

Chapitre II : Cycle cellulaire régulation et dysfonctionnement

II.1. Les différentes phases du cycle cellulaire

Le cycle cellulaire eucaryote est traditionnellement divisée en quatre phases successives: G1, S, G2 et M. G1, S et G2 ensemble sont appelés interphase. Dans une cellule humaine typique prolifèrent en culture, l'interphase pourrait occuper 23 heures de un cycle de 24 heures, avec 1 heure pour la phase M. La duplication de l'ADN se produit au cours de la phase S (S pour synthèse). Après la phase S, la ségrégation des chromosomes et la division cellulaire se passe dans la phase M (M pour mitose). La phase M comprend une série d'événements dramatiques que commencer par la division nucléaire. La plupart des cellules ont besoin de beaucoup plus de temps à se développer et doubler leur masse les protéines et les organites qu'ils ont besoin pour répliquer leur ADN. Pour donner plus de temps pour la croissance, les G phases (G pour gap) sont insérés dans la plupart des cycles cellulaires: une phase G1 entre M phase de la phase S et G2 et une phase entre la phase S et M. Les deux phases écart aussi le temps pour la cellule de surveillance de l'environnement interne et externe afin de s'assurer que les conditions sont approprié et les préparatifs sont terminés avant que la cellule s'engage à les grands bouleversements de S et M phases.

La phase G1 est particulièrement important à cet égard. Sa longueur peut varier considérablement en fonction des conditions extérieures et des signaux extracellulaires provenant d'autres cellules. Si les conditions extracellulaire sont défavorables, par exemple, les cellules peuvent retarder le progrès à travers G1 et peut même entrer dans un spécialisée état de repos connue sous le nom G0 (G zéro). Si les conditions sont favorables et les signaux extracellulaires de croissance et division sont présents, les cellules en G1 ou G0 début progrès grâce à un engagement point proche de l'extrémité de G1 connu sous le nom de début (chez la levure) ou le point d'étranglement (chez les cellules de mammifère).

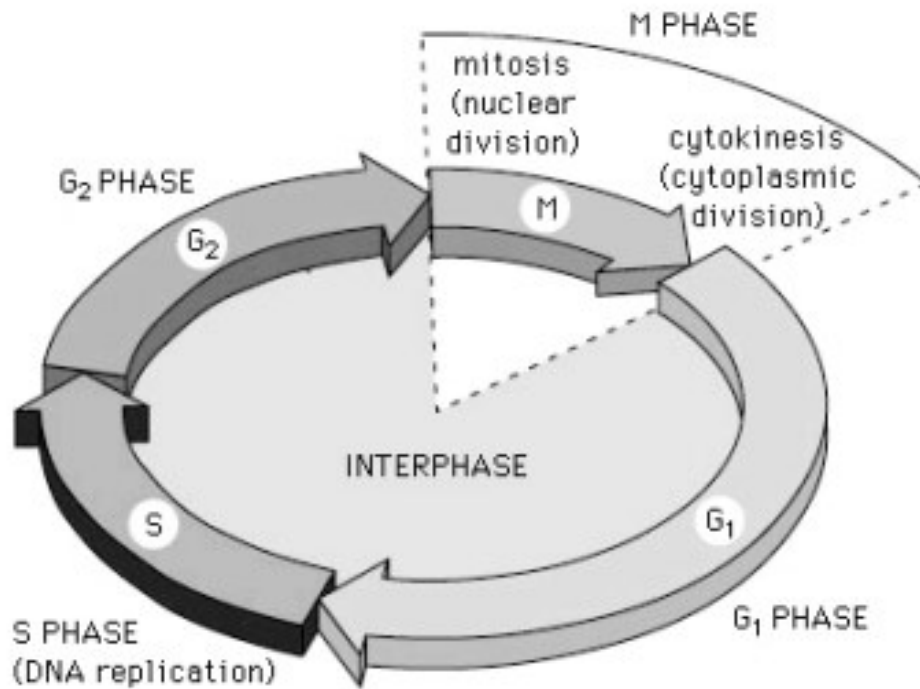


Figure 1 : Les quatre phases du cycle cellulaire et la phase G₀.

II.2. La régulation du cycle cellulaire

Le processus de division cellulaire fait partie du cycle cellulaire, qui décrit la vie d'une cellule depuis sa formation à partir d'une cellule mère jusqu'à sa division en deux cellules filles.

Un cycle de division cellulaire, chez les eucaryotes, est constitué de 4 phases : G₁, S, G₂, et mitose. La progression d'une cellule dans les différentes phases du cycle cellulaire est permise grâce à l'activité de protéines kinases sérines/thréonines: les kinases dépendantes des cyclines, ou CDK (cyclin dependant kinase). Leur nom vient du fait que l'activité des CDK nécessite leur liaison à une sous-unité régulatrice, appelée cycline, dont l'expression est régulée finement lors de la progression dans le cycle cellulaire.

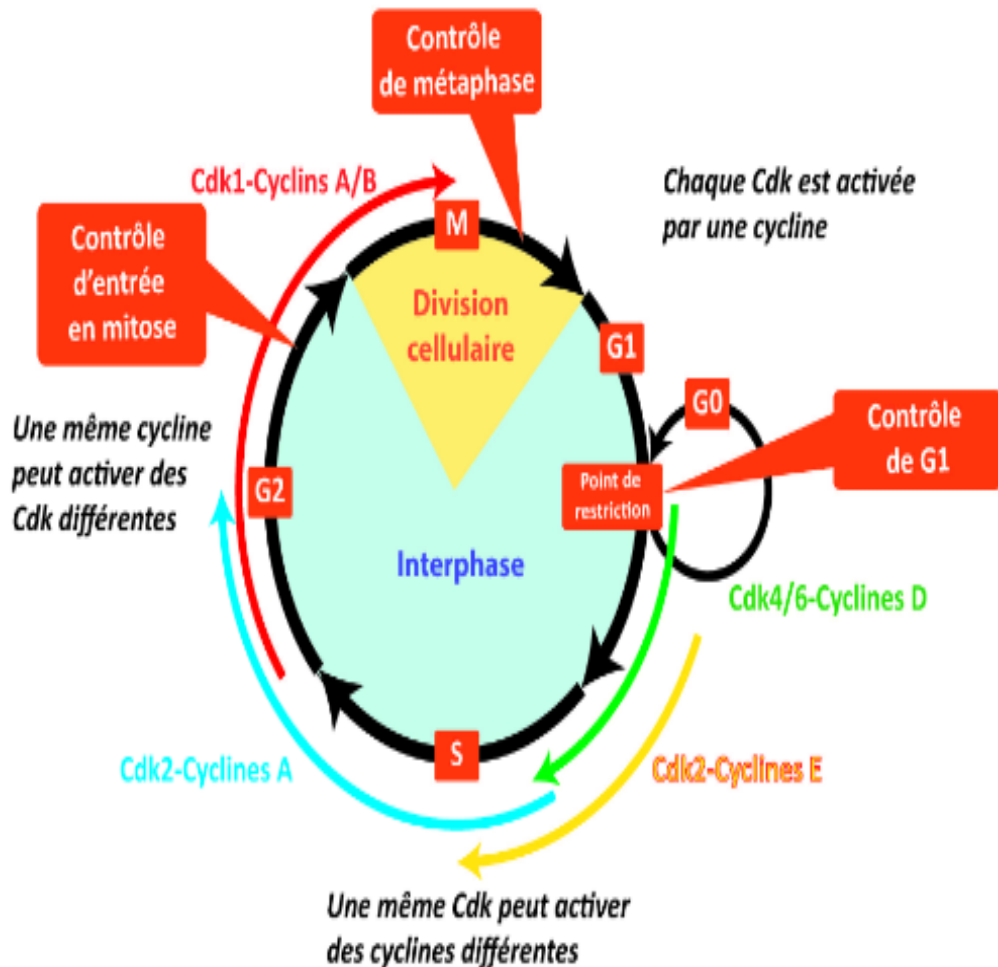


Figure 2 : Les moteurs du cycle cellulaire: les complexes Cdk

II.2.1. Les Cyclines Dependant Kinases (CDK)

Chez les mammifères, il existe 13 CDKs et 25 cyclines, dont 3 CDKs interphasiques (CDK2, CDK4 et CDK6) et une CDK mitotique (CDK1, aussi appelée CDC2). 10 cyclines (de types A, B, D et E) sont impliquées dans la régulation de la progression du cycle cellulaire. Certains complexes CDK-cyclines spécifiques sont responsables de la progression à travers les différentes étapes du cycle. Les signaux mitogéniques sont initiés par l'expression des cyclines de type D (D1, D2 et D3), qui s'associent préférentiellement avec les CDK4 et CDK6, conduisant à leur activation durant la phase G1. L'activation de ces complexes conduit à l'expression de la cycline de type E (E1 et E2). Les cyclines E vont se lier à CDK2 et l'activer ; ce complexe est nécessaire pour la transition entre la phase G1 et la phase S. CDK2 est ensuite activée

par les cyclines A durant les étapes tardives de la phase S, afin d'assurer la transition entre la réplication, la phase G2 et la mitose. Enfin, CDK1 est activée par les cyclines A à la fin de la phase réplivative pour faciliter l'entrée en phase G2. Puis les cyclines de type A sont dégradées pour permettre la formation des complexes CDK1-cyclines B, qui vont permettre la bonne progression en mitose.

II.2.1.1. Régulation des complexes CDK-cycline

La régulation de la quantité et de l'activité des complexes CDK-cyclines contrôle la vitesse de la progression du cycle. Les CDK ont un niveau d'expression constant au cours du cycle. Ainsi, la régulation des complexes CDK-cycline s'effectue à plusieurs niveaux, via le niveau d'expression de la cycline, la liaison à des CKI (cyclin dépendant kinase inhibitor), la liaison entre la CDK et la cycline et le statut de phosphorylation des CDK.

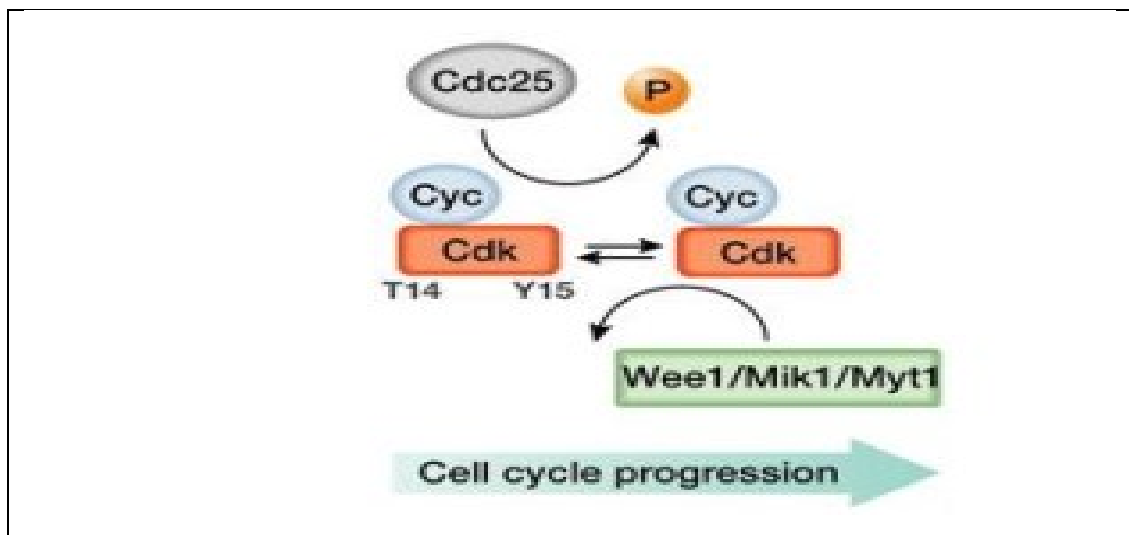


Figure 3: Modèle d'activation des complexes CDK-cyclines par les phosphatases CDC25

L'activation des CDK par les phosphatases CDC25. Les CDK sont maintenues dans un état inactif par phosphorylation par des protéines kinases de la famille de Wee1, Mik1 ou Myt1.

II.2.1.2. La déphosphorylation des CDK par les phosphatases CDC25

Les cellules de mammifère ont 3 isoformes de CDC25 : CDC25A, CDC25B et CDC25C. Il semblerait que les 3 CDC25 soient capables d'agir à différents moments au cours du cycle

cellulaire, pour activer des complexes CDK-cyclines spécifiques. Ainsi, bien que le rôle le plus connu de CDC25A soit à la transition G1/S et durant la phase S via la déphosphorylation des complexes CDK2-cycline A et CDK2-cycline E, cette phosphatase semble aussi avoir une activité en mitose ; à l'inverse, CDC25B et CDC25C, connues pour leur activité en mitose avec la déphosphorylation des complexes CDK1/cycline B, pourraient jouer un rôle durant l'entrée en phase S.

Les phosphatases CDC25 apparaissent comme des régulateurs majeurs des différentes transitions du cycle cellulaire, puisque leur invalidation ou leur surexpression conduit à des anomalies dans la progression du cycle cellulaire, et leur coopération conduit à une bonne activation temporelle des complexes CDK-cyclines (figure 4). Malgré tout, des modèles de souris déficientes pour CDC25B et CDC25C sont capables de se développer et de vivre, même si les femelles sont stériles, ce qui suggère que CDC25A peut contrôler seule la progression dans le cycle cellulaire. A l'inverse, l'invalidation de CDC25A est létale chez la souris, ce qui signifie que CDC25B et CDC25C ne peuvent pas compenser l'absence de CDC25A. Ces résultats suggèrent que ces phosphatases ne sont que partiellement redondantes.

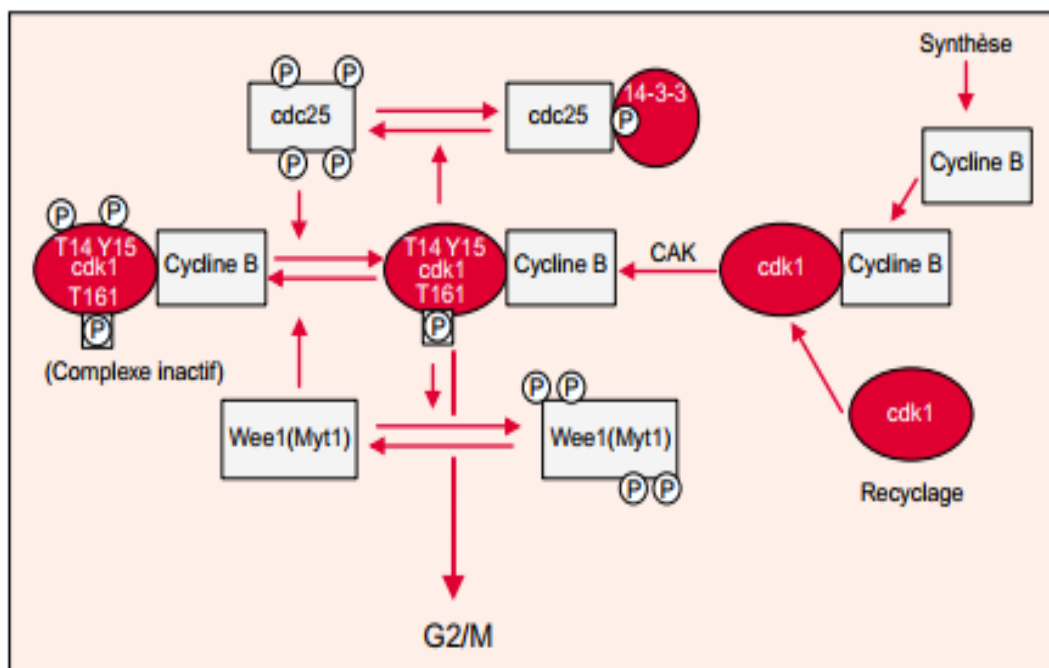


Figure 4 : Représentation schématique de la régulation du cycle cellulaire par les complexes CDK/cyclines, eux-mêmes contrôlés par les phosphatases CDC25

II.2.1.3. Les inhibiteurs des CDKs

Ces protéines sont classées en deux familles selon leurs structures et leurs propriétés

fonctionnelles. Les premiers sont les INK4s (**Inhibiteurs de CDK4**) qui regroupent : p16/INK4A (p16), p15/INK4B (p15), p18/INK4C (p18), et p19/INK4D (p19). Elles forment

des complexes avec CDK4 et/ou CDK6 et les cyclines de type D. Ces protéines ont des

activités fonctionnelles dépendantes de la protéine Rb normale. Le second groupe des CDKs est la famille des Cip/Kip. Elle regroupe les protéines suivantes : p21/WAF1/Cip1

(p21), p27Kip1 (p27) et p57Kip2 (p57). Ces protéines inhibent l'activité de cycline E/CDK2, de cycline D/CDK4 ou CDK6. Les Cip/Kip sont également appelées CDKs universels à cause de leurs interactions avec des complexes CDKs et les différentes cyclines

A, E, D1, D2 ou D3. Les protéines Kip ont une séquence de localisation nucléaire (NLS

pour Nuclear Localisation Sequence); ce qui permet leur localisation dans le noyau où elles

jouent leur rôle. Leur surexpression conduit à l'arrêt du cycle cellulaire. Un autre type de

protéine, la protéine Cables favorise la phosphorylation de la Tyrosine 15 (Y15) de CDK2

par l'intermédiaire de la protéine kinase Wee1 (Figure 5). Cette protéine entraîne également la

diminution de l'activité kinase de CDK2.

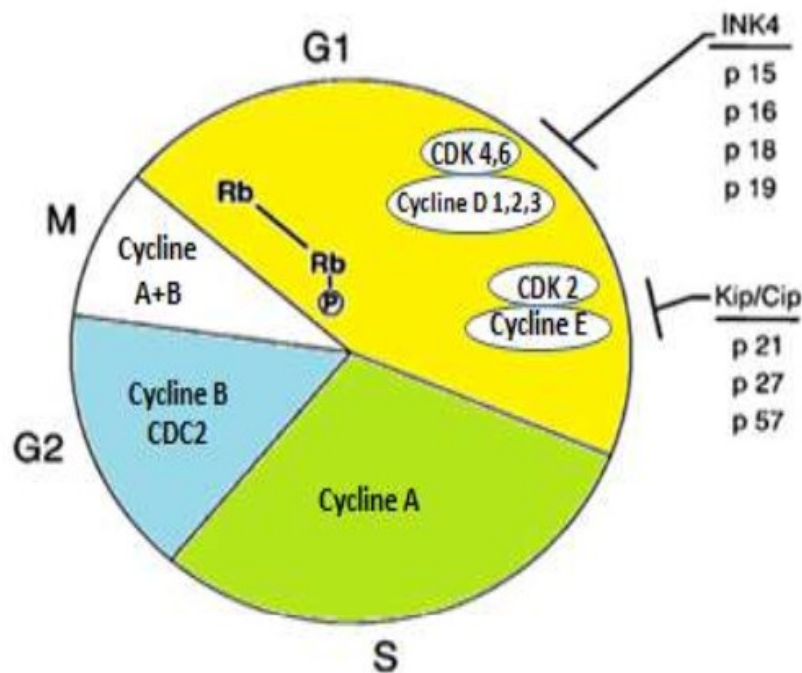


Figure 5. Schéma montrant les inhibiteurs des kinases dépendantes des cyclines (CDKIs) et les complexes cycline/CDKs dans le cycle cellulaire. Les protéines membres du groupe des INK4s (p15/INK4B, p16/INK4A, p18/INK4C, et p19/INK4D) et celles du groupe Cip/Kip (p21/WAF/Cip1, p27Kip1, et p57Kip2) ont des rôles inhibiteurs dans la transition G1/S.

II.2.2 .La Cycline D1 La Cycline D1 joue un rôle primordial dans l'entrée en prolifération. Et de façon intéressante, l'ARNm et la protéine sont synthétisés, uniquement si les cellules quiescentes sont stimulées par des facteurs mitogènes en présence d'adhésion cellule-matrice . Il a été montré que l'expression de la Cycline D1 est intimement liée à l'activation de Erk. La voie Ras/Raf/MEK/Erk active directement la transcription du gène de la cycline D1. Cependant, Erk doit être activé, en synergie, par les récepteurs tyrosine kinases et les intégrines pour permettre une induction efficace de la cycline D1.

II.3. L'activation de la voie de réparation des dommages de l'ADN

La présence d'un dommage de l'ADN est reconnue par des protéines senseurs. Elles vont conduire au recrutement de protéines médiatrices du signal. Puis ce signal est amplifié au niveau des protéines transductrices et effectrices, et provoque diverses réponses cellulaires.

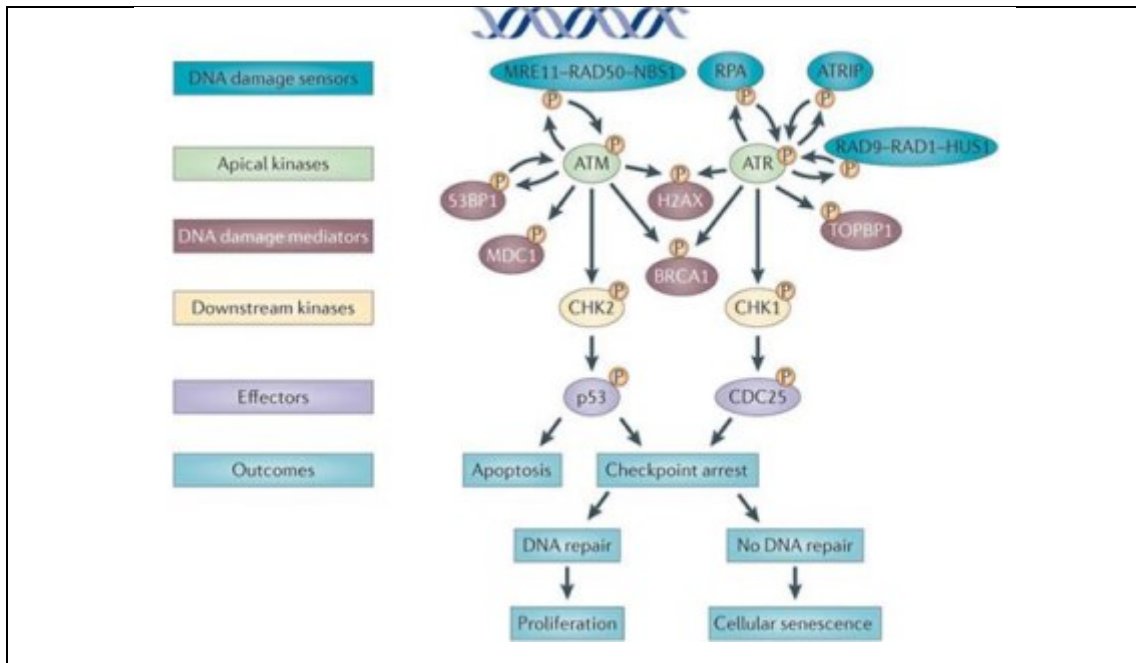


Figure 6 : Représentation schématique de la cascade de détection et de réparation des dommages de l'ADN

II.4. Rôles de Chk1 dans la régulation du cycle cellulaire

Lorsqu'une cellule subit un dommage au niveau de l'ADN en phase G1, les mécanismes de contrôle passent par les voies ATM/Chk2 et ATR/Chk1. Ces voies conduisent à la phosphorylation de p53 sur les résidus sérine 15 et sérine 20 soit directement par ATM et ATR, soit par Chk1 ou Chk2. Ces phosphorylations jouent sur la stabilité de p53 car elles empêchent sa dégradation par l'ubiquitine ligase MDM2, qui se lie à p53 lorsque le point de contrôle est inactif et qui assure son renouvellement rapide. Dans

le même temps, Mdm2 est aussi ciblée par ATM, ATR, Chk1 et Chk2 ce qui conduit à son inactivation. P53 peut aussi être phosphorylée par Chk1 et Chk2 sur la sérine 15, la thréonine 18, la serine 20, et la sérine 37 ce qui conduit à son activation. Les cibles transcriptionnelles de p53 sont des protéines qui vont permettre l'arrêt du cycle, telles que la protéine p21, qui inhibe les complexes CDK2-cycline E, causant un arrêt en phase G1. Ceci a pour conséquence non seulement d'empêcher l'initiation de la réplication de l'ADN mais aussi de conserver la voie de signalisation Rb/E2F active pour limiter la croissance cellulaire et ainsi contribuer à maintenir les cellules en phase G1. Ainsi, le point de contrôle G1 est régi par les protéines p53 et Rb, protéines mutées dans plus de 50% des cancers.

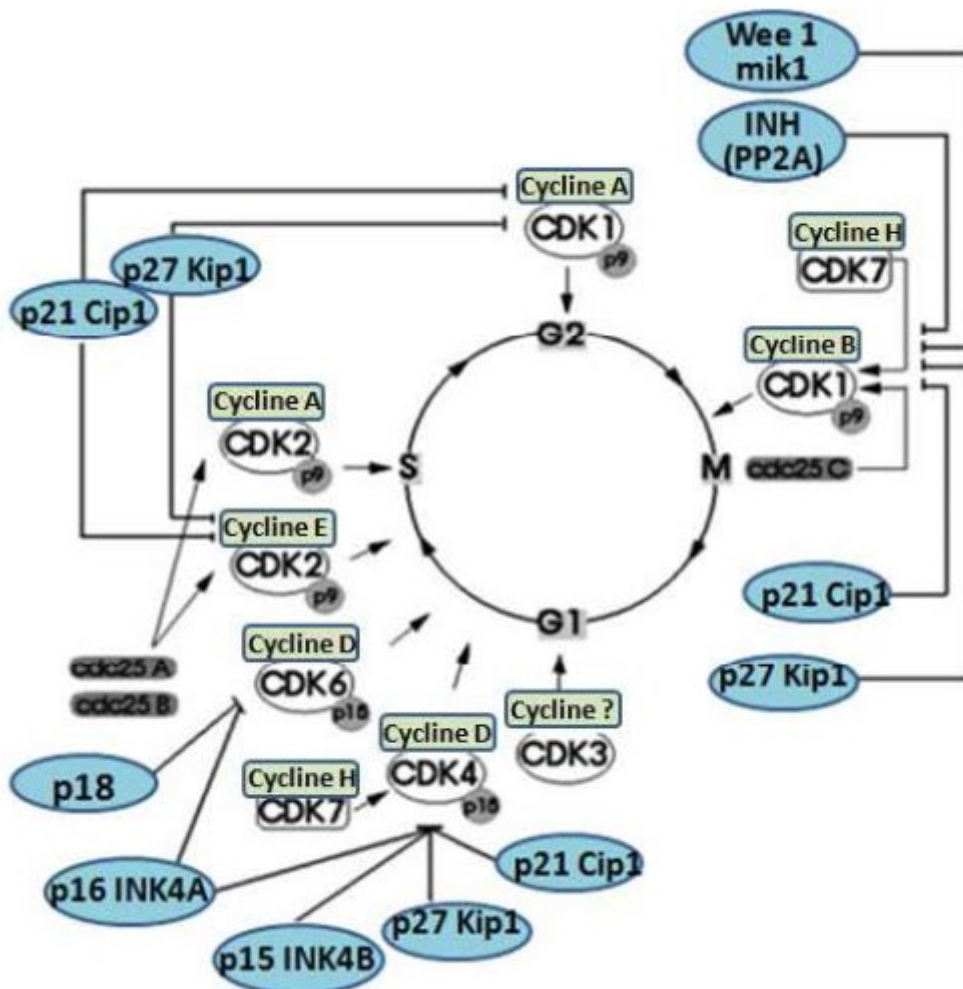


Figure 7: Schéma montrant la régulation du cycle cellulaire. Les complexes cyclines/CDKs (en blanc et vert) régulent le cycle cellulaire et sont en retour régulés par d'autres protéines: les CDKIs (en bleu), Wee1, INH.

II.5. Dysfonctionnement du cycle cellulaire

II.5.1. Au niveau d'ADN

L'ADN peut être la cible de deux grands types d'altérations : (i) conformationnelles qui,

suite à des modifications épigénétiques (méthylation, modifications post-traductionnelles des histones) perturbent notamment l'état de compaction de la chromatine et par conséquent

l'accessibilité des facteurs de transcription et de la machinerie transcriptionnelle ; et (ii)

nucléotidiques qui, sous l'influence d'une instabilité génétique peuvent conduire à des mutations ponctuelles jusqu'à d'importants remaniements chromosomiques.

➤ Altérations conformationnelles

La méthylation de l'ADN est une modification covalente exercée par des ADN méthyl transférases (DNMT) sur les cytosines des di-nucléotides CpG concentrés dans de courtes régions appelées îlots CpG, et présents préférentiellement au niveau du promoteur et du premier exon de plus de 60% des gènes humains.

➤ Altérations nucléotidiques

Le génome des cellules cancéreuses semble être particulièrement instable et la forte aneuploïdie retrouvée dans la plupart des cancers pourrait être l'élément déclencheur de la tumorigénèse avant l'accumulation successive de mutations.

II.5.2. Au niveau d'ARN messager (ARNm) :

Synthèse, maturation et stabilité des ARNm peuvent toutes être altérées lors du processus tumoral.

➤ **La transcription**

La synthèse des ARNm (ou transcription) est un mécanisme cellulaire finement régulé qui requiert une part importante de la machinerie cellulaire puisque plus de 5% de nos gènes codent pour des facteurs de transcription. La transcription peut être dérégulée au niveau de l'ADN par des modifications épigénétiques ou des mutations de sites de liaison pour des facteurs de transcription. Par ailleurs, quasiment toutes les voies de signalisation altérées dans les cancers aboutissent finalement à la dérégulation de l'expression et/ou de l'activité de facteurs de transcription et/ou de leurs cibles directes ou indirectes.

II.6. Les inhibiteurs pharmacologiques du cycle cellulaire

La découverte des mécanismes régulant la division cellulaire a été suivie par la recherche de molécules aux propriétés anti-prolifératives. De nombreux composés anti-mitotiques sont révélés utiles en chimiothérapie du cancer. Ainsi, on peut classer les produits anti-cancéreux classiques en quatre grandes catégories :

– **les agents alkylants**, qui altèrent l'ADN et bloquent ainsi la réplication (tels les nitrosouées, les moutardes à l'azote) ;

– **les anti-métabolites**, qui se substituent aux précurseurs de la synthèse d'acides nucléiques et bloquent la réplication de l'ADN (hydroxyurée, 5-fluoro-uracile) ;

– **les agents qui bloquent les topoisomérases I (camptothécine) et II (doxorubicine, mitoxantrone) ;**

– **les « poisons » du fuseau mitotique**, qui agissent en inhibant la dépolymérisation (ex : taxol, taxotère) ou la polymérisation de la tubuline (ex : vinblastine, et autres molécules marquées d'un astérisque) . L'efficacité thérapeutique des premiers produits anti-mitotiques a fortement suscité la recherche de composés capables d'inhiber la prolifération de cellules en culture. La plupart des produits utilisés en chimiothérapie du cancer proviennent de cette approche. Plus récemment, la recherche de produits anti-mitotiques à des fins thérapeutiques s'est appuyée davantage sur l'utilisation directe de régulateurs du cycle comme cibles de criblage moléculaire.

