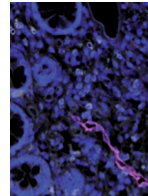


Pourquoi n'avoir que deux copies du gène P53 ?

Jean-Claude Weill

► Dans cet article, nous développons l'idée que le génome humain n'est pas équipé pour nous protéger après l'âge de la reproduction contre certaines maladies comme le cancer et les maladies neuro-dégénératives. Nous prenons comme exemple le cancer et montrons que l'ajout d'un gène suppresseur de tumeur dans son contexte génomique (en utilisant un chromosome artificiel bactérien, ou BAC, pour la transgénèse) protège les souris contre l'apparition de cancers spontanés et induits. Nous montrons également que chez certaines espèces présentant une résistance à l'apparition de cancers, une amplification de gènes suppresseurs de tumeurs est observée. ◀



Institut Necker-Enfants Malades, Inserm U1151, CNRS UMR 8253, faculté de Médecine-site Broussais, université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, 14, rue Maria Helena Vieira Da Silva 75993 Paris Cedex 14, France. jean-claude.weill@inserm.fr

2. Il y aurait un équilibre entre les effets protecteurs contre le cancer que pourraient apporter

plus de gènes suppresseurs de tumeurs, comme le gène *TP53*, et les effets négatifs dus à un excès de signalisation qu'ils provoqueraient et qui entraîneraient la mort cellulaire dans de nombreux tissus lors du développement.

C'est en fait la deuxième hypothèse qui a prévalu initialement, de nombreux auteurs ayant montré qu'une surexpression de la protéine p53 exerçait un effet antitumoral, mais induisait également un vieillissement prématuré chez les souris surexprimant p53 [5-7]. Cependant, le rôle de la protéine p53 dans le syndrome de Li-Fraumeni a été confirmé chez l'animal, les souris ayant une seule copie du gène *TP53* présentant une plus grande incidence de cancers comme dans ce syndrome [8].

Je décidais de reposer cette question, un peu naïve, en collaboration avec Manuel Serrano qui travaillait à Madrid (*Spanish national cancer research center Madrid, Espagne*) sur le cancer et la sénescence. Manuel proposa d'ajouter un gène *TP53* dans le génome de souris, mais sous la forme d'un transgène BAC¹ d'environ 100 kilobases (kb), ce qui permettait de le maintenir dans son contexte de régulation génomique habituel, contrairement aux souris transgéniques précédentes

Cette question me vint à l'esprit en découvrant une situation pathologique : le syndrome de Li-Fraumeni. Dans ce syndrome décrit en 1969, des enfants qui naissent avec seulement une copie fonctionnelle du gène *TP53* (*tumor protein 53*) développent un ou plusieurs cancers avant l'âge de 45 ans [1, 2]. Or, dans la population générale, le pic d'apparition des cancers se situe autour de 70 ans [3].

Le gène *TP53* est un gène suppresseur de tumeur. Il est muté sur les 2 allèles dans environ 50 % des cancers [4] (→) ; la quasi-totalité des autres cancers chez l'homme sont associés à une inactivation de l'un des trois autres gènes suppresseurs de tumeurs présents au locus p15^{INK4b}-p14^{ARF}-p16^{INK4a}. Ma question était donc la suivante : pourquoi n'avons-nous pas plus de copies de ces gènes suppresseurs de tumeur, en particulier de *TP53*, repoussant ainsi l'âge d'apparition de cancers à un âge très avancé ?

On peut envisager deux réponses à cette question :

1. L'évolution n'est pas concernée par ce qui nous arrive après l'âge de la reproduction, ce qui expliquerait la plus grande incidence de cancers et de maladies neuro-dégénératives chez les personnes âgées.

(→) Voir la Synthèse de O. Albagli, m/s n° 10, octobre 2015, page 869

Vignette (Photo © Inserm - Jérôme Galon).

¹ Un transgène BAC (*bacterial artificial chromosome*) consiste en l'introduction dans un génome eucaryote d'un large fragment de chromosome de plusieurs dizaines de milliers de paires de base, déjà annoté, et permettant ainsi d'introduire outre le gène d'intérêt lui-même, toutes les séquences régulatrices qui peuvent jouxter celui-ci, parfois localisées à de grandes distances. Le contrôle de l'expression du gène se rapproche donc alors du contrôle exercé sur cette expression dans des conditions physiologiques normales.



dans lesquelles le gène *TP53* était activé de façon constitutive. Cette approche fit toute la différence. En effet, les souris BAC *TP53* montrèrent une résistance aux cancers spontanés et induits, sans aucun signe de vieillissement accéléré ni de destruction cellulaire [9]. Manuel Serrano et ses collègues construisirent ensuite une souris avec un troisième locus p14-p16, également sous forme de transgène BAC. Ils observèrent à nouveau une résistance accrue à l'apparition de tumeurs [10]. Les souris les plus remarquables en termes de phénotype furent alors celles contenant les deux transgènes p53 et p14-p16². En effet, ces souris montrèrent une résistance aux cancers spontanés et induits, sans aucune lésion tissulaire détectable. De plus, ces souris présentaient une longévité légèrement supérieure à celle de souris contrôle (de 17 %), ce phénotype étant probablement causé par une surexpression des protéines anti-oxydantes, les sestrines [11]. Plus récemment, il a été montré que, dans ces souris, la présence de gènes additionnels codant les protéines p53 et ARF conduisait à une protection des cellules souches neuronales, apportant ainsi une explication supplémentaire à leur longévité [12].

L'étape suivante a été de vérifier *in natura*, si une amplification de gènes suppresseurs de tumeurs était associée à des cas spécifiques de résistance au cancer. Nous avons analysé les locus *TP53* et *CDKN2A* (*cyclin dependent kinase inhibitor 2A*) chez 31 personnes âgées de 80 à 90 ans et ne montrant pas de lésion cancéreuse sur le plan clinique. Nous n'avons observé aucune amplification de ces gènes (F. Delbos et J.C. Weill, résultats non publiés). Ce résultat évoquait le fait que l'absence de tumeurs chez ces personnes avait pour origine d'autres mécanismes de résistance qu'il reste à élucider, et que ce phénomène d'amplification de gènes suppresseurs de tumeurs n'a pas été testé et fixé au cours de l'évolution humaine.

D'autres exemples de résistance au cancer ont été néanmoins décrits. Les patients atteints d'un syndrome de Down (ou trisomie 21) présentent très peu de tumeurs solides en comparaison avec les sujets sains du même âge. Ceci pourrait s'expliquer par le fait qu'ils portent trois copies du gène codant le facteur de transcription *Ets2* (*v-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog 2*) qui active le promoteur du gène *INK4a* (l'un des trois gènes du locus P14-P16) [13]. De plus, dans un modèle murin de syndrome de Down, la trisomie réprime les tumeurs intestinales induites par *APC^{Min}* (*adenomatous polyposis coli ; Min, multiple intestinal neoplasia*) [14]. Malheureusement, le syndrome de Down confère un risque accru de 20 fois de déclencher une leucémie aiguë lymphoblastique (LAL-B), la polysomie 21 étant l'aneuploïdie somatique la plus fréquente dans cette leucémie. La triplification de la région 21q22 du chromosome 21 contribue à la transformation des lymphocytes B par l'intermédiaire de la surexpression de *hMGN1* (*high mobility group nucleosome binding domain 1*)³ et de la perte de triméthylation sur la lysine 27 de l'histone H3 [15].

Dans le monde animal, l'exemple paradigmatique est le rat-taube nu qui vit 30 ans en l'absence de lésion cancéreuse. Une des causes principales de cette résistance à l'apparition de tumeurs semble être l'hypermotilité à l'inhibition de contact observée sur des fibroblastes en culture [16]. L'inhibition de contact, dans les cellules murines et humaines, est déclenchée par l'induction de p27kip1⁴. À l'inverse, une inhibition précoce de contact chez le rat-taube nu est associée à l'induction de p16^{ink4a}. L'analyse du génome du rat-taube a montré qu'il exprimait une nouvelle isoforme de p16^{ink4} qui s'ajoutait aux formes classiques p14^{ARF}, p15, et p16^{ink4a} [17]. Chez cet animal, la résistance aux tumeurs est relayée par des signaux provenant de l'acide hyaluronique extracellulaire, qui induisent l'expression de p16^{ink4}. Les auteurs ont proposé que cette nouvelle isoforme de p16^{ink4} pourrait être responsable de l'augmentation de l'inhibition de contact observée dans ce modèle et expliquer, en partie, la résistance à l'apparition de tumeurs, ainsi que la longévité exceptionnelle de ce rongeur. Enfin, deux groupes de chercheurs ont proposé très récemment une explication à la résistance au développement de tumeurs des éléphants d'Afrique [18, 19] : les femelles peuvent se reproduire durant toute leur vie (qui atteint 60 à 80 ans) et, en dix ans, ces animaux passent de 100 à 3 000 kg, ce qui demande une prolifération cellulaire très intense qui pourrait nécessiter une protection spécifique contre l'apparition de tumeurs. Les auteurs de ces études ont ainsi montré que les éléphants possèdent, en plus des deux copies habituelles du gène *TP53*, 19 copies additionnelles sur chacun des deux chromosomes. Ces copies supplémentaires sont des rétro-gènes sans intron, mais certains d'entre eux sont transcrits et traduits. Cette expression est associée à une réponse accrue aux lésions de l'ADN. Il reste à démontrer comment ces copies additionnelles exercent cette protection, alors qu'elles codent une isoforme de p53 incapable de former des tétramères et donc de se lier aux gènes cibles dont l'expression est nécessaire à l'induction d'une réponse aux lésions de l'ADN. Une proposition des auteurs est que ces protéines sont capables de stabiliser la forme normale de p53 en formant des dimères qui, ne pouvant former des tétramères, ne pourront pas se lier à la molécule mdm2 (*murine double minute 2*)⁵, une

² Le gène *CDKN2A* code plusieurs protéines, issues de divers épissages alternatifs, notamment la protéine p16^{ink4a} (*ink4a : inhibiting CDK4*) ou p16, et la protéine ARF (*alternative open reading frame*) ou p14^{ARF}. La protéine p15 (appelée également p15^{ink4b}) est codée par le gène *CDKN2B*, situé à proximité du gène *CDKN2A*.

³ Un membre de la famille des protéines chromosomales non-histones qui joue un rôle dans le remodelage de la chromatine.

⁴ p27Kip1 (p27) est un inhibiteur du cycle cellulaire. Il peut entraîner un arrêt de la prolifération en phase G1 du cycle cellulaire en réponse à des signaux antimotiviques.

⁵ La protéine mdm2 est l'ubiquitine ligase E3 qui, en se fixant sur p53, induit sa dégradation par couplage de l'ubiquitine à p53 suivi d'une protéolyse par le protéasome.

