

dégénérescence axonale [6]. Les colorations immunohistochimiques des souris *Irf2^{-/-}*, comparées à des témoins, semblent montrer que la ferritine est transportée de la cellule vers les axones (Figure 1). Elle pourrait être dégradée dans les lysosomes à la partie distale des axones, et dans les terminaisons présynaptiques, libérant du fer ferreux, à moins que les hétéropolymères instables libèrent du fer libre dans l'axone ou dans les synapses.

Ajoutons qu'en pathologie humaine, l'acéruoplasminémie, une maladie récessive rare, due à une mutation dans le gène

codant pour la céruloplasmine, et caractérisée par une neurodégénérescence associée à un diabète et à une rétinopathie, a été expliquée par une interaction entre la céruloplasmine et la ferritine, et que la protéine responsable de la maladie de Friedreich est, elle aussi, impliquée dans le métabolisme du fer (→).

Ainsi, peu à peu, se constitue un faisceau d'arguments en faveur de la relation de cause à effet entre les troubles du transport du fer dans le cerveau et les neurodégénérescences. ♦

Brain iron transport and neurodegeneration

(→) m/s
1999, n°11,
p. 1314

1. Qian ZM, Shen X. Brain iron transport and neurodegeneration. *Trends Mol Med* 2001 ; 7 : 104-8.
2. Zhou B, Westaway SK, Levinson B, et al. A novel pantothenate kinase gene (PANK) is defective in Hallervorden-Spatz syndrome. *Nat Genet* 2001 ; 28 : 345-9.
3. Afshar K, Gonczy P, DiNardo S, Wasserman SA. Fumble encodes a pantothenate kinase homolog required for proper mitosis and meiosis in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 2001 ; 157 : 1267-76.
4. Heafield MT. Plasma cysteine and sulfate levels in patients with motor neuron, Parkinson's and Alzheimer's disease. *Neuroscience* 1990 ; 110 : 216-20.
5. Curtis AR, Fey C, Morris CM, et al. Mutation in the gene encoding ferritin light polypeptide causes dominant adult-onset basal ganglia disease. *Nat Genet* 2001 ; 28 : 350-4.
6. LaVaute T, Smith S, Cooperman S, et al. Targeted deletion of the gene encoding iron regulatory protein-2 causes misregulation of iron metabolism and neurodegenerative disease in mice. *Nat Genet* 2001 ; 27 : 209-14.

NOUVELLE

Cycline E et cancer, une histoire de destruction

Vjekoslav Dulić

CRBM-Cnrs,
1919, route de Mende,
34293 Montpellier, France.

qui assurent l'(in)activation ordonnée des Cdk.

Dans ce contexte, le contrôle des quantités de cyclines est d'une extrême importance et les mécanismes impliqués intriguent un bon nombre de chercheurs depuis une

décennie. Le taux cellulaire en cyclines est déterminé d'une part au niveau transcriptionnel, et d'autre part par leur destruction, qui est sous la dépendance du système ubiquitine/protéasome, un complexe multiprotéique jouant un rôle majeur dans la protéolyse intracellulaire. La dégradation par ce système se produit en deux étapes : (a) le substrat (souvent phosphorylé) est « marqué » par conjugaison covalente de chaînes d'ubiquitine, ce qui permet sa reconnaissance et (b) la dégradation des molécules polyubiquitinylées par le protéasome 26S [1]. La question suivante se pose alors : comment les protéines

Le prix Nobel de médecine 2001 a été décerné à trois biologistes (Leland Hartwell, Paul Nurse et Tim Hunt) (→), dont les travaux de pionniers chez la levure (L.H et P.N.) et les œufs d'invertébrés marins (T.H.) ont permis d'identifier deux molécules qui sont au cœur de la machinerie moléculaire contrôlant la division des cellules eucaryotes. Ce sont la kinase Cdc2 (connue aussi sous le nom de MPF ou *maturation/mitosis-promoting factor*) et son régulateur positif, une cycline, protéine instable dont l'abondance varie

fortement au cours du cycle cellulaire. Aujourd'hui, il est bien établi que des membres de la famille des kinases apparentées à Cdc2, en s'associant avec différentes cyclines (d'où leur nom, *cyclin-dependent kinases* ou Cdk), orchestrent non seulement l'entrée et le déroulement de la mitose, mais aussi le déclenchement et la progression de la synthèse d'ADN (entrée en phase S). Il est donc évident que, pour le bon déroulement de la division cellulaire, l'activité des complexes Cdk-cycline doit être étroitement réglée. C'est pourquoi la cellule dispose d'un réseau impressionnant d'enzymes

(→) m/s
2001, n°11,
p. 1226

destinées à la dégradation sont-elles spécifiquement reconnues et adressées vers cette « machinerie de destruction », et ce à des moments précis ? C'est un sujet de recherche intense. Grâce en particulier aux études réalisées dans la levure *Saccharomyces cerevisiae*, un organisme bien adapté à la manipulation génétique, on connaît bon nombre des composants des complexes (appelés ubiquitine ligases) jouant un rôle dans la reconnaissance du substrat et son adressage vers la destruction. Parmi les ubiquitine ligases [1], SCF joue un rôle essentiel dans le déclenchement de la phase S. SCF est constitué de quatre sous-unités : un

cœur composé de Skp1, Cdc53/Cul1 (Culline) et Rbx1/Roc1, et un membre de la famille des protéines F-box, une sous-unité adaptatrice déterminant la spécificité du substrat (Figure 1). Skp2, une protéine F-box, participe à la dégradation d'un régulateur négatif de la prolifération, p27^{Kip1}, un inhibiteur des Cdk dont la destruction en phase G1 favorise l'entrée en phase S [2] (Figure 1). Pour être reconnu par Skp2, p27^{Kip1} doit d'abord être phosphorylé par le complexe Cdk2-cycline E, élément clé dans le déclenchement de la réplication d'ADN. Parmi les nombreuses cibles de Cdk2-cycline E figure un suppresseur de tumeur, la protéine du rétinoblasto-

me (pRb) qui, dans son état actif (non phosphorylé), bloque l'expression des gènes requis pour la synthèse d'ADN (Figure 1).

La dégradation de la cycline E en phase S est aussi dépendante d'ubiquitinylation et semble cruciale pour le bon déroulement de la réplication car son expression constitutive provoque une instabilité génomique [3]. Dans plusieurs cancers un taux cellulaire faible de p27^{Kip1} a été associé à un mauvais pronostic, et la cycline E est surexprimée dans de nombreuses lignées cancéreuses [4] indiquant que la dégradation ordonnée de ces deux régulateurs doit être strictement contrôlée.

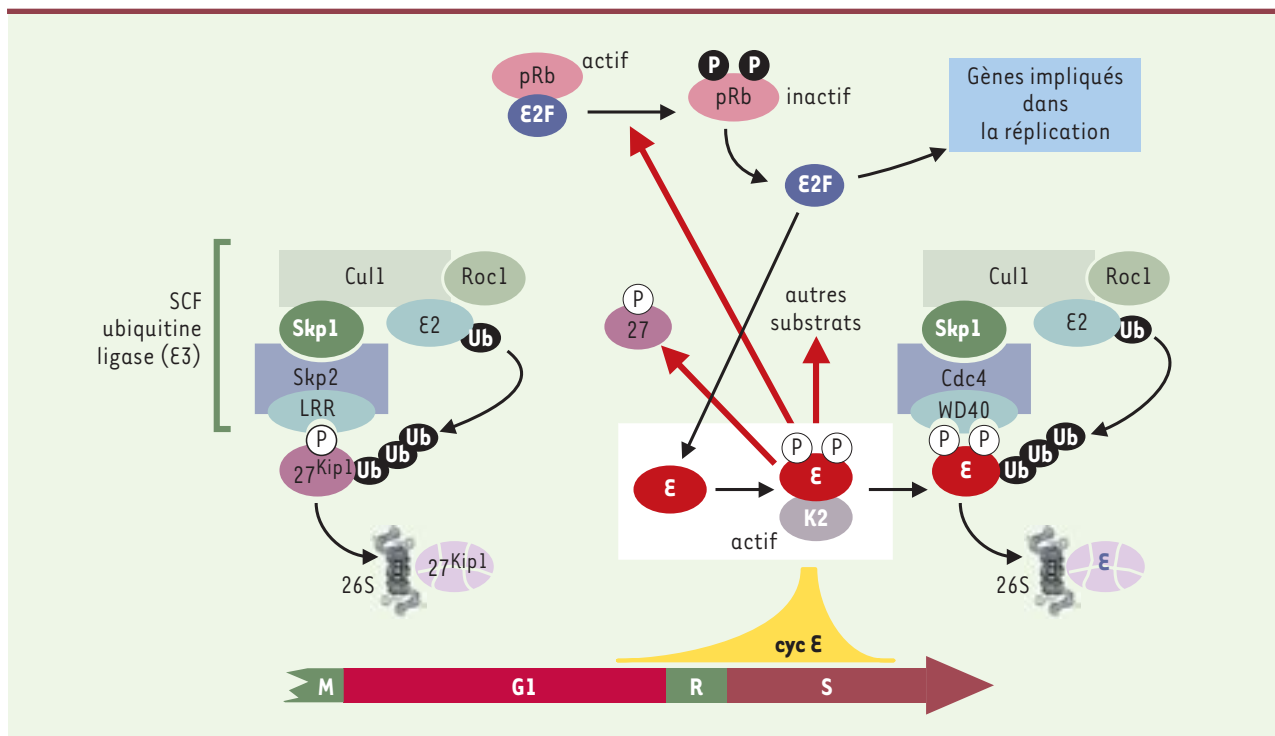


Figure 1. Adressage de la cycline E vers la destruction par une ubiquitine ligase.

Le complexe Cdk2-cycline E est un régulateur positif de la duplication du génome. Il s'accumule dans le noyau en phase G1 et son activité est maximale au début de la phase S (transition G1/S). Ses cibles sont entre autres la protéine du rétinoblastome (pRb), un suppresseur de tumeur et régulateur négatif de la prolifération, et un inhibiteur de Cdk, p27^{Kip1}. Après phosphorylation, pRb est inactivée et libère les facteurs de transcription de la famille E2F qui stimulent l'expression de nombreux gènes (y compris celui de la cycline E) requis pour la réplication. Par ailleurs, p27, une fois phosphorylée, est reconnue par Skp2, une protéine F-box, est ensuite ubiquitinylée par SCF, une ubiquitine ligase (E3), puis rapidement dégradée par le protéasome 26S [1]. En début de phase S, la cycline E est phosphorylée par Cdk2 et adressée à l'ubiquitine ligase en se liant à une autre protéine F box, hCdc4/Fbw7/Ago (Cdc4), découverte récemment par trois laboratoires [5-7]. WD40 et LRR sont des domaines des protéines F-box impliqués dans le recrutement spécifique des substrats de SCF. Dans certaines cellules cancéreuses, des mutations dans le domaine WD40 de Cdc4 empêchent la dégradation de la cycline E, provoquant ainsi sa stabilisation. L'accumulation incontrôlée de la cycline E peut perturber l'équilibre existant entre les niveaux de kinase et des inhibiteurs (tels que p27^{Kip1}), ce qui engendre un dérèglement de la réplication du génome et, par conséquent, de la prolifération cellulaire.

La protéine F-box dirigeant la cycline E vers la voie de destruction vient d'être identifiée par trois laboratoires américains. Bien que certaines indications antérieures suggéraient que Skp2 pouvait être impliquée dans cet adressage, ces chercheurs ont réussi à démontrer que c'est, en fait, la protéine Cdc4/Fbw7/Ago qui joue ce rôle, et que la mutation de cette protéine pourrait être à l'origine d'un développement tumoral [5-7]. Pour y parvenir, deux laboratoires, celui de S.I. Reed (*Scripps Institute*, La Jolla, CA, USA) et celui de S.J. Elledge (*Baylor College*, Houston, TX, USA), ont utilisé comme modèle la levure *S. cerevisiae*, dont les voies de protéolyse sont bien caractérisées. De plus, comme la cycline E humaine peut se substituer dans la levure aux cyclines G1 endogènes [8], on pouvait s'attendre à ce que la levure puisse régler l'expression et l'activité de cette cycline. En étudiant des cellules de levure dont les gènes codant pour les divers composants du complexe SCF ont été mutés, ces chercheurs ont découvert que la cycline E était stabilisée dans les cellules ayant une mutation dans le gène *Cdc4* [5,6]. Ensuite, ils ont pu montrer *in vitro* que son orthologue humain, *hCdc4* [5] ou *Fbw7* [6], en s'associant à la cycline E préalablement phosphorylée (probablement par Cdk2), catalyse son ubiquitinylation et, par conséquent, sa destruction. Des mutations dans le domaine WD40 de *hCdc4/Fbw7* (Figure 1) empêchent son association avec la cycline E phosphorylée, indiquant que ce domaine est nécessaire à la reconnaissance du substrat. Ces résultats ont aussi été validés dans des cellules humaines dans lesquelles la surexpression de *hCdc4* conduit

à une diminution de la demi-vie de la cycline E tandis que la présence d'une forme mutée de cette protéine provoque sa stabilisation.

L'équipe de I.K. Hariharan (*MGH Cancer Center*, Charlestown, USA), qui, elle, recherchait un environnement génétique favorisant la prolifération de cellules de drosophile, observait au même moment que la cycline E était très stabilisée si on mutait le gène *archipelago* (*ago*, un orthologue de *Cdc4*) dans les cellules [7]. Contrairement aux cellules avoisinantes de type sauvage qui se trouvaient en état de quiescence, les cellules mutantes continuaient à proliférer, démontrant ainsi qu'une dégradation inefficace de la cycline E peut stimuler la division cellulaire. Encore plus intéressants sont les résultats montrant que plusieurs lignées d'origine tumorale exprimant des taux élevés de cycline E présentent justement des mutations dans le domaine WD40 de *hCdc4/Fbw7/Ago*. Sachant que l'instabilité du génome provoquée par un dérèglement de la cycline E peut engendrer des changements favorisant la cancérogenèse, il est possible que *hCdc4/Fbw7/Ago* soit un suppresseur de tumeur, en d'autres termes un régulateur négatif de la prolifération. Enfin, il a été montré que l'orthologue de *Cdc4* chez le nématode *Caenorhabditis elegans*, SEL-10, est impliqué dans la dégradation des présénilines (des protéines codées par les gènes dont les mutations sont à l'origine de la maladie d'Alzheimer) [9], ainsi que des oncogènes de la famille Notch [10], jouant un rôle important dans la signalisation cellulaire. Et ce n'est sûrement pas la fin de l'histoire. ♦

Cyclin E and cancer : a trash story

1. Coux O, Piechazyk M. Le système ubiquitine/protéasome : un ensemble (de) complexe(s) pour dégrader les protéines. *Med Sci* 2000 ; 5 : 623-9.
2. Sutterluty H, Chatelain E, Marti A, et al. p45^{SKP2} promotes p27^{Kip1} degradation and induces S phase in quiescent cells. *Nat Cell Biol* 1999 ; 1 : 207-14.
3. Spruck CH, Won KA, Reed SI. Deregulated cyclin E induces chromosome instability. *Nature* 1999 ; 401 : 297-300.
4. Keyomarsi K, Herliczek TW. The role of cyclin E in cell proliferation, development and cancer. *Prog Cell Cycle Res* 1997 ; 3 : 171-91.
5. Strohmaier H, Spruck CH, Kaiser P, Won KA, Sangfelt O, Reed SI. Human F-box protein hCdc4 targets cyclin E for proteolysis and is mutated in a breast cancer cell line. *Nature* 2001 ; 413 : 316-22.
6. Koepp DM, Schaefer LK, Ye X, et al. Phosphorylation-dependent ubiquitination of cyclin E by the SCF Fbw7 ubiquitin ligase. *Science* 2001 ; 294 : 173-7.
7. Moberg KH, Bell DW, Wahrer DC, Haber DA, Hariharan IK. Archipelago regulates cyclin E levels in *Drosophila* and is mutated in human cancer cell lines. *Nature* 2001 ; 413 : 311-6.
8. Lew DJ, Dulic V, Reed SI. Isolation of three novel human cyclins by rescue of G1 cyclin (Cln) function in yeast. *Cell* 1991 ; 66 : 1197-206.
9. Wu G, Hubbard EJ, Kitajewski JK, Greenwald I. Evidence for functional and physical association between *Caenorhabditis elegans* SEL-10, a Cdc4p-related protein, and SEL-12 presenilin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 : 15787-91.
10. Gupta-Rossi N, Le Bail O, Gonen H, et al. Functional interaction between SEL-10, an F-box protein, and the nuclear form of activated Notch1 receptor. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 34371-8.