



## RÉFÉRENCES

1. Yarden Y, Ullrich A. Growth factor receptor tyrosine kinases. *Annu Rev Biochem* 1988 ; 57 : 443-78.
2. Hynes NE, Lane HA. ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors. *Nat Rev Cancer* 2005 ; 5 : 341-54.
3. Olayioye MA, Neve RM, Lane HA, et al. The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *EMBO J* 2000 ; 19 : 3159-67.
4. Chung KY, Shia J, Kemeny NE, et al. Cetuximab shows activity in colorectal cancer patients with tumors that do not express the epidermal growth factor receptor by immunohistochemistry. *J Clin Oncol* 2005 ; 23 : 1803-10.
5. DiGiovanna MP, Stern DF, Edgerton SM, et al. Relationship of epidermal growth factor receptor expression to ErbB-2 signaling activity and prognosis in breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2005 ; 23 : 1152-60.
6. Porebska I, Harlozińska A, Bojarowski T. Expression of the tyrosine kinase activity growth factor receptors (EGFR, ERB B2, ERB B3) in colorectal adenocarcinomas and adenomas. *Tumour Biol* 2000 ; 21 : 105-15.
7. Wang Z, Zhang L, Yeung TK, et al. Endocytosis deficiency of epidermal growth factor (EGF) receptor-ErbB2 heterodimers in response to EGF stimulation. *Mol Biol Cell* 1999 ; 10 : 1621-36.
8. Baulida J, Kraus MH, Alimandi M, et al. All ErbB receptors other than the epidermal growth factor receptor are endocytosis impaired. *J Biol Chem* 1996 ; 271 : 5251-7.
9. Wilkinson JC, Staros JV. Effect of ErbB2 coexpression on the kinetic interactions of epidermal growth factor with its receptor in intact cells. *Biochemistry* 2002 ; 41 : 8-14.
10. Citri A, Yarden Y. EGF-ERBB signalling: towards the systems level. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006 ; 7 : 505-16.
11. Dancey JE, Chen HX. Strategies for optimizing combinations of molecularly targeted anticancer agents. *Nat Rev Drug Discov* 2006 ; 5 : 649-59.
12. Moulder SL, Yakes FM, Muthuswamy SK, et al. Epidermal growth factor receptor (HER1) tyrosine kinase inhibitor ZD1839 (Iressa) inhibits HER2/neu (erbB2)-overexpressing breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res* 2001 ; 61 : 8887-95.
13. Walshe JM, Denduluri N, Berman AW, et al. A phase II trial with trastuzumab and pertuzumab in patients with HER2-overexpressed locally advanced and metastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2006 ; 6 : 535-9.
14. Larboret C, Robert B, Teulon I, et al. *In vivo* therapeutic synergism of anti-EGFR and anti-HER2 monoclonal antibodies against pancreatic carcinomas. *Clin Can Res* 2007 ; 13 : 3356-62.

## NOUVELLE

### p53R2 : réparation de l'ADN ou synthèse de l'ADN mitochondrial ?

Alice Bourdon, Agnès Rötig

Inserm U781, Hôpital Necker-Enfants Malades,  
149, rue de Sèvres, 75015 Paris, France.

[bourdon@necker.fr](mailto:bourdon@necker.fr)

> Les déplétions de l'ADN mitochondrial (ADNmt) sont caractérisées par une diminution du nombre de molécules d'ADNmt et sont une cause importante des déficits de la chaîne respiratoire. De nombreux gènes nucléaires contrôlent le nombre de copies d'ADNmt et ces anomalies quantitatives sont les conséquences de mutations de certains de ces gènes. Des mutations dans cinq gènes nucléaires ont été rapportées dans des déplétions de l'ADNmt. Ces gènes sont impliqués dans la réplication de l'ADNmt (*POLG* [1] qui code l'ADN polymérase mitochondriale) et dans la voie de récupération des dNTP mitochondriaux (*DGUOK* [2], *TK2* [3] codant respectivement pour la désoxyguanosine kinase et la thymidine kinase mitochondriales). Le dernier gène identifié, *MPV17* [4], code pour une protéine localisée dans la mitochondrie mais dont la fonction est inconnue à ce jour. Cependant,

pour une majorité des patients avec déplétion de l'ADNmt, le gène muté reste à identifier. La grande hétérogénéité clinique des patients avec déplétions de l'ADNmt suggère une grande hétérogénéité génétique et la découverte de nouveaux gènes de déplétions de l'ADNmt est rendue difficile par la petite taille des familles. Une analyse de liaison réalisée sur une famille consanguine présentant une déplétion très sévère de l'ADNmt dans le muscle (1 % de la quantité normale d'ADNmt) nous a permis d'identifier une région sur le chromosome 8 avec un *lod score* significatif de 3,3. Parmi les quelques 60 gènes de la région, nous avons bien évidemment étudié les gènes codant pour des protéines avec une fonction ou une localisation mitochondriales mais sans succès. Nous nous sommes ensuite intéressés au gène *p53R2* qui code pour une petite sous-unité de la ribonucléotide réductase.

La ribonucléotide réductase est une enzyme cytoplasmique qui catalyse la réduction des nucléosides diphosphates (NDP) en dNDP [5], étape limitante dans la synthèse de l'ADN. Elle est constituée d'un homodimère de deux grosses sous-unités R1 et d'un homodimère de deux petites sous-unités R2. L'expression de R1 est constante et ubiquitaire alors que R2 est uniquement exprimée au cours de la phase S. La protéine R2 est spécifiquement dégradée en fin de mitose. *p53R2* code pour une deuxième petite sous-unité qui a été identifiée en 2000 par deux laboratoires [6, 7]. Cet homologue de R2 (80 % d'identité), exprimé de façon constante, est une cible du facteur de transcription p53 et est ainsi appelé *p53R2*. La synthèse des dNTP dans les cellules en division est très majoritairement assurée par le complexe R1/R2 au cours de la phase S mais le complexe R1/p53R2 est également

actif assurant la synthèse de 2 à 3 % des dNTP. Dans les tissus non prolifératifs, la sous-unité R2 est absente et ne permet donc plus la synthèse des dNTP par le complexe R1/R2. Or, dans ces cellules, une synthèse des dNTP est toujours nécessaire pour la réparation de l'ADN après des lésions. La découverte de la sous-unité p53R2 induite par p53 a alors laissé penser que le complexe R1/p53R2 permettait la synthèse de dNTP pour la réparation de l'ADN. Pensant avoir identifié un nouveau gène impliqué dans la tumorigenèse, le groupe de Nakamura a généré une souris *p53R2<sup>-/-</sup>* [8] afin d'étudier les anomalies de réparation de l'ADN. Malheureusement ces souris ne présentaient aucune tumeur mais développaient rapidement une insuffisance rénale à 4 semaines, un retard de croissance à 6 semaines et mourraient vers l'âge de 14 semaines. Le rôle de *p53R2* dans la réparation de l'ADN n'était donc pas aussi évident qu'on le pensait d'autant que l'induction de p53R2 après des lésions de l'ADN n'engendre pas d'augmentation significative des *pools* de dNTP dans

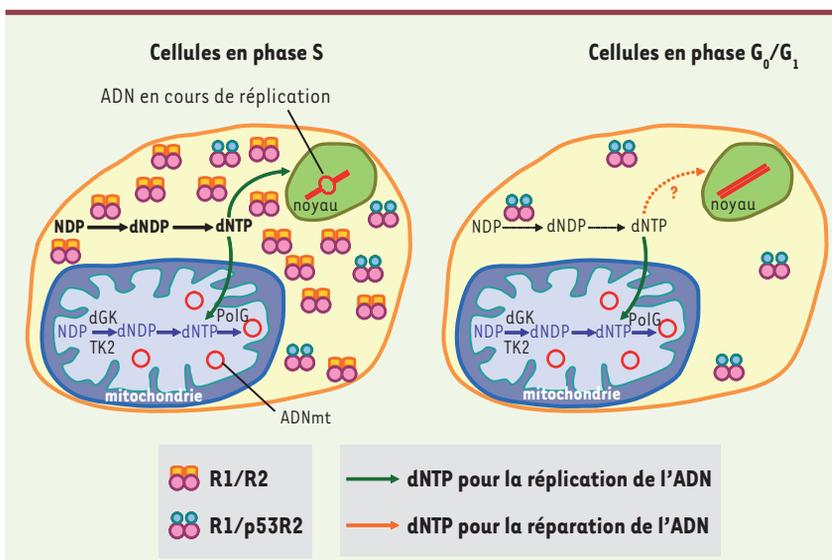
les cellules non prolifératives. De plus, l'induction de p53R2 par p53 est assez lente, avec un maximum 24 h après la lésion de l'ADN alors que la réparation de l'ADN semble complète quelques heures seulement après la lésion. Les mitochondries contiennent des dNTP indispensables à la réplication de l'ADNmt. Ces dNTP mitochondriaux sont issus soit du transport des dNTP cytoplasmiques dans la mitochondrie soit d'une voie de récupération mitochondriale à partir de l'ADNmt. Cette voie de récupération est essentielle pour la réplication de l'ADNmt puisque des mutations dans des gènes de cette voie (*DGUOK* et *TK2*) conduisent à des déplétions sévères de l'ADNmt. Dans des cellules en prolifération le *pool* de dNTP cytoplasmiques est largement suffisant pour fournir la mitochondrie. En revanche, dans les tissus non prolifératifs, une synthèse continue de dNTP est également nécessaire à la réplication de l'ADNmt qui est indépendante du cycle cellulaire [9].

Le séquençage du gène *p53R2* chez nos patients a permis d'identifier une mutation non-sens homozygote (Q284X).

Nous avons également retrouvé des mutations faux-sens (E194K, W64R, E194G, C236F), de site d'épissage (IVS3-2 A→G) et une petite délétion ( $\Delta$ Glu85) de ce gène chez quatre autres patients issus de trois familles différentes non consanguines [10]. Tous les acides aminés mutés sont hautement conservés entre les espèces et ont été identifiés auparavant pour jouer un rôle important dans le fonctionnement de l'enzyme. Ces mutations mettent donc en évidence pour la première fois le lien entre la synthèse de dNTP catalysée par R1/p53R2 et la synthèse de l'ADNmt. Enfin, la découverte de déplétions de l'ADNmt dans le muscle, le rein et le foie de la souris *p53R2<sup>-/-</sup>*, prouve que p53R2 joue un rôle majeur dans la réplication de l'ADNmt. Il est aussi important de noter que les parents des enfants atteints, hétérozygotes pour les mutations *p53R2*, ne développent pas de tumeur.

La dernière surprise a été l'observation d'une induction de p53 dans les cellules (lignées lymphoblastoïdes, fibroblastes et cellules amniocytaires) de patients mutés dans *p53R2*. L'expression de p53 semble également augmentée dans les tubules du rein des souris *p53R2<sup>-/-</sup>* suggérant un mécanisme commun aux cellules humaines et aux tissus murins. On connaît maintenant des systèmes de réponse de gènes nucléaires à un dysfonctionnement mitochondrial tels que la régulation rétrograde chez la levure, l'augmentation du  $Ca^{2+}$  cytosolique ou l'activation de NF $\kappa$ B chez les mammifères [11]. Il est donc possible d'imaginer que p53 pourrait également participer à ce contrôle. Il serait intéressant de déterminer si l'induction de p53 est la conséquence d'un état de stress provoqué par les mutations du gène *p53R2*, par la déplétion de l'ADNmt, ou encore plus généralement par le déficit de la chaîne respiratoire dans ces cellules. ♦

**p53R2 : DNA repair or mitochondrial DNA synthesis?**



**Figure 1. Synthèse des désoxyribonucléotides chez les mammifères au cours de la phase S (gauche) et en phase G0/G1.** Au cours de la phase S, les dNTP sont synthétisés par le complexe ribonucléotide réductase R1/R2. Dans les cellules non prolifératives, sans protéine R2, les dNTP sont synthétisés par le complexe R1/p53R2. La voie de récupération des dNTP mitochondriaux participe au maintien du *pool* des dNTP mitochondriaux.



## RÉFÉRENCES

1. Ferrari G, Lamantea E, Donati A, et al. Infantile hepatocerebral syndromes associated with mutations in the mitochondrial DNA polymerase-gammaA. *Brain* 2005 ; 128 : 723-31.
2. Mandel H, Szargel R, Labay V, et al. The deoxyguanosine kinase gene is mutated in individuals with depleted hepatocerebral mitochondrial DNA. *Nat Genet* 2001 ; 29 : 337-41.
3. Saada A, Shaag A, Mandel H, et al. Elpeleg, mutant mitochondrial thymidine kinase in mitochondrial DNA depletion myopathy. *Nat Genet* 2001 ; 29 : 342-4.
4. Spinazzola A, Viscomi C, Fernandez-Vizarra E, et al. MPV17 encodes an inner mitochondrial membrane protein and is mutated in infantile hepatic mitochondrial DNA depletion. *Nat Genet* 2006 ; 38 : 570-5.
5. Nordlund P, Reichard P. Ribonucleotide reductases. *Annu Rev Biochem* 2006 ; 75 : 681-706.
6. Tanaka H, Arakawa H, Yamaguchi T, et al. A ribonucleotide reductase gene involved in a p53-dependent cell-cycle checkpoint for DNA damage. *Nature* 2000 ; 404 : 42-9.
7. Nakano K, Balint E, Ashcroft M, Vousden KH. A ribonucleotide reductase gene is a transcriptional target of p53 and p73. *Oncogene* 2000 ; 19 : 4283-9.
8. Kimura T, Takeda S, Sagiya Y, et al. Impaired function of p53R2 in Rrm2b-null mice causes severe renal failure through attenuation of dNTP pools. *Nat Genet* 2003 ; 34 : 440-5.
9. Pontarin G, Ferraro P, Hakansson P, et al. p53R2-dependent ribonucleotide reduction provides deoxyribonucleotides in quiescent human fibroblasts in the absence of induced DNA damage. *J Biol Chem* 2007 ; 282 : 16820-8.
10. Bourdon A, Minai L, Serre V, et al. Mutation of RRM2B, encoding p53-controlled ribonucleotide reductase (p53R2), causes severe mitochondrial DNA depletion. *Nat Genet* 2007 ; 39 : 776-80.
11. Butow RA, Avadhani NG. Mitochondrial signaling: the retrograde response. *Mol Cell* 2004 ; 14 : 141-5.

## NOUVELLE

### Traitement pharmacologique dans le syndrome de Rett Des résultats prometteurs chez la souris

Jean-Christophe Roux, Laurent Villard

Inserm U.491, Faculté de Médecine La Timone,  
27, boulevard Jean Moulin,  
13385 Marseille Cedex 5, France.  
[jean-christophe.roux@medecine.univ-mrs.fr](mailto:jean-christophe.roux@medecine.univ-mrs.fr)  
[laurent.villard@medecine.univ-mrs.fr](mailto:laurent.villard@medecine.univ-mrs.fr)

> Le syndrome de Rett est un grave désordre neurologique qui affecte le fonctionnement du système nerveux central [1]. Cette neuropathie a une prévalence d'environ 1/10 000 naissances de filles et elle représente environ 10 % des retards mentaux profonds d'origine génétique chez la femme [2]. Les manifestations cliniques sont caractérisées par un développement normal durant la période néonatale jusqu'à 6 à 18 mois, puis par un ralentissement du développement et une régression rapide des capacités intellectuelles et de communication associée à une microcéphalie, des stéréotypies manuelles et des troubles de motricité (ataxie/apraxie) [1]. Dès son individualisation, il a été remarqué que le syndrome de Rett ne frappait que les filles et que le caractère et l'homogénéité des signes cliniques de la maladie étaient compatibles avec une origine génétique. L'identification du gène responsable, en 1999, a confirmé qu'il s'agissait bien d'une maladie génétique et a permis d'entrevoir son mécanisme pathogénique. Il s'agit du gène *Mecp2* localisé sur le chromosome X et codant pour une protéine régulatrice de la transcription [2, 3].

#### Déficits noradrénergiques à l'origine des troubles respiratoires dans le modèle murin

Les filles atteintes du syndrome de Rett présentent, en plus de troubles cognitifs et moteurs, des déficits du système nerveux autonome. Plus particulièrement, les systèmes cardiorespiratoires présentent de sévères arythmies qui pourraient être responsables chez les filles Rett d'un quart des décès [4]. Nous avons donc décidé d'aborder l'origine des troubles respiratoires en utilisant un modèle de souris déficientes pour la protéine *Mecp2* (*Mecp2<sup>-/-</sup>*) [5]. Nos résultats ont apporté de nouveaux éléments physiopathologiques et ont permis en premier lieu de montrer que le modèle murin présentait, comme les patientes, des troubles respiratoires importants. Ceux-ci apparaissent chez les souris *Mecp2<sup>-/-</sup>* vers l'âge d'un mois et s'aggravent jusqu'à l'arrêt respiratoire survenant vers l'âge de deux mois [6]. Durant leur dernière semaine de vie, les souris mutantes présentent une respiration irrégulière marquée par de grandes périodes d'apnées. Quelle est l'origine de ces troubles respiratoires ? Bien que cette fonction soit contrôlée

finement par une multitude de structures nerveuses périphériques et centrales, le tronc cérébral est connu comme la structure principale responsable de sa genèse et de sa régulation [7]. Or, l'étude de cette structure chez les souris *Mecp2<sup>-/-</sup>* a permis de montrer que les contenus en noradrénaline, neurotransmetteur essentiel à la commande respiratoire, sont fortement réduits à partir de l'âge d'un mois, ce qui coïncide avec l'apparition des troubles respiratoires chez ces mêmes animaux [7]. Par ailleurs, l'analyse de coupes histologiques révèle que le nombre de neurones exprimant l'enzyme limitante de la synthèse de la noradrénaline, la tyrosine hydroxylase (TH), est fortement réduit dans le tronc cérébral. Ce dernier résultat permet, en partie, d'expliquer les diminutions en noradrénaline par une réduction du nombre de neurones exprimant l'enzyme clé de sa synthèse.

#### Traitement pharmacologique des souris modèles

L'identification de déficits neurochimiques et cellulaires, pouvant expliquer l'origine des troubles respiratoires, laisse