

La protéine p53 : de la biologie moléculaire à la clinique

La protéine cellulaire p53 est une phosphoprotéine présente chez les vertébrés. Elle est très certainement impliquée dans la régulation du cycle cellulaire. *In vivo*, la p53 est capable de s'associer à diverses protéines virales et cellulaires. Longtemps considéré comme un oncogène, le gène de la p53 semble être en fait un « anti-oncogène » lorsqu'il n'est pas muté. Il est capable d'inhiber la transformation cellulaire provoquée par des oncogènes authentiques tels *ras* et *E1A*. En revanche, des formes mutées de p53 semblent intervenir dans la genèse et/ou la progression tumorales. En clinique humaine, les anomalies du gène de la p53 sont très fréquentes dans de nombreux cancers, notamment des adénocarcinomes coliques, des cancers du poumon et des ostéosarcomes.

Claude Caron
de Fromentel
Thierry Soussi
Pierre May

ADRESSE

C. Caron de Fromentel : chargée de recherche à l'Inserm. P. May : directeur de recherche au Cnrs. T. Soussi* : maître de conférences à l'université Pierre et Marie Curie. Laboratoire d'oncologie moléculaire, Institut de recherches scientifiques sur le cancer, BP 8, 94800 Villejuif, France.

* Adresse actuelle : Laboratoire de génétique moléculaire, École normale supérieure, 46, rue d'Ulm, 75230 Paris Cedex 05, France.

La protéine p53, une nouvelle venue dans le monde de la cancérologie ? Pas tout à fait, car il y a déjà dix ans que cette protéine cellulaire a été découverte. Elle a tout d'abord été identifiée dans les cellules transformées par le virus simien 40 (SV40), car l'antigène T de ce virus est capable de fixer et de stabiliser la p53 *in vivo*. Peu après, une observation analogue a été décrite dans les cellules transformées par l'adénovirus de type 5. Dans ces cellules, c'est la protéine E1B de 58 kilodaltons (kDa) du virus qui fixe la p53. Cette interaction avec des antigènes viraux est une des explications de l'augmentation importante du taux intracellulaire de p53 dans les cellules transformées par ces virus, augmentation due à la stabilisation de la protéine (sa demi-vie peut y atteindre 24 heures au lieu de 20 minutes environ dans une cellule

non transformée). La p53 peut être surexprimée sans être nécessairement associée à des oncogènes viraux. Elle est effectivement présente sous forme stable dans un certain nombre de cellules transformées par d'autres agents tels que les ultraviolets, le méthylcholanthrène, etc. et dans des cellules dérivées de tumeurs [1].

L'autre caractéristique de la p53 réside dans son aptitude à induire la production d'anticorps dirigés contre elle chez des animaux porteurs de tumeur [2]. Grâce à cette particularité, il a été possible de disposer rapidement d'anticorps monoclonaux. En effet, deux équipes qui cherchaient à obtenir des anticorps monoclonaux dirigés contre l'antigène T du virus SV40 ont produit des hybridomes à partir de souris porteuses de tumeurs induites par le virus. Parmi les hybridomes isolés, quelques-uns synthétisaient des anticorps dirigés contre la p53. Ces anticorps, obtenus donc de façon fortuite, ont été de précieux

Tableau I
PRÉSENCE D'ANTICORPS DIRIGÉS CONTRE LA p53
DANS LE SÉRUM DE MALADES
ATTEINTS DE DIFFÉRENTS TYPES DE CANCER

Sujets testés	Total	Présence d'anticorps dirigés contre la p53
Enfants atteints de différents types de cancer	119	14
Comprenant entre autres :		
lymphomes B	28	6
lymphomes non T non B	4	1
lymphomes T	13	0
ostéosarcomes	10	0
rhabdomyosarcomes	8	2
Enfants témoins	88	1
Adultes témoins	75	0
Femmes atteintes d'un cancer du sein	{ 141	{ 14 [1]
	{ 62	{ 5 [3]

Les chiffres entre crochets se rapportent aux références des articles dont sont issues les données.

outils pour étudier la p53. Chez l'homme, 10 % des sérums de malades atteints de différents types de cancer contiennent des anticorps dirigés contre la p53 (Tableau I) [1, 3]. Dans le cas d'enfants atteints de lymphome B, ce pourcentage est de 20 % [3].

p53 et cycle cellulaire

Peu de temps après sa découverte est apparue la notion que la p53 interviendrait dans la régulation du cycle cellulaire. Cette notion était fondée sur plusieurs constatations. Premièrement, la p53 possède certaines propriétés caractéristiques d'une protéine régulatrice du cycle cellulaire à savoir : (1) le produit du gène est de courte demi-vie dans les cellules normales ; (2) la protéine est phosphorylée *in vivo* ; (3) sa localisation est nucléaire ; (4) elle possède la propriété de se fixer *in vitro* sur l'ADN double brin. Deuxièmement, la p53 est présente dans les cellules prolifératives à des taux intracellulaires plus importants que dans les cellules en arrêt de croissance. Ce taux augmente dès les premières heures qui suivent la stimulation de cellules

quiescentes par addition de facteurs de croissance. Enfin, la micro-injection d'anticorps monoclonaux dirigés contre la p53 dans le noyau des cellules quiescentes avant l'addition des facteurs de croissance bloque la reprise du cycle cellulaire [4]. Des résultats similaires ont été obtenus en introduisant des ARN complémentaires de l'ARNm p53 (ARN anti-sens) dans les cellules, par l'intermédiaire de vecteurs d'expression. Ces ARN anti-sens sont également capables de bloquer le cycle cellulaire de cellules en croissance active [5].

Par ailleurs, de récentes études rendent compte de l'association de la p53 avec une protéine de 35 000 daltons [6], correspondant très certainement à l'équivalent de la protéine de levure p34^{cdc2}. p34^{cdc2} est une protéine kinase, présente chez *Schizosaccharomyces pombe* et qui joue un rôle essentiel dans le contrôle du cycle cellulaire de cette levure, étant donné qu'elle intervient à la fin des phases G1 (qui précède la phase S) et G2 (qui précède la phase M)*. Une protéine homologue de p34^{cdc2} vient d'être mise en évidence chez l'homme. Elle possède également une activité protéine kinase et elle est

capable de compléter des mutants de levure défectifs pour *cdc2* [7]. L'association d'une telle protéine avec la p53 renforce l'idée que celle-ci est impliquée dans la régulation de la prolifération cellulaire.

La p53 est ubiquitaire. Elle est présente dans tous les tissus normaux étudiés, mais à un taux intracellulaire très faible. Aucune activité enzymatique n'a pu jusqu'à présent lui être attribuée directement. Sa principale caractéristique réside dans son aptitude à former des complexes spécifiques avec des protéines virales (antigène T de SV40, protéine E1B-58kDa de l'adénovirus) et cellulaires (p34^{cdc2}, hsp70 dans le cas de la p53 mutée et elle-même, puisqu'elle est présente sous forme oligomérique dans la cellule).

Étude moléculaire et conservation de la p53

L'itinéraire des études moléculaires entreprises par les différentes équipes s'intéressant à la p53 s'est en quelque sorte effectué en sens inverse de celui emprunté pour un grand nombre de gènes impliqués dans la transformation cellulaire. En effet, pour la p53, c'est la protéine qui a tout d'abord été caractérisée. Le gène correspondant n'a été isolé que plusieurs années après. Ce laps de temps important a plusieurs causes. D'une part, aucun rétrovirus recombinant portant le gène de la p53 n'a été isolé, nous privant ainsi d'une sonde virale pour rechercher l'équivalent cellulaire. D'autre part, à cette époque (au début des années 1980), les chercheurs n'avaient pas encore à leur disposition toutes les techniques de clonage qu'offre la biologie moléculaire aujourd'hui. En particulier, les vecteurs d'expression permettant d'isoler un clone moléculaire par l'intermédiaire d'anticorps n'existaient pas encore. Néanmoins, c'est grâce aux anticorps monoclonaux reconnaissant la p53 murine que le premier ADNc codant pour cette protéine a été isolé : lors de la traduction des ARN messagers, la pro-

* Voir éditorial de Marcel Dorée et article de Christian Le Peuch, *m/s* n° 1, vol. 6, p. 8 et 10.

RÉFÉRENCES

1. Crawford LV. The 53,000-dalton cellular protein and its role in transformation. *Int Rev Exp Path* 1983 ; 25 : 1-50.
2. Kress M, May E, Cassingena R, May P. Simian virus 40-transformed cells express new species of proteins precipitable by anti-simian virus 40 tumor serum. *J Virol* 1979 ; 31 : 472-83.
3. Caron de Fromental C, May-Levin F, Mouriesse H, Lemerle J, Chandrasekaran K, May P. Presence of circulating antibodies against the cellular protein p53 in a notable proportion of children with B cell lymphoma. *Int J Cancer* 1987 ; 39 : 185-9.
4. Mercer WE, Nelson D, De Leo AB, Old J, Baserga R. Microinjection of monoclonal antibody to protein p53 inhibits serum-induced DNA synthesis in 3T3 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982 ; 79 : 6309-12.
5. Shohat O, Greenberg M, Reisman D, Oren M, Rotter V. Inhibition of cell growth mediated by plasmids encoding p53 anti-sense. *Oncogene* 1987 ; 1 : 277-83.
6. Milner J, Gamble J, Cook A. p53 is associated with a 35kD protein in cells transformed by simian virus 40. *Oncogene* 1989 ; 4 : 665-8.
7. Lee M, Nurse P. Cell cycle control genes in fission yeast and mammalian cells. *Tig* 1988 ; 4 : 287-90.
8. Oren M. The p53 cellular tumor antigen : gene structure, expression and protein properties. *Biochem Biophys Acta* 1985 ; 823 : 67-78.
9. Soussi T, Bègue A, Kress M, Stehelin D, May P. Nucleotide sequence of a cDNA encoding the chicken p53 nuclear oncoprotein. *Nucleic Acids Res* 1988 ; 16 : 11383.
10. Soussi T, Caron de Fromental C, Méchali M, May P, Kress M. Cloning and characterization of a cDNA from *Xenopus laevis* coding for a protein homologous to human and murine p53. *Oncogene* 1987 ; 1 : 71-8.
11. Jenkins JR, Chumakov P, Addison C, Stürzbecher HW, Wade-Evans A. Two distinct regions of the murine p53 primary amino acid sequence are implicated in stable complex formation with simian virus 40 T antigen. *J Virol* 1988 ; 62 : 3902-6.
12. Soussi T, Caron de Fromental C, Stürzbecher HW, Ullrich S, Jenkins JR, May P. Evolutionary conservation of the biochemical properties of p53 : specific interaction of *Xenopus laevis* p53 with simian virus 40 large T antigen and mammalian heat shock proteins 70. *J Virol* 1989 ; 63 : 3894-901.
13. Finlay CA, Hinds PW, Tan TH, Elyahu D, Oren M, Levine AJ. Activating mutations for transformation by p53 produce a gene product that forms an hsp70-p53 complex with an altered half-life. *Mol Cell Biol* 1988 ; 8 : 531-9.
14. Hinds P, Finlay C, Levine AJ. Mutation is required to activate the p53 gene for cooperation with the *ras* oncogene and transformation. *J Virol* 1989 ; 63 : 739-46.

téine est synthétisée au fur et à mesure de l'avancée du ribosome sur les ARNm. Messenger et protéine néosynthétisée sont donc étroitement liés durant cette étape. Il est de ce fait possible d'isoler un ARNm en cours de traduction par l'intermédiaire d'un anticorps spécifique de la protéine correspondante. Cet ARNm peut alors être converti en ADNc et cloné. L'ADNc de la p53 murine, ainsi obtenu, a ensuite été séquencé. L'analyse de la séquence en acides aminés n'a pas permis de déduire une quelconque activité de la protéine (protéine kinase, facteur de croissance, etc.). Grâce à leur homologie, l'ADNc murin a pu servir de sonde pour isoler l'ADNc humain [8].

L'idée que des protéines impliquées dans les fonctions essentielles de la vie de la cellule sont certainement conservées au cours de l'évolution des espèces a conduit à rechercher la p53 dans des espèces éloignées des mammifères. Elle est effectivement présente chez les oiseaux (poulet), les amphibiens (xénope) et les poissons (truite), mais son apparition semble n'être survenue que chez les vertébrés, car il n'a pas été possible de la mettre en évidence dans des espèces telles que les échinodermes (oursin), les insectes (*Drosophila*) ou les levures (*Saccharomyces cerevisiae*) [9, 10]. La présence de la p53 chez ces vertébrés a mis à la disposition des chercheurs de nouvelles voies d'approche pour l'étude de cette protéine. Par exemple, l'étude de l'expression de la p53 dans un système prolifératif comme l'embryon de xénope peut fournir des renseignements très précieux sur son rôle dans le cycle cellulaire. Les premiers résultats montrent que le messenger p53 est un ARN maternel, c'est-à-dire un ARN très stable (demi-vie de cinq mois environ, au lieu d'une heure dans une cellule normale en culture) et accumulé en très grande quantité dans l'ovocyte (à peu près 200 fois plus que dans une cellule transformée surexprimant la p53). Les huit premières heures de l'embryogenèse du xénope se caractérisent par une prolifération intense, pendant laquelle aucun ARNm n'est synthétisé. Ce sont donc les messagers accumulés dans l'ovocyte qui sont utilisés. Les protéines correspondant à ces ARN

maternels étant considérées comme des protéines essentielles au métabolisme de la cellule, les résultats obtenus pour la p53 renforcent l'hypothèse de son implication dans la régulation de la prolifération cellulaire. La découverte de la p53 chez des organismes éloignés des mammifères a également été déterminante pour la compréhension de l'organisation de la protéine. Elle a permis de mettre en évidence des domaines hautement conservés chez toutes les espèces étudiées. Cette observation est importante, car il est logique de supposer qu'une région est d'autant plus conservée qu'elle tient une place essentielle dans la fonction de la protéine. Les domaines hautement conservés présents chez la p53 sont au nombre de cinq. Ils sont principalement localisés dans la partie centrale de la molécule ([10] et *figure 1*). Leur conservation a pu être mise en parallèle avec la conservation de certaines propriétés de la p53 et plus particulièrement de son association avec l'antigène T de SV40. Les deux régions de fixation de l'antigène T de SV40 sur la p53 murine comprennent le domaine III (11 acides aminés) pour la première et les domaines IV et V (respectivement 23 et 17 acides aminés) pour la seconde [11]. Or, la p53 de xénope (*in vivo* et *in vitro*) et la p53 de truite (au moins *in vitro*) sont capables de former des complexes stables avec l'antigène T [12]. Le virus SV40 n'étant pas un hôte naturel du xénope et de la truite, la conservation de l'association de la p53 avec cet antigène viral est probablement le reflet d'une interaction avec une protéine cellulaire, protéine elle-même conservée au cours de l'évolution et qui serait en quelque sorte un « équivalent de l'antigène T », en ce qui concerne l'association avec la p53. Si une telle protéine existe, les complexes qu'elle forme avec la p53 jouent certainement un rôle important dans la cellule.

Les nombreuses analogies existant entre les p53 des différentes espèces, que ce soit au niveau de la structure ou des propriétés, sont résumées sur la *figure 1*. Cette représentation schématique permet de faire ressortir les régions importantes de la protéine et de les superposer avec les régions cibles des réarrangements observés

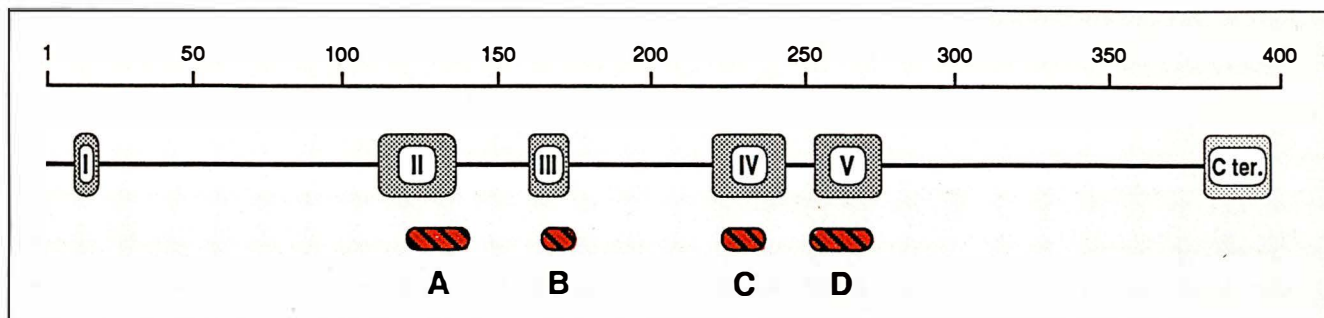


Figure 1. **Représentation schématique de la protéine p53.** Les régions conservées (domaines I à V et partie carboxyterminale) sont représentées à leur position théorique sur la molécule. Les zones rouges hachurées (A, B, C, D) placées sous les domaines II à V schématisent les régions préférentiellement affectées par des mutations ponctuelles ou des micro-réarrangements ("hot-spots") dans les cellules tumorales murines et humaines.

dans les cancers (voir dernier paragraphe).

Oncogène ou anti-oncogène ?

La p53 est-elle le produit d'un oncogène ou d'un anti-oncogène ? C'est une question que l'on se pose depuis quelque temps déjà. Les expériences d'immortalisation de cellules par la p53 et de coopération entre cette protéine et l'oncogène *Ha-ras* activé, aboutissant à l'obtention de foyers transformés, ont longtemps incité à classer le gène de la p53 dans le groupe des oncogènes nucléaires [8]. Puis, l'on s'est aperçu que toutes les p53 utilisées dans ces tests portaient une ou plusieurs mutations, localisées dans la partie centrale de la protéine* et que ces mutations étaient indispensables à l'acquisition par la p53 du pouvoir de coopérer avec *ras* activé ou d'immortaliser les cellules [13, 14].

D'après ces observations, le gène de la p53 semblait être un proto-oncogène, activé par mutation ponctuelle. Or, de récents travaux montrent que, non seulement la p53 sauvage (c'est à dire non mutée) est incapable de coopérer avec *ras* activé, mais surtout qu'elle inhibe la coopération entre la p53 muté et cet oncogène [15]. Un effet analogue est observé quand la p53 mutée est remplacée par l'antigène E1A de l'adénovirus. Mais dans ce cas quelques foyers sont tout de même obtenus.

Dans ces foyers, tantôt la p53 n'est pas exprimée, tantôt elle l'est mais sous une forme mutée.

Les mutations affectant la p53, bien que ponctuelles, n'ont pas pour autant un effet mineur sur la protéine. Elles induisent un changement de conformation, détectable par un anticorps monoclonal spécifique de la p53 murine qui reconnaît un épitope dépendant de la conformation. D'autre part, la p53 mutée a perdu la capacité de s'associer avec l'antigène T de SV40, mais elle a acquis en revanche celle de former des complexes avec les protéines de choc thermique hsp70 [15]. Retenons que les mutations qui activent le potentiel transformant de la p53 peuvent toucher un grand nombre de codons différents, contrairement à un proto-oncogène comme *ras*, par exemple, pour lequel il existe un site préférentiel, cible de la mutation activatrice. Ceci suggère que l'une des étapes du développement tumoral passe par l'abrogation de la fonction de la p53 sauvage. D'après ce que l'on vient de voir, cette abrogation pourrait être réalisée en induisant un changement de conformation de la protéine.

L'ensemble de ces résultats vient donc bouleverser l'image que l'on s'était faite de la p53, puisque l'on se trouve maintenant en présence d'une protéine pouvant avoir deux effets oppo-

sés, un effet suppresseur de tumeur (anti-oncogène) lorsqu'elle est non mutée, l'effet inverse lorsqu'elle est mutée et ceci par l'intermédiaire d'un changement de conformation.

Fréquents réarrangements du gène de la p53 dans les cancers

Le modèle expérimental qui illustre le mieux ce phénomène est la leucémie murine induite par le virus de Friend (F-MuLV). Dans ce système, le gène de la p53 présent dans les cellules tumorales est la plupart du temps réarrangé. Le réarrangement aboutit à une absence d'expression ou à la synthèse d'une protéine tronquée ou mutée [16]. La mutation touche souvent l'un des domaines conservés [17]. Dans tous les cas étudiés, le deuxième allèle est, soit perdu, soit inactivé par délétion. Dans ce système tumoral, l'inactivation fonctionnelle du gène *p53* paraît avoir conféré un avantage sélectif de croissance aux cellules érythroïdes durant le développement de la leucémie de Friend *in vivo*.

Chez l'homme, plusieurs équipes ont depuis longtemps étudié l'expression de la p53 dans différents cancers ou dans des lignées de cellules tumorales. Cette expression était souvent augmentée, sans que l'on ait pu attribuer une cause précise à ce phénomène, car, hormis le cas de trois ostéosarcomes, aucun réarrangement du gène, visible par la technique de

* L'utilisation de ces p53 mutées a pour origine le fait que les ADNc p53 ont tous été isolés à partir de banques de cellules transformées, dans lesquelles le gène est muté.

RÉFÉRENCES

15. Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ. The p53 proto-oncogene can act as a suppressor of transformation. *Cell* 1989 ; 57 : 1083-93.
16. Mowat M, Cheng A, Kimura N, Bernstein A, Benchimol S. Rearrangements of the cellular p53 gene in erythroleukemic cells transformed by Friend virus. *Nature* 1985 ; 314 : 633-6.
17. Munroe DG, Rovinsky B, Bernstein A, Benchimol S. Loss of a highly conserved domain on p53 as a result of gene deletion during Friend virus-induced erythroleukemia. *Oncogene* 1988 ; 2 : 621-4.
18. Baker SJ, Fearon ER, Nigro JM, et al. Chromosome 17 and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science* 1989 ; 244 : 217-21.
19. Wolf D, Rotter V. Modification of p53 gene expression by integration of a foreign DNA element. *Cancer Cells 2. Oncogenes and viral genes*. Cold Spring Harbor Laboratory. New York : Cold Spring Harbor, 1984 : 403-9.
20. Masuda H, Miller C, Koeffler HP, Battifora H, Cline MJ. Rearrangement of the p53 gene in human osteogenic sarcomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 7716-9.
21. Takahashi T, Nau MM, Chiba I, et al. p53 : a frequent target for genetic abnormalities in lung cancer. *Science* 1989 ; 246 : 491-4.
22. Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. *Nature* 1989 ; 342 : 705-8.
23. Cook A, Milner J. Evidence for allosteric variants of wild-type p53, a tumour suppressor protein. *Br J Cancer* 1990 (sous presse).
24. De Caprio JA, Ludlow JW, Lynch D, et al. The product of the retinoblastoma susceptibility gene has properties of a cell cycle regulatory element. *Cell* 1989 ; 58 : 1085-95.
25. Buchkovich K, Duffy LA, Harlow E. The retinoblastoma protein is phosphorylated during specific phases of the cell cycle. *Cell* 1989 ; 58 : 1096-105.
26. Green MR. When the products of oncogenes and anti-oncogenes meet. *Cell* 1989 ; 56 : 1-3.
27. Dyson N, Howley PM, Munger K, Harlow E. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 1989 ; 243 : 934-6.
28. Knudson AG. Mutation and human cancer. *Adv Cancer Res* 1973 ; 17 : 317-52.
29. Wolf D, Rotter V. Major deletions in the gene encoding the p53 tumor antigen cause lack of p53 expression in HL-60 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985 ; 82 : 790-4.
30. Romano JW, Ehrhart JC, Duthu A, Kim CM, Appella E, May P. Identification and characterization of a p53 gene mutation in a human osteosarcoma cell line. *Oncogene* 1989 ; 4 : 1483-8.

Southern, n'avait pu être mis en évidence. Ceci s'explique maintenant que l'on sait que le gène de la p53 est très fréquemment réarrangé par mutation ponctuelle. Il a fallu attendre la mise au point de la technique de *polymerase chain reaction* (PCR) pour mettre en évidence ces mutations [18].

Le modèle tumoral humain que l'on peut rapprocher de la leucémie murine de Friend, sur le plan de la modification de l'expression de la p53, est le cancer colorectal. Le développement de cette tumeur s'accompagne très souvent (75 % des cas) d'une délétion partielle du chromosome 17 et plus précisément du bras court de ce chromosome. La région délétée comprend le gène de la p53 (localisé en 17p13). Cette délétion ne porte que sur l'un des allèles. Dans plusieurs tumeurs, le deuxième allèle est exprimé, mais il présente une mutation ponctuelle qui aboutit au changement d'un acide aminé au niveau de la protéine. Cette mutation affecte dans la plupart des cas l'un des cinq domaines conservés au cours de l'évolution. Elle est de toute façon comprise entre les acides aminés 120 et 280 (la p53 humaine est composée de 393 acides aminés) [18].

La région cible des mutations de la p53 humaine est donc similaire à celle de la p53 murine, c'est-à-dire la région centrale de la molécule. Ces mutations activant le pouvoir oncogène de la p53 murine, on peut supposer que la p53 mutée présente dans les cancers colorectaux humains possède elle aussi un pouvoir oncogène. Il est intéressant de noter que le cancer colorectal est l'un des cancers dans lequel le proto-oncogène *ras* est activé. Ce type de tumeur serait peut-être un exemple *in vivo* de la coopération observée *in vitro* entre p53 mutée et *ras* activé, et reportée ci-dessus.

La leucémie murine de Friend et le cancer colorectal humain ne sont pas les seules tumeurs pour lesquelles des réarrangements du gène de la p53 ont été décrits. D'autres tumeurs animales, comme la leucémie murine induite par le virus d'Abelson [19], ou humaines, comme les ostéosarcomes [20], présentent de tels réarrangements. Récemment, plusieurs mutations ponctuelles ont été décri-

tes dans le cas de tumeurs humaines du cerveau, du sein et du poumon [21, 22]. Là encore, les régions touchées sont en général les domaines conservés (*figure 1*).

Les principaux exemples de réarrangements décrits dans la littérature sont résumés dans le *Tableau II*. La première déduction que l'on peut tirer de ce tableau est l'absence d'expression d'une p53 sauvage dans les cellules transformées ou tumorales étudiées. En outre, dans plusieurs cas, la protéine n'est plus du tout synthétisée.

Conclusion

Certaines propriétés de la p53, décrites dans cette revue apparaissent contradictoires, comme l'augmentation du taux de p53 pendant la phase G1 ou l'inhibition de la prolifération par micro-injection d'anticorps dirigés contre la p53 et les effets suppresseurs de tumeur, probablement dus à un effet anti-prolifératif. Pour concilier ces observations, il semble que l'on s'achemine vers l'explication suivante : la p53 non mutée pourrait être présente dans la cellule sous plusieurs formes distinctes (par modification de conformation, phosphorylation, association avec des protéines cellulaires, etc.). Certaines de ces formes auraient un effet positif sur la prolifération cellulaire, alors que d'autres formes auraient un effet antagoniste. Le contrôle de la prolifération serait fonction de l'équilibre entre ces différentes formes [23]. Dans les cellules transformées, la mutation ponctuelle (ou le réarrangement du gène) ne permettrait plus que l'expression de forme(s) ayant un effet positif sur la prolifération. L'existence d'anticorps capables de reconnaître différentes formes conformationnelles de la p53 devrait permettre de tester cette hypothèse.

Il n'en demeure pas moins que les deux notions étroitement liées d'anti-oncogène ou gène suppresseur de tumeur et de gène intervenant dans le contrôle de la prolifération cellulaire, s'appliquent au gène codant pour cette protéine, lorsqu'il est non réarrangé. Il est d'ailleurs possible d'établir un parallèle entre le gène de la p53 et le prototype des anti-oncogènes, le gène de susceptibilité

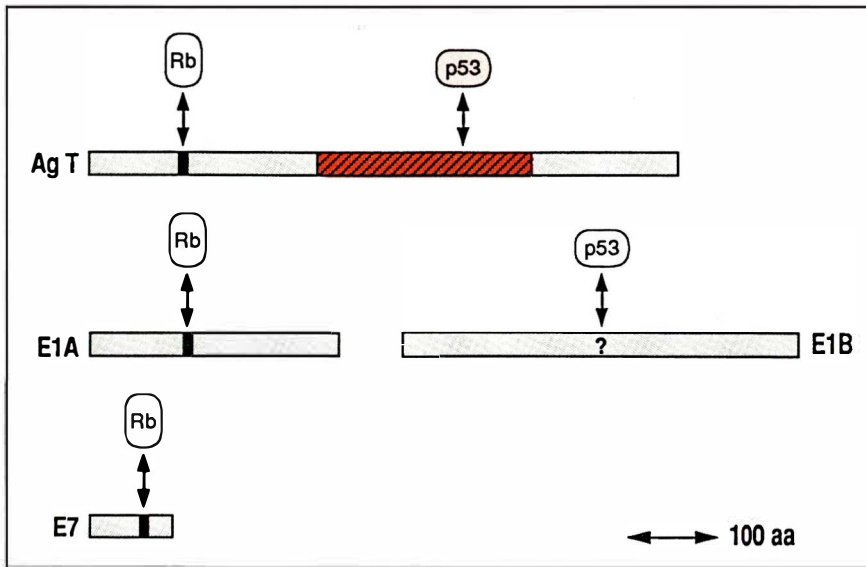


Figure 2. **Schéma des interactions entre p105^{Rb}, p53 et les antigènes viraux.** La région noire représentée sur l'antigène T de SV40, la protéine E1A de l'adénovirus et la protéine E7 du papillomavirus de type 16 correspond à la région de fixation de p105^{Rb} sur ces protéines. Cette région est présente dans les protéines E1A des adénovirus de tous les sérotypes (région 2). Elle intervient, avec la région 1, dans la capacité de E1A d'immortaliser les cellules en culture primaire, de coopérer avec ras dans la transformation et d'induire la synthèse de l'ADN cellulaire. Des oncoprotéines virales telles que l'antigène grand T des virus polyome et BK, des papovavirus lymphotropiques et la protéine myc possèdent cette région. La région de fixation de la p53 sur la protéine E1B-58kDa de l'adénovirus de type 5 est notée par un point d'interrogation, car elle n'a pas encore été caractérisée.

Tableau II
RÉARRANGEMENTS DU GÈNE DE LA p53 DANS LES CELLULES TRANSFORMÉES OU TUMORALES

Événement mutationnel	Cellule concernée	Expression du gène
Intégration d'un rétrovirus	Lignées L12 ou ELM [16, 17,19]	Absence d'expression
Délétion interne	Lignées ELM [16, 17] Lignée HL-60 [29] Carcinome du poumon humain à petites cellules [21]	Absence d'expression ou synthèse de p53 tronquée Absence d'expression Synthèse d'une p53 mutée
Réarrangement dans l'intron I	Ostéosarcomes humains [20]	Absence d'expression ou expression non déterminée
Mutation ponctuelle	Carcinomes colorectaux humains [18, 22] Glioblastomes humains [22] Carcinomes du sein humains [22] Carcinomes du poumon humains [21] Lignées ELM [16, 17] Lignée HOS [30]	Taux d'ARNm p53 plus faible, taux de protéine non déterminé Expression non étudiée Expression non étudiée Expression non étudiée Synthèse d'une p53 stabilisée Synthèse d'une p53 qui se fixe sur les hsp70 et ne fixe plus l'AgT de SV40

Le réarrangement d'un allèle de la p53 s'accompagne souvent de la perte de l'autre allèle.
L12 : lignée de cellules transformées par le virus de la leucémie murine d'Abelson ; ELM : lignées de cellules d'érythroleucémie murine induite par le virus de Friend ; HL-60 : lignée issue d'une leucémie humaine ; HOS : lignée issue d'un ostéosarcome humain.
Les chiffres entre crochets se rapportent aux références des articles dont sont issues les données.

au rétinoblastome (Rb). (1) Les produits de ces gènes (p53 et p105^{Rb}) sont des protéines exprimées dans les cellules non transformées et qui semblent intervenir dans la régulation du cycle cellulaire. p105^{Rb} agirait pendant la phase G1 du cycle. Cette protéine est présente sous deux formes dans la cellule, une forme phosphorylée, détectable pendant les phases S et G2 et une forme non phosphorylée, détectable en G1. Il semble que la forme capable d'influer sur la poursuite ou l'arrêt du cycle soit la forme non phosphorylée. En fonction du taux intracellulaire de celle-ci, la cellule sortirait du cycle (phase G0) ou entamerait une nouvelle division [24, 25]. Les études concernant la régulation et le rôle de la p53 durant le cycle cellulaire n'ont pas encore apporté de renseignements aussi précis. (2) p53 et p105^{Rb} sont phosphorylées *in vivo* et peut-être par l'intermédiaire de la même protéine kinase, p34^{cdc2}. (3) Dans certains types de cancer, l'abolition de leur expression semble être une étape dans l'établissement et/ou la progression de la tumeur. (4) Elles sont toutes deux capables de s'associer avec des antigènes viraux. p105^{Rb} forme des complexes avec l'antigène T de SV40, la protéine E1A de l'adénovirus et la protéine E7 du papillomavirus HPV16 [26,27]*. En revanche, il existe quelques points de divergence entre elles. D'une part, p105^{Rb} se fixe sur des protéines connues pour leur capacité à immortaliser des cellules, alors que la p53 se fixe sur des protéines transformantes (figure 2). L'antigène T de SV40, qui possède les deux propriétés, ne fait pas exception à la règle, puisque p105^{Rb} et la p53 s'associent respectivement avec la région immortalisante et la région transformante de cet antigène (pour en savoir plus sur l'immortalisation et la transformation, voir *m/s* n°2 vol.1, p.86-90). Ceci suggère que p105^{Rb} et la p53 n'agissent pas au même niveau dans le contrôle de la prolifération cellulaire. D'autre part, les réarrangements du gène Rb observés dans les cellules transformées ont en général pour conséquence l'absence d'expression de ce gène, alors que les réarrangements du gène de la p53 peuvent aboutir à la synthèse d'une protéine

mutée ayant acquis un pouvoir oncogène.

Pour l'instant, la liste des anti-oncogènes est des plus restreintes. Les mieux caractérisés à l'heure actuelle sont le gène *Rb* et celui de la p53. Mais si leur découverte est récente, la notion d'anti-oncogène, elle, est assez ancienne [28]. Il est en effet apparu assez tôt qu'une cellule pouvait évoluer vers un état transformé après avoir perdu un gène agissant de manière négative sur la prolifération cellulaire. Seulement, il est plus facile d'isoler un gène dont le produit a un effet positif sur la transformation cellulaire qu'un gène dont l'expression est inhibée lors de cette transformation. Néanmoins, maintenant que les anti-oncogènes sont devenus une réalité et avec l'amélioration des techniques de détection, il est probable que leur liste va considérablement s'allonger dans un proche avenir, comme s'allonge celle des oncogènes, d'autant que la localisation chromosomique de plusieurs d'entre eux est déjà connue (anti-oncogènes portés par le chromosome 11 et impliqués dans la tumeur de Wilms, par exemple).

La caractérisation de nouvelles protéines ayant les propriétés d'un produit d'anti-oncogènes et leur comparaison avec p105^{Rb} et la p53 devraient permettre de franchir encore un pas vers la compréhension des mécanismes impliqués dans la prolifération cellulaire, la genèse et la progression tumorales. Enfin, maintenant que l'on a découvert et caractérisé des gènes dont le produit est capable de réverser au moins en partie le phénotype transformé, pourquoi ne pas imaginer que la thérapie du cancer passera un jour par la « rééducation » de la cellule tumorale au lieu de son élimination ■

* Voir *m/s* n° 8, vol. 4, p. 520 ; n° 10, vol. 4, p. 606 ; n° 4, vol. 5, p. 259 ; n° 8, vol. 5, p. 598.

Summary

The p53 protein : from molecular biology to clinical investigations

p53 is a phosphoprotein found in a wide spectrum of vertebrate species. p53 expression is implicated in the cell cycle regulation. *In vivo*, this protein is able to form specific complexes with a variety of cellular and viral proteins. p53 gene was first regarded as a nuclear proto-oncogene. However, a great deal of evidence has now accumulated showing that this notion is debatable. In fact, several genotypic forms of p53 have been found : the wild type p53 occurs in the non-transformed cells whereas p53 is generally detected as a mutated form in transformed/tumor cells. In contrast to these mutated forms which display some characteristic features of oncogene product, the p53 wild type has the ability to counteract transformation. In addition, it has been recently shown that the p53 gene is frequently mutated or rearranged in human lung and colorectal carcinomas and in osteosarcomas, resulting in the structural or functional loss of p53. Taken together, the experimental data available suggest that the abrogation of the normal function of p53 is an important step during the development of certain malignant tumors.

TIRÉS À PART

C. Caron de Fromental.