

## **L'exclusion nucléaire : un nouveau mécanisme d'inactivation de la p53 dans les cancers du sein ?**

La protéine p53 de type sauvage, peut, en exerçant un contrôle négatif sur la prolifération cellulaire, fonctionner comme « suppresseur » de la transformation et de la tumorigenèse, alors que la protéine p53 mutée a d'autres fonctions qui l'impliquent dans le développement et la progression de certains cancers [1-3]. Les principales altérations observées sur le locus p53 sont des délétions d'un des allèles souvent accompagnées de mutations de l'autre allèle, mais la fréquence de ces altérations varie d'un type de cancer à l'autre, suggérant que le mécanisme d'inactivation de la p53 n'est pas le même pour tous les cancers. Ainsi 70 % des cancers du côlon et seulement 30 % des cancers du sein ont des mutations du gène p53. On note encore une différence entre ces deux cancers : 70 % des cancers du côlon et du sein ont perdu un allèle p53, mais la fréquence de mutation de l'allèle retenu est de 91 % pour les cancers du côlon contre seulement 40 % pour les cancers du sein. Il existe donc une catégorie importante de cancers du sein présentant sur le locus p53 une délétion, mais pas de mutation. On peut alors supposer qu'un autre gène suppresseur de tumeur, génétiquement lié au locus p53, est impliqué dans le développement de ces cancers. Il est également possible que la p53 normale soit inactivée selon un mécanisme autre que la mutation. Elle pourrait être exclue du noyau

et/ou séquestrée dans le cytoplasme, ce qui l'empêcherait de remplir sa fonction normale. C'est cette hypothèse qui est retenue pour environ 30 % des cancers inflammatoires du sein après une étude récemment publiée [4] et résultant d'une collaboration entre l'Institut Gustave Roussy (laboratoire de pharmacologie clinique et moléculaire, Villejuif, France) et l'Université de Princeton (département de biologie moléculaire, New Jersey, USA). Dans cette étude portant sur 27 cas de cancers inflammatoires du sein, les auteurs ont analysé la protéine p53 par immunohistochimie et les mutations du gène par séquençage. Les résultats de l'immunohistochimie montrent trois types de coloration, une forte coloration nucléaire dans 30 % des cancers, une absence de coloration dans 33 % des cancers et enfin une forte coloration du cytoplasme dans 37 % des cas. La forte coloration des noyaux est associée à la présence des mutations dans le gène puisque celles-ci ont été observées dans sept des huit cas. Ces mutations, six mutations « faux-sens » et une mutation « non-sens » ont été retrouvées dans les séquences conservées dans les différentes espèces [1]. A l'inverse, lorsqu'aucune coloration immunohistochimique n'est décelée, le gène de la p53 n'est pas muté. Ces résultats confirment ce qui avait déjà été décrit, à savoir que la protéine p53 ne peut, en général, être mise en évidence dans les noyaux des cellules can-

céreuses que lorsque celle-ci est mutée puisqu'elle devient beaucoup plus stable que la protéine sauvage et qu'elle peut s'y accumuler. Mais l'observation la plus intéressante de cette étude est sans doute celle qui montre que dans tous les cas où une forte coloration de la p53 est décelée dans le cytoplasme, le gène de la p53 n'est pas muté. Ces résultats suggèrent que la protéine p53 non mutée est stabilisée et séquestrée dans le cytoplasme, l'empêchant d'atteindre son site d'activité dans le noyau. Ce processus d'exclusion nucléaire de la p53 sauvage pourrait expliquer, au moins en partie, son rôle dans le développement du cancer.

D'autres mécanismes d'inactivation de la p53 dans les cancers du sein ne sont bien évidemment pas à exclure. En effet une étude récente vient de montrer que les sarcomes (un tiers des sarcomes humains) qui contiennent un gène MDM2 amplifié, n'ont pas de gène p53 muté [5]. La protéine produite par le gène MDM2, gène initialement identifié dans un chromosome double minute de souris, pourrait se complexer à la p53 et l'inactiver ou changer sa spécificité rappelant en cela le mode d'action des produits d'oncogènes viraux tel l'antigène T du virus SV40 [1] [3-5]. Une autre étude, portant sur des malades d'une « famille à cancers », montre que la p53 sauvage est détectée en quantité importante dans les noyaux des cellules normales et cancéreuses [6]. Il est possible

qu'une mutation, extérieure à la région codante du gène *p53* soit présente dans le génome constitutionnel de ces malades et à l'origine de cette hyperexpression. Il est également intéressant de rappeler que dans certains cancers génitiaux, la *p53* normale pourrait être dégradée par l'oncoprotéine virale E6 des papillomavirus humains [7].

En plus des échantillons de cancers du sein, un échantillon de tissu mammaire non tumoral mais en lactation a été examiné dans notre étude. La *p53* non mutée a été décelée dans le cytoplasme suggérant ainsi que ce mécanisme peut intervenir dans des circonstances physiologiques pour permettre la prolifération cellulaire.

Les cancers inflammatoires représentent environ 2 % des cancers du sein. Ils forment une entité définie uniquement par des caractéristiques cliniques (aspect en peau d'orange du sein,

tumeur chaude et sensible à la palpation, infiltration locale du derme par les cellules tumorales, envahissement des ganglions loco-régionaux et croissance tumorale rapide). Ces cancers ont en général un très mauvais pronostic. L'étude de la survie des 27 patientes montre que celles qui ont un gène *p53* muté ont une survie plus courte que les autres patientes. Dans le groupe de malades n'ayant pas de gène *p53* muté, celles qui présentent des cellules tumorales à forte coloration cytoplasmique ont la survie la plus longue. Cette étude clinique tout à fait préliminaire doit être confirmée sur une série de malades plus importante et étendue à d'autres types de cancers. Si les résultats étaient confirmés, les cliniciens auraient à leur disposition de nouvelles données pronostiques.

G.R.

1. Caron de Fromentel C, Soussi T, May P. La protéine *p53* : de la biologie moléculaire à la clinique. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 352-8.
2. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. *p53* mutations in human cancers. *Science* 1991 ; 253 : 49-53.
3. Lane D. *p53*, guardian of the genome. *Nature* 1992 ; 358 : 15-6.
4. Moll U, Riou G, Levine AJ. Two distinct mechanisms alter *p53* in breast cancer : mutation and nuclear exclusion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 7262-6.
5. Oliner JD, Kingler KW, Meltzer PS, George DL, Vogelstein B. Amplification of a gene encoding *p53*-associated protein in human sarcomas. *Nature* 1992 ; 358 : 80-3.
6. Barnes DM, Hanby AM, Gillett CE, et al. Abnormal expression of wild type *p53* protein in normal cells of a cancer family patient. *Lancet* 1992 ; 340 : 259-63.
7. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of *p53* 1990. *Cell* 63, 1129-36.

## ■■■ BRÈVES ■■■

■■■ **Utilisation *in vivo* d'oligonucléotides anti-sens.** Les oligonucléotides monobrins anti-sens peuvent s'hybrider à l'ARN messager et en bloquer la fonction, probablement en entraînant leur dégradation par digestion des régions double brins hétérologues ARN/ADN. Ces anti-sens sont très largement utilisés en expérimentation pour bloquer l'expression d'un gène dans des cellules en culture. Il suffit alors d'ajouter de tels oligonucléotides dans la boîte de culture, à des concentrations très élevées, pour assurer la pénétration dans les cellules d'une concentration de l'oligonucléotide anti-sens suffisante à son effet biologique. Ce dernier est, cependant, largement imprévisible puisqu'il dépend de l'accessibilité de la région de l'ARN messager à laquelle il est complémentaire, c'est-à-dire des structures secondaires de cet ARN. Différentes modifications de ces oligonucléotides peuvent être pratiquées pour en augmenter la stabilité, l'affinité pour l'ARN, la biodisponibilité (c'est-à-dire, largement, le passage transmembranaire),

etc. [1]. *In vivo*, cependant, l'utilisation de tels réactifs s'est jusqu'à présent révélée très difficile du fait des concentrations nécessaires pour obtenir une activité biologique. Des équipes de Cambridge et Boston (MA, USA) viennent de rapporter, pour la première fois, l'utilisation *in vivo* d'un oligonucléotide anti-sens s'hybridant avec l'ARNm de l'oncogène *c-myb* [2]. La protéine Myb semble jouer un rôle dans la stimulation de la prolifération des cellules vasculaires lisses en réponse à une lésion de la paroi vasculaire. Les auteurs ont provoqué une telle lésion et, au niveau d'un segment de l'artère carotide lésée, ont délivré de fortes concentrations d'oligonucléotide anti-*c-myb* par l'intermédiaire d'un gel résorbable et entre deux ballonnets intravasculaires. Dans ces conditions, la prolifération des cellules musculaires lisses a été totalement inhibée, parallèlement à la quasi-disparition de messagers *c-myb* au niveau des cellules de la paroi vasculaire. Dans les expériences rapportées, l'oligonucléotide utilisé était chimiquement modifié pour en aug-

menter la stabilité, c'est-à-dire la résistance aux nucléases (*phosphorothioate oligonucleotide*) : sa concentration dans la membrane artérielle en contact avec le gel semblait stable entre une heure et demie et 72 heures après administration. L'intérêt de ces résultats, outre leur caractère de « première » puisqu'il s'agit là d'un traitement *in vivo* par des oligonucléotides, est qu'ils suggèrent une utilisation thérapeutique possible d'une telle stratégie : l'on pourrait envisager d'administrer dans des artères coronaires lésées, par exemple fraîchement reperméabilisées par traitement thrombolytique, de tels oligonucléotides anti-sens pour inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses, et donc la re-sténose rapide du vaisseau.

- [1. Helene C. *Gene Regulation : Biology of anti-sens RNA and DNA*. In : Erickson RP, Izant JG, eds. New York : Raven Press, 1992 ; 109-18.]
- [2. Cmons M, et al. *Nature* 1992 ; 359 : 67-70.]