

# Nucléoles et cancers: des liaisons dangereuses

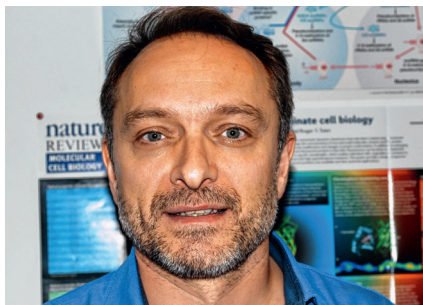
Au sein de la cellule, les nucléoles sont les organelles qui assemblent les ribosomes, nanomachines biologiques dont la fonction est de synthétiser les protéines. Dans les cellules cancéreuses, notamment, la structure et le nombre des nucléoles sont affectés par la maladie. À travers un article publié en juin 2016 dans *Nature Communications*<sup>1</sup>, une équipe de chercheurs de l'ULB a montré que quelques protéines ribosomiques, dont deux jouent par ailleurs un rôle clé dans la régulation de la protéine antitumorale p53, assurent l'intégrité des nucléoles. | Philippe Lambert

Dirigé par le professeur Denis Lafontaine, ce groupe a également défini, dans une perspective diagnostique et pronostique, un indice de l'état de santé des nucléoles à destination des oncologues cliniciens.

Voilà une vingtaine d'années que le professeur Denis Lafontaine, directeur de recherche au F.R.S.-FNRS et responsable du Service de Biologie Moléculaire de l'ARN à l'Université libre de Bruxelles (ULB), s'emploie à percer certains secrets du ribosome, cette nanomachine qui synthétise les protéines au cœur des cellules vivantes. Son intérêt, qui se porte sur les cellules eucaryotes, l'a amené initialement à travailler sur une levure particulière, *Saccharomyces cerevisiae*, sorte de modèle de base, et, depuis six ans, sur des cellules humaines.

Chez l'homme, le ribosome est une machine très complexe renfermant 84 composants, dont 4 éléments structuraux majeurs, les ARN ribosomiques, qui constituent en quelque sorte le squelette du ribosome sur lequel se greffent 80 protéines ribosomiques, elles-mêmes fabriquées par d'autres ribosomes préexistants. Nous ne soulèverons pas ici la question de l'origine de ce système, perdue dans la nuit des temps, car cela reviendrait à réveiller l'éternelle question de 'l'œuf et de la poule'. « Les 84 composants du ribosome se distribuent en deux sous-unités qui s'assemblent pour réaliser la synthèse des protéines après décodage de l'information contenue dans les ARN messagers », précise Denis Lafontaine.

Chaque cellule contient des millions de ribosomes, dont la durée de vie est de plusieurs jours. Leur fabrication, qui revient à l'assemblage d'un puzzle en trois dimensions avec 84 pièces, est l'œuvre des nucléoles, organelles de la cellule engagées dans un processus sophistiqué de production séquentiel. En effet, durant la synthèse d'un ribosome, chacun de ses 84 composants doit se situer à un endroit déterminé de la cellule à un moment donné, afin d'interagir avec d'autres composants et former avec eux le substrat pour la liaison du composant suivant.



▲ Professor Denis Lafontaine

Le nucléole est une vieille connaissance, puisqu'il fut découvert en 1781 par le physicien et naturaliste italien Felice Fontana. On sait depuis des décennies que son aspect constitue un bon indicateur de l'état de santé d'une cellule. La forme, la taille et le nombre des nucléoles peuvent varier considérablement lorsqu'une cellule est stressée ou malade. De façon typique, une cellule cancéreuse ou infectée par un virus présentera des anomalies nucléolaires. « En moyenne, une cellule humaine saine en culture renferme 5 ou 6 nucléoles de forme sphérique régulière, indique le professeur Lafontaine. Dans une cellule cancéreuse, leur nombre peut croître jusqu'à une dizaine. De même, leur morphologie peut s'altérer - ils tendent à devenir plus volumineux et moins réguliers -, et ils peuvent fusionner. »

Proliférant de manière anarchique, les cellules cancéreuses doivent synthétiser nettement plus de protéines qu'une cellule saine. Aussi n'est-il pas surprenant qu'elles soient le théâtre d'une production accrue de ribosomes. Par conséquent, les nucléoles sont appelés à s'adapter à la demande nouvelle, ce qu'ils réalisent à la hâte de façon assez chaotique.

## iNo score

L'observation des anomalies nucléolaires représente théoriquement un biomarqueur de la santé cellulaire. Malheureusement, les pathologistes du cancer ne pouvaient exploiter ce potentiel en routine clinique, dans la mesure où ils ne disposaient pas d'un outil qualitatif et quantitatif à la fois fiable et facile à mettre en œuvre. À l'ULB, les chercheurs du Service de Biologie Moléculaire de

l'ARN se sont donnés pour objectif de contourner l'écueil en élaborant un logiciel capable de déterminer sans équivoque si un nucléole est normal ou anormal et, dans ce dernier cas, le degré de son anomalie. Pour mener à bien ces recherches, le professeur Lafontaine fit appel au Centre de Microscopie et d'Imagerie Moléculaire (CMMI/ULB), dont il est membre et cofondateur, dans le but de construire une plateforme de criblage à haut débit, un microscope-robot voué à l'acquisition de milliers d'images de nucléoles en un laps de temps très court. En collaboration avec des ingénieurs programmeurs du groupe du professeur Christophe De Vleeschouwer, à l'Université catholique de Louvain (UCL), le Service de Biologie Moléculaire de l'ARN parvint à développer un algorithme à même de réaliser l'objectif poursuivi: analyser, à partir des images obtenues, nombre de paramètres morphométriques sur chacun des nucléoles concernés, se prononcer sur son état et, le cas échéant, chiffrer son degré d'anormalité.

In fine, l'intégration des différents paramètres pris en considération permet de définir un 'indice de perturbation nucléolaire', que les chercheurs ont baptisé iNo score. Il fournit des informations validées statistiquement sur la gravité d'éventuels dommages dont serait affecté un nucléole et, à ce titre, ouvre potentiellement la voie à des applications en routine clinique dans les sphères du diagnostic et du pronostic en oncologie. « Notamment via un programme BioWin de la Fédération Wallonie-Bruxelles, nous menons des investigations sur les corrélations existant entre les grades des cancers et les perturbations nucléolaires, rapporte Denis Lafontaine. Notre outil permettra de distinguer de façon précoce de telles altérations. Connaître l'ampleur de celles-ci devraient contribuer au diagnostic du cancer, mais également permettre, nous l'espérons, d'établir un pronostic d'évolution de la maladie et d'orienter les patients vers tel ou tel traitement. Évidemment, cela passe par des études cliniques préalables. »

Aujourd'hui, le nucléole est une entité lar-

gement sous-utilisée pour le diagnostic et le pronostic en oncologie, dans la mesure où l'observation à l'œil nu, en microscopie optique, ne permet de faire le tri qu'entre des nucléoles en parfait état et d'autres, totalement désorganisés. Les stades intermédiaires, en particulier les stades précoces de déstructuration, ne sont pas perceptibles. L'iNo score va changer la donne. Pour l'heure, cet index se présente sous la forme d'une échelle numérique allant de 0 à 2. Zéro: le nucléole est parfait. Deux: sa structure est complètement dégradée. Entre ces extrêmes se situe un continuum d'états intermédiaires.

## Intégrité nucléolaire

En 2012, l'équipe du professeur Ross Hanan, de l'Australian National University, a administré à des cellules cancéreuses l'agent chimique CX-5461 destiné à inhiber la fonction des nucléoles<sup>2</sup>. L'action de cette drogue a contrarié la fabrication des ARN ribosomiques, c'est-à-dire des composants essentiels des ribosomes - 'le châssis de la voiture', dit de façon imagée le professeur Lafontaine. La production de ces derniers s'en est trouvée affectée. Moins de ribosomes ont été synthétisés et les cellules cancéreuses ont été tuées spécifiquement, laissant les cellules saines intactes. Est ainsi soulignée la possibilité d'éliminer sélectivement des cellules tumorales par un traitement pharmacologique portant sur les nucléoles. « Ceux-ci constituent donc bel et bien une cible thérapeutique, ce qui renforce l'intérêt des études que nous effectuons », fait remarquer Denis Lafontaine.

D'autant qu'en plus de leur volet visant à baliser une application clinique (le iNo score), les travaux de son groupe comportaient un volet de recherche fondamentale.

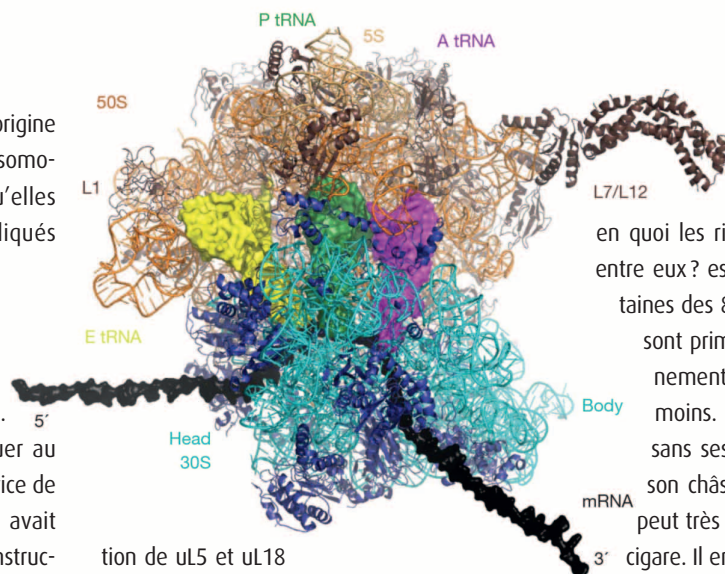
En utilisant leur méthode de criblage à haut débit et le logiciel associé, les chercheurs ont enlevé, parmi l'ensemble des protéines constitutives du nucléole, chaque protéine ribosomique, une à une, dans le but de déterminer si cette ablation altérait ou non la structure nucléolaire. Trois raisons ont amené les scientifiques à choisir de se focaliser initialement sur les protéines ribosomiques. Primo, elles sont les plus abondantes dans le nucléole, où, par définition, elles se retrouvent incorporées en tant que 'pièces' du ribosome en cours de fabrication. Secundo, des mutations au niveau des

gènes qui les codent sont souvent à l'origine d'un type de maladies baptisées ribosomopathies (voir infra). Enfin, on sait qu'elles régulent l'expression de gènes impliqués dans les cancers.

## Un lien inattendu

Mais revenons à la première étape, centrée sur les protéines ribosomiques. « Notre tâche consistait un peu à jouer au Mikado, commente le directeur du Service de Biologie Moléculaire de l'ARN. Si l'on avait comparé le nucléole à une usine de construction automobile, la question aurait été : quels sont les éléments de l'usine qui sont importants pour qu'elle demeure opérationnelle ? Si on enlève une fenêtre du bâtiment, la production de véhicules n'en sera pas fondamentalement contrariée, mais si on supprime le stock de roues, il en ira tout autrement. »

Une conclusion majeure de l'étude est que seulement quelques-unes des 80 protéines ribosomiques sont nécessaires au maintien de la structure du nucléole. Qui plus est, et ce constat était totalement inattendu (« inespéré », dit même Denis Lafontaine), les deux protéines les plus importantes à cet effet sont celles qui remplissent un rôle essentiel pour réguler la concentration de la protéine antitumorale codée par le gène p53, bien connu comme étant suppresseur de tumeurs. Concrètement, lorsqu'une cellule accède à la malignité, p53, alors fortement exprimée, enclenche l'apoptose de la cellule malade. En revanche, dans une cellule normale, la concentration de p53 doit demeurer très faible. Plusieurs mécanismes participent à la régulation de la concentration de cette protéine au niveau cellulaire. Comme nous l'avons signalé, l'un d'eux met à contribution deux protéines jouant également un rôle clé dans le ribosome : uL5 et uL18. « La protéine HDM2 intervient dans la régulation négative de p53 en l'entraînant dans le protéasome, où elle sera dégradée, précise Denis Lafontaine. Face à une cellule cancéreuse, la fonc-



tion de uL5 et uL18

est de 'séquestrer' HDM2, afin qu'elle ne puisse conduire p53 dans le protéasome. De la sorte, la protéine antitumorale pourra s'accumuler et détruire la cellule maligne. »

Une question vient immédiatement à l'esprit : pourquoi les deux protéines ribosomiques cruciales pour le maintien de l'intégrité du nucléole sont-elles précisément les plus importantes pour la régulation de p53 ? On l'ignore. « Cette question va probablement nous occuper durant plusieurs années », confie d'ailleurs notre interlocuteur. On sait que lors de la fabrication du ribosome, uL5 et uL18 sont ajoutées tout à la fin de l'assemblage et que, sans elles, la nanomachine biologique sera vouée à la dislocation. « Un scénario plausible est que la cellule disposerait d'une espèce de mécanisme de contrôle de qualité pour s'assurer que uL5 et uL18 sont bien ajoutées au ribosome en fin de cycle de fabrication, indique encore Denis Lafontaine. Si tel n'est pas le cas, la structure du nucléole ne sera pas jugée conforme, de sorte que la réponse de l'organisme sera d'éliminer la cellule problématique via l'intervention de p53. »

## Une nouvelle classe de maladies

Un concept nouveau retient également l'attention du Service de Biologie Moléculaire de l'ARN. Alors que, jusqu'il y a peu, la biologie fondamentale décrivait les ribosomes comme des entités parfaitement identiques, il apparaît qu'il existe des ribosomes spéciali-

sés au sein de la cellule. « La première question à se poser est : en quoi les ribosomes sont-ils différents entre eux ? estime Denis Lafontaine. Certaines des 84 pièces qui les composent sont primordiales pour leur fonctionnement mais d'autres, sans doute moins. Une voiture ne peut rouler sans ses quatre roues, son moteur, son châssis et son volant, mais elle peut très bien se passer d'un allumecigare. Il en va très vraisemblablement de même ici. »

La question cardinale est : des ribosomes différents reconnaissent-ils des ARN messagers de façon privilégiée et fabriquent-ils dès lors des protéines spécifiques ? Des premières évidences semblent indiquer que c'est effectivement bien le cas.

Enfin, les travaux des chercheurs de l'ULB donnent un éclairage important sur une nouvelle classe de maladies identifiées très récemment : les ribosomopathies. Il s'agit d'affections génétiques très graves dont beaucoup sont connues depuis longtemps, mais dont on ignorait l'origine, laquelle, on le sait désormais, est un problème dans la biogenèse - la fabrication - du ribosome.

Ces maladies du ribosome sont des syndromes de prédisposition aux cancers, dont elles accroissent la fréquence en facilitant ou en stimulant le développement. En fait, elles possèdent le plus souvent un triple dénominateur commun : outre qu'elles engendrent un risque accru de cancer, elles se manifestent généralement par des problèmes de développement du squelette et de maturation des cellules sanguines. Sur ce tron commun se greffent des symptômes-satellites. Selon le type de ribosomopathies, une déficience pancréatique ou une dystrophie des ongles, par exemple.

Par séquençage des génomes, on s'est rendu compte que les mutations génétiques incriminées peuvent varier, toucher différents gènes nécessaires à la fabrication du

ribosome. La ribosomopathie la plus connue est l'anémie de Blackfan-Diamond (ABD), maladie génétique rare - sa prévalence à la naissance est estimée à 0,67 pour 100 000 individus - où la moelle osseuse se révèle incapable de produire suffisamment de globules rouges.

« Il est intéressant d'observer que toutes les cellules de l'organisme ne sont pas fonctionnellement affectées dans ces maladies, alors qu'il y a, dans chaque cellule, des ribosomes malformés ou en quantité réduite, souligne Denis Lafontaine. A priori, les embryons ne devraient pas être viables. Or, ils le sont. Lorsqu'il y a des problèmes dans l'assemblage des ribosomes, ceux-ci sont produits en moins grand nombre et certains ne sont probablement pas fonctionnels. La question est alors de savoir pourquoi les cellules de certains tissus (sang, squelette...) en souffrent et celles d'autres tissus sont épargnées. »

L'hypothèse la plus plausible est que, dans le premier cas, nous aurions affaire à des cellules dont le bon fonctionnement réclame la totalité des ribosomes présents dans une cellule normale, tandis que dans le second, un nombre moindre de ribosomes pourrait suffire. Les ribosomopathies ne sont donc pas des maladies génériques, mais des pathologies hautement spécifiques dont une des propriétés est, rappelons-le, de prédisposer aux cancers. ♦

## Références :

1. Nicolas, E., Parisot, P., Pinto-Monteiro, C., de Walque, R., De Vleeschouwer, C., Lafontaine, D.L.J. (2016) « Involvement of human ribosomal proteins in nucleolar structure and p53-dependent nucleolar stress » Nature Communications doi : 10.1038/ncomms11390
2. Bywater MJ, Poortinga G, Sanij E, Hein N, Peck A, Cullinane C, Wall M, Cluse L, Drygin D, Anderes K, Huser N, Proffitt C, Bliesath J, Had-dach M, Schwaebe MK, Ryckman DM, Rice WG, Schmitt C, Lowe SW, Johnstone RW, Pearson RB, McArthur GA, Hannan RD. Inhibition of RNA polymerase I as a therapeutic strategy to promote cancer-specific activation of p53. Cancer Cell. 2012 Jul 10 ; 22(1) : 51-65. doi : 10.1016/j.ccr. 2012.05.019.

**Belgian  
Oncology News**

N°5 • septembre 2016  
Bimestriel réservé au corps médical  
(Verschijnt ook in het Nederlands)

**Rédacteur en chef**  
Dr Christian Cottriau  
christian.cottriau@roularta.be

**Rédacteur en chef adjoint**  
Dr Jacques Ninane  
jacques.ninane@roularta.be

## Comité scientifique

Pr Ivan Borbath (UCL), Pr Dominique Bron (Jules Bordet), Pr Christophe Chantrain (CHC), Pr Alain Hendlisz (Jules Bordet), Pr Pierre Scalliet (UCL), Pr Ann Smeets (UZ Leuven), Pr Bertrand Tombal (UCL), Pr Ignace Vergote (UZ Leuven), Pr Jan Van Meerbeek (UZA)

## Secrétaire de rédaction

Karolien Van de Velde,  
karolien.van.de.velde@roularta.be

**Collaborateurs:** Pierre Dewaele, Jean-Claude Lemaire, Philippe Lambert, Isabelle Cazallé, Johan Waelkens, Michelle Cooreman

**Photographie:** Belga Image

**Art directeur & chef de production**  
Viviane Claes — viviane.claes@roularta.be

**Lay-out:** Philippe Ossemann, Helga Orinx, Antonio Zamora

**Changement d'adresse:**  
Uniquement par e-mail à circulation.rhc@roularta.be

Les articles, les photos, les dessins et autres illustrations de la partie rédactionnelle du Journal du Médecin ne comportent pas de publicité, les mentions d'entreprises ou de produits le sont à titre documentaire. Les articles, les photos et dessins les illustrant ainsi que les opinions et les publicités paraissent sous la seule responsabilité de leurs auteurs/annonceurs. Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous les procédés sont réservés pour tous pays.

**Régie:** Roularta HealthCare sa

**Sales Manager:** Michèle Veys

**Front Office**  
Corry Bas © 02/7027030 -  
frontoffice.rhc@roularta.be

Le Belgian Oncology News est une publication de

**Roularta  
HealthCare**

**Directeur des publications**  
Guido Van Hoeck

**Operations Manager**  
Virginie Meysmans  
virginie.meymans@roularta.be

**Editeur responsable**  
Sophie Van Iseghem

Membre de l'Union des  
éditeurs de la presse  
périodique et souscripteur

**Member of  
EBP  
PRESS**