

**Apoptose,  
sénescence  
et cancer**

**La p53 : un ennemi public  
que l'on peut attaquer  
de tous les côtés**

La mutation ponctuelle du gène p53 est l'événement génétique le plus fréquemment retrouvé dans les cancers humains. Ces mutations sont localisées dans la partie centrale de la molécule p53 et inactivent la fonction de liaison spécifique à l'ADN. Ces p53 mutantes sont donc transcriptionnellement inactives car elles ne reconnaissent pas les séquences cibles situées dans les gènes transactivés par la protéine p53. En outre, la fonction de p53

peut être perdue par d'autres mécanismes résumés dans le *Tableau I*. Cette fréquence élevée des altérations du gène p53 l'a transformé en ennemi public numéro 1 à abattre dans le cadre de nouvelles stratégies anticancéreuses. La fréquentation des dernières réunions scientifiques internationales traitant de p53 ou un bref survol de la littérature montre que pas une société pharmaceutique ou de biotechnologie anglo-saxonne ne manque au rendez-vous.

Une littérature abondante sur les possibilités de thérapie génique avec des vecteurs viraux a été publiée ces dernières années [1]. Plusieurs essais de phase I ou même de phase II sont en cours actuellement [2]. Parallèlement à ces études, nos connaissances sur la structure de la protéine p53 et de ses relations avec ses partenaires ont fait de grands progrès. Ces études suggèrent que de nouvelles thérapies originales pourraient être développées visant à réactiver la fonction de p53 mutantes ou inactivées par des protéines cellulaires ou virales.

**Restauration de la fonction de transactivation par la partie amino-terminale**

Le gène *Mdm2* code pour une protéine qui se fixe spécifiquement sur le domaine de transactivation de la protéine p53 et contrôle donc négativement l'activité de transcription de la protéine p53 (*m/s n° 8/9, vol. 9, p. 998*) [3, 4], ce qui pourrait servir à moduler son activité après un stress génotoxique. Récemment, on a établi que *Mdm2* pourrait aussi être impliqué dans le catabolisme de la p53 (*m/s n° 8/9, vol. 13, p. 1080*) [5, 6]. Le gène *Mdm2* est amplifié dans près de 30 % des sarcomes des parties molles et dans plusieurs autres types de cancers [7-9]. Cette amplification conduit à une accumulation de la protéine Mdm2 qui va se fixer sur la p53 et l'inactiver. Le site de fixation de p53 sur Mdm2 est très bien caractérisé et le complexe entre les deux protéines a pu être cristallisé [10, 11]. Ces informations sont très importantes car l'une des stratégies envisagées pour rétablir la fonction

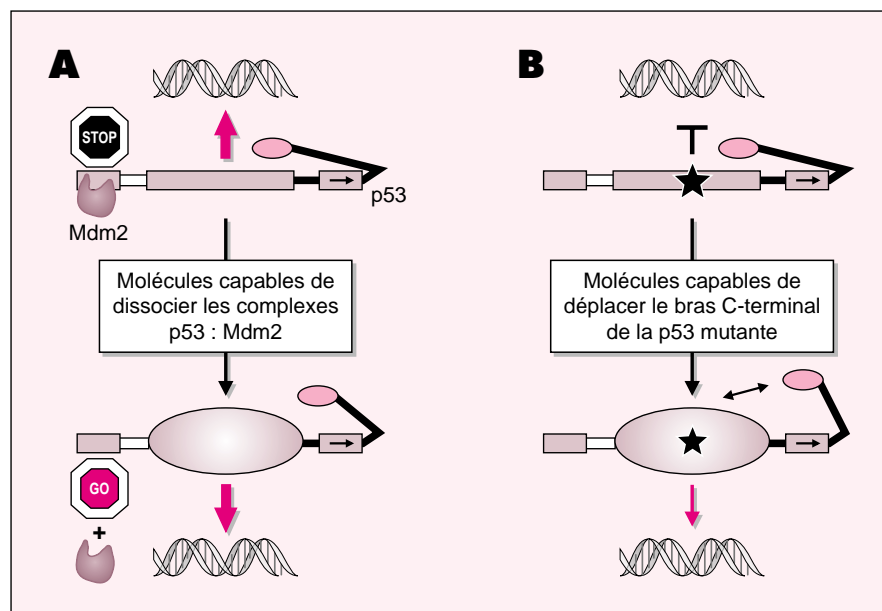


Figure 1. **Stratégies de lutte anticancéreuse visant à réactiver la fonction de p53.** **A.** La p53 complexée à la protéine Mdm2 garde la capacité de se fixer à l'ADN mais le domaine de transactivation est bloqué. De petites molécules se fixant, soit sur p53, soit sur Mdm2 peuvent dissocier ce complexe et réactiver ainsi la fonction de transactivation de p53. **B.** La p53 mutante ne peut plus se fixer à l'ADN. Des peptides interagissant avec la partie carboxy-terminale de la p53 sont capables de restaurer partiellement cette capacité de fixation à l'ADN. Cela se traduit par la restauration du pouvoir de transactivation.

Tableau I			
PERTE DE FONCTION DE P53 ET CONTRE-ATTAQUE			
Type d'altération	Fonctions altérées	Possibilité de thérapie (*)	Phénotype attendu
Mutations ponctuelles	Perte de la fonction de fixation à l'ADN	Thérapie génique avec virus exprimant une p53 sauvage	Apoptose ou arrêt de la division cellulaire  Sensibilisation à des agents endommageant l'ADN
	→ arrêt de la transactivation	Restauration de la fonction de fixation à l'ADN	Apoptose ou arrêt de la division cellulaire  Sensibilisation à des agents endommageant l'ADN
Délétion du gène	Absence de la p53	Remplacement de la p53 manquante	Sensibilisation à des agents endommageant l'ADN
Interaction avec la protéine Mdm2	Inhibition de la fonction de transactivation → arrêt de la transactivation (**)	Dissociation du complexe p53:Mdm2	Apoptose ou arrêt de la division cellulaire Sensibilisation à des agents endommageant l'ADN
Interaction avec la protéine E6 (***)	Dégradation de la p53  → disparition de la protéine	Inhibition de la voie de dégradation	Apoptose ou arrêt de la division cellulaire Sensibilisation à des agents endommageant l'ADN

(\*) Le virus ONYX-015 qui ne se réplique que dans les cellules ayant une p53 non fonctionnelle peut être utilisé dans tous ces cas de figure (m/s n° 1, vol. 13, p. 70) [21].

(\*\*) Récemment, on a mis en évidence que Mdm2 pouvait aussi induire la dégradation de la p53 [5, 6]. Néanmoins, il n'est pas sûr que cette dégradation puisse être responsable de la diminution du pouvoir de transactivation de la p53.

(\*\*\*) D'autres protéines virales (Hbx du virus HBV ou EBNA 5 du virus EBV) peuvent interagir avec la p53 sauvage. Néanmoins, le rôle de ces complexes dans l'inactivation de la fonction de la p53 n'est pas bien documenté à l'heure actuelle.

de transactivation de p53 dans ces cancers est de provoquer la dissociation du complexe p53:Mdm2 à l'aide de molécules d'intérêt thérapeutique. L'équipe de D. Wynford-Thomas a validé cette approche de manière très élégante [12]. Pour cela, elle a utilisé un anticorps monoclonal qui reconnaît le domaine de la protéine Mdm2 qui interagit avec p53. La micro-injection de cet anticorps dans des cellules dont un gène *Mdm2* est amplifié conduit à une restauration de l'activité de transactivation de la p53 endogène [12]. Il est

donc tout à fait envisageable que de petits fragments d'anticorps ou d'autres molécules similaires puissent être utilisés pour des approches thérapeutiques. La société PharmaGenics a mis au point un système de criblage automatisé pour rechercher de telles molécules. Sur les 50 000 molécules testées, trois se sont révélées capables de dissocier le complexe p53:Mdm2 *in vitro*. Il reste à vérifier si ces molécules sont actives *in vivo* et si la réactivation de p53 peut conduire à la mort de la cellule par apoptose.

### Restauration de la fonction de fixation spécifique à l'ADN par action sur la partie carboxy-terminale de la molécule

La partie carboxy-terminale de la p53 a fait l'objet d'un grand nombre d'études au cours de ces deux dernières années. Selon Hupp et Lane (Dundee, GB), la protéine p53 existerait sous deux formes : une forme active pour la fixation spécifique à l'ADN, et une forme latente [13]. La région carboxy-terminale de la p53 joue un rôle majeur dans la transition entre la p53 latente et la p53 active et donc dans la régulation de l'activité de fixation spécifique à l'ADN. La délétion des 30 acides aminés carboxy-terminaux active la p53 de façon constitutive [13], et d'autres modifications de la partie carboxy-terminale activent fortement la fixation spécifique de la p53 sur l'ADN [13-15]. Un anticorps monoclonal dirigé contre un épitope carboxy-terminal (PAb421) permet *in vitro* la transition de la forme latente à la forme active [16]. C'est également le cas de petits peptides dérivés du domaine carboxy-terminal de régulation négative (domaine correspondant à l'épitope reconnu par PAb421). De même, la phosphorylation *in vitro* de sa partie carboxy-terminale par la caséine kinase II active la p53. Le seul modèle actuellement connu d'activation *in vivo* de la p53 est la glycosylation, cette propriété n'ayant été mise en évidence que dans un type cellulaire [17]. La micro-injection d'un anticorps monoclonal dans des cellules synthétisant une p53 normale est capable d'activer spécifiquement la p53. Toutes ces données suggèrent que le domaine carboxy-terminal bloque le domaine central et doit être déplacé pour permettre la fixation spécifique de la p53 à l'ADN. L'effet de l'anticorps ou de peptides activateurs sur les p53 mutantes est particulièrement intéressant. Abarzua *et al.* ont en effet montré que la micro-injection de l'anticorps PAb421 dans des cellules de cancer du côlon exprimant une p53 mutante (SW480) est capable de réactiver la fonction de transactivation de la p53 [18]. L'introduction

de petits peptides correspondant à la partie carboxy-terminale de la p53 a le même effet [19]. Cette réactivation de la p53 mutante s'accompagne d'une mort des cellules par apoptose [20]. Les mécanismes à la base de la réactivation de p53 par des réactifs ou des anticorps spécifiques du domaine carboxy-terminal ne sont pas connus; il est néanmoins probable qu'ils impliquent une modification conformationnelle de cette molécule flexible qu'est p53.

L'ensemble de ces résultats montre donc que l'inactivation de p53 par diverses mutations n'est pas un phénomène irréversible et qu'il est possible de réactiver, même partiellement, son activité de transactivation. Sachant que cette protéine mutante est en quantité extrêmement importante dans les cellules tumorales, on peut penser que la réactivation de seulement 10 % de cette p53 pourrait induire la mort des cellules tumorales ■

## RÉFÉRENCES

- Harris CC. Structure and function of the p53 tumor suppressor gene: clues for rational cancer therapeutic strategies. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1442-55.
- Roth JA, Nguyen D, Lawrence DD, Kemp BL, Carrasco CH, Ferson DZ, et al. Retrovirus-mediated wild-type p53 gene transfer to tumors of patients with lung cancer. *Nature Med* 1996; 2: 985-91.
- Momand J, Zambetti GP. Mdm-2: « Big brother » of p53. *J Cell Biochem* 1997; 64: 343-52.
- Wu XW, Bayle JH, Olson D, Levine AJ. The p53 mdm-2 autoregulatory feedback loop. *Gene Dev* 1993; 7: 1126-32.
- Haupt Y, Maya R, Kazaz A, Oren M. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53. *Nature* 1997; 387: 296-9.
- Kubbutat MHG, Jones SN, Vousden KH. Regulation of p53 stability by Mdm2. *Nature* 1997; 387: 299-303.
- Cordon-Cardo C, Latres E, Drobniak M, Oliva MR, Pollack D, Woodruff JM, et al. Molecular abnormalities of mdm2 and p53 genes in adult soft tissue sarcomas. *Cancer Res* 1994; 54: 794-9.
- Reifenberger G, Liu L, Ichimura K, Schmidt EE, Collins VP. Amplification and overexpression of the MDM2 gene in a subset of human malignant gliomas without p53 mutations. *Cancer Res* 1993; 53: 2736-9.
- McCann AH, Kirley A, Carney DN, Corbally N, Magee HM, Keating G, et al. Amplification of the MDM2 gene in human breast cancer and its association with MDM2 and p53 protein status. *Br J Cancer* 1995; 71: 981-5.
- Kussie PH, Gorina S, Marechal V, Elenbaas B, Moreau J, Levine AJ, et al. Structure of the MDM2 oncoprotein bound to the p53 tumor suppressor transactivation domain. *Science* 1996; 274: 948-53.
- Picksley SM, Vojtesek B, Sparks A, Lane DP. Immunochemical analysis of the interaction of p53 with MDM2; fine mapping of the MDM2 binding site on p53 using synthetic peptides. *Oncogene* 1994; 9: 2523-9.
- Blaydes JP, Gire V, Rowson JM, Wynford Thomas D. Tolerance of high levels of wild-type p53 in transformed epithelial cells dependent on auto-regulation by mdm-2. *Oncogene* 1997; 14: 1859-68.
- Hupp TR, Meek DW, Midgley CA, Lane DP. Regulation of the specific DNA binding function of p53. *Cell* 1992; 71: 875-86.
- Hupp TR, Lane DP. Two distinct signaling pathways activate the latent DNA binding function of p53 in a casein kinase II-independent manner. *J Biol Chem* 1995; 270: 18165-74.
- Hupp TR, Sparks A, Lane DP. Small peptides activate the latent sequence-specific DNA binding function of p53. *Cell* 1995; 83: 237-45.
- Hupp TR, Meek DW, Midgley CA, Lane DP. Activation of the cryptic DNA binding function of mutant forms of p53. *Nucleic Acids Res* 1993; 21: 3167-74.
- Shaw P, Freeman J, Bovey R, Iggo R. Regulation of specific DNA binding by p53: evidence for a role for o-glycosylation and charged residues at the carboxy-terminus. *Oncogene* 1996; 12: 921-30.
- Abarzua P, Losardo JE, Gubler ML, Neri A. Microinjection of monoclonal antibody PAb421 into human SW480 colorectal carcinoma cells restores the transcription activation function to mutant p53. *Cancer Res* 1995; 55: 3490-4.
- Abarzua P, LoSardo JE, Gubler ML, Spathis R, Lu YA, Felix A, et al. Restoration of the transcription activation function to mutant p53 in human cancer cells. *Oncogene* 1996; 13: 2477-82.
- Selinova G, Iotsova V, Okan I, Fritsche M, Ström M, Groner B, et al. Restoration of the growth suppression function of mutant p53 by a synthetic peptide derived from the p53 C-terminal domain. *Nature Med* 1997; 3: 632-8.
- Bischoff JR, Kim DH, Williams A, Heise C, Horn S, Muna M, et al. An adenovirus mutant that replicates selectively in p53-deficient human tumor cells. *Science* 1996; 274: 373-6.

## Thierry Soussi

UMR 218 du Cnrs, Génotoxicologie et modulation de l'expression génique, 26, rue d'Ulm, Pavillon Trouillet-Rossignol, 75248 Paris Cedex 05, France.

## TIRÉS À PART

T. Soussi.