

Rôle des histone-désacétylases dans le contrôle de la prolifération cellulaire

Au cours du cycle cellulaire, la progression d'une cellule vers la mitose dépend, pendant une grande partie de la phase G1, du maintien dans le milieu des facteurs de croissance. Cette période correspond à la mise en route de programmes génétiques comprenant l'activation d'une famille de gènes dont les produits sont impliqués dans les premières étapes du processus mitotique. Ainsi, certains gènes codant pour des protéines de la synthèse de l'ADN, parmi lesquels l'ADN-polymérase α , sont activés peu avant la transition G1/S. Ces gènes sont contrôlés en grande partie par un facteur de transcription, le facteur E2F [1]. E2F est formé d'un hétérodimère entre deux protéines, un membre de la famille E2F (E2F 1, 2, 3, 4 ou 5) et un membre de la famille DP (DP1 ou DP2). L'activité de E2F est très strictement contrôlée au cours du cycle cellulaire: le facteur est inactif pendant les deux premiers tiers (environ) de la phase G1; il est activé lorsque la cellule passe le « point de restriction », moment à partir duquel la cellule ne dépend plus des facteurs de croissance pour progresser dans le cycle. La molécule qui contrôle E2F et « autorise » son activation (*figure 1*) est le produit de l'anti-oncogène *RB*, un gène suppresseur de tumeurs (*m/s n° 9, vol. 11, p. 1358*) [2, 3]. Rb joue ainsi un rôle clé dans le contrôle de l'équilibre entre prolifération et différenciation. Rb est un co-répresseur transcriptionnel qui, sous forme active, se lie physiquement au domaine transactivateur de E2F (*m/s n° 10, vol. 11, p. 1115*). Cette interaction se fait *via* la région de Rb dans laquelle sont localisées la plupart des mutations

observées dans les tumeurs, la « poche A/B » [2]. La poche A/B est également le domaine de Rb avec lequel interagissent certaines protéines transformantes qui inactivent Rb, comme l'antigène T de SV40 ou la protéine E1A de l'adénovirus (*m/s n° 4, vol. 5, p. 259*). L'activité de Rb est elle-même strictement contrôlée au cours du cycle cellulaire: Rb existe sous deux formes, une forme active et une forme inactive. C'est le passage de la forme active à la forme inactive qui affranchit la cellule des contraintes extérieures et donne le signal de la progression à travers le point de restriction. Cette transition est orchestrée par les kinases dépendantes des cyclines, qui inactivent la

protéine Rb en la phosphorylant (*figure 1*) [3]. Cette phosphorylation entraîne la « libération » du facteur E2F.

Ainsi, pendant les deux premiers tiers de la phase G1, le rôle de Rb est de réprimer E2F. Le mécanisme de la répression comporte le « masquage » du domaine transactivateur de E2F, avec lequel la protéine Rb interagit directement et qu'elle empêche ainsi de remplir sa fonction transactivatrice. Cependant, la progression à travers le point de restriction semble être une étape trop importante pour reposer sur une simple inhibition compétitive de l'activité de E2F, inhibition par essence réversible et sans doute insuffisante pour verrouiller le

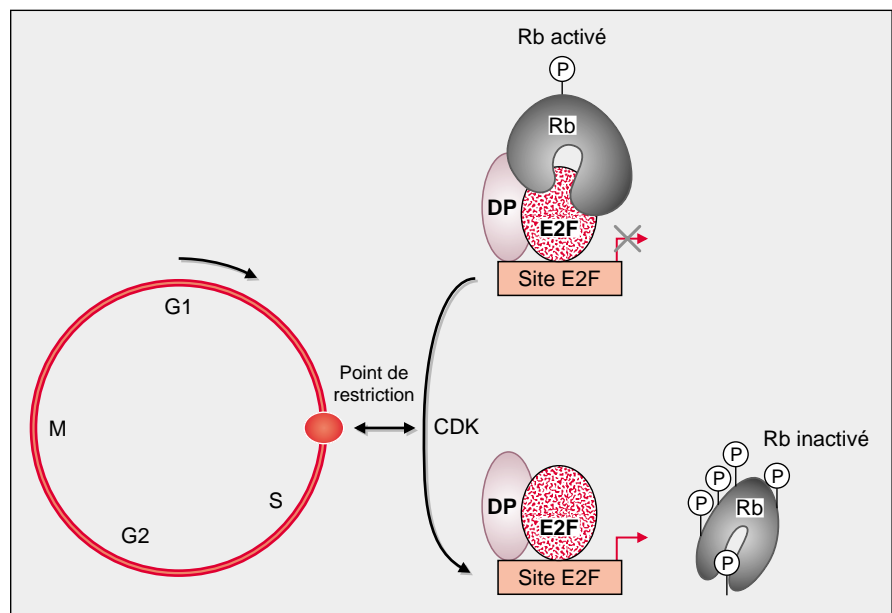


Figure 1. **Contrôle du facteur E2F par Rb au cours du cycle cellulaire.** Au passage du point de restriction, Rb est inactivé par les CDK et libère E2F qui peut transactiver ses gènes cibles.

système. Un faisceau d'arguments démontre que Rb est également un répresseur actif de la transcription. En particulier, lorsque Rb est recrutée artificiellement sur un promoteur, par exemple sous forme de protéine de fusion avec un domaine de liaison à l'ADN, elle réprime l'activité de ce promoteur, que ce soit un promoteur de base ou que ce promoteur soit sous le contrôle de séquences activatrices (pour revue voir [4]). De fait, ce phénomène de répression active semble jouer un rôle important dans le contrôle de la prolifération: la surexpression d'un mutant de E2F qui a perdu le domaine transactivateur, domaine d'interaction avec Rb, induit la transformation cellulaire alors même que la protéine E2F, dans ces conditions, n'est pas capable de transactiver ses gènes cibles (pour revue voir [4]). En fait, et là encore paradoxalement, les souris dans lesquelles E2F est inactivé développent des tumeurs (pour revue voir [5]). Une interprétation probable de ces résultats est que, dans les deux cas, le fait d'inactiver E2F bloque le processus de répression active, qui passe par le recrutement de la protéine Rb sur les promoteurs cibles, et aboutit à l'expression des gènes cibles à un niveau basal, niveau suffisant pour observer la transformation de la cellule.

Le mécanisme de cette répression active, comme de la répression transcriptionnelle en général, est encore mal connu. Des résultats récents ont apporté quelques éléments sur ce problème. En effet, certains corepresseurs transcriptionnels sont associés à une famille d'enzymes, les histone-désacétylases [6]. Ces enzymes sont capables de désacétyler les queues amino-terminales des histones, qui flottent à l'extérieur du cœur du nucléosome dans la chromatine. L'acétylation de ces queues amino-terminales semble entraîner une déstructuration locale de la chromatine et facilite la transcription [7, 8]. A l'inverse, la désacétylation des histones du cœur rendrait plus compacte la structure du nucléosome et diminuerait l'activité transcriptionnelle du gène. Nous avons montré [9], en même temps que l'équipe de

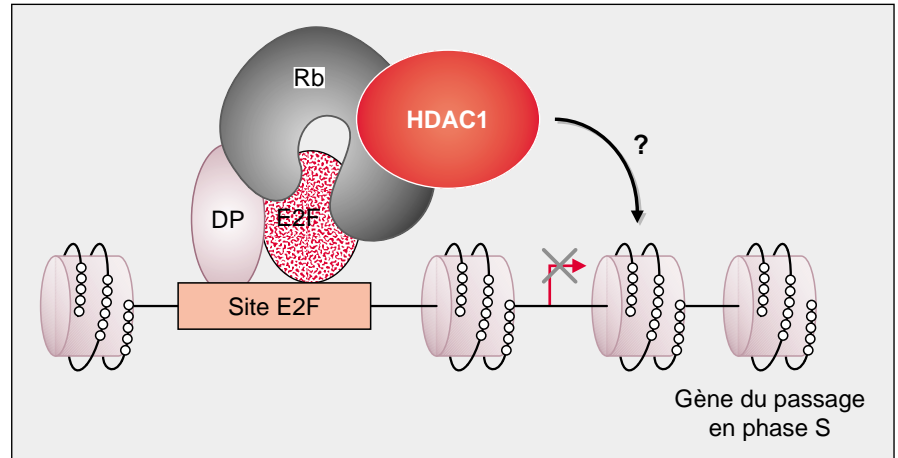


Figure 2. **Mécanisme de la coopération entre Rb et HDAC1.** Au cours de la phase G1, E2F recrute un complexe Rb/HDAC1, qui désacétyle localement les histones et maintient une structure « fermée » de la chromatine, réprimant la transcription.

Tony Kouzarides en Angleterre [10], que Rb utilise une histone-désacétylase pour réprimer la transcription. En effet, Rb forme, *in vitro* comme dans les cellules, un complexe avec l'histone-désacétylase HDAC1. Ce qui est particulièrement intéressant, c'est que ce complexe se fait, dans la molécule HDAC1, *via* un motif de type « LXCXE » (Leu, X, Cys, X, Glu), très proche du motif utilisé par les protéines transformantes virales dans l'interaction et l'inactivation de Rb. En fait, le motif LXCXE de l'antigène T de SV40 est capable d'inhiber l'interaction entre Rb et HDAC1, au moins *in vitro*. L'interaction Rb/HDAC1 pourrait donc être l'une des cibles visées par ces protéines virales au cours du processus de transformation cellulaire.

Par ailleurs, des expériences de transfection transitoire montrent que Rb et HDAC1 sont capables de coopérer pour réprimer la transcription. D'ailleurs, un inhibiteur spécifique des histone-désacétylases, la trichostatine A, lève la répression transcriptionnelle par Rb. L'ensemble de ces résultats suggère que Rb utilise une histone-désacétylase pour réprimer E2F. Un modèle possible de la coopération entre ces deux molécules est décrit dans la figure 2. Dans ce modèle, Rb, attiré sur les promoteurs par E2F, recrute

HDAC1. HDAC1 désacétyle localement les histones, verrouillant le promoteur dans une configuration inactive. Il est important de noter, cependant, que ce modèle n'est pas le seul possible. En effet, bien que certaines expériences de l'équipe de Tony Kouzarides aient été réalisées sur des vecteurs rapporteurs intégrés et donc dans une configuration génomique [10], la plupart des expériences concernant Rb et HDAC1 [9, 10] ont été réalisées sur un vecteur rapporteur, et donc un promoteur test, introduit dans les cellules de manière transitoire. Dans ces conditions, il ne semble pas que le promoteur adopte une structure chromatiniennne canonique. La cible de HDAC1 pourrait donc bien être une autre molécule que les histones. Certaines protéines de la machinerie transcriptionnelle de base sont de fait acétylables, au moins *in vitro* [11]. Par ailleurs, certains facteurs de transcription pourraient être réglés directement par acétylation. C'est ce qui a été montré, en tout cas, pour la p53 [8]. L'acétylation ne représente peut-être, après tout, qu'une modification des protéines utilisée dans les cellules de manière générale, au même titre que la phosphorylation. L'avenir dira laquelle de ces hypothèses est correcte ■

RÉFÉRENCES

1. Nevins JR. E2F: a link between the Rb tumor suppressor protein and viral oncoproteins. *Science* 1992; 258: 424-9.
2. Weinberg RA. The retinoblastoma gene and gene product. *Cancer Surv* 1992; 12: 43-57.
3. Lamas E, Zindy F, Sobczack J, Paterlini P, Wang J, Chenivresse X, Henglein B, Bréchet C. Cyclin-A et cancer. *Med Sci* 1993; 9: 676-83.
4. Trouche D. Control of cell proliferation by the retinoblastoma gene product. *Pathol Biol (Paris)* 1997; 45: 5-8.
4. Weinberg RA. E2F and cell proliferation: a world turned upside down. *Cell* 1996; 85: 457-9.
5. Wolffe AP. Histone deacetylase: a regulator of transcription. *Science* 1996; 272: 371-2.
6. Wolffe AP. Transcriptional activation. Switched-on chromatin. *Curr Biol* 1994; 4: 525-8.
7. Taddei A, Almouzni G. Les acétyl-transférases et désacétylases des histones: des co-régulateurs de la transcription. *Med Sci* 1997; 13: 1205-11.
8. Magnaghi-Jaulin L, Groisman R, Naguibneva I, Robin P, Lorain S, Le Villain JP, Troalen F, Trouche D, Harel-Bellan A. The retinoblastoma protein represses transcription by recruiting a histone deacetylase. *Nature* 1998; 391: 601-5.
9. Brehm A, Miska EA., McCance DJ, Reid JL, Bannister AJ, Kouzarides T. Retinoblastoma protein recruits histone deacetylases to repress transcription. *Nature* 1998; 391: 597-601.
10. Imhof A, Yang XJ, Ogryzko VV, Nakatani Y, Wolffe AP, Ge H. Acetylation of general transcription factors by histone acetyl-transferases. *Curr Biol* 1997; 7: 689-92.

TIRÉS À PART

A. Harel-Bellan.

Laura Magnaghi-Jaulin

Chercheur postdoctorale.

Reguina Groisman

Étudiante en thèse.

Irina Naguibneva

Chercheur postdoctorale.

Philippe Robin

Technicien Inserm.

Didier Trouche

Chargé de recherche au Cnrs.

Annick Harel-Bellan

*Directeur de recherche au Cnrs
Cnrs UPR 9079, IFC-01, 7, rue Guy-
Moquet, 94800 Villejuif, France.*

