



conception de molécules inhibitrices ciblant ces enzymes. Interagissant avec le site d'édition post-transfert, ce composé présente la particularité d'inhiber la LeuRS en réagissant spécifiquement avec l'ARNt^{Leu}, l'un de ses substrats, formant alors un complexe indissociable, dont la demi-vie a été estimée à plus de 7 heures dans le cas de l'enzyme de levure (Figure 1). L'atome de bore, constituant majeur du cycle oxaborole, requiert alors la présence des deux groupements hydroxyles libres uniquement présents sur l'adénosine terminale. Cela implique que seul l'ARNt^{Leu} non aminoacylé peut être piégé par le AN2690, démontrant ainsi la grande spécificité de ce composé. Ainsi, grâce l'utilisation de molécules appropriées, ce mécanisme visant à piéger spécifi-

quement les ARNt pourrait être employé pour inhiber d'autres aaRS possédant une activité d'édition post-transfert. Ces résultats démontrent de plus le potentiel que constitue l'incorporation du bore, un élément naturel majeur peu utilisé jusqu'à maintenant, dans des inhibiteurs d'enzyme rationnellement conçus. ♦

**Trap the product
to specifically inhibit the enzyme**

RÉFÉRENCES

1. Ibba M, Francklyn C, Cusack S (eds). *The aminoacyl-tRNA synthetases*. Georgetown, Texas, USA : Landes Bioscience/Eurekah.com, 2005 : 78626.
2. Cusack S, Yaremchuk A, Tkalalo M. The 2 Å crystal structure of leucyl-tRNA synthetase and its complex with a leucyl-adenylate analogue. *EMBO J* 2000 ; 19 : 2351-61.
3. Lincecum TL, Tkalalo M, Yaremchuk A, et al. Structural and mechanistic basis of pre- and posttransfer editing by leucyl-tRNA synthetase. *Mol Cell* 2003 ; 11 : 951-63.
4. Mursinna RS, Lincecum TL, Martinis SA. A conserved threonine within *Escherichia coli* leucyl-tRNA synthetase prevents hydrolytic editing of leucyl-tRNA^{Leu}. *Biochemistry* 2001 ; 40 : 5376-81.
5. Zhai Y, Martinis SA. Two conserved threonines collaborate in the *Escherichia coli* leucyl-tRNA synthetase amino acid editing mechanism. *Biochemistry* 2005 ; 44 : 15437-43.
6. Baker SJ, Zhang YK, Akama T, et al. Discovery of a new boron-containing antifungal agent, 5-fluoro-1,3-dihydro-1-hydroxy-2,1-benzoxaborole (AN2690), for the potential treatment of onychomycosis. *J Med Chem* 2006 ; 49 : 4447-50.
7. Alley MR, Baker SJ, Beutner KR, Plattner J. Recent progress on the topical therapy of onychomycosis. *Expert Opin Investig Drugs* 2007 ; 16 : 157-67.
8. Rock FL, Mao W, Yaremchuk A, et al. An antifungal agent inhibits an aminoacyl-tRNA synthetase by trapping tRNA in the editing site. *Science* 2007 ; 316 : 1759-61.
9. Beutner K, Toledo-Bahena M, Barbosa-Alanis H, et al. Interim results of a multi-center study to evaluate the safety and efficacy of topically applied AN2690 5.0% and 7.5% solutions for the treatment of onychomycosis of the great toe nail. Washington : 65^e Meeting annuel de l'American Academy of Dermatology, 2007. 1802 (poster).

NOUVELLE

p27^{Kip1}, suppresseur de tumeur... et oncogène ?

Arnaud Besson

LBCMCP - CNRS UMR 5088,
Université Paul Sabatier,
118, Route de Narbonne, Batiment 4R3b1,
31062 Toulouse Cedex 09, France.
abesson@cict.fr

Le rôle classique de p27 dans le noyau : inhibiteur des complexes cycline/CDK

p27^{Kip1} (p27) est un inhibiteur du cycle cellulaire et peut entraîner un arrêt de la prolifération en phase G1 du cycle cellulaire en réponse à des signaux anti-mitotiques [1, 11]. p27 exerce son activité anti-proliférative en inhibant les complexes cyclines/CDK (*cyclin-dependent kinase*) dont l'activité kinase est requise pour la progression dans le cycle cellulaire. La partie amino-terminale de p27 contient des domaines d'interaction spécifiques pour les cyclines et CDK, et la liaison de p27 d'une part occulte un domaine d'interaction entre la cycline et son substrat, et d'autre part empêche la liaison de l'ATP au site catalytique de la CDK [1]. L'importance de p27 dans le contrôle du cycle cellu-

laire est soulignée par les phénotypes des souris p27^{-/-}, dont la taille est augmentée d'environ 30 %, divers organes sont hyperplasiques, et les épithéliums sensoriels de la rétine et de l'oreille interne sont désorganisés [2]. Tous ces phénotypes sont attribués à une augmentation globale de la prolifération en l'absence de p27.

p27 est également un suppresseur de tumeur, puisque dans les souris p27^{-/-}, l'absence de la protéine entraîne des tumeurs spontanées de l'hypophyse et augmente la sensibilité des animaux à la tumorigenèse induite par des carcinogènes ou par une irradiation [2, 3]. De plus, chez la souris, la perte de p27 augmente la prédisposition à la tumorigenèse causée par la perte d'autres suppresseurs de tumeurs (comme PTEN, APC, ou p18^{INK4c}). La perte de l'expres-

sion nucléaire de p27 est communément observée dans de nombreux types de cancers chez l'homme (dont sein, côlon, prostate, ovaire, poumon, cerveau, estomac...) et la diminution du niveau de p27 est un facteur pronostic négatif, souvent associée à des tumeurs agressives [4].

Un rôle nouveau, oncogénique, de la forme cytoplasmique de p27

Cependant, un certain nombre de données expérimentales indiquent que le rôle de p27 au cours de la tumorigenèse n'est pas aussi simple qu'initialement anticipé et pourrait s'étendre au-delà de l'inhibition des complexes cycline/CDK et du contrôle de la prolifération. Tout d'abord, p27 est un suppresseur de tumeurs atypique puisque les mutations du gène de p27 dans les tumeurs sont

extrêmement rares, alors qu'elles sont fréquentes dans les suppresseurs de tumeurs classiques comme p53 ou Rb [3, 4]. En fait, p27 est préférentiellement inactivé par une augmentation de sa dégradation protéolytique ou par son exclusion du noyau [5]. De plus, le niveau de p27 dans les tumeurs n'est pas toujours corrélé avec l'index prolifératif et p27 est un marqueur pronostique indépendant de marqueurs de prolifération comme Ki 67 ou la cycline E [4]. De plus en plus de données indiquent que la localisation cellulaire de p27 est cruciale pour le contrôle de sa fonction, et sa localisation cytoplasmique est généralement un facteur pronostic négatif [4, 5]. Ceci est conforté par les résultats d'études *in vivo* : les souris hétérozygotes $p27^{+/-}$ sont plus sensibles à la tumorigénèse que les animaux $p27^{-/-}$ dans des modèles de tumeurs de la prostate et des glandes mammaires, suggérant une contribution active de l'allèle res-

tant de p27 à la tumorigénèse [4]. En revanche, comme nous l'avons montré, des souris *knock-in* portant un allèle $p27^{S10A}$, qui est presque exclusivement nucléaire, sont résistantes à la tumorigénèse induite par l'uréthane, malgré une réduction globale de la quantité de p27 dans ces animaux [6]. L'ensemble de ces données suggère donc que p27 pourrait avoir un autre rôle, indépendamment de son inhibition des complexes cycline/CDK, qui s'exercerait dans le cytoplasme, et pourrait contribuer à la tumorigénèse.

Contrôle de l'activité de RhoA par p27

Plusieurs études ont commencé à caractériser ces fonctions de p27 indépendantes des cycline/CDK. Notamment, nous avons découvert que p27 pouvait réguler le cytosquelette d'actine et la migration cellulaire en modulant l'activité de la GTPase RhoA, une activité localisée dans la moitié carboxy-terminale de p27 [7]. p27 peut se

lier à RhoA et de ce fait empêche RhoA d'interagir avec, et d'être activée par, ses GEF (*guanine-nucleotide exchange factor*) qui activent les GTPases en facilitant l'échange du GDP pour le GTP [7]. Cette fonction de p27 est cruciale pour le contrôle de la migration des neurones corticaux au cours du développement embryonnaire chez la souris [8]. De plus, *via* sa partie amino-terminale, p27 module la différenciation des progéniteurs neuronaux *in vivo*, indépendamment de la régulation des cyclines/CDK, en stabilisant la Neurogénine-2 [8].

Afin de déterminer l'importance de la contribution des fonctions indépendantes des cyclines/CDK de p27 *in vivo*, notamment au cours de la tumorigénèse, nous avons construit un modèle de souris *knock-in* dans lequel le gène de p27 a été remplacé par un allèle ($p27^{CK-}$) codant pour une protéine qui ne peut plus interagir avec les complexes cyclines/CDK [6, 9]. Un certain nombre de phénotypes des souris $p27^{CK-CK-}$ sont identiques à ceux des souris $p27^{-/-}$, comme l'augmentation de la taille et la stérilité des femelles [2, 6], confirmant ainsi que $p27^{CK-}$ n'est plus capable de réguler les complexes cyclines/CDK. Cependant, d'autres phénotypes différents et indiquent l'existence de fonctions indépendantes des cyclines/CDK pour p27 *in vivo*. En particulier, l'allèle $p27^{CK-}$ provoque, et ce de manière dominante (même chez les animaux $p27^{+/CK-}$), l'apparition de lésions hyperplasiques et de tumeurs dans divers organes, dont l'hypophyse (avec une période de latence inférieure à celle qui est observée dans les souris $p27^{-/-}$), le poumon, la rétine, l'ovaire, les surrénales, la rate, ainsi que des lymphomes [9]. $p27^{CK-}$ paraît donc fonctionner comme un oncogène *in vivo*. Des analyses plus approfondies dans la rétine et le poumon ont révélé que la dérégulation de cellules progénitrices ou de cellules souches était responsable de la formation de lésions cancéreuses dans ces tissus. Dans le poumon, l'amplification d'une population de cellules souches bronchio-

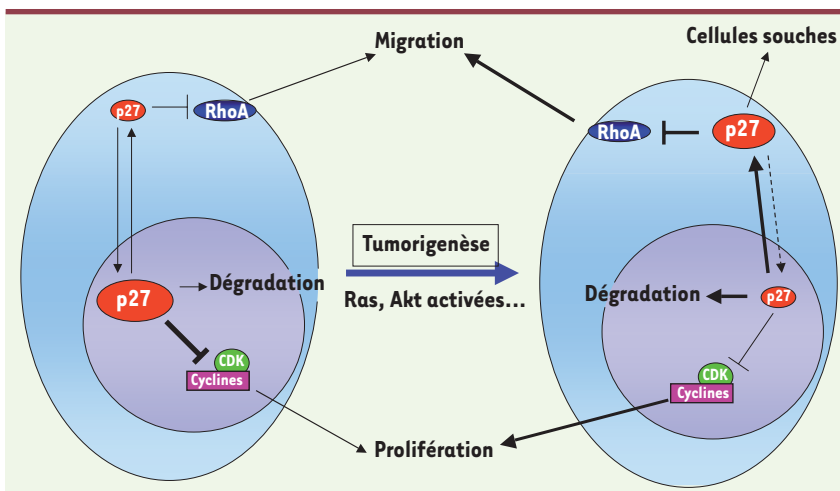


Figure 1. Modèle proposé pour les différentes actions de p27. Dans l'état actuel de nos connaissances, le modèle suivant peut être envisagé : dans les cellules normales, la dégradation et la localisation de p27 sont soigneusement contrôlées. p27 est principalement nucléaire et restreint la prolifération en inhibant les complexes cyclines-CDK. Une fraction de p27 dans le cytoplasme participe à la régulation de la migration (notamment des progéniteurs neuronaux) en modulant l'activité de RhoA. Dans les cellules tumorales, l'activation de voies de signalisation oncogéniques (comme Ras, PI3-K (*phosphatidyl inositol 3-kinase*) et Akt/PKB) conduit à la perte de la fonction nucléaire de régulation du cycle cellulaire de p27, soit par augmentation de sa dégradation, soit par exclusion du noyau. L'augmentation de la fraction cytoplasmique de p27 pourrait contribuer activement à la tumorigénèse *via* la dérégulation des voies de signalisation de RhoA, et également à la dérégulation des cellules souches dans certains tissus.



alvéolaires, récemment décrites [10], semble responsable de la formation de lésions hyperplasiques et dysplasiques, qui progressent vers la formation d'adénomes puis d'adénocarcinomes [9]. Le mécanisme exact par lequel p27^{CK-} cause l'amplification de cette population de cellules souches reste inconnu pour le moment, cependant, des données préliminaires suggèrent une contribution de la dérégulation de la voie de signalisation de RhoA par p27^{CK-}.

Ces nouvelles données fournissent donc une explication potentielle pour l'absence de mutations dans le gène p27 associées aux tumeurs. En effet, le mécanisme oncogénique lui-même pourrait éliminer la fonction suppresseur de tumeur (nucléaire) de p27, tout en maintenant les fonctions oncogéni-

ques (cytoplasmiques) de la protéine (Figure 1). La poursuite de l'étude de ce modèle de souris *knock-in* permettra d'en découvrir plus sur les rôles oncogéniques de p27, et également de déterminer les mécanismes qui régissent le devenir des cellules souches bronchio-alvéolaires et la tumorigénèse dans le poumon. ♦

p27 : tumor suppressor and oncogene?

RÉFÉRENCES

1. Sherr CJ, Roberts JM. CDK inhibitors : positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev* 1999 ; 13 : 1501-12.
2. Fero ML, Rivkin M, Tasch M, et al. A syndrome of multiorgan hyperplasia with features of gigantism, tumorigenesis, and female sterility in p27(Kip1)-deficient mice. *Cell* 1996 ; 85 : 733-44.
3. Fero ML, Randel E, Gurley KE, et al. The murine gene p27Kip1 is haplo-insufficient for tumour suppression. *Nature* 1998 ; 396 : 177-180.
4. Besson A, Assoian RK, Roberts JM. Regulation of the cytoskeleton : an oncogenic function for CDK inhibitors? *Nat Rev Cancer* 2004 ; 4 : 948-55.
5. Slingerland J, Pagano M. Regulation of the CDK inhibitor p27 and its deregulation in cancer. *J Cell Physiol* 2000 ; 183 : 10-17.
6. Besson A, Gurian-West M, Chen X, et al. A Pathway in Quiescent Cells that Controls p27Kip1 Stability, Subcellular Localization and Tumor Suppression. *Genes Dev* 2006 ; 20 : 47-64.
7. Besson A, Gurian-West M, Schmidt A, et al. p27Kip1 modulates cell migration through the regulation of RhoA activation. *Genes Dev* 2004 ; 18 : 862-76.
8. Nguyen L, Besson A, Heng J, et al. p27Kip1 independently promotes neuronal differentiation and migration in the cerebral cortex. *Genes Dev* 2006 ; 20 : 1511-24.
9. Besson A, Hwang HC, Donovan SL, et al. Discovery of an Oncogenic Activity in p27Kip1 that causes Stem Cell Expansion and a Multiple Tumor Phenotype. *Genes Dev* 2007 ; 21 : 1731-46.
10. Kim CF, Jackson EL, Woolfenden AE, et al. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell* 2005 ; 121 : 823-35.
11. Roisin-Bouffay, Gomer RH. Comment atteindre la bonne taille. *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 219-24.

NOUVELLE

Métabonomique et cartographie génétique

Dominique Gauguier, Marc-Emmanuel Dumas

► L'étude des déterminants génétiques des maladies complexes, particulièrement le diabète, l'obésité, l'hypertension artérielle et l'asthme, connaît un essor toujours croissant, qui reflète l'augmentation de la prévalence de ces maladies dans la population générale. Leur succès incontestable est démontré par la localisation chromosomique de nombreux locus de prédisposition et, dans un nombre de cas, l'identification des gènes responsables [1, 2, 14]. Ces études illustrent le progrès des technologies de génotypage et, paradoxalement, les difficultés du phénotypage des patients et des contrôles qui, pour des raisons éthiques ou pragmatiques, emploie des traits pathologiques sou-

vent simples, par exemple l'hyperglycémie ou l'hypertension. Les outils de phénotypage à haut débit, parmi lesquels les technologies de génomique fonctionnelle, permettant d'étudier la régulation de l'expression du génome, peuvent jouer un rôle prépondérant dans la caractérisation du contrôle génétique de marqueurs prédictifs de maladies complexes. Le transcriptome a été appliqué aux études de liaison génétique chez l'homme et dans les modèles animaux [3], mais l'effet physiopathologique de modifications transcriptionnelles est difficile à établir. En revanche, les

D. Gauguier : Wellcome Trust Centre for Human Genetics, Université d'Oxford, Oxford OX3 7BN, Royaume-Uni.
 Inserm U561, Hôpital Saint-Vincent de Paul, 82, avenue Denfert Rochereau, 75014 Paris, France.
 M.E. Dumas : Imperial College London, Département de Médecine Biomoléculaire, Londres SW7 2AZ, Royaume-Uni.
 École Normale Supérieure de Lyon, Centre de RMN à Très Hauts Champs FRE 3008, Laboratoire de Chimie UMR 5182, 46, allée d'Italie, 69364 Lyon cedex 7, France.
gdomi@well.ox.ac.uk
Marc.Dumas@ens-lyon.fr

changements métaboliques qualitatifs ou quantitatifs sont un reflet plus direct d'une pathologie telle que le diabète, dans laquelle le développement de l'hyperglycémie implique des anomalies de l'expression de gènes dans de nombreux organes (pancréas endocrine, foie, tissu adipeux, muscle) que le transcriptome ne peut interroger qu'individuellement.