

Chromosome 3p, gènes suppresseurs de tumeurs et gènes de sémaphorines en 3p21.3

Joëlle Roche
James West
Robert Gemmill
Harry Drabkin

Des anomalies affectent le chromosome 3p humain dans différents types de cancer, dont les cancers pulmonaires. Trois régions de délétions chromosomiques sont observées en 3p25, 3p21.3 et 3p12-14 et la fréquence élevée de perte d'hétérozygotie dans les tumeurs suggère la présence d'un ou de plusieurs gènes suppresseurs de tumeurs dans ces régions. Si un gène suppresseur, le gène *VHL* (*von Hippel Lindau*), a été localisé en 3p25, la présence d'autres gènes suppresseurs en 3p21.3 et 3p12-14 n'a pas encore été démontrée. La région 3p14.2 inclut le site de la translocation t(3;8) associée au cancer héréditaire du rein, le site fragile commun *FRA3B* et le gène suppresseur de tumeur supposé *FHIT*, mais les délétions observées de façon récurrente pourraient résulter d'une instabilité génomique de la région. Dans la région 3p21.3, sont localisés le gène *GNAI2* codant pour une sous-unité d'une protéine G inhibitrice et le gène de la sémaphorine IV. Outre leur rôle dans le guidage des axones, les sémaphorines pourraient être impliquées dans la différenciation et la reconnaissance cellulaires.

ADRESSES

J. Roche: professeur à l'Université de Poitiers. IBMIG, Université de Poitiers, 40, avenue du Recteur-Pineau, 86022 Poitiers Cedex, France. J. West: Ph.D., biologiste informaticien. R. Gemmill: associate professor. H. Drabkin: associate professor. University of Colorado, health sciences center, Division of medical oncology, Box B171, 4200 East Ninth Avenue, Denver, CO 80262, États-Unis.

Le cancer du poumon est l'une des premières causes de mortalité dans les pays développés. Un certain nombre d'altérations génétiques affectent des proto-oncogènes tel *MYC* ainsi que des gènes suppresseurs de tumeurs comme *RB* et *P53*. En outre, d'autres anomalies impliquent des délétions et des amplifications chromosomiques (pour mise au point récente, voir [1]): des études cytogénétiques et des analyses de perte d'hétérozygotie (LOH) ont mis

en évidence des délétions affectant la région 3p dans des lignées cellulaires provenant de carcinomes du poumon à petites cellules (SCLC), ces altérations étant un événement précoce dans le développement des tumeurs (pour revue, voir [2]). Les tumeurs de phénotype SCLC mettent en jeu des cellules pulmonaires d'origine épithéliale qui synthétisent des marqueurs de différenciation neuroendocrine comme l'énolase spécifique des neurones. La fréquence de perte d'hétérozygotie

de la région 3p atteint pratiquement 100 % des cas; cette fréquence est réduite à environ 75 % dans le cas de tumeurs pulmonaires qui ne sont pas à petites cellules, NSCLC [3, 4]. Cette perte d'hétérozygotie est principalement localisée dans 3 régions: 3p25, 3p21.3 et 3pcen-3p14 (figure 1). Ces observations ont conduit à l'hypothèse qu'un ou plusieurs gènes suppresseurs de tumeurs résident sur le chromosome 3p [2].

Dans le cas de la région 3p25, la présence du gène suppresseur *VHL* (von Hippel Lindau) [5], a été clairement montrée. Ce gène code pour un effecteur négatif de l'élongation de la transcription [6] et son inactivation prédispose les individus à différents cancers dont le carcinome rénal.

Dans le cas des régions 3p21.3 et 3pcen-3p14, le transfert d'ADN provenant de ces régions permet de réduire l'apparition de tumeurs chez des souris immunodéficientes [7, 8]. Cependant, les nombreuses données expérimentales n'ont pas encore permis de caractériser sans ambiguïté un gène suppresseur [2].

Cet article a pour objectif de présenter une mise au point des connaissances concernant la recherche de gènes suppresseurs de tumeurs sur 3p. Dans une première partie, nous décrivons les caractéristiques des régions 3pcen-3p14 et 3p21.3, l'accent sera plus particulièrement mis sur la description de la région 3p21.3. Ensuite, nous exposerons les propriétés des sémaphorines dont deux gènes sont localisés en 3p21.3.

Ces gènes étant inclus dans une région qui présente un effet antitumoral, nous discuterons leur participation éventuelle au développement des tumeurs.

Cartographie des régions 3p14.2 et 3p21.3

Région 3p14.2

La perte d'hétérozygotie de la région 3p12-14 est fréquente dans les cas de carcinomes du rein, du col de l'utérus, de la gorge et du nasopharynx. Cette région complexe inclut le site de la translocation t(3;8) (p14.2;q24.1) impliquée dans le cancer héréditaire du rein [9, 10], ainsi que le site fragile commun *FRA3B* [11]. En fait, ce site fragile représente une région d'environ 200 kb plutôt qu'un point unique de fragilité. En effet, il contient des sites de cassure induits par l'aphidicoline ainsi que les sites d'intégration du vecteur pSV2Néo et du virus du papillome humain HPV16 [2, 12].

Nous avons pu mettre en évidence, dans la région du marqueur *D3S1300* et à sa proximité, une série de délétions homozygotes dans des lignées cellulaires provenant de carcinomes du col de l'utérus et du côlon et, à une fréquence moindre, dans des lignées de carcinomes du poumon et du sein [12]; la taille de la plus courte séquence d'ADN délétée est d'environ 40 kb. Pendant notre étude, le gène *FHIT* (*fragile histidine triad*) a été cloné et localisé de part et d'autre du site de translocation t(3;8) [13]. La protéine codée par ce gène présente 50 % d'analogie avec le produit du gène *Aph1p* de levure. Ce dernier code pour une pyrophospho-hydrolase diadénosine tétraphosphate dont la fonction est de cliver de façon asymétrique un dinucléotide, la diadénosine 5', 5''-P¹,P⁴-tétraphosphate (Ap₄A), en ATP et AMP. La fonction de Ap₄A n'est pas clairement établie, mais il semble que cette molécule soit impliquée dans la réplication et la réparation de l'ADN ainsi que dans la prolifération cellulaire. Le gène *FHIT*, composé d'au moins 10 exons, s'étend sur 500 kb; seul l'exon 5 de ce gène est localisé dans la région de délétions homozygotes que nous avons décrites [12]. Ohta *et al.* ont montré

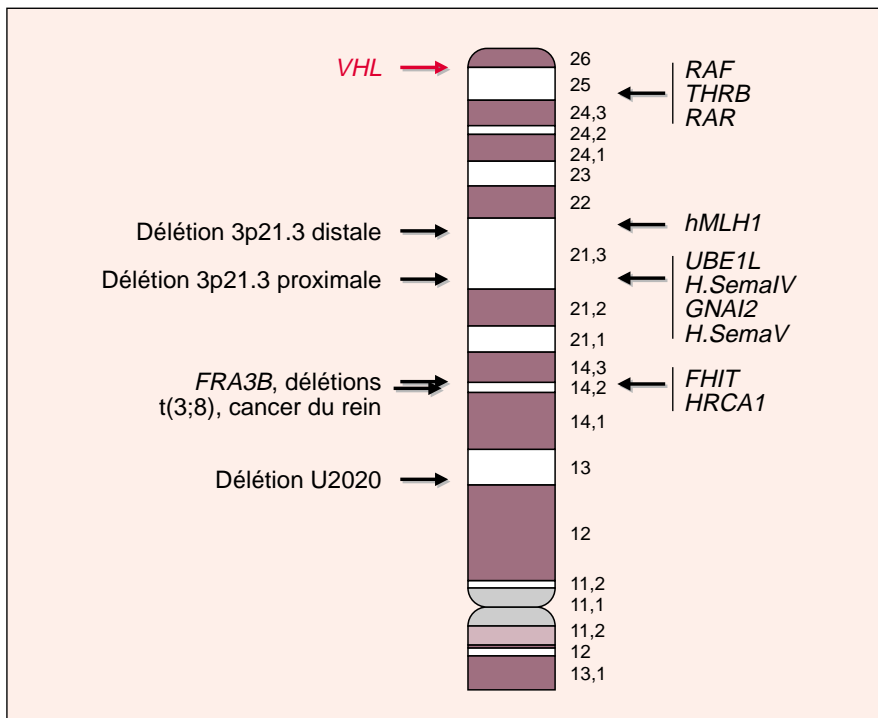


Figure 1. **Chromosome 3p humain.** Les régions de délétions homozygotes sont indiquées sur la partie gauche de la figure. La première délétion homozygote a été décrite dans la lignée SCLC, U2020 [45]. Les gènes candidats impliqués dans le développement de tumeurs sont indiqués sur la partie droite [1]: RAF (gène de la protéine-kinase Raf), THRB (gène du récepteur β de l'hormone thyroïdienne), RAR (gène du récepteur de l'acide rétinolique), hMLH1 (gène d'une protéine de réparation de l'ADN), UBE1L (ou D8, code pour une enzyme d'activation de l'ubiquitine), SemaIV et SemaV (gènes de sémaphorines), GNAI2 (gène de la sous-unité de la protéine Gi2), FHIT (gène de la pyrophospho-hydrolase diadénosine tétraphosphate), HRCA1 (hereditary renal carcinoma associated-1 gene). Le gène *VHL* (von Hippel Lindau) est le seul pour lequel la fonction de suppresseur de tumeurs soit clairement établie.

que l'expression de ce gène était altérée dans environ 50 % des cas de carcinomes de l'œsophage, de l'estomac et du côlon et ils ont émis l'hypothèse que *FHIT* serait un gène suppresseur de tumeurs [13].

Cependant, un certain nombre d'observations allant à l'encontre de cette hypothèse [2, 12], des études *in vivo* sont nécessaires pour montrer le rôle de *FHIT* dans le développement des tumeurs, au niveau de la croissance ou de la différenciation cellulaires.

Le séquençage de l'ADN a mis en évidence une analogie entre la teneur et la composition en éléments répétés d'une région de 110,4 kb de *FRA3B* et celles de la région de 152 kb du chromosome X, impliquée dans le syndrome de l'X fragile [12]. Cette dernière contient le site fragile *FRA3A*. De même, la région impliquée dans le syndrome de l'X fragile et le site fragile *FRA3B* sont riches en AT (63 %) et pauvres en gènes. L'hypothèse de la présence d'un gène suppresseur en 3p14 avait été initialement proposée. Mais la présence et la caractérisation des délétions en 3p14 suggèrent plutôt une instabilité génomique de cette région que la perte sélective d'un gène suppresseur. En effet, cette hypothèse expliquerait l'existence de délétions discontinues dans des tumeurs et la présence de délétions dans des échantillons non tumoraux.

Carte physique de la région 3p21.3

La région 3p21.3 présente des délétions homozygotes dans des lignées SCLC; on la subdivise en deux sous-régions, proximale et distale. La carte physique de la région proximale a été réalisée à partir de l'ADN de trois lignées cellulaires provenant de carcinomes du poumon à petites cellules, NCI-H740 [14], GLC20 [15] et NCI-H1450 [16]. L'ADN de ces trois lignées cellulaires présente une délétion homozygote dans la région proche du marqueur *D3F15S2*, ce qui conduit à la délétion du gène *GNAI2* codant pour la sous-unité $G\alpha i2$ d'une protéine G hétérotrimérique [17]. Les bordures télomériques de ces trois délétions sont localisées près d'un point de cassure se produisant spontanément dans l'hybride somatique de radiation 2A3-CT, et cette région est particulièrement instable.

Leurs extrémités centromériques se situent près du point de la translocation t(3;7) impliquée dans le syndrome de Greig (*figure 2A*). La taille de la région commune délétée dans les trois lignées étudiées est d'environ 450 kb, elle correspond à la délétion de la lignée GLC20 (*figure 2B*).

Des délétions homozygotes dans cette région ont également été mises en évidence directement dans des tumeurs du poumon et non plus uniquement dans des lignées cellulaires en culture [4].

La zone de délétion distale a été observée dans cinq lignées provenant de cancers pulmonaires [18], puis dans deux tumeurs du poumon [16]. De taille estimée à 800 kb [18], elle est située en 3p21.3-p22 à 15 cM de la délétion impliquant le gène *GNAI2* [16]. Des études complémentaires sont nécessaires pour définir ses limites de façon plus précise. Il est intéressant de remarquer que le gène de réparation de l'ADN, *hMLH1* [19] impliqué dans le cancer du côlon, est situé à proximité immédiate de cette délétion distale. Cependant, nous n'avons pas pu mettre en évidence des ramifications importants de ce gène dans 24 lignées tumorales et 25 tumeurs pulmonaires testées [16].

Gènes de la région 3p21.3

Plus de 50 gènes ont été cartographiés en 3p21 dont plusieurs codant pour des protéines à doigts de zinc. Aucun gène n'a pour l'instant été décrit dans la région de délétion 3p21.3 distale, mais on en a localisé plusieurs dans la région 3p21.3 proximale [2]. Nous ne décrivons ici que les gènes présents dans la région délétée commune aux trois lignées SCLC décrites.

Le gène *GNAI2* code pour la protéine $G\alpha i2$, l'une des trois isoformes de $G\alpha i$, responsable de l'inhibition de l'activité adényl cyclasique et de la stimulation de canaux potassiques dépendant de l'ATP. Cette protéine est aussi impliquée dans des phénomènes plus complexes comme la prolifération des fibroblastes ou la stimulation de MAP-kinases. Le gène *GNAI2* pourrait donc représenter un bon candidat comme gène suppresseur de cancer. A l'encontre de cette hypothèse, Daly *et al.* [14] ont montré par RT PCR, que ce gène était

exprimé dans 14 lignées cellulaires provenant de cancer du poumon mais aucune étude de mutation ponctuelle n'a été réalisée par ces auteurs dans ces lignées. Cependant, des mutations qui modifient l'activité GTPase ont été décrites dans des tumeurs de la thyroïde et de l'ovaire. En outre, des souris rendues déficientes en $G\alpha i2$ développent une maladie inflammatoire du gros intestin qui évolue vite vers la colite ulcéreuse et l'adénocarcinome [20]. Le développement d'un adénocarcinome pourrait cependant résulter des processus inflammatoires et les résultats devraient être comparés à ceux obtenus dans des conditions d'élevage stérile des animaux.

Des expériences de capture d'exons (*exon trapping*) nous ont permis d'isoler un ADNc que nous avons appelé *SemaIV* et qui code pour une nouvelle protéine de la famille des sémaphorines/collapsines [16], famille dont les caractéristiques et les fonctions seront décrites dans le prochain paragraphe. Le même ADNc a été cloné et nommé *SEMA3F* par le groupe de Naylor [21]. En outre, dans cette même région, un second gène de la famille des sémaphorines (*SemaV*) a été cloné par le groupe de Minna [22]. Le gène *GNAT-1*, qui code pour la transducine, une protéine fixant le GTP exprimée uniquement dans la rétine, a été localisé à proximité [22]. La région minimale de délétion en 3p21.3 contient donc une zone de duplication où, dans un fragment de 70 kb, deux gènes codant pour des protéines fixatrices de GTP sont flanqués de deux gènes codant pour des sémaphorines.

Une carte transcriptionnelle de la région 3p21.3 a été récemment publiée à partir de la construction d'un *contig* de cosmides de 600 kb [23] où 15 séquences potentiellement transcrites et 18 îlots CpG ont été positionnés. Cette carte confirme la présence et les positions relatives des deux gènes *SemaIV* et *SemaV* ainsi que des deux gènes *GNAI2* et *GNAT-1*. Un autre ADNc (*LuCa*), qui code pour une protéine dont la fonction reste à définir, est situé dans la région commune et minimale de délétion.

Au cours des derniers mois, le *Genome Center* de l'Université de Washington (Saint Louis, MI, USA) a engagé un programme de séquen-

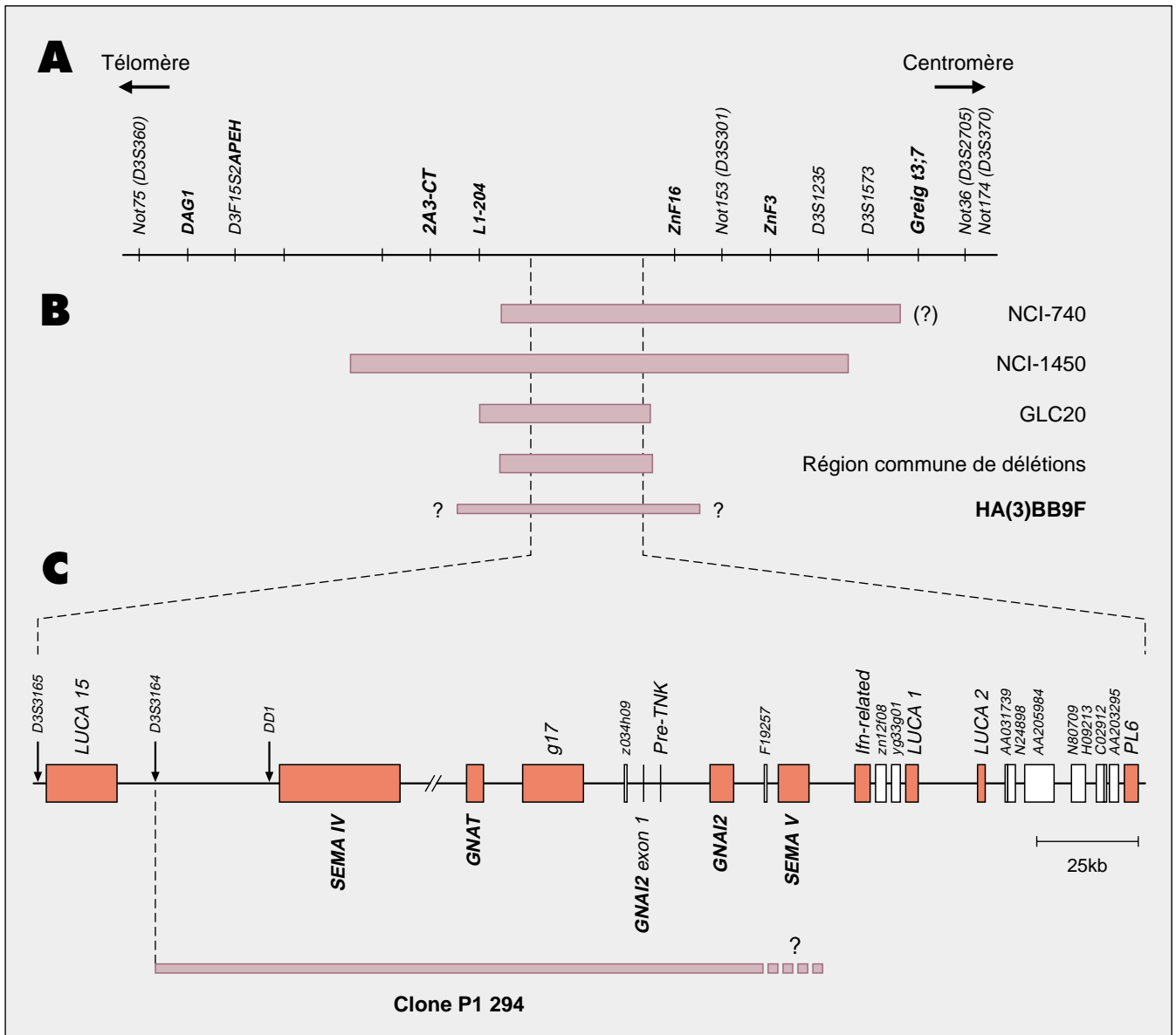


Figure 2. **Carte de la région proximale 3p21.3.** **A.** Carte physique de la région. **B.** Représentation des délétions homozygotes des lignées SCLC (NCI-740, NCI-1450 et GLC20), de la région commune de délétion et du fragment de 2 Mb de la lignée hybride, HA(3)BB9F, possédant l'activité antitumorale. Les points d'interrogation représentent l'incertitude au niveau des limites des délétions. **C.** Carte transcriptionnelle de la région commune de délétions. Les séquences ont été obtenues à partir du serveur du département de génétique de l'Université de Washington (<ftp://genome.wustl.edu/pub/gsc1/sequence/st.louis/human/>) et comparées aux séquences de Genbank (nr et EST) au moyen de BLASTn: séquences transcrites identifiées (rectangles rouges) et groupes d'ADNc non identifiés (rectangles blancs). Le gène g17 code pour un transporteur (U49082). La localisation du clone P1 294 à l'effet antitumoral est indiquée dans la dernière partie de la figure; elle est déduite des indications fournies par les travaux du groupe de Naylor [24].

çage systématique de la région 3p21. L'accès aux séquences données dans les banques nous a permis d'établir la carte où sont localisés un certain nombre de gènes et de séquences potentiellement transcrites (figure 2C). Une publication récente du groupe de Naylor [24] apporte des argu-

ments forts concernant la présence éventuelle d'un gène suppresseur de tumeurs dans la région 3p21.3. En effet, ces auteurs ont pu réduire la région d'intérêt de 2 Mb à un fragment d'ADN de 80 kb cloné dans un vecteur P1 (figure 2C) et ils ont montré que ce fragment était suffisant

pour la suppression de la croissance tumorale *in vivo*. Selon la carte présentée par les auteurs, les gènes *SemaIV* et *GNAI2* seraient présents dans ce fragment de 80 kb [2, 24]. Il nous semble donc intéressant de présenter les caractéristiques et les propriétés des sémaphorines.

Les sémaphorines/ collapsines

Ces protéines sont exprimées dans de nombreuses espèces, des insectes aux mammifères. Ce sont, soit des protéines de surface membranaires, soit des protéines excrétées [25-27]. Elles présentent des caractéristiques communes : une taille d'environ 750 acides aminés, un domaine conservé appelé domaine « Sema » d'environ 500 acides aminés caractérisé par la présence de 14 à 16 cystéines, plusieurs blocs d'acides aminés conservés et un site potentiel d'amino-glycosylation. Elles sont classées en cinq familles en fonction de

la présence d'un domaine de type immunoglobuline (69 acides aminés), de motifs thrombospondine et/ou d'un domaine transmembranaire (figure 3). Des analogies de séquences au niveau du domaine « Sema » ont été trouvées dans des protéines virales d'un virus herpès [28] ainsi que chez des poxvirus (virus de la vaccine et de la variole) [25]; les sémaphorines des poxvirus ne possèdent qu'une forme tronquée de ce domaine. On estime qu'il existe une vingtaine de sémaphorines différentes chez l'homme.

Les sémaphorines IV et V appartiennent à la classe III (présence d'un domaine de type immunoglobuline

et séquence carboxy-terminale riche en acides aminés basiques). L'analogie la plus forte est celle qui existe entre la protéine SemaIV et la sémaphorine murine SemE, les protéines SemaIIID (humaine et murine) et leur équivalent chez le poulet, la collapsine I (figure 4). Ces sémaphorines sont excrétées et interviennent au cours du développement dans la croissance de certains neurones et leur guidage : ce sont des effecteurs présentant un effet répulsif sur le guidage des cônes de croissance ([29, 30] et revues [26, 27, 31-33]).

Quelle est la fonction de la protéine SemaIV?

Pour l'instant, nous ne la connaissons pas. Son gène est exprimé sous la forme d'un transcrypt qui subit un épissage alternatif; la forme majoritaire de 3kb est présente dans plusieurs tissus humains fœtaux et adultes, notamment le poumon. Il semble peu probable que cette protéine soit impliquée uniquement dans des fonctions neuronales; elle pourrait l'être également dans des phénomènes de différenciation, de reconnaissance, d'adhérence et/ou de migration cellulaires. Différentes observations vont d'ailleurs dans le sens d'un rôle plus large des sémaphorines: (1) on dénombre chez l'homme environ une vingtaine de sémaphorines; (2) l'invalidation par recombinaison homologue du gène *SemaIII* chez la souris a montré que la sémaphorine III est nécessaire non seulement au développement du tissu nerveux mais aussi à celui des os et du cœur [34]; (3) les motifs thrombospondine présents dans les sémaphorines de classe V entrent dans la composition de la matrice extracellulaire [35]; (4) la présence de protéines contenant le motif Sema chez des virus suggère qu'elles auraient une fonction dans l'immunosuppression [25]; (5) la sémaphorine CD100 induit l'agrégation des lymphocytes B et améliore leur viabilité *in vitro* [32, 36]; cette sémaphorine jouerait donc un rôle dans le fonctionnement du système immunitaire; (6) le rôle de la sémaphorine E humaine dans le développement de la résistance aux drogues (non MDR) dans les cancers vient d'être rapporté par Yamada *et al.* [37].

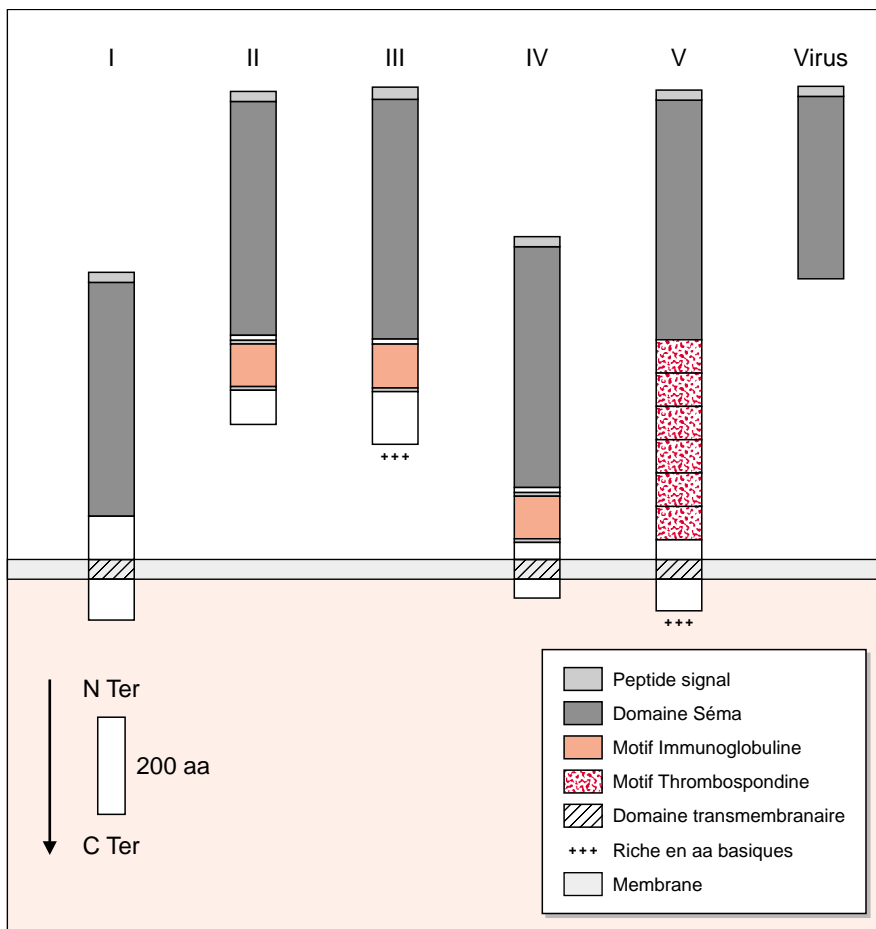


Figure 3. Représentation des cinq familles de sémaphorines et de la forme virale des poxvirus. Le schéma publié par Püschel et al. [27] a été adapté en y incluant la forme virale des poxvirus. Les différents domaines sont représentés à l'échelle et les protéines sont localisées par rapport à la membrane cellulaire: les formes II, III et virales sont sécrétées et les formes I, IV et V sont membranaires. Les extrémités carboxy-terminales des formes membranaires sont cytoplasmiques. aa: acides aminés, N-Ter: extrémité amino-terminale, C-ter: extrémité carboxy-terminale.

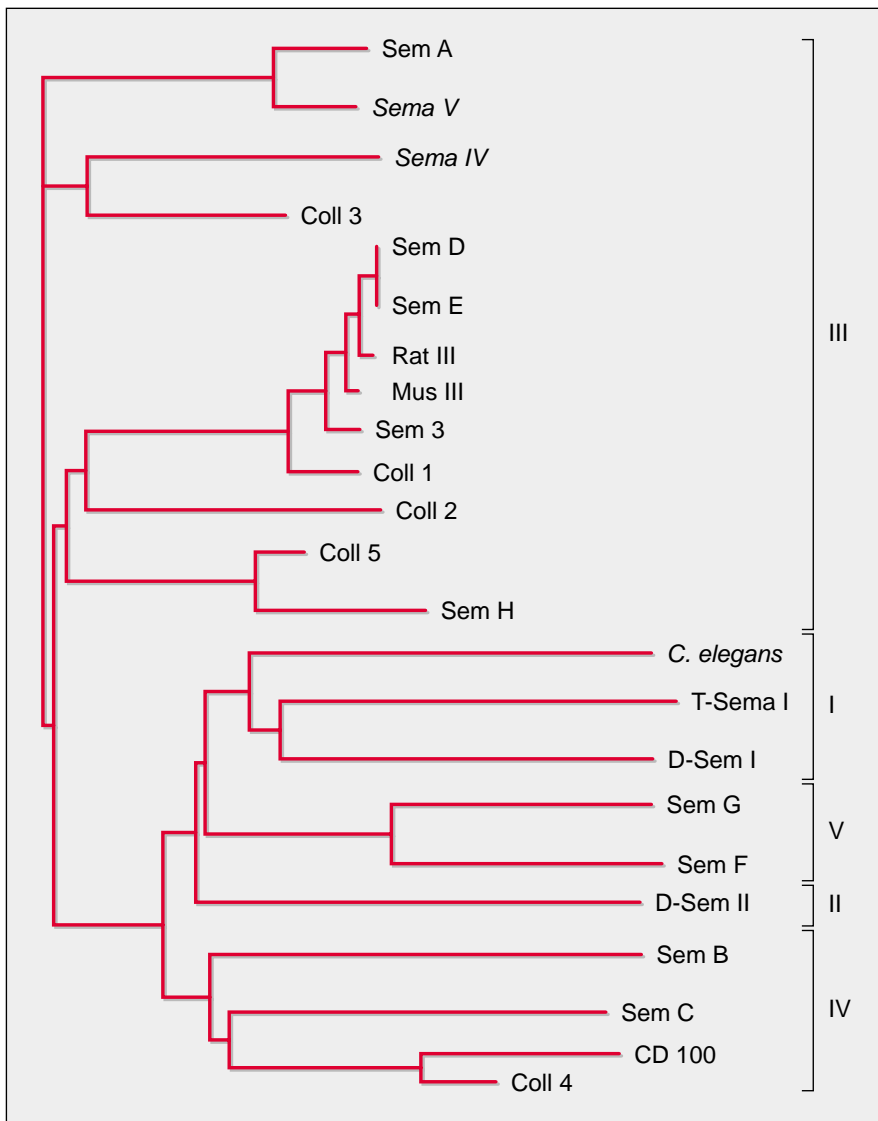


Figure 4. **Arbre phylogénétique des sémaphorines.** Les séquences protéiques ont été obtenues par Genbank et l'arbre phylogénétique a été construit selon la méthode de Saitou et Nei [46]. Les chiffres romains sur la droite de la figure indiquent les différentes familles de sémaphorines.

Quel est le mode de fonctionnement des sémaphorines ?

On en connaît peu de choses pour l'instant, mais l'existence de deux groupes de protéines sécrétées et transmembranaires suggère qu'elles fonctionneraient, soit localement, soit à distance. Dans le cas des sémaphorines sécrétées, le domaine carboxy-terminal basique leur permettrait d'établir des liaisons avec des charges négatives sur la matrice extracellulaire ou sur la membrane cellulaire. Le domaine immunoglobuline pourrait contribuer à l'établis-

sement d'interactions avec d'autres protéines. Les récepteurs de sémaphorines sécrétées ont été récemment clonés et identifiés : il s'agit de la neuropiline-1 et de la neuropiline-2 [38-41].

Dans le cas de la collapsine I (Coll I) de poulet, l'homologue de SemaIV, on a isolé un médiateur intracellulaire, le CRMP-62 (*collapsin response mediator protein*) [42]. Il est l'analogue de la protéine neuronale UNC-33 de nématode et il serait un intermédiaire entre Coll I et une protéine G ; la collapsine activerait une cascade de transmission du signal par l'inter-

médiaire de protéines G trimériques. Cependant, le récepteur de Coll I reste pour l'instant inconnu [38-41]. Par ailleurs, on a identifié un récepteur des nétrines, autre classe de protéines impliquées dans le guidage des neurones [32, 33]. Il s'agit d'une protéine transmembranaire de la superfamille des immunoglobulines codée par le gène *DCC* (*deleted in colorectal colon*) [43]. Bien que la fonction de suppresseur de *DCC* vienne d'être remise en cause par des expériences d'inactivation de ce gène chez la souris (*m/s n° 2, vol. 13, p. 245*) [44], il est toutefois intéressant de noter que deux gènes, *DCC* et *Sema*, tous deux impliqués dans le contrôle du développement des cônes de croissance des neurones, sont localisés dans des régions chromosomiques soumises à des délétions dans deux types différents de tumeurs.

Les sémaphorines dans les cellules tumorales

Des études de séquençage d'ADNc obtenus par RT-PCR à partir de 28 lignées SCLC n'ont mis en évidence que des polymorphismes de l'ADN des gènes *SemaIV* et *SemaV* [21]. L'analyse de 120 lignées tumorales n'a pas montré de réarrangements des gènes codant pour les sémaphorines [22] sauf dans le cas des trois lignées SCLC décrites qui présentent une délétion homozygote des gènes *SemaIV* et *SemaV*; le gène *SemaIV* est exprimé dans un plus grand nombre de lignées SCLC étudiées que le gène *SemaV* [22]. Cependant, l'expression de *SemaIV* présente des variations, d'une part, au niveau de la quantité d'ARN messager et, d'autre part, au niveau du rapport des deux formes d'ARNm obtenues par épissage alternatif [16]. La signification de ces variations n'est pas comprise pour l'instant.

Les gènes *SemaIV*, *SemaV* et *GNAI2* sont localisés dans une région soumise à des pertes d'hétérozygotie et à des délétions homozygotes et ils sont donc des gènes candidats intéressants dans l'étude du développement des tumeurs. En outre, les gènes *SemaIV* et *GNAI2* sont inclus dans la séquence de 80 kb ayant un effet suppresseur de croissance des tumeurs. Enfin, l'hypothèse selon laquelle les sémaphorines activeraient une cas-

cade de transmission du signal mettant en jeu des protéines G trimériques ainsi que l'ensemble de leurs fonctions supposées renforcent l'intérêt de l'étude de ces gènes.

Conclusion

La présence d'un gène suppresseur a été clairement démontrée pour la région 3p25. En revanche, la situation est moins claire pour la région 3p14 dont les délétions résulteraient de l'instabilité chromosomique. De même, la participation de la région 3p21.3 dans le développement du cancer du poumon est complexe dans la mesure où des délétions dans deux zones différentes pourraient avoir des effets indépendants, cumulatifs ou synergiques; la participation de plusieurs gènes, présents dans cette région, dans le développement des tumeurs mériterait d'être évaluée ■

Remerciements

Les auteurs remercient l'ARC (Association pour la Recherche sur le Cancer) pour son soutien financier des travaux concernant l'étude des gènes de la région 3p21.3 en cours de réalisation dans l'ESA Cnrs 6031 (IBMIG, Université de Poitiers). Les travaux effectués à l'Université du Colorado ont bénéficié du soutien financier du NIH (R01 CA68383). La collaboration entre les deux laboratoires est aidée par une « Subvention à la Recherche Collaborative » de la part de l'OTAN (Organisation du Traité de l'Atlantique Nord).

RÉFÉRENCES

- Martinet Y, Brambilla E, Martin JP, Martinet N, Vignaud JM. Les bases biologiques de la prévention du cancer du poumon. *Med Sci* 1997; 13: 1465-71.
- Kok K, Naylor S, Buys C. Deletions of the short arm of chromosome 3 in solid tumors and the search for suppressor genes. *Adv Cancer Res* 1997; 71: 27-92.
- Rabbitts P, Douglas J, Daly M, Sundaresan V, Fox B, Haselton P, Wells F, Albertson D, Waters J, Bergh J. Frequency and extent of allelic loss in the short arm of chromosome 3 in non small-cell lung cancer. *Genes Chromosom Cancer* 1989; 1: 95-105.
- Todd S, Franklin W, Varella-Garcia L, Kennedy T, Hilliker K, Hahner L, Anderson M, Wiest J, Drabkin H, Gemmill B. Homozygous deletions of human chromosome 3p in lung tumors. *Cancer Res* 1997; 57: 1344-52.
- Latif F, Tory K, Gnarr J, Yao M, Duh FM, et al. Identification of the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. *Science* 1993; 260: 1317-20.
- Duan DR, Pause A, Burgess WH, Aso T, Chen DY, Garrett KP, Conaway RC, Conaway JW, Linehan WM, Klausner RD. Inhibition of transcription elongation by the VHL tumor suppressor protein. *Science* 1995; 269: 1402-6.
- Killary AM, Wolf ME, Giambardi TA, Naylor SL. Definition of a tumor suppressor locus within human chromosome 3p21-p22. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 10877-81.
- Sanchez Y, el-Naggar A, Pathak S, Killary AM. A tumor suppressor locus within 3p14-p12 mediates rapid cell death of renal cell carcinoma *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 3383-7.
- Cohen AJ, Li FP, Berg S, Marchetto DJ, Tsai S, Jacobs SC, Brown RS. Hereditary renal-cell carcinoma associated with a chromosomal translocation. *N Engl J Med* 1979; 301: 592-5.
- Boldog FL, Gemmill RM, Wilke CM, Glover TW, Nilsson AS, Chandrasekharappa SC, Brown RS, Li FP, Drabkin HA. Positional cloning of the hereditary renal carcinoma 3;8 chromosome translocation breakpoint. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 8509-13.
- Glover TW, Berger C, Coyle J, Echo B. DNA polymerase alpha inhibition by aphidicolin induces gaps and breaks at common fragile sites in human chromosomes. *Hum Genet* 1984; 67: 136-42.
- Boldog F, Gemmill R, West J, Robinson M, Robinson L, et al. 3p14 homozygous deletions and sequence analysis of FRA3B. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 193-203.
- Ohta M, Inoue H, Cotticelli MG, Kastury K, Baffa R, et al. The *FHIT* gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma-associated t(3;8) breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers. *Cell* 1996; 84: 587-97.
- Daly MC, Xiang RH, Buchhagen D, Hensel CH, Garcia DK, Killary AM, Minna JD, Naylor SL. A homozygous deletion on chromosome 3 in a small cell lung cancer cell line correlates with a region of tumor suppressor activity. *Oncogene* 1993; 8: 1721-9.
- Kok K, van den Berg A, Veldhuis PM, van der Veen AY, Franke M, et al. A homozygous deletion in a small cell lung cancer cell line involving a 3p21 region with marked instability in yeast artificial chromosomes. *Cancer Res* 1994; 54: 4183-7.
- Roche J, Boldog F, Robinson M, Robinson L, Varella-Garcia M, Swanton M, Waggoner B, Fishel R, Franklin W, Gemmill R, Drabkin H. Distinct 3p21.3 deletions in lung cancer, analysis of deleted genes and identification of a new human semaphorin. *Oncogene* 1996; 12: 1289-97.
- Magovcevic I, Ang SL, Seidman JG, Tolman CJ, Neer EJ, Morton CC. Regional localization of the human G protein alpha i2 (GNAI2) gene: assignment to 3p21 and a related sequence (GNAI2L) to 12p12-p13. *Genomics* 1992; 12: 125-9.
- Murata Y, Tamari M, Takahashi T, Horio Y, Hibi K, Yokoyama S, Inazawa J, Yamakawa K, Ogawa A. Characterization of an 800 kb region at 3p22-p21.3 that was homozygously deleted in a lung cancer cell line. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 1341-4.
- Papadopoulos N, Nicolaidis NC, Wei YF, Ruben SM, Carter KC, et al. Mutation of a *mutL* homolog in hereditary colon cancer. *Science* 1994; 263: 1625-9.
- Rudolph U, Finegold MJ, Rich SS, Harriman GR, Srinivasan Y, Brabet P, Boulay G, Bradley A, Birnbaumer L. Ulcerative colitis and adenocarcinoma of the colon in G alpha i2-deficient mice. *Nat Genet* 1995; 10: 143-8.
- Xiang RH, Hensel CH, Garcia DK, Carlson HC, Kok K, Daly MC, Kerbacher K, van den Berg A, Veldhuis P, Buys C, Naylor SL. Isolation of the human semaphorin III/F gene (*SEMA3F*) at chromosome 3p21, a region deleted in lung cancer. *Genomics* 1996; 32: 39-48.
- Sekido Y, Bader S, Latif F, Chen JY, Duh FM, Wei MH, Albanes JP, Lee CC, Lerman MI, Minna JD. Human semaphorins A (V) and (IV) reside in the 3p21.3 small cell lung cancer deletion region and demonstrate distinct expression patterns. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 4120-5.
- Wei MH, Latif F, Bader S, Kashuba V, Chen JY, et al. Construction of a 600-kilobases clone contig and generation of a transcriptional map surrounding the lung cancer tumor suppressor gene (*TSG*) locus on human chromosome 3p21.3: progress toward the isolation of a lung cancer TSG. *Cancer Res* 1996; 56: 1487-92.
- Todd MC, Xiang RH, Garcia DK, Kerbacher KE, Moore SL, et al. An 80 kb P1 clone from chromosome 3p21.3 suppresses tumor growth *in vivo*. *Oncogene* 1996; 13: 2387-96.
- Kolodkin AL, Matthes DJ, Goodman CS. The semaphorin genes encode a family of transmembrane and secreted growth cone guidance molecules. *Cell* 1993; 75: 1389-99.
- Kolodkin AL. Semaphorins: mediators of repulsive growth cone guidance. *Trends Cell Biol* 1996; 6: 15-22.
- Püschel AW. The semaphorins: a family of axonal guidance molecule. *Eur J Neurosci* 1996; 8: 1317-21.
- Ensser A, Fleckenstein B. Alcelaphine herpesvirus type 1 has a semaphorin-like gene. *J Gen Virol* 1995; 76: 1063-7.
- Püschel AW, Adams R, Betz H. Murine semaphorin D/collapsin is a member of a diverse gene family and creates domains inhibitory for axonal extension. *Neuron* 1995; 14: 941-8.
- Messersmith E, Leonardo E, Shatz C, Tessier-Lavigne M, Goodman C, Kolodkin A. Semaphorin III can function as a selective chemorepellent to pattern sensory projections in the spinal cord. *Neuron* 1995; 14: 949-59.
- Keynes R, Cook G. Axon guidance molecules. *Cell* 1995; 83: 161-9.
- Bloch-Gallego E, Sotelo C. Chémioattraction ou chimiorépulsion axonale: rôle des nétrines et des semaphorines. *Med Sci* 1998; 14: 44-52.

RÉFÉRENCES

33. Tessier-Lavigne M, Goodman C. The molecular biology of axone guidance. *Science* 1996; 274: 1123-33.
34. Behar O, Golden JA, Mashimo H, Schoen FJ, Fishman MC. Semaphorin III is needed for normal patterning and growth of nerves, bones and heart. *Nature* 1996; 383: 525-8.
35. Adams RH, Betz H, Püschel AW. A novel class of murine semaphorins with homology to thrombospondin is differentially expressed during early embryogenesis. *Mech Dev* 1996; 57: 33-45.
36. Hall K, Boumsell L, Schultze J, Boussiotis V, Dorfman D, Cardoso A, Bensussan A, Nadler L, Freeman G. Human CD100, a novel leukocyte semaphorin that promotes B-cell aggregation and differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 11780-5.
37. Yamada T, Endo R, Gotoh M, Hirohashi S. Identification of semaphorin E as non-MDR drug resistance gene of human cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 14713-8.
38. He Z, Tessier-Lavigne M. Neuropilin is a receptor for the axonal chemorepellent semaphorin III. *Cell* 1997; 90: 739-51.
39. Kolodkin A, Leventgood D, Rowe E, Tai Y, Giger R, Ginty D. Neuropilin is a semaphorin III receptor. *Cell* 1997; 90: 753-62.
40. Feiner L, Koppel AM, Kobayashi H, Raper JA. Secreted chick semaphorins bind recombinant neuropilin with similar affinity but bind different subsets of neurons *in situ*. *Neuron* 1997; 19: 539-45.
41. Chen H, Chédotal A, He Z, Goodman CS, Tessier-Lavigne M. Neuropilin-2 a novel member of the neuropilin family is a high affinity receptor for the semaphorins Sema E and Sema IV but not Sema III. *Neuron* 1997; 19: 547-59.
42. Goshima Y, Nakamura F, Strittmatter P, Strittmatter S. Collapsin-induced growth cone collapse mediated by an intracellular protein related to UNC-33. *Nature* 1995; 376: 509-14.
43. Keino-Massu K, Masu M, Hinck L, Leonardo E, Chan S, Culotti J, Tessier-Lavigne M. Deleted in Colorectal Cancer (DCC) encodes a netrin receptor. *Cell* 1996; 87: 175-85.
44. Fazeli A, Dickinson SL, Hermiston ML, Tighe RV, Steen RG, et al. Phenotype of mice lacking functional Deleted in colorectal cancer (Dcc) gene. *Nature* 1997; 386: 796-804.
45. Rabbitts P, Bergh J, Douglas J, Collins F, Waters J. A submicroscopic homozygous deletion at the D3S3 locus in a cell line isolated from a small cell lung carcinoma. *Genes Chromosom Cancer* 1990; 2: 231-8.
46. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 1987; 4: 406-25.

TIRÉS À PART

J. Roche.

Summary

Chromosome 3p, tumor suppressors and new semaphorin genes at 3p21.3

Loss of chromosome 3p material is a critical event in the pathogenesis of lung cancer and other carcinomas. Loss of heterozygosity (LOH) studies have defined at least three different regions (3p25, 3p21.3 and 3p14-cen) that may contain tumor suppressor genes (*TSG*). The identification of homozygous deletions involving 3p12-13, 3p14 and 3p21.3 in cell lines and direct tumors support the LOH results and have been used to further define the important segments. The *VHL* (*von Hippel Lindau*) gene from 3p25 is a tumor suppressor but is rarely involved in non-syndrome tumors including lung cancer. The 3p14.2 region contains the fragile site, *FRA3B*, a hereditary renal carcinoma-associated 3;8 translocation and a putative tumor suppressor gene, *FHIT*. However, our studies indicate that *FHIT* is not selectively lost and therefore may not be a *TSG*. In contrast to the selective loss of a tumor suppressor gene, an alternative hypothesis is that some recurrently deleted regions such as *FRA3B* could undergo loss as a consequence of genomic instability. Distinct homozygous deletions have been identified in 3p21.3: the more distal is adjacent to the DNA mismatch repair gene *hMLH1* and the more proximal includes *GNAI2* coding for the $G\alpha_{i2}$ subunit of a G protein, and two genes coding for Semaphorins IV and V. Semaphorins/collapsins were first identified as nerve growth cone guidance signals that act as selective repulsive factors. However, their wide expression suggests that they could serve other functions such as cell differentiation or recognition. As a consequence, their inactivation could be potentially important in tumor development.

ACIDES GRAS et NUTRITION



RENNES
14-15 mai 1998

École Nationale Supérieure
Agronomique