulement de la phase S. Il est très probable que *hSNF5/INI1*, cible de mutations « perte de fonction » dans des tumeurs de l'enfant joue un rôle essentiel à l'activité de ces complexes ■

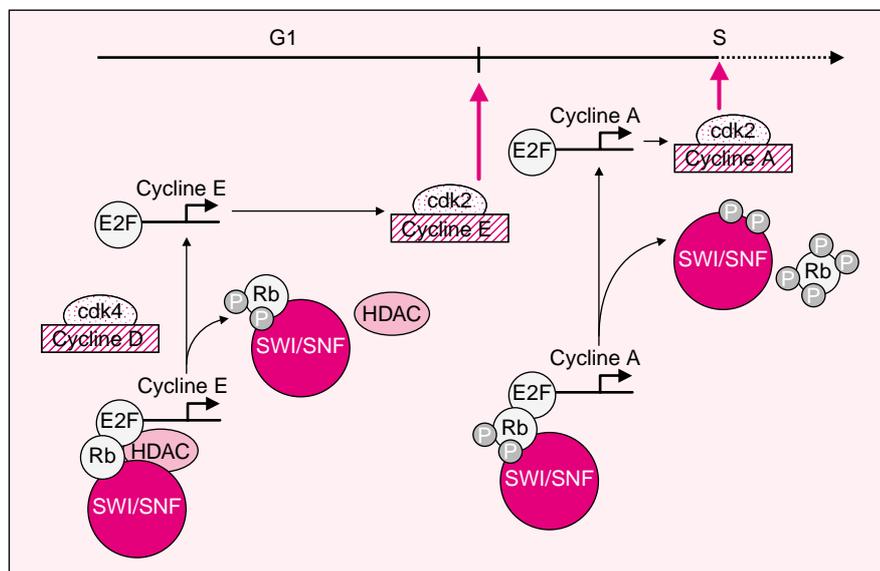


Figure 2. **Modèle d'action des complexes Rb-HDAC-SWI/SNF dans le contrôle du cycle cellulaire.** Le complexe Rb-HDAC-SWI/SNF associé au facteur de transcription E2F réprime la transcription de la cycline E. En phosphorylant partiellement Rb, le complexe cycline D-cdk4 libère HDAC de ce complexe, ce qui lève la répression de l'expression de la cycline E. E2F peut désormais activer la transcription de la cycline E dont la synthèse est nécessaire à l'entrée en phase S. Le complexe Rb-SWI/SNF associé à E2F garde cependant la capacité de réprimer l'expression de la cycline A. Une deuxième vague de phosphorylation de Rb est induite par le complexe cycline E-cdk2. Elle aboutit à la dissociation du complexe Rb-SWI/SNF et lève ainsi la répression transcriptionnelle sur la cycline A (d'après [26]).

## RÉFÉRENCES

1. Kadonaga JT, Grunstein M. Chromosomes and expression mechanisms; Chromatin: the packaging is the message. *Curr Opin Genet Dev* 1999; 9: 129-31.
2. Workman JL, Kingston RE. Alteration of nucleosome structure as a mechanism of transcriptional regulation. *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 545-79.
3. Kornberg RD, Lorch Y. Chromatin-modifying and -remodeling complexes. *Curr Opin Genet Dev* 1999; 9: 148-51.
4. Taddei A, Ray-Gallet D, Almouzni G. Assemblage et remodelage: le nucléosome sous influence. *Med Sci* 2000; 16: 603-10.
5. Sudarsanam P, Winston F. The Swi/Snf family; nucleosome-remodeling complexes and transcriptional regulation. *Trends Genet* 2000; 16: 345-51.

## RÉFÉRENCES

6. Holstege FC, Jennings EG, Wyrick JJ, *et al.* Dissecting the regulatory circuitry of a eukaryotic genome. *Cell* 1998; 95: 717-28.
7. Gebuhr TC, Bultman SJ, Magnuson T. PcG/trx-G and the SWI/SNF connection: developmental gene regulation through chromatin remodeling. *Genesis* 2000; 26: 189-97.
8. Khavari PA, Peterson CL, Tamkun JW, Mendel DB, Crabtree GR. BRG1 contains a conserved domain of the SWI2/SNF2 family necessary for normal mitotic growth and transcription. *Nature* 1993; 366: 170-4.
9. Versteeg I, Sevenet N, Lange J, *et al.* Truncating mutations of hSNF5/INI1 in aggressive paediatric cancer. *Nature* 1998; 394: 203-6.
10. Sevenet N, Lellouch-Tubiana A, Schofield D *et al.* Spectrum of hSNF5/INI1 somatic mutations in human cancer and genotype-phenotype correlations. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 2359-68.
11. Sevenet N, Sheridan E, Amram D, *et al.* Constitutional mutations of the hSNF5/INI1 gene predispose to a variety of cancers. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 1342-8.
12. Biegel JA, Zhou JY, Rorke LB, Stenstrom C, Wainwright LM, Fogelgren B. Germ-line and acquired mutations of INI1 in atypical teratoid and rhabdoid tumors. *Cancer Res* 1999; 59: 74-9.
13. Biegel JA, Fogelgren B, Wainwright LM, Zhou JY, Bevan H, Rorke LB. Germline INI1 mutation in a patient with a central nervous system atypical teratoid tumor and renal rhabdoid tumor. *Genes Chromosomes Cancer* 2000 28: 31-7.
14. Savla J, Chen TT, Schneider NR, Timmons CF, Delattre O, Tomlinson GE. Mutations of the hSNF5/INI1 gene in renal rhabdoid tumors with second primary brain tumors. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 648-50.
15. Taylor MD, Gokgoz N, Andrulis IL, Mainprize TG, Drake JM, Rutka JT. Familial posterior fossa brain tumors of infancy secondary to germline mutation of the hSNF5 gene. *Am J Hum Genet* 2000; 66: 1403-6.
16. Rousseau-Merck M-F, Versteeg I, Legrand I, *et al.* hSNF5/INI1 inactivation is mainly associated with homozygous deletions and mitotic recombinations in rhabdoid tumors. *Cancer Res* 1999; 59: 3152-6.
17. Muchardt C, Bourachot B, Reyes JC, Yaniv M. ras transformation is associated with decreased expression of the brm/SNF2alpha ATPase from the mammalian SWI-SNF complex. *EMBO J* 1998; 17: 223-31.
18. Reyes JC, Barra J, Muchardt C, Camus A, Babinet C, Yaniv M. Altered control of cellular proliferation in the absence of mammalian brahma (SNF2alpha). *EMBO J* 1998; 17: 6979-91.
19. Shanahan F, Seghezzi W, Parry D, Mahony D, Lees E. Cyclin E associates with BAF155 and BRG1, components of the mammalian SWI-SNF complex, and alters the ability of BRG1 to induce growth arrest. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 1460-9.
20. Sif S, Stukenberg PT, Kirschner MW, Kingston RE. Mitotic inactivation of a human SWI/SNF chromatin remodeling complex. *Genes Dev* 1998; 12: 2842-51.
21. Dyson N. The regulation of E2F by pRB-family proteins. *Genes Dev* 1998; 12: 2245-62.
22. Staehling-Hampton K, Ciampa PJ, Brook A, Dyson N. A genetic screen of E2F in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 1999; 153: 275-87.
23. Dunaief JL, Strober BE, Guha S, *et al.* The retinoblastoma protein and BRG1 form a complex and cooperate to induce cell cycle arrest. *Cell* 1994; 79: 119-30.
24. Strober BE, Dunaief JL, Guha, Goff SP. Functional interactions between the hBRM/hBRG1 transcriptional activators and the pRB family of proteins. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 1576-83.
25. Trouche D, Le Chalony C, Muchardt C, Yaniv M, Kouzarides T. RB and hbrm cooperate to repress the activation functions of E2F1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 11268-73.
26. Zhang HS, Gavin M, Dahiya A, *et al.* Exit from G1 and S phase of the cell cycle is regulated by repressor complexes containing HDAC-Rb-hSWI/SNF and Rb-hSWI/SNF. *Cell* 2000; 101: 79-89.

**Nicolas Sévenet**  
**Olivier Delattre**

*Unité de génétique somatique et Inserm U. 509, Institut Curie, 26, rue d'Ulm, 75248 Paris cedex 05, France.*

## TIRÉS À PART

O. Delattre.