

non encore identifiées, dans l'activation des lymphocytes T.

Enfin, il est curieux que les fonctions des lymphocytes B, qui expriment le gène *MAGT1*, ne semblent pas touchées chez ces patients par l'absence de fonction du transporteur *MAGT1*. Il serait intéressant de compléter l'analyse de l'expression de *MAGT1* dans les autres cellules du système immunitaire et de déterminer les éventuels défauts de fonction de ces dernières. Enfin, on ne peut exclure que d'autres défauts des lymphocytes T puissent être dus à l'absence de fonction de *MAGT1*. ♦

### Magnesium transporter protein 1, a new intermediate in TCR signaling

#### LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

1. Cowan JA. Structural and catalytic chemistry of magnesium-dependent enzymes. *Biomaterials* 2002 ; 15 : 225-35.
2. Yang W, Lee JY, Nowotny M. Making and breaking nucleic acids: two-Mg<sup>2+</sup>-ion catalysis and substrate specificity. *Mol Cell* 2006 ; 22 : 5-13.
3. Abboud CN, Scully SP, Lichtman AH, et al. The requirements for ionized calcium and magnesium in lymphocyte proliferation. *J Cell Physiol* 1985 ; 122 : 64-72.
4. Modiano JF, Kelepouris E, Kern JA, Nowell PC. Requirement for extracellular calcium or magnesium in mitogen-induced activation of human peripheral blood lymphocytes. *J Cell Physiol* 1988 ; 135 : 451-8.
5. Whitney RB, Sutherland RM. The influence of calcium, magnesium and cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate on the mixed lymphocyte reaction. *J Immunol* 1972 ; 108 : 1179-83.

6. Li FY, Chaigne-Delalande B, Kanelloupolou C, et al. Second messenger role for Mg<sup>2+</sup> revealed by human T-cell immunodeficiency. *Nature* 2011 ; 475 : 471-6.
7. Casanova JL, Abel L. Primary immunodeficiencies: a field in its infancy. *Science* 2007 ; 317 : 617-9.
8. Rijkers GT, Griffioen AW. Changes in free cytoplasmic magnesium following activation of human lymphocytes. *Biochem J* 1993 ; 289 : 373-7.
9. Rijkers GT, Henriquez N, Griffioen AW. Intracellular magnesium movements and lymphocyte activation. *Magn Res* 1993 ; 6 : 205-13.
10. Wu N, Veillette A. Immunology: magnesium in a signalling role. *Nature* 2011 ; 475 : 462-3.

## NOUVELLE

### Un nouveau rôle de p27<sup>KIP1</sup> dans la mitose ?

Bérénice Leclercq, Arnaud Besson

Inserm UMR1037, centre de recherche en cancérologie de Toulouse, Toulouse, France ; université de Toulouse, 118, route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex 09, France. CNRS équipe de recherche labellisée (ERL) 5294, Toulouse, France. [arnaud.besson@inserm.fr](mailto:arnaud.besson@inserm.fr)

#### p27<sup>KIP1</sup> : un inhibiteur des complexes cycline/CDK

La progression dans le cycle de division cellulaire est régie par l'activation séquentielle des complexes cycline/CDK (*cyclin-dependent kinases*). Ces complexes sont finement régulés à de multiples niveaux, notamment par des inhibiteurs de CDK dont p27<sup>KIP1</sup> (*cyclin-dependent kinase inhibitor 1B* ou p27) [1, 2]. L'importance de p27 dans le contrôle des transitions de G0 (quiescence) à G1, et de G1 à S a été abondamment décrite depuis le clonage du gène codant pour p27 en 1994 [1]. Le niveau de p27 est élevé dans les cellules quiescentes, et diminue lors de la transition G1/S pour rester faible dans les phases S, G2 et M du cycle cellulaire. La dégradation de p27 est déclenchée par sa phosphorylation par le complexe cycline E/CDK2, ce qui crée un site de reconnaissance pour l'E3 ubiquitine ligase Skp2 (*S-phase kinase-associated protein 2*)

[1]. L'invalidation chez la souris du gène *cdkn1b*, qui code pour p27, souligne l'importance de p27 dans le contrôle de la prolifération cellulaire puisque la taille de ces animaux augmente d'environ 30 %, et que cette croissance s'accompagne d'une hyperplasie de divers organes et d'une prédisposition à la tumorigenèse spontanée ou induite par des carcinogènes [1]. De plus, la perte de l'expression nucléaire de p27 est un facteur de mauvais pronostic dans de nombreux types de cancers chez l'humain [1]. En outre, la diminution nucléaire de p27 n'est pas associée à des mutations génétiques, comme c'est le cas pour les suppresseurs de tumeurs classiques, mais elle résulte de l'augmentation de sa dégradation protéolytique ou de son exclusion du noyau.

#### p27<sup>KIP1</sup> : protéine multifonctionnelle

De nombreuses études indiquent que le rôle de p27 ne se limite pas à l'inhibition

du cycle cellulaire, et que cette protéine participe en fait à la régulation d'autres processus cellulaires *via* son interaction avec divers partenaires protéiques [1, 2]. En effet, p27 est impliquée dans le contrôle de la migration cellulaire, de l'apoptose, de la transcription et du devenir des cellules souches progénitrices de p27 [1, 3, 4]. Afin d'étudier les fonctions indépendantes des complexes cycline/CDK, nous avons généré des souris *knock-in* exprimant un allèle de p27 incapable de lier les cyclines et les CDK (p27<sup>CK-</sup>) [2, 4, 5]. À l'inverse des souris p27<sup>-/-</sup> qui présentent des tumeurs spontanées uniquement au niveau de l'hypophyse, les souris p27<sup>CK-</sup> développent des tumeurs dans divers organes dont les poumons. Ce modèle murin a donc révélé un rôle oncogénique pour p27, indépendant de ses fonctions d'inhibiteur de cycline/CDK.

Une autre caractéristique de la protéine p27<sup>CK-</sup> est qu'en absence de



liaison aux complexes cycline/CDK, Skp2 est incapable de s'y lier, ce qui empêche son ubiquitinylation et sa dégradation. Par conséquent, le niveau de p27<sup>CK-</sup> est anormalement élevé dans les phases S/G2/M du cycle cellulaire [5].

### Rôles de p27 dans les phases G2/M

Alors que le rôle de p27 à la transition G1/S est abondamment décrit, son implication dans les phases tardives du cycle cellulaire l'est beaucoup moins. Néanmoins, plusieurs études indiquent que p27 joue un rôle important dans le contrôle de l'entrée en mitose. Les souris *Skp2*<sup>-/-</sup> présentent un phénotype de polyploidie, une amplification des centrosomes et un défaut de prolifération qui sont absents dans les animaux *Skp2*<sup>-/-</sup>/*p27*<sup>-/-</sup>, indiquant que l'accumulation de p27 en phases G2/M causée par la perte de Skp2 est responsable d'un défaut de progression en mitose [6, 7]. p27 est aussi impliquée dans l'arrêt des cellules en phases G2/M en réponse aux dommages à l'ADN [8, 9]. p27 potentialise également l'accumulation de la protéine Rad51 lors de la réparation des cassures double brin de l'ADN. En effet, elle inhibe la phosphorylation de BRCA2 (*breast cancer 2*) par le complexe cycline-B/CDK1, ce qui empêche la formation des complexes BRCA2/Rad51 et la réparation des dommages à l'ADN dépendante de Rad51 [9].

Nous avons donc utilisé le fait que le niveau de p27<sup>CK-</sup> est comparable à celui de p27 dans les souris *Skp2*<sup>-/-</sup> pour déterminer si p27 intervenait au cours de la mitose indépendamment des cycline/CDK.

### Un nouveau rôle de p27 dans le contrôle de la cytokinèse via la régulation de citron kinase

Les souris *p27*<sup>CK-</sup> présentent un phénotype de multinucléation dans plusieurs tissus, dont le foie et les reins [10]. De plus, l'expression de p27<sup>CK-</sup> est capable d'induire la multinucléation de cellules

en culture [10]. p27 semble donc jouer un rôle indépendant des cycline/CDK en fin de mitose, lors de l'étape finale de la division cellulaire qui conduit à la séparation des cellules filles : la cytokinèse.

La cytokinèse est divisée en plusieurs étapes incluant l'assemblage de l'anneau contractile d'actomyosine, sa contraction au niveau du sillon de clivage jusqu'à la formation d'une zone dense (*midbody*) au niveau de la zone d'interdigitation des microtubules du fuseau mitotique. La phase finale de la cytokinèse est l'abscission où les cellules se séparent physiquement. Des analyses de vidéomicroscopie ont révélé qu'une fraction de fibroblastes primaires issus de souris *p27*<sup>CK-</sup> effectuent une mitose normale, mais ont un défaut en fin de cytokinèse, lors de l'abscission, avec une réouverture du pont intercellulaire [10].

Par ailleurs, nous avons identifié la protéine citron kinase (citron-K) lors d'un criblage protéomique visant à identifier des partenaires de p27 [10]. Citron-K est une Ser/Thr kinase effectrice des GTPases Rho qui possède plusieurs domaines impliqués dans de nombreuses interactions protéine/protéine [10]. Citron-K joue un rôle essentiel dans la cytokinèse et est localisée sur l'anneau d'actomyosine du sillon de clivage, et au *midbody*. Chez la drosophile et dans les cellules HeLa, la perte de fonction de citron-K entraîne un défaut d'abscission et une réouverture du pont intercellulaire, conduisant à la formation de cellules multinucléées.

L'interaction de p27 avec citron-K a été confirmée *in vitro* et *in vivo*, et le domaine d'interaction de p27 sur citron-K a été cartographié au niveau d'une région qui participe à l'interaction de citron-K avec son activateur Rho [10]. Des expériences d'immunofluorescence ont également permis de colocaliser p27 et citron-K au niveau de l'anneau d'actomyosine et du *midbody*. De plus, la surexpression du

domaine minimal de citron-K qui lie p27 est suffisante pour empêcher le phénotype de multinucléation causé par p27<sup>CK-</sup>. L'expression d'un mutant de p27<sup>CK-</sup> incapable de lier citron-K n'entraîne plus de multinucléation [10]. Ces observations confirment donc au niveau fonctionnel l'importance de l'interaction citron-K/p27 dans le phénotype des cellules *p27*<sup>CK-</sup>. Enfin, il apparaît que l'interaction de p27 avec citron-K empêche cette dernière d'interagir avec son activateur Rho [10]. Par conséquent, p27 semble impliquée dans les phases finales de la cytokinèse via la régulation de l'activation de citron-K par les protéines Rho.

Ces résultats fournissent un mécanisme potentiel qui pourrait expliquer la susceptibilité accrue des souris *p27*<sup>CK-</sup> à la tumorigenèse [4]. Chez l'homme, des études cliniques associent la localisation cytoplasmique de p27 avec des tumeurs agressives de haut grade et la présence de métastases [1]. Par conséquent, dans les cellules tumorales où p27 est principalement cytoplasmique, l'entrée en mitose avec un niveau élevé de p27 pourrait alors causer des défauts de cytokinèse, entraînant la multinucléation et la polyploidie, contribuant ainsi à promouvoir l'instabilité génétique.

Plusieurs questions restent en suspens : quelle est l'importance de ce nouveau rôle de p27 au niveau physiologique dans une cellule normale ? Comment est régulée l'interaction de p27 avec citron-K ? Une hypothèse particulièrement intéressante serait que p27 soit capable de cibler des complexes cycline/CDK vers des protéines spécifiques du *midbody* (comme citron-K) ou puisse inhiber l'activité de ces complexes au *midbody*, à un moment donné, pour réguler le processus d'abscission. De manière intéressante, lors d'un criblage protéomique réalisé afin d'identifier les protéines présentes au *midbody*, CDK1 et CDK4 ont effectivement été trouvées [11]. Reste à comprendre le rôle

de chacune de ces protéines dans la cytokinèse et, plus particulièrement, dans l'interaction entre p27 et citron-K ou RhoA. ♦

### A new function for p27<sup>KIP1</sup> in mitosis

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

#### RÉFÉRENCES

1. Besson A, Dowdy SF, Roberts JM. CDK inhibitors: cell cycle regulators and beyond. *Dev Cell* 2008 ; 14 : 159-69.
2. Besson A. p27<sup>KIP1</sup>, suppresseur de tumeur... et oncogène ? *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 1089-91.
3. Pippa R, Espinosa L, Gundem G, et al. p27(Kip1) represses transcription by direct interaction with p130/E2F4 at the promoters of target genes. *Oncogene* 2011 ; 19 décembre. doi: 10.1038/onc.2011.582.
4. Besson A, Hwang HC, Donovan SL, et al. Discovery of an oncogenic activity in p27Kip1 that causes stem cell expansion and a multiple tumor phenotype. *Genes Dev* 2007 ; 21 : 1731-46.
5. Besson A, Gurian-West M, Chen X, et al. A pathway in quiescent cells that controls p27Kip1 stability, subcellular localization and tumor suppression. *Genes Dev* 2006 ; 20 : 47-64.
6. Nakayama K, Nagahama H, Minamishima YA, et al. Skp2-mediated degradation of p27 regulates progression into mitosis. *Dev Cell* 2004 ; 6 : 661-72.
7. Kossatz U, Dietrich N, Zender L, et al. Skp2-dependent degradation of p27kip1 is essential for cell cycle progression. *Genes Dev* 2004 ; 18 : 2602-7.
8. Cuadrado M, Gutierrez-Martinez P, Swat A, et al. p27Kip1 stabilization is essential for the maintenance of cell cycle arrest in response to DNA damage. *Cancer Res* 2009 ; 69 : 8726-32.
9. See WL, Miller JP, Squatrito M, et al. Defective DNA double-strand break repair underlies enhanced tumorigenesis and chromosomal instability in p27-deficient mice with growth factor-induced oligodendrogliomas. *Oncogene* 2010 ; 29 : 1720-31.
10. Serres MP, Kossatz U, Chi Y, et al. p27(Kip1) controls cytokinesis via the regulation of citron kinase activation. *J Clin Invest* 2012 ; 122 : 844-58.
11. Skop AR, Liu H, Yates J 3rd, et al. Dissection of the mammalian midbody proteome reveals conserved cytokinesis mechanisms. *Science* 2004 ; 305 : 61-6.

## NOUVELLE

### Topotécán, espoir thérapeutique dans le syndrome d'Angelman ?

Bernard Dan<sup>1,2</sup>, Karine Pelc<sup>1</sup>, Guy Chéron<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Hôpital universitaire des Enfants Reine Fabiola, 15, avenue J.J. Crocq, 1020 Bruxelles, Belgique ;

<sup>2</sup> Université libre de Bruxelles, faculté des sciences de la motricité, CP640, 808, route de Lennik, 1070 Bruxelles, Belgique.

[bernard.dan@ulb.ac.be](mailto:bernard.dan@ulb.ac.be)

#### Le syndrome d'Angelman : défaut d'expression d'un gène soumis à empreinte

Le syndrome d'Angelman [1] est une affection neurogénétique caractérisée par une déficience intellectuelle sévère, un comportement exubérant et jovial (Figure 1), l'absence de langage, des troubles moteurs, de l'épilepsie et un électroencéphalogramme typique. Il est relativement rare (prévalence estimée à environ un individu sur 12 000), mais les implications épigénétiques en cause dans cette pathologie pourraient également concerner de nombreuses autres affections. Il est dû au déficit d'expression du gène *UBE3A* [2, 3] dans les cellules cérébrales. Ce gène code pour l'ubiquitine-protéine ligase E3, qui agit sur l'étape d'ubiquitinylation du système protéolytique ubiquitine-protéasome, mais les liens physiologiques entre le déficit moléculaire et les manifestations cliniques restent à clarifier. L'absence d'expression de *UBE3A* pourrait entraver des processus neuronaux en rapport avec

la dégradation et le remplacement de protéines spécifiques, interférer avec la transduction des signaux, le cycle cellulaire, la réparation de l'ADN et/ou la régulation de la transcription. Dans le cerveau, le déficit d'expression du gène pourrait entraîner des anomalies de la formation des épines dendritique et de la plasticité synaptique [4], ainsi que de la transmission synaptique (acide  $\gamma$ -aminobutyrique [*GABA<sub>A</sub>*] et acide N-méthyl-D-aspartique [*NMDA*]) et non synaptique (*gap junction*) dans plusieurs régions, notamment au niveau de l'hippocampe [5] et du cervelet [6].

Dans les neurones, le gène *UBE3A* est soumis à empreinte : il n'est normalement exprimé qu'à partir de l'allèle maternel sur le chromosome 15, tandis que l'allèle d'origine paternelle reste virtuellement silencieux. Il semble en effet qu'un centre de contrôle situé à côté du gène *UBE3A* sur le chromosome 15 paternel force la transcription à l'envers de cette portion de l'ADN, et que le transcrit antisens qui en résulte

inhibe l'expression du gène *UBE3A* [7], agissant comme un signal « Ne me lisez pas ! ». Sur le chromosome maternel, ce



**Figure 1. Aspects caractéristiques du syndrome d'Angelman.** On peut observer plusieurs aspects très caractéristiques du syndrome d'Angelman : le contact visuel, l'hypoplasie de l'étage moyen de la face, la bouche large, souriante, la position basse de la langue, la sialorrhée et la posture reflétant un tonus musculaire bas (photo publiée avec l'autorisation des parents).