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^{KIP1} 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^{KIP1}, 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

Topotécan, espoir thérapeutique dans le syndrome d'Angelman ?

Bernard Dan^{1,2}, Karine Pelc¹, Guy Chéron^{1,2}

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 γ -aminobutyrique [*GABA_A*] 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

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

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

bernard.dan@ulb.ac.be

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).

Figure 2. Schéma explicatif des différentes classes moléculaires du syndrome d'Angelman.

Le chromosome 15 hérité de la mère est représenté par une femme, celui hérité du père par un homme. Le panneau de circulation à sens unique indique l'expression de l'allèle du gène *UBE3A*, le panneau d'impasse l'inactivation de l'allèle, le panneau de chantier une délétion ou une mutation du gène et le panneau de virage la réactivation de l'allèle inactif. (1) Dans la situation physiologique, seul le chromosome 15 hérité de la mère porte un signal épigénétique permettant l'expression du gène *UBE3A*, alors que l'allèle paternel de ce gène est inactif. (2) En cas de délétion ou de mutation de l'allèle maternel du gène *UBE3A*, celui-ci ne peut pas être exprimé et l'allèle paternel est inactif comme dans la situation physiologique. (3) Si l'empreinte génomique fait défaut sur le chromosome 15 hérité de la mère, le gène *UBE3A* n'est pas exprimé, puisque l'allèle maternel ainsi que l'allèle paternel sont inactifs. (4) Si les deux chromosomes 15 sont hérités du père, les deux allèles sont inactifs. (5) Une voie thérapeutique serait de favoriser l'expression de l'allèle paternel (© Christyan Fox).

de l'antisens, qui est absente. Enfin, il arrive que les deux chromosomes 15 soient hérités du père et aucun de la mère : on parle alors de disomie uniparentale paternelle. Tous ces mécanismes empêchent l'expression du gène *UBE3A*, soit par anomalie du gène lui-même (délétion ou mutation), soit parce qu'il ne peut pas être transcrit (absence de méthylation de l'antisens). Tous ces mécanismes provoquent le syndrome d'Angelman, mais la gravité des symptômes varie (statistiquement) en fonction du mécanisme sous-jacent. La déficience intellectuelle, les troubles du langage et l'épilepsie tendent à être moins marqués chez les individus présentant un défaut d'empreinte ou une disomie uniparentale, par rapport à ceux chez lesquels le gène *UBE3A* est absent ou muté.

Cette variabilité suggère la persistance d'une expression résiduelle – quoique très faible – de l'allèle intact

du gène malgré la présence du signal « Ne me lisez pas ! ». Les patients ayant une délétion ou une mutation possèdent un seul allèle intact, mais virtuellement non opérationnel, du gène *UBE3A* (celui qui est hérité du père) ; ceux qui ont une disomie uniparentale ou un trouble de l'empreinte possèdent deux allèles (deux d'origine paternelle ou un paternel et un maternel).

Le topotécane : levée de l'inhibition de l'allèle *UBE3A* paternel

Depuis 2000, plusieurs équipes ont tenté de provoquer l'expression de l'allèle intact mais non fonctionnel, notamment par des approches diététiques visant à modifier la méthylation de l'ADN afin d'entraver le signal « Ne me lisez pas ! » [8]. Ces tentatives sont restées infructueuses. Tout récemment, une équipe américaine dirigée par B. Philpot et M. Zylka a testé plus de 2 000 médicaments dans un modèle murin, afin d'évaluer si certains d'entre eux pouvaient activer l'allèle paternel du gène [9]. Parmi ces molécules, les inhibiteurs de la topoisomérase¹, qui appartiennent à une famille de médicaments anticancéreux interagissant avec l'ADN, se sont révélés capables d'activer l'allèle paternel silencieux. La molécule la plus prometteuse est le topotécane ou Topo. C'est un dérivé semi-synthétique de la camptothécine, un alcaloïde naturellement présent dans *Camptotheca acuminata*, un arbre ornemental.

En clinique oncologique, le mécanisme thérapeutique du Topo repose sur une inhibition de la réplication de l'ADN conduisant à la mort des cellules cancéreuses ce qui confère à cette molécule un effet cytotoxique puissant. L'équipe de B. Philpot et M. Zylka a

centre de contrôle est méthylé, ce qui inhibe la transcription antisens de l'ADN, comme si elle occultait le signal « Ne me lisez pas ! », et rend ainsi possible l'expression de *UBE3A* à partir de l'allèle maternel.

Plusieurs mécanismes moléculaires peuvent empêcher l'expression normale d'*UBE3A* à partir du chromosome maternel et ainsi causer le syndrome d'Angelman (Figure 2). Il peut s'agir d'une délétion ou d'une mutation du gène *UBE3A* d'origine maternelle. Plus rarement, c'est l'empreinte marquant le chromosome comme hérité de la mère, c'est-à-dire la méthylation

¹ La topo-isomérase I (protéine nucléaire monomérique de 91 kDa) coupe un seul brin du duplex d'ADN en formant un complexe entre l'ADN et un résidu de tyrosine de l'enzyme. La coupure d'un seul brin diminue la tension de l'hélice et assure sa relaxation. Les inhibiteurs stabilisent ce complexe covalent, et empêchent ainsi la religation des brins d'ADN, ce qui entraîne l'action cytotoxique de la molécule.

démontré, chez la souris, qu'il favorise l'expression de l'allèle paternel en réduisant la transcription de l'antisens par un mécanisme distinct de la méthylation du centre de contrôle et qui reste à découvrir. L'identification du mécanisme d'action du Topo via cette activation de l'expression de l'allèle paternel du gène *UBE3A* pourrait permettre le développement de nouvelles approches pharmacologiques pour traiter les patients atteints du syndrome d'Angelman.

De fait, de nombreuses interrogations persistent avant que l'on puisse affirmer que ces résultats obtenus chez la souris peuvent s'appliquer à des humains. Par exemple, les effets de cette molécule sur l'expression du gène *Ube3a* sont-ils stables à long terme chez la souris ? Quels seraient les effets du Topo sur l'expression clinique du syndrome d'Angelman chez l'animal ? Quelles seraient les doses nécessaires ?

Y aurait-il des effets secondaires ? Le traitement serait-il sûr et efficace chez des humains ? À quel type de patient l'administrer ? Ce n'est que lorsqu'une démarche scientifique aura permis de clarifier ces aspects que l'on pourra envisager dans quelle mesure des molécules comme le Topo seraient à même de soulager les symptômes des individus atteints du syndrome d'Angelman.

Ce sont de nouvelles questions qui soulèvent l'enthousiasme des équipes qui y travaillent tout en n'oubliant pas que l'éthique de la science médicale impose de suivre des chemins balisés et progressifs qui ne mènent aux essais cliniques qu'après obtention des réponses à toutes les questions préliminaires. ♦

A new Topo to targeted management of Angelman syndrome?

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Dan B. *Angelman syndrome*. London : Mac Keith Press, Wiley-Blackwell, 2008 : 256 p.
2. Kishino T, Lalande M, Wagstaff J. *UBE3A/E6-AP mutations cause Angelman syndrome*. *Nat Genet* 1997 ; 15 : 70-3.
3. Matsuura T, Sutcliffe JS, Fang P, et al. *De novo truncating mutations in E6-AP ubiquitin-protein ligase gene (UBE3A) in Angelman syndrome*. *Nat Genet* 1997 ; 15 : 74-7.
4. Greer PL, Hanayama R, Bloodgood BL, et al. *The Angelman syndrome protein Ube3A regulates synapse development by ubiquitinating arc*. *Cell* 2010 ; 140 : 704-16.
5. Weeber EJ, Jiang YH, Elgersma Y, et al. *Derangements of hippocampal calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in a mouse model for Angelman mental retardation syndrome*. *J Neurosci* 2003 ; 23 : 2634-44.
6. Cheron G, Servais L, Wagstaff J, Dan B. *Fast cerebellar oscillation associated with ataxia in a mouse model of Angelman syndrome*. *Neuroscience* 2005 ; 130 : 631-7.
7. Rougeulle C, Cardoso C, Fontes M, et al. *An imprinted antisense RNA overlaps UBE3A and a second maternally expressed transcript*. *Nat Genet* 1998 ; 19 : 15-6.
8. Bird LM, Tan WH, Bacino CA, et al. *A therapeutic trial of pro-methylation dietary supplements in Angelman syndrome*. *Am J Med Genet* 2011 ; 155A : 2956-63.
9. Huang HS, Allen JA, Mabb AM, et al. *Topoisomerase inhibitors unsilence the dormant allele of Ube3a in neurons*. *Nature* 2011 ; 481 : 185-9.

NOUVELLE

Transmission multigénérationnelle de l'interférence à l'ARN chez le nématode *Caenorhabditis elegans*

Tony Bélicard, Marie-Anne Félix

Institut de biologie de l'École normale supérieure (ENS), CNRS-Inserm-ENS, 46, rue d'Ulm, 75230 Paris Cedex 05, France.

felix@biologie.ens.fr

► Chez de nombreux organismes, l'introduction artificielle d'un fragment d'ARN double brin (ARNdb) correspondant à la séquence d'un gène inactive spécifiquement l'expression de ce gène. Ce phénomène d'interférence à l'ARN (ARNi) a été mis en évidence chez le nématode *C. elegans* [1], un petit ver d'un millimètre qui est devenu un organisme modèle de laboratoire. L'ARNi est devenu un outil pratique d'inactivation des gènes, et cette découverte a valu le prix Nobel de médecine à Andy Fire et Craig Mello

en 2006. Des résultats récents montrent que la réponse ARNi peut être transmise de génération en génération en affectant l'état des histones et la régulation transcriptionnelle du gène. Le rôle physiologique de cette transmission héréditaire pourrait-il être la défense antivirale ?

Inactivation post-transcriptionnelle... mais aussi transcriptionnelle

Le mécanisme de l'ARNi a été amplement étudié depuis 15 ans [2]. Chez *C. elegans*, l'injection ou l'ingestion d'un ARNdb

peut déclencher la réponse d'interférence. La ribonucléase Dicer/DCR-1 clive dans le cytoplasme l'ARNdb en fragments de 21 nucléotides, nommés siARN (si pour *small interfering*) (Figure 1). Ces siARN-1 recrutent et guident la protéine Argonaute RDE-1 vers une autre copie de l'ARN messager complémentaire (ARNm) qui sert de matrice à la synthèse de siARN 2° antisens par une ARN polymérase dépendante de l'ARN. Ces siARN 2° amplifiés lient alors d'autres protéines Argonaute, et ces complexes induisent la