

perturbe l'action des miR cellulaires. Quelqu'en soit le mécanisme, ceci pourrait avoir de nombreuses implications dans les maladies impliquant les mitochondries. À terme, ces résultats pourraient avoir une utilité thérapeutique pour traiter les dysfonctionnements mitochondriaux. ♦

Mitochondria, microRNA and RNA interference

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Huang L, Mollet S, Souquere S, et al. Mitochondria associate with P-bodies and modulate microRNA-mediated RNA interference. *J Biol Chem* 2011 ; 286 : 24219-30.
2. Bandiera S, Rüberg S, Girard M, et al. Nuclear outsourcing of RNA interference components to human mitochondria. *PLoS One* 2011 ; 6 : e20746.
3. Barrey E, Saint-Auret G, Bonnamy B, et al. Pre-microRNA and mature microRNA in human mitochondria. *PLoS One* 2011 ; 6 : e20220.
4. Finoux AL, Chartrand P. Micro-ARN : oncogènes et suppresseurs de tumeurs. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 1049-54.
5. Kren BT, Wong PY, Sarver A, et al. MicroRNAs identified in highly purified liver-derived mitochondria may play a role in apoptosis. *RNA Biol* 2009 ; 6 : 65-72.

NOUVELLE

Levée de rideau sur la spinophiline, un suppresseur de tumeurs

Denis Sarrouilhe, Véronique Ladeveze

Institut de physiologie et biologie cellulaires, pôle biologie santé, université de Poitiers, CNRS UMR 6187, 40, avenue du recteur Pineau, Poitiers, 86022, France
Denis.Sarrouilhe@univ-poitiers.fr

La spinophiline, expression tissulaire et partenaires

La spinophiline (SPN ou neurabine2) est une protéine modulaire qui a été caractérisée à la fin des années 1990 dans des homogénats de cerveaux de rats et humains sur la base de ses propriétés de protéine régulatrice de la sous-unité catalytique de la protéine phosphatase 1 (PP1c) et de protéine se liant à la F-actine [1, 2]. La SPN est une protéine de 817 acides aminés constituée par un domaine qui lie la F-actine, un domaine qui interagit avec plusieurs récepteurs couplés aux protéines G (GPCR), un domaine de liaison à la PP1c renfermant le motif peptidique R/K-R/K-V/I-X-F, un domaine PDZ (PSD95/DLG/zo-1) et trois domaines *coiled-coil* permettant une multimérisation [3]. L'« interactome » de la SPN comprend une trentaine de protéines parmi lesquelles des éléments du cytosquelette, des enzymes, des récepteurs membranaires (GPCR et récepteurs-canaux), des canaux ioniques, des facteurs d'échange de nucléotides guaniliques (GEF), des régulateurs de la

signalisation des protéines G (RGS) et d'autres protéines comme le suppresseur de tumeur ARF (*alternative reading frame*, produit du locus *INK4a/ARF*). Il est ainsi progressivement apparu que la SPN n'était pas une simple protéine de régulation de certaines isoenzymes de la PP1 (comme l'alpha, PP1 α) mais une véritable protéine d'échafaudage dont les différents domaines permettent de former une plateforme de signalisation localisant la PP1c à proximité de ses substrats et lui conférant une spécificité vis-à-vis de ceux-ci [4]. Bien que l'expression de la SPN soit ubiquitaire, les études se sont à ce jour surtout focalisées sur le rôle de la SPN dans les mécanismes de plasticité synaptique au niveau de l'hippocampe et du striatum [5]. Parmi les études s'intéressant à la SPN présente au niveau des tissus périphériques, celle de l'équipe de La Mantia de l'université de Naples, montrait que la protéine d'échafaudage interagissait dans des cellules de mammifères avec une protéine nucléolaire, le suppresseur de tumeur ARF, et proposait un rôle de la SPN dans la croissance cellulaire [6].

Le locus du gène codant pour la spinophiline est localisé sur le chromosome 17 en position 17q21.33, une région qui est fréquemment associée à une instabilité des microsatellites et une perte d'hétérozygotie observée dans différents cancers humains. Cette région renferme une forte densité de gènes suppresseurs de tumeurs dont certains sont bien connus (*BRCA1*, *breast cancer 1*), d'autres supposés et enfin des candidats non encore identifiés et localisés distalement par rapport au locus de *BRCA1*. Ainsi, des études menées dans les cancers du sein et les cancers ovariens ont suggéré la présence d'un gène suppresseur de tumeur inconnu dans cette zone incluant le locus du gène codant pour la SPN. Toutefois, en dépit de ces corrélations génétiques, aucune étude approfondie n'avait prouvé qu'une fonction suppresseur de tumeur pourrait être attribuée à la SPN.

Preuves expérimentales du rôle de la spinophiline dans la régulation du cycle cellulaire et la tumorigenèse

L'équipe de Amancio Carnero de l'institut de biomédecine de Séville a publié



en 2011 trois articles complémentaires impliquant la spinophiline dans la régulation du cycle cellulaire et la tumorigénèse.

- Dans un premier article, ils analysent par immunohistochimie une série de 35 tumeurs pulmonaires humaines et révèlent l'absence de la SPN dans 20 % et une diminution de son niveau d'expression dans 37 % de ces tumeurs [7]. La perte d'expression de la SPN est associée à un phénotype cellulaire moins différencié, un grade tumoral plus élevé et un mauvais pronostic. Une corrélation a également été faite entre la perte d'expression de la SPN, la mutation de p53 et son accumulation nucléaire. D'autre part, des cellules pulmonaires cancéreuses humaines dépourvues de p53, ou exprimant une forme mutée de p53, ont un pouvoir tumoral plus agressif lorsqu'on réduit la quantité de SPN en traitant les cellules par un shARN. Ces résultats montrent que la perte d'expression de la SPN par ces cellules tumorales contribue au processus cancéreux en l'absence de p53.

- Dans leur deuxième article, les auteurs ont étudié la fonction suppresseur de

tumeur de la SPN dans des modèles *in vivo* en utilisant des souris modifiées génétiquement [8]. Les souris *Spn*^{-/-} ont une espérance de vie réduite, une fréquence accrue de lésions précancéreuses dans certains tissus, comme les conduits des glandes mammaires, ainsi que des tumeurs spontanées précoces comme les lymphomes. Dans une autre série d'expériences, les auteurs ont testé les effets de différentes combinaisons des allèles de la SPN chez des souris exprimant une p53 mutée (p53R172H) au niveau des glandes mammaires. Ainsi, le nombre des lésions précancéreuses mais aussi des carcinomes mammaires observés chez les souris *Spn*^{-/-} ou *Spn*^{+/-} est très supérieur à celui des souris *Spn*^{+/+}. Ces résultats confirment une relation fonctionnelle entre p53 et la Spn dans les processus cancéreux et montrent que l'absence de Spn ne semble pas contribuer à l'initiation, mais plutôt à la progression tumorale.

- Dans une troisième étude réalisée sur des fibroblastes d'embryons de souris (MEF), l'équipe de Carnero propose un mécanisme d'action pour la Spn : elle jouerait un rôle de suppresseur de

tumeurs en stabilisant la PP1c α et en régulant l'activité de la phosphatase vis-à-vis de pRb (forme phosphorylée de la protéine du rétinoblastome). En effet, les résultats de cette équipe indiquent que d'une part la surexpression ectopique de Spn dans des cellules MEF immortalisées réduit fortement la croissance cellulaire, et d'autre part qu'en l'absence de Spn (MEF *Spn*^{-/-}), pRb est augmentée alors que parallèlement l'expression et l'activité de la PP1c α diminuent [9]. Rb phosphorylée ne peut plus inhiber e2F1, provoquant dans un premier temps une prolifération¹, suivie d'une augmentation de l'activité de ARF, induisant elle-même celle de p53. ARF et p53 sont tous les deux des suppresseurs de tumeurs car ils régulent le cycle cellulaire ; eux-mêmes sont sous le contrôle de Mdm2 (*mouse double minute 2*), protéine navette entre le noyau et le cytoplasme. Certains membres de la famille des facteurs de transcription

¹ E2F1 est maintenu complexé à Rb tant que cette protéine n'est pas phosphorylée. Rb hyperphosphorylée relâche E2F1, qui migre dans le noyau et induit la transcription des gènes dont les produits sont impliqués dans la transition G1→S du cycle cellulaire.

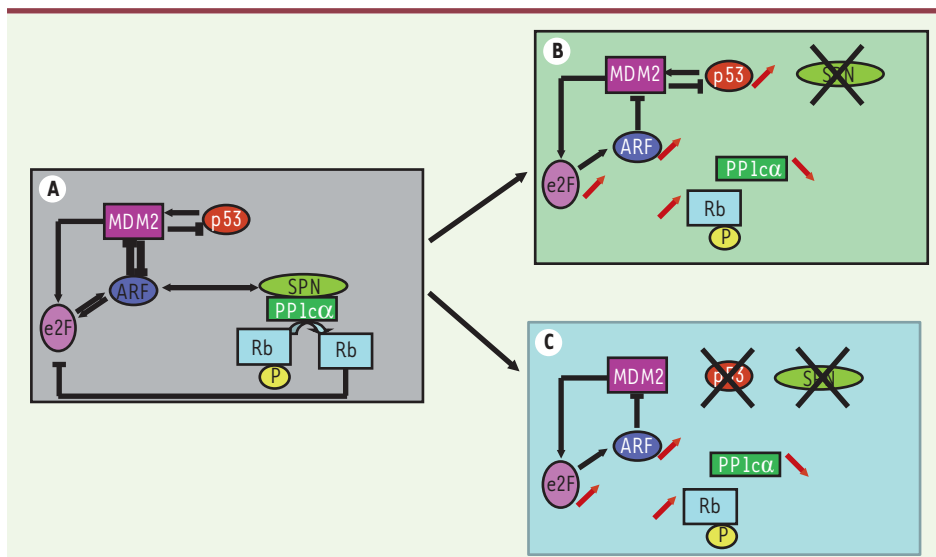


Figure 1. Régulation du cycle cellulaire par le suppresseur de tumeur p53 et la SPN. A. En présence de p53 et de la Spn le cycle cellulaire est normalement régulé. La liaison de la PP1c α à la Spn permet la déphosphorylation de pRb, ce qui inhibe e2F1 et donc la prolifération. De plus les suppresseurs de tumeurs p53 et ARF, ce dernier étant un partenaire de la Spn, régulent le cycle cellulaire *via* Mdm2 et e2F1 de façon complexe (les relations mutuelles entre les protéines apparaissant en A sont ensuite simplifiées de façon à se focaliser sur les variations obser-

vées en B et C). B. En présence de p53 et en absence de Spn, prolifération cellulaire suivie d'une nouvelle régulation du cycle cellulaire. L'expression et l'activité de la PP1c α sont diminuées, induisant une élévation de pRb levant l'inhibition de e2F1 et provoquant ainsi une prolifération cellulaire. Dans un second temps, une régulation du cycle cellulaire impliquant e2F, ARF, Mdm2 et p53 est mise en place. C. L'absence combinée de p53 et de la Spn se traduit par une prolifération cellulaire et une tumorigénèse. En absence de la Spn, la prolifération cellulaire n'est plus contrôlée en retour par p53.

e2F sont eux aussi impliqués dans la régulation du cycle cellulaire, en particulier e2F1 : l'augmentation de son expression induit une élévation du taux de ARF, qui peut lier Mdm2 et stabiliser p53. Dans les MEF *p53*^{-/-}, l'absence de la Spn augmente le potentiel tumoral des cellules. En effet, l'inhibition de e2F par Rb étant levée, la prolifération cellulaire n'est plus contrôlée en retour par p53. De plus, l'absence de Spn contribue à créer des altérations génétiques pendant l'immortalisation des cellules MEF, en particulier des mutations de *p53*. Ces résultats rejoignent les observations réalisées par la même équipe sur les souris modifiées génétiquement [8]. La *Figure 1* schématise les relations fonctionnelles entre ces différentes protéines au cours de la régulation du cycle cellulaire, et les conséquences résultant soit de l'absence de Spn seule, soit de l'absence de Spn et de p53.

Tous ces résultats suggèrent fortement que la SPN est un nouveau suppresseur

de tumeur (dont le gène est localisé en 17q21.33 chez l'homme) agissant *via* la régulation de pRb et dont la fonction est dévoilée en absence d'une p53 fonctionnelle. Cette fonction rappelle celle de NIAM (*nucleolar interaction of ARF and MDM2 protein*) qui s'exerce *via* les mêmes partenaires, ARF et p53 [10]. Ainsi, 10 ans après la publication des premières observations suggérant une fonction de la Spn dans la croissance cellulaire [6], le rideau se lève sur sa fonction suppresseur de tumeurs. ♦

When the curtain goes up on spinophilin's tumor suppressor function

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Allen PB, Ouimet CC, Greengard P. Spinophilin, a novel protein phosphatase 1 binding protein localized to dendritic spines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 : 9956-61.
2. Satoh A, Nakanishi H, Obaishi H, et al. Neurabin-1/ spinophilin. An actin filament-binding protein with one pdz domain localized at cadherin-based cell-cell adhesion sites. *J Biol Chem* 1998 ; 273 : 3470-5.
3. Sarrouilhe D, Di Tommaso A, Métyayé T, Ladeveze V. Spinophilin : from partners to functions. *Biochimie* 2006 ; 88 : 1099-113.
4. Ragusa MJ, Dancheck B, Critton DA, et al. Spinophilin directs protein phosphatase 1 specificity by blocking substrate binding sites. *Nat Struct Mol Biol* 2010 ; 17 : 459-64.
5. Allen PB, Zachariou V, Svenningsson P, et al. Distinct roles for spinophilin and neurabin in dopamine-mediated plasticity. *Neuroscience* 2006 ; 140 : 897-911.
6. Vivo M, Calogero RA, Sansone F, et al. The human tumor suppressor ARF interacts with spinophilin/ neurabin II, a type 1 protein-phosphatase-binding protein. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 14161-9.
7. Molina-Pinelo S, Ferrer I, Blanco-Aparicio C, et al. Down-regulation of spinophilin in lung tumours contributes to tumorigenesis. *J Pathol* 2011 ; 225 : 73-82.
8. Ferrer I, Peregrino S, Canamero M, et al. Spinophilin loss contributes to tumorigenesis *in vivo*. *Cell Cycle* 2011 ; 10 : 1948-55.
9. Ferrer I, Blanco-Aparicio C, Peregrino S, et al. Spinophilin acts as a tumor suppressor by regulating Rb phosphorylation. *Cell Cycle* 2011, 10 : 1-12.
10. Tompkins VS, Hagen J, Frazier AA, et al. A novel nuclear interactor of ARF and MDM2 (NIAM) that maintains chromosomal stability. *J Biol Chem* 2007 ; 282 : 1322-3.

NOUVELLE

Comprendre et combattre les toxines A/B en décryptant leur transport intracellulaire

Dimitri Moreau, Frédéric Bard

Institute for molecular and cell biology,
FB lab - room 5-12 - Proteos, 61 Biopolis drive,
138673 Singapore.
fbard@imcb.a-star.edu.sg

Les toxines A/B : un important problème de santé publique

La ricine, issue des graines de la plante *Ricinus communis*, et l'exotoxine de *Pseudomonas* (PE), produite par certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa*, font partie d'une large famille de toxines protéiques [1]. Ces toxines comportent deux sous-unités, A et B, requises pour le transport dans la cellule cible et l'activité catalytique nocive, respectivement [2]. La ricine et les autres toxines végétales représentent une menace bioterroriste significative

en raison de leur relative facilité de purification et de leur toxicité importante. D'autres toxines, comme la PE, sont produites par des pathogènes. *Pseudomonas aeruginosa* est impliqué dans de nombreuses infections des voies respiratoires et des plaies, notamment chez des patients ayant un déficit immunitaire, constitutionnel ou acquis. Parmi les autres toxines A/B, on trouve aussi les toxines Shiga et Shiga-like, qui sont en cause dans la dysenterie provoquée par *Shigella* et les intoxications alimentaires liées à certaines

souches d'*E. coli*. Ces infections sont responsables de diarrhées hémolytiques et de complications rénales pouvant conduire au décès des patients. Les toxines diphtérique et cholérique sont impliquées dans certaines pathologies létales comme l'angine diphtérique et le choléra, maladies infectieuses qui sévissent encore dans certains pays en voie de développement. Dans toutes ces infections, les toxines sont des facteurs de virulence essentiels, notamment en raison des faibles doses requises pour engendrer la mort des cellules de l'hôte,