

Réparation de l'ADN et cancer

Les gènes de réparation des bases oxydées dans l'ADN sont-ils des gènes suppresseurs de tumeurs ?

Serge Boiteux, J. Pablo Radicella

Des mutations ponctuelles sont responsables d'une ou de plusieurs étapes du processus complexe de cancérogenèse chez l'homme. Ces mutations vont modifier le fonctionnement de certains gènes et leur conférer un caractère oncogénique ou inactiver des gènes suppresseurs de tumeurs. Ce modèle implique qu'une augmentation de la mutagenèse aura pour conséquence une accélération du processus de cancérogenèse. Des résultats récents ont démontré l'existence d'une relation causale entre un phénotype mutateur et le développement des cancers. L'inactivation du gène *MSH2*, l'homologue humain du gène *mutS* bactérien qui est essentiel pour le système de correction des erreurs de

réplication, s'accompagne d'une augmentation de la mutagenèse spontanée et provoque le développement précoce de cancers [1-4]. L'hypothèse de travail développée dans le laboratoire propose que le stress oxydatif endogène induit la formation de lésions mutagènes dans l'ADN et que les effets biologiques de ces lésions sont contrecarrés par l'action des protéines de réparation de l'ADN. Ce modèle implique que l'inactivation des gènes responsables de la réparation des lésions oxydatives produit un phénotype mutateur spontané. L'augmentation de la fréquence des mutations pourrait, à son tour, favoriser le démarrage du processus de tumorigenèse (figure 1). En d'autres termes, nous proposons que les gènes de réparation des bases oxy-

dées dans l'ADN appartiennent à la famille grandissante des gènes «suppresseurs de tumeurs» [5].

Le stress oxydatif endogène

Le métabolisme cellulaire produit de nombreuses molécules qui sont susceptibles de réagir avec les constituants de la cellule. Les espèces dérivées de l'oxygène sont probablement les molécules réactives les plus abondantes parmi celles qui se forment de manière inévitable dans les cellules humaines [6]. Des molécules comme le radical hydroxyle (OH^{*}) ou l'oxygène singulet (¹O₂) sont capables de réagir directement avec l'ADN. D'autres, comme l'ion superoxyde (O₂^{*}) et le peroxyde d'hydrogène

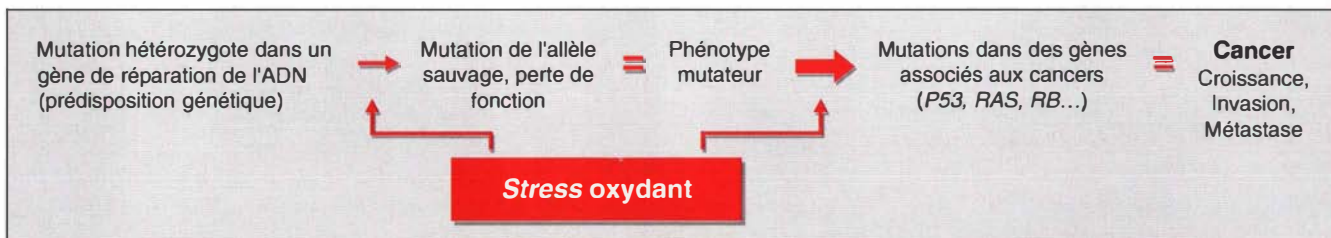


Figure 1. Les gènes de réparation des lésions oxydatives sont potentiellement des suppresseurs de tumeurs. Le stress oxydatif endogène engendre continuellement des lésions mutagènes dans l'ADN. L'inactivation des deux allèles du gène de réparation va provoquer une augmentation massive de la mutagenèse et induire des altérations dans des gènes directement impliqués dans la transformation oncogénique. L'action antimutatrice des gènes de réparation de l'ADN pourrait ralentir le processus de cancérogenèse et leur valoir d'appartenir à la famille des gènes suppresseurs de tumeurs.

(H₂O₂) ne sont capables d'attaquer l'ADN qu'après transformation en présence d'ions métalliques (Fe²⁺ ou Cu²⁺). Il convient de noter que ces ions métalliques sont nécessaires à la vie des cellules. Une grande variété de lésions sont induites dans l'ADN par les réactifs oxydants. Elles peuvent être classées en trois grandes familles: les sites abasiques, les cassures de chaînes et les bases modifiées [7].

Une base oxydée, la 7,8-dihydro-8-oxoguanine (8-OxoG), a retenu l'attention de nombreuses équipes de recherche. Cette lésion se forme dans l'ADN cellulaire sous l'action du *stress* oxydatif endogène, le nombre de résidus 8-OxoG dans des cellules humaines en culture étant estimé entre 2 et 10 résidus pour 10⁷ paires de bases [8]. L'analyse des propriétés de la 8-OxoG dans l'ADN montre que cette base modifiée est facilement copiée par les ADN polymérase [9]. L'observation la plus importante concerne la nature du nucléotide incorporé en face de la 8-OxoG qui peut être, soit le dCMP, soit le dAMP. Il apparaît que les ADN polymérase impliquées dans la réplication favorisent l'incorporation mutagène du dAMP en créant ainsi une paire 8-OxoG:A. Après un second cycle de réplication, cette incorporation conduira à la fixation d'une mutation qui correspond au remplacement d'une paire G:C par une paire T:A (*figure 2*).

Réparation des bases oxydées chez *Escherichia coli*

Les données rapportées dans la section précédente suggèrent que le *stress* oxydatif endogène pourrait être la cause de mutations spontanées *via* la formation de 8-OxoG. En 1987, nous avons cloné le gène *fpg* de la bactérie *E. coli* qui code pour une 8-OxoG ADN glycosylase. La protéine Fpg est composée de 269 acides aminés et possède un motif en doigt de zinc [10]. Une seconde glycosylase, MutY, agit sur l'ADN contenant de la 8-Oxoguanine. La protéine MutY est composée de 350 acides aminés et possède un groupement fer-soufre [4Fe-4S]²⁺ qui est important pour la

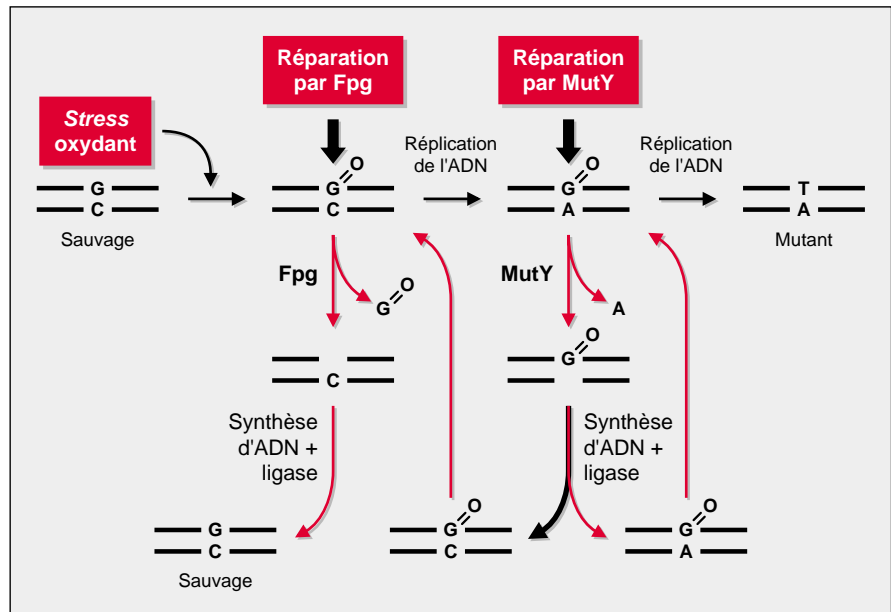


Figure 2. **Représentation schématique du système bactérien pour l'élimination de la 8-oxoguanine de l'ADN.** Chez les bactéries, deux enzymes coopèrent pour éviter l'accumulation des transversions G:C → T:A induites par la présence de la 8-oxoguanine (G=O) dans l'ADN oxydé: la protéine Fpg (8-OxoG ADN glycosylase) et la protéine MutY (adénine ADN glycosylase). Si la 8-OxoG échappe à l'action de Fpg, le dAMP est généralement incorporé par les polymérase répliquatives en face de la lésion. L'ADN portant des paires 8-oxoG:A peut être alors réparé par la protéine MutY qui catalyse l'élimination de l'adénine en face de la base oxydée. La synthèse de réparation dirige alors l'incorporation de dCMP mais aussi d'une façon minoritaire de dAMP. Les paires 8-oxoG:C et 8-oxoG:A ainsi formées peuvent être réparées, respectivement, par la voie de Fpg ou celle de MutY.

fixation à l'ADN. La synthèse des données obtenues chez *E. coli* a conduit à l'élaboration du modèle moléculaire présenté (*figure 2*). Le système est composé des deux ADN glycosylases, Fpg et MutY, qui agissent en synergie. L'efficacité du système réside dans la complémentarité des spécificités de substrat des protéines Fpg et MutY. La protéine Fpg répare efficacement la 8-OxoG appariée à la cytosine, alors qu'elle ne reconnaît pas la 8-OxoG appariée à l'adénine. Pour sa part, la protéine MutY excise l'adénine lorsqu'elle est appariée à la 8-OxoG. Il convient de noter que la protéine MutY excise une base normale de l'ADN, l'adénine, dans une paire non canonique. La protéine MutY est, en revanche, incapable d'exciser l'adénine appariée à une thymine, ce qui est bien sûr vital pour la cellule. L'import-

tance biologique de ce système de réparation est démontrée par l'étude des phénotypes des mutants *fpg* et *mutY*. L'inactivation de l'un ou l'autre de ces gènes provoque un phénotype mutateur spontané modéré, de 10 à 100 fois le niveau du témoin. L'inactivation des deux gènes augmente de plus de 1000 fois le niveau de la mutagenèse spontanée [11]. L'analyse du spectre des mutations dans ces souches montre qu'il s'agit de substitutions de bases et très majoritairement de transversions GC → TA [11]. La fréquence de mutation dans un mutant *fpg mutY* est supérieure à celle résultant de l'inactivation du gène *mutS* qui est nécessaire au fonctionnement du système de correction des erreurs de réplication. Les propriétés des protéines Fpg et MutY ainsi que la spécificité du phénotype mutateur des

en 3p25 [14]. Cette localisation est potentiellement importante dans la mesure où des réarrangements de cette région du chromosome 3 sont fréquents dans de nombreuses tumeurs humaines, principalement dans les tumeurs du poumon. Pour ces dernières, et dépendant du type de tumeur, entre 73 % et 100 % des cas étudiés présentent une perte d'hétérozygotie dans la région 3p20-25 [15]. Par ailleurs, l'analyse des mutations dans la protéine P₅₃ dans les tumeurs du poumon montre un excès de transversions G:C → T:A qui pourrait être la signature de la présence de 8-OxoG. Cependant, une étude récente portant sur un échantillon de 28 tumeurs pulmonaires, n'a pas révélé une absence totale d'expression du gène *OGG1* [15]. Des analyses plus fines sont donc nécessaires pour conclure quant à l'éventuelle importance du gène *OGG1* dans la prévention des cancers chez l'homme.

Conclusions

Dans l'état actuel de nos connaissances, nous ne pouvons pas apporter une réponse non ambiguë à la question posée dans le titre de cet article. Cependant, les outils biologiques sont maintenant disponibles pour étudier les relations entre la réparation des bases oxydées et la cancérogenèse (figure 1). Trois approches sont en cours de développement: (1) l'analyse de l'expression du gène *OGG1* dans les tumeurs humaines; (2) la recherche de mutations dans le gène *OGG1* dans ces tumeurs et (3) la construction de souris transgéniques *ogg1*^{-/-}. Dans l'attente de ces résultats, notre conclusion est que *OGG1* est un gène suppresseur de tumeur potentiel ■

RÉFÉRENCES

1. Fishel R, Lescoe MK, Rao MRS, Copeland NG, Jenkins NA, Garber J, Kane M, Kolodner R. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell* 1993; 75: 1027-38.
2. Leach FS, Nicolaides N, Papadopoulos N, Liu B, Jen J, Parsons R, Peltomaki P, Sistonen P, et al. Mutations of a *mutS* homolog in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cell* 1993; 75: 1215-25.
3. Parsons R, Li GM, Longley MJ, Papadopoulos N, Jen J, de la Chapelle A, Kinzler KW, Vogelstein B, Modrich P. Hypermutability and mismatch repair deficiency in RER⁺ tumor cells. *Cell* 1993; 75: 1227-36.
4. Thomas G. Dix ans de recherche sur les prédispositions génétiques au développement des tumeurs. *Med Sci* 1995; 11: 336-48.
5. Haber D, Harlow E. Tumour-suppressor genes: evolving definitions in the genomic age. *Nat Genet* 1997; 16: 320-3.
6. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford: Clarendon Press, 1989.
7. Sies H. *Oxidative stress, oxidants and antioxidants*. London: Academic Press, 1991.
8. Epe B. DNA damage profiles induced by oxidizing agents. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1995; 127: 223-49.
9. Shibutani S, Takeshita M, Grollman AP. Insertion of specific bases during DNA synthesis past the oxidation-damaged base 8-OxoG. *Nature* 1991; 349: 431-4.
10. Boiteux S, O'Connor TR, Laval J. Formamidopyrimidine DNA glycosylase of *E. coli*: cloning and sequencing of the structural *fpg* gene and overproduction of the protein. *EMBO J* 1987; 6: 3177-83.
11. Michaels ML, Cruz C, Grollman AP, Miller JH. Evidence that MutY and MutM combine to prevent mutations by an oxidative damaged form of guanine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 7022-5.
12. Van der Kemp P, Thomas D, Barbey R, De Oliveira R, Boiteux S. Cloning and expression in *E. coli* of the *OGG1* gene of *S. cerevisiae* which codes for a DNA glycosylase that excises 7,8-dihydro-8-oxoguanine and 2,6-diamino-4-hydroxy-5-N-methylformamidopyrimidine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 5197-202.
13. Thomas D, Scot AD, Barbey R, Padula M, Boiteux S. Inactivation of *OGG1* increases the incidence of G:C → T:A transversions in *Saccharomyces cerevisiae*: evidence for endogenous oxidative damage to DNA in eukaryotic cells. *Mol Gen Genet* 1997; 254: 171-8.
14. Radicella JP, Dherin C, Desmaze C, Fox MS, Boiteux S. Cloning and characterization of *hOGG1*, a human homolog of the *OGG1* gene from *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 8010-5.
15. Arai K, Morishita K, Shinmura K, Kohno T, Kim SR, Nohmi T, Taniwaki M, Ohwada S, Yokota J. Cloning of a human homolog of the yeast *OGG1* gene that is involved in the repair of oxidative damage. *Oncogene* 1997; 14: 2857-61.

Serge Boiteux

Directeur de recherches au Cnrs.

J. Pablo Radicella

Chercheur CEA. UMR 217 CEA-Cnrs, Laboratoire de radiobiologie de l'ADN, CEA-Direction des sciences du vivant, 92265 Fontenay-aux-Roses, France.

TIRÉS À PART

S. Boiteux.