

Oncogenèse virale et instabilité génomique : la connexion centr(osom)ale

Viral oncogenesis and genomic instability: the centr(osom)al connection

Élodie Teruel^{1,2}

Henri Gruffat³

Massimo Tommasino⁴

Chloé Journo^{1,2}

¹ Centre international de recherche en infectiologie, Équipe oncogenèse rétrovirale, Inserm U1111, Université Claude-Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Université de Lyon, 46 allée d'Italie, 69007 Lyon, France

² Centre international de recherche en infectiologie, Équipe herpèsvirus oncogènes, Inserm U1111, Université Claude-Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Université de Lyon, 46 allée d'Italie, 69007 Lyon, France

³ Centre international de recherche en infectiologie, Équipe herpèsvirus oncogènes, Inserm U1111, Université Claude-Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Université de Lyon, 46 allée d'Italie, 69007 Lyon, France

⁴ Centre international de recherche sur le cancer, Groupe biologie des infections et cancer, 150 cours Albert-Thomas, 69008 Lyon, France

Résumé. À l'heure actuelle, plus de 10 % des cancers humains sont associés à une infection virale. L'étude des virus oncogènes a permis le développement de stratégies d'intervention clinique efficaces ainsi que l'élucidation fondamentale de processus altérés au cours de la transformation cellulaire. Cette dernière correspond à l'acquisition de caractéristiques cellulaires spécifiques incluant l'instabilité génomique, définie comme une fréquence élevée de mutations et de gains ou de pertes de chromosomes. Le centrosome est un organelle qui gouverne la ségrégation des chromosomes au cours de la mitose et qui constitue une plateforme de signalisation en aval de la détection des dommages à l'ADN. Dans cette revue, nous proposons une synthèse de la littérature démontrant le rôle du centrosome dans la perte de l'intégrité génomique induite par les virus oncogènes. Nous illustrons les mécanismes par lesquels les virus oncogènes interfèrent avec le cycle de duplication du centrosome et induisent son amplification, en nous attachant à dégager les mécanismes communs à diverses familles virales. Nous discutons également de la façon dont une altération par les virus oncogènes des fonctions de signalisation du centrosome pourrait contribuer à l'instabilité génomique des cellules infectées, tout en soulignant les lacunes bibliographiques qui pourraient être comblées par les recherches à venir.

Mots clés : virus oncogène, amplification du centrosome, cycle cellulaire, dommages à l'ADN, aneuploïdie

Abstract. Currently, more than 10% of human cancers are associated with viral infection. Studies on oncoviruses led to the development of clinical intervention strategies and elucidated fundamental cellular events altered upon cell transformation. Cancer cells exhibit several hallmarks including genomic instability, defined as a high frequency of mutations including gain or loss of chromosomes. The centrosome is an organelle that governs mitotic chromosome segregation and that functions as a signaling platform downstream of the DNA damage response. Here, we review the current literature to highlight how oncoviruses induce genomic instability *via* the deregulation of the centrosome. Viral interference with the centrosome duplication cycle, leading to centrosome amplification, is illustrated, with a special emphasis on mechanisms shared by several viral families. In addition, we discuss how oncoviruses could alter the signaling functions of the centrosome, and we comment on the bibliographic gaps that could be addressed by future research.

Key words: oncogenic viruses, centrosome amplification, cell cycle, DNA damage, aneuploidy

Introduction

En 1911, l'identification du virus du sarcome de Rous, le premier virus animal oncogène, a apporté le premier argument en faveur de l'implication d'agents infectieux dans le

Correspondance : C. Journo
<chloe.journo@ens-lyon.fr>

développement du cancer. Cette découverte a ouvert la voie à l'établissement du lien entre plusieurs infections virales et le développement du cancer chez l'homme. Ainsi, il y a plus de 50 ans, le virus d'Epstein-Barr (EBV) a été identifié comme le premier virus oncogène chez l'homme, à partir d'une lignée cellulaire dérivée d'un lymphome de Burkitt [1]. Il est désormais bien établi qu'environ 12 % des cancers humains sont causés par des virus oncogènes [2, 3]. Sept virus oncogènes humains ont été identifiés à ce jour. Parmi les virus oncogènes à ADN, EBV (également connu sous le nom d'herpèsvirus de type 4 [HHV-4]) est associé à des cancers hématologiques de type B et à des cancers épithéliaux. L'herpèsvirus associé au sarcome de Kaposi (KSHV, également connu sous le nom d'herpèsvirus de type 8 [HHV-8]) appartient également à la famille des *Herpesviridae* et a été identifié dans des sarcomes de Kaposi associés au syndrome d'immunodéficience acquise (sida) [2]. Le virus de l'hépatite B (HBV), l'un des agents étiologiques du carcinome hépatocellulaire, appartient à la famille des *Hepadnaviridae*. Environ 12 génotypes de papillomavirus humains (HPV, famille des *Papillomaviridae*) avec un tropisme pour les muqueuses épithéliales des tractus génitaux et respiratoires, appelés HPV à tropisme muqueux à haut risque cancérigène (HPV HR), ont été clairement associés à des cancers anogénitaux et à certains cancers oropharyngés. En particulier, HPV-16 et HPV-18 sont les sous-types les plus oncogènes ; ils sont détectés dans près de 50 % et 20 % des cancers cervicaux à travers le monde, respectivement [2, 3]. Le polyomavirus de Merkel (MCPyV) appartient à la famille des *Polyomaviridae* et est, à ce jour, le seul polyomavirus oncogène décrit chez l'homme [4].

D'autres virus oncogènes humains appartiennent à des familles de virus à ARN. C'est le cas du virus de l'hépatite C (HCV), identifié dans les années 1980 par l'analyse génétique d'échantillons issus de patients ayant développé, à la suite d'une transfusion sanguine, une hépatite virale non A, non B [5]. HCV appartient à la famille des *Flaviviridae* et est associé au développement de carcinomes hépatocellulaires. Le virus humain de la leucémie T (HTLV-1) appartient à la famille des *Retroviridae* et est l'agent étiologique de la leucémie ou du lymphome T de l'adulte (ATL) [6].

Depuis la moitié du xx^e siècle, les virologistes travaillant sur les virus oncogènes ont postulé que l'étude des interactions entre les virus oncogènes et les cellules infectées pourrait permettre de mieux comprendre le processus général de transformation cellulaire (pour revue, voir [7]). Les cellules cancéreuses présentent des caractéristiques spécifiques, telles qu'une progression aberrante du cycle cellulaire, une prolifération anarchique, une activation de la télomérase, une inhibition de l'apoptose, une reprogrammation métabolique et une instabilité génomique. Le centrosome, un organelle subcellulaire souvent défini comme le centre organisateur des microtubules (MTOC)

dans les cellules de mammifères, permet l'assemblage du fuseau mitotique au cours de la division cellulaire, et les défauts du centrosome sont intimement liés à la promotion de l'instabilité génomique (pour une revue détaillée des fonctions du centrosome, voir [8]). L'induction de l'instabilité génomique par les virus oncogènes a été décrite en détail dans plusieurs revues (voir par exemple [9]). Ici, nous analyserons plus particulièrement le rôle du centrosome dans la perte d'intégrité génomique induite par les virus oncogènes. Nous nous intéresserons notamment à l'interférence exercée par les virus sur le cycle de duplication du centrosome et, par conséquent, sur la ségrégation des chromosomes au cours de la division cellulaire. Au cours des dix dernières années, le centrosome est également apparu comme un centre intégrateur de signaux activés en réponse à la détection de dommages à l'ADN. Nous discuterons donc également des mécanismes par lesquels les virus oncogènes pourraient altérer les fonctions du centrosome dans le contexte de la réponse aux dommages à l'ADN.

Une brève introduction à la structure et à la dynamique du centrosome

Le centrosome est composé de deux centrioles orthogonaux, de 500 nm de longueur et 250 nm de largeur, appelés respectivement centrioles père et fils. Ces centrioles sont entourés d'une matrice de protéines appelée matériel péri-centriolaire (PCM, *figure 1*). À l'extrémité proximale, un centriole présente neuf triplets de microtubules organisés en cylindre. Le centriole père est une structure mature comportant des appendices distaux et sub-distaux, impliqués dans l'ancrage des microtubules, tandis que le centriole fils est une structure immature, sans appendice. La fonction de MTOC assurée par le centrosome repose sur la capacité du PCM d'initier la nucléation des microtubules sur des structures cylindriques appelées γ -TuRC (*γ -tubulin ring complexes*). Jusque récemment, le PCM était considéré comme une matrice protéique amorphe, mais de récentes études exploitant des techniques de microscopie super-résolutive telles que la 3D-SIM (*3D-structured illumination microscopy*) ont montré que le PCM est en fait une matrice organisée de protéines en interaction dynamique [10-12].

Avec les chromosomes, le centrosome est la seule structure cellulaire à être dupliquée et ségrégée de façon précise au cours du cycle cellulaire. Comme la réplication de l'ADN, la duplication du centrosome est un processus semi-conservatif qui se déroule une fois par cycle cellulaire et dont la régulation est étroitement liée à la progression du cycle cellulaire. Ainsi, une cellule qui entre en mitose présente deux centrosomes distincts, qui migrent aux pôles de la cellule et induisent la formation d'un fuseau mitotique bipolaire. Lors de la mitose, les deux centrosomes sont

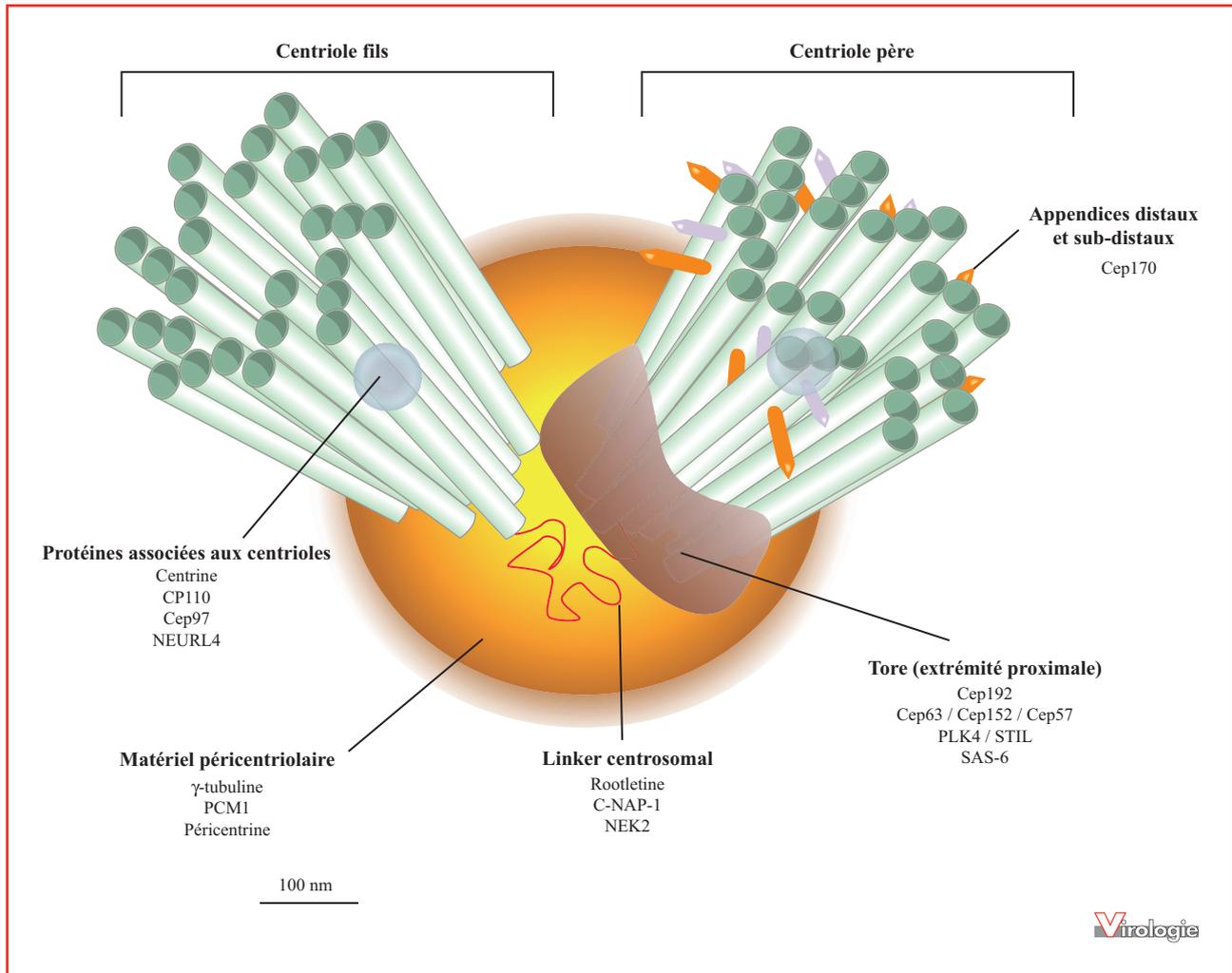


Figure 1. La structure du centrosome. Le centrosome est composé de deux centrioles orthogonaux (en vert), chacun composé de neuf triplets de microtubules. Contrairement au centriole fils (ici à gauche), le centriole père (à droite) présente des appendices à son extrémité distale qui sont impliqués dans l'ancrage des microtubules (non représentés). Les deux centrioles sont liés par un *linker* centrosomal (en rouge) composé de rootletine et de C-NAP-1 et régulé par NEK2, et sont entourés d'une matrice protéique bien organisée appelée matériel péricentriolaire (gradient du jaune au marron). La nucléation des procentrioles repose sur l'assemblage séquentiel de Cep192, Cep63, Cep152, Cep57, PLK4, STIL et SAS-6 à l'extrémité proximale du centriole père (tore, en rouge sombre). Certaines protéines associées aux centrioles sont représentées sous forme de sphères bleues. Pour des raisons de clarté, les satellites centriolaires ont été omis.

ségrégés de façon équitable et chaque cellule fille comporte alors un seul centrosome (*figure 2*).

Le processus de duplication du centrosome est initié par la dissociation des centrioles père et fils, qui perdent leur orientation orthogonale. Cette étape appelée « désengagement des centrioles » est nécessaire à la nucléation de nouveaux procentrioles. L'étape de désengagement des centrioles est ainsi considérée comme un point de contrôle autorisant la duplication suivante. Le mécanisme est initié en fin de phase M/début de phase G1 par deux protéines régulatrices importantes du cycle cellulaire, la kinase mitotique PLK1 et la protéase séparase, qui contrôlent également le

désassemblage du PCM mitotique (*figure 2*, étape 1). La séparation des centrosomes est également sous le contrôle de la kinase de phase G1/S CDK2, activée par les cyclines A et E. Dans ce processus, la nucléophosmine (NPM1) a été identifiée comme un substrat de CDK2 [13], qui en retour active ROCK II, un effecteur de la petite GTPase Rho, et promeut ainsi la séparation des centrioles [14].

Après leur désengagement, les centrioles restent connectés pendant l'interphase par leur extrémité proximale, *via* un *linker* centrosomal composé de rootletine et de C-NAP-1. Chacun des centrioles ainsi désengagé nucléé alors un nouveau procentriole (*figure 2*, étape 2). Les procentrioles

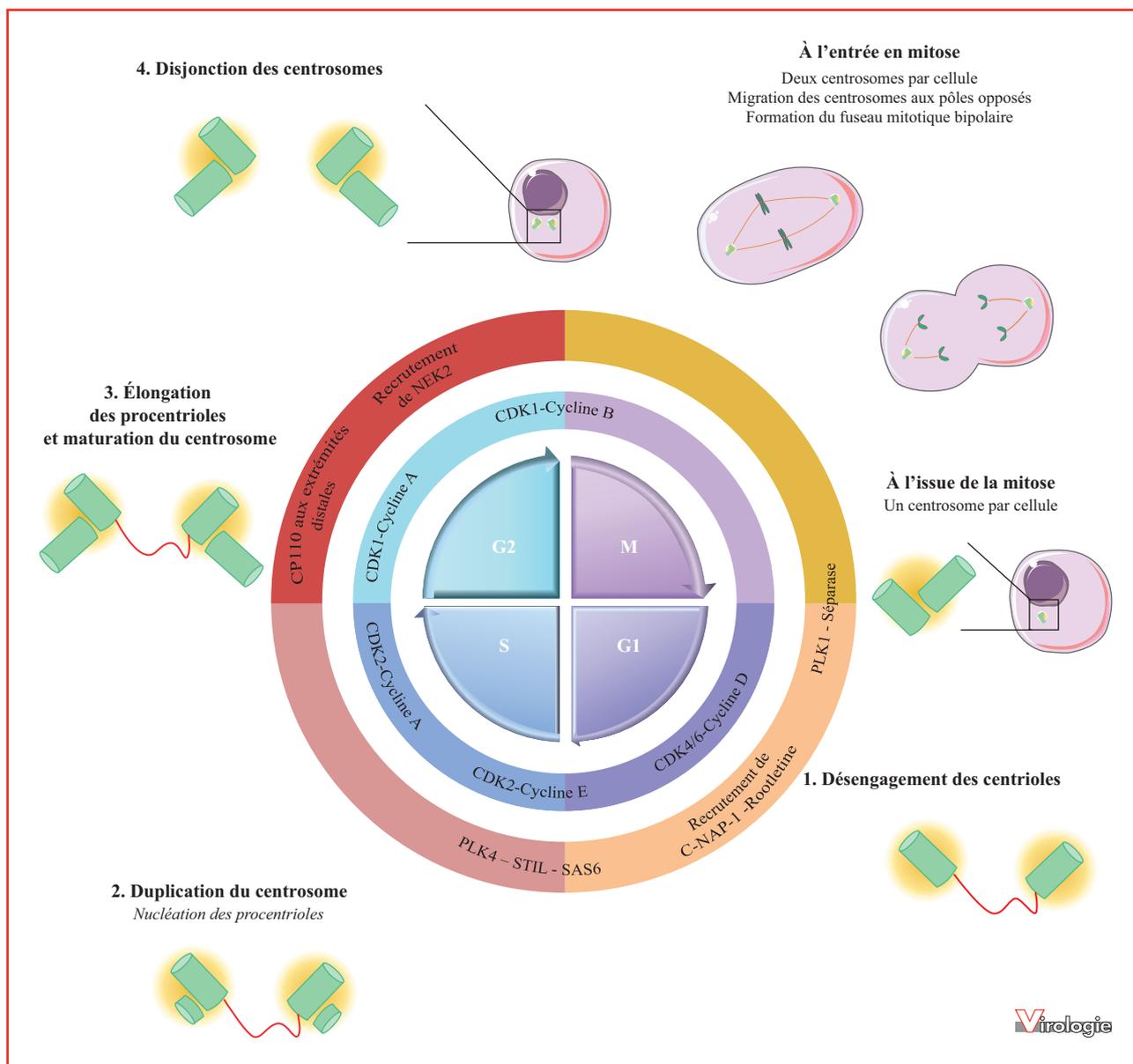


Figure 2. Le cycle de duplication du centrosome. À l'issue de la mitose, chaque cellule fille comporte un centrosome. La duplication du centrosome débute en fin de phase M/début de phase G1 par le désengagement physique des deux centrioles (étape 1), qui restent liés par le *linker* (en rouge). Tandis que la réplication de l'ADN se déroule au cours de la phase S, la duplication du centrosome à proprement parler commence avec la nucléation d'un procentriole à l'extrémité proximale de chaque centriole père (étape 2). L'élongation des centrioles se déroule en phase G2, tandis que la maturation des centrosomes (représentée par la coloration jaune à orange) commence en G2 et se poursuit en phase M (étape 3). En fin de phase G2, les centrosomes dupliqués subissent une disjonction (étape 4) et migrent aux pôles opposés de la cellule pour former le fuseau mitotique bipolaire en phase M (fond violet). Les principaux régulateurs moléculaires du cycle de duplication du centrosome (cercle externe) ainsi que les complexes CDK/cycline actifs au cours de la progression du cycle cellulaire (cercle interne) sont précisés.

sont orientés de façon orthogonale à leur centriole père et sont allongés pendant les phases S et G2, jusqu'à ce que leur taille atteigne celle des centrioles pères (figure 2, étape 3). Le contrôle de la duplication unique du centrosome à

chaque cycle cellulaire implique une régulation précise des différents acteurs qui agissent séquentiellement à l'extrémité proximale des centrioles pères pour promouvoir la nucléation des procentrioles, comme Cep192,

Cep63, Cep152, Cep57, PLK4, STIL et SAS-6 (représentés sous forme de tore sur la *figure 1*, voir [15] pour une revue récente). Il est intéressant de noter que les niveaux d'expression de ces protéines régulatrices, et en particulier ceux de PLK4, STIL et SAS-6, sont étroitement contrôlés par le système ubiquitine/protéasome. Par exemple, le facteur SAS-6 est un substrat du complexe E3 ubiquitine ligase SCF^{FBXW5}. L'activité de SCF^{FBXW5} est inhibée par PLK4, ce qui résulte en la stabilisation de SAS-6 et à l'induction de la nucléation de procentrioles. Une fois les procentrioles nucléés, l'ubiquitination de PLK4 par le complexe E3 ubiquitine ligase SCF^{B-TrCP}, suivie par la dégradation de PLK4, lève l'inhibition de l'activité de SCF^{FBXW5} et déclenche la dégradation de SAS-6, limitant ainsi la sur-duplication des centrioles. Ces régulateurs centraux coopèrent avec une série de protéines pour assurer le cycle de duplication du centrosome et la formation de MTOC fonctionnels. Par exemple, CP110, une protéine centrosomale localisée aux extrémités distales des centrioles (*figure 1*), est nécessaire à l'élongation des centrioles (pour revue, voir [16]) et promeut la formation de MTOC ectopiques lorsqu'elle est sur-exprimée, ce qui peut mener à la mise en place de fuseaux mitotiques aberrants. Dans les cellules normales, l'activité de CP110 est contre-balançée par l'E3 ubiquitine ligase NEURL4 qui ubiquitine CP110 et induit ainsi sa dégradation par le protéasome [17].

Lors de la progression du cycle cellulaire vers la phase M, les centrosomes dupliqués recrutent des constituants du PCM dont le volume augmente alors considérablement. Ce processus est appelé « maturation des centrosomes » (*figure 2*, étape 3). Ce PCM mitotique permettra ensuite la formation du fuseau mitotique en phase M. En fin de phase G2, la kinase NEK2 (*NIMA-related kinase*) promeut la disjonction des centrosomes en phosphorylant la rootetine et C-NAP-1 qui se dissocient alors des centrosomes (*figure 2*, étape 4). Suite à leur disjonction, les deux centrosomes se séparent à la transition G2/M et participent à la formation du fuseau mitotique bipolaire.

Un développement récent dans la compréhension de la structure et de la dynamique du centrosome a été permis par la description détaillée des satellites centriolaires, définis comme des structures non membranaires, denses aux électrons, de 70 à 100 nm de diamètre, localisées à proximité du centrosome (pour une revue récente, voir [18]). Le constituant principal des satellites, et le premier à avoir été décrit, est la protéine PCM1 (*pericentriolar material 1*), qui fonctionnerait comme un échafaudage moléculaire de ces structures. Cependant, plus d'une centaine de protéines ont maintenant été identifiées comme des protéines satellites. Expérimentalement, il est possible d'induire une perte de l'intégrité des satellites, comme par exemple leur disparition, leur dispersion, leur réduction ou leur accumulation, et de tels défauts ont également été associés à des

situations pathologiques. De façon intéressante, les satellites centriolaires sont impliqués dans le stockage transitoire de constituants du centrosome comme Cep63 et Cep152, et dans leur transport vers le centrosome au cours de la duplication, indiquant que les satellites centriolaires seraient des régulateurs actifs du cycle de duplication du centrosome.

L'amplification des centrosomes : un pas vers l'instabilité génomique

L'instabilité chromosomique, définie comme le gain ou la perte de chromosomes ou de fragments de chromosomes, conduit à l'aneuploïdie. Elle constitue un aspect important de l'instabilité génomique : la plupart des tumeurs solides et plus de 75 % des cancers hématologiques sont aneuploïdes [19]. Il y a plus d'un siècle, Théodore Boveri a proposé l'hypothèse selon laquelle l'aneuploïdie pourrait être la conséquence de l'amplification des centrosomes [20], hypothèse qui a été validée depuis (pour une revue, voir [21]). De façon remarquable, une étude récente de Levine *et al.* a montré que l'amplification des centrosomes était suffisante pour induire l'initiation de la tumorigenèse dans un modèle murin transgénique, indépendamment de toute autre altération génétique supplémentaire [22]. Ces observations ont permis de démontrer que l'amplification des centrosomes pouvait être un moteur de la tumorigenèse chez la souris par la promotion de l'instabilité chromosomique. Une cellule qui possède plus de deux centrosomes au début de la mitose peut former un fuseau mitotique multipolaire qui conduit à la mauvaise ségrégation des chromosomes et à la production de cellules filles hautement aneuploïdes et non viables, par un processus appelé « catastrophe mitotique » (*figure 3*, à gauche). Cependant, le regroupement des centrosomes surnuméraires (appelé en anglais *centrosome clustering*) peut autoriser la formation d'un fuseau dit pseudobipolaire, ce qui induit un taux modéré de figures mitotiques anormales, sous la forme de ponts anaphasiques ou de chromosomes retardataires (*figure 3*, à droite), aboutissant à la formation de micro-noyaux dans les cellules filles. On considère que ces niveaux modérés d'instabilité chromosomique sont compatibles avec l'émergence de clones cellulaires transformés, ce qui ferait du regroupement des centrosomes une stratégie adaptative permettant aux cellules comportant des centrosomes surnuméraires de progresser sur la voie de la transformation cellulaire (pour des revues, voir [23, 24]).

Dans les cellules cancéreuses, l'amplification des centrosomes est généralement liée à la dérégulation du cycle de duplication du centrosome. Ainsi, la sur-expression de PLK4 induit une sur-duplication aberrante des centrioles dans les embryons de *Drosophila* [25]. Cela a été confirmé *in vivo* dans des modèles murins (voir par exemple

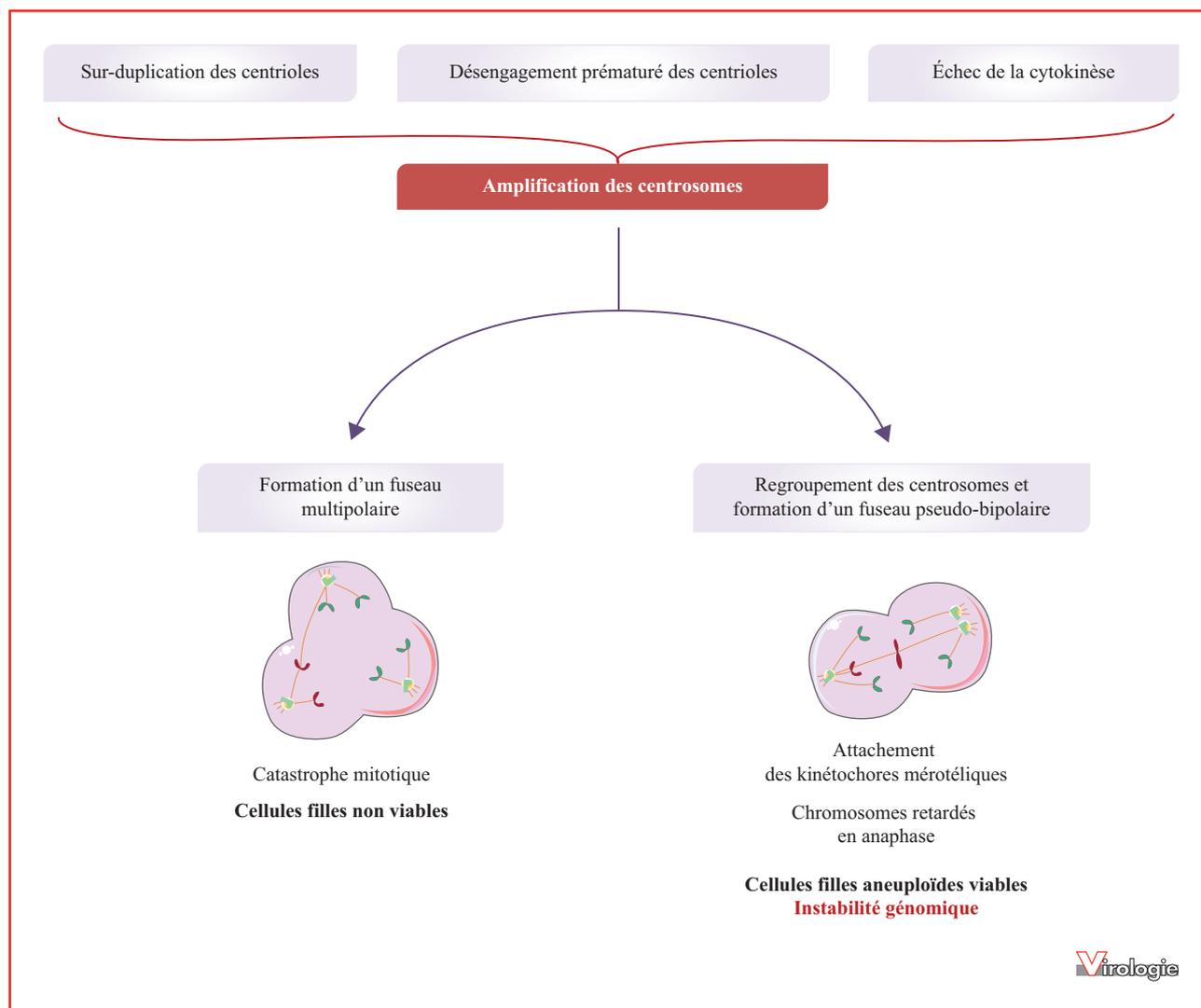


Figure 3. De l'amplification des centrosomes à l'instabilité génomique. L'amplification des centrosomes peut résulter de la sur-duplication des centrioles, du désengagement prématuré des centrioles ou de l'échec de la cytokinèse. L'amplification des centrosomes peut conduire à des divisions multipolaires et à des catastrophes mitotiques. Le regroupement des centrosomes permet la formation de divisions pseudobipolaires responsables de l'induction de taux modérés d'aneuploïdie compatibles avec la viabilité cellulaire.

[22, 26]), ainsi que dans des cellules humaines, dans lesquelles PLK4 coopère avec CDK2 et SAS-6 pour la sur-duplication des centrioles [27]. En outre, l'amplification des centrosomes peut être une conséquence du désengagement prématuré des centrioles. Par exemple, des expériences d'arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M ont montré un taux élevé de désengagement des centrioles et de fragmentation des centrosomes, par un processus dépendant d'APC/C et de la séparase [28]. L'amplification des centrosomes peut également être une conséquence indirecte de défauts du cycle cellulaire comme l'échec de la cytokinèse [29], qui aboutit à des cellules polyploïdes possédant des centrosomes surnuméraires.

Il est intéressant de noter que le suppresseur de tumeur p53 limite la sur-duplication du centrosome [30, 31], mais bloque également la prolifération et/ou induit l'apoptose des cellules polyploïdes ainsi que des cellules comportant des centrosomes surnuméraires [22, 29, 32, 33], par un mécanisme dépendant du PIDDosome et de la caspase-2 [34]. La perte de la fonction de p53, qui est une caractéristique commune des cellules cancéreuses, peut ainsi favoriser l'apparition et le maintien de centrosomes surnuméraires et peut entrer en synergie avec une amplification des centrosomes (induite par exemple par la sur-expression de PLK4) pour induire la tumorigenèse [35, 36]. De fait, bien que Levine *et al.* n'ont pas montré d'altération génétique de

p53 au cours de la tumorigenèse induite par l'amplification des centrosomes, ils ont observé une diminution de l'expression des gènes cibles de p53, indiquant que l'altération de la voie p53 pouvait être nécessaire à la tumorigenèse induite par l'amplification des centrosomes [22].

Les virus oncogènes et l'amplification des centrosomes

Action directe de protéines virales sur la duplication du centrosome

L'amplification des centrosomes a été associée à l'infection par plusieurs virus oncogènes. Certains virus induisent l'amplification des centrosomes en dérégulant directement la fonction de protéines impliquées dans le cycle de duplication du centrosome. Par exemple, l'expression de l'oncoprotéine E7 des HPV HR induit l'amplification des centrosomes. Une première étude a mis en évidence une amplification des centrosomes au sein de lésions cervicales pré-invasives et invasives associées à HPV, et a démontré que la protéine E7 d'HPV-16 stimule la sur-duplication des centrioles dans des kératinocytes humains normaux [37]. Une seconde analyse de lésions cervicales pré-invasives et invasives a confirmé ces données et a montré que la fréquence des cellules présentant des centrosomes surnuméraires augmentait avec la sévérité des lésions associées à HPV [38]. Les études mécanistiques ont ensuite démontré que E7 induit la sur-duplication des centrioles en activant la transcription des gènes codant la cycline A et PLK4, et en favorisant l'activation aberrante de PLK4 par le complexe CDK2/cycline E (*figure 4*) [39-43]. On observe alors le recrutement d'un nombre aberrant de points de PLK4 au niveau des centrioles pères, ce qui autorise la nucléation de multiples pro-centrioles [43]. De façon remarquable, un phénotype similaire de sur-duplication des centrioles est observé lors de l'expression de l'antigène sT (*small T*) de MCPyV (*figure 4*), qui est suffisant pour l'induction de centrosomes surnuméraires dans les cellules de la lignée NIH3T3 et dans les fibroblastes humains, et pour l'induction de l'aneuploïdie dans des souris transgéniques [44]. Cette propriété de sT repose sur l'inhibition de complexes E3 ubiquitine ligases tels que SCF^{FBXW7} et SCF^{β-TrCP} [44]. Ces E3 ligases ciblent plusieurs régulateurs clés de la duplication des centrosomes, dont la cycline E et PLK4, vers la dégradation par le protéasome. Ainsi, HPV et MCPyV partagent la capacité d'induire la sur-duplication des centrioles en activant de façon aberrante PLK4, bien qu'ils exploitent, pour ce faire, des mécanismes moléculaires distincts.

Les HPV HR semblent également interférer avec le cycle de duplication du centrosome *via* le complexe HUN (HERC2, UBE3A et NEURL4) [45]. En effet, l'ubiquitine

ligase UBE3A, aussi connue sous le nom de E6AP (*E6-associated protein*), a été identifiée initialement comme une cible des protéines E6 des HPV HR exploitée par ces virus pour induire l'ubiquitination et la dégradation de p53. L'analyse du réseau d'interaction d'UBE3A a mis en évidence plusieurs protéines centrosomales telles que CEP97, CEP170 et NEURL4 elle-même [45]. Le fait qu'HPV puisse détourner le complexe HUN pour induire l'amplification des centrosomes a été suggéré, mais cela doit encore être établi de façon claire. La protéine E6 des HPV HR pourrait en effet induire la dégradation de NEURL4 par l'intermédiaire d'UBE3A, ce qui résulterait en la stabilisation de CP110 et en la possible formation de MTOC ectopiques. Par ailleurs, E7 d'HPV-16 est physiquement associée aux centrosomes et y altère le recrutement du PCM [46], suggérant que E7 pourrait également altérer directement la structure du centrosome.

L'amplification des centrosomes par interférence directe avec le cycle de duplication est aussi une caractéristique de l'oncogenèse induite par HTLV-1 (pour une revue, voir [47]). En effet, l'expression de la protéine Tax d'HTLV-1 induit l'amplification des centrosomes [48]. Des altérations de la morphologie des centrosomes, telles qu'un aspect fragmenté de la protéine péricentrique, un constituant du PCM, sont également souvent observées dans les cellules exprimant Tax [49]. Tax active de façon constitutive CDK2 (*figure 4*), suggérant que, de façon similaire à E7 une activité de CDK2 dérégulée par Tax pourrait contribuer à la sur-duplication du centrosome dans les cellules infectées par HTLV-1. En outre, Tax cible la protéine centrosomale TAX1BP2, une isoforme d'épissage de la rootletine [50]. Cela indique que Tax pourrait altérer les fonctions de TAX1BP2/rootletine pour contourner les contrôles cellulaires de la duplication du centrosome (*figure 4*).

Action indirecte de protéines virales sur la signalisation en amont de la duplication du centrosome

HBV code deux oncoprotéines virales, HBx et l'antigène de surface LHBs. Ce dernier est souvent muté dans la région pré-S2 chez les patients atteints de carcinome hépatocellulaire. Deux études indépendantes ont montré que l'expression d'HBx *in vitro* résulte en une fréquence accrue de cellules présentant un nombre anormal de centrosomes, en corrélation avec la formation de fuseaux mitotiques aberrants et la mauvaise ségrégation des chromosomes, ce qui aboutit à l'augmentation du taux de cellules aneuploïdes [51, 52]. Les cellules exprimant HBx présentent un cycle de duplication du centrosome dérégulé du fait de l'activation par HBx de la voie Ras-MEK-ERK qui contrôle en amont le cycle cellulaire [52]. Par ailleurs,

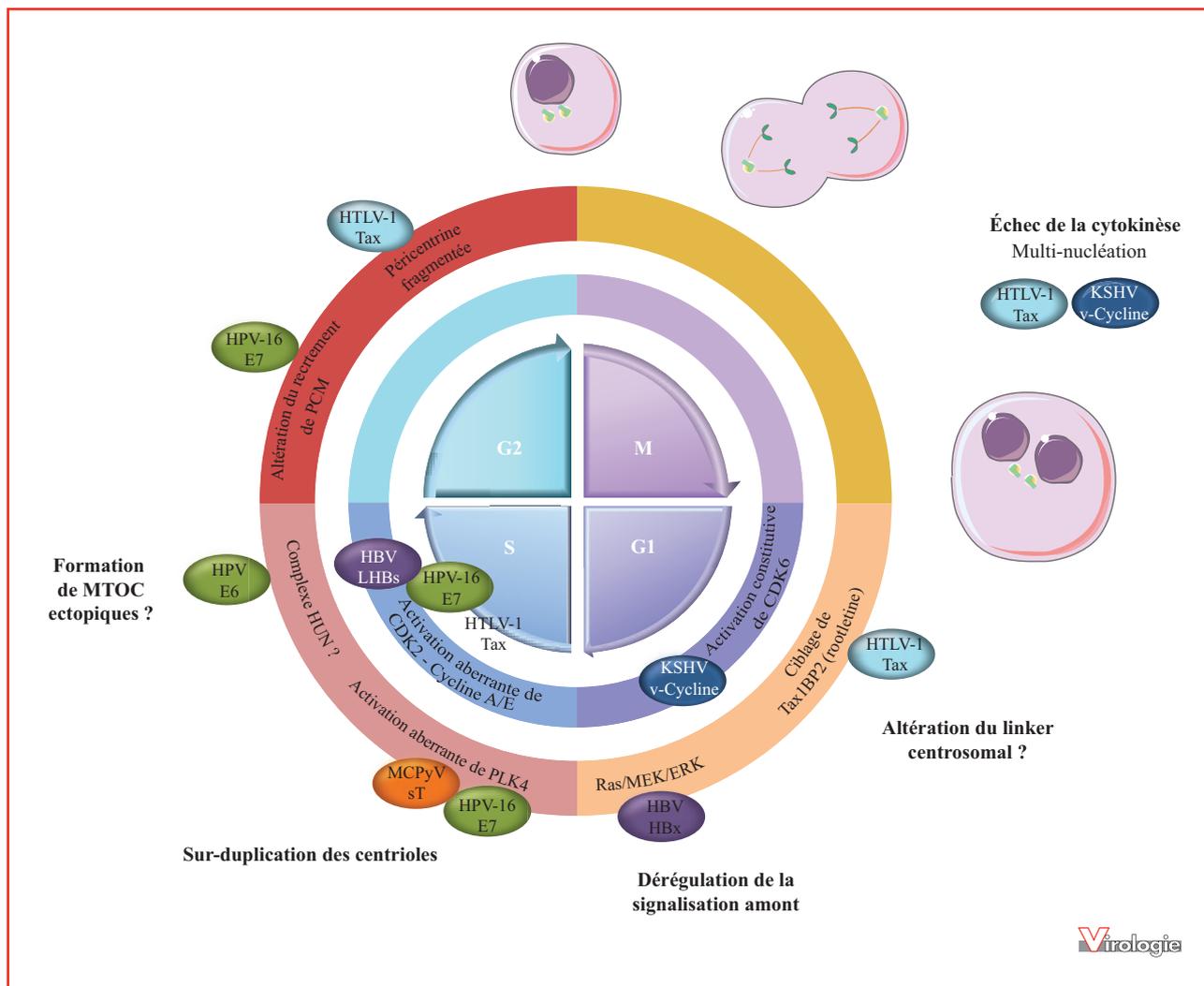


Figure 4. L'amplification des centrosomes induite par les virus oncogènes. Les virus oncogènes induisent l'amplification des centrosomes par la dérégulation directe ou indirecte des complexes CDK/cycline de contrôle du cycle cellulaire (cercle interne) et de régulateurs du cycle de duplication du centrosome (cercle externe), ou en interférant avec la cytokinèse. Des exemples d'oncoprotéines virales induisant l'amplification des centrosomes sont inclus pour illustrer les cibles partagées et spécifiques des virus oncogènes.

il a été montré que l'expression de la forme de LHBs mutée dans la région pré-S2 induisait la sur-duplication du centrosome par un mécanisme dépendant de la réponse au stress du réticulum endoplasmique (RE) et de l'augmentation de la concentration intracellulaire en calcium [53]. Le stress du RE conduit en effet au clivage de la cycline A par la calpaïne, et cette forme tronquée de la cycline A, qui interagit toujours avec CDK2, induirait la sur-duplication du centrosome (*figure 4*) [53]. Le rôle du stress du RE dans l'amplification du centrosome induite par d'autres stimulations oncogènes (associées ou non à des infections par des virus oncogènes) constitue une piste intrigante qui appelle à des analyses complémentaires.

Action indirecte de protéines virales sur la cytokinèse

L'amplification indirecte des centrosomes suite à l'échec de la cytokinèse a également été décrite dans le contexte des infections par des virus oncogènes. La protéine Tax d'HTLV-1 interagit avec la protéine cellulaire MAD1, qui joue un rôle dans le point de contrôle de l'assemblage du fuseau mitotique. Cette interaction de Tax avec MAD1 conduit à la perte de la fonction de MAD1 et à l'apparition de cellules multi-nucléées [54]. Parce que MAD1 pourrait faire le lien entre la mitose et la cytokinèse, l'inhibition fonctionnelle de MAD1 par Tax pourrait à la fois inhiber le point de contrôle de l'assemblage du

fuseau mitotique et conduire à l'échec de la cytokinèse, qui pourrait alors contribuer à l'amplification des centrosomes observée dans les cellules exprimant Tax. KSHV induit une instabilité chromosomique par le biais de l'expression de la protéine virale v-cycline, un analogue viral de la cycline D2 qui interagit avec CDK6 [55]. La v-cycline promeut la transition G1/S et autorise la réplication de l'ADN tout en bloquant la cytokinèse (figure 4). L'expression de la v-cycline conduit donc à la polyploïdisation et à une amplification des centrosomes associée à une multi-nucléation. Ce processus nécessite l'expression de CDK6 et de son substrat NPM1 [32, 56-58]. De façon cohérente avec ces observations réalisées dans des cellules exprimant la v-cycline, une amplification des centrosomes associée à une multi-nucléation a été confirmée dans des cellules endothéliales primaires infectées par KSHV [58, 59].

Ces exemples illustrent une question longtemps débattue dans le champ de la biologie du centrosome et du cancer : les défauts du centrosome sont-ils une cause ou une conséquence des aberrations mitotiques qui contribuent à l'instabilité génomique ? Comme illustré ici, des défauts mitotiques primaires conduisent secondairement à une amplification des centrosomes, qui peut ensuite amplifier les défauts mitotiques en générant des fuseaux mitotiques multipolaires ou pseudobipolaires. Comme les virus oncogènes perturbent très souvent de multiples processus qui coopèrent pour le contrôle du cycle cellulaire, il reste difficile d'établir clairement si les défauts du centrosome sont une force motrice au cours de l'oncogenèse virale ou s'ils apparaissent de façon secondaire.

La coopération entre l'amplification du centrosome et la perte des fonctions de p53 au cours de l'infection par les virus oncogènes

Comme mentionné plus haut, la perte des fonctions de p53 entre en synergie avec l'amplification des centrosomes au cours de la tumorigenèse. De façon remarquable, c'est par son interaction avec l'oncoprotéine virale LT (*large T*) de SV40 que p53 a été initialement identifiée en 1979 [60, 61], et les inter-relations entre les virus oncogènes et les fonctions de p53 ont maintenant été décrites en détail (pour une revue récente sur les virus oncogènes humains et p53, voir [62]). Par exemple, plusieurs oncoprotéines virales partagent la capacité d'induire la dégradation de p53, comme la protéine LANA de KSHV, la protéine E6 des HPV HR, et la protéine BZLF1 d'EBV. D'autres oncoprotéines virales inhibent l'activité transcriptionnelle de p53, comme les protéines E6 et E7 des HPV HR, la protéine Tax d'HTLV-1 et la protéine HBx d'HBV. Toutefois, l'implication de la perte de fonction viro-induite de p53 dans la génération et le maintien de cellules présentant un nombre anormal de centrosomes n'a pas été analysée de façon systématique. Un

des exemples les plus convaincants de la coopération entre l'amplification du centrosome et la perte des fonctions de p53 au cours de l'infection par les virus oncogènes est celui de KSHV, pour qui il a été démontré que l'amplification des centrosomes consécutive à la multi-nucléation était potentialisée par la perte de fonction de p53 [32, 56-58]. L'hypothèse selon laquelle l'amplification des centrosomes dans les lésions associées aux HPV HR serait consécutive à l'inactivation fonctionnelle de p53 a également été proposée [38], mais la démonstration formelle est rendue difficile par le fait que l'inactivation de p53 et l'amplification des centrosomes constituent des propriétés chevauchantes des oncoprotéines d'HPV [63]. Bien que la capacité d'HBx d'induire des centrosomes surnuméraires a été comparée dans des cellules WT et déficientes pour p53, les résultats rapportés sont peu clairs et les expériences devraient être reproduites [51]. Ainsi, délimiter l'implication de la perte de fonction de p53 dans l'amplification des centrosomes et dans l'induction ou le maintien de l'aneuploïdie induite par les virus oncogènes demeure un challenge pour la recherche à venir.

Identification de nouveaux régulateurs de l'organisation du centrosome et de sa dynamique par l'analyse des virus oncogènes

L'étude de l'impact des virus oncogènes sur l'amplification des centrosomes a aussi contribué à la compréhension des mécanismes régulateurs à l'œuvre dans les cellules non infectées. Un exemple d'une telle contribution est celui de l'identification du rôle du réseau de la GTPase Ran dans l'organisation du centrosome et dans le contrôle de sa dynamique. Il a en effet été montré que l'oncoprotéine HBx d'HBV interférait avec la voie d'export nucléaire dépendant de Crm1/Ran en séquestrant Crm1 dans le cytoplasme. Il a ensuite été suggéré que cela serait lié de façon causale à l'amplification des centrosomes induite par HBx, puisqu'un mutant d'HBx incapable de séquestrer Crm1 n'induisait pas d'amplification des centrosomes [51]. De façon remarquable, une fraction de Crm1 mais aussi de Ran est localisée au centrosome dans les cellules non infectées, et l'inhibition des fonctions de Crm1/Ran dans les cellules non infectées conduit à des aberrations du centrosome sous la forme de minicentrioles surnuméraires ne comportant pas de PCM, ou de centrioles anormalement allongés [51]. Ainsi, l'hypothèse a été formulée selon laquelle la voie Crm1/Ran contribuerait à limiter l'amplification des centrosomes. Parce que cette voie était connue pour son rôle dans le transport nucléo-cytoplasmique de facteurs cellulaires, certains auteurs ont suggéré que la régulation précise par Crm1/Ran du transport nucléo-cytoplasmique de certains régulateurs, tels que NPM1 ou la cycline B, pourrait être un aspect critique du contrôle de la duplication du centrosome

(pour une revue, voir [64]). La centrine et la péricentrine sont aussi prises en charge par la voie Crm1/Ran [65], indiquant que cette voie pourrait également contrôler le transport nucléo-cytoplasmique de constituants majeurs du centrosome.

Par ailleurs, Ran est également impliquée dans le contrôle de la mitose, indépendamment de ses fonctions dans le transport nucléo-cytoplasmique. En effet, il a été montré que Ran contrôle la formation des asters et du fuseau mitotique en modulant les fonctions de facteurs d'assemblage du fuseau tels que TPX2 et NuMA, selon le modèle dit « en gradient ». Dans ce modèle, la forme active de Ran, associée au GTP, est générée à proximité de la chromatine et est convertie en une forme inactive, associée au GDP, en même temps qu'elle s'éloigne de la chromatine par diffusion, mettant ainsi en place un gradient de Ran-GTP qui peut constituer une information de position pour l'assemblage du fuseau autour des chromosomes (pour une revue, voir [66]). En lien avec ces fonctions de Ran, la sur-expression de RanBP1, un régulateur essentiel de Ran, a été associée à la formation de fuseaux multipolaires avec des pôles ne comportant qu'un centriole [67], résultant du désengagement précoce des centrioles en cours de mitose.

Des interactions entre Ran et des protéines de virus oncogènes chez l'homme ou chez l'animal, à savoir la protéine E7 des HPV HR, la protéine E1A de l'adénovirus et l'antigène LT de SV40, ont été décrites et associées à l'amplification des centrosomes [68]. De même, la protéine Tax d'HTLV-1 interagit avec RanBP1 au niveau des centrosomes mitotiques [49]. Ainsi, ces observations conduites dans le contexte de l'étude des virus oncogènes renforcent l'idée selon laquelle le réseau de la GTPase Ran participe au contrôle de la dynamique du centrosome et à l'organisation des centrosomes mitotiques, et serait une cible conservée de plusieurs oncoprotéines virales (pour une revue, voir [69]).

Les virus oncogènes présentant une action supposée sur l'amplification des centrosomes

L'induction de l'instabilité génétique associée à des altérations du centrosome n'a pas été analysée en profondeur pour les virus oncogènes EBV et HCV. Dans une première étude, il a été montré que l'enzyme thymidine kinase (TK) codée par EBV était localisée au centrosome, mais la signification fonctionnelle de cette observation est restée inconnue [70]. Une amplification des centrosomes a toutefois été décrite récemment *in vitro* dans des lymphocytes B infectés par EBV et *in vivo* dans un modèle murin d'infection par EBV [71]. Dans cette étude, la protéine structurale BNRF1 d'EBV, qui est connue pour son rôle d'inhibition des défenses cellulaires intrinsèques par le

biais de son interaction avec la protéine nucléaire DAXX [72], a été observée au centrosome et a été montrée comme suffisante pour induire une amplification des centrosomes. Cependant, son mécanisme d'action n'a pas été caractérisé. Des centrosomes surnuméraires ont aussi été observés dans des cellules exprimant la protéine NS5A de HCV, qui subissent également un retard à la sortie de mitose. Ceci indique que l'amplification des centrosomes pourrait être une conséquence de l'interférence de NS5A avec la régulation mitotique [73], comme ce qui est décrit dans le cas de la protéine v-cycline de KSHV. Cependant, comme pour la protéine BNRF1 d'EBV, le mécanisme d'action de NS5A de HCV mériterait d'être davantage analysé.

Un impact des virus oncogènes sur le regroupement des centrosomes ?

Comme décrit plus haut, le regroupement des centrosomes est un prérequis pour la prolifération viable des cellules présentant des centrosomes surnuméraires. Le regroupement des centrosomes peut être contrôlé par des paramètres physiques. En effet, il a été montré que la tension du fuseau mitotique due à l'attachement incorrect des kinétochores aux microtubules émanant d'un fuseau multipolaire induisait le repositionnement des centrosomes amplifiés et leur regroupement en deux pôles [74]. En lien avec ces observations, certaines protéines cellulaires impliquées dans le positionnement du fuseau mitotique et dans l'interaction des kinétochores avec les microtubules (dont des régulateurs du point de contrôle de l'assemblage du fuseau) sont nécessaires au regroupement des centrosomes. C'est le cas de facteurs appartenant au complexe *chromosomal passenger*, au complexe d'attachement microtubules-kinétochore Ndc80, au complexe de cohésion des chromatides sœurs et au complexe augmine [75]. Les protéines associées aux microtubules, telles que la dynéine et les kinésines, ainsi que certains composants du cytosquelette d'actomyosine, sont également nécessaires au regroupement des centrosomes [76, 77]. De façon étonnante, l'impact éventuel des virus oncogènes sur le regroupement des centrosomes n'a jusqu'à présent pas été analysé de façon précise. Un regroupement des centrosomes a été observé dans des cellules endothéliales primaires exprimant la protéine v-cycline de KSHV [58], indiquant que KSHV pourrait ne pas interférer avec le regroupement des centrosomes. Cependant, cette étude n'a pas cherché à établir une éventuelle augmentation du regroupement des centrosomes par KSHV. Puisque l'interaction entre les virus oncogènes et les composants du point de contrôle de l'assemblage du fuseau mitotique a été bien documentée [54, 78-83], une interférence virale (positive ou négative) avec le regroupement des centrosomes demeure une hypothèse plausible qui devrait être analysée avec attention à l'avenir.

Le centrosome, un organelle de signalisation pour les points de contrôle du cycle cellulaire

Le contrôle de l'initiation de la mitose par le centrosome

En plus de son rôle dans la ségrégation des chromosomes au cours de la mitose, certaines études indiquent que le centrosome joue un rôle important dans le point de contrôle de l'entrée en phase M (pour une revue, voir [84]). En effet, des protéines de signalisation impliquées dans l'initiation de la mitose, comme le complexe régulateur clé CDK1/cycline B, les phosphatases activatrices Cdc25B/C, la kinase mitotique PLK1 et Aurora A, ont toutes été décrites comme localisées au centrosome à la transition G2/M. Le recrutement du complexe CDK1/cycline B au centrosome nécessite la protéine centrosomale Cep63 [85]. En outre, l'activation de CDK1/cycline B par Cdc25B est réalisée spécifiquement au centrosome [86]. Le centrosome peut donc être considéré comme une plateforme de signalisation qui permet le rapprochement spatial des régulateurs de l'entrée en mitose. De façon remarquable, la protéine Tax d'HTLV-1 a été identifiée comme un interactant de Cep63 (nos résultats non publiés) et pourrait donc interférer avec le contrôle centrosomal de la transition G2/M.

L'activation au centrosome des points de contrôle du cycle cellulaire en réponse aux dommages à l'ADN

Par ailleurs, le centrosome est apparu récemment comme une plateforme de signalisation au cours de la réponse aux dommages à l'ADN, qui joue également un rôle significatif dans la prévention de l'instabilité génomique. On désigne sous le terme de dommages à l'ADN les altérations de la structure de base de l'ADN qui peuvent survenir naturellement, par exemple au cours de la réplication de l'ADN, ou qui peuvent être induites par des agents exogènes. Selon la source de ces dommages, ces altérations peuvent consister en des mésappariements, des cassures simple brin (*single strand breaks* [SSB]), des cassures double brin (*double strand breaks* [DSB]) ou des fourches de réplication bloquées (qui résultent en la juxtaposition de segments d'ADN sous forme simple brin et double brin, perçue comme un stress réplicatif). Si les dommages à l'ADN ne sont pas correctement réparés, ils peuvent contribuer à la perte de l'intégrité génomique. La réponse aux dommages à l'ADN (*DNA damage response* [DDR]) désigne donc l'arsenal de stratégies qui préviennent l'accumulation des dommages. Cette réponse inclut la perception des dommages ainsi que l'orchestration du processus de réparation en lien avec le contrôle du cycle cellulaire ou

l'induction de l'apoptose (pour une revue, voir [87]). La DDR peut activer l'un des trois points de contrôle suivants : le point de contrôle G1/S qui prévient la réplication de l'ADN en cas de dommages, le point de contrôle de la phase S qui interrompt la synthèse de l'ADN si des dommages surviennent en cours de réplication, et le point de contrôle G2/M qui limite l'entrée en mitose des cellules dans lesquelles les dommages n'auraient pas été réparés.

Les dommages sont perçus par une machinerie reposant sur l'activité des kinases ATM, ATR et DNA-PK, qui sont au cœur de la DDR et qui répondent principalement aux DSB pour ATM et DNA-PK, et au stress réplicatif pour ATR. L'activation de ces kinases essentielles est illustrée ci-après sur l'exemple de l'activation d'ATM (*figure 5*). Suite à des DSB, le complexe MRN (Mre11, Rad50 et Nbs1) est recruté directement sur le site de cassure et permet l'autophosphorylation des dimères inactifs d'ATM sur les sérines en position 1981, menant à la dissociation des dimères en monomères actifs [88]. La forme ainsi activée d'ATM phosphoryle le variant d'histone H2AX, alors appelé γ H2AX. γ H2AX interagit avec la protéine d'échafaudage MDC1 et recrute des complexes MRN additionnels dans une boucle de rétroaction positive. En plus d'activer la machinerie de réparation, ATM active le point de contrôle G2/M par l'intermédiaire de la kinase de transduction CHK2, une protéine nucléaire (*figure 5*). L'activation de CHK2 résulte en l'inhibition de l'activité phosphatase de Cdc25C et, par conséquent, de la kinase mitotique CDK1, ce qui active le point de contrôle G2/M. CHK1, une kinase apparentée à CHK2, remplit des fonctions similaires mais est activée en aval d'ATR.

De façon remarquable, ATM/ATR et CHK1/CHK2 ont été observées au centrosome, indiquant que le centrosome pourrait constituer une plateforme de signalisation dans la DDR [89-91] (*figure 5*). L'accumulation de CHK1 au centrosome en cas de dommages à l'ADN conduit à l'inactivation du complexe CDK1/cycline B qui est normalement nécessaire à l'entrée en mitose [92]. La localisation centrosomale de la forme activée de CHK2 en réponse aux dommages à l'ADN a également été rapportée [91]. De façon inattendue, la forme activée de CHK1 est également détectable au centrosome, et plus précisément au niveau du centriole père, dans des cellules normales, soumises à aucun stress [91], soulevant l'hypothèse d'une participation de CHK1 au cycle de duplication normal du centrosome, en absence de dommages à l'ADN.

Le centrosome : une cible des virus oncogènes dans la réponse aux dommages à l'ADN ?

La plupart des virus oncogènes sont connus pour leur capacité à induire une instabilité génétique par l'induction directe de dommages à l'ADN, le plus souvent par

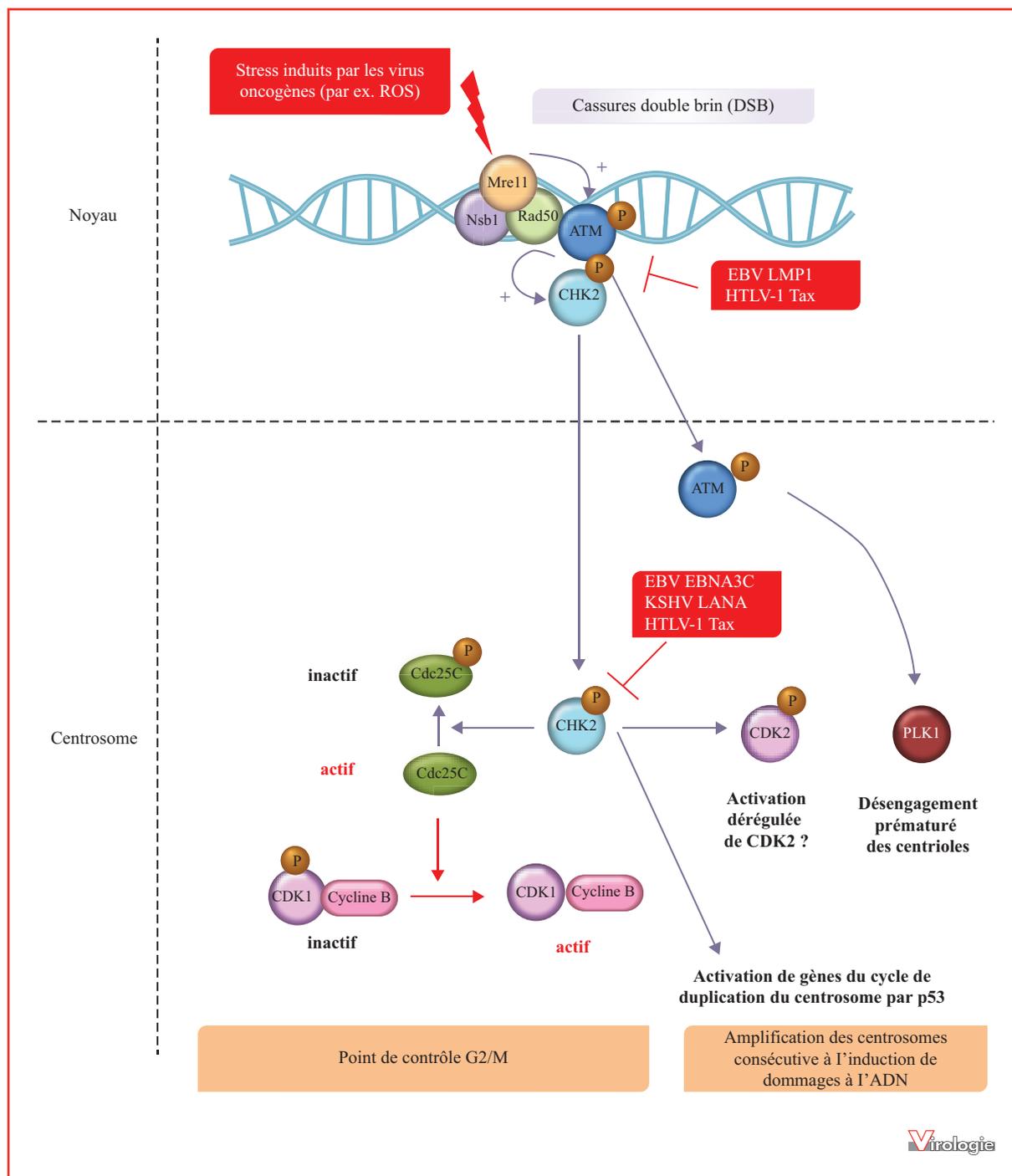


Figure 5. Le centrosome à l'interface entre le contrôle du cycle cellulaire et la réponse aux dommages à l'ADN. L'activation du point de contrôle G2/M par les cassures double brin (DSB) est illustrée. L'induction des DSB, qui peut résulter de stress induits par les virus oncogènes, conduit à l'activation d'ATM dans le noyau suite au recrutement du complexe MRN (Mre11, Rad50 et Nbs1) au site de cassure. Pour des raisons de clarté, la boucle d'amplification impliquant γ H2AX et MDC1 a été omise. L'activation d'ATM conduit à la phosphorylation de CHK2, qui inhibe à son tour la phosphatase Cdc25C. Cela limite l'activité du complexe CDK1/cycline B pour la transition G2/M et résulte en un arrêt du cycle cellulaire. ATM, CHK2 et certains facteurs en aval ont été observés au centrosome suite à l'induction de dommages à l'ADN. Les virus oncogènes interfèrent avec ces mécanismes principalement au niveau d'ATM et de CHK2, autorisant l'activation du complexe CDK1/cycline B et le contournement du point de contrôle (rectangles, flèches et texte en rouge). Les mécanismes d'amplification des centrosomes consécutifs à l'induction de dommages à l'ADN sont également illustrés.

l'intermédiaire de la production de ROS, et indirectement par l'altération de la DDR. Les virus oncogènes interfèrent avec la DDR par l'inactivation des kinases senseurs et en particulier par l'inactivation d'ATM (*figure 5*). Par exemple, EBV dérégule l'activité d'ATM dans le lymphome de Hodgkin. Plus précisément, la protéine virale membranaire LMP1 provoque la baisse de l'expression d'ATM [93]. La protéine Tax d'HTLV-1 interagit avec la phosphatase Wip1 et induit ainsi la déphosphorylation et l'inactivation d'ATM, de γ -H2AX et de CHK1/2 [94]. Tax forme par ailleurs des complexes avec MDC1 et DNA-PK au sein de foyers nucléaires, interférant ainsi avec leurs fonctions dans la DDR.

Les virus oncogènes interfèrent également avec les voies de signalisation en aval de la perception des dommages à l'ADN, menant à la perte de contrôle du cycle cellulaire (*figure 5*). Par exemple, le point de contrôle G2/M est dérégulé dans les cellules infectées par EBV [95]. La protéine virale EBNA3C interagit avec CHK2, ce qui diminue l'activité de CHK2 et permet la progression à travers le point de contrôle G2/M. De façon similaire, le point de contrôle G2/M est dérégulé sous l'action de la protéine LANA de KSHV. L'oncoprotéine Tax d'HTLV-1 induit l'hyperphosphorylation de CHK2, ce qui résulte en la séquestration nucléaire de CHK2 et en l'inhibition de ses propriétés de signalisation [96].

Si l'on considère le fait que le centrosome fonctionne comme une plateforme de signalisation au cours de la DDR, et le fait que certaines protéines virales connues pour interférer avec la DDR sont associées physiquement au centrosome, comme c'est le cas pour la protéine Tax d'HTLV-1, alors on peut émettre l'hypothèse que l'interférence avec la DDR exercée par ces oncoprotéines virales pourrait découler de la perturbation de la fonction de signalisation du centrosome. Cette hypothèse devrait être testée par des travaux futurs.

Vers une compréhension intégrée de la dynamique du centrosome : dialogue entre la DDR et le contrôle du nombre de centrosomes

Plusieurs études ont mis en évidence des interactions fonctionnelles entre la DDR et le processus d'amplification des centrosomes, qui sont tous deux liés à l'instabilité génétique. Ces interactions fonctionnelles ont d'abord été proposées pour expliquer les observations selon lesquelles des traitements chimiques qui induisent des dommages à l'ADN provoquent aussi une amplification des centrosomes. Par exemple, l'hydroxyurée (HU) provoque un stress répliatif qui conduit, par l'intermédiaire de l'activation de CHK1 et CHK2, à une phase S prolongée

[91], mais aussi à des centrosomes surnuméraires. L'inhibition de CHK1 ou de CHK2 réduit l'amplification des centrosomes induite par ces traitements [91, 97], indiquant que ces kinases sont nécessaires à l'amplification des centrosomes en réponse aux dommages à l'ADN. Puisque CDK2 est un substrat de CHK1/2, CDK2 pourrait être l'effecteur de CHK1/2 impliqué dans l'amplification des centrosomes (*figure 5*). Les dommages à l'ADN induisent également une augmentation de la quantité de PCM par un mécanisme dépendant de CHK1 [98]. Cette expansion du PCM nécessite la protéine du PCM péricentrine et est exacerbée en absence de la microcéphaline, un régulateur de CHK1 localisé au centrosome. De façon remarquable, l'inhibition de la voie ATM/CHK2 conduit à une capacité réduite de KSHV d'induire des centrosomes surnuméraires [58], indiquant que l'amplification des centrosomes induite par KSHV pourrait en partie au moins être une conséquence de la DDR. Il serait intéressant d'examiner la situation pour les autres virus oncogènes.

Le désengagement prématuré des centrioles en G2 plutôt qu'en fin de phase M/début de phase G1, qui peut conduire à la re-duplication des centrioles avant l'entrée en mitose, a aussi été observé suite à l'induction de dommages à l'ADN. La kinase mitotique PLK1, qui contrôle le désengagement des centrioles, et qui est une cible en aval d'ATM, a été impliquée dans ce processus de désengagement précoce (*figure 5*) [99]. L'extinction de l'expression de C-NAP-1 et de la rootetine, qui constituent le *linker* entre les centrioles, facilite le désengagement précoce consécutif à l'induction de dommages à l'ADN [100], confirmant le lien entre dommages à l'ADN et désengagement des centrioles.

Une autre observation qui corrobore l'hypothèse d'un lien entre amplification des centrosomes et DDR est celle de l'activation transcriptionnelle de plusieurs gènes codant des facteurs impliqués dans le cycle de duplication du centrosome, comme Cep152 ou NEK2, suite à l'induction de dommages à l'ADN (*figure 5*) [101]. De plus, une perte de fonction de p53 conduit également à la transcription aberrante de gènes impliqués dans le cycle de duplication du centrosome [31, 102]. Une fraction de p53 est en outre localisée au centrosome, ce qui indique des fonctions possibles dans la régulation de la dynamique du centrosome [103].

L'amplification des centrosomes consécutive à l'induction de dommages à l'ADN a récemment été liée à l'accumulation de satellites centriolaires [104]. Dans cette étude, une stratégie élégante basée sur l'utilisation d'une forme photo-convertible de la centrine-2 a été mise en œuvre pour caractériser le processus à l'origine de l'amplification des centrosomes consécutive à l'induction de dommages à l'ADN, et plus précisément pour distinguer un processus de fragmentation des centrosomes d'un processus de sur-duplication des centrioles. Dans ces conditions, aucune fragmentation des centrosomes n'a été

observée. Au contraire, les auteurs ont pu mettre en évidence que l'amplification des centrosomes était davantage le résultat de l'assemblage *de novo* de la centrine-2. Ces points de centrine-2 surnuméraires ont en fait été attribués à des satellites centriolaires, du fait de leur mobilité et de leur morphologie dynamique. En outre, ces points étaient peu enrichis en marqueurs centrosomaux tels que la γ -tubuline, C-NAP-1, la rootletine ou SAS-6, mais étaient très enrichis en PCM1, un marqueur de satellite. Il a ensuite été montré que l'apparition de satellites surnuméraires permettait l'amplification des centrosomes par le transport de constituants centrosomaux.

L'ensemble de ces observations indique donc que l'amplification des centrosomes peut être une conséquence de l'activation de points de contrôle suite à l'induction de dommages à l'ADN. Puisque les centrosomes surnuméraires peuvent induire des mitoses multipolaires et conduire à des catastrophes mitotiques, l'amplification des centrosomes en réponse à l'induction de dommages à l'ADN peut être considérée comme un mécanisme favorisant l'élimination passive des cellules comportant des dommages à l'ADN non réparés. Cependant, des processus cellulaires permettant de limiter l'amplification des centrosomes en réponse à l'induction de dommages à l'ADN ont été décrits. Par exemple, Cep63 a été identifiée comme une cible d'ATM qui impose un délai à la progression mitotique en cas de dommages à l'ADN [105]. Plus récemment, le régulateur centrosomal TAX1BP2 a aussi été identifié comme un substrat direct d'ATM [106]. La phosphorylation par ATM protège TAX1BP2 de la dégradation par le protéasome et augmenterait ainsi sa capacité à limiter l'amplification des centrosomes en réponse à l'induction de dommages à l'ADN.

Puisque la plupart des virus oncogènes induisent des dommages à l'ADN, comme discuté plus haut, il est très probable que leur association avec l'amplification des centrosomes soit, en partie au moins, due à ces mécanismes inter-reliés. De façon remarquable, la protéine Tax d'HTLV-1 interagit avec Cep63 et TAX1BP2 (voir plus haut), suggérant que les virus oncogènes pourraient interférer avec le dialogue moléculaire mis en place entre la dynamique du centrosome et la DDR. Distinguer l'impact direct des virus oncogènes sur le cycle de duplication du centrosome de leur impact indirect *via* les dommages à l'ADN pourrait donc constituer un objectif ambitieux pour les travaux à venir.

Conclusion et perspectives

L'ensemble des données discutées dans cette revue souligne le rôle central du centrosome dans le maintien de l'intégrité génomique. L'amplification des centrosomes ainsi que l'interférence avec la DDR sont des processus partagés par

de nombreux virus oncogènes. Cependant, l'articulation précise de ces deux aspects de la perte de l'intégrité génomique liés à la biologie du centrosome demeure peu caractérisée au cours de la transformation viro-induite.

À la lumière des avancées récentes dans le domaine de la biologie du centrosome, les altérations centrosomales induites par les virus oncogènes mériteraient d'être revisitées. En particulier, les aberrations structurales dans les cellules infectées ou dans les cellules exprimant certaines protéines virales devraient être décrites plus précisément, en exploitant des stratégies d'analyse par microscopie plus informatives. Les études discutées ci-dessus sont en effet pour la plupart basées sur l'utilisation de marqueurs comme la centrine-1 (un marqueur des centrioles) ou la γ -tubuline (un marqueur du PCM) pour identifier et compter les centrosomes en microscopie. Cependant, ces marqueurs utilisés individuellement ne sont probablement pas suffisants pour distinguer entre plusieurs types d'aberrations structurales qui peuvent affecter les centrosomes (par exemple, distinguer entre sur-duplication, fragmentation ou accumulation de satellites centriolaires). L'utilisation combinatoire de plusieurs marqueurs de centrioles (par exemple des centrioles pères ou fils, ou des extrémités distales ou proximales des centrioles) et de PCM, associées à des marqueurs de satellites, devrait permettre une description plus précise des aberrations structurales, ce qui pourrait en retour informer sur la nature des mécanismes moléculaires altérés par les virus oncogènes. Une telle description approfondie pourrait être facilitée par les nouvelles approches de microscopie semi-automatique qui facilitent l'analyse des altérations centrosomales dans de multiples échantillons [107].

En accord avec ce besoin de revisiter les altérations centrosomales induites par les virus oncogènes, les avancées méthodologiques développées récemment pour l'analyse de la structure et de la composition du centrosome pourraient être exploitées dans le cadre de l'analyse des cellules infectées ou exprimant certaines protéines virales. Ces avancées incluent la microscopie super-résolutive [12] ainsi que des approches de protéomique innovantes telles que l'identification par biotinylation de proximité (BioID) [108]. L'exploitation de ces approches pour la comparaison systématique des aberrations centrosomales induites par des virus oncogènes distincts devrait permettre d'identifier des cibles partagées par plusieurs virus oncogènes. Cela pourrait nous informer sur les facteurs ou les mécanismes centrosomaux les plus vulnérables aux interférences virales, et ainsi contribuer à une meilleure caractérisation des réseaux de régulation essentiels à la perte de l'intégrité du centrosome au cours de la transformation cellulaire.

Remerciements. Nous remercions Véronique Marthiens et Karine Monier pour les discussions sur la biologie du

centrosome. Nous remercions également Renaud Mahieux et Hélène Dutartre pour leur lecture critique du manuscrit, ainsi que l'ensemble de nos collègues pour les discussions enrichissantes.

Liens d'intérêts : Ce travail est soutenu par un financement interne à l'unité U1111 (collaboration intra-CIRI) attribué à C.J. et H.G., et par un financement « Ligue nationale contre le cancer, comité du Rhône, Projet pluri-équipes 2018 » attribué à C.J., H.G. et M.T. C.J. est financée par l'ENS de Lyon. E.T. est financée par une allocation doctorale du ministère de la Recherche. Les auteurs étant identifiés comme des membres du personnel du Centre international de recherche sur le cancer/Organisation mondiale de la santé, les opinions exprimées dans la présente publication n'engagent qu'eux-mêmes et ne représentent pas nécessairement les décisions, la politique officielle ou les opinions du Centre international de recherche sur le cancer/Organisation mondiale de la santé.

Références

- Epstein MA, Achong BG, Barr YM. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet* 1964 ; 28 : 702-3.
- International Agency for Research on Cancer, Weltgesundheitsorganisation, eds. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, volume 100 B, biological agents*. IARC, 2012 [this publication represents the views and expert opinions of an IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, which met in Lyon, 24 February-03 March 2009].
- De Martel C, Ferlay J, Franceschi S, et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *Lancet Oncol* 2012 ; 13 : 607-15.
- Feng H, Shuda M, Chang Y, Moore PS. Clonal integration of a polyomavirus in human Merkel cell carcinoma. *Science* 2008 ; 319 : 1096-100.
- Choo Q-L, Kuo G, Weiner AJ, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989 ; 244 : 359-62.
- Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD, Gallo RC. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980 ; 77 : 7415-9.
- Pipas JM. DNA tumor viruses and their contributions to molecular biology. *J Virol* 2019 ; 93 : e01524-18. doi: 10.1128/JVI.01524-18.
- Conduit PT, Wainman A, Raff JW. Centrosome function and assembly in animal cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2015 ; 16 : 611-24.
- Yasunaga J, Jeang K-T. Viral transformation and aneuploidy. *Environ Mol Mutagen* 2009 ; 50 : 733-40.
- Fu J, Glover DM. Structured illumination of the interface between centriole and peri-centriolar material. *Open Biol* 2012 ; 2 : 120104-.
- Lawo S, Hasegan M, Gupta GD, Pelletier L. Subdiffraction imaging of centrosomes reveals higher-order organizational features of pericentriolar material. *Nat Cell Biol* 2012 ; 14 : 1148-58.
- Sonnen KF, Schermelleh L, Leonhardt H, Nigg EA. 3D-structured illumination microscopy provides novel insight into architecture of human centrosomes. *Biol Open* 2012 ; 1 : 965-76.
- Okuda M, Horn HF, Tarapore P, et al. Nucleophosmin/B23 is a target of CDK2/cyclin E in centrosome duplication. *Cell* 2000 ; 103 : 127-40.
- Ma Z, Kanai M, Kawamura K, Kaibuchi K, Ye K, Fukasawa K. Interaction between ROCK II and nucleophosmin/B23 in the regulation of centrosome duplication. *Mol Cell Biol* 2006 ; 26 : 9016-34.
- Gönczy P, Hatzopoulos GN. Centriole assembly at a glance. *J Cell Sci* 2019 ; 132 : jcs228833.
- Avidor-Reiss T, Gopalakrishnan J. Building a centriole. *Curr Opin Cell Biol* 2013 ; 25 : 72-7.
- Li J, Kim S, Kobayashi T, et al. Neurl4, a novel daughter centriole protein, prevents formation of ectopic microtubule organizing centres. *EMBO Rep* 2012 ; 13 : 547-53.
- Hori A, Toda T. Regulation of centriolar satellite integrity and its physiology. *Cell Mol Life Sci* 2017 ; 74 : 213-29.
- Mitelman F, Johansson B, Mertens F, eds. *Mitelman database of chromosome aberrations and gene fusions in cancer*, 2018 [date unknown] <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>.
- Boveri T. Concerning the origin of malignant tumours by Theodor Boveri. Translated and annotated by Henry Harris. *J Cell Sci* 2008 ; 121 : 1.
- Zyss D, Gergely F. Centrosome function in cancer: guilty or innocent? *Trends Cell Biol* 2009 ; 19 : 334-46.
- Levine MS, Bakker B, Boeckx B, et al. Centrosome amplification is sufficient to promote spontaneous tumorigenesis in mammals. *Dev Cell* 2017 ; 40 : 313-322.e5.
- Marthiens V, Piel M, Basto R. Never tear us apart – the importance of centrosome clustering. *J Cell Sci* 2012 ; 125 : 3281-92.
- Milunović-Jevtić A, Mooney P, Sulerud T, Bisht J, Gatlin J. Centrosomal clustering contributes to chromosomal instability and cancer. *Curr Opin Biotechnol* 2016 ; 40 : 113-8.
- Cunha-Ferreira I, Rodrigues-Martins A, Bento I, et al. The SCF/Slimb ubiquitin ligase limits centrosome amplification through degradation of SAK/PLK4. *Curr Biol* 2009 ; 19 : 43-9.
- Marthiens V, Rujano MA, Pennetier C, Tessier S, Paul-Gilloteaux P, Basto R. Centrosome amplification causes microcephaly. *Nat Cell Biol* 2013 ; 15 : 731-40.
- Habedanck R, Stierhof Y-D, Wilkinson CJ, Nigg EA. The Polo kinase Plk4 functions in centriole duplication. *Nat Cell Biol* 2005 ; 7 : 1140-6.
- Karki M, Keyhaninejad N, Shuster CB. Precocious centriole disengagement and centrosome fragmentation induced by mitotic delay. *Nat Commun* 2017 ; 8 : 15803.
- Meraldi P, Honda R, Nigg AE. Aurora-A overexpression reveals tetraploidization as a major route to centrosome amplification in p53^{-/-} cells. *EMBO J* 2002 ; 21 : 483-92.
- Fukasawa K, Choi T, Kuriyama R, Rulong S, Vande Woude GF. Abnormal centrosome amplification in the absence of p53. *Science* 1996 ; 271 : 1744-7.
- Tarapore P, Horn HF, Tokuyama Y, Fukasawa K. Direct regulation of the centrosome duplication cycle by the p53-p21^{Waf1/Cip1} pathway. *Oncogene* 2001 ; 20 : 3173-84.
- Cuomo ME, Knebel A, Morrice N, Paterson H, Cohen P, Mitnacht S. p53-driven apoptosis limits centrosome amplification and genomic instability downstream of NPM1 phosphorylation. *Nat Cell Biol* 2008 ; 10 : 723-30.
- Holland AJ, Fachinetti D, Zhu Q, et al. The autoregulated instability of Polo-like kinase 4 limits centrosome duplication to once per cell cycle. *Genes Dev* 2012 ; 26 : 2684-9.

34. Fava LL, Schuler F, Sladky V, *et al.* The PIDDosome activates p53 in response to supernumerary centrosomes. *Genes Dev* 2017; 31 : 34-45.
35. Coelho PA, Bury L, Shahbazi MN, *et al.* Over-expression of Plk4 induces centrosome amplification, loss of primary cilia and associated tissue hyperplasia in the mouse. *Open Biol* 2015; 5 : 150209.
36. Serçin Ö, Larsimont J-C, Karamelas AE, *et al.* Transient PLK4 overexpression accelerates tumorigenesis in p53-deficient epidermis. *Nat Cell Biol* 2016; 18 : 100-10.
37. Duensing S, Lee LY, Duensing A, *et al.* The human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins cooperate to induce mitotic defects and genomic instability by uncoupling centrosome duplication from the cell division cycle. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97 : 10002-7.
38. Skyldberg B, Fujioka K, Hellström A-C, Sylvén L, Moberger B, Auer G. Human papillomavirus infection, centrosome aberration, and genetic stability in cervical lesions. *Mod Pathol* 2001; 14 : 279.
39. Duensing S, Duensing A, Lee DC, *et al.* Cyclin-dependent kinase inhibitor indirubin-3'-oxime selectively inhibits human papillomavirus type 16 E7-induced numerical centrosome anomalies. *Oncogene* 2004; 23 : 8206-15.
40. Duensing A, Liu Y, Tseng M, Malumbres M, Barbacid M, Duensing S. Cyclin-dependent kinase 2 is dispensable for normal centrosome duplication but required for oncogene-induced centrosome overduplication. *Oncogene* 2006; 25 : 2943.
41. Duensing A, Liu Y, Perdreau SA, Kleylein-Sohn J, Nigg EA, Duensing S. Centriole overduplication through the concurrent formation of multiple daughter centrioles at single maternal templates. *Oncogene* 2007; 26 : 6280-8.
42. Duensing A, Liu Y, Spardy N, *et al.* RNA polymerase II transcription is required for human papillomavirus type 16 E7- and hydroxyurea-induced centriole overduplication. *Oncogene* 2007; 26 : 215-23.
43. Korzeniewski N, Treat B, Duensing S. The HPV-16 E7 oncoprotein induces centriole multiplication through deregulation of Polo-like kinase 4 expression. *Mol Cancer* 2011; 10 : 61.
44. Kwun HJ, Wendzicki JA, Shuda Y, Moore PS, Chang Y. Merkel cell polyomavirus small T antigen induces genome instability by E3 ubiquitin ligase targeting. *Oncogene* 2017; 36 : 6784.
45. Martínez-Noël G, Luck K, Kühnle S, *et al.* Network analysis of UBE3A/E6AP-associated proteins provides connections to several distinct cellular processes. *J Mol Biol* 2018; 430 : 1024-50.
46. Nguyen CL, Eichwald C, Nibert ML, Munger K. Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein associates with the centrosomal component-tubulin. *J Virol* 2007; 81 : 13533-43.
47. Afonso PV, Zamborlini A, Saïb A, Mahieux R. Centrosome and retroviruses: the dangerous liaisons. *Retrovirology* 2007; 4 : 27.
48. Nitta T, Kanai M, Sugihara E, *et al.* Centrosome amplification in adult T-cell leukemia and human T-cell leukemia virus type 1 Tax-induced human T cells. *Cancer Sci* 2006; 97 : 836-41.
49. Peloponese J-M, Haller K, Miyazato A, Jeang K-T. Abnormal centrosome amplification in cells through the targeting of Ran-binding protein-1 by the human T cell leukemia virus type-1 Tax oncoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102 : 18974-9.
50. Ching Y-P, Chan S-F, Jeang K-T, Jin D-Y. The retroviral oncoprotein Tax targets the coiled-coil centrosomal protein TAX1BP2 to induce centrosome overduplication. *Nat Cell Biol* 2006; 8 : 717-24.
51. Forgues M, Difilippantonio MJ, Linke SP, *et al.* Involvement of Crml in hepatitis B virus X protein-induced aberrant centriole replication and abnormal mitotic spindles. *Mol Cell Biol* 2003; 23 : 5282-92.
52. Yun C, Cho H, Kim S-J, *et al.* Mitotic aberration coupled with centrosome amplification is induced by hepatitis B virus X oncoprotein via the Ras-mitogen-activated protein/extracellular signal-regulated kinase-mitogen-activated protein pathway. *Mol Cancer Res* 2004; 2 : 159-69.
53. Wang LH-C, Huang W, Lai M-D, Su I-J. Aberrant cyclin A expression and centrosome overduplication induced by hepatitis B virus Pre-S2 mutants and its implication in hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis* 2012; 33 : 466-72.
54. Jin D-Y, Spencer F, Jeang K-T. Human T cell leukemia virus type 1 oncoprotein Tax targets the human mitotic checkpoint protein MAD1. *Cell* 1998; 93 : 81-91.
55. Swanton C, Mann DJ, Fleckenstein B, Neipel F, Peters G, Jones N. Herpes viral cyclin/Cdk6 complexes evade inhibition by CDK inhibitor proteins. *Nature* 1997; 390 : 184-7.
56. Verschuren EW, Klefstrom J, Evan GI, Jones N. The oncogenic potential of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus cyclin is exposed by p53 loss *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Cell* 2002; 2 : 229-41.
57. Verschuren EW, Hodgson JG, Gray JW, Kogan S, Jones N, Evan GI. The role of p53 in suppression of KSHV cyclin-induced lymphomagenesis. *Cancer Res* 2004; 64 : 581-9.
58. Koopal S, Furuhejm JH, Järviuoma A, *et al.* Viral oncogene-induced DNA damage response is activated in kaposi sarcoma tumorigenesis. *PLoS Pathog* 2007; 3 : e140.
59. Pan H, Zhou F, Gao S-J. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus induction of chromosome instability in primary human endothelial cells. *Cancer Res* 2004; 64 : 4064-8.
60. Lane DP, Crawford LV. T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. *Nature* 1979; 278 : 261-3.
61. Linzer DIH, Levine AJ. Characterization of a 54K Dalton cellular SV40 tumor antigen present in SV40-transformed cells and uninfected embryonal carcinoma cells. *Cell* 1979; 17 : 43-52.
62. Tornesello ML, Annunziata C, Tornesello AL, Buonaguro L, Buonaguro FM. Human oncoviruses and p53 tumor suppressor pathway deregulation at the origin of human cancers. *Cancers (Basel)* 2018; 10 : 213.
63. Riley RR, Duensing S, Brake T, Münger K, Lambert PF, Arbeit JM. Dissection of human papillomavirus E6 and E7 function in transgenic mouse models of cervical carcinogenesis. *Cancer Res* 2003; 63 : 4862-71.
64. Budhu AS, Wang XW. Loading and unloading. *Cell Cycle* 2005; 4 : 1510-4.
65. Keryer G, Di Fiore B, Celati C, *et al.* Part of Ran is associated with AKAP450 at the centrosome: involvement in microtubule-organizing activity. *Mol Biol Cell* 2003; 14 : 4260-71.
66. Ciciarello M, Mangiacasale R, Lavia P. Spatial control of mitosis by the GTPase Ran. *Cell Mol Life Sci* 2007; 64 : 1891-914.
67. Di Fiore B, Ciciarello M, Mangiacasale R, *et al.* Mammalian RanBP1 regulates centrosome cohesion during mitosis. *J Cell Sci* 2003; 116 : 3399-411.
68. Luca AD, Mangiacasale R, Severino A, *et al.* E1A deregulates the centrosome cycle in a Ran GTPase-dependent manner. *Cancer Res* 2003; 63 : 1430-7.
69. Lavia P. The GTPase RAN regulates multiple steps of the centrosome life cycle. *Chromosome Res* 2016; 24 : 53-65.
70. Gill MB, Kutok JL, Fingerth JD. Epstein-Barr virus thymidine kinase is a centrosomal resident precisely localized to the periphery of centrioles. *J Virol* 2007; 81 : 6523-35.

71. Shumilov A, Tsai M-H, Schlosser YT, *et al.* Epstein-Barr virus particles induce centrosome amplification and chromosomal instability. *Nat Commun* 2017 ; 8 : 14257.
72. Tsai K, Chan L, Gibeault R, *et al.* Viral reprogramming of the Daxx histone H3.3 chaperone during early Epstein-Barr virus infection. *J Virol* 2014 ; 88 : 14350-63.
73. Baek K-H, Park H-Y, Kang C-M, *et al.* Overexpression of hepatitis C virus NS5A protein induces chromosome instability *via* mitotic cell cycle dysregulation. *J Mol Biol* 2006 ; 359 : 22-34.
74. Kwon M, Godinho SA, Chandhok NS, *et al.* Mechanisms to suppress multipolar divisions in cancer cells with extra centrosomes. *Genes Dev* 2008 ; 22 : 2189-203.
75. Leber B, Maier B, Fuchs F, *et al.* Proteins required for centrosome clustering in cancer cells. *Sci Transl Med* 2010 ; 2 : 33ra38-.
76. Quintyne NJ, Reing JE, Hoffelder DR, Gollin SM, Saunders WS. Spindle multipolarity is prevented by centrosomal clustering. *Science* 2005 ; 307 : 127-9.
77. Kwon M, Godinho SA, Chandhok NS, *et al.* Mechanisms to suppress multipolar divisions in cancer cells with extra centrosomes. *Genes Dev* 2008 ; 22 : 2189-203.
78. Ying B, Wold WSM. Adenovirus ADP protein (E3-11.6K), which is required for efficient cell lysis and virus release, interacts with human MAD2B. *Virology* 2003 ; 313 : 224-34.
79. Cotsiki M, Lock RL, Cheng Y, *et al.* Simian virus 40 large T antigen targets the spindle assembly checkpoint protein Bub1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 ; 101 : 947-52.
80. Patel D, McCance DJ. Compromised spindle assembly checkpoint due to altered expression of Ubch10 and Cdc20 in human papillomavirus type 16 E6- and E7-expressing keratinocytes. *J Virol* 2010 ; 84 : 10956-64.
81. Chae S, Ji J-H, Kwon S-H, *et al.* HBxAP α /Rsf-1-mediated HBx-hBubR1 interactions regulate the mitotic spindle checkpoint and chromosome instability. *Carcinogenesis* 2013 ; 34 : 1680-8.
82. Tan CL, Teissier S, Gunaratne J, Quek LS, Bellanger S. Stranglehold on the spindle assembly checkpoint: the human papillomavirus E2 protein provokes BUBR1-dependent aneuploidy. *Cell Cycle* 2015 ; 14 : 1459-70.
83. Shirnekhi HK, Kelley EP, DeLuca JG, Herman JA. Spindle assembly checkpoint signaling and sister chromatid cohesion are disrupted by HPV E6-mediated transformation. *Mol Biol Cell* 2017 ; 28 : 2035-41.
84. Arquint C, Gabryjonyczk A-M, Nigg EA. Centrosomes as signalling centres. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2014 ; 369 : 20130464-.
85. Löffler H, Fechter A, Matuszewska M, *et al.* Cep63 Recruits Cdk1 to the centrosome: implications for regulation of mitotic entry, centrosome amplification, and genome maintenance. *Cancer Res* 2011 ; 71 : 2129-39.
86. Dutertre S. Phosphorylation of CDC25B by Aurora-A at the centrosome contributes to the G2-M transition. *J Cell Sci* 2004 ; 117 : 2523-31.
87. Ciccia A, Elledge SJ. The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol Cell* 2010 ; 40 : 179-204.
88. Bakkenist CJ, Kastan MB. DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. *Nature* 2003 ; 421 : 499.
89. Zhang S, Hemmerich P, Grosse F. Centrosomal localization of DNA damage checkpoint proteins. *J Cell Biochem* 2007 ; 101 : 451-65.
90. Oricchio E, Saladino C, Iacovelli S, Soddu S, Cundari E. ATM is activated by default in mitosis, localizes at centrosomes and monitors mitotic spindle integrity. *Cell Cycle* 2006 ; 5 : 88-92.
91. Wang C-Y, Huang EY-H, Huang S-C, Chung B-C. DNA-PK/Chk2 induces centrosome amplification during prolonged replication stress. *Oncogene* 2015 ; 34 : 1263-9.
92. Löffler H, Bochtler T, Fritz B, *et al.* DNA damage-induced accumulation of centrosomal Chk1 contributes to its checkpoint function. *Cell Cycle* 2007 ; 6 : 2541-8.
93. Dutton A, Woodman CB, Chukwuma MB, *et al.* Bmi-1 is induced by the Epstein-Barr virus oncogene LMP1 and regulates the expression of viral target genes in Hodgkin lymphoma cells. *Blood* 2007 ; 109 : 2597-603.
94. Dayaram T, Lemoine FJ, Donehower LA, Marriott SJ. Activation of WIP1 phosphatase by HTLV-1 Tax mitigates the cellular response to DNA damage. *PLoS One* 2013 ; 8 : e55989.
95. Choudhuri T, Verma SC, Lan K, Murakami M, Robertson ES. The ATM/ATR signaling effector Chk2 is targeted by Epstein-Barr virus nuclear antigen 3C to release the G2/M cell cycle block. *J Virol* 2007 ; 81 : 6718-30.
96. Gupta SK, Guo X, Durkin SS, Fryrear KF, Ward MD, Semmes OJ. Human T-cell leukemia virus type 1 tax oncoprotein prevents DNA damage-induced chromatin egress of hyperphosphorylated Chk2. *J Biol Chem* 2007 ; 282 : 29431-40.
97. Robinson HMR, Black EJ, Brown R, Gillespie DAF. DNA mismatch repair and Chk1-dependent centrosome amplification in response to DNA alkylation damage. *Cell Cycle* 2007 ; 6 : 982-92.
98. Antonczak AK, Mullee LI, Wang Y, *et al.* Opposing effects of pericentriolar and microcephalin on the pericentriolar material regulate CHK1 activation in the DNA damage response. *Oncogene* 2016 ; 35 : 2003.
99. Inanç B, Dodson H, Morrison CG. A centrosome-autonomous signal that involves centriole disengagement permits centrosome duplication in G2 phase after DNA damage. *Mol Biol Cell* 2010 ; 21 : 3866-77.
100. Conroy PC, Saladino C, Dantas TJ, Lalor P, Dockery P, Morrison CG. C-NAP1 and rootletin restrain DNA damage-induced centriole splitting and facilitate ciliogenesis. *Cell Cycle* 2012 ; 11 : 3769-78.
101. Lindgren T, Stigbrand T, Johansson L, Riklund K, Eriksson D. Alterations in gene expression during radiation-induced mitotic catastrophe in HeLa Hep2 cells. *Anticancer Res* 2014 ; 34 : 3875-80.
102. Mussman JG, Horn HF, Carroll PE, *et al.* Synergistic induction of centrosome hyperamplification by loss of p53 and cyclin E overexpression. *Oncogene* 2000 ; 19 : 1635-46.
103. Shinmura K, Bennett RA, Tarapore P, Fukasawa K. Direct evidence for the role of centrosomally localized p53 in the regulation of centrosome duplication. *Oncogene* 2007 ; 26 : 2939-44.
104. Löffler H, Fechter A, Liu FY, Poppelreuther S, Krämer A. DNA damage-induced centrosome amplification occurs *via* excessive formation of centriolar satellites. *Oncogene* 2013 ; 32 : 2963-72.
105. Smith E, Dejsuphong D, Balestrini A, *et al.* An ATM- and ATR-dependent checkpoint inactivates spindle assembly by targeting CEP63. *Nat Cell Biol* 2009 ; 11 : 278-85.
106. Lai WL, Hung WY, Ching YP. The tumor suppressor, TAX1BP2, is a novel substrate of ATM kinase. *Oncogene* 2014 ; 33 : 5303-9.
107. Wang M, Knudsen BS, Nagle RB, Rogers GC, Cress AE. A method of quantifying centrosomes at the single-cell level in human normal and cancer tissue. *Mol Biol Cell* 2019 ; 30 : 811-9.
108. Firat-Karalar EN, Rauniyar N, Yates JR, Stearns T. Proximity interactions among centrosome components identify regulators of centriole duplication. *Curr Biol* 2014 ; 24 : 664-70.