

Spi-1 → Fli-1 : une nouvelle cascade de régulation impliquée dans le contrôle de l'hématopoïèse ?

L'hématopoïèse est le processus qui permet la production des cellules du sang circulant à partir d'un *pool* réduit de cellules souches hématopoïétiques multipotentes localisées dans la moelle osseuse adulte (*m/s* 1995, n° 1, p. 13). Ce processus est réglé par des signaux extérieurs, dont les cytokines, et des contacts entre progéniteurs hématopoïétiques et composants du stroma médullaire. Ces interactions sont ensuite relayées au niveau intracellulaire par différents facteurs de transcription dont la combinatoire permet l'expression de gènes spécifiques de chaque lignage. Ainsi, les acteurs moléculaires essentiels à la différenciation érythrocytaire associent les facteurs de transcription GATA-1, FOG-1 (*friend of GATA*), EKLf, NF-E2 (pour ne citer que les principaux), l'érythropoïétine (EPO) et son récepteur spécifique ; parmi les acteurs contrôlant la différenciation mégacaryocytaire, citons la thrombopoïétine (TPO), son récepteur spécifique (c-MPL) (*m/s* 1994, n° 11, p. 1175) et les facteurs de transcription GATA-1, FOG-1, NF-E2 en combinaison avec un ou plusieurs membres de la famille ETS [1, 2]. Paradoxalement, ces molécules sont toutes (ou presque) exprimées dans les cellules souches multipotentes [3], et, plus que leur analyse individuelle, qui n'est pas discriminante, c'est l'identification de leur réseau d'interactions qui permettra de comprendre la mise en place des différents lignages [4].

Dans cette perspective, un nouveau modèle cellulaire a été développé qui utilise une lignée leucémique (cellules UT7) humaine transfectée par le récepteur c-MPL [5]. Le traitement des cellules par la TPO conduit

à l'activation de gènes codant pour des protéines spécifiques de la différenciation mégacaryocytaire, par exemple *GpIIb*, et à la répression de gènes codant pour des protéines du lignage érythrocytaire. Dans ce modèle, l'induction de *GpIIb* par la TPO ne survient que s'il existe une augmentation du taux du facteur de transcription SPI-1 [5] et s'accompagne également d'une augmentation de FLI-1, un autre facteur de transcription. SPI-1/PU.1 et FLI-1 appartiennent tous deux à la famille ETS, et leurs gènes constituent des cibles privilégiées d'intégrations provirales dans les érythroleucémies induites respectivement par les virus SFFV et F-MuLV du complexe viral de Friend chez la souris. Le blocage de la différenciation terminale de la plupart des lignées SFFV surexprimant SPI-1 peut être en partie levé par des inducteurs chimiques tels que l'HMBA ou le DMSO. Cette restauration de la différenciation s'accompagne alors d'une réduction du taux de SPI-1. Si l'on s'oppose à cette diminution de SPI-1 (en transfectant le gène), l'effet inducteur de l'HMBA ou du DMSO disparaît, démontrant ainsi le rôle du facteur SPI-1 dans l'inhibition de la différenciation érythrocytaire [6]. Cela confirme les résultats obtenus dans un modèle de différenciation d'érythroblastes primaires aviaires [7] et par le développement d'érythroleucémies chez des souris transgéniques *Spi-1* [8].

Jusqu'aux travaux récents de deux groupes français [9, 10], aucune donnée expérimentale ne permettait d'impliquer *Fli-1* dans la dérégulation de la différenciation érythrocytaire. Or l'expression forcée de FLI-1 interfère

avec le contrôle normal de ce processus. Une première série de travaux montre que l'expression de FLI-1 est suffisante pour modifier la réponse normale des érythroblastes primaires à l'EPO, et entraîner une réponse proliférative prolongée qui se substitue au processus normal de différenciation terminale [9]. Cette reprogrammation s'accompagne, au niveau moléculaire, d'une dérégulation de l'expression des cyclines D2 et D3 dont l'activité – sous forme de complexes avec les protéine-kinases CDK4/6 – participerait au contrôle de la mise en place du cycle cellulaire très particulier à la différenciation érythrocytaire. Le second travail [10] montre que, dans toutes les lignées de Friend SFFV, où l'insertion provirale est en 5' du gène *Spi-1*, et qui donc surexpriment SPI-1, FLI-1 est aussi exprimé à des taux très élevés. Ces niveaux sont comparables à ceux qui caractérisent les lignées F-MuLV, chez lesquelles l'insertion provirale est en 5' du gène *Fli-1* [10]. De plus, non seulement SPI-1 mais aussi FLI-1, diminuent lors de la différenciation des lignées SFFV. Ainsi, à l'instar des observations faites dans les cellules UT7-MPL, l'expression de *Fli-1* varie comme celle de *Spi-1* dans les lignées érythroleucémiques de Friend, et la surexpression du facteur FLI-1 dans les lignées SFFV entraîne le blocage de leur différenciation en réponse à un inducteur chimique. La convergence de ces données, suggérant que SPI-1 contrôle l'expression de *Fli-1*, a conduit à la mise en évidence d'un nouveau promoteur du gène *Fli-1*, responsable d'une mise en route de la transcription en position -204 par rapport au codon initiateur de la traduction de *Fli-1*. L'activité du promoteur s'avère strictement dépendante de

deux sites consensus de fixation pour les facteurs de la famille ETS, très conservés chez l'homme, la souris ou le xénope et capables de fixer SPI-1 *in vitro* [10]. La mise en route de la transcription de *Fli-1* dans les cellules UT7-MPL stimulées par la TPO correspond bien à l'utilisation de ce nouveau promoteur réglé par SPI-1. Réciproquement, lorsque des cellules SFFV transfectées par le récepteur c-MPL sont traitées par la TPO, leurs capacités de différenciation diminuent parallèlement à l'augmentation simultanée des taux de SPI-1 et FLI-1. Il semble bien qu'une nouvelle cascade de régulation SPI-1 → FLI-1 participe à la stimulation de la différenciation mégacaryocytaire par l'intermédiaire des voies de transduction du signal du récepteur c-MPL, et au blocage de la différenciation érythroblastique terminale, lorsqu'elle est activée dans les érythroblastes.

Une question cruciale est maintenant d'identifier (1) les partenaires intermédiaires qui permettent l'activation de la cascade SPI-1 → FLI-1 en réponse à la TPO, mais également (2) les cibles moléculaires des facteurs SPI-1 et FLI-1 qui contrôlent en aval l'inhibition de la différenciation érythrocytaire (figure 1). Des données, non publiées, indiquent que les propriétés transactivatrices de SPI-1/PU.1 sont requises pour que ce facteur interfère avec le programme de différenciation des érythroblastes primaires. Il reste cependant à déterminer si, outre celle du gène *Fli-1*, SPI-1 entraîne aussi la dérégulation d'autres gènes cibles. D'autres résultats expérimentaux suggèrent que les propriétés transformantes de SPI-1/PU.1 et FLI-1 pourraient résulter de l'interaction de ces protéines avec d'autres régulateurs de la différenciation érythrocytaire. Ainsi, SPI-1, voire FLI-1, pourraient interagir directement avec GATA-1 [11]. Si cette observation se confirme, on peut imaginer que cette interaction perturbe la fonction activatrice de GATA-1 sur les gènes de différenciation érythrocytaire, et GATA-1 pourrait être une des cibles communes utilisées par les virus SFFV et FMuLV pour bloquer la différenciation érythrocytaire. Une étude récente révèle par ailleurs que, tout

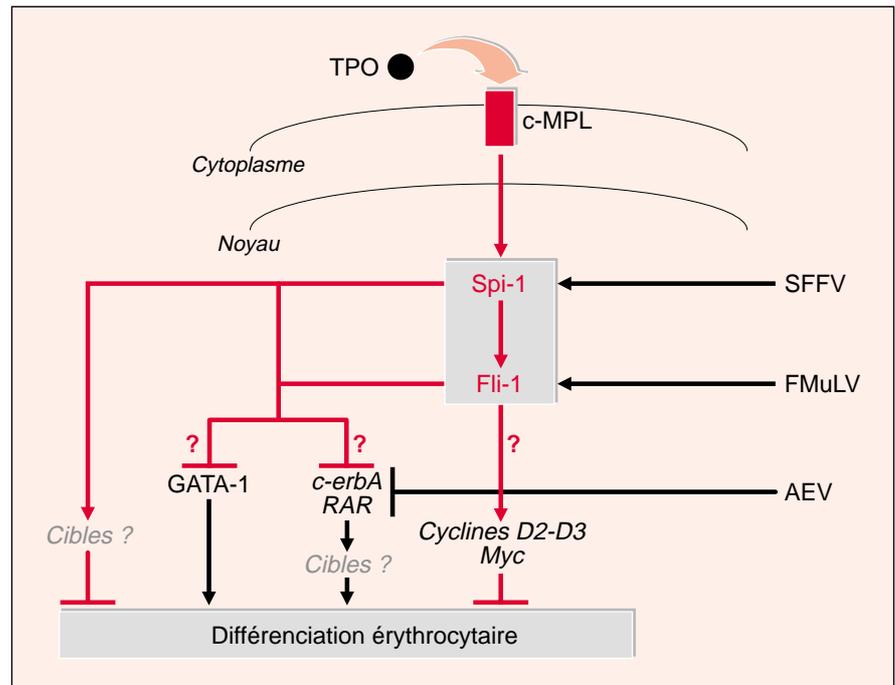


Figure 1. **Schéma illustrant le rôle hypothétique de la cascade de régulation Spi-1 → Fli-1 dans le contrôle négatif de la différenciation érythrocytaire.** Les résultats convergents de l'étude du modèle UT7 et des cellules érythroleucémiques de Friend SFFV démontrent que le gène *Fli-1* est une cible transcriptionnelle réglée positivement par le facteur SPI-1. Ces résultats indiquent également que cette cascade Spi-1 → Fli-1 est activée en réponse à la TPO et contribue au blocage de la différenciation terminale des lignées érythroleucémiques SFFV. L'hypothèse proposée est que cette cascade Spi-1 → Fli-1 contribue in vivo au verrouillage de la différenciation érythrocytaire de progéniteurs multipotentiels s'engageant dans la voie de différenciation mégacaryocytaire en réponse à la TPO. Ce schéma illustre quelques-unes des multiples voies par lesquelles les facteurs SPI-1 et FLI-1 pourraient contribuer à ce blocage de la différenciation érythrocytaire et qui sont étayées par les données expérimentales évoquées dans le texte : inhibition de l'activité transactivatrice du facteur GATA-1, dérégulation de l'expression de gènes codant pour Myc et les cyclines D2 et D3, dérégulation de cibles moléculaires communes situées en aval de *c-erbA*. Outre ces trois possibilités, rien ne permet pour l'instant d'exclure que SPI-1 puisse également agir en perturbant l'expression de gènes cibles spécifiques autres que le gène *Fli-1*.

comme SPI-1 [12], FLI-1 interfère négativement avec l'activité des récepteurs nucléaires des rétinoïdes et de la triiodothyronine (T3) (*m/s* 1992, n° 3, p. 283), qui, à leur tour, inhibent l'activité transactivatrice du facteur FLI-1 [13]. Cette observation prend une signification toute particulière quand on sait que l'oncogène *v-erbA* transduit par le virus AEV, qui induit des érythroleucémies chez le poulet, code précisément pour une version dominante négative du récepteur de l'hormone (T3), *c-erbA* [14-16]. Ainsi, tout porte à croire aujourd'hui que les

différentes stratégies utilisées par ces trois rétrovirus inducteurs d'érythroleucémie pourraient être ciblées sur l'activation d'une même cascade de régulation impliquée dans le contrôle négatif de la différenciation érythrocytaire. Si tel est le cas, certaines des cibles moléculaires des facteurs SPI-1, FLI-1 ou *v-erbA*, impliquées dans le blocage de la différenciation érythrocytaire, pourraient bien également s'avérer communes. Ces cibles finales communes seront-elles identifiées avant qu'un nouveau virus ne trouve lui-même la solution ? ■

1. Shivdasani RA, Orkin SH. The transcriptional control of hematopoiesis. *Blood* 1996 ; 87: 4025-39.
2. Deveaux S, Mignotte V. Rôle du facteur de transcription NFE2 dans la formation des plaquettes. *Med Sci* 1998; 14: 90-2.
3. Hu M, Krause D, Greaves M, *et al.* Multilineage gene expression precedes commitment in the hematopoietic system. *Genes Dev* 1997; 11: 774-84.
4. Enver T, Greaves M. Loops, lineage, and leukemia. *Cell* 1998; 94: 9-12.
5. Doubeikovski A, Uzan G, Doubeikovski Z, *et al.* Thrombopoietin-induced expression of glycoprotein IIb gene involves the transcription factor PU-1/Spi-1 in UT7-Mpl cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 24300-7.
6. Rao G, Rekhtman N, Cheng G, Krasikov T, Skoultchi A. Deregulated expression of the PU.1 transcription factor blocks murine erythroleukemia cell terminal differentiation. *Oncogene* 1999; 14: 123-31.
7. Tran Quang C, Wessely O, Pironin M, Beug H, Ghysdael J. Cooperation of Spi-1/PU.1 with an activated erythropoietin receptor inhibits apoptosis and Epo-dependent differentiation in primary erythroblasts and induces their kit ligand-dependent proliferation. *EMBO J* 1997; 16: 5639-53.
8. Moreau-Gachelin F, Wendling F, Molina T, *et al.* A. Spi-1/PU.1 transgenic mice develop multistep erythroleukemias. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 2453-63.
9. Pereira R, Tran Quang C, Lesault I, Dolznig H, Beug H, Ghysdael J. FLI-1 inhibits differentiation and induces proliferation of primary erythroblasts. *Oncogene* 1999; 18: 1597-608.
10. Starck J, Doubeikovski A, Sarrazin S, *et al.* Spi-1/PU.1 is a positive regulator of the *Fli-1* gene involved in inhibition of erythroid differentiation in Friend erythroleukemic cell lines. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 121-35.
11. Zhang P, Behre G, Iwama A, *et al.* Negative cross-talk between hematopoietic regulators: GATA proteins repress PU.1. *Blood* 1998; 92 (suppl 1): 194a.
12. Gauthier JM, Bourachot B, Doucas V, Yaniv M, Moreau-Gachelin F. Functional interference between the Spi-1/PU.1 oncoprotein and steroid hormone or vitamin receptors. *EMBO J* 1993; 12: 5089-96.
13. Darby TG, Meiner JD, Rühlmann A, Mueller WH, Sheibe RJ. Functional interference between retinoic acid or steroid hormone receptors and the oncoprotein Fli-1. *Oncogene* 1997; 15: 3067-82.
14. Michaille JJ, Blanchet S. Les RXR ne sont pas des partenaires d'hétérodimérisation purement passifs. *Med Sci* 1998; 11: 1211-6.
15. Gandrillon O, Rasclé A, Samarut J. The *v-erb* A oncogene: a superb tool for dissecting the involvement of nuclear hormone receptors in differentiation and neoplasia. *Int J Oncol* 1995; 6: 215-31.
16. Desbois C, Aubert D, Legrand C, Pain B, Samarut J. L'oncogène *v-erbA*: un inhibiteur d'inhibiteur. *Med Sci* 1992; 8: 156-9.

Isabelle Dusanter-Fourt

Directeur de recherche à l'Inserm, Inserm U. 363, ICGM, Hôpital Cochin, 27, rue du Faubourg-St-Jacques, 75014 Paris, France.

Jacques Ghysdael

Directeur de recherche à l'Inserm, Cnrs UMR 146, Institut Curie-Section de recherche, Bâtiment 110, 91405 Orsay, France.

François Morlé

Directeur de recherche à l'Inserm, Cnrs UMR 5534, 43, boulevard du 11-Novembre 1918, 69622 Villeurbanne, France.

Remerciements

Les auteurs remercient l'Association pour la Recherche contre le Cancer (ARC) et la Ligue Nationale contre le Cancer pour leur soutien financier.