

Hyperméthylation, cancer et inactivation des gènes suppresseurs de tumeur p16^{CDKN2/MTS1} et HIC-1

C'est en 1971 que Knudson émet son hypothèse sur la présence de gènes récessifs dont l'altération fonctionnelle serait due à un double événement mutationnel comportant l'inactivation successive des deux copies du gène [1]. La découverte des gènes suppresseurs de tumeur devait confirmer de façon éclatante ce modèle prémonitoire [2]. Tout d'abord, dans le cas du rétinoblastome, avec la mise en évidence de délétions partielles ou totales du gène *Rb* (les mutations ponctuelles sont peu fréquentes). Par la suite, un grand nombre de nouveaux gènes suppresseurs de tumeur ont été isolés avec, pour chacun, un mécanisme d'inactivation relativement spécifique. Dans le cas du gène *p53*, 90% des altérations sont des mutations ponctuelles faux sens tandis que dans le cas du gène *APC*, il s'agit de mutations *frameshift* qui changent le cadre de lecture du gène et donnent lieu à la synthèse d'une protéine tronquée. Dans le cas de *p16^{CDKN2/MTS1}*, il s'agit d'une délétion de la totalité du gène. Le but ultime de l'ensemble de ces altérations est d'inactiver la synthèse du produit du gène ou, dans d'autres cas, de former un produit, soit inactif, soit capable d'avoir un effet dominant négatif sur le produit normal. Dans la plupart des cas, ces altérations peuvent être mises en évidence par une analyse moléculaire systématique du gène. Deux articles, publiés récemment dans *Nature Medicine*, démontrent que d'autres mécanismes peuvent conduire à l'inactivation d'un gène suppresseur de tumeur [3, 4].

Dans un premier cas, il s'agit du gène suppresseur de tumeur *p16^{CDKN2/MTS1}*. Le produit de ce gène règle négative-

ment le cycle cellulaire au niveau de la transition G1/S. Cette protéine se fixe spécifiquement sur la kinase dépendante de la cycline 4 (*cdk4*) et empêche sa fixation à la cycline D1, inhibant ainsi la phosphorylation du produit du gène *Rb* [5]. Son absence dans les cellules cancéreuses pro-

voque une hyperphosphorylation de *Rb* qui conduit à une division cellulaire accélérée. En 1993, la première mise en évidence des altérations du gène *p16* dans les cancers humains avait été très largement médiatisée avec des éditoriaux qui mettaient face à face *p53* et *p16^{CDKN2/MTS1}* pour le

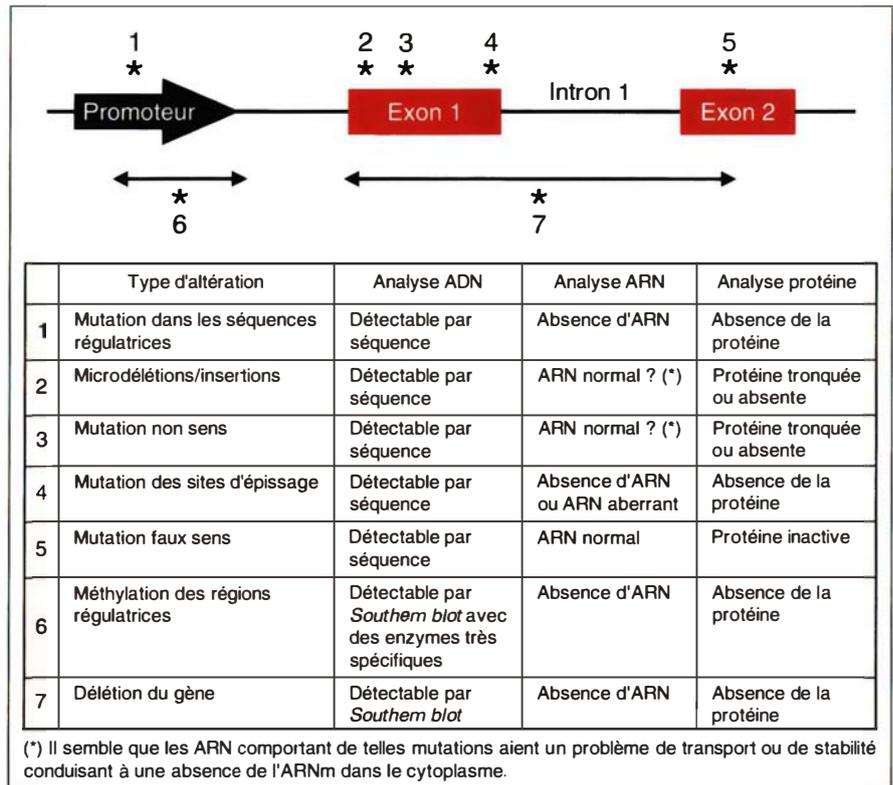


Figure 1. Anomalies pouvant conduire à l'inactivation d'un gène suppresseur de tumeur.

titre du gène le plus fréquemment altéré dans les cancers humains [6]. Néanmoins, il semblerait que les mutations de *p16^{CDKN2/MTS1}*, si elles sont très fréquentes dans les lignées cellulaires transformées, soient moins fréquentes dans les tumeurs humaines. A l'heure actuelle, des altérations de ce gène ont été retrouvées avec une grande fréquence dans les cancers du pancréas, de l'œsophage et dans les leucémies T. Dans la majorité des cas, il s'agit de délétions affectant les deux copies du gène. L'équipe de Sidranski (Johns Hopkins Medical School, Baltimore, MD, USA) a recherché si d'autres mécanismes d'inactivation pouvaient être à l'origine de l'inactivation de *p16^{CDKN2/MTS1}*. En effet, ces auteurs ont mis en évidence que certaines lignées cellulaires (cancer du poumon ou des voies aérodigestives) ne possédaient plus qu'une seule copie du gène *p16^{CDKN2/MTS1}*, mais que celle-ci était indemne de toute mutation. Néanmoins, aucune expression transcriptionnelle du gène ne pouvait être mise en évidence, suggérant une anomalie au niveau des signaux de régulation. L'analyse de la région 5' du gène *p16^{CDKN2/MTS1}* montre qu'elle contient une région très riche en dinucléotides CpG (îlot CpG) [7]. La méthylation des résidus C présents dans ces îlots participe à la régulation de l'expression génétique. En général, l'hyperméthylation de ces régions s'accompagne de l'inactivation de l'expression du gène adjacent à l'îlot CpG. L'analyse de l'îlot CpG situé en 5' du gène *p16^{CDKN2/MTS1}* a montré que celui-ci était hyperméthylé dans 42 % des cas (11 lignées sur 26). Dans tous les cas, cette méthylation était associée à l'absence d'expression du gène. La culture de ces lignées cellulaires en présence de désoxy-azacytidine, un inhibiteur de la méthylation, permettait la ré-expression du gène *p16*, renforçant ainsi le lien entre méthylation et inactivation du gène. Dans les tumeurs primaires (cancer du poumon ou des voies aérodigestives, gliomes), les auteurs ont observé une méthylation dans 20 % des cas (11 tumeurs sur 49).

Les travaux de l'équipe de Baylin (Johns Hopkins Medical Institutions,

USA) ont été effectués de manière inverse à ceux décrits ci-dessus [3]. Depuis plusieurs années, des analyses génétiques suggéraient la présence d'un nouveau gène suppresseur de tumeur situé en 17p13.3, légèrement plus proche du télomère que le gène *p53* (situé en 17p13.1). L'analyse de cette région montrait que celle-ci pouvait être hyperméthylée dans plusieurs types de cancers. Les auteurs ont donc cloné et caractérisé cette région dans laquelle ils ont identifié un gène, nommé *HIC-1* (pour *hypermethylated in cancer*). L'analyse de la méthylation de séquences situées à proximité de *HIC-1* montre une très bonne corrélation entre hyperméthylation de l'ADN et absence de l'expression de *HIC-1* dans les cellules tumorales. Dans les cellules normales, ces régions ne sont pas méthyliées et *HIC-1* est exprimé. La séquence de la protéine HIC-1 contient cinq structures en doigts de zinc suggérant qu'il pourrait s'agir d'un facteur de transcription. L'analyse de la région 5' du gène *HIC-1* a révélé la présence d'un site de fixation de la protéine p53. La surexpression de *p53* sauvage dans des cellules induit une stimulation de l'expression de *HIC-1*. Ces expériences sont extrêmement intéressantes car elles suggèrent une régulation croisée entre ces deux gènes qui sont situés à proximité l'un de l'autre. Néanmoins, il est encore prématuré d'affirmer que *HIC-1* est un gène suppresseur de tumeur et qu'il est véritablement la cible d'inactivation dans des cancers humains.

L'ensemble de ces travaux ajoute un élément de plus à la complexité des mécanismes qui activent ou inactivent les divers gènes impliqués dans les processus cancéreux. Par ailleurs, ils démontrent que l'analyse moléculaire telle qu'elle est faite à l'heure actuelle (étude de la perte d'hétérozygotie ou séquençage de gène) n'est pas suffisante pour évaluer l'altération d'un gène candidat (*figure 1*). De nouvelles stratégies ainsi que de nouvelles méthodes devront être établies afin de tester l'ensemble de ces mécanismes inactivateurs.

T.S.

1. Knudson AG. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971 ; 68 : 820-3.
2. Knudson AG. Antioncogenes and human cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 10914-21.
3. Makos Wales M, Biel MA, El Deiry W, Nelkin BD, Issa JP, Cavenee WK, Kucrbitz SJ, Baylin SB. p53 activates expression of *HIC-1*, a new candidate tumor suppressor gene on 17p13.3. *Nature Med* 1995 ; 1 : 570-7.
4. Merlo A, Herman JG, Mao L, Lee DJ, Gabrielson E, Burger PC, Baylin SB, Sidransky D. 5' CpG island methylation is associated with transcriptional silencing of the tumor suppressor *p16^{CDKN2/MTS1}* in human tumors. *Nature Med* 1995 ; 1 : 686-92.
5. Soussi T. p16, p21^{WAF1/CIP1}, p27^{Kip1} et p53: rivales ou compagnes ? *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 744-6.
6. Marx J. New tumor suppressor may rival p53. *Science* 1994 ; 264 : 344-5.
7. Jordan BR. Îlots HTF : le gène annoncé. *médecine/sciences* 1991 ; 7 : 153-60.