

L'expression de Lap2 α contrôlée par E2F est dérégulée dans diverses tumeurs humaines

Alladagbin Dona Jeanne, Aguida Blanche

Laboratoire de Biochimie Biologie Moléculaire et Applications, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi (UAC), Bénin.

Résumé

Le dérèglement du suppresseur de tumeur rétinoblastome (Rb) est fréquemment observé dans le cancer humain et associé à l'activité aberrante des facteurs de transcription E2F. La protéine Rb ne fixe les facteurs de transcription E2F que lorsqu'elle est hypophosphorylée ou non phosphorylée ; ce qui conduit au blocage de la transition G1/S qui est sous la dépendance de ces facteurs de transcription qui contrôlent l'expression des gènes indispensables à la phase S de synthèse d'ADN. L'expression de LAP2 (la lamine alpha associée aux polypeptides) est sous le contrôle direct du facteur de transcription E2F. L'immunoprécipitation de la chromatine montre que LAP2 est lié par E2F *in vivo*. Il est transactivé par E2F et exprimé de manière ectopique mais la mutation des sites de liaison de E2F élimine cet effet. LAP2 α est surexprimé dans les tumeurs humaines au niveau du larynx primaire, des poumons, de l'estomac, de la poitrine et des tissus cancéreux du côlon. Le facteur de transcription E2F joue un rôle crucial dans la prolifération cellulaire par le biais de la manipulation de l'expression de nombreux gènes nécessaires à la progression du cycle cellulaire. Il est nécessaire pour la régulation d'un grand nombre de gènes impliqués dans divers processus cellulaires. L'adhésion et la fonction biologique de E2F nous donnent quelques aperçus dont les mécanismes par lesquels E2F agit dans les différents processus cellulaires au cours de l'ontogenèse.

Mots clés : LAP, E2F, Surexpression, Tumeur.

Introduction

Le processus de transformation d'une cellule normale en une cellule cancéreuse se caractérise par un certain nombre de traits acquis, à savoir l'indépendance vis-à-vis des signaux de prolifération, l'insensibilité aux signaux antiprolifératifs, l'évasion de l'apoptose, le potentiel prolifératif illimité, la capacité de susciter l'angiogenèse, le tissu invasif et la métastase (1). La protéine Rb est une protéine de séquestration qui exerce un contrôle négatif sur le cycle cellulaire. Cette fonction est essentielle dans les organismes pluricellulaires pour éviter la formation de tumeurs malignes qui mettraient en péril l'organisme, ce qui permet de qualifier cette protéine de « suppresseur de tumeur » (2). La fonction dérégulée du suppresseur de tumeur Rb est associée principalement à la perte de sensibilité des signaux retenant la croissance. Le Rb exerce beaucoup de son activité anti-proliférative par l'intermédiaire de la régulation des facteurs de transcription d'E2F(3).

Les études d'expression de gènes par la technique de microarray et des analyses d'immunoprécipitation de la chromatine d'E2F spécifique ont permis l'identification de nombreux gènes cibles de E2F (4). Ces techniques ont également permis d'étudier le niveau d'expression de LAP2 α dans le cancer humain ainsi que la régulation de l'expression génique du promoteur de LAP2. Beaucoup d'entre ces gènes ont le potentiel d'interférer avec la régulation de certains caractères acquis au cours de l'oncogenèse. L'analyse des données de microarray indique que l'expression de LAP2 peut être contrôlée par E2F1, E2F2, E2F3, p16 et pRB (5). Le locus de LAP2 est différenciellement exprimé dans les tumeurs ; plus précisément, LAP2 est une cible de

RAS (6), régulé par BRCA1 (7) en réponse aux dommages d'ADN (8) et dans les tumeurs de la prostate (9), du côlon (10) et du système nerveux central embryonnaire (11). L'analyse de microarray de tissus de tumeurs humaines primaires indique que LAP2 α est surexprimé dans une variété de tumeurs en corrélation étroite avec le taux de prolifération tumorale.

Le locus de LAP2 donne naissance à six isoformes chez les mammifères qui sont générés par épissage alternatif et les mieux caractérisés sont LAP2 α et LAP2 β (12). LAP2 α interagit spécifiquement avec les lamines de type A à l'intérieur du noyau dans le cadre d'une structure nucléosquelettique (13); ainsi qu'avec la protéine Rb qui régule la progression du cycle cellulaire via la voie de E2F-Rb. LAP2 β se lie à la lamine de type B à la périphérie du noyau (14). Les lamines sont des filaments intermédiaires nucléoplasmiques de type V qui participent à la structure du noyau et aux liaisons chromatine/membrane nucléaire. Bien que les lamines de type B soient essentielles pour la viabilité, les lamines de type A ne le sont pas et des mutations héréditaires des lamines de type A conduit à des laminopathies, un groupe hétérogène de maladies qui affectent le cœur, les muscles, le tissu adipeux, les os et les cellules nerveuses (15).

Le rôle de LAP2 α

LAP2 α est une protéine nucléoplasmique impliquée dans la régulation du cycle cellulaire par le biais de son interaction avec les lamines de type A et de la protéine Rb (14). Il possède des sites de liaison séparés pour les lamines de type A, les FBA (Facteurs de Barrière d'Autointégration), la chromatine et la Rb (14,15,16). Le LAP2 α limite la prolifération cellulaire par la stabilisation de Rb (17). Il se lie étroitement aux lamines de type A durant l'interphase(18). Quelques minutes après le début de l'anaphase, LAP2 α s'accumule dans les régions distinctes à l'extrémité des chromosomes et est redistribué à l'intérieur du noyau à la fin de la télophase, ce qui indique que LAP2 α peut jouer un rôle dans le positionnement des télomères dans le noyau et dans la reconstitution d'une structure de la chromatine d'ordre plus élevé à la fin de la mitose.(19). En outre, LAP2 α est nécessaire pour attacher la Rb au squelette nucléaire, en le protégeant de la dégradation protéosomale (20).

Les bases moléculaires de la régulation transcriptionnelle d'E2F.

La progression du cycle cellulaire repose sur l'activation d'un certain nombre de facteur de transcription dont la protéine E2F. En se fixant sur l'ADN, E2F active la plupart des gènes nécessaires à la phase S. Ce facteur de transcription ne peut fonctionner qu'en association avec un partenaire, la protéine DP, avec laquelle E2F forme un hétérodimère (21). Il existe plusieurs formes de chacun de ces régulateurs qui définissent une famille d'activateurs de la phase S. Les expériences de transfection indiquent que la surexpression de E2F active directement la progression vers la phase S même si les cellules ne sont pas stimulées par un mitogène. L'activité de la protéine E2F est étroitement régulée au cours du cycle cellulaire et la protéine est maintenue sous une forme inactive au cours de la phase G1. Lorsque la cellule est proche de la phase de transition G1/S, E2F devient actif à la transcription (22). E2F est identifié comme une famille composée d'une sous-unité protéique codée par la famille de gènes E2F et l'autre par la famille de gènes DP. Sur la base de considérations d'ordre structurel et fonctionnel, les membres de la famille E2F peut être divisé en deux sous-classes: E2F1, E2F2 et E2F3a comme activateurs de la transcription ; E2F3b, E2F4, E2F5, E2F6, E2F7 et E2F8 comme répresseurs de transcription (23).

La régulation de LAP2 α par E2F et son expression dans les diverses tumeurs humaines

Le niveau de l'ARN messager de LAP2 α augmente en réponse à l'induction de l'activité transcriptionnelle d'E2F3. Par conséquent, les données de Q-PCR ont confirmé que l'expression de LAP2 est induite par E2F et réprimée par p16 et Rb (24). L'activité du promoteur de LAP2 est induite par co-transfection d'E2F1, E2F2 et d'E2F3. Puisque l'activité d'E2F est dérégulée dans de nombreux cancers humains en raison des mutations dans les suppresseurs de tumeur Rb ou p16, un test a été réalisé pour vérifier si l'expression de LAP2 pourrait être dérégulée dans des lignées cellulaires cancéreuses. Des échantillons de lignées de cellules cancéreuses et les fibroblastes diploïdes ont été étudiés pour voir les niveaux d'expression de l'ARN messager de LAP2 α . Les transcrits ont été trouvés fortement surexprimés dans un certain nombre de lignées cellulaires comparativement aux fibroblastes diploïdes (Parise et *al.*, 2006). L'étude du niveau d'expression du transcrit LAP2 α dans différentes tumeurs humaines ont montré une surexpression de LAP2 α dans 23% des tumeurs du sein, 33% des tumeurs de la peau.

Conclusion

L'expression des gènes dérivants de LAP2 est contrôlée par des facteurs de transcription E2F. LAP2 α , un isoforme de LAP2 qui se lie à la lamine de type A, est surexprimé dans une variété de tumeurs humaines primaires (en particulier le larynx, les poumons, l'estomac, la poitrine, le cancer côlon et les lymphomes) et les lignées cellulaires tumorales. La surexpression de LAP2 α dans les tumeurs humaines primaires est corrélée avec le taux de prolifération tumorale. LAP2 est identifié comme l'un des gènes dont l'expression augmente avec l'étape avancée du cancer du côlon. Le niveau d'expression de LAP2 est beaucoup plus élevé dans le cancer métastatique de la prostate par rapport au niveau d'expression dans le tissu de la prostate primaire, ainsi que dans les médulloblastomes. L'expression de LAP2 est régulée à la hausse par les E2Fs, et régulée à la baisse par p16 et Rb.

Références

1. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*; 100: 57-70, 2011.
2. Abouzeid H, Munier F.L, Thonney F, Schorderet D.F. Ten novel RB1 gene mutations in patients with retinoblastoma. *Molecular vision*; 13:1740-45, 2007.
3. Dyson N. The regulation of E2F by pRB-family proteins. *Genes Dev*; 12:2245-62, 1998.
4. Polager S, Kalma Y, Berkovich E, Ginsberg D. E2Fs upregulate expression of genes involved in DNA replication, DNA repair and mitosis. *Oncogene*; 21:437-46, 2002.
5. Vernell R, Helin K, Muller H. Identification of target genes of the p16INK4A pRB-E2F pathway. *J Biol Chem*; 278:46124-37, 2003.
6. Zuber J, Tchernitsa OI, Hinzmann B, Schmitz AC, Grips M, Hellriegel M, Sers C, Rosenthal A, Schafer R. A genome-wide survey of RAS transformation targets. *Nat Genet*; 24:144-52, 2000.
7. Welsh PL, Lee MK, Gonzalez-Hernandez RM, Black DJ, Mahadevappa M, Swisher EM, Warrington JA, King MC. BRCA1 transcriptionally regulates genes involved in breast tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*; 99:7560-5, 2002.

8. Rieger KE, Hong WJ, Tusher VG, Tang J, Tibshirani R, Chu G. Toxicity from radiation therapy associated with abnormal transcriptional responses to DNA damage. *Proc Natl Acad Sci USA*; 101:6635-40, 2004.
9. LaTulippe E, Satagopan J, Smith A, Scher H, Scardino P, Reuter V, Gerald WL. Comprehensive gene expression analysis of prostate cancer reveals distinct transcriptional programs associated with metastatic disease. *Cancer Res*; 62:4499-4506, 2002.
10. Agrawal D, Chen T, Irby R, Quackenbush J, Chambers AF, Szabo M, Cantor A, Coppola D, Yeatman TJ. Osteopontin identified as lead marker of colon cancer progression, using pooled sample expression profiling. *J Natl Cancer Inst*, 94:513-21, 2002.
11. Pomeroy SL, Tamayo P, Gaasenbeek M, Sturla LM, Angelo M, McLaughlin ME, Kim JY, Goumnerova LC, Black PM, Lau C, Allen JC, Zagzag D, Olson JM, Curran T, Wetmore C, Biegel JA, Poggio T, Mukherjee S, Rifkin R, Califano A, Stolovitzky G, Louis DN, Mesirov JP, Lander ES, Golub TR. Prediction of central nervous system embryonal tumour outcome based on gene expression. *Nature*, 415:436-42, 2002.
12. Yokota N, Mainprize TG, Taylor MD, Kohata T, Loreto M, Ueda S, Dura W, Grajkowska W, Kuo JS, Rutka JT. Identification of differentially expressed and developmentally regulated genes in medulloblastoma using suppression subtraction hybridization. *Oncogene*, 23:3444-53, 2004.
13. Dechat T, Vlcek S, Foisner R. Review: Lamina-associated polypeptide 2 isoforms and related proteins in cell cycle-dependent nuclear structure dynamics. *J Struct Biol*, 129:335-45, 2000.
14. Markiewicz E, Dechat T, Foisner R, Quinlan RA, Hutchison CJ. Lamin A/C binding protein LAP2 α is required for nuclear anchorage of retinoblastoma protein. *Mol Biol Cell*, 13:4401-13, 2002.
15. Stuurman N, Heins S, Aebi U. Nuclear lamins: Their structure, assembly, and interactions. *J Struct Biol*, 122:42-66, 1998.
16. Agrelo R, Setien F, Espada J, Artiga MJ, Rodriguez M, Perez-Rosado A, Sanchez-Aguilera A, Fraga MF, Piris MA, Esteller M. Inactivation of the lamin A/C gene by CpG island promoter hypermethylation in hematologic malignancies, and its association with poor survival in nodal diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*, 23:3940-7, 2005
17. Vlcek S, Just H, Dechat T, Foisner R. Functional diversity of LAP2 α and LAP2 β in postmitotic chromosome association is caused by an α -specific nuclear targeting domain. *EMBO J*, 18:6370-84, 1999.
18. Dechat T, Korbei B, Vaughan OA, Vlcek S, Hutchison CJ, Foisner R. Lamina-associated polypeptide 2 α binds intranuclear A-type lamins. *J Cell Sci*;113:3473-84, 2000
19. Dechat T, Gajewski A, Korbei B, Gerlich D, Daigle N, Haraguchi T, Furukawa K, Ellenberg J, Foisner R. LAP2 α and BAF transiently localize to telomeres and specific regions on chromatin during nuclear assembly. *J Cell Sci*; 117:6117-28, 2004.
20. Johnson BR, Nitta RT, Frock RL, Mounkes L, Barbie DA, Stewart CL, Harlow E, Kennedy BK. A-type lamins regulate retinoblastoma protein function by promoting subnuclear localization and preventing proteasomal degradation. *Proc Natl Acad Sci USA*; 101:9677-82, 2004.

21. Peter Pelka, Matthew S. Miller, Matthew Cecchini, Ahmed F. Yousef, Dawn M. Bowdish, Fred Dick, Peter Whyte, Joe S. Mymryk. Adenovirus E1A Directly Targets the E2F/DP-1 Complex . *J Virol*; 85:8841-51, 2011.
22. Shauna A Henley, Frederick A Dick. The retinoblastoma family of proteins and their regulatory functions in the mammalian cell division cycle. *Cell Div*, 7: 10, 2012.
23. Dorner D, Vlcek S, Foeger N, Gajewski A, Makolm C, Gotzmann J, Hutchison CJ, Foisner R. Lamina-associated polypeptide 2 α regulates cell cycle progression and differentiation via the retinoblastoma–E2F pathway. *J Cell Biol* ; 173:83-93, 2006.
24. Hyun-Jung Kim, Sun-Hwi Hwang, Myoung-Eun Han, Sungmin Baek, Hey-Eun Sim, Sik Yoon, Sun-Yong Baek, Bong-Seon Kim, Jeong-Hwan Kim, Seon-Young Kim, Sae-Ock Oh . LAP2 Is Widely Overexpressed in Diverse Digestive Tract Cancers and Regulates Motility of Cancer Cells. *PLoS One*; 7: e39482, 2012.

L'expression de Lap2 α contrôlée par E2F est dérégulée dans diverses tumeurs humaines