

Etude des interactions entre p53, MDM2 et MDM4 dans les leucémies aigües myéloïdes (LAM) et les syndromes myélodysplasiques (SMD), et effets des inhibiteurs de MDM2 et MDM4

Dr Robin FAHRAEUS

Contrôle de la traduction des ARNm lors des voies de signalisation P53 et CMH de classe 1

IGM Unité 1162 Equipe R. FAHRAEUS

27 rue Juliette DODU

75010 Paris

Les leucémies aigües myéloblastiques (LAM) sont caractérisées par une prolifération de cellules indifférenciées (blastés) dans la moelle osseuse. La production des cellules sanguines est anormale (cytopénies) et peut provoquer anémies, infections ou encore des saignements. Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont caractérisés surtout par un blocage de maturation et donc par des cytopénies sanguines. Environ 30% des SMD évoluent en LAM.

La protéine p53 a un rôle important dans le contrôle du cycle de la cellule. Elle permet de bloquer la croissance de la cellule en cas de dommages de l'ADN ou bien de l'envoyer vers une mort cellulaire programmée (apoptose) si l'ADN ne peut être réparé. Plusieurs autres protéines ont un rôle dans le contrôle de p53 et dans sa voie de signalisation. MDM2 est une protéine qui bloque l'activation de p53 et entraîne sa dégradation.

La surexpression de MDM2 est d'environ 20% chez les patients atteints de cancers. Les anomalies des gènes TP53, MDM2 et MDM4 constituent un mécanisme physiopathologique assez fréquent. De plus, un nombre croissant de mutations de p53 ont démontré avoir un gain de fonction (GOF) responsable de la fonction oncogénique de p53.

Plusieurs molécules ont montré une capacité à se fixer sur MDM2 afin de bloquer son activité inhibitrice de p53. C'est le cas de la Nutlin-3 et de ses dérivés actuellement en essais cliniques (Idasanutlin, HDM 201, DS-3032). L'utilisation des inhibiteurs de MDM2 en présence de mutants p53 GOF pourrait s'avérer dangereuse en augmentant l'activité de cette protéine oncogénique. D'autres facteurs peuvent interférer avec la fonction de la Nutlin-3. En effet, MDM4 se fixe également sur p53 et bloque son activité transcriptionnelle sans promouvoir la dégradation de p53. La Nutlin-3, se fixant sur MDM2 et non sur MDM4, n'empêche pas la fixation de MDM4 sur p53. Il a été montré que des cellules cancéreuses qui expriment un taux important de MDM4 présentent une résistance aux inhibiteurs de MDM2. Les peptides modifiés (stapled peptides) ont la capacité de se fixer à la fois sur MDM2 et sur MDM4 et de les inhiber.

L'équipe du Dr. Fahraeus (Inserm, UMR1162) travaille sur les aspects biochimiques et cellulaires de la voie de signalisation de p53, en particulier lors de dommages de l'ADN et en réponse au stress cellulaire. Dans le but de faire un lien entre la rupture des complexes p53-MDM2 et p53-MDM4 et l'activité biologique de la cellule, nous utilisons le principe de Proximity Ligation Assay « PLA ». Il s'agit d'une technique qui permet d'observer et quantifier les interactions entre protéines.

Grâce au partenariat avec le Pr. Fenaux (Service d'hématologie séniors Hôpital St Louis/Université Paris 7), nous avons accès à des échantillons de LAM et SMD faisant l'objet d'une analyse cytogénétique et mutationnelle (recherche de mutations de p53, notamment), suivis sur le plan clinique et permettant d'effectuer notre travail sur des échantillons frais de moelle et de sang. Certains de ces patients sont traités dans des essais cliniques utilisant des inhibiteurs de MDM2 et prochainement un inhibiteur de MDM2/MDM4.

Dans des travaux préliminaires, la technique de PLA nous a permis d'observer une réponse hétérogène à la Nutlin-3 au niveau de l'interaction p53-MDM2 dans des cellules de patients. La sélection des blastes en cytométrie de flux avec comme critère les interactions entre p53, MDM2 et MDM4 par la technique PLA est un moyen d'isoler les cellules qui répondent positivement à la Nutlin3. Nous pourrions ainsi identifier des marqueurs biologiques prédictifs sur ces cellules isolées et comprendre la voie de signalisation de p53 après traitement par la Nutlin3 dans le but de concevoir un outil de diagnostic. Ce test de diagnostic permettrait de prédire la réponse des patients aux traitements.