

> Dans le cadre du Master 2 de l'université EPHE-PSL (Master Sciences du vivant, cursus IMAgHE, parcours Physiopathologie intégrative [PPI]), des étudiants se sont confrontés à la rédaction d'une nouvelle scientifique. Ces étudiants ayant choisi une spécialisation en cancérologie, l'équipe pédagogique leur a proposé de faire une synthèse d'articles sur deux thématiques : 1) les protéines IAP et un mécanisme original de régulation de leur activité par S-nitrosylation et 2) la séparase, dont un article paru récemment dans *Nature* montre qu'elle jouerait un rôle inattendu dans la protection des cellules contre la transformation tumorale. Organisés en binôme ou trinôme, les étudiants ont rédigé deux nouvelles qui

soulignent l'intérêt des travaux analysés, ainsi que leur originalité. Ils se sont pleinement investis dans cette tâche et ont su faire preuve d'un bel esprit de synthèse. Ils ont apprécié cet exercice nouveau pour eux, mais qui leur a permis d'avoir un aperçu de la publication scientifique inhérente au métier de chercheur auquel ils se destinent. <

Partenariat médecine/sciences - Écoles doctorales - Masters (38)

L'actualité scientifique vue par les étudiants
du Master 2 de l'université EPHE-PSL
(Master Sciences du vivant, cursus IMAgHE,
parcours Physiopathologie intégrative [PPI])



École Pratique
des Hautes Études

PSL



Responsable du parcours PPI

Isabelle Lagroye (Directeur d'Études EPHE), isabelle.lagroye@ephe.psl.eu

Équipe pédagogique

Véronique Frachet (Maître de Conférences EPHE)

veronique.frachet@ephe.psl.eu

Stéphanie Plenchette (Maître de Conférences EPHE)

stephanie.plenchette-colas@ephe.psl.eu

Site web

<https://www.ephe.psl.eu/formations/master/master-sciences-du-vivant-sdv>

NOUVELLE

IAP et cancer : le NO contre-attaque

Eva Guérin¹, Mélina Meunier¹, Stéphanie Plenchette^{2,3}

Les protéines inhibitrices de l'apoptose de la famille IAP

Les protéines IAP (*inhibitor of apoptosis*) furent initialement considérées comme des inhibiteurs de l'apoptose en raison de leur action directe sur les caspases. Chez les mammifères, la famille des IAP compte huit membres : cIAP1, cIAP2 (*cellular IAP1 et IAP2*), XIAP (*X-linked IAP*), NAIP (*neural apoptosis inhibitory protein*), Apollon, Livin, ILP2 (*IAP-like protein 2*) et la survivine. De nombreuses études ont démontré leurs rôles dans des processus cellulaires variés, comme la réponse inflammatoire, la différenciation, la prolifération, la réponse immu-

nitaire innée et la motilité des cellules [1]. Il a également été montré que certaines de ces protéines IAP, comme les protéines cIAP1 et cIAP2, étaient capables de se lier aux caspases sans les inhiber [2].

Les IAP sont caractérisées par la présence d'un ou plusieurs domaines conservés appelé BIR (*Baculoviral IAP repeat*), qui permet leur interaction avec des partenaires protéiques. Notamment, la protéine XIAP est décrite comme un puissant inhibiteur des caspases par interaction avec la région dite « linker » située entre les domaines BIR1 et BIR2 (pour cibler la caspase 3), avec la région

¹Master 2 Sciences du vivant, Parcours IMAgHE, université Paris, Sciences et Lettres (PSL), École pratique des hautes études (EPHE), 75014 Paris, France.

²Laboratoire d'immunologie et immunothérapie des cancers (LIIC), EA7269, université de Bourgogne Franche-Comté, 21000 Dijon, France.

³EPHE, université PSL, 4-14 rue Ferrus, 75014 Paris, France.

eva.guerin@etu.ephe.psl.eu

melina.meunier@etu.ephe.psl.eu

stephanie.plenchette-colas@ephe.psl.eu

« linker » et le domaine BIR2 (pour cibler la caspase 7) et avec le domaine BIR3 (pour cibler la caspase 9) [3]. Certaines protéines, telles que cIAP1, cIAP2 et XIAP, possèdent, en plus des trois domaines BIR, un domaine RING (*really interesting new gene*) en position C-terminale, associé à une activité E3-ubiquitine ligase, régulant le taux et/ou la fonction de nombreuses cibles protéiques.



Dans de nombreux types de cancers, plusieurs membres des IAP sont anormalement surexprimés, favorisent la progression tumorale, la résistance à la chimiothérapie et sont liés à un mauvais pronostic. Le mode d'action, ainsi que la régulation des IAP, font l'objet de nombreuses études et sont des enjeux importants pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. Il a notamment été récemment montré que le monoxyde d'azote (NO) pouvait réguler l'activité de certaines IAP [4-6].

Le NO et la S-nitrosylation

Le NO est une petite molécule gazeuse radicalaire très réactive, connue pour jouer un rôle aussi bien anti-tumoral que pro-tumoral [7] (→).

Il peut être produit de manière endogène par les NO synthases (NOS) ou apporté de manière exogène *via* des donneurs de NO (molécules capables de libérer du NO). Son action sur les protéines se traduit par des modifications post-traductionnelles, telles que la nitration, la métal-nitrosylation ou la S-nitrosylation [8].

La S-nitrosylation est la modification majeure induite par le NO. Elle correspond à l'incorporation non-enzymatique du NO sur le groupement thiol (-SH) d'une cystéine. Il est désormais bien connu que la S-nitrosylation joue un rôle important dans la régulation des voies de signalisation, au même titre que d'autres modifications post-traductionnelles, comme l'ubiquitinylation ou la phosphorylation par exemple.

Plus particulièrement, des études ont montré que les protéines cIAP1 et XIAP étaient des cibles du NO et participaient à l'effet cytotoxique du NO *via* plusieurs voies de signalisation [4-6, 8, 9]

Le NO et la protéine cIAP1

Il existe un lien étroit entre la protéine cIAP1 et la régulation de la voie de survie NF-κB (*nuclear factor-kappa B*). En effet, la stimulation du TNFR1 (*tumor necrosis factor receptor 1*) par le TNF-α

(*tumor necrosis factor alpha*) induit la formation d'un complexe protéique appelé complexe I au sein duquel la protéine cIAP1 assure la poly-ubiquitinylation de type lysine 63 de RIP1 (*receptor interacting protein 1*). Le complexe I va alors induire le recrutement d'autres complexes (LUBAC, IKK, TAK/TAB), conduisant à l'activation du facteur de transcription NF-κB et donc à la survie des cellules [10] (→).

En 2018, Romagny *et al.* ont démontré qu'en présence d'un donneur de NO, le *glyceryl trinitrate* (GTN), la S-nitrosylation de cIAP1 compromet son activité É3-ubiquitine ligase, ce qui induit une inhibition de la voie TNF-α /TNFR1/NF-κB et donc une apoptose des cellules cancéreuses coliques et mammaires d'origine humaine ou murine. En effet, la protéine cIAP1, sous sa forme S-nitrosylée, n'est alors plus capable d'assurer l'ubiquitinylation de type lysine 63 de RIP1 et favorise la formation d'un complexe de mort cellulaire (complexe *Il-like*). La S-nitrosylation de cIAP1 permet de faire basculer la cellule d'une voie de survie à une voie de mort cellulaire TNF-α/TNFR1 dépendante (*Figure 1*).

L'identification des sites de S-nitrosylation par la technique de *Biotin Switch assay*, suivie d'une analyse par spectrométrie de masse, a montré deux sites de S-nitrosylation potentiels de la protéine cIAP1, en position 571 et 574, dans le domaine RING. La S-nitrosylation de ces sites a ensuite été confirmée par le remplacement des cystéines ainsi identifiées par des histidines, rendant la protéine non nitrosylable. Les auteurs ont alors mis en évidence que la S-nitrosylation de la protéine cIAP1 sur la cystéine 571 joue un rôle particulièrement important dans l'inhibition de son activité É3-ubiquitine ligase. De plus, les auteurs ont montré, par des approches *in vitro* et par des expériences d'immunohistochimie sur des coupes de tumeurs humaines de cancer du côlon, que des chimiothérapies standards du cancer du côlon (5-FU et oxaliplatine)

favorisent la production de TNF-α par les cellules cancéreuses et les macrophages. Cette production de TNF-α induit, tout du moins *in vitro*, après exposition à un donneur de NO, la mort des cellules cancéreuses par apoptose. Dans leur étude, Romagny *et al.* suggèrent donc que l'utilisation d'un donneur de NO, tel que le GTN, en association avec un traitement chimiothérapeutique, représenterait une stratégie anti-cancéreuse intéressante dans un contexte cellulaire riche en TNF-α [6].

Le NO et la protéine XIAP

En 2009, Tsang *et al.* ont décrit, pour la première fois, la S-nitrosylation de la protéine XIAP (au niveau du domaine BIR2) dans un contexte de maladie neurodégénérative (maladie de Parkinson). Cette modification affecte son activité anti-caspase 3 mais pas son activité É3-ubiquitine ligase [9]. En 2015, cette même équipe a identifié la cystéine 213 du domaine BIR2, cible du NO, responsable de l'inhibition de l'activité anti-caspase 3 de la protéine XIAP. Bien que d'autres sites de S-nitrosylation de XIAP aient été identifiés en parallèle (cystéine 90 du domaine BIR1 et 327 du domaine BIR3), leur impact sur la fonction de la protéine reste toutefois inconnu [4]. L'équipe de Nakamura *et al.* a démontré, à son tour, en 2010, la S-nitrosylation de XIAP dans des cellules de neuroblastome, en identifiant comme cible du NO, la cystéine 450 située dans le domaine RING de la protéine. Les auteurs ont de plus montré que la caspase 3, cible de la protéine XIAP, était S-nitrosylée par le NO, puis capable de transmettre la molécule de NO à la protéine XIAP par trans-nitrosylation. Ce mécanisme prévient l'effet inhibiteur de XIAP dirigé contre la caspase 3 [5]. Ainsi, le NO peut affecter l'activité É3-ubiquitine ligase et anti-caspase 3 de XIAP (*Figure 1*). Ces résultats démontrent donc que le NO compromet la fonction de la protéine XIAP et pourrait ouvrir la voie à une stratégie thérapeutique prometteuse *via* l'utilisation de donneurs de NO.

(→) Voir la Synthèse de J. Cartier *et al.*, m/s n° 1, janvier 2012, page 69

(→) Voir la Synthèse de S. Planchette *et al.*, m/s n° 6-7, juin-juillet 2016, page 625

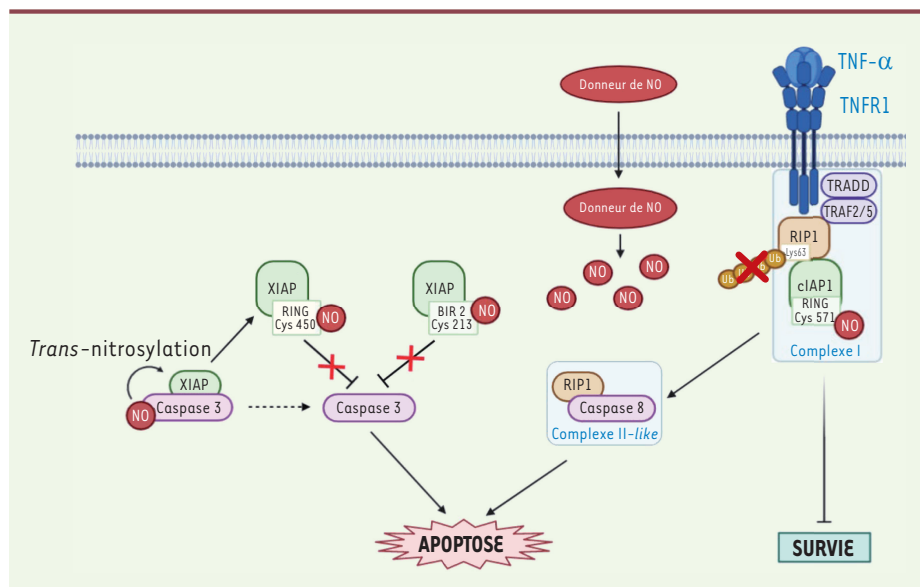


Figure 1. Action du NO sur les protéines IAP. L'entrée d'un donneur de NO dans la cellule entraîne la libération de NO intracellulaire. La S-nitrosylation de la protéine XIAP sur la cystéine 450 de son domaine RING a lieu par trans-nitrosylation, de la caspase 3 vers la protéine XIAP. La S-nitrosylation de XIAP sur la cystéine 213 de son domaine BIR2, peut avoir lieu par l'action directe du NO. Ces mécanismes bloquent alors l'effet inhibiteur de la protéine XIAP et libèrent la caspase 3 qui favorise l'apoptose des cellules cancéreuses [4, 5]. La S-nitrosylation de cIAP1 sur la cystéine 571 de son domaine RING, bloque son activité E3-ubiquitine

ligase, prévient l'activation de la voie NF- κ B, et induit la mort cellulaire par apoptose via le recrutement du complexe II-like [6]. BIR : Baculoviral IAP repeat ; cIAP1 : cellular IAP1 ; NF- κ B : nuclear factor-kappa B ; NO : monoxyde d'azote ; RING : really interesting new gene ; RIP1 : receptor-interacting protein 1 ; TNF- α : tumor necrosis factor alpha ; TNFR1 : tumor necrosis factor receptor 1 ; TRADD : TNF receptor type 1-associated death domain ; TRAF2/5 : TNF receptor-associated factor 2/5 ; Ub : ubiquitinylation ; XIAP : X-linked IAP.

Perspectives

Dans le contexte des traitements du cancer, plusieurs stratégies thérapeutiques ciblant les protéines IAP ont déjà été développées (oligonucléotides antisens, composés mimétiques de SMAC). À ce jour, seuls quatre articles ont démontré l'impact du NO sur les protéines IAP. Que ce soit dans les cancers ou dans les maladies neurodégénératives, le NO cible les IAP et favorise la mort cellulaire par apoptose (Figure 1). Le NO apparaît donc comme ouvrant la voie à une nouvelle stratégie permettant de contrer la fonction anti-apoptotique des protéines cIAP1 et XIAP. L'effet du NO sur d'autres protéines IAP reste cependant à démontrer.

En se fondant sur l'homologie de séquence entre XIAP et du cIAP1, l'alignement des séquences en acides aminés des domaines RING de XIAP et cIAP1 montre que la cystéine 450 de XIAP correspond à la cystéine 571 de cIAP1, cystéine S-nitrosylée par le NO dans plusieurs types de cellules cancéreuses [6]. Or, comme nous l'avons vu, la cystéine 450 de XIAP a été identifiée comme cible du NO par Nakamura *et al.*, et, surtout, comme la cible induisant une perte de son activité E3-ubiquitine ligase

[5]. Néanmoins, l'étude de la S-nitrosylation de la protéine XIAP par un donneur de NO dans plusieurs types de cancer n'a pas encore été réalisée.

Des stratégies thérapeutiques contre le cancer combinant la chimiothérapie à un donneur de NO ont déjà fait l'objet de plusieurs essais cliniques. Toutefois, une meilleure connaissance des mécanismes moléculaires associés au NO est nécessaire pour comprendre comment combiner au mieux les chimiothérapies à un donneur de NO. \diamond

IAPs and cancer: The NO strikes back

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Kumar S, Fairmichael C, Longley DB, Turkington RC. The multiple roles of the IAP super-family in cancer. *Pharmacol Ther* 2020 ; 214 : 107610.
2. Eckelman BP, Salvesen GS. The human anti-apoptotic proteins cIAP1 and cIAP2 bind but do not inhibit caspases. *J Biol Chem* 2006 ; 281 : 3254-60.
3. LaCasse EC, Mahoney DJ, Cheung HH, *et al.* IAP-targeted therapies for cancer. *Oncogene* 2008 ; 27 : 6252-75.
4. Wu W, Wan OW, Chung KK. S-nitrosylation of XIAP at Cys 213 of BIR2 domain impairs XIAP's anti-caspase 3 activity and anti-apoptotic function. *Apoptosis* 2015 ; 20 : 491-9.

5. Nakamura T, Wang L, Wong CC, *et al.* Transnitrosylation of XIAP regulates caspase-dependent neuronal cell death. *Mol Cell* 2010 ; 39 : 184-95.
6. Romagny S, Bouaouiche S, Lucchi G, *et al.* S-Nitrosylation of cIAP1 switches cancer cell fate from TNF α /TNFR1-mediated cell survival to cell death. *Cancer Res* 2018 ; 78 : 1948-57.
7. Plenchette S, Romagny S, Laurens V, Bettaieb A. Itinéraire d'un agent double : NO, S-nitrosylation et cancer. *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 625-33.
8. Plenchette S, Romagny S, Laurens V, Bettaieb A. S-Nitrosylation in TNF superfamily signaling pathway: implication in cancer. *Redox Biol* 2015 ; 6 : 507-15.
9. Tsang AH, Lee YI, Ko HS, *et al.* S-nitrosylation of XIAP compromises neuronal survival in Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009 ; 106 : 4900-5.
10. Cartier J, Marivin A, Berthelet J, Dubrez L. Les IAP au cœur de la signalisation NF- κ B. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 69-75.




**Abonnez-vous
à médecine/sciences**

**Bulletin d'abonnement page 670
dans ce numéro de m/s**