

Du développement à la sénescence : un équilibre réglé par des inhibiteurs de la transcription du groupe Polycomb

Les gènes de la famille Polycomb sont des inhibiteurs transcriptionnels qui jouent un rôle capital pour le maintien du profil d'expression de gènes et notamment ceux de la famille *Hox*, impliqués dans le développement (*m/s* 1996, n° 8/9, p. 959). Parmi eux, *bmi-1* a tout particulièrement suscité l'intérêt des spécialistes du contrôle de la prolifération cellulaire : son inactivation chez la souris entraîne un défaut majeur du développement cérébelleux et du système lymphoïde, alors que son expression inappropriée favorise la formation de lymphomes [1, 2]. Jusqu'à une date récente, les gènes contrôlés par Bmi-1 et impliqués dans ces phénomènes restaient inconnus. Une partie du mystère a été levée dans une lettre récente à *Nature* publiée par le groupe de Maarten van Lohuizen [3]. Les auteurs ont été alertés par le phénotype des fibroblastes embryonnaires murins de génotype *bmi*^{-/-} évoquant une entrée précoce en sénescence. Cette sénescence n'est plus observée après transfert rétroviral de *bmi-1*, l'inversion étant dépendante de la présence du domaine RING indispensable pour l'activité oncogénique de Bmi-1. Inversement, des fibroblastes embryonnaires sauvages exprimant artificiellement Bmi-1 prolifèrent rapidement et, après la période de crise cellulaire, se transforment facilement. Compte tenu de données récentes impliquant le locus *ink4a-ARF/MTS1*, comme un régulateur central des mécanismes de prolifération (*m/s* 1996, n° 2, p. 224) (*figure 1*), les auteurs ont fait l'hypothèse que le phénotype des fibroblastes embryonnaires murins de génotype *bmi*^{-/-} pourrait être lié à une dérégulation des produits de ce locus. Ces produits, p16^{INK4A} et p19^{ARF} (p14^{ARF} chez l'homme), dont les ARN sont exprimés à partir de deux promoteurs distincts, sont des suppresseurs de tumeurs [4]. Leur expression inhibe la progression du cycle cellulaire et

induit une sénescence répliquative. p16^{INK4A} contrôle la progression dans la phase G1 du cycle cellulaire dépendante de la phosphorylation du produit du gène *Rb*. p19^{ARF} est un activateur des fonctions de p53 qui agit par une voie distincte de celle impliquée dans la réponse aux lésions de l'ADN. Des arguments forts font des produits de *MTS1* des cibles transcriptionnelles (directes ou indirectes) majeures de Bmi-1, et des partenaires obligés dans le phénotype décrit plus haut : (1) les fibroblastes de génotype

bmi-1^{-/-} expriment des niveaux élevés de transcrits et protéines p16^{INK4A} et p19^{ARF} (à un moindre degré). Ce niveau élevé ne s'observe plus lorsque l'expression de Bmi-1 est rétablie dans ces fibroblastes. (2) L'entrée précoce en sénescence ne s'observe plus dans les fibroblastes *bmi-1*^{-/-}, *MTS1*^{-/-}. (3) Les fibroblastes murins exprimant Bmi-1 peuvent être transformés par Ras comme les fibroblastes de phénotype *MTS1*^{-/-} alors que les fibroblastes sauvages réclament la coopération avec un autre

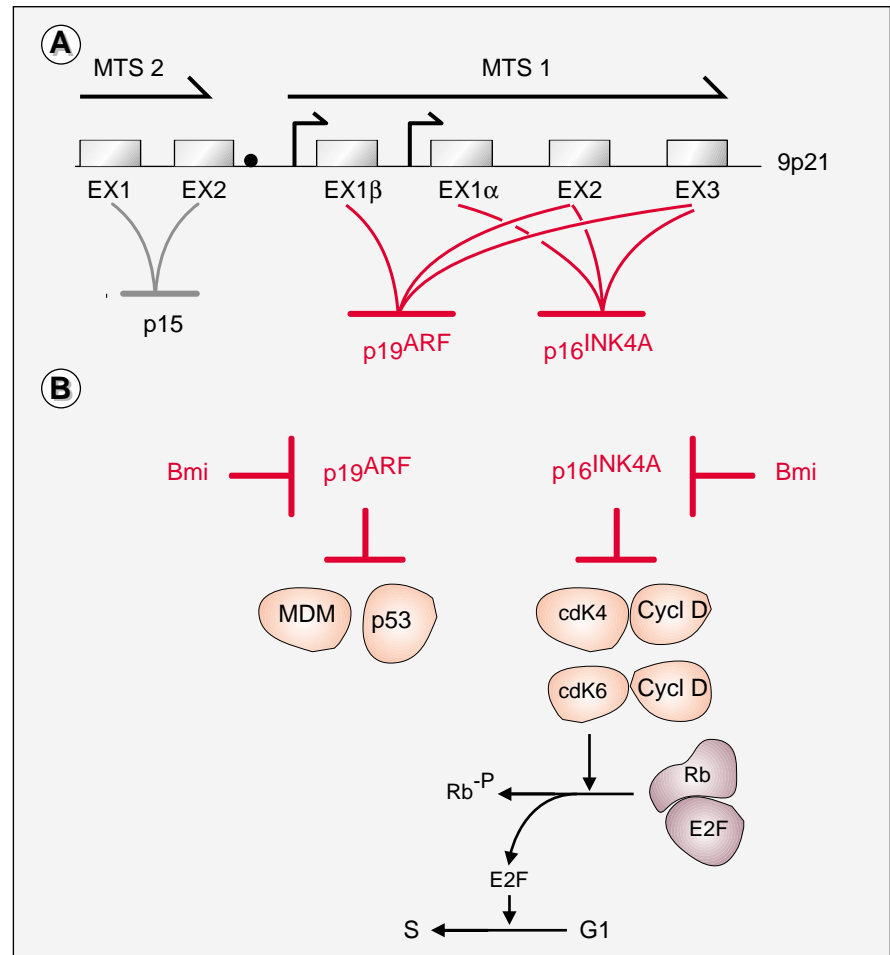


Figure 1. **A.** Organisation des locus MTS1 et MTS2 codant pour les gènes p19^{ARF} et p16^{INK4A}, cibles de Bmi. **B.** Conséquences de la fixation de Bmi sur ses cibles pour la transition G1/S du cycle cellulaire [5].

S
E
T
E
T
E
N
O
M

oncogène (comme *myc*). (4) Les effets de l'inactivation de *bmi-1* sur le développement cérébelleux et thymique sont très largement supprimés lorsque des croisements entre des souris de génotype *bmi-1^{-/-}* et *MTS1^{-/-}* sont réalisés suggérant que les produits de *MTS1* sont activement réprimés dans ces tissus. Ces résultats montrent que le développement embryonnaire nécessite un contrôle étroit des gènes impliqués dans la sénescence replica-

tive. Ils éclairent également le rôle de Bmi-1 dans l'oncogénèse : l'expression inappropriée de Bmi-1 peut être considérée comme un équivalent fonctionnel de l'inactivation d'Ink4a-ARF/*MTS1* dont les produits sont impliqués dans les deux voies majeures de suppression des tumeurs.

F.S.

1. Van der Lugt N, Domen S, Linders K, et al. Posterior transformation, neurological abnormalities and severe hematopoietic defects in mice with a

targeted deletion of the Bmi-1 proto-oncogene. *Genes Dev* 1994; 8: 757-69.

2. Alkema MJ, Jacobs H, van Lohuizen M, Berns A. Perturbation of B and T development and predisposition to lymphomagenesis in Eμ-Bmi1 transgenic mice require the Bmi RING finger. *Oncogene* 1997; 15: 899-910.

3. Jacobs JJ, Kieboom K, Marino S, De Pinho RA, Van Hohnuizen M. The oncogene and Polycomb group gene *bmi-1* regulates cell proliferation and senescence through the *ink4a* locus. *Nature* 1999; 397: 164-8.

4. Serrano M, Lee H, Chin L, Cordon Cardo C, Beach D, De Pinho RA. Role of the *ink4a* locus in tumor suppression and cell mortality. *Cell* 1996; 85: 27-37.

5. Weber JD, Taylor LJ, Roussel MF, Stern CJ, Barsagi D. Nucleolar Arf sequesters Mdm2 and activates p53. *Nat Cell Biol* 1999; 1: 20-8.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **L'adaptateur SH2/SH3 Grb2 est indispensable dès le stade blastocyste du développement embryonnaire.** La protéine Grb2 joue un rôle essentiel d'adaptateur moléculaire par ses domaines SH2 (qui se lie à de nombreuses protéines phosphorylées comme shc, bcr-abl, FAK...) et SH3 (qui permettent la fixation de domaines protéiques riches en proline, comme sos) [1]. Le complexe moléculaire ainsi formé entre Grb2, Sos lié au GTP, et Shc phosphorylé active en aval la voie de ras. L'inactivation du gène *Grb2* (délétion des domaines SH2 et SH3) décrite par Cheng et al. dans *Cell* [2] bloque le développement embryonnaire très tôt après l'implantation de l'œuf. La transition morula-blastocyste se produit normalement dans les mutants *Grb2^{-/-}*, mais il n'y a pas formation, à partir du blastocyste, des cellules de la masse interne (*inner cell mass*), ni des feuillettes endodermiques pariétal et viscéral qui en dérivent. En revanche, la production de cellules trophoblastiques, issues aussi du blastocyste, est intacte. Cette altération de la différenciation de l'endoderme dans les mutants *Grb2^{-/-}* est mimée dans le système des cellules ES (*embryonic stem cells*). Lorsque des cellules ES *Grb2^{-/-}* sont agrégées, *in vitro*, à des morula issues de souris transgéniques pour le gène *lacZ*, et que les agrégats sont implantés dans des femelles pseudogestantes, aucune participation des cellules ES *Grb2^{-/-}* aux tissus embryonnaires n'est détectable. De même, *in vitro*, les cellules ES *Grb2^{-/-}* sevrées de LIF (*leukemia inhibiting factor*) ne forment pas d'endoderme, alors que, curieusement, leur prolifération n'est

pas affectée par la mutation. La différenciation des cellules ES *Grb2^{-/-}* en endoderme est restaurée par la transfection du gène normal *Grb2*, ou d'un mutant de *H-ras* codant pour une protéine activée, ou encore d'une construction codant pour une protéine hybride où le domaine C terminal de Sos est remplacé par le domaine SH2 de Grb2, reconstituant ainsi le complexe moléculaire physiologiquement actif. On note aussi un retard dans l'apparition de carcinomes mammaires chez les animaux transgéniques pour l'oncogène MT (*middle T antigen*) et hétérozygote *Grb2^{-/-}*, suggérant que la mutation *Grb2^{-/-}* interrompt la voie de signalisation utilisée par MT. Les facteurs extracellulaires qui, au cours de l'embryogenèse précoce, activent les voies de signalisation utilisant Grb2 sont inconnus. Les auteurs soulignent que les anomalies du développement des embryons *Grb2^{-/-}* rappellent celles des embryons dans lesquels les gènes codant pour l'intégrine $\beta 1$, ou pour les récepteurs de l'EGF (*epidermal growth factor*) et du FGF (*fibroblast growth factor*) ont été inactivés. Ces molécules partageant beaucoup d'effecteurs des voies de transmission du signal, on peut penser que la voie Grb2-ras serait essentielle dans la transmission des signaux induits par les molécules d'adhérence et les cytokines au cours du développement embryonnaire et particulièrement au stade du blastocyste.

[1. Chardin P. *Med Sci* 1994; 10: 709-12.]

[2. Cheng AM, et al. *Cell* 1998; 95: 793-803.]

■■■■ **Dégranulation des signaux de mort.** Les lymphocytes T et les cellules NK (*natural killer*) ont deux moyens de tuer des cellules infectées ou tumorales : l'expression du ligand de Fas (FasL) qui induit l'apoptose des cellules exprimant Fas, et le relarguage de perforine et des granzymes à partir de granules lytiques [1]. En aval, ces deux voies ont en commun d'activer rapidement la cascade des caspases dans les cellules cibles, ce qui conduit à leur mort. On sait maintenant que les lymphocytes activés et les cellules NK peuvent aussi accumuler FasL dans des granules lytiques qui éventuellement contiennent de la perforine et des granzymes [2]. En réponse à une stimulation antigénique, un processus de dégranulation interviendrait qui libérerait FasL qui pourrait s'exprimer à la surface des cellules et provoquer l'apoptose des cellules présentatrices de l'antigène. Un mécanisme similaire explique la libération du TNF α , accumulé dans les mastocytes, et relargué lors de la dégranulation des mastocytes en réponse à l'activation du récepteur des IgE [3]. Le stockage de ces signaux mortels dans des granules permettrait une réaction très rapide à une restimulation antigénique puisqu'une synthèse *de novo* des protéines effectrices n'est pas nécessaire.

[1. Golstein P. *Med Sci* 1995; 11: 99-104.]

[2. Bossi G, et al. *Nat Med* 1999; 5: 90-6.]

[3. Hahne M. *FEBS Lett* 1995; 373: 265-8.]