

[A new player in PML-mediated cellular senescence:  
**TBX2 gets into the loop**].

Nadine Martin, Anne Dejean, Oliver Bischof

► **To cite this version:**

Nadine Martin, Anne Dejean, Oliver Bischof. [A new player in PML-mediated cellular senescence: TBX2 gets into the loop].. médecine/sciences, EDP Sciences, 2012, 28 (3), pp.248-250. 10.1051/med-sci/2012283007 . pasteur-03236088

**HAL Id: pasteur-03236088**

**<https://hal-pasteur.archives-ouvertes.fr/pasteur-03236088>**

Submitted on 26 May 2021

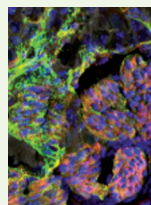
**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Copyright

## TBX2, un nouvel acteur dans la sénescence cellulaire induite par PML

Nadine Martin<sup>1,2</sup>, Anne Dejean<sup>1</sup>, Oliver Bischof<sup>1</sup>



<sup>1</sup> Unité d'organisation nucléaire et oncogène, Inserm U993, Institut Pasteur, 28, rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.

<sup>2</sup> Adresse actuelle : Cell proliferation group, MRC clinical sciences centre, faculty of medicine, Imperial College, London W12 0NN, Royaume-Uni ; [obischof@pasteur.fr](mailto:obischof@pasteur.fr)

La protéine PML (*promyelocytic leukemia protein*) a été identifiée il y a 20 ans dans le produit de la translocation t(15,17) causant la leucémie aiguë promyélocytaire [1, 2]. La protéine de fusion PML-RAR $\alpha$  (*retinoic acid receptor  $\alpha$* ) issue de cette translocation bloque la différenciation des cellules progénitrices hématopoïétiques. PML fait partie, avec p53 et Rb (*retinoblastoma protein*) notamment, de facteurs suppresseurs de tumeur induisant la sénescence cellulaire. Celle-ci est caractérisée par un arrêt permanent du cycle cellulaire en réponse à divers signaux tels que l'érosion des télomères ou l'activation d'oncogènes. En empêchant la prolifération illimitée des cellules, la sénescence constitue une puissante barrière antitumorale (→) [3]. Depuis la découverte du rôle de PML dans la sénescence cellulaire en 2000, la compréhension des mécanismes impliqués dans sa fonction de suppresseur de tumeur constitue un enjeu majeur.

(→) Voir l'article de J.M. Brondello et al., page 288 de ce numéro

### PML, un suppresseur de tumeur

Le gène *PML* donne naissance, par épissage alternatif de l'ARN, à au moins sept isoformes de la protéine PML, désignées PML-I à -VII. Hormis PML-VII qui est cytoplasmique, toutes les isoformes de PML sont nucléaires et se concentrent au sein de petites structures appelées corps nucléaires PML, détruites dans la leucémie aiguë promyélocytaire et dont la fonction est encore mal définie. La première preuve de l'action de suppresseur de tumeur de PML est venue de

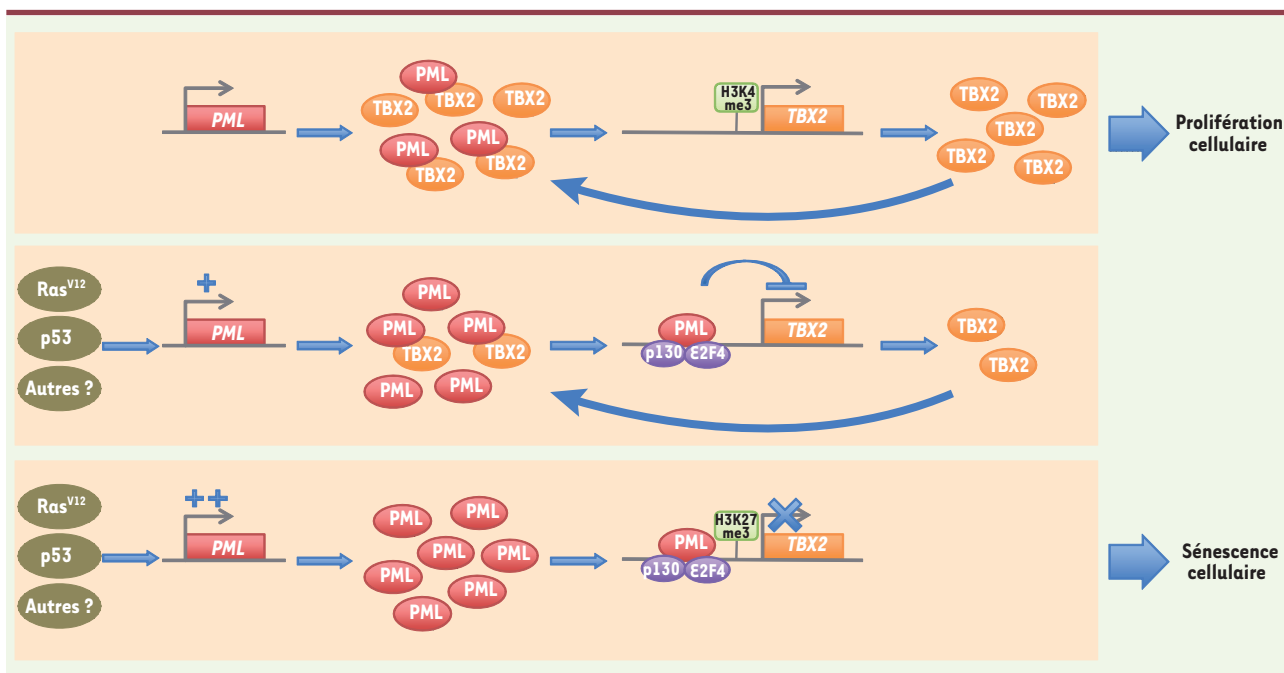
l'observation d'une augmentation de la prolifération cellulaire et de la susceptibilité aux tumeurs lors de son inactivation génétique chez la souris [4]. Deux études ont ensuite montré que l'oncogène Ras activé stimule l'expression de PML et que celle-ci induit la sénescence cellulaire dans les fibroblastes primaires humains et murins [5, 6]. PML est requise pour l'implémentation de la sénescence par Ras [6].

Parmi les diverses isoformes de PML, seule PML-IV induit la sénescence [7], en mettant en jeu les suppresseurs de tumeur p53 et Rb. PML agit avec p53 au sein d'une boucle de régulation positive de la sénescence. PML promeut d'une part l'activité transcriptionnelle de p53 au sein d'un complexe trimérique formé avec CBP (*CREB-binding protein*, un coactivateur transcriptionnel) [6, 7]. D'autre part, le gène *PML* est lui-même activé par p53, agissant comme médiateur de son action antiproliférative [8]. Concernant l'implication des protéines Rb (Rb1/p105, Rb1/p107 et RbL2/p130), connues pour inhiber l'activité des facteurs de transcription E2F, il a été montré récemment que PML recrute les complexes Rb/E2F au sein des corps nucléaires, dans un environnement riche en hétérochromatine. La répression des gènes cibles d'E2F est requise pour l'implémentation de la sénescence par PML [9]. PML est considérée depuis longtemps comme un facteur jouant un rôle dans la régulation transcriptionnelle. Cependant, peu de gènes cibles directs de PML ont été identifiés et son mode de fonctionnement dans ce contexte est encore mal connu.

### PML inhibe le proto-oncogène *TBX2*

Afin de mieux comprendre son action dans la sénescence cellulaire, nous avons souhaité caractériser l'impact de PML sur l'expression des gènes associée à ce phénomène [10]. Nous avons pour cela établi le profil transcriptionnel de fibroblastes primaires humains soit en phase proliférative, soit après induction de la sénescence *via* la surexpression de PML-IV ou de l'oncogène Ras<sup>V12</sup> (sénescence prématurée) ou *via* leur culture prolongée (sénescence répliative). La comparaison de ces transcriptomes a permis de définir une liste de 262 gènes réprimés spécifiquement dans les trois cas de sénescence, parmi lesquels figure le gène *TBX2* (*T-box protein 2*). *TBX2* est un facteur de transcription dont la surexpression provoque l'immortalisation des fibroblastes embryonnaires murins en inhibant l'expression des gènes suppresseurs de tumeur *p15<sup>INK4b</sup>*, *p16<sup>INK4a</sup>*, *p21<sup>CIP</sup>* et *p19<sup>ARF</sup>*. *TBX2* coopère de plus avec des oncogènes dans la transformation cellulaire et retarde l'entrée en sénescence des fibroblastes primaires humains [11]. En rapport avec cette action, le gène *TBX2* est fréquemment surexprimé dans divers cancers tels que le mélanome, le cancer du poumon à petites cellules, ceux du sein, du pancréas, du foie et de la vessie [12]. Du fait de son rôle important dans l'oncogénèse, nous nous sommes intéressés plus particulièrement à *TBX2* dans le contexte de la sénescence induite par PML.

Nous avons tout d'abord établi que *TBX2* est un gène cible direct de PML-IV (et pas des autres isoformes PML). PML-IV



**Figure 1. PML et TBX2 agissent au sein d'une boucle de régulation contrôlant la sénescence cellulaire.** En conditions normales de prolifération cellulaire, la chromatine au niveau du promoteur du gène *TBX2* est transcriptionnellement active (représentée par la modification H3K4me3, triméthylation de la lysine 4 de l'histone 3) et *TBX2* est fortement exprimée. Par interaction protéique directe, *TBX2* séquestre PML loin de son promoteur et de celui de ses autres gènes cibles et inhibe ainsi l'action prosénescence de PML. Ce mécanisme, associé en situation pathologique à l'amplification du gène *TBX2* [11] et à la réduction de l'abondance de la protéine PML [13], favorise la tumorigénèse. En réponse à l'activation de facteurs tels que l'oncogène *Ras*<sup>V12</sup> ou *p53*, l'expression de PML augmente progressivement. La protéine PML s'associe au promoteur du gène *TBX2* en conjonction avec les facteurs *p130/E2F4* et induit l'établissement d'un environnement chromatinien inactif (représenté par la modification H3K27me3, triméthylation de la lysine 27 de l'histone 3). Ceci entraîne la répression puis l'extinction de l'expression de *TBX2* et la mise en place de la sénescence cellulaire.

réprime *TBX2* spécifiquement lors de la sénescence et non lors de la prolifération ou de la quiescence des cellules. *TBX2* est également un gène cible d'*E2F*. Le recrutement au niveau du promoteur *TBX2* de PML-IV, qui ne possède pas de domaine de liaison à l'ADN, requiert son interaction avec un complexe *p130/E2F4* fonctionnel, qui crée un environnement de chromatine transcriptionnellement inactive au niveau du promoteur (Figure 1). L'intégrité des corps nucléaires PML n'est pas requise pour l'inhibition de l'expression de *TBX2* et l'induction de la sénescence par PML-IV, mais elle favorise son association au promoteur *TBX2*. Nous avons de plus observé que PML contribue à l'inhibition de l'expression de *TBX2* lors de l'établissement de la sénescence par l'oncogène *Ras*<sup>V12</sup>. Les fibroblastes embryonnaires murins *PML*<sup>-/-</sup> présentent un niveau

constitativement élevé de *TBX2*, reflétant leur résistance à l'entrée en sénescence précédemment décrite [5]. La diminution de l'expression de *TBX2* dans les fibroblastes primaires humains est suffisante pour induire l'entrée des cellules en sénescence.

### Une boucle de régulation

Nous avons ensuite testé si la protéine *TBX2*, de même qu'elle est capable de retarder la sénescence répliquative [11], a un impact sur la sénescence induite par PML-IV. En effet, la surexpression de *TBX2* concomitante à celle de PML-IV abroge l'entrée des cellules en sénescence. *TBX2* entraîne une diminution de l'association de PML-IV au promoteur de *TBX2* et de *CDC6* (*cell division cycle 6*) et une augmentation de la transcription de ces gènes et de celle d'autres gènes cibles d'*E2F* réprimés par PML (*BUB1*,

*ORC6L*, *USP1*, *ASF1B*, *BRCA1*, *NEK2*, *CDC2* et *CCNA2*<sup>1</sup>). Cet antagonisme exercé par *TBX2* est dépendant de son domaine RD1 (*repression domain 1*), décrit comme un module d'interaction protéine-protéine. Nous avons montré que la protéine *TBX2* est capable de se lier à la protéine PML-IV endogène et que son domaine RD1 est le principal médiateur de cette association. Ceci suggère que *TBX2* interfère avec l'activité prosénescence de PML-IV par une interaction directe.

Notre étude a ainsi mis en lumière un nouveau gène cible direct de PML mis en jeu dans son action de suppresseur de tumeur et une boucle de régulation

<sup>1</sup> *BUB1* : budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog ; *ORC6L* : origin recognition complex, subunit 6 like ; *USP1* : ubiquitin specific peptidase 1 ; *ASF1B* : anti-silencing function 1 homolog B (*S. cerevisiae*) ; *BRCA1* : breast cancer 1 ; *NEK2* : never in mitosis gene a-related kinase 2 ; *CDC2* : cell division control gene 2, code pour Cdk1 une sérine/thrionine kinase ; *CCNA2* : cyclin A2.

dans laquelle PML et TBX2 interagissent pour contrôler l'induction de la sénescence cellulaire (Figure 1). La relation fonctionnelle entre TBX2 et PML dépend de leur abondance respective – inversement corrélées – et du contexte cellulaire. Un niveau élevé de TBX2 inhibe la fonction prosénescence de la protéine PML-IV en la séquestrant par interaction directe et en l'empêchant ainsi de se lier aux promoteurs de ses gènes cibles. Inversement, une augmentation du niveau de PML entraîne la répression de l'expression de TBX2. Dans le contexte de la sénescence, il est probable que d'autres facteurs que l'oncogène Ras et p53 [5, 6, 8], qui restent à découvrir, activent l'expression de PML. Dans le cas du cancer, il a été montré que la fonction de PML est fréquemment supprimée. Cette inhibition a lieu au niveau post-traductionnel : en effet, dans de nombreux cancers d'origines histologiques diverses, l'abondance de la protéine PML est fortement réduite alors que celle de

son ARNm reste intacte [13]. Le ciblage de PML vers la voie de dégradation fait ainsi pencher la balance vers une prolifération cellulaire illimitée. Il est fort probable que, hormis l'antagonisme de TBX2 rapporté ici, d'autres mécanismes suppriment l'action de la protéine PML et contribuent ainsi à la tumorigenèse. ♦ **A new player in PML-mediated cellular senescence: TBX2 gets into the loop**

#### CONFLIT D'INTÉRÊTS

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

#### RÉFÉRENCES

1. Kakizuka A, Miller WH Jr, Umesono K, et al. Chromosomal translocation t(15;17) in human acute promyelocytic leukemia fuses RAR alpha with a novel putative transcription factor, PML. *Cell* 1991 ; 66 : 663-74.
2. De Thé H, Lavau C, Marchio A, et al. The PML-RAR alpha fusion mRNA generated by the t(15;17) translocation in acute promyelocytic leukemia encodes a functionally altered RAR. *Cell* 1991 ; 66 : 675-84.
3. Brondello JM, Prieur A, Philippot D, et al. La sénescence cellulaire : un nouveau mythe de Janus ? *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 288-96.
4. Wang ZG, Delva L, Gaboli M, et al. Role of PML in cell growth and the retinoic acid pathway. *Science* 1998 ; 279 : 1547-51.
5. Ferbeyre G, de Stanchina E, Querido E, et al. PML is induced by oncogenic ras and promotes premature senescence. *Genes Dev* 2000 ; 14 : 2015-27.
6. Pearson M, Carbone R, Sebastiani C, et al. PML regulates p53 acetylation and premature senescence induced by oncogenic Ras. *Nature* 2000 ; 406 : 207-10.
7. Bischof O, Kirsh O, Pearson M, et al. Deconstructing PML-induced premature senescence. *EMBO J* 2002 ; 21 : 3358-69.
8. De Stanchina E, Querido E, Narita M, et al. PML is a direct p53 target that modulates p53 effector functions. *Mol Cell* 2004 ; 13 : 523-35.
9. Vernier M, Bourdeau V, Gaumont-Leclerc MF, et al. Regulation of E2Fs and senescence by PML nuclear bodies. *Genes Dev* 2011 ; 25 : 41-50.
10. Martin N, Benhamed M, Nacerddine K, et al. Physical and functional interaction between PML and TBX2 in the establishment of cellular senescence. *EMBO J* 2012 ; 31 : 95-109.
11. Jacobs JJ, Keblusek P, Robanus-Maandag E, et al. Senescence bypass screen identifies TBX2, which represses Cdkn2a (p19(ARF)) and is amplified in a subset of human breast cancers. *Nat Genet* 2000 ; 26 : 291-9.
12. Abrahams A, Parker MI, Prince S. The T-box transcription factor Tbx2: its role in development and possible implication in cancer. *IUBMB Life* 2010 ; 62 : 92-102.
13. Gurrieri C, Capodiceci P, Bernardi R, et al. Loss of the tumor suppressor PML in human cancers of multiple histologic origins. *J Natl Cancer Inst* 2004 ; 96 : 269-79.

## NOUVELLE

### Rôle des facteurs de transcription FoxO dans la maintenance des cellules souches

Pauline Rimmelé<sup>1</sup>, Xin Zhang<sup>1</sup>, Saghi Ghaffari<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup> Department of developmental and regenerative biology ;  
<sup>2</sup> Department of medicine division of hematology, oncology ;  
<sup>3</sup> Black Family Stem Cell Institute ;  
<sup>4</sup> Tisch Cancer Institute, Mount Sinai School of Medicine, 1425 Madison Avenue, New York, New York 10029, États-Unis.  
[saghi.ghaffari@mssm.edu](mailto:saghi.ghaffari@mssm.edu)

► Les avancées scientifiques dans le domaine des cellules souches ont favorisé les thérapies cellulaires visant à restaurer les fonctions d'un tissu ou d'un organe altérées par une pathologie ou par le vieillissement. Le remarquable potentiel thérapeutique des cellules souches est attribué à leurs deux propriétés majeures : l'autorenouvellement, qui désigne la capacité à se multiplier en donnant de nouvelles cellules souches, et la pluripotence, qui désigne la capacité à se différencier en tout type cellulaire d'un organisme. Ces dernières années, de nombreux

acteurs moléculaires gouvernant la destinée des cellules souches ont été identifiés et nourrissent l'espoir d'une médecine régénérative. Parmi eux, les facteurs de transcription FoxO se sont imposés comme des molécules critiques pour le maintien des propriétés des cellules souches.

#### Comprendre la maintenance des cellules souches, clé d'une perspective thérapeutique ?

Les cellules souches embryonnaires, dérivées de la masse cellulaire interne d'embryons au stade blastocyste, et

les cellules souches adultes, résidant dans la majorité des organes ou tissus adultes, constituent les deux grands types de cellules souches. Les cellules souches embryonnaires, pluripotentes, sont capables de se différencier en trois feuilletts embryonnaires : endoderme, mésoderme et ectoderme, et d'engendrer tous les tissus de l'organisme adulte. Pour des raisons scientifiques et éthiques, l'utilisation des cellules souches embryonnaires humaines (CSEh) est limitée. En revanche, les avancées dans l'identification de régulateurs