

p21^{WAF1/CIP1} : un inhibiteur de l'apoptose

L'apoptose, ou mort cellulaire programmée, joue un rôle essentiel au cours du développement embryonnaire des métazoaires. Elle est aussi indispensable au maintien de l'homéostasie des tissus, à l'élimination des cellules défectueuses et au contrôle de la réponse immunitaire. Une perturbation dans la réalisation du programme apoptotique peut entraîner des pathologies graves, telles que des maladies auto-immunes, des maladies dégénératives ou des cancers. Des protéines dont l'activité est soit pro-apoptotique soit en faveur de la survie cellulaire ont été récemment identifiées, la quantité relative de ces agonistes et de ces antagonistes de la mort cellulaire programmée déterminant le destin de la cellule [1].

La protéine p21^{WAF1/CIP1} appartient à la famille des inhibiteurs des kinases dépendantes des cyclines (CDK) [2] et est indispensable à l'arrêt du cycle cellulaire au point de contrôle G1 en réponse à des lésions de l'ADN [3]. Elle inhibe en effet la progression du cycle cellulaire en se liant, par son domaine amino-terminal, aux complexes cycline-CDK de la phase G1 et, par son domaine carboxy-terminal, à l'antigène nucléaire PCNA (*proliferating cell nuclear antigen*), bloquant ainsi l'activation de l'ADN polymérase δ [4, 5]. Des études plus récentes ont montré que, parallèlement à cette action antiproliférative, p21^{WAF1/CIP1} exerce aussi une action anti-apoptotique.

Ainsi, dans les cellules cancéreuses comme dans les cellules normales, la réponse cellulaire aux rayons X ou aux agents anticancéreux dépend de l'expression ou de l'absence d'expression de p21^{WAF1/CIP1} : si le gène codant

pour p21^{WAF1/CIP1} est normalement exprimé, on observe un arrêt du cycle cellulaire, tandis qu'après invalidation de ce gène, les cellules entrent en apoptose [6]. L'absence d'expression de p21^{WAF1/CIP1} augmente aussi la sensibilité des cellules à l'apoptose induite par les agents qui désorganisent les microtubules [7]. Cette action anti-apoptotique de p21^{WAF1/CIP1} a été également observée dans des cellules en cours de différenciation, comme les myoblastes ou les cellules de neuroblastomes, dans lesquelles l'absence de p21^{WAF1/CIP1}, secondaire à un traitement par des oligonucléotides antisens, inhibe l'arrêt de la prolifération en phase G1 et induit une apoptose massive [8, 9]. Dans une étude récente faite à partir de cellules de sarcome d'Ewing, nous avons observé que p21^{WAF1/CIP1} s'oppose à l'apoptose induite par le TNF α (*tumor necrosis factor α*) [10]. Dans ces cellules, le TNF α active NF- κ B et induit l'expression de p21^{WAF1/CIP1}. L'inhibition constitutive de NF- κ B, secondaire à sa séquestration dans le cytoplasme (obtenue par l'expression d'un mutant non dégradable de I κ B α), empêche l'induction de p21^{WAF1/CIP1} et augmente l'apoptose induite par le TNF α . Quand l'expression de p21^{WAF1/CIP1} est restituée, on observe, en revanche, une résistance à l'apoptose induite par le TNF α . Ces résultats montrent que p21^{WAF1/CIP1} est un médiateur de l'action anti-apoptotique de NF- κ B et contribue à la résistance de certains types cellulaires à l'apoptose induite par le TNF α .

Les mécanismes de l'action anti-apoptotique de p21^{WAF1/CIP1} ne sont pas encore clairement élucidés mais il semble toutefois que p21^{WAF1/CIP1} puisse interagir directement avec cer-

tains effecteurs de l'apoptose (*figure 1*). En effet, dans des cellules d'hépatome humain, p21^{WAF1/CIP1} se lie par son domaine amino-terminal à la procaspase-3, ce qui en inhibe l'activation et l'apoptose induite par Fas [11]. La procaspase-3 ayant une localisation cytoplasmique, on pouvait supposer que l'action anti-apoptotique de p21^{WAF1/CIP1}, décrite jusqu'alors comme une protéine nucléaire, dépende d'une modification de sa localisation subcellulaire. Cette hypothèse a été confirmée par une étude récente sur des monocytes dont la différenciation, induite par la vitamine D3, s'accompagne d'une localisation cytoplasmique de p21^{WAF1/CIP1} et d'une résistance à l'apoptose [12]. De plus, la surexpression d'une forme tronquée de p21^{WAF1/CIP1}, dépourvue de sa séquence de localisation nucléaire, n'induit pas l'arrêt du cycle cellulaire mais conduit à un phénotype de résistance à l'apoptose. Dans ces cellules, l'action anti-apoptotique de p21^{WAF1/CIP1} serait la conséquence de son association avec la kinase ASK1 (*apoptosis signal-regulating kinase 1*) dont elle inhibe l'activité, ce qui entraîne une inhibition de la cascade des kinases qui activent JNK (*c-jun N-terminal protein kinase*) [12]. Un autre mécanisme impliqué dans l'action anti-apoptotique de p21^{WAF1/CIP1} a été identifié au cours de la différenciation myogénique : dans les cellules C2C12 en cours de différenciation, l'augmentation de l'expression de p21^{WAF1/CIP1} s'accompagne en effet d'une induction de l'expression et de l'activité de la protéine-kinase Akt [13]. La surexpression de Akt sauvegarde ces cellules contre l'apoptose tandis que celle d'une forme dominante négative de Akt

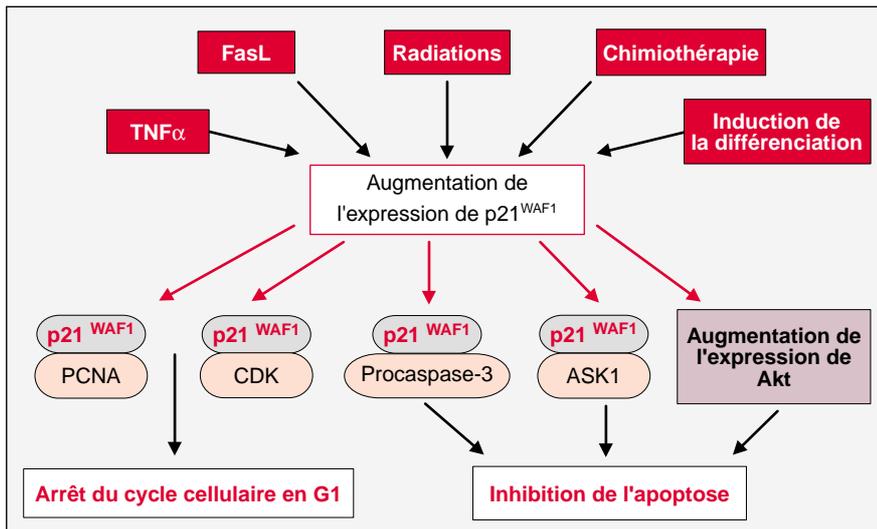


Figure 1. **Mécanismes cellulaires impliqués dans l'action antiproliférative et anti-apoptotique de p21^{WAF1/CIP1}.** L'arrêt du cycle cellulaire en G1 est secondaire à la liaison de p21^{WAF1/CIP1} à l'antigène nucléaire PCNA (proliferating cell nuclear antigen) et aux complexes cycline-CDK (cyclin dependent kinase). p21^{WAF1/CIP1} peut aussi interagir avec la procaspase 3 et ASK1 (apoptosis signal-regulating kinase 1) ou augmenter l'expression de Akt, ce qui induit une inhibition de l'apoptose.

augmente la fréquence de la mort cellulaire. De plus, la suppression de p21^{WAF1/CIP1} empêche le retrait du cycle cellulaire, bloque l'induction de Akt et augmente l'apoptose des cellules. Ainsi, durant la myogenèse, la survie des myocytes paraît contrôlée par p21^{WAF1/CIP1} via l'induction de l'expression de Akt.

En conclusion, l'identification du rôle anti-apoptotique de p21^{WAF1/CIP1} ouvre de nouvelles perspectives dans la compréhension des mécanismes de l'apoptose. Puisque cette action s'exerce aussi sur des cellules irradiées ou traitées par des agents utilisés en chimiothérapie, on peut penser que des molécules inhibant l'expression ou l'activité de p21^{WAF1/CIP1} puissent constituer de nouveaux outils thérapeutiques en tant qu'adjuvants des thérapies classiques. Les résultats d'une étude *in vivo* sur des souris *nude*, porteuses de tumeurs développées à partir de cellules humaines de cancer du côlon, sont en faveur de cette possibilité.

Quand ces tumeurs sont développées à partir de cellules dont le gène codant pour p21^{WAF1/CIP1} a été invalidé, le traitement par les rayons γ permet leur éradication par apoptose. En revanche, quand p21^{WAF1/CIP1} est normalement exprimé, on observe seulement un arrêt réversible du cycle cellulaire en phase G1 [14].

**Delphine Javelaud
Françoise Besançon**

Inserm U. 365, Institut Curie, 26, rue d'Ulm, 75231, Paris, France.

RÉFÉRENCES

1. Jäättelä M. Escaping cell death: survival proteins in cancer. *Exp Cell Res* 1999; 248: 30-43.
2. Borgne A, Meijer L. Inhibiteurs chimiques des kinases dépendantes des

cyclines: recherche et applications thérapeutiques potentielles. *Med Sci* 1999; 15: 496-503.

3. Deng C, Zhang P, Harper JW, Elledge SJ, Leder P. Mice lacking p21^{WAF1/CIP1} undergo normal development, but are defective in G1 checkpoint control. *Cell* 1995; 82: 675-84.

4. Chen J, Jackson PK, Kirschner MW, Dutta A. Separate domains of p21^{WAF1/CIP1} involved in the inhibition of Cdk kinase and PCNA. *Nature* 1995; 374: 386-8.

5. Cayrol C, Ducommun B. Interaction entre l'inhibiteur des kinases dépendantes des cyclines p21 et le PCNA: un lien entre un cycle cellulaire, la réplication et la réparation de l'ADN. *Med Sci* 1997; 13: 1259-65.

6. Waldman T, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Uncoupling of S phase and mitosis induced by anticancer agents in cells lacking p21. *Nature* 1996; 381: 713-6.

7. Stewart ZA, Mays D, Pientenpol JA. Defective G1-S cell cycle checkpoint function sensitizes cells to microtubule inhibitor-induced apoptosis. *Cancer Res* 1999; 59: 3831-7.

8. Wang J, Walsh K. Resistance to apoptosis conferred by Cdk inhibitors during myocyte differentiation. *Science* 1996; 273: 359-61.

9. Poluha W, Poluha DK, Chang B, et al. The cyclin-dependent kinase inhibitor p21^{WAF1} is required for survival of differentiating neuroblastoma cells. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 1335-41.

10. Javelaud D, Wietzerbin J, Delattre O, Besançon F. Induction of p21^{WAF1/CIP1} by TNF α requires NF- κ B activity and inhibits apoptosis in Ewing tumor cells. *Oncogene* 2000; 19: 61-8.

11. Suzuki A, Tsutomi Y, Akahane K, Araki T, Miura M. Resistance to Fas-mediated apoptosis: activation of caspase 3 is regulated by cell cycle regulator p21^{Waf-1} and IAP gene family ILP. *Oncogene* 1998; 17: 931-9.

12. Asada M, Yamada T, Ichijo H, et al. Apoptosis inhibitory activity of cytoplasmic p21^{Cip1/Waf1} in monocytic differentiation. *EMBO J* 1999; 18: 1223-34.

13. Fujio Y, Guo K, Mano T, Mitsuuchi Y, Testa JR, Walsh K. Cell cycle withdrawal promotes myogenic induction of Akt, a positive modulator of myocyte survival. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 5073-82.

14. Waldman T, Zhang Y, Dillehay L, et al. Cell-cycle arrest versus cell death in cancer therapy. *Nat Med* 1997; 3: 1034-6.