

Le génome mitochondrial est-il impliqué dans la carcinogenèse ?

Le génome mitochondrial a une réplication autonome et active, ne possède pas de système de réparation bien caractérisé, est peu protégé par des protéines et, du fait du nombre important de molécules d'ADN mitochondrial par cellule, pourrait subir des altérations sans mettre en péril la survie cellulaire. Les remaniements de l'ADN des mitochondries sont fréquents au cours des traitements par les carcinogènes et au cours des cancers. Des séquences d'origine mitochondriale ont été détectées dans l'ADN nucléaire ; elles seraient particulièrement abondantes dans des tissus cancéreux. La place exacte des modifications de l'ADN mitochondrial dans le processus néoplasique – épiphénomène ou facteur intervenant dans la cancérogenèse – reste inconnue.

Marisol Corral
Nicole Defer
Jacques Kruh

Les mitochondries sont-elles impliquées dans le processus cancéreux ? Dès 1923, O. Warburg, à qui l'on doit des découvertes majeures sur le mécanisme de la respiration cellulaire, constatant un déficit respiratoire dans les cellules cancéreuses, leur attribuait un rôle important dans la carcinogenèse. Inutile de dire que cette hypothèse fut très controversée. Les remarquables travaux sur l'implication des gènes nucléaires et en particulier des oncogènes dans les étapes successives de la cancérisation firent oublier les mitochondries. Ce n'est que récemment que la mise en évidence de différences de structure du génome mitochondrial dans les cellules cancéreuses a fait resurgir le problème de l'implication des mitochondries dans la carcinogenèse et le maintien de l'état cancéreux.

La biologie moléculaire des mitochondries a été décrite récemment dans *médecine/sciences* [1, 2] et de manière plus détaillée dans plusieurs revues générales [3-5]. Nous n'en rappellerons que quelques points

essentiels pour la compréhension de la suite.

L'ADN mitochondrial (ADNmt) de plusieurs espèces a été entièrement séquencé. Celui des mammifères a une longueur d'environ 16 kb, celui de l'homme est de 16 569 pb. Cet ADN est double brin et circulaire. La chaîne lourde code pour 12 polypeptides, sous-unités d'enzymes respiratoires, deux ARN ribosomiaux et 14 ARN de transfert. La chaîne légère code pour un seul polypeptide et huit ARN de transfert. Les autres polypeptides de la chaîne respiratoire, ainsi que les protéines impliquées dans la réplication, la transcription et la traduction du génome mitochondrial, sont codés par l'ADN nucléaire, synthétisés dans le cytosol et importés dans la mitochondrie par l'intermédiaire ou non de transporteurs membranaires.

L'ADNmt des mammifères est très compact, il est codant sur toute sa longueur, à l'exception d'une région appelée boucle D qui contient l'origine de réplication de la chaîne lourde, ainsi que les deux promoteurs

ADRESSE

M. Corral : chargée de recherche au Cnrs. N. Defer : chargée de recherche au Cnrs. J. Kruh : professeur à la faculté de médecine de Cochin-Port-Royal. Cnrs URA 1147, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

RÉFÉRENCES

1. Rotig A, Bonnefont JP, Colonna M, *et al.* Les remaniements du génome mitochondrial dans les déficits énergétiques de l'enfant : de nouvelles maladies de système ? *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 459-71.
2. Nelson I, Degoul F, Marsac C, Ponsot G, Lestienne P. Des délétions de l'ADN mitochondrial dans le syndrome de Kearns-Sayre et autres myopathies avec ophtalmoplégie externe progressive. *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 472-9.
3. Attardi G. Animal mitochondrial DNA : an extreme example of genetic economy. *Int Rev Cytol* 1985 ; 93 : 93-145.
4. Cantatore P, Saccone C. Organisation, structure and evolution of mammalian mitochondrial genes. *Int Rev Cytol* 1987 ; 108 : 149-208.
5. Chomyn A, Attardi G. Mitochondrial gene products. *Curr Top Bioenergetics* 1987 ; 15 : 295-329.
6. Soullignac M, Monnerot M, Mounolou JC. Mitochondrial DNA heteroplasmy in *Drosophila mauritiana*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983 ; 80 : 6942-6.
7. Backer JM, Weinstein IB. Mitochondrial DNA is a major cellular target for a dihydrodiol-epoxide derivative of benzo(a)pyrene. *Science* 1980 ; 209 : 297-9.
8. Allen JA, Combs MM. Covalent binding of polycyclic aromatic compounds to mitochondrial and nuclear DNAs. *Nature* 1980 ; 287 : 244-5.
9. Ephrussi B. *Nucleoplasmic Relation in Microorganisms*. Londres-New York : Oxford University Press, 1953.
10. Wilkie D, Evans IH, Egilsson V, Diala ES, Collier D. Mitochondrial, cell surface and carcinogenesis. *Int Rev Cytol* 1983 ; 15 (suppl.) : 157-89.
11. Weiss MJ, Wong JR, Ha CS, *et al.* Dequalinium, a topical antimicrobial agent, displays anticarcinoma activity based on selective mitochondrial accumulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 5444-8.
12. Segal-Bendirdjian E, Coulaud D, Roques BP, Lepecq JB. Selective loss of mitochondrial DNA after treatment of cells with ditercalinium, an antitumoral bis-intercalating agent. *Cancer Res* 1988 ; 48 : 4982-92.

de transcription, et d'une région très courte qui contient l'origine de répllication de la chaîne légère, qui n'entre en jeu que lorsque les deux tiers de la chaîne lourde sont répliqués.

Chaque chaîne est transcrite en une seule molécule polycistronique contenant la copie de chaque gène codé par la chaîne. Les ARN sont ensuite découpés au niveau des ARN de transfert, les ARN messagers sont polyadénylés. On notera l'absence d'intron chez les mammifères.

Les ARN messagers sont ensuite traduits en polypeptides en utilisant les 22 ARN de transfert et les ribosomes présents dans les mitochondries, qui ont une structure différente de celle des ribosomes cytoplasmiques.

Il est également à noter que le code génétique utilisé par les mitochondries n'est pas identique au code génétique « universel » utilisé pour la traduction des gènes nucléaires.

La compaction de l'ADNmt est particulière aux mammifères. Chez la levure, sa longueur est cinq fois plus

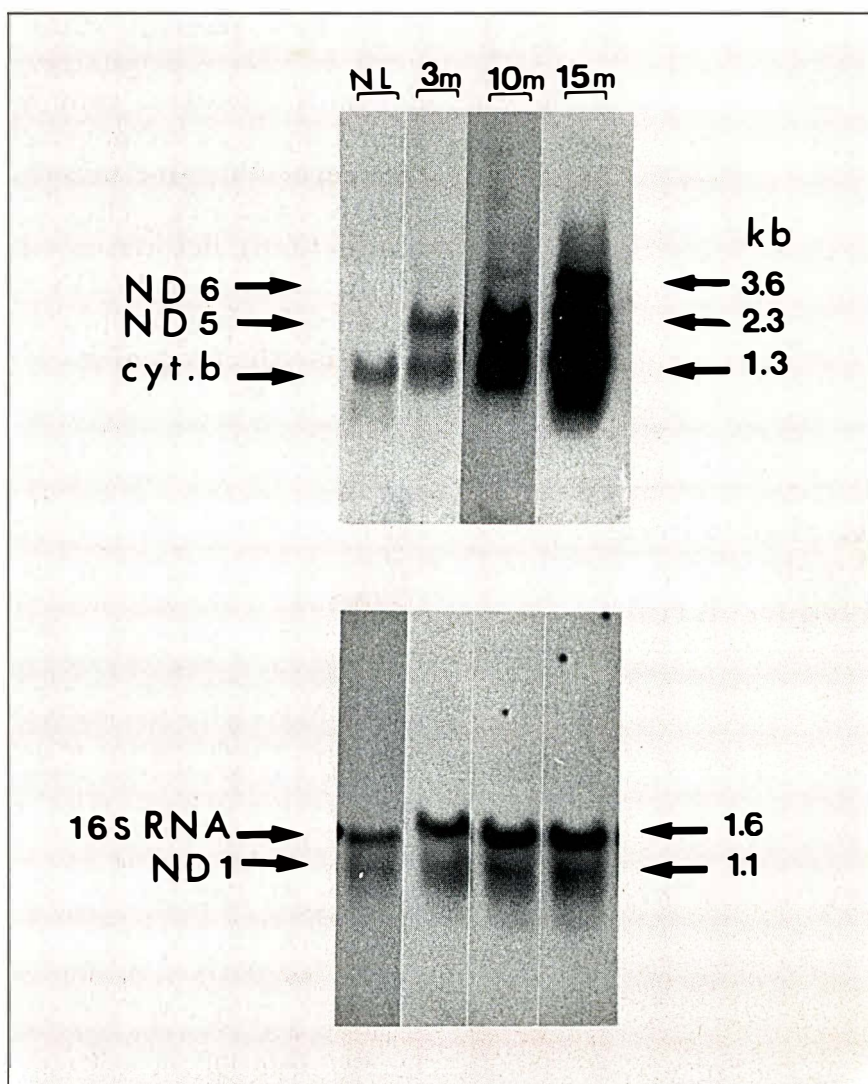


Figure 1. **Élévation de la concentration en ARNmt après traitement par la DENA.** Les ARN totaux extraits d'hépatocytes normaux (NL), d'hépatocytes isolés trois mois après traitement par la DENA (3 m) ou de tumeurs hépatiques isolées dix mois (10 m) et 15 mois (15 m) après le traitement ont été analysés par la technique de Northern blot en utilisant comme sondes soit un fragment du génome mitochondrial de souris contenant les gènes ND5, ND6 et cytb, soit un fragment du génome mitochondrial de souris contenant les gènes ARN 16S et ND1.

grande, presque tous les gènes sont portés par un même brin, il existe des introns, ainsi que des régions non codantes entre les gènes.

Par ailleurs, les gènes mitochondriaux présentent un grand polymorphisme, plus grand même que le polymorphisme nucléaire, si bien que chaque individu d'une espèce peut se caractériser par son « empreinte » mitochondriale comme par son empreinte nucléaire.

A ce polymorphisme se superpose parfois une hétéroplasmie mitochondriale, c'est-à-dire la présence dans un même tissu, et peut-être même dans une même cellule, de molécules d'ADNmt de structures différentes avec répétition ou délétion de certaines séquences. Une hétéroplasmie constitutionnelle a été mise en évidence chez le lapin et dans certaines souches de drosophile [6].

Nous devons maintenant étudier les modifications de l'ADNmt observées dans le cancer et essayer de voir dans quelle mesure celles-ci peuvent être impliquées dans le processus cancéreux.

L'ADN mitochondrial est la cible privilégiée des cancérrogènes chimiques qui provoquent des mutations dans cet ADN

Il n'est pas surprenant que l'ADNmt soit la cible privilégiée des cancérrogènes chimiques et que les lésions provoquées par ces composés soient persistantes.

- L'ADNmt se réplique indépendamment de l'ADN nucléaire, tout au long de la vie cellulaire. Il est vraisemblable que l'ADN monocaténaire soit particulièrement sensible aux effets des cancérrogènes.

- L'ADNmt est combiné à peu de protéines, alors que l'ADN nucléaire est protégé dans une certaine mesure par les protéines de la chromatine.

- Les systèmes de réparation de l'ADN dans les mitochondries sont peu efficaces, si bien que les lésions provoquées par les agents chimiques peuvent persister au cours des réplifications successives dans la mesure où les molécules lésées ont conservé leur capacité de réplification.

L'association préférentielle de carci-

nogènes chimiques à l'ADNmt a été montrée par plusieurs auteurs, utilisant en général des composés marqués. Ainsi, un dérivé du benzo(a)pyrène ajouté à des cellules d'embryon de souris se fixe 40 à 50 fois plus à l'ADNmt qu'à l'ADN nucléaire [7], des composés polycycliques aromatiques ajoutés à ces mêmes cellules se fixent 50 à 500 fois plus à l'ADNmt qu'à l'ADN nucléaire [8]. Lorsque l'on injecte de la nitrosourée et de la nitrosodiméthylamine dans le péritoine de souris, on trouve cinq fois plus de molécules associées à l'ADNmt qu'à l'ADN nucléaire.

On a étudié l'effet mutagène des carcinogènes sur l'ADNmt par une méthode particulièrement intéressante, utilisant une levure, *S. cerevisiae*. Ephrussi avait isolé en 1953 [9] un mutant de cette levure appelé mutant « petite » et avait démontré que cette mutation était en fait une délétion de l'ADNmt totale ou partielle. L'ADN restant éventuel subit une duplication ou une amplification telle que la longueur totale de l'ADNmt reste voisine de la normale. Ces levures ne sont plus capables d'utiliser l'oxygène et ne peuvent survivre que par la glycolyse anaérobie. Wilkie *et al.* [10] ont montré que sur 18 agents cancérrogènes étudiés, 15 augmentaient significativement la fréquence des mutations « petites ». Des composés de structure voisine mais non cancérrogènes n'ont en revanche aucun effet mutagène de ce type sur la levure.

Il semble donc clairement établi que les carcinogènes chimiques, qui sont à l'origine d'un grand nombre de cancers humains, peuvent se lier à l'ADNmt et provoquer des mutations. On ne peut cependant affirmer actuellement que l'ADNmt est modifié dans toutes les cellules cancéreuses.

Par ailleurs, les mitochondries sont également les cibles d'agents antitumoraux qui se fixent à l'ADNmt. Il en résulte un arrêt de la répllication et la dégradation de cet ADN. Ainsi le déqualinium, par ce mécanisme, inhibe la croissance du carcinome du côlon [11]. Le ditercalinium, un agent *bis* intercalant, élimine l'ADNmt de cellules leucémiques de souris en culture [12]. La daunomycine, agent antileucémique, agit spé-

cifiquement en inhibant la transcription de l'ADNmt [13].

L'ADN mitochondrial est modifié dans les cellules cancéreuses

En 1967, Clayton et Vinograd [14] montrent l'existence dans les leucocytes de patients atteints de leucémie chronique de formes inhabituelles d'ADNmt : dimères de 10 μm de longueur (longueur normale : 5 μm), formant un cercle fermé, structures formées de deux ou trois monomères circulaires combinés entre eux. Les différences ne portent pas uniquement sur la taille mais également sur la structure de l'ADN. Ainsi, dans 12 leucémies sur 14 cas étudiés, on observe des différences de taille des fragments obtenus après digestion par des enzymes de restriction, ces différences sont du même type dans tous les cas, ce qui suggère qu'elles seraient associées au processus leucémique [15]. Des mutations ont été mises en évidence dans les gènes mitochondriaux codant pour quatre ARN de transfert dans les hépatomes de rat [16, 17].

Notre groupe (Cnrs UA 1147), en collaboration avec l'équipe de C. Guguen-Guillouzo (Inserm U.49, Rennes), a été amené à mettre en évidence d'autres types de modifications de l'ADN mitochondrial. Les recherches ont porté sur un hépatome de rat induit par la diéthylnitrosamine (DNA), un agent alkylant, administré trois jours de suite après une hépatectomie partielle. Des nodules cancéreux bien caractérisés sont obtenus à partir du foie de 10 à 15 mois après administration du cancérigène. Nous avons également étudié un hépatome en culture, les cellules HTC qui ont été initiées en 1966 par Tomkins à partir d'un hépatome de rat d'origine chimique. Nos travaux nous ont permis de faire les observations suivantes.

Le niveau des ARN messagers d'origine mitochondriale est environ 20 fois plus élevé dans les hépatomes que dans les hépatocytes normaux [18]. Cette augmentation porte en particulier sur les transcrits des gènes ND1, ND5, ND6, COI et Cyt b (*figure 2*), alors que la

RÉFÉRENCES

13. Wilkie D, Egilsson V, Evans LH. Mitochondria in oncogenesis. *Lancet* 1975 ; i : 697-8.

14. Clayton DA, Vinograd J. Circular dimer and catenate forms of mitochondrial DNA in human leukemic leucocytes. *Nature* 1967 ; 216 : 652-7.

15. Gianni AM, Favera RD, Polli E. Restriction enzyme analysis of human leukemic mitochondrial DNA. *Leukemic Res* 1980 ; 4 : 155-60.

16. Taira M, Yoshida E, Kobayashi M, Yaginuma K, Koike K. Tumor-associated mutations of rat mitochondrial transfer RNA genes. *Nucleic Acids Res* 1983 ; 11 : 1635-43.

17. Agrawal HP, Gupta RC, Randerath K, Randerath E. The sequence of mitochondrial arginine tRNA from a transplantable rat tumor, Morris hepatoma. *FEBS Lett* 1981 ; 130 : 287-90.

18. Corral M, Defer N, Paris B, *et al.* Isolation and characterization of complementary DNA clones for genes overexpressed in chemically induced rat hepatomas. *Cancer Res* 1986 ; 46 : 5119-24.

19. Corral M, Paris B, Baffet G, *et al.* Increased level of the mitochondrial ND5 transcript in chemically induced rat hepatomas. *Exp Cell Res* 1989 ; 184 : 158-66.

20. Glaichenhaus N, Leopold L, Cuzin F. Increased levels of mitochondrial gene expression in rat fibroblast cells immortalized or transformed by viral and cellular oncogenes. *EMBO J* 1986 ; 5 : 1261-5.

21. Corral M, Baffet G, Defer N. Structure of a cDNA clone specific to hepatoma cells with rearranged mitochondrial sequence. *Nucleic Acids Res* 1988 ; 16 : 10935.

22. Corral M, Kitzis A, Baffet G, *et al.* RNAs containing mitochondrial ND6 and COI sequences present an abnormal structure in chemically induced hepatomas. *Nucleic Acids Res* 1989 ; 17 : 5191-206.

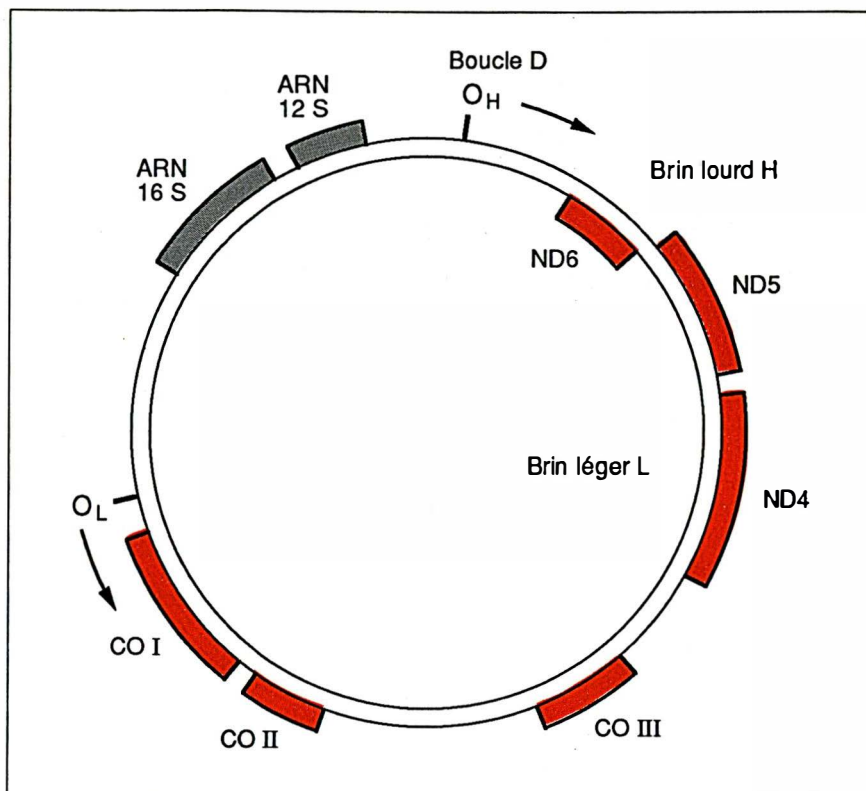


Figure 2. **Génome mitochondrial des mammifères.** Le génome comprend un ADN double brin circulaire d'environ 16,5 kb. Nous n'avons indiqué que les gènes dont il est question dans l'article. Tous les polypeptides codés sont des sous-unités d'enzymes de la chaîne respiratoire qui sont localisées dans la membrane interne de la mitochondrie. Tous sont codés par la chaîne lourde, H, à l'exception de ND6 qui est codé par la chaîne légère, L. La réplication de la chaîne lourde a pour origine une région appelée O_H , située dans un segment appelé boucle D, qui comprend également les promoteurs de la transcription des deux brins. La réplication de la chaîne légère a pour origine la région O_L . ND 1 à 6 : sous-unités 1 à 6 de la NADH deshydrogénase ; COI à III : sous-unités I à III de la cytochrome oxydase. La plus grande partie des constituants enzymatiques est codée par l'ADN nucléaire, synthétisée sur les ribosomes cytoplasmiques et importée dans les mitochondries.

concentration globale des ARN cellulaires n'est pas significativement modifiée [19]. Cette augmentation apparaît dès le 3^e mois qui suit le traitement par le carcinogène, longtemps avant l'apparition des nodules cancéreux, et elle se maintient au-delà du 15^e mois. Il est donc peu vraisemblable qu'elle résulte des modifications ultrastructurales importantes consécutives à la cancérisation. Ces différents ARN sont synthétisés à partir de la chaîne lourde (à l'exception du transcrit de ND6) et possèdent des durées de vie différentes. L'élévation coordonnée du niveau de ces ARN suggère des modifications du niveau des transcrits primaires et un effet en *trans* de produits de gènes nucléaires sur le taux de transcription mitochondrial.

Glaichenhaus *et al.* [20] ont observé dans des fibroblastes de souris transfectés par E1A de SV40, par l'antigène T de polyome ou par l'oncogène c-myc, une augmentation de la concentration des transcrits COI, ND2, ND3, ND4, COII et ARN16S.

Il existe dans les tumeurs hépatiques des molécules d'ADNmt possédant une structure différente de celle observée dans les hépatocytes normaux. Ainsi l'analyse d'une banque d'ADN complémentaire d'hépatome nous a permis de mettre en évidence un clone de 580 bp présentant d'un côté une forte homologie avec l'extrémité N terminale du gène ND6 et de l'autre côté une forte homologie avec l'extrémité N terminale du gène COI. Ces deux séquences ne

sont séparées que par 230 bp au lieu de 9 kb dans le génome mitochondrial normal (figure 2) [21].

Des expériences de protection contre la digestion par la nucléase S1, nucléase qui n'attaque que l'ADN simple brin, montrent qu'il existe dans les tumeurs, mais non dans les hépatocytes normaux, des transcrits possédant une structure homologue à celle du clone isolé [22]. Cette observation pose le problème d'un génome de structure au moins partiellement modifiée dans la mitochondrie des tumeurs. La réponse définitive à cette question ne pourra être apportée que par le séquençage de la région intéressée de l'ADNmt. Une réponse partielle a pu être néanmoins apportée par l'isolement, à partir d'une tumeur, d'un fragment d'ADNmt de 3 kb reconnu par les sondes ND6 et COI, mais non par la sonde ND4, alors que ND4 est normalement localisé entre ND6 et COI. On peut noter par ailleurs que cette région de l'ADNmt correspond aux régions modifiées dans la plupart des myopathies mitochondriales [1, 2].

Il existe une hétéroplasmie de l'ADNmt dans les cellules tumorales. La figure 3 montre les produits de digestion par l'enzyme de restriction Bgl II d'ADNmt d'hépatomes et d'hépatocytes normaux. On observe des bandes supplémentaires avec l'ADNmt de tumeur. La somme des tailles des bandes dans ce cas est supérieure à la taille du génome mitochondrial normal. Des observations analogues ont été faites avec les ADNmt provenant de tumeurs d'animaux différents et en utilisant d'autres enzymes de restriction. Le seul polymorphisme ne peut rendre compte de ces observations, car l'ADNmt provenant d'un tissu normal des mêmes animaux ne présente pas ces bandes supplémentaires.

Il semble donc que, dans ces tumeurs comme dans les myopathies d'origine mitochondriale, l'hétéroplasmie mitochondriale soit la règle, sans que l'on puisse, à l'heure actuelle, préciser le niveau de cette hétéroplasmie, tissulaire ou cellulaire.

On peut penser que la coexistence de molécules d'ADNmt normales et modifiées permet d'assurer la survie cellulaire. Le problème est posé du

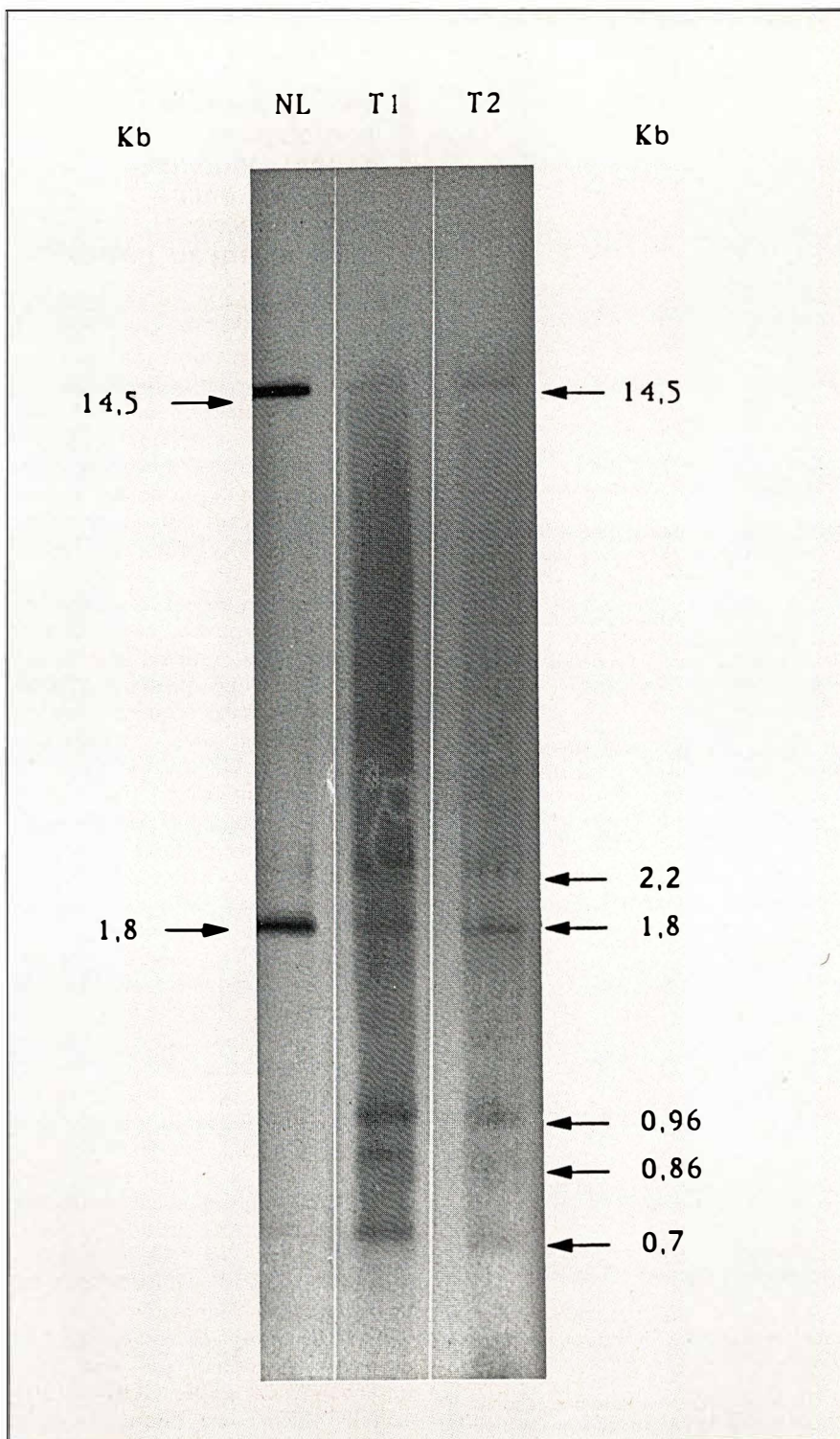


Figure 3. **Comparaison de l'ADNmt d'hépatocytes normaux et de la tumeur hépatique.** L'ADNmt a été isolé d'hépatocytes de rats normaux (NL) et de deux hépatomes (T1, T2) et traité par un enzyme de restriction, BglII. Dans les hépatocytes normaux, il se libère deux fragments de 14,5 et 1,8 kb respectivement. Dans les hépatomes, il se libère au moins quatre fragments supplémentaires. Ce résultat suggère une hétéroplasmie de l'ADNmt dans les hépatomes.

rôle des molécules d'ADNmt modifiées dans la carcinogénèse.

Des séquences homologues à des séquences mitochondriales sont présentes dans le noyau cellulaire

L'existence, dans le noyau cellulaire, de séquences d'ADN homologues à des séquences mitochondriales a d'abord été mise en évidence chez les eucaryotes inférieurs. Chez *Podospira*, on a mis en évidence une amplification de séquences mitochondriales suivie d'une migration de ces séquences dans le noyau, ceci a cependant été contesté. Chez l'oursin de mer et dans la levure, on a également mis en évidence des séquences mitochondriales dans le noyau, en particulier un gène mitochondrial de levure codant pour une protéine ribosomale [23]. De telles séquences ont été trouvées même chez des mutants ayant perdu l'ADNmt.

Il est maintenant admis qu'il y aurait passage de fragments d'ADNmt dans le noyau, peut-être par l'intermédiaire d'ARN qui ont subi une transcription inverse. Le même phénomène existe chez les végétaux, un fragment d'ADNmt a été mis en évidence, dans le noyau de variants de maïs présentant le phénotype « stérilité mâle cytoplasmique ». Cependant, les travaux les plus intéressants pour nous ont porté sur le rat et l'homme. Ainsi, on a mis en évidence chez le rat, dans le noyau cellulaire, une séquence de 3 kb d'ADNmt comprenant en particulier la boucle D et une partie des gènes codant pour les ARN ribosomaux [24]. Notre groupe a mis en évidence, dans le noyau de cellules de foie, de rein et de cerveau de rat, des séquences homologues aux gènes mitochondriaux COI, COII, COIII et ND6 [25]. Chez l'homme, on a trouvé dans le noyau des séquences mitochondriales, en particulier les gènes ND4 et ND5. L'analyse des régions de l'ADN nucléaire entourant ces gènes ne révèle pas d'homologie avec les régions équivalentes du génome mitochondrial. Fait remarquable, il y eut peu de mutations dans ces séquences nucléaires qui

semblent avoir conservé la structure d'un ADNmt ancestral. Bien que le transfert de matériel génétique des organelles vers le noyau soit un événement rare, on peut considérer que des fragments d'ADNmt ont été intégrés de manière continue dans l'ADN nucléaire au cours de l'évolution [26]. La signification et le rôle éventuels de ces séquences nucléaires sont inconnus. Ce sont très vraisemblablement des pseudogènes, essentiellement pour deux raisons. D'une part du fait de la différence de signification de certains codons, en particulier des codons stop, d'autre part du fait que les séquences présentes dans le noyau peuvent ne pas contenir des gènes entiers. Enfin, il est peu probable qu'il existe des séquences promotrices pour ces gènes. Ces séquences pourraient intervenir par leurs produits d'expression ou par leur action sur les gènes voisins. On peut imaginer qu'elles moduleraient l'expression de gènes codant pour des sous-unités d'enzymes de la membrane interne des mitochondries.

Dans les hépatomes induits par la DENA, nous avons montré [25] que les copies des gènes mitochondriaux COI, COII, COIII et ND6 étaient présentes dans le noyau, ce que nous avons déjà observé dans les tissus normaux, mais également que le nombre de copies était supérieur dans les tumeurs et que leur organisation était différente de celle observée dans les tissus normaux. Il est remarquable que ces différences aient également été retrouvées dans le tissu hépatique morphologiquement normal de rats présentant des nodules cancéreux. Deux hypothèses pourraient rendre compte de ces différences : (1) sous la pression des carcinogènes, il y a migration dans le noyau de séquences mitochondriales modifiées ou non ; (2) le carcinogène réagit avec l'ADN nucléaire comme avec l'ADNmt et modifie la structure de certaines séquences.

Des séquences différentes, telles que nous les avons observées dans les hépatomes [25], pourraient dans certains cas résulter de l'action des ions superoxydes et hydroxyles sur l'ADN et sur les membranes mitochondriales [27-29] et jouer un rôle, par exemple en activant des oncogènes ou en dérégulant l'expression de gènes

RÉFÉRENCES

23. Farrelly F, Butow RA. Rearranged mitochondrial genes in the yeast nuclear genome. *Nature* 1983 ; 301 : 296-301.
24. Hadler HJ, Dimitrijevic B, Mahalingam R. Mitochondrial DNA and nuclear DNA from normal rat liver have a common sequence. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983 ; 80 : 6495-9.
25. Corral M, Baffet G, Kitzis A, et al. DNA sequences homologous to mitochondrial genes in nuclei from normal rat tissues and from rat hepatoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989 ; 102 : 258-64.
26. Fukuda M, Wakasugi S, Tsuzuki T, Nomiyama H, Shimada K. Mitochondrial DNA like sequences in the human nuclear genome. *J Mol Biol* 1985 ; 186 : 257-66.
27. Ames BN. Dietary carcinogens and anticarcinogens. *Science* 1983 ; 221 : 1256-64.
28. Cerutti PA. Prooxidant states and tumor promotion. *Science* 1985 ; 227 : 375-81.
29. Richter C. Do mitochondrial DNA fragments promote cancer and aging? *FEBS Lett* 1988 ; 241 : 1-5.
30. Warburg O. On the origin of cancer cells. *Science* 1956 ; 123 : 309-14.
31. White FA, Bunn CL. Segregation of mitochondrial DNA in human somatic cell hybrids. *Mol Gen Genet* 1984 ; 197 : 453-60.
32. Wallace DC. Mitotic segregation of mitochondrial DNAs in human cell hybrid and expression of chloramphenicol resistance. *Somat Cell Mol Genet* 1986 ; 12 : 41-9.
33. Wilkie D, Evans I. Mitochondria and the yeast cell surface : implication for carcinogenesis. *TIBS* 1982 ; 7 : 147-51.
34. Smith R, Huston MM, Jenkins RN, Huston DP, Rich RR. Mitochondria control expression of a murine cell surface antigen. *Nature* 1983 ; 306 : 599-601.

impliqués dans la prolifération cellulaire. Ceci reste cependant, à l'heure actuelle, entièrement hypothétique.

Les modifications de l'ADNmt sont-elles associées à une diminution de la respiration cellulaire ?

Une diminution de la capacité respiratoire des cellules cancéreuses a été mise en évidence par O. Warburg [30]. Cette observation a été confirmée par un certain nombre de laboratoires, contestée par d'autres, si bien que la question reste ouverte.

On peut penser que les importantes anomalies observées dans l'ADNmt doivent se traduire par une diminution de la synthèse d'un certain nombre d'enzymes respiratoires. Il ne faut pas oublier cependant que dans beaucoup de cas, les modifications ne portent que sur une partie des génomes mitochondriaux et que des molécules normales d'ADN pourraient subsister de sorte que les mitochondries à structure normale pourraient suffire à assurer un fonctionnement normal de la chaîne de transfert d'électrons.

Nous avons, en collaboration avec le professeur P. Vignais, de Grenoble, étudié la capacité respiratoire des mitochondries des tumeurs hépatiques par des méthodes spectrophotométriques et des mesures enzymatiques. Nous avons observé une diminution importante des activités des complexes I, II, III et IV. Nous pensons donc que les hépatomes induits par la DENA ont une activité respiratoire fortement diminuée. Dans l'état actuel de nos connaissances, ceci ne peut être généralisé à l'ensemble des cancers.

Les modifications du génome mitochondrial jouent-elles un rôle dans la carcinogenèse ?

Des modifications de l'ADNmt entraînant un dysfonctionnement des mitochondries peuvent-elles être la cause ou seulement la conséquence des profonds bouleversements dus au processus de cancérisation ? Plusieurs arguments feraient plutôt penser à un

rôle actif dans la carcinogenèse : le fait que les carcinogènes chimiques se lient préférentiellement à l'ADNmt et provoquent des mutations, la relative précocité des modifications moléculaires mitochondriales qui précèdent les modifications ultrastructurales. Il ne s'agit cependant que de présomption. Nous allons passer en revue quelques-unes des théories qui ont été avancées pour tenter d'associer carcinogenèse et altération du génome mitochondrial. Une question préalable se pose : les modifications de l'ADNmt subsistent-elles après un certain nombre de réplifications ? On sait que les systèmes de réparation de l'ADNmt sont peu efficaces si bien que les modifications provoquées par les carcinogènes ne sont pas corrigées efficacement. L'étude des maladies mitochondriales a montré qu'il y avait en général hétéroplasmie. Cette hétéroplasmie existe-t-elle dans une même cellule et se maintient-elle au cours des divisions cellulaires ? La réponse est complexe, en effet, l'étude des cultures cellulaires clonées a montré qu'il pourrait y avoir à la fois ségrégation et maintien de l'hétéroplasmie. L'utilisation des hybrides cellulaires et des cybrides a montré, dans certains cas, une élimination progressive de l'ADN muté [31] et, dans d'autres cas, une répartition sensiblement stochastique avec persistance des deux types d'ADNmt au cours des divisions cellulaires successives [32]. Il n'est pas exclu que, dans certains cas, la proportion des molécules mutées augmente avec les divisions cellulaires, pour peu que les origines de répllication soient conservées. En fait, les théories proposées actuellement pour impliquer les mitochondries dans la carcinogenèse ont peu de supports expérimentaux, mais certaines pourraient servir de point de départ pour des théories plus élaborées.

Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer le rôle éventuel des mitochondries dans la carcinogenèse

Rôle des déficiences respiratoires et des agents oxydants. Nous avons vu que Warburg avait émis l'hypothèse que la déficience respiratoire qu'il

avait observée dans la cellule cancéreuse pouvait jouer un rôle fondamental dans la carcinogenèse. Cette déficience respiratoire a été retrouvée par d'autres auteurs dont nous-mêmes, mais contestée par certains. Il est difficile de comprendre, dans nos conceptions actuelles, comment cette déficience pourrait provoquer le phénomène tumoral ; on penserait plutôt qu'elle résulterait des modifications de l'ADNmt ou du fait que la tumeur serait moins bien irriguée par le sang circulant.

On a montré [27, 28] que de nombreux carcinogènes chimiques, en particulier les promoteurs de tumeurs, provoquaient la formation d'ions superoxydes et de radicaux hydroxyles qui sont de puissants oxydants. De plus, une enzyme, la superoxyde dismutase, qui détruit les ions superoxydes, a une activité diminuée dans les cellules cancéreuses (comme d'ailleurs au cours de la sénescence, période de la vie pendant laquelle l'incidence du cancer est élevée). On a par ailleurs montré que les radicaux fortement oxydants favoriseraient la carcinogenèse [29]. Or, les radicaux et ions oxydants provoquent des mutations et des cassures de l'ADN. Il n'est donc pas exclu, quel que soit le mécanisme impliqué, que la baisse de l'activité superoxyde dismutase puisse intervenir dans la formation de tumeurs.

Effet des mutations de l'ADNmt sur la structure des membranes plasmiques. On sait que les cellules cancéreuses présentent des différences de structure de la membrane plasmique, différences qui peuvent, au moins en partie, être responsables de la perte de contrôle de la croissance cellulaire, des caractéristiques d'adhésion de la cellule cancéreuse et des relations intercellulaires.

Deux types d'expériences semblent impliquer l'ADNmt dans le contrôle de la formation de la membrane plasmique. Les mutants petites de levure, qui présentent une délétion de l'ADNmt, ont perdu en partie la capacité de concentrer certains sucres dans la cellule, cette incapacité est levée si l'on rétablit la perméabilité cellulaire. Ces mutations de l'ADNmt pourraient donc provoquer des altérations de la membrane plasmique [10, 33]. Chez la souris, un

antigène de surface Mta est transmis par hérédité maternelle. L'utilisation de la méthode d'hybridation cellulaire et celle d'un colorant spécifique de la mitochondrie, la rhodamine, a permis de montrer que la synthèse de cet antigène nécessitait la présence de mitochondries normales fonctionnelles [34]. On ne comprend pas bien le mécanisme d'intervention des mitochondries dans la synthèse d'antigènes de surface cellulaire. On a émis l'hypothèse [10, 33] que des secteurs de la membrane mitochondriale contrôleraient l'expression de certains gènes nucléaires, en particulier de gènes codant pour des protéines de la membrane plasmique. Des différences de structure de la membrane mitochondriale résultant de changements de structure de l'ADNmt modifieraient aussi l'expression de ces gènes nucléaires.

Rôle des séquences d'ADNmt incorporé dans l'ADN nucléaire. On ignore actuellement le rôle que les séquences nucléaires homologues aux séquences mitochondriales pourraient jouer dans la cellule normale. On peut émettre l'hypothèse que des modifications de structure de ces séquences telles que nous les avons observées dans les hépatomes pourraient jouer un rôle dans la carcinogenèse soit en agissant sur les gènes codant pour les sous-unités d'enzymes mitochondriales, soit en modi-

fiant l'expression de gènes nucléaires contrôlant la prolifération cellulaire. **Action des facteurs commandés par l'ADN nucléaire sur l'expression de gènes mitochondriaux.** L'hypothèse selon laquelle la carcinogenèse résulterait de perturbations de l'expression du génome mitochondrial ne permet pas d'exclure la participation du génome nucléaire. On sait que la réplication de l'ADNmt et sa transcription sont sous le contrôle de protéines codées par l'ADN nucléaire. Il en est de même des facteurs de régulation intervenant dans ces processus. Des mutations portant sur l'ADN nucléaire peuvent avoir pour conséquence la synthèse de facteurs de régulation modifiés qui altéreraient l'expression de gènes mitochondriaux.

De nombreuses observations permettent de penser que le génome mitochondrial est impliqué dans la carcinogenèse sans que l'on puisse, à l'heure actuelle, évaluer l'importance de cette implication, et encore moins son mécanisme. Il est néanmoins très vraisemblable que les mitochondries jouent un rôle dans le cancer, surtout le cancer d'origine chimique, et les théories du cancer ne peuvent négliger ce fait à l'heure actuelle.

Ainsi, on peut étendre à la cancérologie le chapitre en plein développement du rôle des mitochondries en pathologie humaine ■

Summary

Is the mitochondrial genome involved in carcinogenesis ?

Several observations favor the idea that alterations of the mitochondrial genome could be involved in carcinogenesis : (a) mtDNA is a preferential target for chemical carcinogens which induce mutations, (b) in leukemia white blood cells mtDNA presents an abnormal length and an abnormal restriction pattern, several mutations have been characterized ; (c) we have observed in chemically induced rat hepatomas several alterations : a very high level of mitochondrial transcripts, the presence of mRNAs with a modified structure, an altered restriction pattern of mtDNA, which in addition suggests a mitochondrial heteroplasmy, a modified structure of the mtDNA sequences present in cell nuclei, a strong decrease in the activity of several respiratory complexes. Several hypotheses have been proposed to explain the possible role of the mitochondrial alteration in carcinogenesis.

TIRÉS À PART

J. Krüh.