

Le nucléole, les ribosomes, et le cancer

Dans toutes les cellules vivantes, les protéines sont fabriquées par les ribosomes, dont on découvre aujourd'hui qu'ils ne sont pas tous identiques entre eux au sein d'une même cellule, et qu'ils sont à la base de maladies graves, les *ribosomopathies*. Les recherches de Denis Lafontaine, à la pointe dans ce domaine, nous offrent une fascinante plongée au cœur de la vie cellulaire, où de nouvelles régulations viennent d'être découvertes qui relient le ribosome, le nucléole — où les ribosomes sont fabriqués —, et le cancer.



Pr Denis Lafontaine, ULB

Issu de l'Université de Namur, Denis Lafontaine est passé par l'EMBL à Heidelberg (European Molecular Biology Laboratory) et par l'Université d'Édimbourg avant de revenir créer son laboratoire « Biologie Moléculaire de l'ARN » à l'ULB en 2001. Ayant rencontré le ribosome de la levure dès sa thèse, celui-ci ne l'a plus quitté et les découvertes se sont enchaînées, jusqu'au chantier actuel, le ribosome humain ! Denis Lafontaine est Directeur de Recherche au F.R.S.-FNRS, professeur à l'ULB, et membre fondateur et codirecteur du CMMI (Division Automation & Morphométrie Quantitative).

Le ribosome est une nanomachine complexe, qui synthétise les protéines à partir de l'information génétique portée par les ARN messagers. Composé de 80 protéines et de 4 ARN groupés en deux sous-unités, sa structure a été conservée au cours de l'évolution. L'intérêt de Denis Lafontaine s'est d'abord porté sur les mécanismes de fabrication du ribosome dans la cellule. Chez les eucaryotes, cela se passe au cœur du noyau, dans le *nucléole*, un domaine fonctionnel spécialisé dont la morphologie renseigne sur l'état de santé de nos cellules (voir plus loin).

Une énigme : les ribosomopathies

Il y a cinq ans, on a découvert que des défauts dans la biogenèse du ribosome provoquent des maladies humaines graves : les *ribosomopathies*. Il s'agit de syndromes de prédisposition au cancer.

« Les ribosomes étant présents dans toutes nos cellules, explique Denis Lafontaine, un défaut d'assemblage devrait les affecter toutes, être léthal, et ne pas produire d'embryons viables, et a fortiori pas de patients à soigner. Or ils sont bien là ! Donc les défauts engendrés par des ribosomes anormaux sont forcément circonscrits à certains types de cellules (ou tissus) seulement. Et de fait, les ribosomopathies semblent affecter spécifiquement certaines voies de maturation cellulaires (comme l'hématopoïèse dans la *Diamond Blackfan anemia*) et certains processus développementaux (le développement du squelette dans le *Treacher Collins syndrome*). »

Un changement de paradigme

On croyait les ribosomes d'une cellule tous identiques entre eux, mais les cellules contiennent en fait une population hétérogène de ribosomes différents. Bien sûr, les différences sont subtiles, ce sont des « tags chimiques » qui optimisent la fonction de la nanomachine dans la traduction. La source

de variabilité la plus importante consiste en la modification de l'ARN ribosomique, précisément un des thèmes centraux de recherche du laboratoire de Denis Lafontaine.

« Depuis quinze ans, nous avons identifié les enzymes de modification de l'ARN ribosomique, les sites modifiés sur le ribosome et la nature chimique des modifications, explique-t-il. Des ribosomes différents ont des capacités traductionnelles spécifiques ».

Combien de ribosomes différents existent dans une cellule ? On ne le sait pas encore. Une avenue vient donc de s'ouvrir à de nouveaux champs de recherches et l'on s'attend à ce que la compréhension de cette diversité ribosomique s'affine dans un futur proche.

Le nucléole, un outil de diagnostic puissant du cancer

Ceci posé, on peut aborder les découvertes récentes de l'équipe de Denis Lafontaine concernant le nucléole et le cancer, et qui impliquent les ribosomes. Mais d'abord, un

mot sur la protéine anti-tumorale p53, bien connue. Elle nous protège en tuant les cellules cancéreuses dans lesquelles elle se trouve. En revanche, dans les cellules normales qui n'ont pas besoin d'être tuées, p53 est rare car elle y est dégradée en permanence. Un point clé : il y a plusieurs façons de réguler le niveau de p53 dans les cellules. Et de façon remarquable, des régulateurs importants de p53 se trouvent au sein même du ribosome. Certaines protéines ribosomiques peuvent en effet capturer et séquestrer une protéine qui normalement dégrade p53 ; ce faisant elles empêchent cette dégradation, donc p53 s'accumule (conduisant à la mort cellulaire).

Or, les ribosomes sont synthétisés dans le nucléole, et depuis longtemps, l'aspect du nucléole est reconnu comme un bon indicateur de l'état de santé d'une cellule. La forme, la taille et le nombre de nucléoles peuvent varier considérablement quand une cellule est stressée ou malade, notamment dans les cellules cancéreuses et celles infectées par un virus (figure 1). Actuellement, les pathologistes du cancer n'exploitent pas tout le potentiel biomarqueur du nucléole, faute d'outils quantitatifs fiables pour la mise en œuvre dans les protocoles cliniques de routine.

Denis Lafontaine explique : *nous voulions répondre à une question biologique fondamentale : quels sont les principes régissant l'intégrité du nucléole ? Nous nous demandons notamment quels composants cellulaires sont importants pour le maintien de son architecture.*



MICROSCOPIE À HAUT DÉBIT & CMMI

Le nucléole a été « démonté » pièce par pièce afin d'identifier les composants indispensables au maintien de sa structure en utilisant la technique d'interférence à ARN (siRNA). Les nucléoles (vert fluorescent dans l'image du centre) ont été observés avec un microscope robot construit dans le cadre des activités de D. Lafontaine dans le Centre de Microscopie et d'Imagerie Moléculaire (ww.CMMI.be) : ils ont ensuite été analysés par le logiciel du laboratoire. Celui-ci détermine si les nucléoles sont normaux (cellules saines) ou anormaux (cellules malades ou stressées).

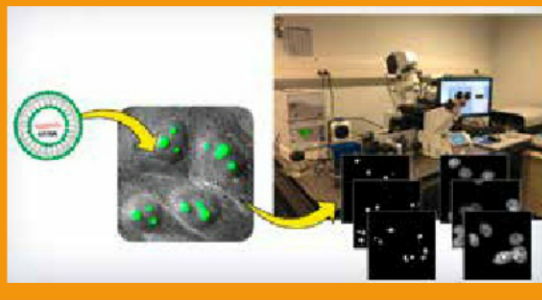
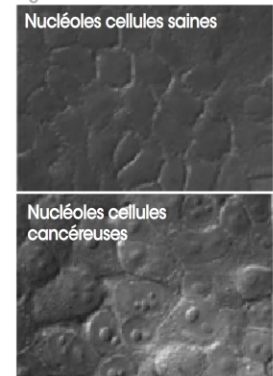
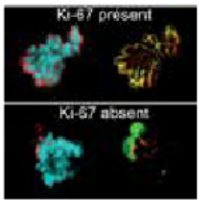


Figure 1



DEUX RECHERCHES RÉCENTES MENÉES EN COLLABORATION

L'assemblage du nucléole



Au cours de la mitose, les chromosomes en cours de compaction (en turquoise) sont entourés de protéines nucléolaires qui constituent un véritable « gant » (en rouge à gauche et en vert et jaune à droite). En absence de Ki-67, un marqueur souvent utilisé pour distinguer les cellules en cours de division dans des biopsies de patients cancéreux, ce gant ne se forme pas avec comme conséquence que la formation du nucléole est affectée. En collaboration avec le Prof Daniel Fisher (CNRS, Université de Montpellier)².

Le mélanome

Dans une étude réalisée par le Dr Eleonora Leucci et dirigée par le Prof Jean-Christophe Marine (KULeuven, VIB), l'équipe a caractérisé un ARN non codant de grande taille, le Sammsom, exprimé spécifiquement dans les cellules de mélanome (cancer de la peau). Il est une cible thérapeutique potentielle importante car lorsqu'on le retire des cellules cancéreuses, même celles qui sont les plus résistantes meurent.³



« Une avenue vient de s'ouvrir à de nouveaux champs de recherches et l'on s'attend à ce que la compréhension de cette diversité ribosomique s'affine dans un futur proche. »

Bien que le nucléole ait été découvert par le savant italien Felice Fontana en 1774, ces questions fondamentales n'ont pas encore trouvé réponse. Pour y faire face, le laboratoire de D. Lafontaine a construit une « plate-forme de criblage à haut débit » : un microscope robot qui peut observer des milliers de cellules dans un laps de temps très court, vérifier la morphologie de leurs moindres détails et les rapporter à un algorithme informatique spécialement conçu.

Comme preuve du concept, le laboratoire s'est concentré sur ce qui arrive au nucléole dans les cellules dépourvues de protéines ribosomiques. *Nous avons enlevé les protéines ribosomiques une à une, et demandé à notre robot et logiciels : est-ce que la structure nucléolaire est affectée ou non ? Cela a permis d'identifier les protéines ribosomiques essentielles au maintien de la structure du nucléole.*

D'autre part, nous avons développé un programme d'ordinateur puissant pour distinguer les nucléoles normaux des anormaux à la fois qualitativement et quantitativement. En d'autres termes, nous voulions être en mesure de dire sans équivoque à quoi un nucléole ressemble dans une cellule en bonne santé ou malade. Ceci pour fournir aux cliniciens l'outil qui leur manque.

En collaboration avec le Professeur Christophe De Vleeschouwer de l'UCL (ICTEAM-ELEN), le laboratoire de Denis Lafontaine a conçu un nouvel indice, l'« indice de perturbation nucléolaire », ou *iNo score*. Cet indice fournit des informations validées statistiquement afin de savoir si la structure nucléolaire est endommagée ou non, et si oui, qu'elle est la gravité des dommages.

Une conclusion majeure de notre travail est que seulement quelques-unes des quatre-vingts protéines ribosomiques sont nécessaires pour maintenir la structure nucléolaire. Et, coup de théâtre final, les protéines ribosomiques les plus importantes pour le maintien de la structure du nucléole se sont avérées

être précisément celles qui jouent un rôle important dans la régulation du niveau de p53. Cette conclusion essentielle est beaucoup plus que nous avions espéré. La recherche fondamentale continuera toujours à nous surprendre !

L'étude vient de paraître dans *Nature Communications*¹. Ce travail a des applications importantes dans la recherche biomédicale, étant donné le grand potentiel du score *iNo* pour une utilisation en biologie clinique.

Muni de ce savoir et de la technologie dédiée, Denis Lafontaine et son équipe entame à présent la même recherche in vivo chez le Xénope, le Zebra fish et la souris pour des applications attendues en cancérologie humaine. Cette recherche est bien pluridisciplinaire. Avec CRISPR-Cas9, ce super ciseau à ADN utilisé sur des cellules humaines en culture et qui fait l'actualité, on peut s'attendre à des développements spectaculaires. Affaire à suivre.

1. Involvement of human ribosomal proteins in nucleolar structure and p53-dependent nucleolar stress", *Nature Communications* DOI: 10.1038/ncomms11390 ; elle est disponible en ligne sur le site <http://www.nature.com/ncomms/index.html>
2. Sobacki et al eLIFE (2016)
3. Leucci et al. *Nature* (2016)

Alexandre Wajnberg

EN SAVOIR PLUS

Les sites internet et banques de données du laboratoire :

- www.LafontaineLab.com
- www.RibosomeSynthesis.com
- www.RibosomalProteins.com
- Twitter account @LafontaineLab



Denis Lafontaine
RNA Molecular Biology, ULB
denis.lafontaine@ulb.ac.be

