

La sclérose tubéreuse de Bourneville : défaut de localisation nucléaire de p27

La sclérose tubéreuse de Bourneville (TSC) est une phacomatose, transmise sur le mode autosomique dominant, caractérisée par des angiofibromes de la face, une débilité mentale avec épilepsie, des hamartomes* multiples, et par l'apparition, au cours de la vie, de tumeurs bénignes et/ou malignes (angiomyolipomes du rein, rhabdomyomes du cœur, astrocytomes à cellules géantes, entre autres).

Hamartine et tubérine, même combat

L'hypothèse d'une mutation de gènes suppresseurs de tumeurs pouvait être évoquée devant ce tableau clinique et fut confirmée après la découverte des deux gènes impliqués dans cette maladie : *TSC1*, localisé en 9q34 et codant pour l'hamartine, et *TSC2*, localisé en 16p13.3 et codant pour la tubérine (*m/s* 1994, n° 5, p. 601). Les deux protéines déduites s'associent *in vivo* pour interagir dans la cellule sans avoir pour autant d'analogies de structure (*m/s* 1998, n° 10, p. 1131). La prévalence de la maladie est d'environ 1/27 000 dans la population adulte. Le gène *TSC2* est plus fréquemment impliqué (60 % des cas familiaux). Ses mutations entraînent des retards mentaux plus sévères que celles de *TSC1*. Quant aux nombreuses observations de TSC sporadiques (2/3 des cas), elles sont plus souvent dues à des mutations de *TSC2* (80 %) que de *TSC1* (20 % environ). Des mosaïques

ont été rapportées pour *TSC1* [1] et *TSC2* [2], ce qui explique peut-être l'impossibilité de trouver une mutation dans bon nombre de cas typiques de TSC, et rend difficiles le conseil génétique et le diagnostic prénatal. Comme on pouvait s'y attendre selon la théorie d'un mécanisme en deux étapes de Knudson, une perte d'hétérozygotie de l'un ou l'autre de ces gènes est observée dans certaines tumeurs précitées et dans des hamartomes.

Les secrets du rat Eker

Un modèle animal, le rat Eker (porteur d'une mutation à l'état hétérozygote avec perte de fonction de l'homologue murin du gène *TSC2* humain), a permis de mieux comprendre le rôle de *TSC2* (*m/s* 1995, n° 4, p. 636). Les embryons homozygotes meurent en cours de gestation avec des troubles du développement du système nerveux. Les hétérozygotes présentent des tumeurs rénales et des hamartomes analogues à ceux qui sont observés chez l'homme. En culture, les fibroblastes embryonnaires de rat Eker, dépourvus de *TSC2*, ont un comportement anormal et n'entrent pas en phase de quiescence après sevrage en sérum. Au cours du cycle cellulaire normal, le passage quiescence-phase proliférative s'effectue sous l'influence de kinases dont l'activité est contrôlée positivement par la liaison de cyclines activatrices (d'où leur nom de Cdk, *cycline-dependent kinase*), et négativement par la fixation de protéines inhibitrices (CKI, *cyclin kinase inhibitors*) au complexe cycline-Cdk. Certains CKI inactivent tous les complexes cycline-Cdk, alors que d'autres ont des cibles plus

spécifiques. La protéine p27 appartient au premier groupe, et joue un rôle majeur de « cerbère » (*gatekeeper*) pour le maintien des cellules à l'état quiescent, en se liant directement à Cdk2. Un groupe autrichien vient d'apporter la preuve de l'implication de p27 dans les troubles du cycle cellulaire des fibroblastes murins *TSC2*^{-/-}. La quantité de p27 liée à Cdk2 y est très diminuée et l'activité kinase Cdk2 élevée [3]. Même quand elle est surexprimée, p27 ne parvient pas à inhiber les phases prolifératives du cycle, car il se produit une protéolyse qui la rend instable. Alors que la p27 a une localisation nucléaire dans les cellules normales, dans les fibroblastes *TSC2*^{-/-} (de même que dans certaines tumeurs [4]), elle est localisée dans le cytoplasme. Cette localisation ectopique l'empêcherait d'interagir avec ses cibles situées dans le noyau. Les petites protéines G interviennent dans les transports nucléocytoplasmiques, et la tubérine, produit de *TSC2*, accélère l'activité GTPasique des petites molécules rap1a et rab5 [5]. Il est donc tentant de supposer que la tubérine est directement impliquée dans la localisation nucléaire de p27 (à condition toutefois que les molécules rap1a et rab5 jouent un rôle dans le transport intracellulaire, ce qui n'a pas encore été démontré) [6].

Quand la drosophile fait les gros yeux

Ce n'est qu'*a posteriori* qu'on s'est aperçu que le rat Eker était porteur d'une mutation de l'homologue murin de *TSC2*. De même, une équipe californienne vient de prouver que le phénotype *gigas*, chez la drosophile, correspond aussi à une muta-

* Malformation pseudotumorale caractérisée par une quantité excessive ou une disposition anormale - dans un tissu ou un organe - de cellules qui y existent normalement.

tion de l'homologue de *TSC2* chez cet insecte [7]. Le mutant fut ainsi appelé car ses ommatidies étaient deux à trois fois plus grosses que la normale (du grec *gigas* : géant). Rappelons que l'œil de la drosophile est constitué comme un cristal composé de 800 sous-unités hexagonales appelées ommatidies contenant chacune huit cellules nerveuses et une douzaine de cellules non neuronales. Pendant le troisième stade larvaire, la différenciation se fait comme une vague, marquée par une dépression à la surface de l'épithélium appelée sillon morphogénétique, avec synchronisation des cellules en G1. Ainsi, il est très facile de suivre la progression du cycle cellulaire le long du sillon morphogénétique [8]. Après avoir relocalisé sur la carte génétique de la drosophile le locus *gigas* et après avoir séquencé le gène, les chercheurs ont découvert, à partir de banques de données, que la protéine codée par ce gène avait 46 % de similitude (et 26 % d'identité) avec le gène humain *TSC2*. Au cours de la morphogenèse de la rétine dans le disque imaginal, et alors que, dans les cellules normales, la réplication de l'ADN est obligatoirement suivie d'une division cellulaire, dans les clones mutants *gigas* les cellules peuvent répliquer leur ADN plusieurs fois sans entrer en mitose, et augmenter ainsi leur taille. La cible la plus probable de la protéine *gigas* doit

être le complexe Cdk2/cycline qui joue un rôle-clé dans la régulation de la mitose. Ce complexe s'accumule dans le cytoplasme mais se trouve dans le noyau dès le début de la mitose. Il s'agit donc, là encore, d'un problème de transport intracellulaire qui serait assuré par la protéine *gigas*. Dans la foulée, les auteurs ont recherché, et trouvé, l'homologue de *TSC1* chez la drosophile. L'ensemble du système, on le voit, a donc été très conservé au cours de l'évolution.

Conclusions

Tous ces résultats suggèrent un mécanisme de contrôle du cycle cellulaire commun pour la drosophile et l'homme. Dans les hamartomes, des cellules géantes ont été observées. La sclérose tubéreuse serait donc en premier lieu un défaut de régulation du cycle cellulaire, par trouble de transport de protéines. La poursuite des études sur les cellules mutantes, chez la drosophile et le rat, devrait nous en apprendre plus sur la synchronisation entre phase S et mitose qui est encore mal connue. Toutefois, chez le rat, les gènes *TSC1* et *TSC2* interviennent certainement aussi dans le développement du système nerveux pendant la période embryonnaire, et dans son fonctionnement pendant l'âge adulte. Enfin, il reste encore à préciser les mécanismes de tumorigenèse des

cancers avec perte d'hétérozygotie de *TSC1* et *TSC2*, qu'ils soient associés ou non à la sclérose tubéreuse.

Simone Gilgenkrantz

9, rue Basse, 54330 Clerey-sur-Brenon, France.

1. Kwiatkowska J, Wigowska-Sowinska J, Napierala D, Slomski R, Kwiatkowski DJ. Mosaicism in tuberous sclerosis as a potential cause of the failure of molecular diagnosis. *N Engl J Med* 1999; 340: 703-7.
2. Au KS, Rodriguez JA, Pinch JL, et al. Germ line mutational analysis of the TSC2 gene in 90 tuberous sclerosis patients. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 286-94.
3. Soucek T, Yeung S, Hengstschläger M. Inactivation of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 upon loss of the tuberous sclerosis complex gene-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 15653-8.
4. Alessandrini A, Chiaur DS, Pagano M. Regulation of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 by degradation and phosphorylation. *Leukemia* 1997; 11: 342-5.
5. Xiao GH, Shoarinejad F, Jin F, Golemis EA, Yeung RS. The tuberous sclerosis 2 gene product, tuberin, functions as a rab5 GTPase activating protein (GAP) in modulating endocytosis. *J Biol Chem* 1997; 272: 6097-100.
6. Clurman BE, Porter P. New insights into the tumor suppression function of P27^{kip1}. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 15158-9.
7. Ito N, Rubin GM. Gigas, a drosophila homolog of tuberous sclerosis gene product-2, regulates the cell cycle. *Cell* 1999; 98: 529-39.
8. Albagli O, Laget MP, Chanut F. La morphogenèse myope de la rétine de drosophile. *Med Sci* 1997; 13: 175-83.