

La protéine p53 au cœur de la défense anti-tumorale

*Evelyne May, UPR 9045
Institut André Lwoff, Villejuif*

De la découverte de p53 à son identification comme un gène suppresseur de tumeur - Quelques dates significatives

- 1979 Découverte de la protéine p53 : Oncogène ?
- 1983 Clonage des premiers ADN complémentaires
- 1988 La version sauvage du gène *p53* est un suppresseur de tumeur
- 1991 p53 induit la mort cellulaire programmée par apoptose
- 1992 Obtention des premières souris p53 $-/-$ → p53 n'intervient pas dans le développement
- 1992 L'arrêt du cycle cellulaire en G1 en réponse aux radiations ionisantes dépend de p53
- 1993 Le gène *Waf1/p21* est directement transactivée par p53

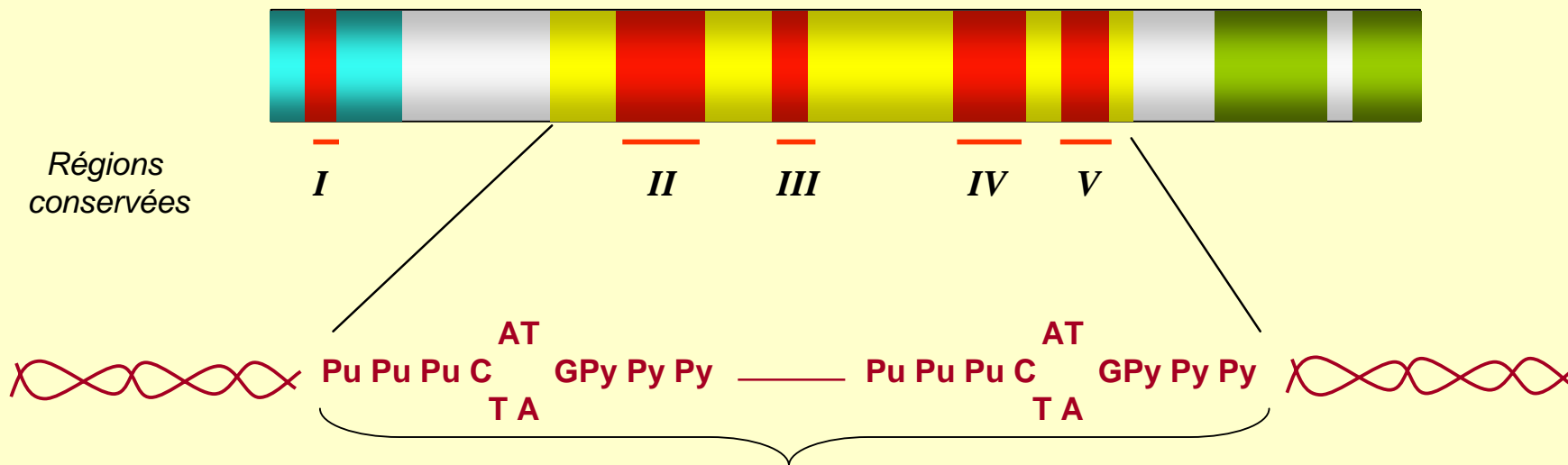
p53, un facteur de transcription

Transactivation
(aa 1 à 42)

Tétramérisation
(aa 320 à 360)

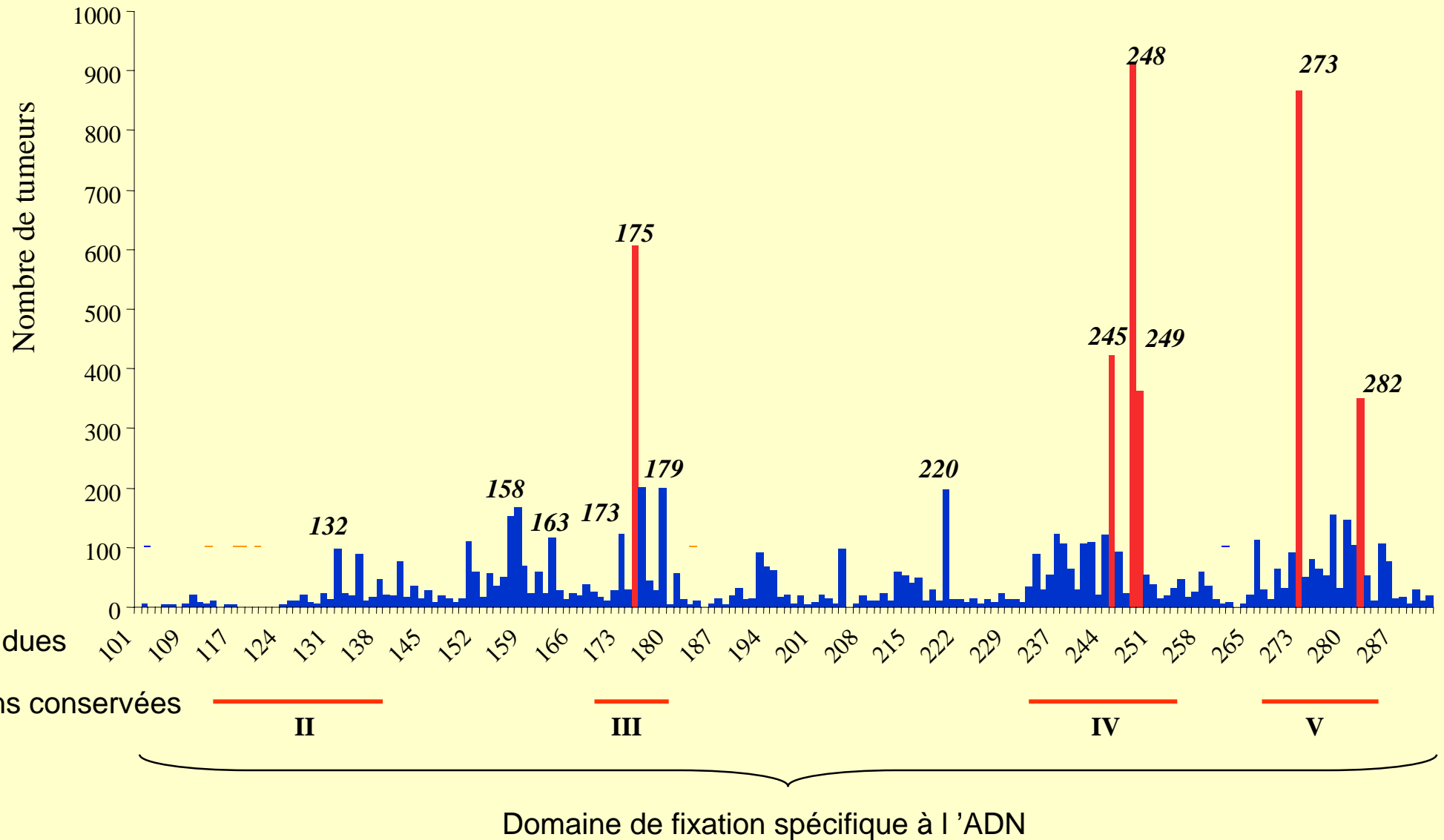
Domaine de conformation
Liaison séquence-spécifique à l'ADN
(aa 94 à 293)

Régulation
(aa 367 à 393)



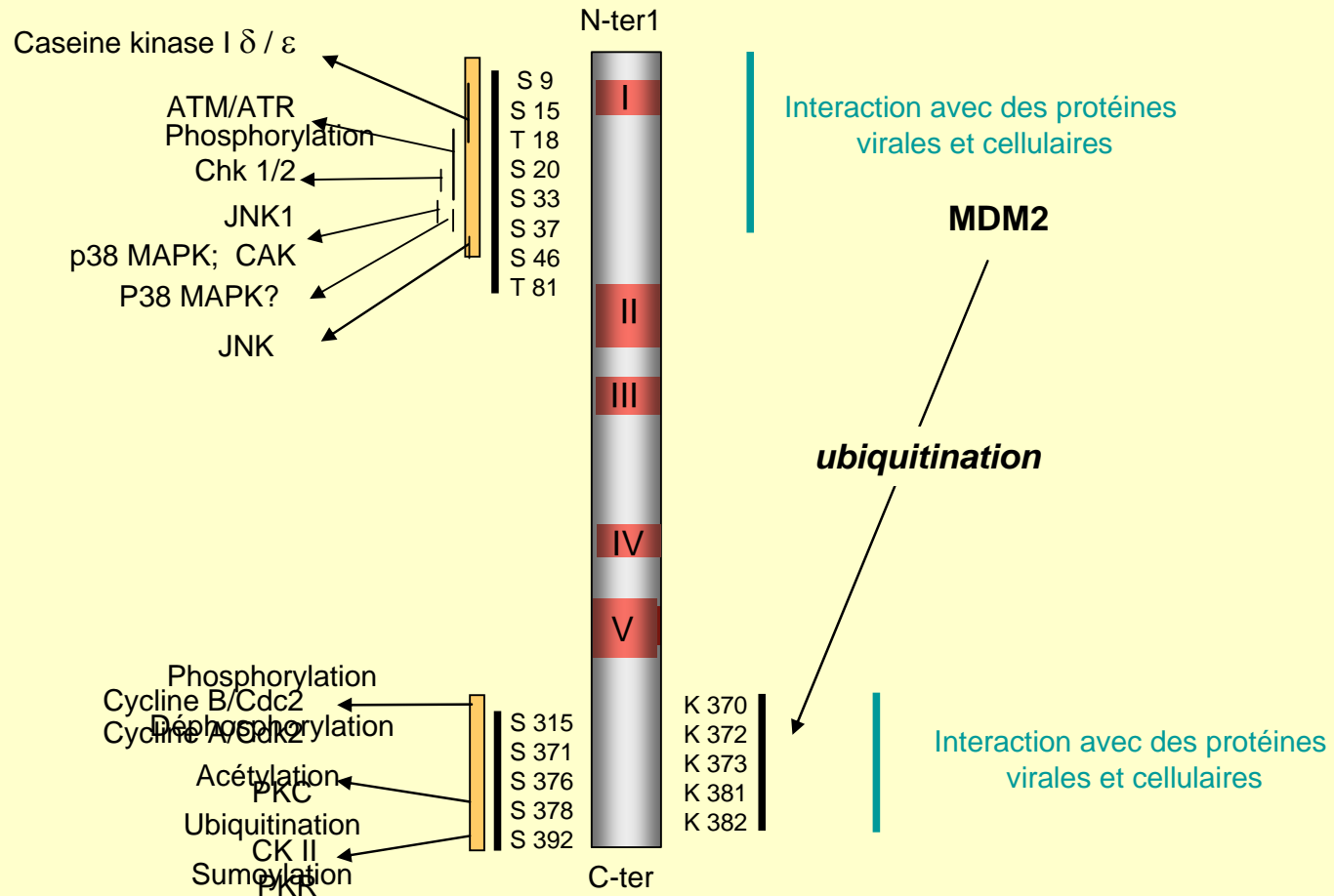
Élément de Réponse à p53

Répartition de 10.121 mutations ponctuelles recensées dans les tumeurs et les lignées cellulaires



Modifications post-translotionnelles de la protéine p53

C
O
V
A
L
E
N
T
E
S



N
O
N

C
O
V
A
L
E
N
T
E
S

Facteurs activant de p53



Redox

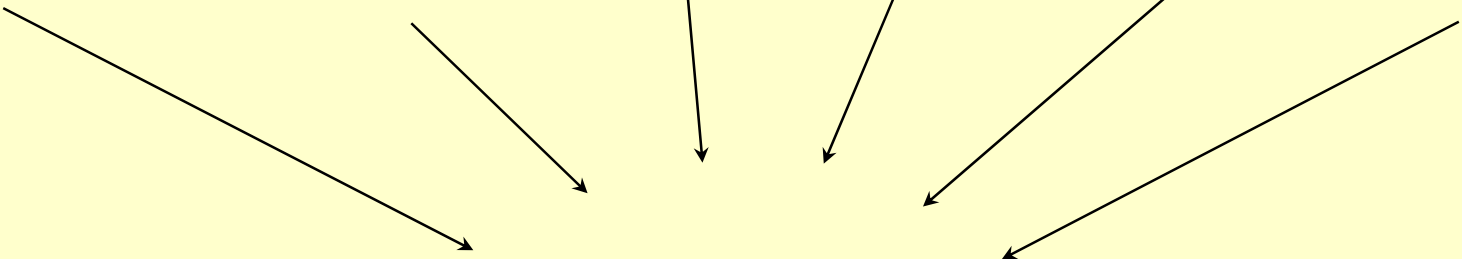
Hypoxie

IR/UV

Oncogenes

Adhesion

rNTP

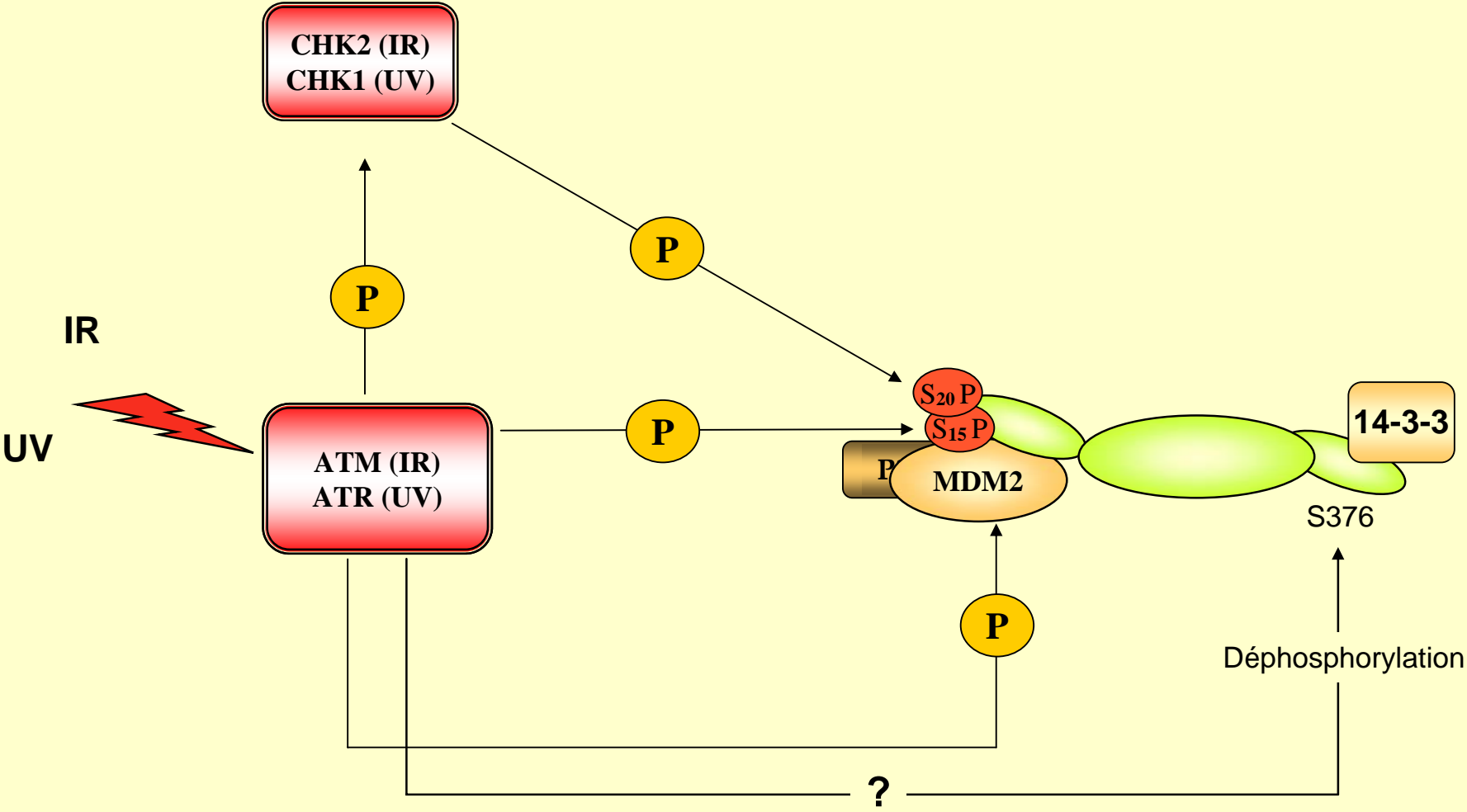


Modifications post-traductionnelles

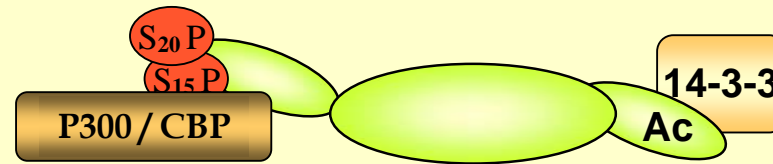
- Nature et intensité du stress
- Environnement cellulaire



Activation de la protéine p53 en réponse aux radiations γ ou UV



Activation de la protéine p53 en réponse aux radiations γ ou UV



Acétylation (K370, 372, 373, 381, 382)

Autres phosphorylations



Fixation de p53 à sa séquence consensus

Stimulation de l'expression
de gènes impliqués dans :

- l'arrêt du cycle cellulaire
- la réparation de l'ADN
- l'apoptose
- d'autres fonctions

Des gènes cibles de p53

APOPTOSE

a) Protéines à domaine de mort

- Fas
- Killer/DR5
- Pidd
- p53RDL1

b) voie mitochondriale

- Bax
- Bak
- PUMA
- NOXA
- Bid
- Apaf1
- p53AIP1
- Ferredoxin Reductase (FDXR)
- mtCLIC/CLIC4

c) Autres

- Caspase 1
- PRG3 (homologue AIP)
- ei24
- RTVP-1
- Scotine
- SIP
- PIG3
- Cathepsine D

ARRET DU CYCLE CELLULAIRE

- p21/Waf1
- 14-3-3 sigma
- Reprimo
- B99
- Isoforme membranaire de l'adenylate kinase
- Rb
- p22/PRG1 (réponse précoce)

REPARATION DE L'ADN

- GADD45
- p48 Ddb2
- p53R2
- hMSH2
- PCNA

AUTOREGULATION

- Mdm2
- p73 Delta N
- Pirh2
- cycline G (CCNG1)

CYTOSQUELETTE

- Actine a muscles lisses
- ICAM-1 (intra cellular adhesion molecule)
- Cytokeratine 8

INHIBITION DE FACTEURS DE SURVIE

- IGF-BP3

FACTEURS DE TRANSCRIPTION

- Cycline K
- ATF3 (repressur)
- HIC-1 (protéine à doigt de Zn)

TRANSDUCTION DU SIGNAL

- Ha-Ras
- Heparin-binding EGF-like growth factor
- PAC1 (phosphatase of activated cells 1)
- GML [Glycosyl-phosphatidylinositol-anchored Molecule-Like protein]

MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES

- PTEN (phosphatase)
- BTG1
- BTG2/TIS21
- p53DINP1 (p53-dependent damage-inducible nuclear protein 1)
- Wip1 (protéine phosphatase type 2C (PP2C))

ANGIOGENESE

- BAI1 (brain-specific angiogenesis inhibitor 1)
- TSP-1

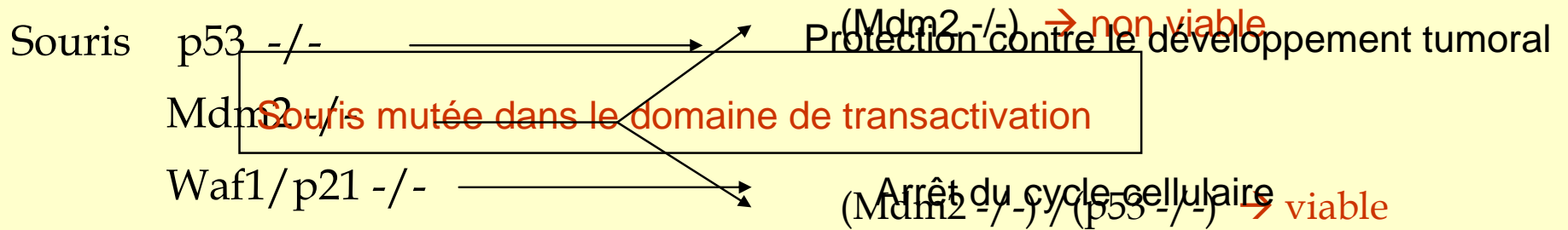
INVASION TUMORALE

- Maspin
- PAI-1 (inhibitor of urokinase-type plasminogen activator)
- Collagénase type IV (matrice metalloprotease 2)
- KAI1 (gene suppresseur de metastase)
- APC

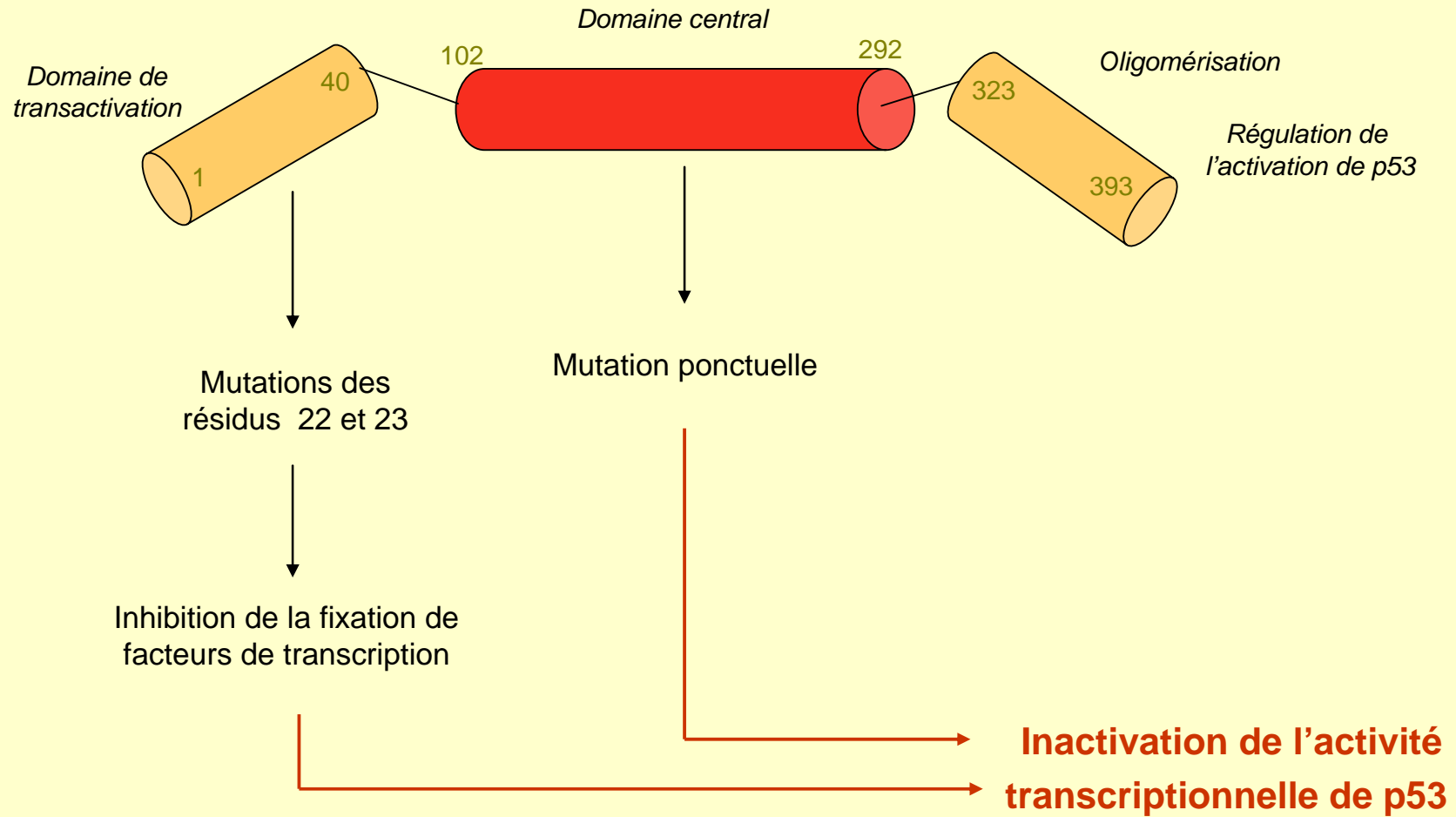
AUTRES

- DDA3
- TP53TG5
- tyrosinase
- TRP-1 (tyrosinase-related protein-1)
- Semaphorin3B
- TSAP6
- DDI A121 (facteur d'initiation de la translation)
- S100A2 (calcium binding protein)
- P2XM
- PA26
- wig1 (protéine à doigt de Zn)

Apport de la transgénèse à la compréhension des activités fonctionnelles de p53



Mutations inhibant l'activité transactivatrice de p53



L'inactivation de l'activité transcriptionnelle de p53 suffit à inhiber l'induction de l'apoptose

Leu 25 → Gln
Trp 26 → Ser



1) Effet à court terme en réponse à une irradiation ionisante :

- pas de stimulation de l'expression des gènes cibles de p53
- pas d'induction de l'apoptose dépendante de p53

2) A long terme

- Développement précoce de tumeurs spontanées



Phénotype comparable
à celui des souris p53^{-/-}

Des gènes cibles de p53 impliqué dans l'apoptose

a) Protéines à domaine de mort

- *Fas*
- *Killer/DR5*
- *Pidd*
- *p53RDL1*

c) Autres

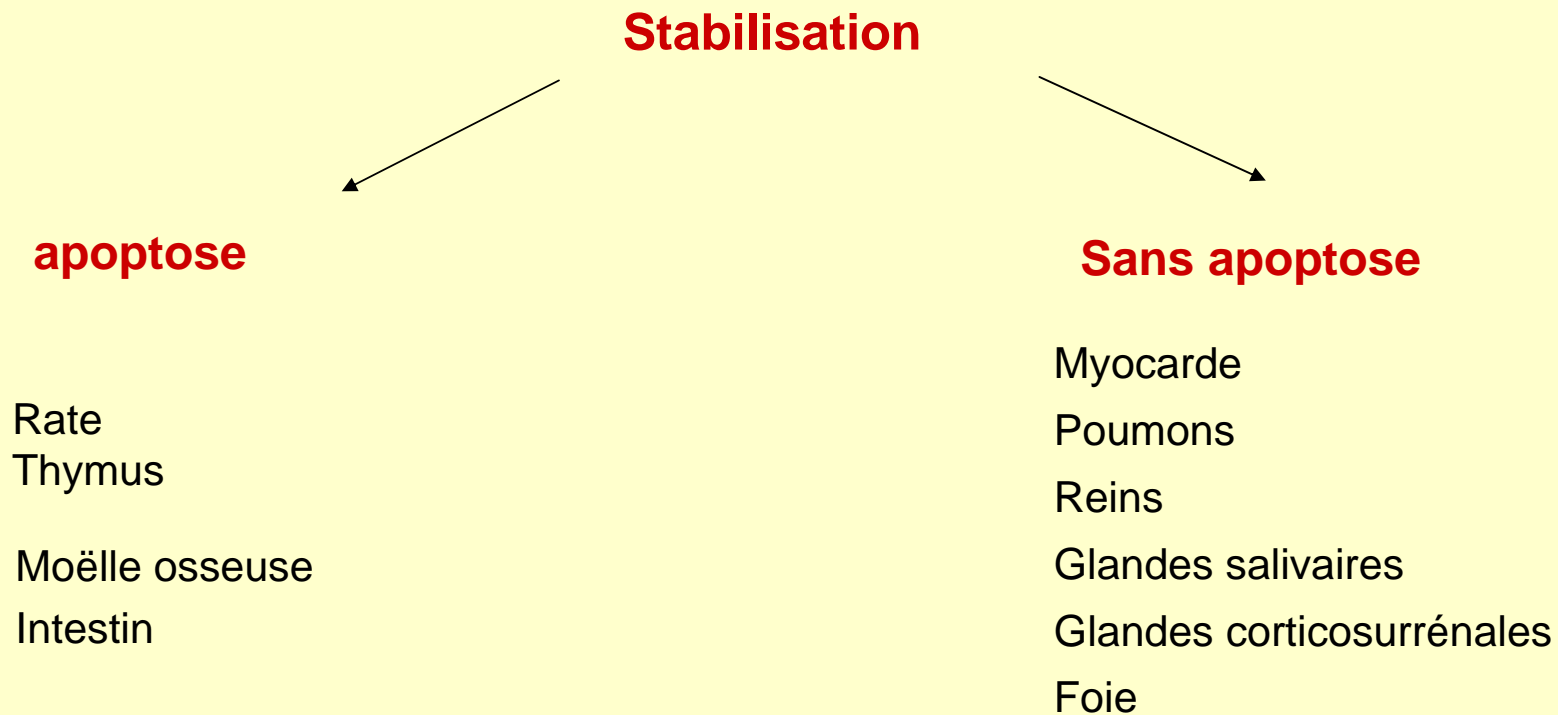
- *PERP*
- *Caspase 1*
- *AIP*
- *RTVP-1*
- *PIG3*
- *Scotine*
- *PRG3* (homologue)
- *ei24*
- *SIP*
- *Cathepsine D*

b) voie mitochondriale

- *Bax*
- *Bak*
- *PUMA*
- *NOXA*
- *Bid*
- *Apaf1*
- *p53AIP1*
- *Ferredoxin Reductase (FDXR)*
- *mtCLIC/CLIC4*

Sélectivité d'expression de gènes cibles de p53 ?

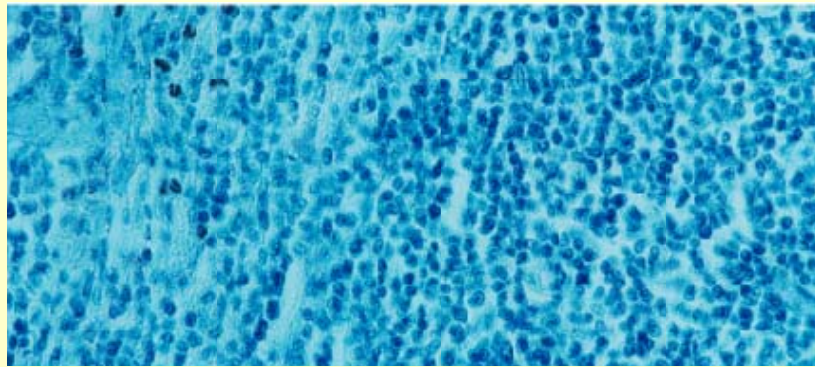
Spécificité tissulaire de la réponse dépendante de p53 chez la souris exposée aux radiations γ



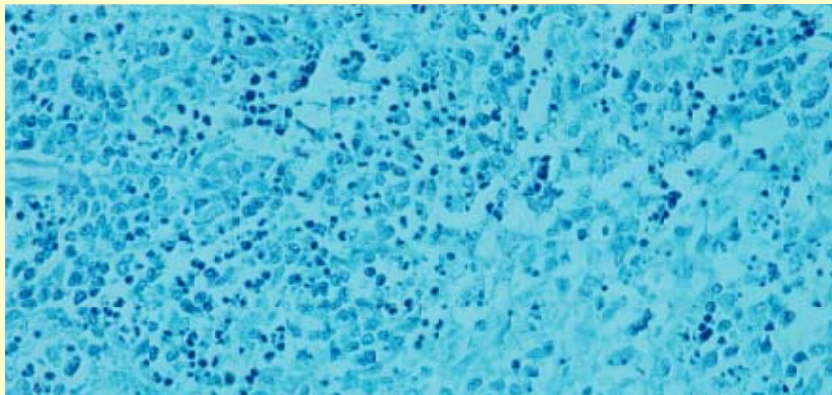
Coupe de rates prélevées 6 heures après une irradiation de la souris à 5 Gy



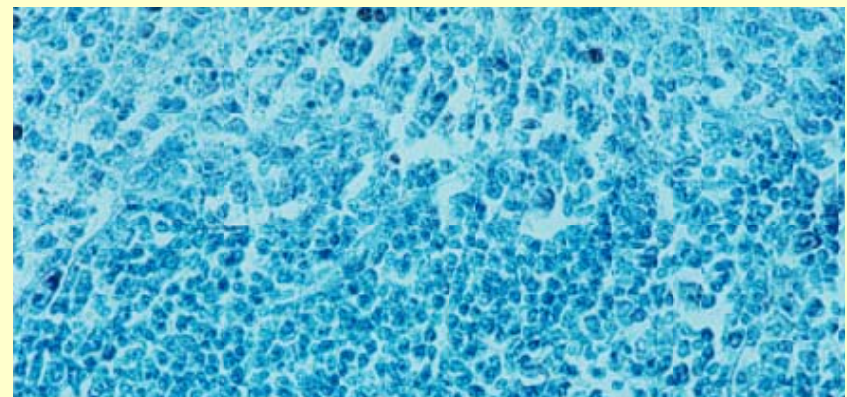
Souris p53 +/- et p53-/- non irradiées



Souris p53 +/- irradiées



Souris p53 -/- irradiées



Stimulation, *in vivo*, de l'expression des gènes cibles de p53 en réponse à une irradiation ionisante de 5 Gy

Souris p53 -/-



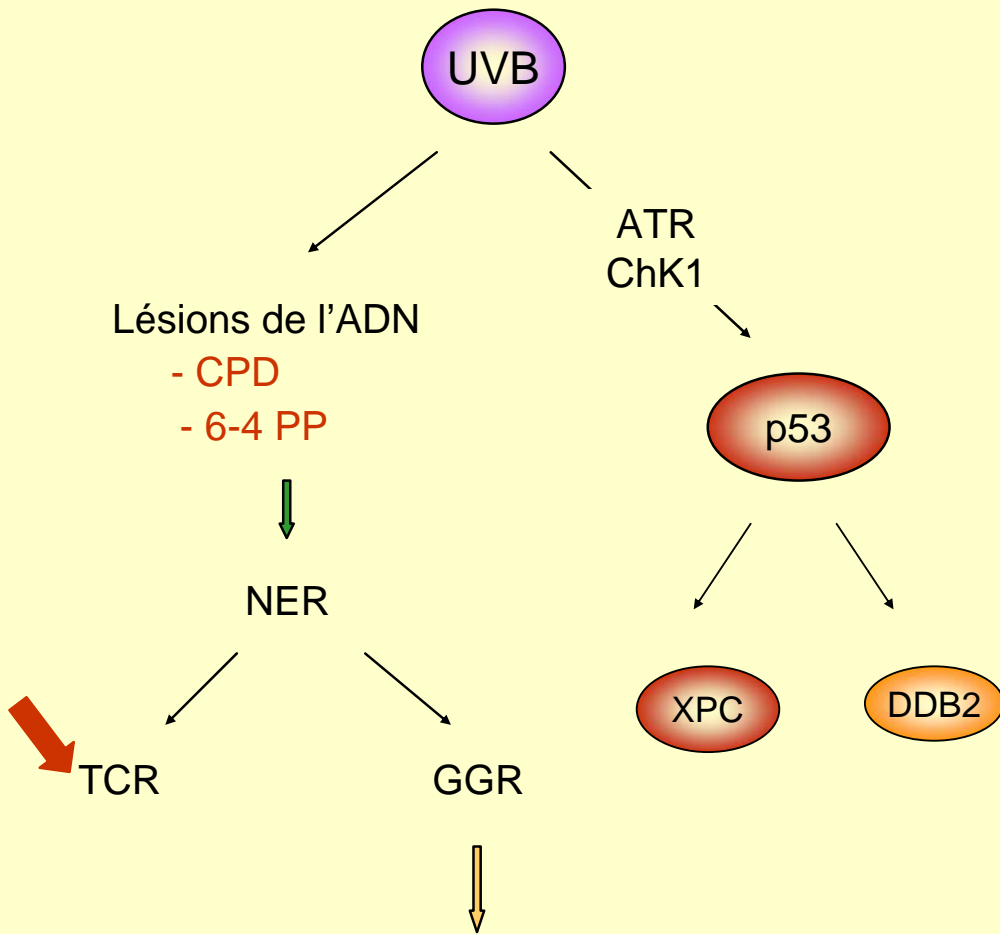
Aucun effet des radiations sur le taux d'expression de l'ensemble des gènes analysés

Souris p53 +/-

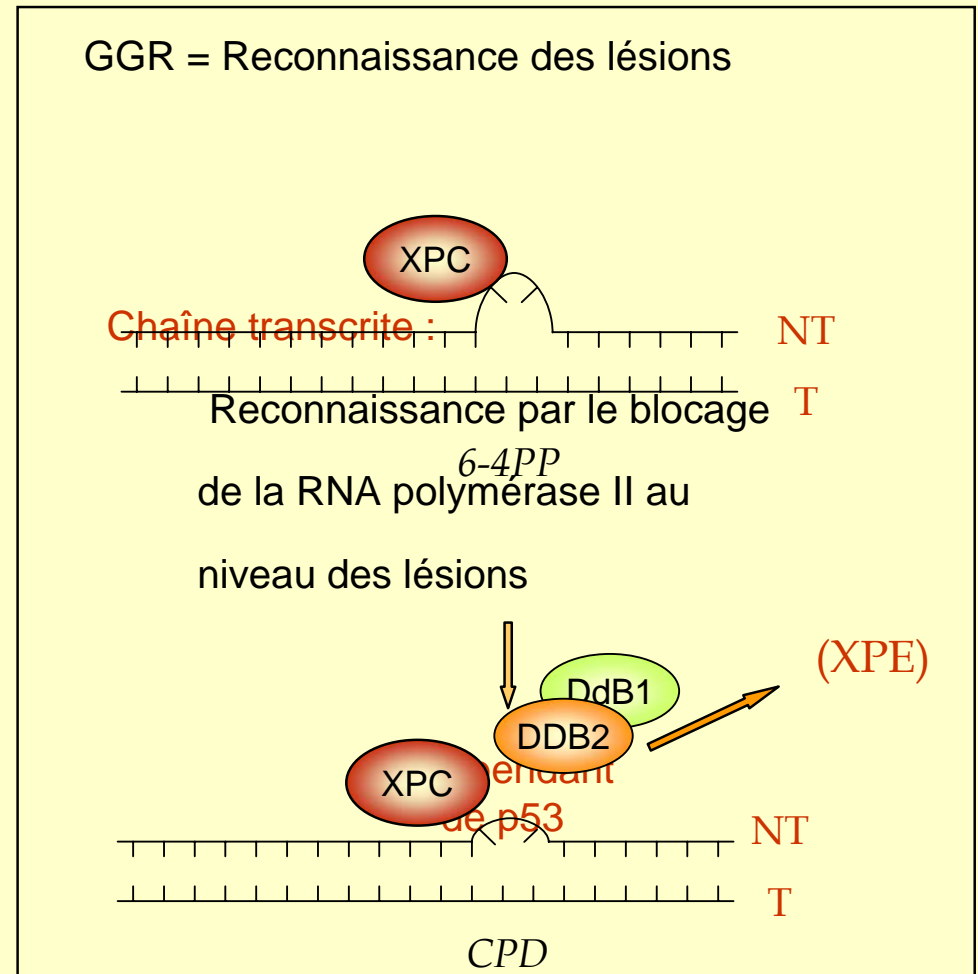
		Facteur d'activation [ARNm IR] / ARNm NI			
		Thymus	Rate		
APOPTOSE	Gènes à recepteur de mort	<i>fas</i>	3 ↙	3,5 ↙	
		<i>Killer/DR5</i>	6 ↙	5,5 ↙	
		<i>PIDD</i>	3,2	2,2	
		Gènes de la voie mitochondriale	<i>Bax</i>	8,5	4,7
			<i>NOXA</i>	10,8	5
			<i>PUMA</i>	44,6 ↙	6,6 ↙
	ARRÊT DU CYCLE CELLULAIRE	<i>Waf1/p21</i>	25,4 ↙	41,1 ↙	
<i>14-3-3</i>		6,6	1,6		

**L'activité transactivatrice de p53 est également
impliquée dans la réparation de l'ADN**

Implication de p53 dans la réparation des lésions à l'ADN induites par les UV



Dépendant de p53



CPD = Cyclobutane Pyrimidine Dimers

TCR = transcription coupled repair

XPC = xeroderma pigmentosum, groupe C

6-4 PP = Pyrimidine (6-4) pyrimidone Photoproducts

GGR = Global Genomic Repair

DDB2 = DNA damaged UV Binding

Conséquences du statut du gène p53 sur le devenir des cellules endommagées

p53 normale

Réparation de l'ADN
Arrêt du cycle cellulaire
Apoptose



*Élimination des lésions
ou
des cellules lésées*

p53 mutée

*Les dommages à l'ADN
sont conservés*



*Mutations → Avantage sélectif de
prolifération*



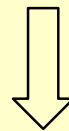
Développant d'une tumeur

Pourcentage de tumeurs présentant une mutation du gène p53 en fonction de leur origine

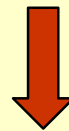
Origine tissulaire	% de tumeurs ayant un gène muté
Poumon	70 % ← <i>Fumée de tabac</i>
Colon	60 %
Ovaire	60 %
Vessie	60 %
peau	50 % ← <i>Irradiation UV</i>
Estomac	45 %
Œsophage	40 %
Sein	20 %
Foie	20 % ← <i>Aflatoxine B1</i>
Tissus lymphoïdes	30 %
Cellules sanguines	10 %

Signature moléculaire de l'effet mutagène du benzo[a]pyrène

Benzo[a]pyrène

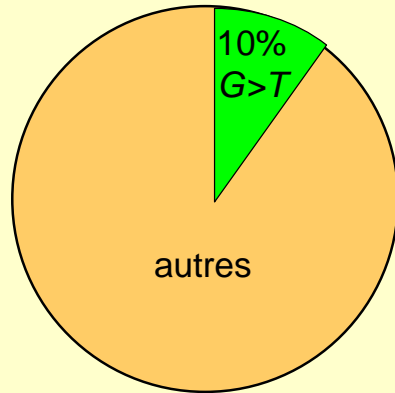


Benzo[a]pyrène diol epoxide (BPDE)

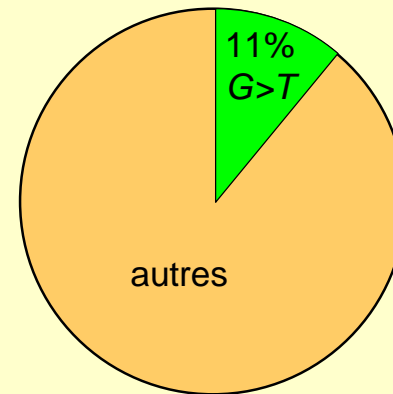


Mutation G → T

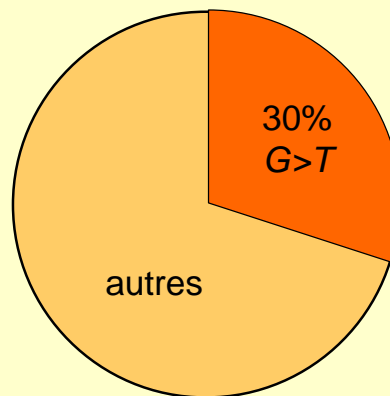
Prédominance des mutations G > T dans les cancers du poumon des fumeurs



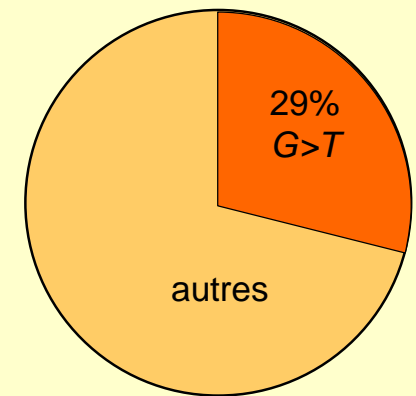
Tous les cancers



*Cancers du poumon
non fumeurs*



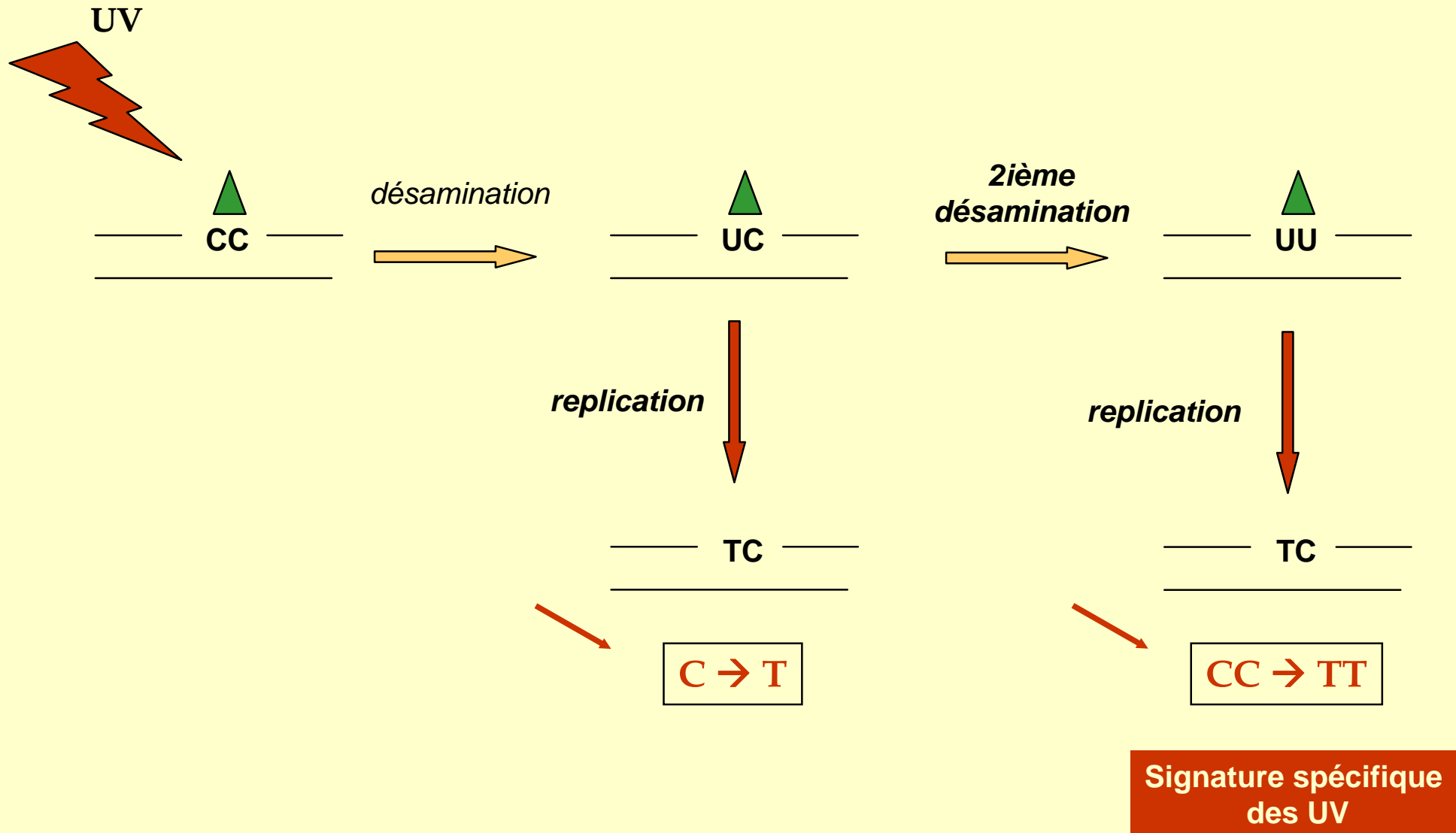
*Cancers du poumon
(exclusion faite des non fumeurs)*



*Cancers du poumon
fumeurs déclarés*

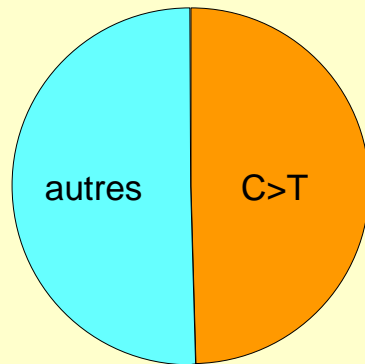
*D'après Hainaut & Pfeifer (2001)
Carcinogenesis 22:367-374*

Signature moléculaire d'une exposition aux UVB

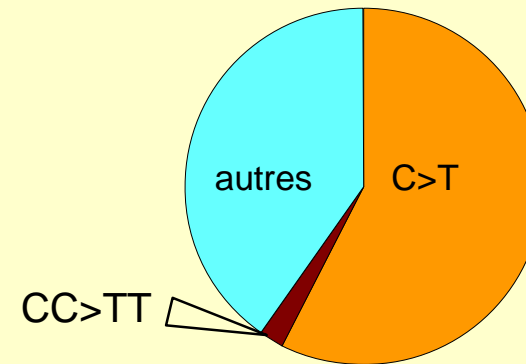


Mutations C > T dans les cancers de la peau

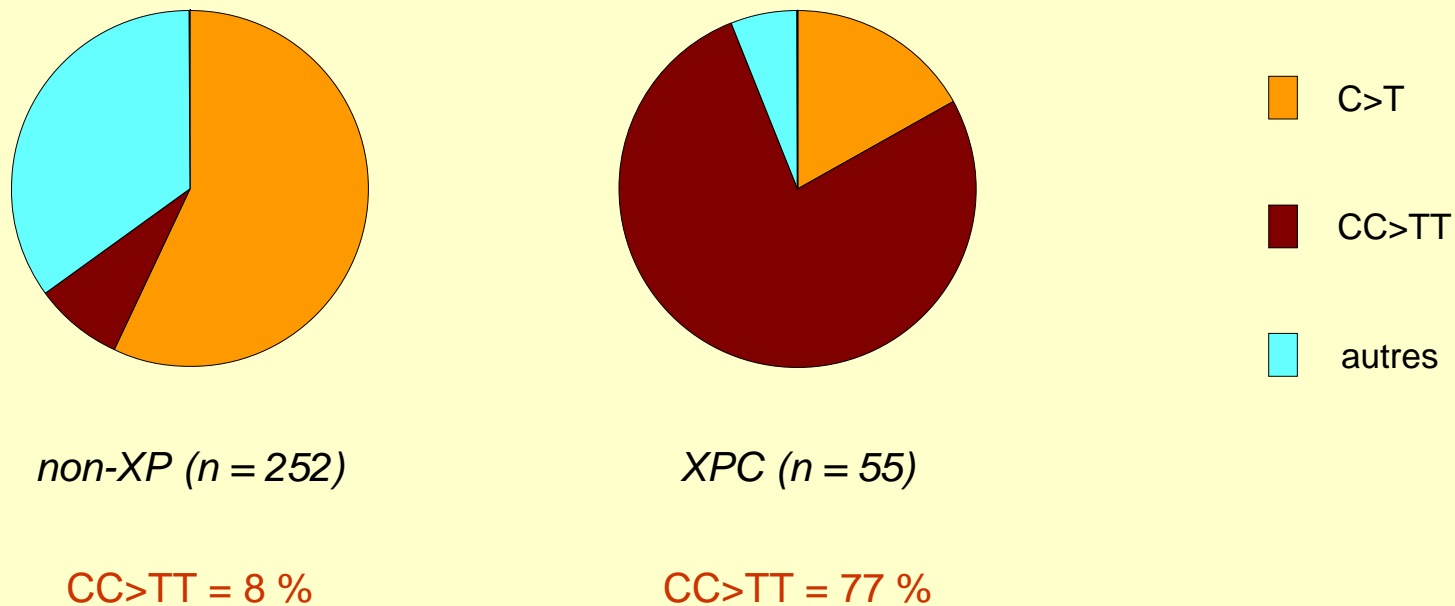
Toutes les tumeurs
(à l'exception des tumeurs de la peau)
n = 11394



Tumeurs de la peau
n = 493



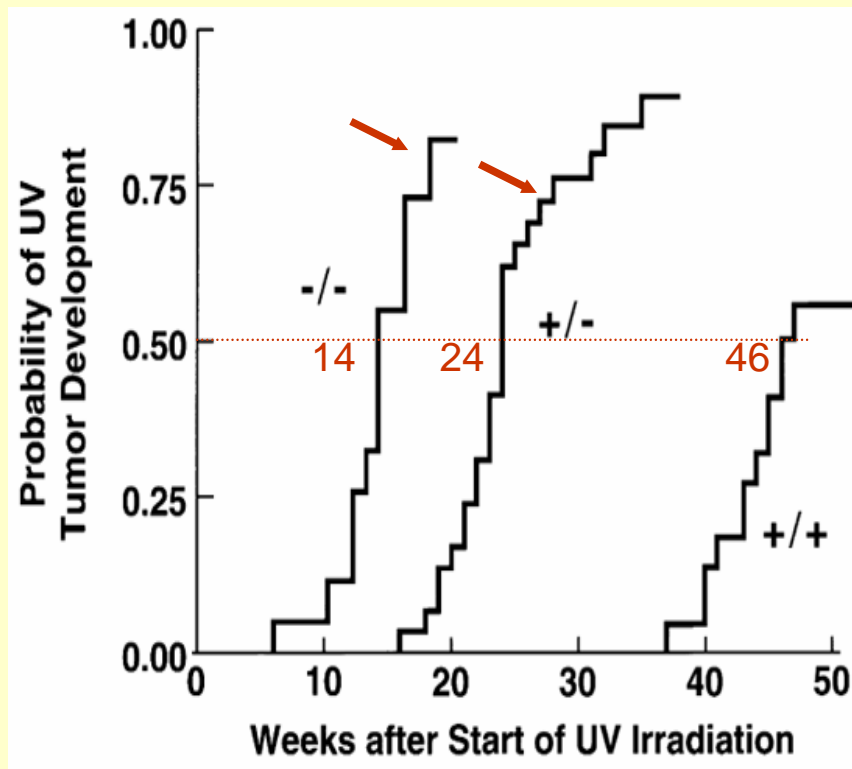
Comparaison de la nature des mutations du gène p53 dans les cancers de la peau des patients non-XP et XPC



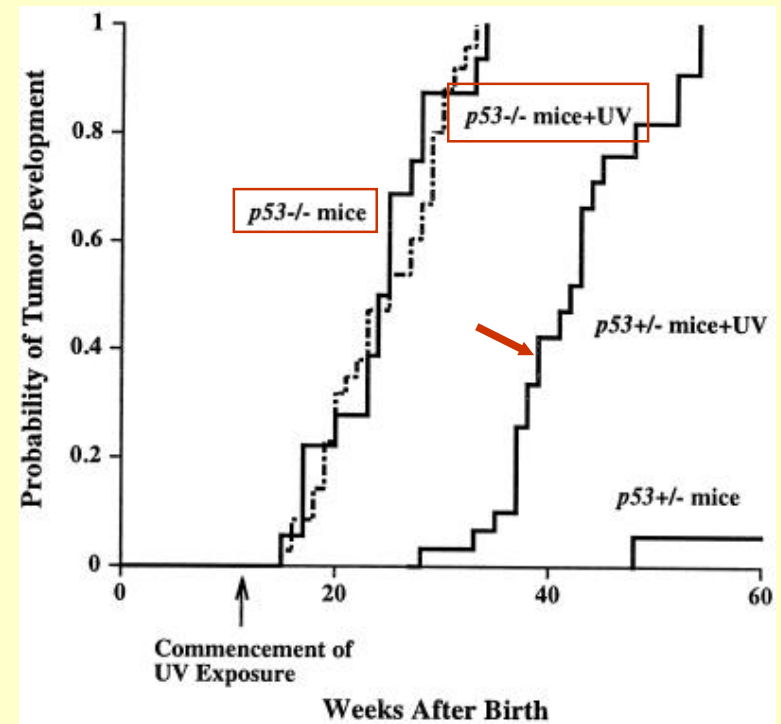
- Rôle déterminant de XPC dans la réparation des lésions induites par les UV
- Défaut de réparation de la chaîne non traduite responsable de la majorité des mutations

p53 protège des effets tumorigènes des radiations UVB

Tumeurs de la peau



Tumeurs lymphoïdes



Conditions expérimentales:

- Souris de 12 semaines en début d'expérimentation
- Irradiation UV entre 250 et 400nm (65% UVB)
- 5 kJ/M²; 3 fois par semaine; pendant 30 semaines

Jiang et al. (1999) *Oncogene* 18:4247-4253

Jiang et al. (2001) *PNAS* 17:9790-9795

Laboratoire de Cancérologie Moléculaire
UMR 217 CEA-CNRS, DRR, à Fontenay-aux Roses

Sandra

Alvarez

Anne

Meiller

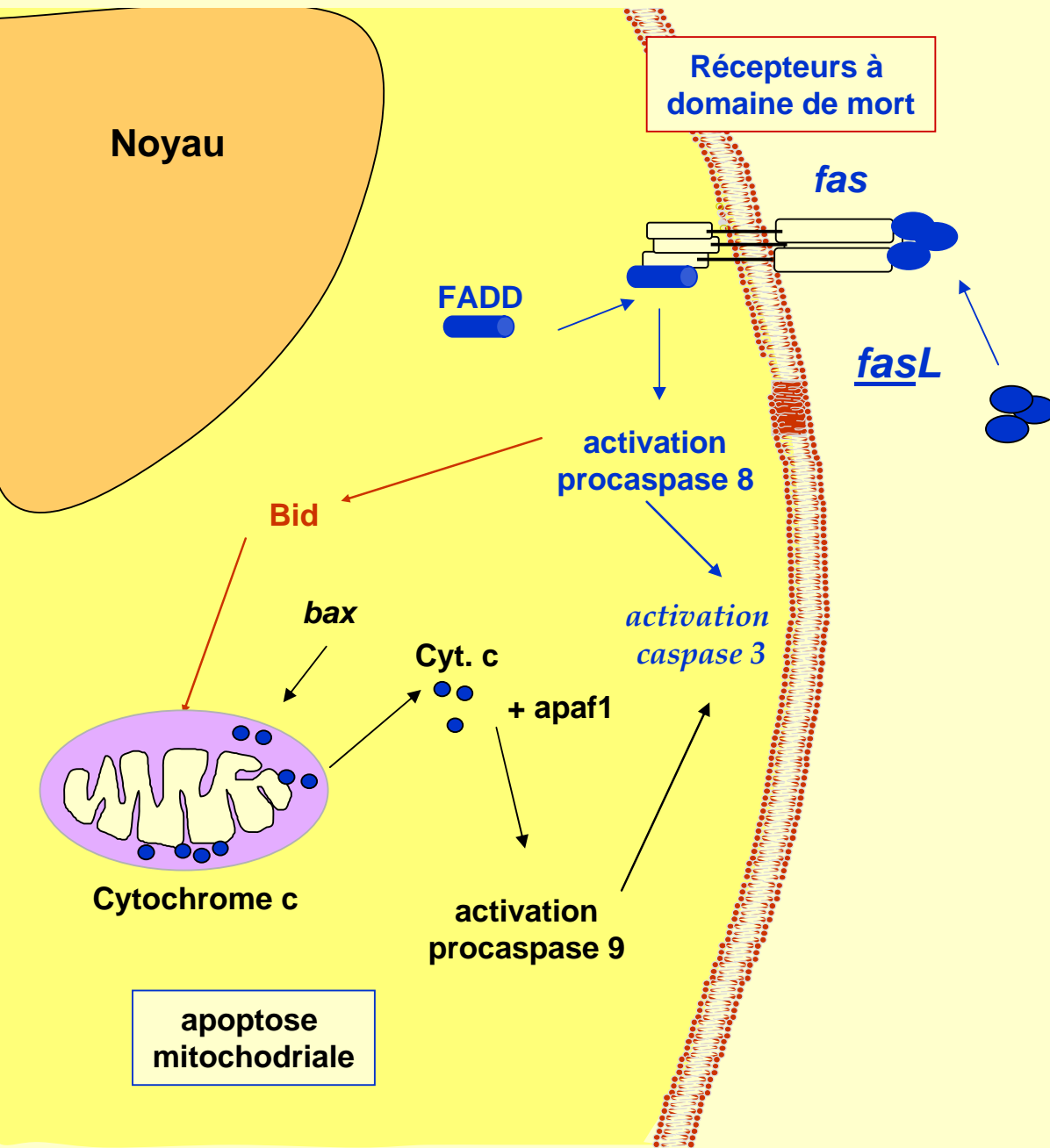
Marlène

Bras

Pascal

Drané

p53 est impliquée dans les deux principales voies d'induction de l'apoptose



Gènes cibles de p53
impliqués dans l'apoptose:

➤ Gènes à recepteur de mort

- ✓ fas
- ✓ Killer/DR5
- ✓ PIDD

➤ Gènes de la voie mitochondriale

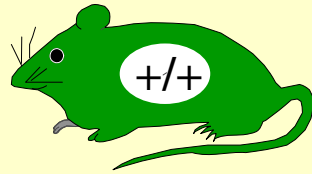
- ✓ Bax
 - ✓ NOXA
 - ✓ PUMA
 - ✓ Apaf1
 - ✓ p53AIP1
- } gènes de la famille Bcl2

➤ Lien entre les deux voies

- ✓ Bid

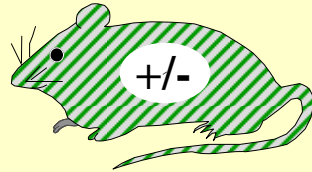
Modèle animal : souris p53 +/+ et p53 -/-

p53 +/+



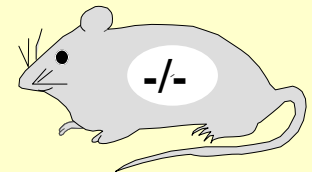
100% de survie à 18 mois

p53 +/-



30% de survie à 18 mois

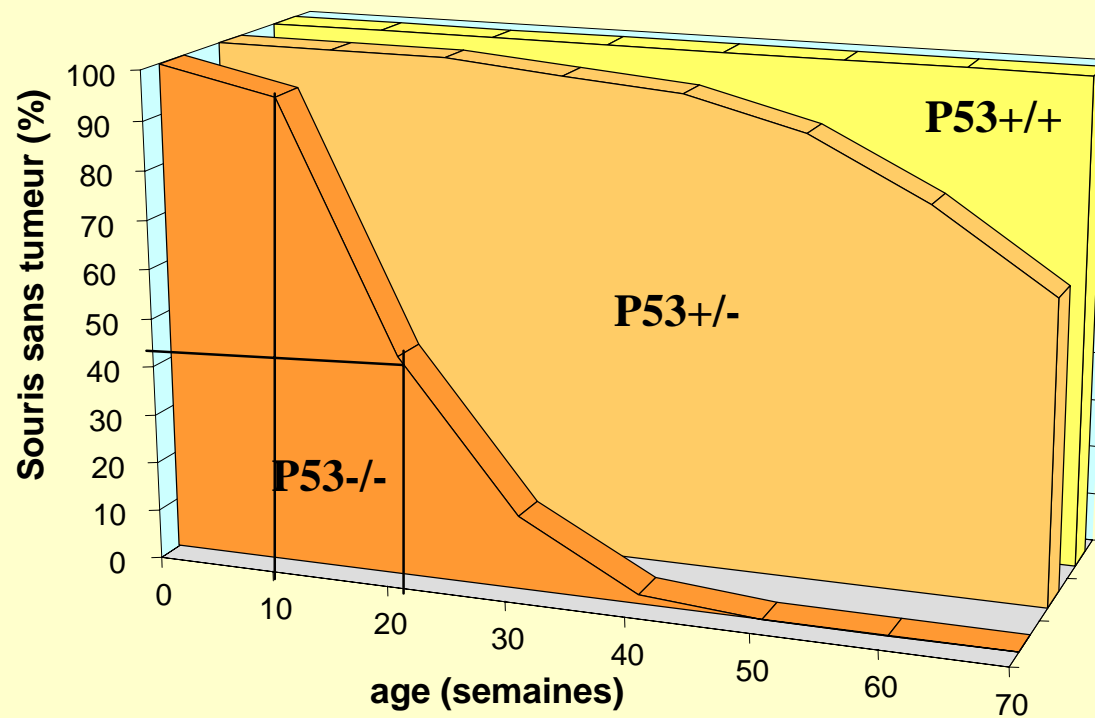
p53 -/-



10% de survie à 9 mois

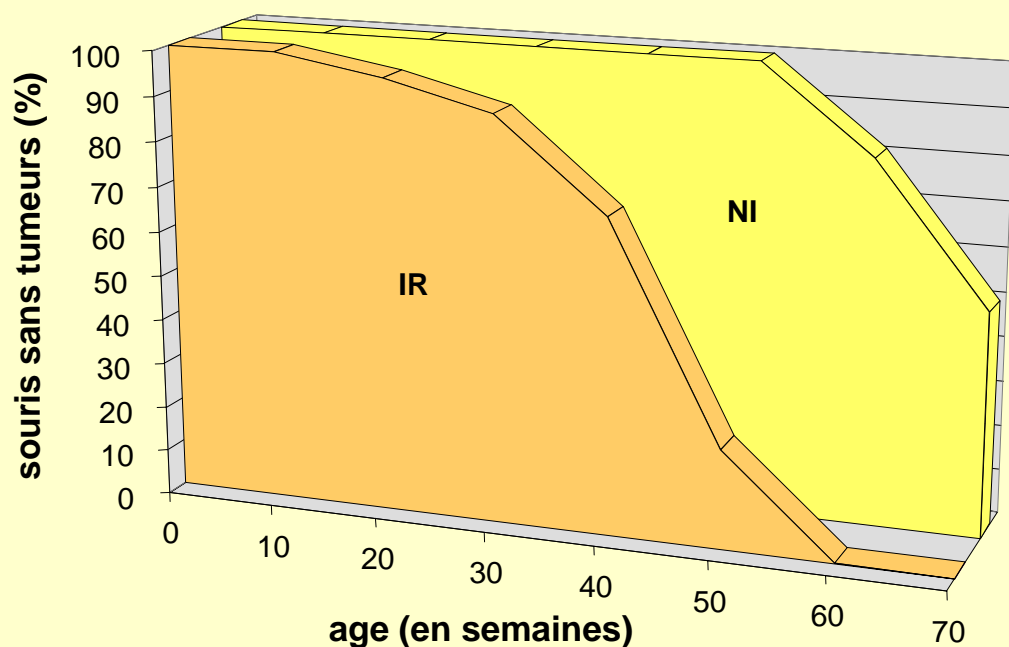
Normales à la naissance, les souris p53 -/- développent rapidement des tumeurs spontanées

Les souris p53 -/- développent très rapidement des tumeurs spontanées



L'irradiation diminue le temps de latence d'apparition des tumeurs chez les souris p53 +/- et p53 -/-

Irradiation ionisante



Souris p53 +/- irradiées
à 4 Gy à 7 semaines