

Cancer et développement

CBP, cancer et dysmorphologie

La translocation chromosomique t(8;16) (p11;p13) est un marqueur cytogénétique associé aux sous-types M4 (myélomonocytaire) ou M5 (monocytaire) de la leucémie myéloïde aiguë (LMA). Ce remaniement est associé à un blocage de la différenciation des monocytes et une érythrophagocytose excessive. Le clonage positionnel du point de cassure de la translocation t(8;16)(p11;p13) a été réalisé de façon à rechercher les gènes impliqués dans le déterminisme de la maladie. Cela a mis en évidence l'existence au niveau du point de cassure d'un gène chimérique provenant de la fusion du gène codant pour le co-activateur de transcription CBP (*CREB binding protein*) en 16p13.3 avec un gène nouvellement identifié, *MOZ* (*monocytic leukaemia zinc finger protein*) sur le chromosome 8p11 [1].

CBP est un co-activateur de transcription qui intervient dans diverses voies de transduction de signal déclenchées en réponse à des stimulus extracellulaires, et joue un rôle important dans la régulation de la croissance et de la différenciation cellulaire (*m/s n° 10, vol. 12, p. 1113*). C'est notamment un co-activateur de l'expression de gènes possédant des éléments régulateurs en *cis* de réponse à l'AMPc ou éléments CRE. La CBP se lie en effet à la forme phosphorylée de l'activateur de transcription CREB (*CRE binding protein*) qui reconnaît spécifiquement les éléments CRE [2-4].

La protéine CBP (265 kDa) comporte plusieurs domaines (*figure 1*) qui interagissent avec de nombreux facteurs de transcription dont le facteur de transcription TFIIIB [3] (ce qui établit le lien entre la région promotrice où

se trouvent les éléments CRE et le complexe de début de la transcription par la polymérase II), c-Jun, c-Fos, c-Myb, et des récepteurs nucléaires [4-7], ainsi qu'avec la protéine P/CAF (*p300/CBP associated factor*) qui présente une activité acétylase d'histone intervenant vraisemblablement dans l'activation de la transcription (*m/s n° 10, vol. 12, p. 1113*) [8].

Une étude très récente a montré que CBP interagissait avec les protéines SREBP1 et 2 (*sterol regulatory element binding proteins*) qui activent la transcription de gènes dont les produits interviennent dans l'internalisation cellulaire (récepteurs des LDL) ou la synthèse du cholestérol (HMG-CoA synthase et HMG-CoA réductase) (*m/s n° 3, vol. 13, p. 374*) [9]. Cela

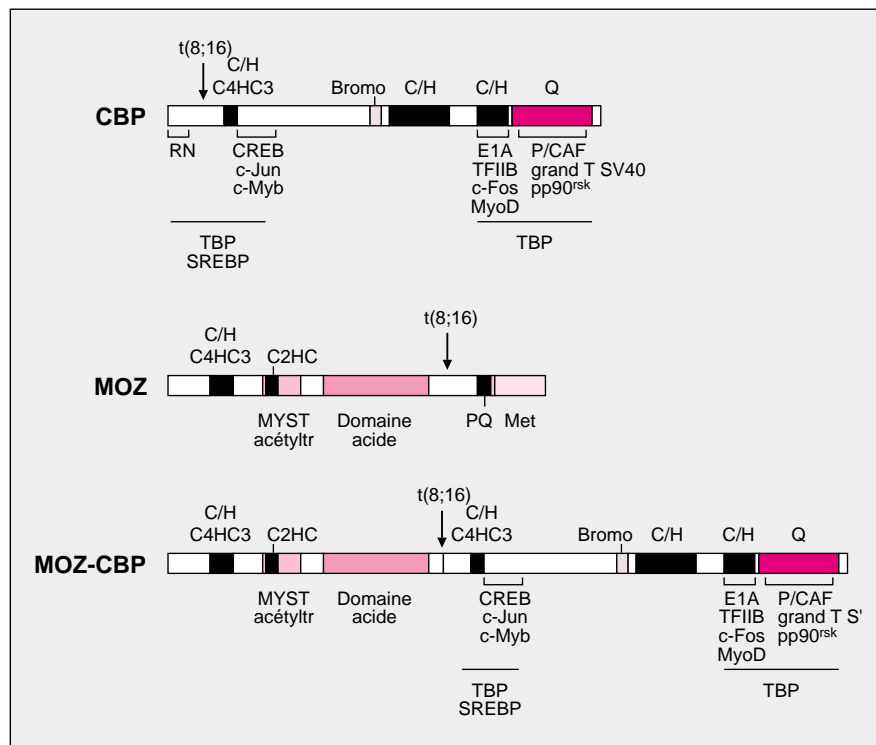


Figure 1. **Représentation schématique des protéines CBP, MOZ et MOZ-CBP.** Les sites de liaison de CBP à différents facteurs et activateurs de transcription sont indiqués. RN, récepteurs nucléaires; TBP, TATA-box-binding protein. C/H, domaine riche en cystéine et histidine; Q, domaine riche en glutamine; PQ, domaine riche en proline et glutamine; bromo, bromodomain; acétyltr, région d'homologie avec des acétyltransférases. t(8,16), point de cassure de la translocation t(8p11;16p13).

indique que CBP est impliqué dans le contrôle du métabolisme du cholestérol. Un travail récent a montré, en outre, que CBP et son homologue p300 jouaient un rôle dans la différenciation du muscle et des lymphocytes [10].

La protéine MOZ (225 kDa) (*figure 1*) est, elle aussi, une protéine nucléaire qui présente deux sites de liaison à l'ADN. Le premier, situé dans la partie amino-terminale contient deux doigts à zinc de type C4HC3, encore connus sous le nom de domaines LAP (*leukaemia associated protein*) parce qu'ils ont été décrits dans une famille de protéines dont plusieurs sont impliquées dans des leucémies [11]. Les motifs C4HC3 sont probablement des sites d'interaction entre différentes protéines de la chromatine.

MOZ possède également un domaine d'environ 190 acides aminés présentant des analogies de structure avec d'autres protéines telles que les protéines de levure YBF2 et SAS2 et la protéine humaine TIP (*HIV Tat interactive protein*). Ce domaine appelé MYST (MOZ, YBF2, SAS2, TIP) contient un doigt à zinc atypique C2HC. Vingt-quatre acides aminés de ce domaine ressemblent à des domaines notés dans plusieurs acétyltransférases dont les protéines de *S. cerevisiae* HAT1 et GCN5. L'activité acétyltransférase de MOZ reste à démontrer au point de vue biochimique, mais laisse présumer du rôle de la protéine dans la régulation de l'expression des gènes. En effet, l'acétylation des fonctions amines libres de résidus lysine des histones semble neutraliser ces résidus et entraîner une décompaction locale de la chromatine rendant l'ADN plus accessible à la machinerie transcriptionnelle.

La partie centrale de MOZ est constituée d'un long domaine acide qui pourrait stabiliser les interactions avec la chromatine par contact avec des résidus basiques des histones. On trouve, vers l'extrémité carboxy-terminale, une région riche en proline et en glutamine qui pourrait être un domaine transactivateur de transcription et, enfin, une région riche en méthionine.

En résumé, la protéine MOZ pourrait donc avoir un tropisme pour la

chromatine relayé par des interactions entre les domaines C4HC3 et des protéines liées à la chromatine, par des interactions entre le doigt C2HC et l'ADN, et entre le domaine acide et les histones.

La protéine de fusion MOZ-CBP (415 kDa) créée par la translocation préserve les doigts à zinc C4HC3 et C2HC de MOZ, ainsi que le domaine MYST et le grand domaine acide central. CBP, quant à elle, est retenue pratiquement intacte avec l'ensemble de ses domaines fonctionnels à l'exception du site de fixation des récepteurs nucléaires (*figure 1*). La protéine MOZ-CBP se comporte donc probablement comme un adaptateur de transcription de type CBP dans les voies de signalisation relayées par l'AMPC et les mitogènes tout en acquérant les nouvelles fonctions de MOZ (acétylation d'histone notamment). Curieusement, cette protéine de fusion a une structure qui rappelle celle de GCN5 de *S. cerevisiae*, qui est un activateur de transcription doué d'activité acétyltransférase d'histone, et pourrait, de fait, avoir une importante activité acétyltransférasique, par l'interaction de CBP avec P/CAF, par l'activité propre de MOZ, mais aussi par celle de CBP elle-même [12].

• **MOZ-CBP et leucémogénèse.** Il est possible que le mécanisme à l'origine de la leucémogénèse mette en œuvre une acétylation aberrante de la chromatine au niveau de promoteurs qui, normalement, requièrent l'intervention co-activatrice de CBP. L'état transcriptionnel résultant serait alors leucémogène. CBP est cependant naturellement associée à l'acétylase P/CAF, et a, elle-même, une activité d'acétyltransférase. Pour expliquer l'effet leucémogène il faudrait imaginer que P/CAF et MOZ engendrent des profils d'acétylation des histones différents. Les profils d'acétylation anormaux créés par MOZ-CBP pourraient interférer avec l'activation normale des gènes. Il est, en outre, possible que MOZ-CBP inactive un gène qui est normalement activé par l'association CBP-P/CAF. Il est connu, par exemple, que l'histone acétylase SAS2 de *S. cerevisiae* a une fonction extinctrice.

De plus, la CBP normale pourrait jouer un rôle suppresseur de tumeur. On sait, notamment, que l'oncoprotéine E1A dissocie les complexes CBP-P/CAF en rentrant en compétition avec P/CAF pour un même site de fixation sur CBP (*m/s n° 10, vol. 12, p. 1113*) (*figure 1*), provoquant la progression du cycle cellulaire et entraînant le phénomène de transformation cellulaire [13]. La fusion de MOZ avec CBP pourrait empêcher l'association CBP-P/CAF de se faire, mimant ainsi l'effet oncogénique de E1A.

Il est tout à fait envisageable, également, que la taille importante de la protéine de fusion MOZ-CBP ne permette pas l'interaction correcte de CBP avec certains de ses partenaires habituels ou soit incompatible avec le bon fonctionnement de MOZ (liaison à l'ADN, interaction avec les histones, et activité acétyltransférase). En effet CBP, et probablement MOZ, interviennent dans des complexes multimoléculaires au sein desquels des interactions entre les différents facteurs sont extrêmement délicates, et on peut aisément imaginer qu'une protéine de structure anormale perturbe la formation des complexes. Il est même possible que la protéine de fusion MOZ-CBP, de par sa taille trop importante, ne puisse pas prendre part à la formation des complexes. Une copie de CBP et/ou de MOZ serait alors non fonctionnelle, créant une situation d'hémizygotie pour ces deux gènes.

Il faut noter ici que les copies restantes de CBP et MOZ portées par les chromosomes non transloqués sont supposées normales mais n'ont, en fait, pas été analysées. On ne peut donc exclure que l'un ou l'autre de ces gènes soit muté également, et le mécanisme de la leucémogénèse pourrait s'expliquer par la perte des deux allèles fonctionnels de MOZ ou CBP.

Enfin, outre les translocations t(8;11), des translocations t(8;22)(p11;q13) sont également associées à des leucémies monocytaires. Or le gène codant pour la protéine p300 [14], un analogue fonctionnel de CBP (*m/s n° 10, vol. 12, p. 1113*), est justement localisé en 22q13. Il est donc possible qu'une protéine de fusion

MOZ-p300, analogue à MOZ-CBP résulte de cette translocation.

• **CBP et dysmorphologie.** La perte d'une copie fonctionnelle (haplo-insuffisance) du gène CBP au locus 16p13.3 a été impliquée dans le déterminisme d'un syndrome dysmorphique, le syndrome de Rubinstein-Taybi (SRT) [15, 16] (*m/s n° 10, vol. 11, p. 1496*). Le SRT associe un retard mental, des critères dysmorphiques faciaux (orientation en bas et en dehors des fentes palpébrales, replis épicanthiques, ptosis, strabisme, palais ogival, oreilles bas implantées en rotation postérieure, nez prononcé avec protrusion de la racine du nez, septum nasal long et saillant et columelle courte), des pouces et des gros orteils trop larges, diverses malformations (oculaires, génitales, osseuses, cardiaques, cutanées...), et un risque tumoral accru [17].

Les tumeurs rapportées dans le cadre du SRT sont surtout des tumeurs du système nerveux (médulloblastome, gliome, neuroblastome, méningiome), mais d'autres tumeurs ont également été décrites dont quelques cas de leucémies aiguës lymphoblastiques ou myéloblastiques [18].

L'identification d'une mutation hétérozygote dans un gène codant pour un facteur de transcription peut sembler initialement étonnante pour expliquer le déterminisme d'un syndrome dysmorphique avec retard mental, mais différents exemples sont maintenant connus et cela peut probablement expliquer la pléiotropie des manifestations du syndrome. Un autre syndrome dysmorphique avec retard mental différent du SRT, le syndrome de Coffin-Lowry, a récemment été relié à des mutations dans un gène codant pour une protéine kinase de la famille RSK (ou p90^{RSK}): RSK2 [19] (*m/s n° 1, vol. 13, p. 107*). Cette famille de sérine-thréonine kinases est impliquée dans la transduction du signal, avec des cibles telles que des facteurs de transcription dont CREB. L'activation de RSK provoque la formation d'un complexe avec la protéine CBP qui semble agir sur la différenciation des neurones du système nerveux central (cellules PC12 en culture) (*m/s n° 11, vol. 12, p. 1258*). On peut se deman-

der si le retard mental de ces deux syndromes dysmorphiques (SRT et syndrome de Coffin-Lowry) n'est pas dû à une anomalie de transmission d'un signal impliquant le couple RSK/CBP.

L'implication récente de CBP sur la régulation du métabolisme du cholestérol en tant que co-activateur de la transcription de SREBP [9] permet également de proposer une hypothèse pour expliquer certaines dysmorphies rencontrées dans le SRT. En effet deux syndromes dysmorphiques avec retard mental bien connus interfèrent avec le métabolisme du cholestérol : le syndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLO) dû à un défaut précoce de la biosynthèse du cholestérol au niveau de la 7-déhydrocholestérol réductase (*m/s n° 3, vol. 11, p. 470*) [20], et l'holoprosencéphalie liée à des mutations de Sonic hedgehog (SHH) (*m/s n° 3, vol. 13, p. 402*); la protéolyse de la protéine SHH forme un produit actif modifié par le cholestérol (*m/s n° 2, vol. 13, p. 229*) [21]. L'holoprosencéphalie est une anomalie de développement de la ligne médiane de la face et du cerveau. Il s'agit d'une malformation génétiquement hétérogène, qui a été décrite dans le SLO et non dans le SRT.

En conclusion, le gène CBP, dont la mutation est responsable du SRT, est donc également impliqué dans un processus de carcinogenèse, ce qui pouvait être suspecté par la propension à développer des tumeurs des patients atteints de SRT. On connaît d'autres exemples de gènes du développement impliqués en dysmorphologie et en cancérologie, comme par exemple *PATCHED* dont l'haplo-insuffisance est responsable du syndrome de Gorlin qui s'accompagne d'un risque tumoral élevé par un mécanisme de perte de l'hétérozygotie [22-24] ■

RÉFÉRENCES

1. Borrow J, Stanton VP Jr, Andresen JM, Becher R, Behm FG, Chaganti RSK, Civin CI, Distche C, Dubé I, Frischauf AM, Horsman D, Mitelman F, Volinia S, Watmore AE, Housman DE. The translocation t(8;16)(p11;p13) of acute myeloid leukaemia fuses a putative acetyltransferase to the CREB-binding protein. *Nature Genet* 1996; 14: 33-41.

2. Chrivia JC, Kwok RPS, Lamb N, Hagiwara M, Montminy MR, Goodman RH. Phosphorylated CREB binds specifically to the nuclear protein CBP. *Nature* 1993; 365: 855-9.

3. Kwok RPS, Lundblad JR, Chrivia JC, Richards JP, Bächinger HP, Brennan RG, Roberts SGE, Green MR, Goodman RH. Nuclear protein CBP is a coactivator for the transcription factor CREB. *Nature* 1994; 370: 223-6.

4. Arias J, Alberts AS, Brindle P, Claret FX, Smeal T, Karin M, Feramisco J, Montminy M. Activation of cAMP and mitogen responsive genes relies on a common nuclear factor. *Nature* 1994; 370: 226-9.

5. Bannister AJ, Kouzarides T. CBP-induced stimulation of c-Fos activity is abrogated by E1A. *EMBO J* 1995; 14: 4758-62.

6. Dai P, Akimaru H, Tanaka Y, Hou DX, Yasukawa T, Kanei-Ishii C, Takahashi T, Ishii S. CBP as a transcriptional coactivator of c-Myb. *Genes Dev* 1996; 10: 528-40.

7. Kamei Y, Xu L, Heinzel T, Torchia J, Kurokawa R, Glass B, Lin SC, Heyman RA, Rose DW, Glass CK, Rosenfeld MG. A CBP integrator complex mediates transcriptional activation and AP-1 inhibition by nuclear receptors. *Cell* 1996; 85: 403-14.

8. Yang XJ, Ogryzko VV, Nishikawa JJ, Howard BH, Nakatani Y. A p300/CBP-associated factor that competes with the adenoviral oncoprotein E1A. *Nature* 1996; 382: 319-24.

9. Oliner JD, Andresen JM, Hansen SK, Zhou S, Tjian R. SREBP transcriptional activity is mediated through an interaction with the CREB-binding protein. *Genes Dev* 1996; 10: 2903-11.

10. Eckner R, Yao TP, Oldread E, Livingston DM. Interaction and functional collaboration of p300/CBP and bHLH proteins in muscle and B-cell differentiation. *Genes Dev* 1996; 10: 2478-90.

11. Saha V, Chaplin T, Gregorini A, Ayton P, Young BD. The leukemia-associated-protein (LAP) domain, a cysteine-rich motif, is present in a wide range of proteins, including MLL, AF10, and MLLT6 proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 9737-41.

12. Ogryzko VV, Schiltz L, Russanova V, Howard BH, Nakatani Y. The transcriptional coactivators p300 and CBP are histone acetyltransferases. *Cell* 1996; 87: 953-9.

13. Arany Z, Newsome D, Oldread E, Livingston DM, Eckner R. A family of transcriptional adaptor proteins targeted by the E1A oncoprotein. *Nature* 1995; 374: 81-4.

14. Lundblad JR, Kwok RPS, Laurance ME, Harter ML, Goodman RH. Adenoviral E1A-associated protein p300 as a functional homologue of the transcriptional coactivator CBP. *Nature* 1995; 374: 85-8.

15. Petrij F, Giles RH, Dauwerse HG, Saris JJ, Hennekam RCM, Masuno M, Tommerup N, van Ommen GJB, Goodman RH, Peters

RÉFÉRENCES

- DJM, Breuning MH. Rubinstein-Taybi syndrome caused by mutations in the transcriptional coactivator CBP. *Nature* 1995; 376: 348-51.
16. Lacombe D. Dysmorphies et gènes du développement. *Med Sci* 1996; 12: 825-30.
17. Miller RW, Rubinstein JH. Tumors in Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet* 1995; 56: 112-5.
18. Siraganian PA, Rubinstein JH, Miller RW. Keloids and neoplasms in the Rubinstein-Taybi syndrome. *Med Ped Oncol* 1989; 17: 485-91.
19. Trivier E, De Cesare D, Jacquot S, Panetier S, Zackai E, Young I, Mandel JL, Sassone-Corsi P, Hanauer A. Coffin-Lowry syndrome is caused by mutations in the growth-factor activated RSK2 kinase. *Nature* 1996; 384: 567-70.
20. Tint GS, Irons M, Elias ER, Batta AK, Frieden R, Chen TS, Salen G. Defective cholesterol biosynthesis associated with the Smith-Lemli-Opitz syndrome. *N Eng J Med* 1994; 330: 107-13.
21. Roessler E, Belloni E, Gaudenz K, Jay P, Berta P, Scherer SW, Tsui LC, Muenke M. Mutations in the human Sonic Hedgehog gene cause holoprosencephaly. *Nature Genet* 1996; 14: 357-60.
22. Hahn H, Wicking C, Zaphiropoulos PG, Gailani MR, Shanley S, Chidambaram A, Vorechovsky I, Holmberg E, Uden AB, Gillies S, Negus K, Smyth I, Pressman C, Leffell DJ, Gerrard AM, Goldstein AM, Dean M, Toftgard, Chenevix-Trench, Wainwright B, Bale AE. Mutations of the human homolog of Drosophila patched in the nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Cell* 1996; 85: 841-51.
23. Johnson RL, Rothman AL, Xie J, Goodrich LV, Bare JW, Bonifas JM, Quinn AG, Myers RM, Cox DR, Epstein EH, Scott MP. Human homolog of patched, a candidate gene for the basal cell nevus syndrome. *Science* 1996; 272: 1668-71.
24. Gorry P, Lacombe D, Concordet J. Nævomatose baso-cellulaire et gène *PATCHED*, un nouveau lien entre cancer et gènes du développement. *Med Sci* 1996; 12: 1105-8.

Benoît Arweiler

Laboratoire de pathologie moléculaire et thérapie génique, Université Victor-Ségalen Bordeaux 2, 146, rue Léo-Saignat, 33076 Bordeaux Cedex, France.

Didier Lacombe

Service de pédiatrie et génétique médicale, Hôpital des Enfants-Pellegrin, CHU de Bordeaux, place Amélie-Raba-Léon, 33076 Bordeaux Cedex, France.

TIRÉS À PART

B. Arweiler.