

Ribosomes stressés, une nouvelle facette de l'oncogénèse induite par EBNA1

Slovénie Pyndiah

Inserm UMR1162, équipe labellisée la ligue contre le cancer, institut de génétique moléculaire, université Paris 7, hôpital Saint Louis, 75010 Paris, France.
pyndiah@yahoo.fr



► Les bases moléculaires de l'oncogénèse reposent sur les mécanismes et le contrôle de la progression du cycle cellulaire. Cela fait déjà plus d'un siècle que, grâce à l'étude de la transmission des particules virales, un lien a été mis en évidence entre la présence de virus et la croissance cellulaire incontrôlée [1]. Dans les années 1970, des études réalisées par des virologues ont ainsi permis d'identifier les premières protéines oncogènes chez des oiseaux, comme SRC¹ (*Rous sarcoma virus*) [2] et Myc² [3].

Un virus a une implication directe dans la transformation du phénotype cellulaire si au moins un transcrit lié à la tumorigénèse est présent dans chacune des cellules transformées. Ainsi, le virus du papillome humain, le polyomavirus de Merkel, l'herpèsvirus humain 8 et le virus Epstein-Barr (EBV) répondent à ces critères et des études d'extinction de l'expression de gènes viraux confirment leurs implications dans une croissance cellulaire aberrante. La première tumeur découverte associée à un virus chez l'être humain a été décrite en 1958 en Ouganda [4]. Elle sera reconnue plus tard comme le lymphome de Burkitt lié à l'EBV, une tumeur à croissance rapide. Ce lymphome est généralement associé à une translocation du gène *c-Myc* sans doute provoquée par l'EBV, mais à l'heure actuelle le mécanisme exact demeure encore une énigme.

La notion de cycle cellulaire pour comprendre l'oncogénèse

La majeure partie de l'énergie utilisée par la cellule est dédiée à la machinerie de traduction des protéines. Les ribosomes constituent le composant majoritaire d'une cellule eucaryote, équivalant à environ 40 % de la masse cellulaire totale et à 90 % de la masse totale des ARN de la cellule. Avec la réplication de l'ADN, la synthèse des protéines joue un rôle majeur dans la croissance cellulaire et une étroite synchronisation existe entre les deux machineries lors de la prolifération des cellules normales. Lorsque la croissance cellulaire est activée par la présence de nutriments ou par des cascades de signalisation induites par des facteurs de croissance, c'est en priorité la synthèse des protéines qui est assurée, entraînant ensuite la division cellulaire. Une dérégulation de ces événements peut causer la mort cellulaire. Dans les cellules eucaryotes, il existe ainsi une étroite coordination entre les deux, relayée par des mécanismes de surveillance qui permettent d'assurer que le *pool* protéique se dédouble avant que la cellule duplique son matériel génétique, puis qu'elle se divise [5] (→).

(→) Voir la Synthèse de Y. Pommier et K.W. Kohn, *m/s* n° 2, février 2003, page 173

Le mode d'action général des oncogènes viraux

Les virus à ADN et les cellules cancéreuses ont tous deux évolué et développé des stratégies pour contourner les mécanismes de surveillance afin de proliférer, même dans un microenvironnement cellulaire hostile. Les mécanismes

utilisés par les cellules tumorales pour forcer l'entrée en phase S (synthèse de l'ADN) du cycle cellulaire sont désormais mieux compris grâce à l'étude des virus à ADN. Par exemple, séquestrer la protéine suppresseur de tumeur RB (du rétinoblastome) est l'un des mécanismes les mieux décrits permettant aux virus à ADN de manipuler la machinerie cellulaire. Séquestrer la protéine RB permet en effet de libérer les facteurs de transcription E2F [6] pour initier directement l'entrée en phase S. Dans le cas des cancers, le mécanisme d'activation de la biogénèse des ribosomes par le proto-oncogène *c-Myc*, qui accroît la synthèse des protéines cellulaires, est parfaitement décrit. En effet, la surexpression du gène *c-Myc* a un impact significatif sur l'augmentation de la prolifération, la croissance et la taille cellulaires, en étroite corrélation avec un ajustement de la vitesse de synthèse du *pool* protéique [7]. De façon similaire, le gène *RB* peut être muté et par conséquent libérer le facteur E2F, décrit pour activer directement *c-Myc*.

Ces mécanismes rétroactifs révèlent des fonctions profondément interconnectées entre virus à ADN et cellules cancéreuses pour contourner les dispositifs de surveillance de la prolifération. Cependant, les candidats cellulaires interférant directement avec l'activité des ribosomes pour augmenter la croissance cellulaire demeurent inconnus.

Le mécanisme d'action unique de la protéine virale EBNA1

Le virus Epstein-Barr (EBV) exprime un polypeptide de 235 acides aminés (GAR)

¹ Src est un gène exprimé par le rétrovirus *Rous sarcoma virus*, qui code une tyrosine kinase impliquée dans l'apparition de cancers chez le poulet.

² *c-Myc* est un proto-oncogène qui est surexprimé dans des cellules cancéreuses.

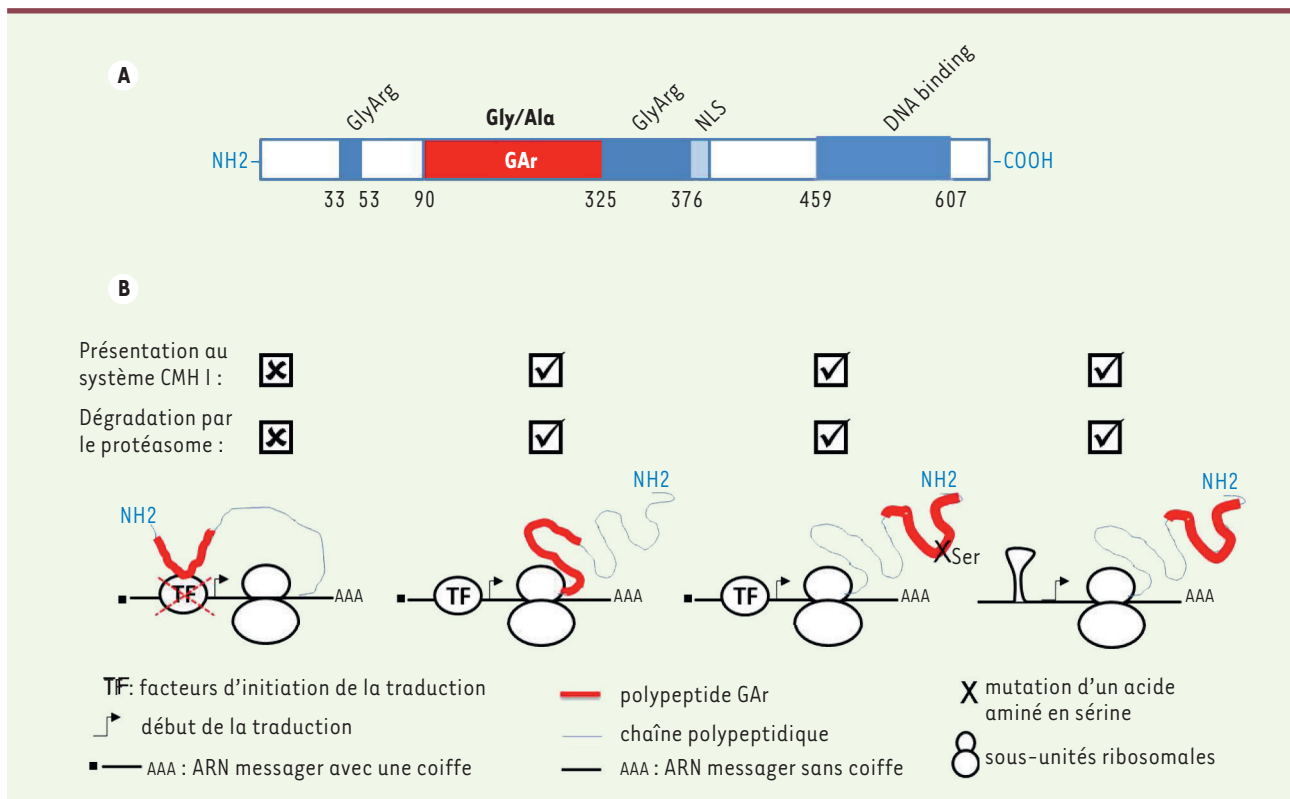


Figure 1. Mécanisme d'action de la protéine EBNA1 du virus Epstein-Barr. A. Représentation schématique de la protéine virale EBNA1 (protéine Epstein-Barr antigène nucléaire 1) précisant la position de certains domaines en nombre d'acides aminés. B. Devenir d'EBNA1 ou d'une protéine chimère quelconque selon la position de la une répétition glycine-alanine, GAR, en NH2 ou en COOH terminal selon la conformité de la séquence GAR, et selon la structure de l'ARN messager. NLS : signal de localisation nucléaire ; DNA-binding : domaine de liaison à l'ADN ; CMH 1 : complexe majeur d'histocompatibilité de classe I.

(Figure 1A), répétition de glycine-alanine, dont le mécanisme traductionnel est unique et universel. Le GAR est présent au sein de la protéine EBNA1 (*Epstein-Barr antigen nuclear 1*), seul antigène viral qui est systématiquement exprimé dans toutes les cellules infectées par l'EBV. EBNA1 a en effet un rôle essentiel pour maintenir la réplication et la stabilité du génome viral. Il est également son propre facteur de transcription pour contrôler le pool d'EBNA1 cellulaire [8]. La mission du GAR est de contrôler le niveau d'expression d'EBNA1 dans les cellules infectées, sans pour autant que ces dernières soient détectées par le système immunitaire. Cet échappement viral au système immunitaire est lié à une présentation de peu de peptides antigéniques dérivés d'EBNA1 aux molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I. En effet, pendant la traduction d'EBNA1, le poly-

peptide GAR naissant sortant du ribosome bloque la traduction de son propre ARN. Ce mécanisme d'inhibition de la traduction en *cis* est universel et nécessite une position spécifique du GAR dans tous les ARN contenant cette séquence nucléique répétitive (Figure 1B). Le processus peut être réversible lorsque la séquence non codante interagissant avec les facteurs d'initiation de la traduction (Figure 1B) est modifiée [9, 10], ou lorsque la séquence nucléotidique du GAR est exprimée à l'extrémité 3' d'une séquence codante (Figure 1B). Pour compenser cette lenteur de traduction d'EBNA1 due à l'action du GAR, EBNA1 a une longue demi-vie qui peut dépasser 20 heures [11]. Cette capacité du GAR à inhiber la traduction en *cis* est donc un outil unique pour étudier la réponse cellulaire face à un dysfonctionnement de la traduction d'ARN messager.

Les ribosomes stressés par le polypeptide GAR accélèrent le cycle cellulaire

Jusqu'à présent, aucun mécanisme reliant l'activité ribosomale et le contrôle du cycle cellulaire n'avait été décrit. Nos résultats montrent que le mécanisme d'inhibition de la traduction en *cis* par le GAR agit sur la synthèse et la stabilité d'E2F1, un facteur clé de la progression du cycle cellulaire. Vingt années plus tôt, il avait été montré que l'extrémité C-terminale d'E2F1 est utilisée comme signal dans son processus de dégradation par la voie du protéasome [12] : en l'absence de cette extrémité, la dégradation protéique n'est pratiquement pas observée [13]. L'interaction de RB avec E2F1 bloque la machinerie cellulaire d'ubiquitinylation d'E2F1, et E2F1 libéré de RB et actif a une demi-vie plus courte que lorsqu'il est complexé et inactif. En concordance avec ce mécanisme de contrôle du cycle cellu-

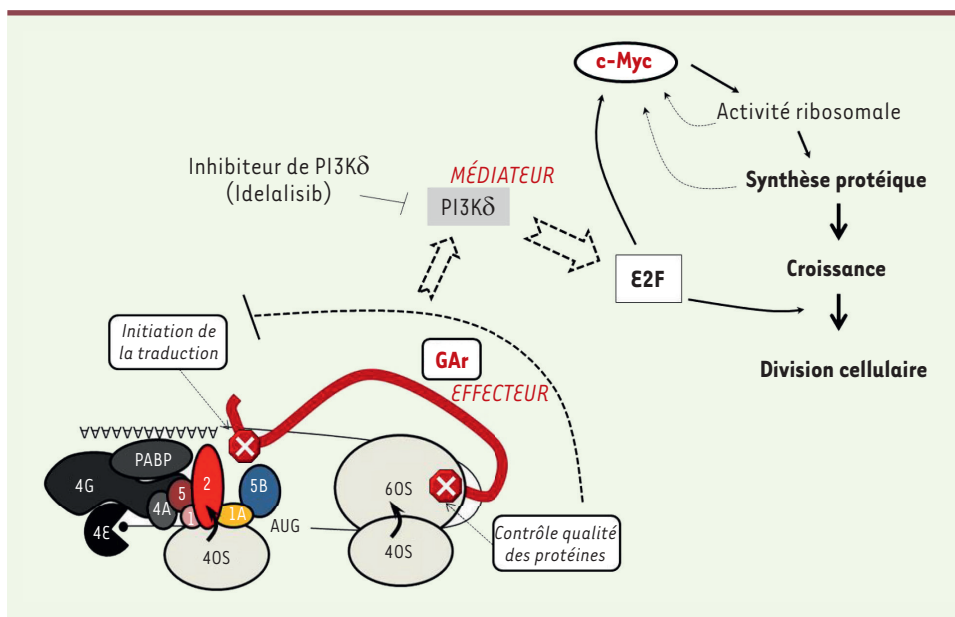


Figure 2. Les ribosomes stressés par la séquence GAr accélèrent le cycle cellulaire. Schéma récapitulatif de la voie de signalisation décryptée à partir du mécanisme d'inhibition de la traduction en cis par la séquence polypeptidique gly-ala (GAr) d'EBNA1 (protéine Epstein-Barr antigène nucléaire 1) du virus Epstein-Barr. Le stress traductionnel causé par les propriétés uniques du GAr active la synthèse d'E2F1 via la voie de la phosphoinositide 3-kinase delta (PI3Kδ) pour ensuite induire l'expression du proto-oncogène c-Myc. Les facteurs d'initiation de la traduction sont schématisés

et leurs acronymes indiqués (1, 1A, 2, 4A, 4E, 4G, 5 et 5B), les sous-unités ribosomales 40 S et 60 S sont indiquées. PABP (*poly[A]-binding protein*) est une protéine qui lie l'extrémité poly A.

laire par E2F1, nos résultats démontrent que GAr utilise le pool d'E2F1 actifs qui peut être stabilisé par d'importantes quantités de RB exogène.

Nous démontrons que le stress traductionnel causé par les propriétés uniques du GAr active la synthèse d'E2F1 via la voie de signalisation de la phosphoinositide 3-kinase delta (PI3Kδ), induisant ensuite l'expression du proto-oncogène c-Myc (Figure 2). La voie de la PI3Kδ est déclenchée à la suite d'une activation du récepteur à activité tyrosine kinase, qui entraîne une cascade d'événements cellulaires impliqués dans la prolifération, le métabolisme et la survie. L'Idelalisib, un inhibiteur spécifique de complexes protéiques recrutés par cette voie de signalisation, permet d'annuler l'effet du GAr sur la synthèse d'E2F1 [14, 15].

Les implications cliniques

Les patients développant le syndrome de PI3Kδ activée souffrent de façon chronique d'une prolifération active du virus EBV. Ce syndrome est lié à une mutation d'un gène de la famille *PI3K* entraînant une immunodéficience par gain de fonction. La voie des PI3Kδ pourrait donc jouer un rôle dans le

cycle de vie d'EBV. L'utilisation d'inhibiteurs de la PI3Kδ est en effet efficace chez les patients souffrant de leucémie lymphoïde chronique et de lymphome hodgkinien indolent. Environ 40 % des cas de lymphomes hodgkiniens sont associés à l'EBV et il serait intéressant de corrélérer l'efficacité de l'Idelalisib dans le traitement de ces cancers avec la présence du virus. Chez les patients porteurs d'EBV, les cellules cancéreuses du nasopharynx expriment toutes EBNA1. Cibler la voie de la PI3Kδ pourrait donc représenter une stratégie thérapeutique dans ces pathologies. ♦

Stressed ribosomes, a new pathway to promote oncogenesis used by EBNA1

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Rous P. Transmission of a malignant new growth by means of a cell-free filtrate, *J Am Med Ass* 1911 ; 56 : 198.
2. Martin GS. Rous sarcoma virus: a function required for the maintenance of the transformed state. *Nature* 1970 ; 227 : 1021-23.
3. Ivanov X, Mladenov Z, Nedyalkov S, et al. Experimental investigations into avian leucoses. V. transmission, haematology and morphology of avian myelocytomatosis. *Bull Inst Pathol Comp Anim* 1964 ; 10 : 5-38.

4. Burkitt D. A sarcoma involving the jaws in African children. *Br J Sur* 1958 ; 46 : 218-23.
5. Pommier Y, Kohn KW. Cycle cellulaire et points de contrôle en oncologie : nouvelles cibles thérapeutiques. *Med Sci (Paris)* 2003 ; 19 : 173-86.
6. Kovesdi I, Reichel R, Nevins JR. Identification of a cellular transcription factor involved in E1A transactivation. *Cell* 1986 ; 45 : 219-28.
7. Iritani BM, Eisenman RN. c-Myc enhances protein synthesis and cell size during B lymphocyte development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999 ; 96 : 13180-5.
8. Wu H, Kapoor P, Frappier L. Separation of the DNA replication, segregation, and transcriptional activation functions of Epstein-Barr nuclear antigen 1. *J Virol* 2002 ; 76 : 2480-90.
9. Yin Y, Manoury B, Fähræus R. Self-inhibition of synthesis and antigen presentation by Epstein-Barr virus-encoded EBNA1. *Science* 2003 ; 301 : 1371-4.
10. Apcher S, Daskalogianni C, Manoury B, et al. Epstein Barr virus-encoded EBNA1 interference with MHC class I antigen presentation reveals a close correlation between mRNA translation initiation and antigen presentation. *PLoS Pathog* 2010 ; 6 : e1001151.
11. Levitskaya J, Sharipo A, Leonchiks A, et al. Inhibition of ubiquitin/proteasome-dependent protein degradation by the Gly-Ala repeat domain of the Epstein-Barr virus nuclear antigen 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997 ; 94 : 12616-21.
13. Campanero MR, Flemington EK. Regulation of E2F through ubiquitin-proteasome-dependent degradation: stabilization by the pRB tumor suppressor protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997 ; 94 : 2221-6.
14. Johnson DG. Regulation of E2F-1 gene expression by p130 (Rb2) and D-type cyclin kinase activity. *Oncogene* 1995 ; 11 : 1685-92.
15. Gnanasundram SV, Pyndiah S, Daskalogianni C, et al. PI3Kδ activates E2F1 synthesis in response to mRNA translation stress. *Nat Commun* 2017 ; 8 : 2103.