

Les micrométastases adoptent-elles la stratégie de Pénélope ?

Au terme du processus métastatique, la cellule ou l'amas de cellules cancéreuses issus de la tumeur primitive adhèrent à l'endothélium vasculaire, traversent le vaisseau lymphatique ou le capillaire et forment dans l'organe cible des micrométastases. Ces micrométastases peuvent rester indétectables pendant des mois ou des années, avant de se dévoiler ultérieurement, comme en témoignent des études cliniques sur la récurrence des tumeurs après un mélanome ou une tumeur du sein [1, 2].

Pour étudier les mécanismes cellulaires qui contrôlent la quiescence des micrométastases, Judah Folkman *et al.* (Boston, MA, USA) [3] ont étudié la progression des tumeurs et des métastases qui se forment dans des souris après implantation sous la peau de cellules de carcinome pulmonaire (*Lewis lung carcinoma* ou 3LL). L'exérèse chirurgicale de la tumeur primitive provoque une croissance exponentielle de ses micrométastases pulmonaires. La présence de la tumeur primitive est associée à la détection, dans le sérum des souris, d'une activité capable d'inhiber la formation de nouveaux vaisseaux sanguins ou angiogenèse. Cette activité est portée par un fragment du plasminogène, qui a été nommé angiostatine. Dans ce modèle, l'angiostatine bloquerait la croissance des micrométastases en inhibant l'angiogenèse tumorale (*m/s* n° 2, vol. 11, p. 284).

Cette fois, la même équipe a analysé plus précisément l'état des cellules cancéreuses dans ce même modèle [4]. De façon assez inattendue, le taux de prolifération des cellules cancéreuses, mesuré par l'incorporation de bromo-désoxy-uridine ou par

la détection du marqueur PCNA (*proliferating cell nuclear antigen*), est sensiblement le même dans les micrométastases quiescentes que dans les métastases qui connaissent une croissance exponentielle ! La mort cellulaire par apoptose a été ensuite évaluée *in situ* en marquant l'ADN fragmenté dans les cellules apoptotiques avec la terminal désoxy-nucléotidyl-transférase. Cette fois, le pourcentage de cellules apoptotiques détectées est trois fois supérieur dans les micrométastases quiescentes ! Lorsque l'angiogenèse est inhibée par injection de l'effeteur pharmacologique TNP-470 après exérèse de la tumeur primitive, les micrométastases restent quiescentes, avec un taux d'apoptose élevé. Ces mêmes observations sont reproduites pour des tumeurs obtenues après injection de cellules de sarcome murin T241. Ces résultats suggèrent que les micrométastases restent « assoupies » parce que le taux de prolifération des cellules cancéreuses est exactement équilibré par le taux d'apoptose. Ces micrométastases se développeraient grâce à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins [5] qui vont fournir aux cellules cancéreuses des facteurs de survie, leur permettant d'échapper à la mort par apoptose.

La simplicité de ces résultats n'est sans doute pas généralisable. Dans un modèle de tumeur mammaire, dont le volume double en deux à trois jours après transplantation chez une souris, le taux de prolifération des cellules cancéreuses varie à l'intérieur de la tumeur. Le nombre de mitoses est plus important à proximité des capillaires néoformés, tandis que les zones avasculaires

contiennent de nombreuses cellules nécrotiques [6]. Dans ce modèle, les capillaires apporteraient les éléments nutritifs ou l'oxygène qui stimulent la vitesse de prolifération des cellules cancéreuses. Par ailleurs, il faut noter que l'apoptose des cellules épithéliales n'est pas contrôlée uniquement par des facteurs de survie solubles, mais aussi par les contacts qu'elles établissent entre elles et avec la matrice extracellulaire. Ainsi une perturbation des interactions entre la matrice extracellulaire et des cellules épithéliales est capable d'induire l'apoptose [7]. Les cellules épithéliales de la glande mammaire meurent d'apoptose lorsqu'elles interagissent avec la fibronectine ou le collagène, alors qu'elles restent vivantes et différenciées en présence de leur membrane basale [8]. Bien que la transformation par Ras rende certaines cellules épithéliales insensibles à l'apoptose en absence de matrice extracellulaire [6], on peut faire l'hypothèse que les cellules cancéreuses meurent d'apoptose au moment de quitter la tumeur primitive parce qu'elles ont rompu les liens qui les associaient à la matrice extra-cellulaire et à leurs voisines.

Il serait maladroite de discuter aujourd'hui de la signification de ces résultats pour les tumeurs humaines, car on ne dispose pas de données cliniques : les micrométastases échappent à l'observation au moment de leur formation, et la mise en évidence des cellules apoptotiques est relativement récente. Reste le concept que le travail de Judah Folkman *et al.* met en valeur : la phase stationnaire « muette » ou « assoupie » d'un système vivant est souvent le résultat

■■■ BRÈVES ■■■

d'un équilibre dynamique entre des processus de construction et des processus de destruction tout aussi actifs. Ce scénario, qui semble valable pour certaines micrométastases, se vérifie pour le virus du SIDA après la phase aiguë d'infection (*m/s* n° 3, vol. 11, p. 486)... et pour des fibroblastes arrêtés en phase G0 dans lesquels les transcrits *c-myc* sont synthétisés à un taux élevé et dégradés avec la même efficacité [9] !

B.V.

1. Crowley NJ, Seigler HF. Relationship between disease-free interval and survival in patients with recurrent melanoma. *Arch Surg* 1992; 127: 1303-8.
2. Demicheli R, Terenziani M, Moliterni A, Zambetti M, Bonadonna G. Local recurrences following mastectomy: support for the concept of tumor dormancy. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 45-8.
3. O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, Chen C, Rosenthal RA, Moses M, Lane WS, Cao Y, Sage EH, Folkman J. Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. *Cell* 1994; 79: 315-28.
4. Holmgren L, O'Reilly MS, Folkman J. Dormancy of micrometastases: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nature Med* 1995; 1: 149-53.
5. Vandenbunder B, Fafeur V, Wernert N, Stéhelin D. Analyse moléculaire de l'angiogenèse tumorale. *médecine/sciences* 1994; 10: 516-27.
6. Tannock IF. Population kinetics of carcinoma cells, capillary endothelial cells, and fibroblasts in a transplanted mouse mammary tumor. *Cancer Res* 1970; 30: 2470-6.
7. Frisch S, Francis H. Disruption of epithelial cell-matrix interactions induces apoptosis. *J Cell Biol* 1994; 124: 619-6.
8. Boudreau N, Sympson CJ, Werb Z, Bissell MJ. Suppression of ICE and apoptosis in mammary epithelial cells by extracellular matrix. *Science* 1995; 267: 891-3.
9. Blanchard JM, Piechaczyk M, Dani C, Chambard JC, Franchi A, Pouyssegur J, Jeanteur P. *c-myc* gene is transcribed at high rate in G0-arrested fibroblasts and is post-transcriptionally regulated in response to growth factors. *Nature* 1985; 317: 443-5.

m/s n° 5, vol. 11, mai 95

■■■ Un nouveau gène soumis à empreinte génomique chez la souris *mash2*. On sait que chez les mammifères les deux génomes, maternel et paternel, sont indispensables à un développement normal. Certains gènes sont en effet « imprimés » dans un des sexes, de sorte qu'ils ne sont exprimés que par le mâle ou la femelle [1]. Les exemples connus proviennent presque tous de la souris ou de l'homme. Une systématisation relative peut être tirée du fait que les embryons parthéno- ou gynogénétiques ont un faible développement des membranes extra-embryonnaires; en outre, dans l'espèce humaine, les fœtus triplodes ont de gros placentas si les deux génomes viennent du père, de petits s'ils viennent de la mère. On a donc tendance à faire l'hypothèse que l'impression, paternelle ou maternelle, intervient dans l'évolution du trophoblaste. On a identifié actuellement neuf gènes de la souris soumis à empreinte. Parmi eux quatre siègent sur le chromosome 7 murin: un, *snrpn*, dans sa partie centrale, les 3 autres, *h19*, *igf2*, *ins2*, à l'extrémité distale. Les embryons, dont les deux parties distales du 7 viennent de la mère, meurent à la fin de la gestation; la mort est plus précoce, vers le 10^e jour, s'ils viennent du père. Dans cette région distale du 7, on a récemment découvert un autre gène appelé *mash2**, qui code pour un facteur de transcription du type hélice-boucle-hélice [2]. Il s'exprime à un niveau élevé dans le trophoblaste, mais aussi dans les ovocytes et les embryons en préimplantation. Une équipe américaine et canadienne [3] a invalidé le gène *mash2* murin dans des cellules ES, transférées ensuite à des embryons. Les homozygotes -/- obtenus dans un deuxième temps meurent tous au 10^e jour fœtal d'insuffisance placentaire. Un travail récent de la même équipe

[4] a montré que la moitié des hétérozygotes +/- mouraient à la même date que les homozygotes déficients. L'analyse de croisements entre hétérozygotes +/- et normaux ++ a montré que lorsque l'allèle maternel était inactivé il n'y avait aucun survivant alors que, si c'était l'allèle paternel, les descendants étaient normaux. Le phénotype, clinique et anatomique, était le même chez les hétérozygotes manquant de l'allèle maternel et les homozygotes déficients. L'étude du développement montre que l'allèle paternel de *mash2* est exprimé au début de l'étape d'implantation; il disparaît progressivement et n'est plus décelable au 9^e jour. Sur les quatre gènes connus localisés sur la partie distale du chromosome 7, deux, *mash2* et *h19*, sont d'expression maternelle, et deux, *igf2* et *ins2*, d'expression paternelle. Les mécanismes de transcription de ces gènes sont incomplètement élucidés. Les auteurs [4] s'efforcent actuellement de préciser l'importance des variations quantitatives de *mash2* dans le trophoblaste, par l'emploi de souris transgéniques chez lesquelles on fait varier la dose de *mash2*. L'article [4] ne fait aucune allusion à l'espèce humaine. On sait qu'il existe des correspondances entre les génomes humain et murin: la partie distale du chromosome 7 de la souris correspond, au moins en partie, au bras court du chromosome 11 humain.

- [1. Dreyfus JC. *médecine/sciences* 1994; 10: 1006-10.]
- [2. Johnson JE, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 3596-600.]
- [3. Guillemot F, et al. *Nature* 1994; 371: 333-6.]
- [4. Guillemot F, et al. *Nature Genet* 1995, 9: 235-42.]

* *Mash*: murine achaete scute homologue.