

Biologie moléculaire des anomalies chromosomiques des hémopathies malignes T chez l'homme

Plus de 50 % des leucémies et lymphomes T sont associés à des remaniements chromosomiques intéressant les gènes codant pour les différentes chaînes des récepteurs pour l'antigène (TcR). Le plus souvent, les cassures siègent à proximité de signaux potentiels de reconnaissance par la recombinaison, système enzymatique catalysant normalement les réarrangements des gènes des chaînes d'immunoglobulines et de récepteur T. La modification de l'expression de gènes intervenant dans le contrôle, positif ou négatif, de la prolifération cellulaire, et localisés à proximité des points de cassure, est probablement impliquée dans l'émergence des clones malins qui sont à l'origine de ces leucémies et lymphomes.

**Christian-Jacques
Larsen**

ADRESSE

C.J. Larsen : directeur de recherche au Cnrs. Inserm U.301, Institut de génétique moléculaire, 27, rue Juliette-Dodu, 75010 Paris, France.

L'examen du caryotype des cellules tumorales montre fréquemment la présence d'anomalies chromosomiques variées dont le recensement systématique a été entrepris au cours de ces dernières années [1]. Certaines d'entre elles sont associées d'une manière quasi constante à des types précis de tumeurs, accréditant l'hypothèse de leur participation à la genèse ou à l'évolution de ces dernières. C'est dans le domaine des hémopathies malignes (leucémies et lymphomes malins) que l'on trouve trois des modèles les mieux étudiés à ce jour : le lymphome de Burkitt et le lymphome folliculaire, deux proliférations lymphoïdes de type B où l'on retrouve le proto-oncogène *c-myc* et le gène *bcl-2* dans le proche voisinage des gènes d'immunoglobulines ;

la leucémie myéloïde chronique (et également une faible proportion de leucémies aiguës myéloblastiques et lymphoblastiques) porteuse du chromosome Philadelphie résultant d'une translocation (9 ;22), qui affecte le proto-oncogène *abl* et le gène *BCR*. On remarque immédiatement une caractéristique commune à ces trois modèles (et généralisable à l'ensemble des accidents chromosomiques affectant les tumeurs) : à l'occasion d'un accident chromosomique, des gènes ou portions de gènes, normalement sans aucune homologie ni proximité géographique, sont mis en contact et placés dans le même domaine de chromatine. Les recherches actuelles cherchent à répondre à deux questions essentielles : (1) quels sont les mécanismes moléculaires qui président aux remaniements illégitimes

mes engendrant les aberrations cytogénétiques ? (2) en quoi ces aberrations retentissent-elles sur la prolifération cellulaire et l'évolution ultérieure des tumeurs ?

C'est bien évidemment dans ce contexte, qu'il convient d'examiner les propriétés oncogéniques ou anti-oncogéniques éventuelles des gènes dont la structure ou l'environnement sont perturbés par ces accidents chromosomiques.

Une majorité des anomalies chromosomiques rencontrées dans les proliférations malignes T humaines, a une caractéristique commune : les points de cassure chromosomique affectent les bandes des chromosomes contenant les gènes de sous-unités des récepteurs de l'antigène (gènes *TcR* pour *T-cell receptor*). On sait que ces gènes appartiennent à la « superfamille » des gènes d'immunoglobulines. Au cours de la différenciation lymphocytaire T, ils subissent des remaniements somatiques qui confèrent aux récepteurs fonctionnels ainsi créés, leur spécificité vis-à-vis d'un antigène [2, 3]. Le principal acteur de ces recombinaisons est une activité enzymatique de type recombinaise qui reconnaît des séquences signal particulières et catalyse les opérations de clivage/collage des différentes régions V, D et J qui composent un gène fonctionnel.

En examinant les résultats des analyses moléculaires d'une vingtaine de translocations d'hémopathies malignes T réalisées à ce jour, il y a tout lieu de croire que, d'une façon très

similaire aux situations observées dans les proliférations malignes de type B, des erreurs de la recombinaise survenant au cours de remaniements somatiques des gènes *TcR* peuvent être tenues pour directement responsables de la plupart des accidents chromosomiques observés. Néanmoins, tous les cas analysés ne tombent pas dans cette catégorie, ce qui laisse la voie ouverte à d'autres mécanismes. Cet exposé fait le point sur les mécanismes de recombinaison et analyse les conséquences des anomalies chromosomiques.

Les anomalies chromosomiques des proliférations malignes T

Le *Tableau I* rassemble les données de l'analyse moléculaire d'accidents chromosomiques non aléatoires de leucémies et lymphomes de type T. Les techniques cytogénétiques ont montré une concentration des points de cassure en des bandes chromosomiques qui contiennent les gènes des sous-unités des récepteurs de l'antigène : bande 14q11 pour les gènes *TcR-α* et *TcR-δ* : bande 7q35 pour le gène *TcR-β*. Par exemple, dans une étude récente portant sur 44 cas de leucémie aiguë lymphoblastique T, la fréquence des accidents affectant les bandes 7q35 et 14q11 atteignait 25 % des cas analysés et 36 % des cas porteurs d'anomalies caryotypiques [4]. La génétique moléculaire a confirmé ces observations en démon-

trant que les remaniements interviennent effectivement au niveau des gènes *TcR-α* et *β* (voir ci-après). La récente description d'une translocation t(7;11)(p15;q32) dans une leucémie aiguë T de l'enfant est à rapprocher de la localisation du gène *TcR-γ* sur la bande 7p15 [5], mais aucune analyse moléculaire n'est encore venue vérifier que le point de cassure touche *TcR-γ*. On peut également noter que la bande 14q32, site du gène de la chaîne lourde d'immunoglobuline (*Ig_H*), est fréquemment affectée par des translocations ou inversions du chromosome 14. D'autres anomalies cytogénétiques touchant l'une des bandes des gènes *TcR-α/δ* et *β* ont été décrites [6]. Très probablement, elles rejoindront les autres cas du *Tableau I* au fur et à mesure de l'analyse moléculaire des chromosomes remaniés.

Des erreurs survenant au cours des recombinaisons somatiques des gènes de récepteurs peuvent engendrer des anomalies chromosomiques

La structure générale des gènes des récepteurs T est conforme à celle des gènes de la superfamille des immunoglobulines (*sur ce sujet, voir les articles publiés dans m/s n° 6, vol. 2, p. 304 ; n° 3, vol. 3, p. 150*). Le gène *TcR-δ*, récemment découvert [7], est inséré

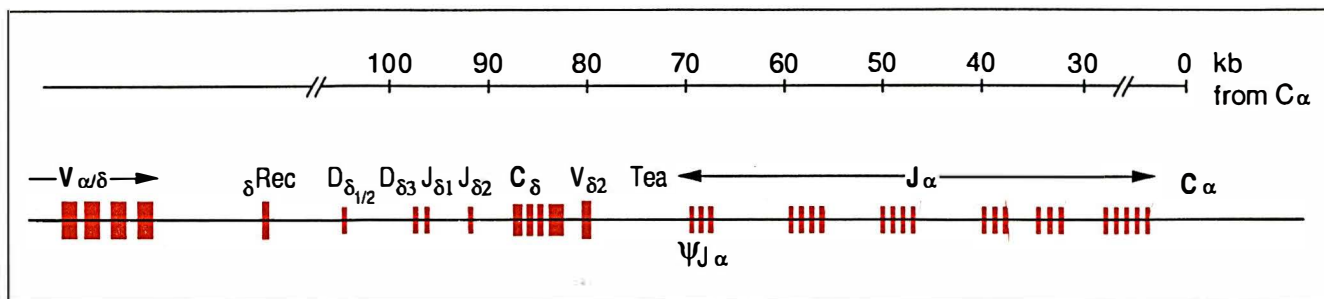


Figure 1. **Représentation schématique du locus des gènes *TcR-α/δ* situé sur la bande 14q11.** *TcR-δ* est inséré entre la région *Vαδ* et la région *Jα* (cette dernière couvrant plus de 85kb). Les éléments *δRec* et *TEA* mentionnés sur le schéma sont des régions sélectivement utilisées pour déléter le locus *TcR-δ* dans les cellules T qui entreprennent de remanier le gène *TcR-α* [33]. Pour être fonctionnel, le gène *TcR-α* doit subir un assemblage *Vα-Jα*.

RÉFÉRENCES

1. Mitelman F. Catalog of chromosome aberrations in cancer (3rd ed). New York : Alan Riss, 1988.
2. Hecht F, Morgan R, Kaiser-McCaw Hecht B, Smith S. Common region on chromosome 14 in T-cell leukemia and lymphoma. *Science* 1984 ; 226 : 1445-7.
3. Rabbitts TH, Lefranc MP, Stinson MA, et al. The chromosomal location of T-cell receptor genes and a T-cell rearranging gene : possible correlation with specific translocations in human T cell leukaemia. *EMBO J* 1985 ; 4 : 1461-5.
4. Berger R, Le Coniat M, Vecchione D, Derré J, Chen SJ. Cytogenetic studies of 44 T-cell acute lymphoblastic leukemias. *Cancer Genet Cytogenet* 1989 (sous presse).
5. Kanebo Y, Maseki N, Homma C, et al. Chromosome translocations involving band 7q35 or 7p15 in childhood T-cell leukemia/lymphoma. *Blood* 1985 ; 72 : 534-8.
6. Raimondi SC, Behm F, Roberson PK, et al. Cytogenetics of childhood T-cell leukemia. *Blood* 1988 ; 72 : 1560-6.
7. Chien YS, Iwashima M, Kaplan KB, Elliott JF, Davis M. A new T-cell receptor gene located within the alpha locus and expressed early in T-cell differentiation. *Nature* 1987 ; 327 : 677-82.
8. Blackwell TK, Alt F. Molecular characterization of the lymphoid V(D)J recombination activity. *J Biol Chem* 1989 ; 264 : 10327-30.
9. Mathieu-Mahul D, Sigaux F, Chen Z, et al. t(18;14) (q24;q11) translocation in a T-cell leukemia (L1-ALL) with c-myc and TcR-alpha chain locus rearrangements. *Int J Cancer* 1987 ; 1986 ; 38 : 835-40.
10. Bernard O, Larsen CJ, Hample A, Mauchauffé M, Berger R, Mathieu-Mahul D. Molecular mechanisms of a t(8;14) (q24;q11) translocation juxtaposing c-myc and TcR- α genes in a T-cell leukaemia : involvement of a V α internal heptamer. *Oncogene* 1988 ; 2 : 195-200.
11. Alt FW. New mechanism revealed (news and views). *Nature* 1986 ; 322 : 772-73.
12. Baer R, Boehm T, Yssel H, Spits H, Rabbitts TH. Complex rearrangements within the human J δ -C δ /J α -C α locus and aberrant recombination between J α segments. *EMBO J* 1988 ; 7 : 1661-8.
13. Bernard O, Guglielmi P, Jonvaux P, et al. Two distinct mechanisms for the SCL gene activation in the t(1 ; 14) translocation of T-cell leukemias. *Genes Chrom Cancer* 1989 (sous presse).

dans le gène *TcR- α* entre la région V α et la région J α (figure 1) (*m/s* n° 10, vol. 5, p. 754 et [8]). Pour mémoire, l'assemblage des segments V, D et J qui rend compte de la spécificité des sous-unités γ/δ ou α/β d'une molécule de récepteur est assuré par un système enzymatique ou recombinaison, qui reconnaît des séquences signal heptamère-nonamère placées respectivement en aval et en amont des segments V et J, et de chaque côté des segments D. En règle générale, la réaction enzymatique obéit à la règle « 12/23 ». En fait, en utilisant des substrats synthétiques de recombinaison, il a été montré que la seule présence d'heptamères bordant deux segments d'ADN est nécessaire et suffisante pour permettre l'assemblage. Ce fait est important pour expliquer la genèse de certains accidents chromosomiques (voir plus loin).

Dans les anomalies chromosomiques des néoplasies de type T, l'examen des chromosomes remaniés confirme que les points de cassure localisés dans les bandes portant les gènes de récepteurs sont effectivement situés au sein de ces gènes (Tableau I). Dans la série d'anomalies chromosomiques analysées, lorsque la cassure intéresse la bande 14q11, elle intervient le plus souvent à proximité d'un segment J α qui couvre près de 100 kb, et moins fréquemment dans la région J δ . Dans le cas d'une translocation apparue secondairement au cours d'une rechute, le point de cassure intéressait un segment V α [9, 10]. Enfin, lorsque les points de cassure sont dans la bande 7q35, c'est la région J β qui est concernée. En revanche, l'absence à ce jour de remaniements du gène *TcR- γ* pourrait signifier que ce gène n'est pas un « point chaud » pour les recombinaisons illégitimes. Il serait intéressant de vérifier ce fait en examinant les rares cas de leucémie aiguë T portant une translocation t(7 ; 14) (p15 ; q32) [5].

Les points de cassure au niveau des gènes *TcR* sont le plus souvent localisés à proximité immédiate d'une séquence signal heptamère-nonamère. Sur le partenaire remanié, le point de cassure est souvent dans le proche voisinage de séquences heptamères (CAC(A/T)GTG) typiques ou très

similaires. On retrouve plus rarement la présence d'une séquence nonamère séparée de l'heptamère par une séquence intercalaire de 12 ou 23 nucléotides.

Un autre élément structural intéressant est la présence au niveau des points de cassure des chromosomes remaniés de séquences plus ou moins longues de nucléotides (jusqu'à 12 et plus) qui ne proviennent ni du locus *TcR* ni du chromosome partenaire. Ce sont très probablement des nucléotides N (*m/s suppl. au n° 1*, vol. 5, p. 5 et p. 8), dont l'addition – au moment de l'assemblage de segments D ou V à un segment J –, est catalysée par une enzyme, la désoxynucléotidyltransférase ou TdT. On sait que l'adjonction de ces nucléotides qui ne modifie pas la phase de lecture, est un mécanisme supplémentaire de diversité des immunoglobulines et des récepteurs.

L'existence de ces deux éléments structuraux — présence de séquences signal et de nucléotides N — suggère une intervention déficiente de la recombinaison à l'occasion d'un remaniement somatique d'un gène *TcR*. Le scénario général serait le suivant : l'enzyme reconnaît un signal heptamère au voisinage d'un segment V, D ou J et un autre heptamère ou une séquence *heptamère-like* sur un autre chromosome ; elle coupe les deux brins d'ADN au niveau de ces heptamères selon le processus de boucle/excision qui préside aux remaniements somatiques des gènes d'immunoglobulines*, puis la terminal-désoxynucléotidyltransférase ajoute une série de nucléotides N avant que les brins d'ADN issus de chaque chromosome ne soient réunis. D'autres mécanismes physiologiques de remaniements somatiques du gène *TcR- α* ont été décrits, dont l'intérêt serait d'accroître la variété des remaniements, en modifiant des segments V α -J α précédemment assemblés et fonctionnels : un segment V α peut, par exemple, venir s'accoler à un segment V α -J α préexistant [11]. En principe, des recombinaisons illégitimes pourraient intervenir à l'occasion de ces événements. De fait, notre laboratoire a récemment décrit une

* C'est la conservation des nucléotides à certaines positions de l'heptamère qui est essentielle à la reconnaissance de la séquence signal par la recombinaison.

Tableau I
ANOMALIES CHROMOSOMIQUES ET MOLÉCULAIRES DES PROLIFÉRATIONS MALIGNES T

Anomalie chromosomique	Maladie	Loci impliqués		Références
		gène TCR	autre gène	
t(8;14)(q24;q11)	LAL (lignées et cellules fraîches)	TcR- α	c-myc(8q24)	Mathieu-Mahul <i>et al.</i> <i>EMBO J</i> 1985 ; 4 : 3427. Shima <i>et al.</i> <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 1986 ; 83 : 3429. Finger <i>et al.</i> <i>Science</i> 1986 ; 234 : 982. Bernard <i>et al.</i> <i>Oncogene</i> 1988 ; 2 : 195.
t(10;14)(q24;q11)	LAL (cellules fraîches)	TcR- α (ou TcR- δ ?)	TCL-3(10q24)*	Kagan <i>et al.</i> <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 1987 ; 84 : 4543. Kagan <i>et al.</i> <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 1989 ; 86 : 4161.
t(11;14)(p13;q11)	LAL (lignées et cellules fraîches)	TcR- α	T-ALL ^{bcr} /tcl-2(11p13)	Boehm <i>et al.</i> <i>EMBO J</i> 1988 ; 7 : 2011.
t(14;14)(q11;q32)	LAL LLC (AT)	TcR- α TcR- α	14q32.1/tcl-1(14q32.1)*	Mengle-Gaw <i>et al.</i> <i>EMBO J</i> 1987 ; 6 : 2273. Mengle-Gaw <i>et al.</i> <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 1988 ; 85 : 9171. Davey <i>et al.</i> <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 1988 ; 85 : 9287. Russo <i>et al.</i> <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 1989 ; 86 : 602.
Inv. 14	LLC LLC (AT) Lymphome T (lignées SUPT1)	TcR- α TcR- α TcR- α	tcl-1 (14q32.1)* IgH (14q32.3)	Mengle-Gaw <i>et al.</i> <i>EMBO J</i> 1987 ; 6 : 2273. Mengle-Gaw <i>et al.</i> <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 1988 ; 85 : 9171. Denny <i>et al.</i> <i>Nature</i> 1986 ; 320 : 549. Baer <i>et al.</i> <i>Cell</i> 1987 ; 50 : 97.
t(1;14)(p32;q11)	LAL (lignée) et cellules fraîches)	TcR- δ	SCL/TCL5 (1p32)	Begley <i>et al.</i> <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 1989 ; 86 : 2031. Bernard <i>et al.</i> <i>Genes Chromos Cancer</i> 1989 (sous presse).
t(11;14)(p13;q11)	LAL (lignées et cellules fraîches)	TcR- δ	T-ALL ^{bcr} /tcl-2 (11p13)	Boehm <i>et al.</i> <i>Oncogene</i> 1988 ; 3 : 691. Harvey <i>et al.</i> <i>Oncogene</i> 1989 ; 4 : 341.
t(11;14)(p15;q11)	LAL (lignées et cellules fraîches)	TcR- δ	Ttg1 (11p15)	Le Beau <i>et al.</i> <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 1986 ; 83 : 9744. Boehm <i>et al.</i> <i>EMBO J</i> 1988 ; 7 : 385. McGuire <i>et al.</i> <i>Mol Cell Biol</i> 1989 ; 9 : 2124.
t(7;9)(q34;q11)	LAL (lignées et cellules fraîches)	TcR- β	tcl-3(9q32)	Westbrook <i>et al.</i> <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 1987 ; 84 : 251. Reynolds <i>et al.</i> <i>Cell</i> 1987 ; 50 : 110. Tycko <i>et al.</i> <i>J Exp Med</i> 1989 ; 169 : 369.
t(7;10)(q35;q24)	LAL (lignée)	TcR- β	10q24 (?)	Boehm <i>et al.</i> <i>EMBO J</i> 1989 ; 8 : 2621.
t(7;14)(q35;q32)	LAL (AT)	TcR- β	tcl-1 (14q32.1)*	Russo <i>et al.</i> <i>Cell</i> 1988 ; 53 : 137.
t(7;19)(q34;p13)	LAL (lignée)	TcR- β	lyl-1(19p13)	Cleary <i>et al.</i> <i>J Exp Med</i> 1988 ; 167 : 682.

LAL = leucémie aiguë lymphoblastique ; LLC = leucémie lymphoïde chronique ; AT = ataxie téléangiectasie. * Locus d'un gène présomptif encore non identifié. Bien qu'elles soient une source de confusion, et en l'absence d'une nomenclature harmonisée, on a gardé les dénominations proposées par les auteurs des références citées, pour les gènes juxtaposés à l'un des gènes TCR.

translocation t (8 ; 14) apparue au cours d'une rechute de leucémie aiguë T [10]. Ses caractéristiques moléculaires nous ont amené à conclure qu'elle s'était constituée au cours d'une tentative de remaniement de TcR- α , par substitution d'un segment V α sur un segment V α -J α déjà assemblé. Dans le même ordre d'idée, on a également décrit des remaniements J α -J α (qui n'obéissent

pas à la règle 12/23) dans des leucémies T portant une translocation t(11 ; 14) [12, 13]. *A priori*, ces remaniements sont postérieurs à l'accident chromosomique et ne devraient donc jouer aucun rôle dans sa genèse. En fait, leur signification réelle est inconnue. Tout aussi inexplicable est le cas des assemblages D δ -D δ -J δ apparaissant au cours des remaniements somatiques des gènes TcR- δ murin

[14] et l'humain [15]. Tout se passe comme si un segment D δ se substituait à un élément V δ . Ce type de remaniement semble précéder les translocations t(11 ; 14) qui intéressent un segment D δ [15].

En résumé, les accidents chromosomiques sont des recombinaisons illégitimes très certainement engendrées par des erreurs de fonctionnement de la machinerie enzymatique spécialisée

RÉFÉRENCES

14. Chien YH, Iwashima M, Westststein DA, *et al.* T-cell receptor δ genes rearrangements in early thymocytes. *Nature* 1987 ; 330 : 722-7.
15. Boehm T, Buluwela L, Williams D, Rabbitts TH. A cluster of chromosome 11p13 translocations found via distinct D-D and D-D-J rearrangements of the human T cell receptor δ -chain gene. *EMBO J* 1988 ; 7 : 2201-7.
16. Bakhshi A, Wright JJ, Graninger W, *et al.* Mechanism of the t(14 ; 18) chromosomal translocation : structural analysis of both derivative 14 and 18 reciprocal partners. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 2396-400.
17. Aurias A, Dutrillaux B. Probable involvement of immunoglobulin superfamily genes in most recurrent chromosomal rearrangements from ataxia telangiectasia. *Hum Genet* 1986 ; 72 : 210-4.
18. Hollis RJ, Kennaugh AA, Butterworth SV, Taylor AMR. Growth and large chromosomally abnormal T-cell clones in ataxia telangiectasia patients is associated with translocations at 14q11. *Hum Genet* 1987 ; 76 : 389-95.
19. Sperry AO, Blasquez VC, Garrard WT. Dysfunction of chromosomal loop attachment sites : illegitimate recombination linked to matrix association regions and Topoisomerase II. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 5497-501.
20. Yancopoulos GD, Blackwell TK, Suh H, Hood L, Alt FW. Introduced T-cell receptor variable region gene segments recombine in pre-B cells : Evidence that B and T-cells use a common recombinase. *Cell* 1986 ; 44 : 251-9.
21. Boehm T, Mengle-Gaw L, Kees UR, *et al.* Alternating purine-pyrimidine tracts may promote chromosomal translocations seen in a variety of human lymphoid tumours. *EMBO J* 1989 ; 8 : 2631-9.
22. Rabbitts TH, Boehm T, Mengle-Gaw L. Chromosomal abnormalities in lymphoid tumours : mechanisms and role in tumour pathogenesis. *Trend Genet* 1988 ; 4 : 300-4.
23. Reinherz EL, Kung PC, Goldstein G, Levey RH, Scholssman SF. Discrete stages of human intrathymic differentiation : analysis of normal thymocytes and leukemic lymphoblasts of T-cell lineage. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980 ; 77 : 1588-91.

dans les remaniements somatiques des gènes *TcR* au moment où les cellules se différencient. Toutefois, ce modèle ne s'applique manifestement pas à tous les cas analysés. Le groupe de Rabbitts, analysant les points de cassure de quatre translocations t(11 ; 14) (p13 ; p13 ; q11) n'a retrouvé que dans un seul cas des séquences heptamères à proximité du point de cassure du chromosome 11 [15]. Pour les trois autres cas, aucun élément structural remarquable ne permettrait d'imaginer un mécanisme causal de l'anomalie chromosomique (il est cependant remarquable que les coupures aient été concentrées dans un segment d'ADN de 0,8 kb). Par exemple, il n'a pas été observé de duplication de séquence dans les chromosomes remaniés, duplications qui s'expliqueraient par un mécanisme de coupures au hasard décalées sur chaque brin d'ADN (figure 2). Ce mécanisme a été invoqué pour expliquer une translocation t(14 ; 18) dans des cellules de lymphome folliculaire [16]. D'autres auteurs, considérant la fréquence de remaniements aberrants des gènes d'immunoglobulines et le grand nombre d'anomalies chromosomiques trouvées chez des malades atteints d'ataxie télangiectasie [17], ont émis l'hypothèse que, chez ces malades, une recombinase anormale pourrait fonctionner de façon déficiente en rajoutant, par exemple, les segments de gènes *TcR* à tout autre fragment d'ADN coupé au hasard [18]. Par ailleurs, le rôle des topoisomérases de type II* peut être suspecté dans les cas où l'on trouve les séquences MAR (séquences qui permettent l'ancrage de l'ADN à la matrice nucléaire où l'enzyme est concentrée) et des séquences consensus de clivage à proximité des points de cassure [19].

Pour que la recombinase puisse remplir sa fonction, il faut que la struc-

ture de la chromatine soit dans un état tel que l'enzyme puisse accéder aux signaux de reconnaissance. Selon Yancopoulos *et al.*, cette condition est remplie lorsque des portions de chromatine (du même chromosome ou de deux chromosomes) sont transcriptionnellement actives au moment de l'événement de recombinaison [20]. Il est toutefois des cas de translocations où aucune transcription des régions remaniées n'a pu être mise en évidence (par exemple, voir [21]). Pour résoudre la difficulté, Rabbitts *et al.* [21] ont invoqué l'importance de segments d'ADN Z (*left-handed DNA*) qui sont constitués par la succession régulièrement alternée de nucléotides puriques et pyrimidiques (pu-py). Il est clair que la structure de la chromatine est localement modifiée lorsque ces segments acquièrent une structure surenroulée négativement. Plus précisément, l'accès de la recombinase aux heptamères *signal-like* qui participent à la recombinaison illégitime peut être facilité. Ce modèle est compatible avec plusieurs résultats expérimentaux : des segments d'ADN Z ont été retrouvés dans le proche voisinage des points de cassure des portions de chromosomes transloquées à proximité de gènes *TcR* [translocations (11 ; 14) ou (7 ; 10)] ; des sites d'hypersensibilité à la désoxyribonucléase 1 (qui reflètent un état ouvert de la chromatine favorisant l'accès à l'ADN) existent à proximité de ces structures ; les dites structures ont également un degré élevé de conservation phylogénique. Finalement, on a montré que les copies d'ADN Z, qui se retrouvent en moyenne toutes les 100 000 bases dans le génome humain, ne sont pas réparties au hasard, ce qui est en accord avec les points de cassure non aléatoires des translocations où la recombinase pourrait intervenir.

Quoi qu'il en soit, les erreurs de la recombinase rendent très probablement compte de la grande majorité des aberrations décrites dans les gènes *TcR*. Comme l'ont noté Rabbitts *et al.* [22], il existe statistiquement environ 200 000 séquences heptamères dans le génome haploïde. Le simple hasard justifierait donc qu'on trouve davantage d'anomalies chromosomiques (à la condition qu'une

* La topo-isomérase de type II joue un rôle essentiel dans l'économie cellulaire en évitant aux molécules d'ADN de devoir être complètement déroulées au cours de la réplication et de la transcription. Elle agit en catalysant des coupures franches sur deux brins d'ADN, permettant le passage du double brin proche, puis recolle ensuite les deux coupures.

molécule de recombinaise se trouve à proximité). Probablement, seules celles qui confèrent aux cellules un avantage sélectif (immortalité, croissance cellulaire facilitée) sont effectivement observées. Les autres sont neutres ou létales.

Sites de cassures chromosomiques et différenciation des lymphocytes

La chronologie des remaniements somatiques des gènes *TcR* dans la lignée lymphoïde T indique que *TcR-γ* et *TcR-δ* sont remaniés les plus précocement dans des thymocytes très immatures alors que les gènes *TcR-α* et *TcR-β* sont réarrangés à des stades plus tardifs. Par ailleurs, l'utilisation d'anticorps monoclonaux spécifiques de marqueurs de surface permet de définir l'immunophénotype précis des cellules. Pour les leucémies T, trois classes ont été définies qui recourent plus ou moins complètement la classification fondée sur la maturation intrathymique proposée par Reinherz [23]. En examinant les remaniements somatiques dans les cellules leucémiques, on est donc en mesure de définir l'état de maturité de ces cellules.

Si le modèle de Yancopoulos *et al.* s'applique, les accidents chromosomiques impliquant un gène *TcR* devraient intéresser d'abord, sur les chromosomes partenaires, des gènes (ou des régions de gènes) qui sont en état d'activité au moment où la cellule qui en est le siège entreprend un remaniement de l'un de ses gènes *TcR*. En d'autres termes, les translocations intéressant *TcR-δ* devraient apparaître dans des leucémies à phénotype immature, cependant que les accidents au niveau de *TcR-α* et *TcR-β* frapperaient sélectivement des leucémies développées aux dépens de cellules plus mûres. Des études cytogénétiques récentes d'hémopathies malignes à cellules T, chez des enfants, ont confirmé que les gènes *TcR* sont préférentiellement remaniés dans les anomalies chromosomiques de ces maladies, mais n'ont pas montré de relation évidente entre un type particulier d'anomalie et un stade précis de maturation cellulaire [4, 6].

Ces anomalies sont-elles importantes dans le processus tumoral ?

L'existence d'erreurs de la recombinaise fournit un mécanisme convaincant des recombinaisons illégitimes, mais n'explique pas pourquoi les cellules porteuses de ces translocations sont leucémiques. Pour tenter de répondre à cette question essentielle, on doit considérer les deux situations découlant de la présence d'une anomalie : l'expression éventuelle de gènes *TcR* anormaux, et l'activation (ou dérégulation) de gènes situés dans le voisinage des zones de cassure chromosomique.

Expression de gènes *TcR* anormaux. Certaines inversions du chromosome 14 (inv 14) intéressent les bandes 14q11 et 14q32.3. Deux d'entre elles, qui provenaient d'un lymphome et d'une leucémie aiguë lymphoblastique (de type B), ont été les préludes à la formation d'un gène hybride, composé d'une partie du gène *TcR-α* et d'un fragment du gène de la chaîne lourde d'immunoglobuline, selon la séquence suivante : 5'-V_H-J_H-C_α-3' [24, 25]. Ce gène, qui a été appelé *IgT*, est transcrit dans certains cas sous la forme d'un ARN chimérique polyadénylé, qui pourrait en principe être traduit puisque les remaniements ont conservé une phase de lecture ouverte [24, 25]. A ce jour, aucune protéine hybride *IgT* n'a été caractérisée. Selon certains auteurs, la protéine, susceptible d'être exprimée à la surface cellulaire, pourrait stimuler la prolifération des cellules qui l'expriment [24]. Selon d'autres, le transcrit ne jouerait aucun rôle [22]. *A priori*, si l'on considère que la présence de transcrits chimeriques *IgT* est limitée aux cellules portant une inversion T, un rôle effectif dans le processus tumoral semble peu plausible.

Activation de gènes proches des points de cassure. Les points de cassure des partenaires des chromosomes portant les gènes *TcR* remaniés ont conduit à identifier une série de *loci* (Tableau II). Dans plusieurs cas, la présence de transcrits qui peuvent être caractérisés par hybridation moléculaire avec des sondes issues de la région remaniée signifie qu'on a affaire à des gènes dont l'expression

a été dérégulée par l'accident. Théoriquement, on peut distinguer trois cas de figures selon que l'accident chromosomique : (a) perturbe la structure du domaine contrôlant la transcription du gène incriminé ; (b) modifie les séquences codantes du gène, entraînant la synthèse d'un produit altéré ; (c) à l'inverse, interrompe totalement la synthèse. Mais la question centrale est bien évidemment de savoir si l'expression anormale de ces gènes (qui peut être aussi une absence d'expression) participe à l'acquisition du phénotype leucémique.

Dans la translocation t(8 ; 14) (q24 ; q11), le proto-oncogène *c-myc* est un candidat évident. L'oncogène viral correspondant, *v-myc*, induit des tumeurs chez l'animal et transforme les macrophages en culture. Un transgène *c-myc* sous contrôle de séquences régulatrices de gène d'immunoglobuline, induit des lymphomes chez la souris. Les quatre translocations t(8 ; 14) des leucémies T analysées à ce jour (Tableau I) sont situées à faible distance en aval de *c-myc* et ne modifient pas la structure du gène [27], comme le montre l'examen de la séquence du gène *c-myc* dans une lignée leucémique T (lignée SKW3) porteuse de la translocation [28]. En ce cas, on peut penser que la juxtaposition à proxi-

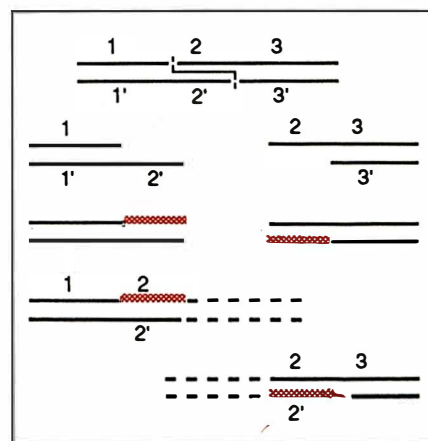


Figure 2. **Schéma de duplication de séquences d'ADN après des coupures décalées du double brin.** Pour rétablir des extrémités franches, un segment d'ADN complémentaire de la portion monobrin est synthétisé. ■ : brin néosynthétisé ; --- : segment d'ADN d'un autre chromosome.

RÉFÉRENCES

24. Denny CT, Hollis GF, Hecht F, *et al.* Common mechanism of chromosome inversion in B and T-cell tumors : relevance to lymphoid development. *Science* 1986 ; 234 : 197-200.

25. Baer R, Forster A, Rabbitts TH. The mechanism of chromosome 14 inversion in a human T-cell lymphoma. *Cell* 1987 ; 50 : 97-105.

26. Adams JM, Harris AW, Pinkert CA, *et al.* The c-myc oncogene driven by immunoglobulin enhancers induces lymphoid malignancy in transgenic mice. *Nature* 1985 ; 318 : 533-8.

27. Mathieu-Mahul D, Caubet JF, Bernheim A, *et al.* Molecular cloning of a DNA fragment from human chromosome 14(14911) involved in T-cell malignancies. *EMBO J* 1985 ; 4 : 3427-33.

28. Finver SN, Nishikura K, Finger LR, *et al.* Sequence analysis of the c-myc oncogene involved in the t(8 ; 14)(q24 ; q11) chromosome translocation in a human leukemia T-cell line indicates that putative regulatory regions are not altered. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 3052-6.

29. Ho IC, Yang LH, Morle G, Leiden JM. A T-cell-specific transcriptional enhancer element 3' of C α in the human T-cell receptor α locus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 6714-8.

30. Shtivelman E, Henglein B, Groitl P, Lipp M, Bishop JM. Identification of a human transcription unit affected by the variant chromosomal translocations 2 ; 8 and 8 ; 22 of Burkitt lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 3257-60.

31. Mengle-Gaw L, Rabbitts TH. A human chromosome 8 region with abnormalities in B cells, HTLV-I⁺ and c-myc amplified tumours. *EMBO J* 1987 ; 6 : 1959-65.

32. Tschlis PN, Shepherd BM, Bear SE. Activation of the Mlvi-1/mis-1/pvt-1 locus in Moloney murine leukemia virus-induced T-cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 5487-91.

33. Erikson J, Finger L, Sun L, *et al.* Dereglulation of c-myc by translocation of the α -locus of the T-cell receptor in T-cell leukemias. *Science* 1986 ; 232 : 884-6.

34. De Villartay JP, Hockett RD, Coran D, Korsmeyer SJ, Cohen DI. Deletion of the human T-cell receptor δ -gene by a site specific recombination. *Nature* 1988 ; 335 : 170-3.

Tableau II
GÈNES IDENTIFIÉS AU NIVEAU DES POINTS DE CASSURE

Chromosomes	Gènes	Expression
1p32	<i>SCL/TCL5</i>	Présence d'un transcrit chimérique avec une portion du 1 tronqué ou présence d'un transcrit normal en grande quantité. Protéine à motif hélice-boucle-hélice Expression dans la moelle osseuse normale
14q32.1	<i>tcl-1/14q32.1</i>	Pas de transcrits détectés à ce jour
10q24	<i>tcl-3</i>	Pas de transcrits détectés à ce jour
11p15	<i>Ttg1</i>	Plusieurs transcrits dont un de 1,4kb codant pour une protéine à doigts (<i>zinc finger protein</i>) de 156 aa, très basique
11p13	<i>T-ALL^{bcr}/tc12</i>	Pas de transcrits détectés à ce jour
8q24	<i>c-myc</i> <i>PVT ?</i>	Transcrits c-myc de taille normale codant pour deux protéines c-myc de 62 kDa et 64kDa
inv 14	<i>TcR-a/IgH</i>	Transcrits chimériques IgT
9q34.3	<i>tcl-3</i>	Plusieurs transcrits dans les cellules leucémiques ; faibles quantités de transcrits de plus grande taille dans les cellules hématopoïétiques sans la translocation
19p13	<i>lyl-1</i>	Transcrit de 1,5kb dans les cellules hématopoïétiques, codant pour une protéine se liant à l'ADN avec un motif hélice-boucle-hélice Transcrit plus petit tronqué en 5' dans une lignée portant la translocation t(7;19)(q34;p13)

mité de *c-myc* de séquences régulatrices de TcR- α active en permanence le gène qui est traduit sous la forme de produits normaux. La récente découverte en 3' de C α d'un élément activateur (*enhancer*) fonctionnant spécifiquement dans des cellules exprimant un récepteur α/δ va dans ce sens, puisque les translocations t(8 ; 14) juxtaposent cet élément à *c-myc* [29].

Un nouveau gène de grande taille, (au moins 200 kb) dénommé *PVT*, vient d'être caractérisé en 3' de *c-myc* en vertu de son activité transcriptionnelle [30]. En fait, cette région du génome - très conservée chez le rat, la souris et l'homme [31] - avait été précédemment caractérisée comme

un site d'intégration préférentielle du génome rétroviral Mo-MuLV chez la souris et chez le rat (site Mlvi-1/mis-1). *PVT* peut avoir un statut d'oncogène puisque les ADN tumoraux des lymphomes de type T induits par l'inoculation du rétrovirus Mo-MuLV à des rats et des souris possèdent une insertion du génome proviral en trois régions de *PVT* [32]. Certaines translocations variantes des lymphomes de Burkitt pourraient dérégler *PVT*, puisqu'elles sont situées à l'intérieur du gène. Dans au moins deux cas de leucémies T portant une translocation t(8 ; 14) ([32] et données de notre laboratoire), il n'a pas été possible de localiser les points de cassure dans le

proche voisinage en aval de *c-myc* (30-40 kb). Si le point de cassure était situé plus en aval, il serait positionné dans le *locus PVT*. Le rôle de PVT dans la genèse de proliférations T, tant chez l'animal (lymphomes thymiques) que chez l'homme, doit donc être sérieusement considéré.

Pour ce qui est des autres gènes intéressés par les anomalies chromosomiques, et dont la nomenclature devrait être clarifiée, il faudra attendre de connaître plus précisément leur structure et celle des produits pour lesquels ils codent. Le cas du gène *Tig1*, localisé en 11p15, est intéressant car son produit est une protéine à doigts (*zinc-finger protein*) et pourrait donc être un facteur transactivateur. *Lyl-1*, situé en 19p13, est également intéressant, car son produit contient un motif structural « hélice-coude-hélice » qui pourrait lui conférer une affinité pour l'ADN. A noter qu'un motif similaire existe dans la séquence des protéines *c-myc*.

Les gènes *SCL/TCL5* et *lyl-1* sont exprimés d'une manière différentielle dans les cellules hématopoïétiques, et pourraient donc participer à des étapes spécifiques de la différenciation hématopoïétique. Si tel est le cas, leur dysfonctionnement pourrait bloquer la différenciation et donc intervenir directement dans le processus leucémogène (rappelons qu'une leucémie est classiquement définie par une prolifération cellulaire anarchique et un blocage de la différenciation). Finalement, il est des cas d'accidents chromosomiques dont on ne peut affirmer qu'ils ont perturbé l'organisation d'un gène (ou son environnement), puisque l'on n'a retrouvé aucune trace de transcription des régions remaniées, ni dans les cellules leucémiques ni dans les cellules normales. L'accumulation des points de cassure dans la bande 14q32.1 (*Tableau 1*) a servi d'argument pour incriminer un gène hypothétique, dénommé *tcl-1* ou *14q32.1*, dans la genèse de certaines hémopathies malignes. Dans deux cas, les points de cassure ont été localisés à 2 kb l'un de l'autre, mais l'analyse des autres cas n'a pas permis d'identifier une région particulière d'ADN. Par ailleurs, on n'a pas détecté de transcript avec des sondes spécifiques des portions où avaient été localisés les

points de cassure. En tout état de cause, plusieurs auteurs (voir par exemple [22]) pensent que certaines anomalies chromosomiques clonales [translocations (7 ; 14), (14 ; 14) ; inversion 14] des malades atteints d'ataxie télangiectasie pourraient remanier un gène de la bande 14q32.1. En conséquence, les cellules des clones porteurs des anomalies bénéficieraient d'un avantage prolifératif et seraient (parfois très tardivement) la cible d'autres événements génétiques les faisant évoluer par bonds successifs vers la malignité.

Conclusions

La présence d'anomalies chromosomiques stéréotypées associées à des types particuliers de proliférations malignes de type T, s'ajoutant au fait que certains des gènes altérés par ces anomalies ont un rôle oncogène avéré ou correspondent à des protéines régulatrices, incite à croire qu'ils interviennent à l'une des étapes de la transformation maligne. Pour le démontrer formellement, il faudra recourir à des tests fonctionnels, par exemple en créant des lignées de souris transgéniques exprimant des gènes altérés. Cette approche a été récemment utilisée pour étudier un gène *bcl-2* modifié dans les translocations t(14 ; 18) ; elle a permis de démontrer que *bcl-2* joue effectivement un rôle dans la genèse des lymphomes folliculaires. Par ailleurs, il est clair que les gènes isolés par le biais de ces translocations constituent des outils remarquables pour étudier les mécanismes moléculaires de la différenciation lymphocytaire et aussi pour comprendre les conséquences des accidents chromosomiques dans le fonctionnement des gènes. En outre, ces modèles peuvent nous apporter des informations importantes sur des mécanismes régulateurs de l'expression génique. ■

Remerciements

Je tiens à exprimer mes remerciements à Danièle Mathieu-Mahul, Roland Berger et Olivier Bernard qui ont grandement contribué à la rédaction de ce texte, et Cécile Czapek pour la mise en page du manuscrit.

Summary

Molecular analysis of chromosome abnormalities occurring in human T-cell malignancies

A significant proportion of T-cell malignancies is characterized by cytogenetic nonrandom aberrancies that mainly involve chromosome bands where T-cell receptors (TcR) genes have been mapped. In most of the cases, the presence of recombinase signal (or signal-like) sequences at close proximity of the breakpoints on both partner chromosomes, makes it likely that these accidents occurred as a consequence of recombinase mistakes during the course of TcR gene somatic rearrangements. The generation of chromosomal aberrations can be explained by transcriptional activity of the genes involved in the accidents, but silent genes may also be implicated if they are accessible to recombinase. As a consequence, rearranged genes may acquire a true oncogenic status ; elsewhere, their ability to control normal cell proliferation is abolished, or they cannot anymore participate to the normal T-cell differentiation pathway. The knowledge of the normal functions of these genes should provide important clues to understand their possible role in the malignancy.

TIRÉS À PART

C.J. Larsen.