

## GÈNES ET CANCERS... EN 1988

L'éditorial du premier numéro de *médecine/sciences* en mars 1985, s'intitulait « La saga des oncogènes ». Depuis lors, de nombreux résultats ont été obtenus, qui précisent parfois le mécanisme de l'action des oncogènes et remettent souvent en question certaines des conceptions que l'on pouvait avoir à l'époque.

**Oncogènes... un concept aux limites imprécises.** Tout semblait clair, en 1985, quant à la définition d'un oncogène : « tout gène qui, hyperexprimé ou/et modifié, peut être responsable de l'une des étapes de la transformation cancéreuse ». Ils étaient, pensait-on, en nombre limité et devaient exister sous une forme virale et sous une forme cellulaire, quoiqu'aient été connus très tôt des oncogènes viraux sans équivalent cellulaire : les oncogènes des virus à ADN, tels les papovavirus et les adénovirus, et de certains rétrovirus tels HTLV 1 et 2 (*human T cell leukemia viruses*).

En fait, si on s'en tient à la lettre de la définition, les « oncogènes » sont très nombreux... si nombreux que le mot perd de sa signification ; et ils ne semblent avoir assez souvent aucun équivalent viral. En réalité, tout système qui, à un niveau ou à un autre, dans toutes les cellules ou uniquement dans des types cellulaires de différenciation bien spécifique, intervient normalement dans la stimulation de la division cellulaire peut être, lorsqu'il est modifié, à l'origine d'une croissance cellulaire non contrôlée et donc d'une transformation cancéreuse.

Si on considère la succession des événements conduisant au déclenchement de la mitose, la multiplicité des « oncogènes » possibles... et parfois démontrés est surprenante.

Toute hyperproduction d'une hormone, d'un facteur de croissance ou de tout autre agent capable de déclencher la division cellulaire a un potentiel oncogénique. On connaissait déjà l'oncogène *c-sis*, codant pour la chaîne  $\beta$  du PDGF (*platelet derived growth factor*) ; l'hyperexpression et la sécrétion de FGF (*fibroblast growth factor*) apparaît également capable d'induire la transformation cancéreuse des fibroblastes sécréteurs, par un mécanisme autocrine [1]. L'hypersécrétion d'interleukines et de CSF par des cellules hématopoïétiques transformées joue probablement un rôle important dans leur prolifération. On peut en rapprocher l'hypersécrétion de TGF $\alpha$  (*transforming growth factor  $\alpha$* ) qui se fixe aux récepteurs d'EGF (*epidermal growth factor*). En poussant le paradoxe, ne peut-on pas considérer que l'antigène utilisé pour produire un plasmocytome expérimental par hyperstimulation se comporte comme un produit « d'oncogène » ? Intervenant à un stade ultérieur, les exemples d'oncogènes qui sont des gènes codant pour des récepteurs de substances stimulant la prolifération sont si nombreux qu'il serait inutile d'y revenir si des résultats récents n'étendaient encore leur champ. L'oncogène *mas* détecté à partir d'ADN humain introduit dans des fibroblastes NIH 3T3 greffés secondairement à des souris *nude* est le gène codant pour le récepteur de l'angiotensine, artéfactuellement modifié par la transfection [2].

L'observation de réarrangements productifs aberrants des gènes du récepteur pour l'antigène des lymphocytes T dans des cellules T transformées suggère que ce récepteur pourrait, dans certaines conditions, transmettre à la cellule un signal prolifératif découplé de la stimulation antigénique [3]. Peut-être peut-on supposer qu'un semblable phénomène interviendrait au niveau du récepteur pour l'antigène des cellules B... c'est-à-dire les immunoglobulines dont on sait que des formes tronquées caractérisent certaines proliférations des lymphocytes B.

Le signal prolifératif est normalement transmis par des G-protéines du récepteur activé à un système producteur de messagers intracellulaires. Les protéines *ras* sont supposées appartenir à la famille des G-protéines...

---

**Axel Kahn**

---

### RÉFÉRENCES

1. Sporn MB, Roberts AB. Autocrine growth factors and cancer. *Nature* 1985 ; 313 : 745-7.
2. Jackson TR, Blair LAC, Marshall J, Goedert M, Hanley MR. The *mas* oncogene encodes an angiotensin receptor. *Nature* 1985 ; 355 : 437-40.
3. Fultron R, Forrest D, McFarlane R, Onions D, Neil JC. Retroviral transduction of T cell antigen receptor B chain and *myc* genes. *Nature* 1987 ; 326 : 190-4.
4. Vallar L, Spada A, Giannattasio G. Altered Gs and adenylate cyclase activity in human GH secreting pituitary adenomas. *Nature* 1987 ; 330 : 566-8.
5. De Thé H, Marchio A, Tiollais P, Dejean A. A novel steroid thyroid hormone receptor-related gene inappropriately expressed in human hepatocellular carcinoma. *Nature* 1987 ; 330 : 667-70.
6. Weinberg RA. Finding the anti-oncogene. *Scientific American*. 1988 ; 10 : 34-41.
7. Ponder B. Gene losses in human tumors. *Nature* 1988 ; 335 : 400-2.
8. Linzer DIH. The marriage of oncogenes and anti-oncogenes. *Trends Genet* 1988 ; 4 : 245-7.

### ADRESSE

A. Kahn : Directeur de l'unité de génétique et de pathologie moléculaires. Inserm U. 129, CHU Cochin-Port-Royal, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

quoique l'incertitude persiste sur ce point et sur le système qu'elles coupleraient. Une activation anormale de l'adénylate cyclase dans des cellules tumorales endocrines non stimulées par l'hormone a permis de faire l'hypothèse d'une anomalie du système de couplage activant une protéine  $G_s$  [4].

Parmi les conséquences précoces de la stimulation de la prolifération, on trouve l'alcalinisation cellulaire provoquée par l'activation de l'antiporteur sodium/proton et l'induction de phosphorylations catalysées par la protéine kinase C. Ces deux systèmes\* sont tumorigènes lorsqu'ils sont surexprimés. Enfin, l'information proliférative est transmise au noyau où interviennent des produits d'oncogènes présomptifs ou avérés tels *c-fos*, *c-myc*, *p53*, *AP-1/c-jun*. *AP-1/c-jun* était un activateur transcriptionnel étudié depuis longtemps pour son rôle dans la réponse de gènes à l'induction de la prolifération... rôle qu'il partage avec d'autres protéines bien caractérisées comme *AP-2*, *SRF* (*serum response factor*), *NF- $\kappa$ B* (*nuclear factor* se fixant au site B du *enhancer* du gène de la chaîne légère  $\kappa$  des immunoglobulines). Il ne serait donc pas étonnant que l'on démontrât bientôt que les gènes codant pour tous ces facteurs sont, eux aussi, des « oncogènes potentiels ».

Enfin, la superfamille des récepteurs nucléaires est codée par une série d'oncogènes... possibles ou confirmés. L'oncogène *c-erbA* est l'un des gènes codant pour les récepteurs de l'hormone thyroïdienne, et l'oncogène présomptif *HAP*, activé par insertion du virus de l'hépatite B, code pour un récepteur de l'acide rétinolique [5]. Puisque tous les autres ligands des récepteurs de cette famille ont des actions prolifératives sur des cellules cibles particulières, ces récepteurs sont bien des « oncogènes en puissance ».

Il semble en aller des oncogènes comme des éléments de la classification périodique de Mendeleïev : il persiste des cases vides dont tout indique qu'elles seront logiquement et

systématiquement comblées. Reste que parmi ces gènes qui peuvent être à l'origine de cancer, certains sont activés avec une certaine fréquence dans des cancers « naturels », d'autres n'étant que potentiellement oncogéniques. Faut-il réserver aux premiers le nom d'oncogènes ?

**Oncogènes et anti-oncogènes : un équilibre critique.** La division cellulaire semble être normalement soumise à un double contrôle, positif et négatif ; la démonstration la plus éclatante du contrôle négatif est tirée d'expériences de génétique somatique : le phénotype « normal » est parfois dominant sur le phénotype « transformé » dans des hybrides somatiques entre des cellules normales et des cellules cancéreuses. La réintroduction d'un chromosome 11 normal dans une lignée de cellules dérivées de néphroblastome supprime leur tumorigénicité [6]. Cette notion a d'abord été utilisée pour proposer un mécanisme des cancers congénitaux tels le néphroblastome et le rétinoblastome. Dans les deux cas il existe une anomalie constitutive, parfois une délétion cytogénétique, d'un chromosome sur deux (respectivement le 11 et le 13). La tumeur semble survenir lorsque l'allèle initialement normal est à son tour altéré par un phénomène qui peut aller de la mutation ponctuelle à la perte de tout ou partie du chromosome. Puis, les exemples se sont multipliés où l'on pouvait démontrer de semblables pertes de matériel génétique dans des cancers familiaux ou sporadiques, si bien qu'il apparaît aujourd'hui qu'un tel phénomène fait partie des processus conduisant à la progression tumorale. Outre les chromosomes 11 et 13 dont nous avons déjà parlé (et dont le rôle probable dépasse le cadre du néphroblastome et du rétinoblastome) l'attention a été attirée sur le chromosome 1 dans le carcinome médullaire de la thyroïde, le 3 dans les cancers du poumon et du rein, le 5 dans la polyposé colique familiale, les chromosomes 17 et 18 dans les formes sporadiques du cancer du côlon, le 22 dans les méningiomes et neurinomes de l'acoustique, etc. [7]. Le gène de susceptibilité au rétinoblastome (*Rb*) a été cloné. Quel qu'en soit le mécanisme, le produit du gène

*Rb* est absent dans pratiquement tous les rétinoblastomes, les ostéosarcomes... et nombre de cancers du sein et de carcinomes à petites cellules du poumon [6-8]. Une série de résultats très récents indique que la protéine *Rb* pourrait agir *via* son interaction avec des produits d'oncogènes nucléaires (homologues cellulaires des produits viraux *E1A* et antigène T de SV40 ? (*m/s n° 8, vol. 4, p. 520*). Des mutations de l'antigène T supprimant sa liaison à la protéine *Rb* suppriment son potentiel oncogénique [6, 8]. Très récemment a été caractérisée, dans une tumeur de vessie, une protéine *Rb* tronquée incapable de lier *E1A* [8]. Un excès d'oncogènes pourrait donc « titrer » la protéine (peut-être en inhibant sa liaison à ses cibles normales d'ADN), un déficit en protéine *Rb* ayant la double conséquence de laisser libres les produits d'oncogènes normalement liés à elle et de supprimer son action inhibitrice. Tout défaut d'interaction entre oncogène et anti-oncogène aurait le même effet.

Ainsi peut-on dire, en cette toute fin de l'année 1988, que ce qui est le plus nouveau dans le monde des oncogènes, ce sont les anti-oncogènes. Si l'on considère qu'il est bien plus probable pour un événement génétique aux conséquences aléatoires d'inactiver, par quelque procédé que ce soit, un anti-oncogène que d'activer un oncogène, on doit s'attendre à ce que cette nouvelle classe de gènes soit une cible privilégiée des agents de cancérisation. A toute chose malheur étant bon (malheur, puisqu'il apparaît qu'une cellule est cancéreuse à la fois par perte d'une fonction inhibitrice et gain d'une fonction activatrice de la prolifération cellulaire), les perspectives thérapeutiques ouvertes par la découverte des anti-oncogènes sont autrement plus attrayantes que celles découlant des travaux sur les oncogènes : il est en effet bien plus aisé, peut-on imaginer, de « donner » une substance dont l'absence participe à l'hyperprolifération cellulaire que de s'opposer à l'hyperactivité d'un oncogène ! Et s'il est vrai que dans l'équilibre entre ce « yin » et ce « yan » de la division cellulaire, c'est le pouvoir antiprolifératif qui l'emporte, beaucoup d'espoirs sont permis ■

\* Dans le cas de l'antiporteur *Na/H* c'est en fait un système alcalinisant équivalent qui a été utilisé, le gène codant pour une pompe à proton de levure (*m/s n° 8, vol. 4, p. 518*).

## Les 2 voies du déclenchement de la division cellulaire

Les phénomènes cellulaires précoces qu'entraîne la stimulation par un mitogène commencent à être bien connus : ce sont, entre autres, l'alcalinisation du cytoplasme, l'augmentation de la concentration cytoplasmique du calcium ionisé, la phosphorylation de la protéine ribosomale  $S_6$ , l'augmentation de l'expression des oncogènes cellulaires *c-fos* et *c-myc* et, enfin, la réinitiation de la synthèse d'ADN (*figure 1*). L'alcalinisation est due à l'activation de l'antiport  $Na^+/H^+$  qui échange des protons, libérés dans le milieu extracellulaire, contre du sodium qui pénètre dans la cellule. L'activité de l'antiport pourrait être directement couplée (via des G-protéines ?) aux récepteurs pour les facteurs de croissance et être aussi modulée par phosphorylation, peut-être catalysée par la protéine kinase C. L'augmentation du calcium cytoplasmique peut avoir deux origines : soit la libération à partir des citernes du réticulum endoplasmique, sous l'action de l'inositol triphosphate ( $IP_3$ ), soit l'ouverture de canaux calciques et la pénétration du calcium extra-cellulaire. La phosphorylation de la protéine ribosomale  $S_6$ , associée à l'augmentation de la synthèse protéique, pourrait être catalysée par la protéine kinase C activée par le diacylglycérol (DG) ou/et par des protéines kinases dépendantes de l'AMP cyclique dont la concentration augmente lors de l'induction de la division cellulaire [1]. Rien n'est connu des messages exacts responsables de l'hyperexpression des oncogènes cellulaires *c-fos* et *c-myc* dont on sait qu'elle pourrait être d'origine à la fois transcriptionnelle et post-transcriptionnelle (*m/s n° 5, vol. 2, p. 286*). De même, on ne connaît pas « in

fine » les derniers signaux responsables de la réinitiation de la synthèse d'ADN dont on peut penser qu'elle dépend de l'action des oncogènes cellulaires. Une série d'expériences a d'ailleurs démontré qu'il était possible, grâce à l'emploi d'anticorps dirigés contre des oncogènes cellulaires, de bloquer la synthèse d'ADN stimulée par un signal mitogène.

Plusieurs études permettent de définir deux voies, alternatives ou associées, de stimulation de la division cellulaire. L'une est couplée, via une probable G-protéine (*m/s n° 10, vol. 2, p. 583*), à l'activation de la phospholipase C et à l'hydrolyse du phosphatidylinositol 4,5 diphosphate (Ptd Ins 4,5  $P_2$ ) en diacylglycérol (DG) et inositol-triphosphate ( $IP_3$ ) lorsque des facteurs de croissance tels le PDGF, la thrombine ou la bombésine se lient au récepteur (*figure 1*) [1, 2].

L' $IP_3$  provoque une libération du calcium des citernes du réticulum endoplasmiques et le DG active la protéine kinase C qui, entre autres actions, pourrait moduler l'ouverture de l'antiport  $Na^+/H^+$ , phosphoryler la protéine ribosomale  $S_6$ , et, également par phosphorylation, inhiber l'affinité du récepteur à EGF pour ce facteur de croissance [2].

La seconde voie de stimulation mitogénique est indépendante de l'hydrolyse du Ptd Ins 4,5  $P_2$  et de la stimulation de la protéine kinase C et est bien représentée par le mode d'action d'EGF et de FGF (*Fibroblast Growth Factor*). Le récepteur à EGF est une protéine kinase spécifique des résidus tyrosines (comme d'ailleurs le récepteur au PDGF)... très peu de choses étant connues du mécanisme de la stimulation mitogé-

nique qui suit la fixation d'EGF à son récepteur et l'activation de l'activité tyrosine kinase. Rappelons que l'aptitude du récepteur à EGF à phosphoryler une lipocortine inhibitrice de la phospholipase  $A_2$ , et donc à modifier probablement le métabolisme de l'acide arachidonique et des prostaglandines, constitue une piste intéressante (*m/s n° 9, vol. 2, p. 522*). Une inhibition par phosphorylation de la lipocortine, et donc une désinhibition de la phospholipase  $A_2$ , pourrait en effet aboutir à une augmentation de la synthèse de prostaglandines qui pourraient, notamment, stimuler l'adénylate cyclase et la synthèse d'AMP cyclique [1] (*figure 1*). L'augmentation du calcium cytoplasmique qui suit la stimulation par EGF ou FGF serait due à l'ouverture des canaux calciques et à l'irruption du  $Ca^{++}$  extracellulaire et non à la libération du calcium stocké dans le réticulum endoplasmique. De même, l'alcalinisation serait due ici à un effet (direct ?) sur l'antiport  $Na^+/H^+$ , non relayé par la protéine kinase C.

La dualité (ou la multiplicité... ?) des mécanismes d'activation de la division cellulaire se retrouve au niveau de la stimulation transcriptionnelle du gène *c-fos*. Ce gène possède, dans sa région flanquante 5', un *enhancer* indispensable à l'augmentation de la transcription sous l'influence de facteurs mitogènes [3, 4]. Ce *enhancer* lie une protéine qui, probablement, l'active [4, 5] et qui est un exemple de ces facteurs diffusibles régulant l'expression des gènes dont nous avons tant parlé ici (*m/s n° 7, vol. 2, p. 410*). Prywes et Roeder viennent de démontrer que l'abondance de ce facteur se liant au *enhancer* de *c-fos* était



régulée parallèlement à l'expression du gène lors du traitement de cellules A431 par EGF... mais pas par deux autres agents induisant néanmoins l'hyperexpression de *c-fos* et la division cellulaire, un ester de phorbol et l'ionophore calcique A23187 [5]. Le premier agent agit par activation directe de la protéine kinase C (figure 1), le second augmentant la perméabilité membranaire au calcium et entraînant donc une augmentation du calcium cytoplasmique. En conclusion, on peut définir, parmi les phénomènes impliqués dans la stimulation de la division cellulaire, ceux qui sont « obligatoires », constituant un véritable tronc commun, et ceux qui sont optionnels. Dans le tronc commun, il faut ranger l'alcalinisation, l'augmentation du  $Ca^{++}$  cytoplasmique, la phosphorylation de la protéine  $S_6$ , l'hyperexpression d'oncogènes cellulaires et le déclenchement de la synthèse d'ADN. Les mécanismes de mise en jeu de ces modifications métaboliques ne sont pas univoques et peuvent être regroupés en deux voies de stimulation mitogénique. L'une, représentée par les effets de PDGF ou de la bombésine, implique l'activation de la phos-

pholipase C, l'hydrolyse du phosphatidyl inositol 4,5 diphosphate et l'activation de la protéine kinase C. L'autre, illustrée par les

effets d'EGF et de FGF, est indépendante de ces réactions et l'enchaînement des phénomènes y est moins connu.

A. K.

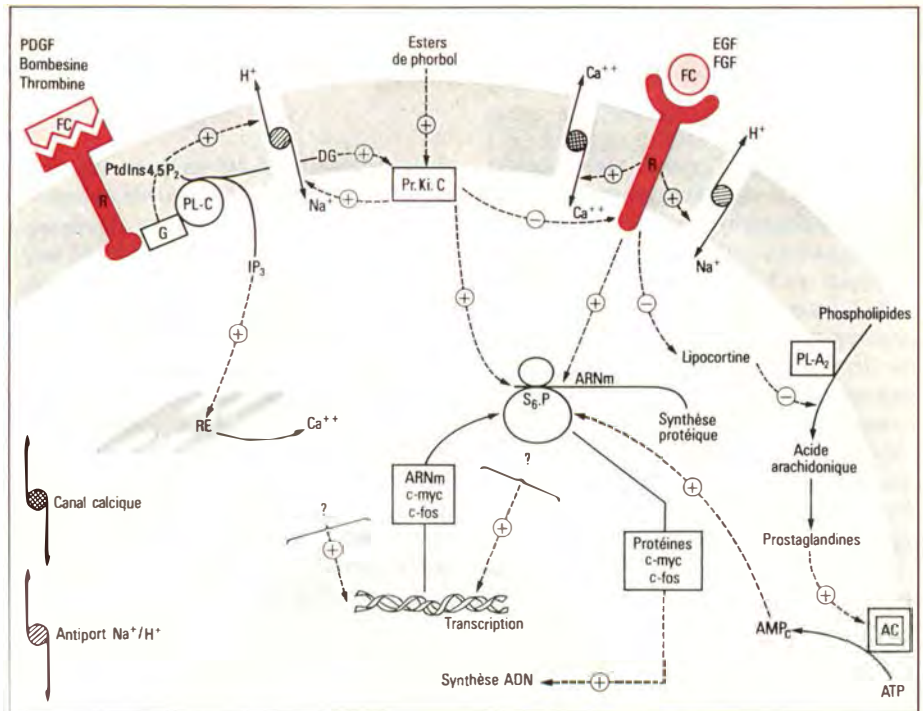


Figure 1. **Schéma des phénomènes précoces de la stimulation mitogénique d'une cellule.** R : récepteurs de facteurs de croissance ; FC : facteurs de croissance ; G : G-protéine ; PL-C : phospholipase C ; Pr.Ki.C : protéine kinase C ; PL-A<sub>2</sub> : phospholipase A<sub>2</sub> ; AC : adénylate cyclase ; PtdIns 4,5 P<sub>2</sub> : phosphatidyl inositol 4,5 P<sub>2</sub> ; DG : diacylglycérol ; IP<sub>3</sub> : inositol triphosphate ; RE : réticulum endoplasmique ; S<sub>6</sub>.P : protéine S<sub>6</sub> ribosomale phosphorylée. Les réactions sont symbolisées par des lignes continues et les effets biologiques par des lignes discontinues. A gauche est représentée la voie de stimulation dépendant de l'activation de la PL-C hydrolysant le PtdIns 4,5 P<sub>2</sub> en DG (qui active la Pr.Ki.C) et IP<sub>3</sub> (qui entraîne la libération de Ca<sup>++</sup> stocké dans les citernes du RE). La fixation des facteurs de croissance au récepteur pourrait aussi, hypothétiquement via le couplage par une G-protéine, stimuler l'antiport Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> qui, provoquant un efflux de protons vers le milieu extracellulaire, conduit à l'alcalinisation du milieu intracellulaire. La Pr.Ki.C pourrait relayer l'activation de l'antiport Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> et phosphoryler la protéine ribosomale S<sub>6</sub>, stimulant la synthèse protéique ; elle diminue l'affinité du récepteur à EGF pour ce facteur de croissance. Les mécanismes couplant la fixation d'EGF ou de FGF, à droite, à la stimulation de l'antiport Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> et à l'ouverture des canaux calciques, sont inconnus. L'inactivation de la lipocortine par phosphorylation sur une tyrosine, catalysée par le récepteur à EGF activé, est tout à fait hypothétique. Elle entraînerait une augmentation de la synthèse des prostaglandines, stimulants potentiels de l'AC et de la synthèse d'AMPc. La protéine S<sub>6</sub> est également substrat de protéines kinases stimulées par l'AMPc. Ces deux voies de stimulation aboutissent à la transcription des gènes codant pour *c-fos* et *c-myc* qui pourraient stimuler la synthèse d'ADN.

1. Rozengurt E. Early signals in the mitogenic response. *Science* 1986 ; 234 : 161-6.
2. Magnaldo L, L'Allemain G, Chambard JC, Moenner M, Barritault D, Pouyssegur J. The mitogenic signaling pathway of fibroblast growth factor is not mediated through polyphosphoinositide hydrolysis and protein kinase C activation in hamster fibroblasts. *J Biol Chem* 1986 ; 261 : 16916-22.
3. Treisman R. Transient accumulation of *c-fos* RNA following serum stimulation requires a conserved 5' element and *c-fos* 3' sequences. *Cell* 1986 ; 42 : 889-902.
4. Treisman R. Identification of a protein-binding site that mediates transcriptional response of the *c-fos* to serum factors. *Cell* 1986 ; 46 : 567-74.
5. Prywes R, Roeder RG. Inducible binding of a factor to the *c-fos* enhancer. *Cell* 1986 ; 47 : 777-84.

## Régulation post-transcriptionnelle de l'expression des oncogènes

Le Lexique du n° 7 vol. 1 de médecine/sciences a déjà insisté sur l'importance de la régulation de l'expression des gènes après leur transcription en ARN. Cette régulation peut intéresser la maturation des transcrits, la stabilité des messagers ou leur traductibilité. Or, depuis les travaux réellement novateurs du laboratoire de Philippe Jeanteur à Montpellier, il apparaît que c'est en effet à des niveaux post-transcriptionnels qu'est régulée l'expression de plusieurs oncogènes. Le messenger de l'oncogène *c-myc* a une durée de vie extrêmement brève (demi-vie de l'ordre de 10 minutes). Lorsqu'une cellule quiescente est stimulée par un facteur de croissance, l'augmentation de la concentration du messenger *c-myc* est un phénomène précoce qui n'est pas dû à une augmentation de sa synthèse, mais à sa stabilisation provisoire [1, 2]. L'interféron réprime l'expression de l'ARN *c-myc*, et donc de la protéine correspondante, en le déstabilisant [3]. Dans des plasmocytomes de souris aussi bien que dans certains lymphomes de Burkitt, il existe des remaniements chromosomiques qui, très souvent, séparent le premier exon non codant du gène des deux exons codants. L'ARN transcrit est alors tronqué. Deux équipes différentes viennent de démontrer que l'accumulation de ces messagers aberrants dans ces cellules tumorales était secondaire à une augmentation de la stabilité de l'ARN *c-myc* dépourvu du premier exon [4-6]. Un tel phénomène d'une régulation post-transcriptionnelle au cours du

cycle cellulaire a été rapporté également à propos de deux autres oncogènes dont les produits ont une localisation nucléaire : p53 (oncogène cellulaire codant pour une protéine de 53 000 de poids moléculaire et n'ayant pas d'équivalent viral [7]) et *c-myb* [8]. Lorsqu'une cellule quiescente est stimulée à proliférer, un produit d'oncogène augmente encore plus précocement que *c-myc* : il s'agit de *c-fos* dont le messenger est, comme celui de *c-myc*, très instable. La dégradation rapide de ce messenger après stimulation requiert l'intégrité de la séquence 3' non codante; lorsqu'elle est déletée, la concentration de l'ARN *c-fos* reste élevée après stimulation et un gène ainsi modifié devient transformant par transfection dans des cellules fibroblastiques [9]. La conclusion de toutes ces études est que la concentration intracellulaire des produits d'oncogènes cellulaires, et donc aussi leur pouvoir transformant, est fréquemment régulée au niveau de la stabilité de leurs messagers, ce qui ne signifie pas que des phénomènes transcriptionnels ne puissent pas également intervenir. Des séquences de l'ARN, situées dans la région 5' non codante dans le cas de *c-myc* et 3' non codante dans le cas de *c-fos*, jouent un grand rôle dans cette aptitude des ARN à être régulés par leur dégradabilité. On peut imaginer que ces segments confèrent aux transcrits une conformation particulière, les exposant à la dégradation sous l'influence de facteurs régulés au cours du cycle cellulaire et de l'induction de la prolifération.

A.K.

1. Dani C, Blanchard J M, Piechaczyk M, *et al.* Extreme instability of myc mRNA in normal and transformed human cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 7046-50.
2. Blanchard J M, Piechaczyk M, Dani C, *et al.* *c-myc* gene is transcribed at high rate in G<sub>0</sub> arrested fibroblasts and is post-transcriptionally regulated in response to growth factors. *Nature* 1985; 317: 443-5.
3. Dani C, Mecchi N, Piechaczyk M, *et al.* Increased rate of degradation of *c-myc* mRNA in interferon treated Daudi cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 4896-9.
4. Eick D, Piechaczyk M, Henglein B, *et al.* Aberrant *c-myc* RNAs of Burkitt's lymphoma cells have longer half lives. *Embo J* 1985; 4: 3717-25.
5. Piechaczyk M, Yang J Q, Blanchard J M *et al.* Posttranscriptional mechanisms are responsible for accumulation of truncated *c-myc* RNAs in murine plasma cell tumors. *Cell* 1985; 42: 589-97.
6. Rabbitts P H, Forster A, Stinson M A *et al.* Truncation of exon 1 of the *c-myc* gene results in prolonged *c-myc* mRNA stability. *Embo J* 1985; 4: 3727-33.
7. Dony C, Kessel M, Gruss P. Post-transcriptional control of *c-myc* and p53 expression during differentiation of the embryonal carcinoma cell line F9. *Nature* 1985; 317: 636-8.
8. Thompson C B, Challoner P B, Weiman P E, *et al.* Expression of the *c-myb* proto-oncogene during cellular proliferation. *Nature* 1986; 319: 374-80.
9. Treisman R. Transient accumulation of *c-fos* RNA following serum stimulation requires a conserved 5' element and *c-fos* 3' sequences. *Cell* 1985; 42: 889-902.

# Mécanismes post-traductionnels d'activation des oncogènes

Une activité biologique peut être régulée à de très nombreux niveaux; les mécanismes de régulation de la transcription des gènes, de la maturation et de la stabilité des ARN messagers ont été analysés en détail dans les numéros précédents de médecine/sciences. Nous avons notamment signalé la fréquence avec laquelle la stabilisation de messagers codant pour des oncogènes pouvait être responsable de leur activation (médecine/sciences n° 5, vol. 2, p. 286). La traduction de l'ARNm en protéine peut également être contrôlée, comme l'indique éloquentement l'exemple de l'ARN du virus LAV récemment rapporté (médecine/sciences n° 5, vol. 2, p. 285). L'activité biologique et la stabilité d'une protéine peuvent-être, enfin, modifiées après sa synthèse par de nombreux phénomènes parmi lesquels, sans être exhaustif, on peut citer la phosphorylation, la glycosylation et l'association réversible à une autre molécule, ligand de petite taille ou macromolécule. De tels processus post-traductionnels sont en cause dans l'activation de certains oncogènes. Le virus du polyome (virus à ADN) comporte dans son génome deux oncogènes dénommés grand T et moyen T; le premier appartient plutôt à la catégorie des oncogènes « immortalisants », le second étant « transformant » [1]. Le mécanisme de l'action de moyen T est sa liaison avec l'oncogène cellulaire c-src [2] dont il stimule l'activité tyrosine kinasique [2, 3]. Des gènes mutés moyen T dont les pro-

duits ont perdu cette propriété de se complexer à c-src ont également perdu leur pouvoir transformant [4]. c-src code pour la protéine p60<sup>c-src</sup>, une protéine kinase spécifique des résidus tyrosines qui, in vivo, est elle-même phosphorylée sur la tyrosine 527, proche de l'extrémité carboxyterminale de la molécule. Par contre, p60<sup>v-src</sup>, produit du gène transformant du virus de Rous, est phosphorylée in vivo sur la tyrosine 416. Dans les cellules transformées par le virus du polyome, p60<sup>c-src</sup> associée au produit de moyen T est, comme la protéine virale p60<sup>v-src</sup>, phosphorylée sur la tyrosine 416 [5]. Ces résultats suggèrent par conséquent que la liaison entre p60<sup>c-src</sup> et la protéine moyen T entraîne la phosphorylation de p60<sup>c-src</sup> sur une autre tyrosine que celle qui est phosphorylée dans les cellules normales, cette modification du site de phosphorylation expliquant l'augmentation de l'activité tyrosine kinasique et la transformation cellulaire.

Un autre virus à ADN, SV-40 (simian virus-40), possède dans son génome un seul gène transformant, également appelé grand T; son produit est capable de former des complexes spécifiques avec la protéine p53 codée par un oncogène cellulaire (médecine/sciences n° 5, vol. 2, p. 286) et de la stabiliser. Il est fort possible que ce phénomène de stabilisation de p53, sinon très instable, soit à l'origine du pouvoir transformant de l'oncogène T de SV-40 [6]. p53

est régulée au cours du cycle cellulaire à au moins deux niveaux, la stabilité de son messenger et sa stabilité propre; cette dernière est augmentée par sa liaison avec une protéine cellulaire de 70 000 de poids moléculaire dont la concentration varie elle aussi en fonction de l'activité mitotique de la cellule et s'accroît fortement en cas d'augmentation anormale de la température (« protéine de choc thermique »).

Une interaction spécifique entre une autre protéine de choc thermique (la « 90 K », de 90 000 de poids moléculaire) et les produits de nombreux oncogènes viraux [v-sarc [7], v-fes, v-fgr (M.G. Catelli, communication personnelle), v-fos, v-yes, v-abl] a également été décrite et il est possible que le même type de phénomène intervienne au niveau des produits des oncogènes cellulaires équivalents.

Ainsi, ces mécanismes d'activation des produits pré-existants d'oncogènes cellulaires par des protéines virales ou cellulaires jouent-ils probablement un rôle encore imparfaitement exploré dans la transformation maligne et la régulation de la division cellulaire.

A.K.

1. Mougneau E, Glaichenhaus N, Cuzin F. Analyse génétique des étapes précoces de la progression tumorale. *médecine/sciences* 1985; 1 : 86-90.
2. Stehelin D. Les oncogènes cellulaires, clés de la cancérogénèse. *médecine/sciences* 1985; 1 : 10-6.
3. Bolen JB, Thiele CJ, Israel MA, et al. Enhancement of cellular src gene product-associated tyrosyl kinase activity following polyoma virus infection and transformation. *Cell* 1984; 38 : 767-77.
4. Cheng SH, Markland W, Markham AF, Smith AE. Mutations around the NG 59 lesion indicate an active association of polyoma virus middle T antigen with pp60<sup>src</sup> is required for cell transformation. *Embo J* 1986; 5 : 325-34.
5. Cartwright CA, Kaplan PL, Cooper JA, Hunter T, Eckhart W. Altered sites of tyrosine phosphorylation in pp60<sup>c-src</sup> associated with polyoma virus middle tumor antigen. *Mol Cell Biol* 1986; 6 : 1562-70.
6. Pinhasi-Kimhi O, Michalovitz D, Ben-Zeev Z, Oren M. Specific interaction between the p53 cellular tumor antigen and major heat shock proteins. *Nature* 1986; 320 : 182-4.
7. Brugge JS. The specific interaction of the Rous sarcoma virus transforming protein, pp60<sup>src</sup> with two cellular proteins. *Cell* 1981; 25 : 363-72.



## Récepteur des hormones thyroïdiennes, c-erb-A et oncogènes

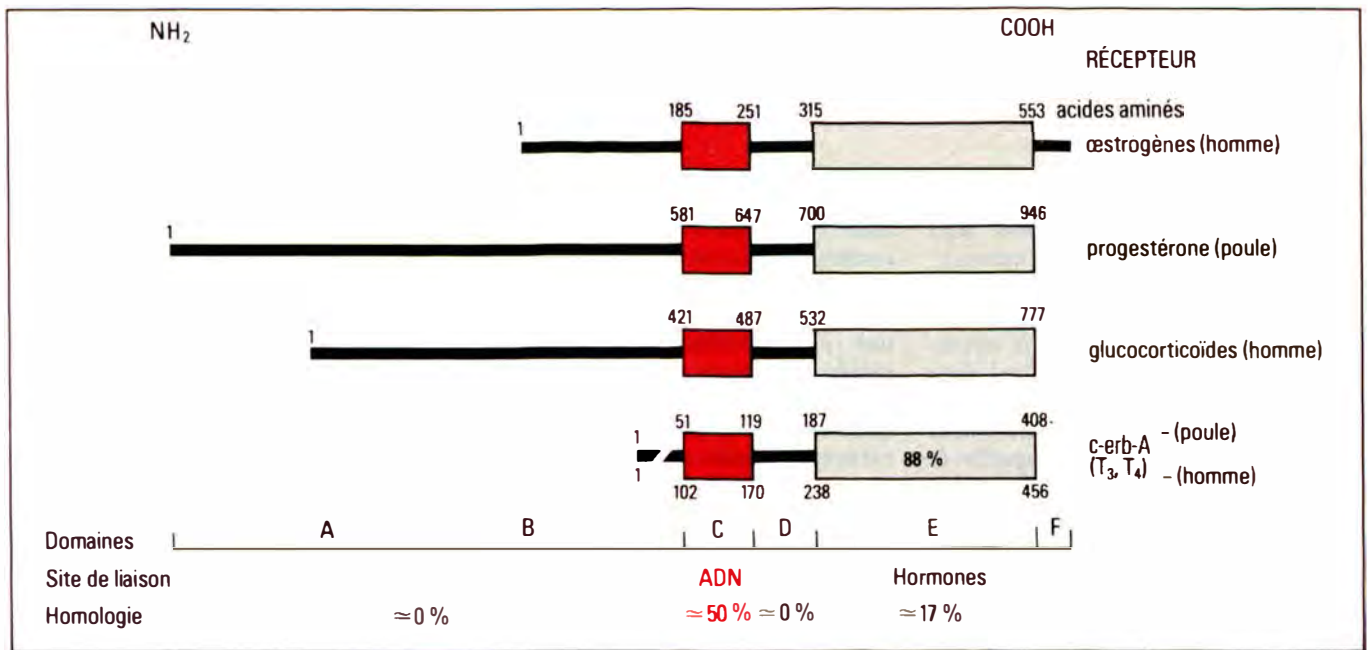


Figure 1. **Séquence des acides aminés des récepteurs des hormones stéroïdes et de c-erb-A aviaire et humain [1].** Les positions des acides aminés situés aux bornes de chaque domaine sont indiquées. Pour erb-A, les chiffres du haut correspondent à la protéine aviaire et ceux du bas à la protéine humaine ; le pourcentage d'acides aminés identiques entre les protéines de ces deux espèces est donné pour les régions C et E. « L'homologie » chiffrée à la partie inférieure du schéma donne le pourcentage moyen d'acides aminés identiques dans les différents domaines des quatre types de récepteur schématisés.

La détermination de la structure des récepteurs d'hormones stéroïdes (glucocorticoïdes, progestérone, œstrogènes) [1] a permis de noter leur homologie avec l'oncogène erbA dont l'équivalent viral, v-erbA, coopère avec v-erbB pour provoquer l'érythroblastose aviaire chez les animaux infectés par AEV (Avian Erythroblastosis Virus : rétrovirus dont le génome contient les deux oncogènes v-erb-A et v-erb-B) (*m/s* n° 3, vol. 2, p. 151).

Tous ces récepteurs sont homologues entre eux, principalement au niveau d'une région riche en cystéine de 66 acides aminés (région C de la figure 1) qui constitue le domaine de liaison à l'ADN et qui est à 50 % identique entre les différents récepteurs des hormones stéroïdes et erbA. Il existe également une très faible

homologie (17 %) entre les domaines carboxyterminaux E qui constituent les sites de fixation des hormones (figure 1). Les régions N-terminales A et B, ainsi que la région hydrophile D qui sépare les domaines C et E, ne sont pas conservées. Deux équipes viennent de cloner l'ADN complémentaire des messagers de c-erbA aviaire [2] et humain [3] et de démontrer que les produits correspondants se comportaient comme des récepteurs des hormones thyroïdiennes : ils ont l'affinité requise pour la triiodothyronine (T3) et ses dérivés, sont localisés dans le noyau comme le récepteur des hormones thyroïdiennes et sont exprimés dans tous les tissus. De plus, et cette dernière expérience semble décisive, des anticorps dirigés contre la protéine c-erbA aviaire [2] épuisent un ex-

trait cellulaire de ses propres récepteurs de T3. La protéine virale v-erbA diffère de c-erbA en 17 positions, deux situées dans le domaine C et onze dans le domaine E. Elle est, comme c-erbA, à localisation nucléaire, mais n'a aucune affinité pour les hormones thyroïdiennes.

Ces résultats appellent deux types de commentaires et posent plusieurs questions. Premièrement, les récepteurs des hormones à action nucléaire, agissant après fixation sur l'ADN du complexe hormone-récepteur, appartiennent à une super-famille de gènes, peut-être constituée dans l'évolution par un mécanisme « d'exon shuffling » (*m/s n° 1, vol. 2, p. 51*), dont la région de liaison à l'ADN est particulièrement conservée. Deuxièmement, ces récepteurs représentent de bons exemples de facteurs diffusibles modulant l'expression de gènes via leur fixation à des séquences régulatrices, probablement des *enhancers* hormono-dépendants, cette propriété étant, selon toute évidence, à la base de leur intervention dans la cancérogénèse. On a pu relier ainsi le pouvoir transformant de l'oncogène E<sub>1</sub>A d'adénovirus à son effet sur des *enhancers* cellulaires, en l'occurrence son effet inhibiteur [4, 5]. Des résultats en cours de publication suggéreraient que l'activité transformante de l'oncogène myc est parallèle à son aptitude à activer la transcription de certains gènes (*Brent R, sous presse*). L'effet facilitateur des œstrogènes sur le développement des cancers du sein semble lié à l'activation de gènes intervenant dans la croissance et la prolifération de cellules sensibles à ces hormones. Dans le cas de erbA, les mécanismes de son intervention dans la cancérisation restent spéculatifs. Malgré des articles épars établissant une relation entre hormones thyroïdiennes et cancer [3], nulle observation clinique ni expérimentation animale ne peut démontrer définitivement qu'une hyperthyroïdie est un élément favorisant l'éclosion de cancers. Il faut noter

cependant que Anne Dejean *et al*, dans le laboratoire de Pierre Tiollais, ont constaté dans une observation d'hépatome humain, une intégration du virus de l'hépatite B à proximité d'un gène ayant des homologues avec erb-A [6]. V-erb-A n'est pas, à lui seul, un oncogène capable d'entraîner la transformation cellulaire. Il augmente cependant le pouvoir transformant de v-erb-B, le « ciblant » vers la lignée érythroïde dont il bloque la différenciation terminale normale. Le mécanisme de cette action est inconnu. Ce pourrait être une stimulation permanente, indépendante des hormones thyroïdiennes (qui ne se fixent d'ailleurs pas sur v-erb-A) soit de gènes normalement sensibles à ces hormones, soit d'autres gènes sur lesquels v-erb-A agirait de façon ectopique du fait des deux mutations de sa région C de liaison à l'ADN. L'oncogène pourrait au contraire inhiber l'expression de gènes normalement stimulés par la T3 en entrant en compétition avec le récepteur fonctionnel pour la liaison aux régions régulatrices de gènes impliqués dans la différenciation érythroblastique.

#### A. K.

1. Green S, Chambon P. Carcinogenesis : a superfamily of potentially oncogenic hormone receptors. *Nature* 1986 ; 324 : 615-7.
2. Sap J, Munoz A, Damm K, *et al*. The c-erbA protein is a high-affinity receptor for thyroid hormone. *Nature* 1986 ; 324 : 635-40.
3. Weinberger C, Thompson CC, Ong ES, Lebo R, Gruol DJ, Evans RM. The c-erbA gene encodes a thyroid hormone receptor. *Nature* 1986 ; 324 : 641-6.
4. Lillie JW, Green M, Green MR. An adenovirus E1 A protein region required for transformation and transcriptional repression. *Cell* 1986 ; 46 : 1043-51.
5. Moran E, Zerler B, Harrison TM, Mathews MB. Identification of separate domains in the adenovirus E1 A gene for immortalization activity and the activation of virus early genes. *Mol Cell Biol* 1986 ; 6 : 3470-80.
6. Dejean A, Bougueleret L, Grzeschik KH, Tiollais P. Hepatitis B virus DNA integration in a sequence homologous to v-erbA and steroid receptor genes in a hepatocellular carcinoma. *Nature* 1986 ; 322 : 70-2.



M.-M. GALTEAU, J. HENNY,  
G. SIEST

1989, broché, 1 000 pages  
560 FF

- Techniques et appareillages
- Sondes nucléiques en biologie clinique
- Dosage de médicaments
- Métabolisme lipidique (acquisitions récentes)
- Indicateurs de risque (tabac, alcool)
- Biologie clinique et pathologies
- Nouveaux marqueurs (appareils ostéo-articulaires, peroxydation lipidique, marqueurs tumoraux)
- Biologie et transplantation d'organes

#### BON DE COMMANDE

NOM ..... Prénom .....

Adresse .....

Désire recevoir « Biologie Prospective » au prix de 560 FF + 30 FF de frais de port, soit 590 FF.

Ci-joint mon règlement à l'ordre de

**John Libbey Eurotext**  
6, rue Blanche,  
92120 MONTROUGE



## L'oncogène *v-erbA* est un antagoniste du récepteur des hormones thyroïdiennes

Les gènes *c-erbA* codent pour des molécules *c-ErbA* qui sont des récepteurs des hormones thyroïdiennes. Ces récepteurs appartiennent à la super-famille des récepteurs nucléaires, molécules dont l'action sur la transcription de gènes particuliers dépend de la liaison de ligands tels les hormones stéroïdes, la vitamine D ou l'acide rétinoïque (*m/s suppl. au n° 7, vol. 3, p. 28*). Toutes ces molécules comportent trois types de domaines fonctionnels, responsables de : (1) la fixation à l'ADN, sur des motifs d'une dizaine de nucléotides très spécifiques de chaque type de récepteur ; (2) la fixation de l'hormone ; (3) l'action transcriptionnelle. L'activation de la transcription *via* les récepteurs des hormones stéroïdes semble être due à la propriété du complexe hormone/récepteur de se fixer *in vivo* à ses cibles d'ADN et au démasquage par l'hormone du domaine transcriptionnellement efficace [1].

Le complexe entre le récepteur et un ligand antagoniste de l'action hormonale, tel le RU486, semble susceptible de se lier à l'ADN... mais non d'activer la transcription [1]. Il semble donc y avoir, dans ces cas, une compétition entre la fixation du complexe hormone/récepteur, activateur, et du complexe anti-hormone/récepteur, inhibiteur, sur les séquences régulatrices des gènes contrôlés par les hormones. Cette hypothèse a d'ailleurs été brillamment confirmée dans le laboratoire d'Edwin Milgrom par l'expérience schématisée dans la *figure 1* [2] : une cellule possède un gène témoin (rapporteur) transcrit sous la direction d'un promoteur contenant un site de fixation pour le récepteur de la pro-

gestérone ; ce gène est donc transcriptionnellement activé par le complexe hormone/récepteur. Il est aussi constitutivement activé par un récepteur tronqué possédant le domaine de liaison à l'ADN, mais non le domaine de liaison de l'hormone. Quand, par des expériences de co-transfection, la cellule test synthétise à la fois le récepteur normal et le récepteur tronqué, constitutif, le gène rapporteur est activé en l'absence d'hormone (du fait de la fixation du récepteur tronqué)... et inactivé en présence de RU486. Comme cet antagoniste ne peut pas se fixer sur le récepteur tronqué (et est d'ailleurs inactif si la cellule ne contient que ce type de récepteur), la seule explication est que le complexe RU486/récepteur déplace de son site de fixation la molécule tronquée activatrice et la remplace par un complexe qui est inactif sur la transcription.

Le mécanisme d'action des récepteurs des hormones thyroïdiennes semble légèrement différent, puisque le récepteur ne liant pas l'hormone semble se comporter comme un inhibiteur transcriptionnel, cette inhibition étant inversée en activation lorsque l'hormone est ajoutée (*figure 2*) [3].

*v-erbA* est un gène viral (virus de l'érythroleucémie aviaire) qui se comporte comme un co-oncogène, augmentant et modifiant la spécificité d'oncogènes exprimés en même temps que lui. Le génome du virus de l'érythroleucémie aviaire (AEV) contient également l'oncogène *v-erbB* (équivalent viral du gène d'un récepteur tronqué du facteur de croissance EGF) qui est, à lui seul, transformant. L'expression conjointe de

*v-erbA* est cependant nécessaire à la cancérisation des cellules de la lignée érythroïde, probablement en bloquant leur différenciation. La protéine *v-ErbA* semble avoir les mêmes propriétés de fixation à l'ADN que *c-ErbA*, le récepteur physiologique, mais ne fixe pas les hormones thyroïdiennes, si bien que la question de l'interaction fonctionnelle entre ces deux types de molécule restait jusqu'alors non résolue.

Deux articles récents des équipes de R. Evans (Salk Institute, La Jolla, CA, USA) et de B. Vennström (Embo Laboratory, Heidelberg, RFA) [3, 4] viennent de montrer que *v-ErbA* se comporte comme un inhibiteur constitutif de la transcription de gènes portant un élément ADN de réponse aux hormones thyroïdiennes, inhibant par compétition l'action activatrice du complexe hormone/*c-ErbA* (*figure 2*). Si on considère *v-ErbA* comme un récepteur naturellement tronqué au niveau de son domaine de liaison de l'hormone, on peut observer qu'une telle modification transforme le récepteur de stéroïdes en activateur constitutif et celui des hormones thyroïdiennes en inhibiteur constitutif dont l'action mime un peu celle du complexe RU486/récepteur de la progestérone illustrée dans la *figure 1*.

Des résultats complémentaires sont indispensables avant de conclure définitivement que le pouvoir co-oncogénique de *v-erbA* est lié à son potentiel de coder pour un antagoniste des récepteurs des hormones thyroïdiennes ; compte tenu du rôle normal de ces hormones dans les processus de différenciation, on comprend cependant bien le blocage de la différenciation que peut provo-

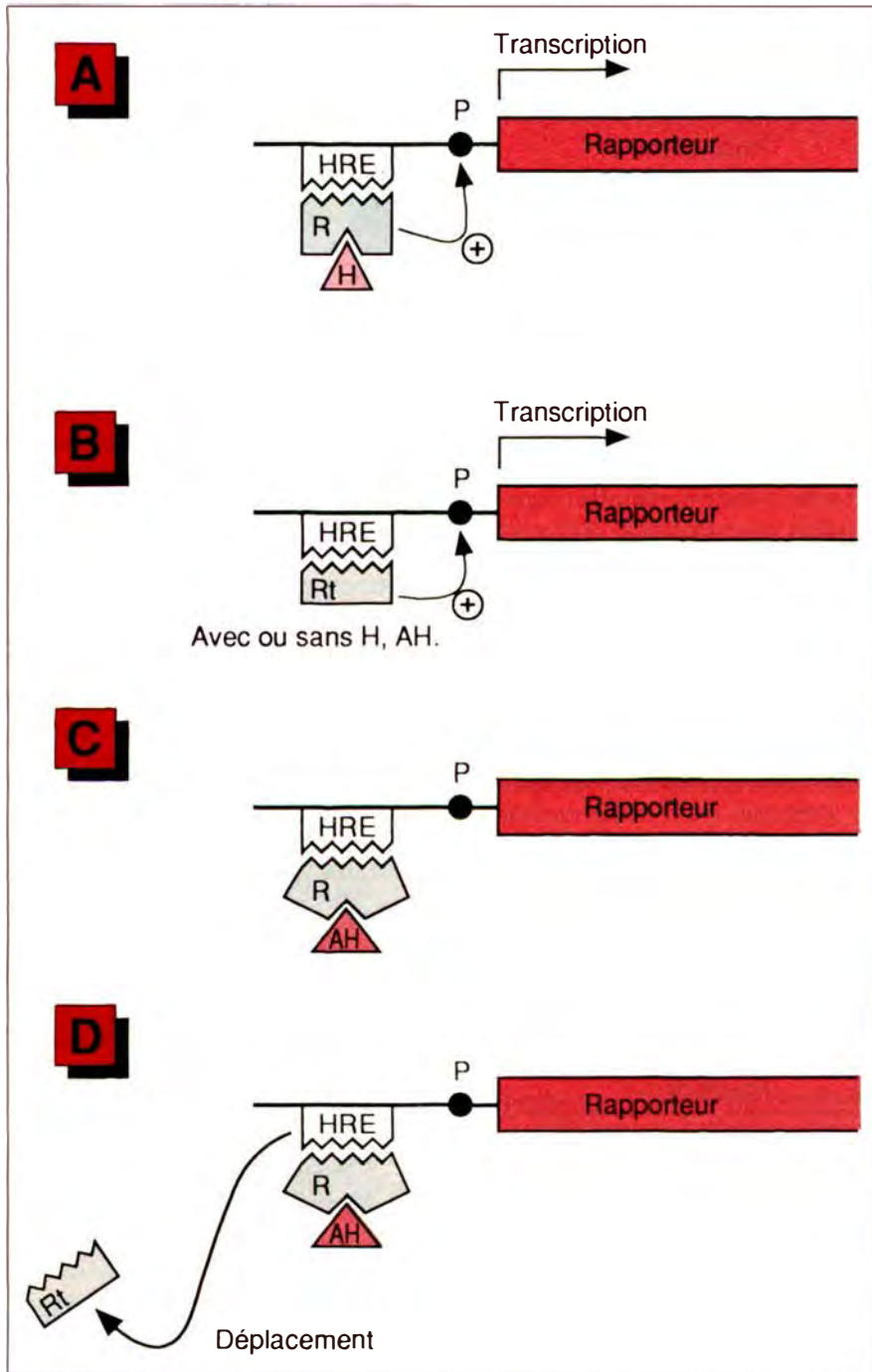
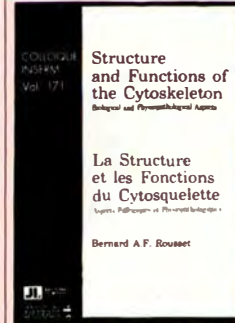


Figure 1. **Modèle d'action de l'antiprogestatif RU486.** Un gène rapporteur est mis sous la direction d'un promoteur minimum P et d'un élément de réponse aux hormones, ici la progestérone (HRE, hormone response element), c'est-à-dire d'une courte séquence d'ADN fixant le complexe hormone/récepteur (H/R). En **A**, le complexe hormone/récepteur, fixé sur l'HRE, stimule la transcription. En **B**, un récepteur tronqué (Rt), dépourvu du site de fixation de l'hormone, active constitutivement la transcription. En **C**, l'anti-hormone (AH) RU486 forme avec le récepteur un complexe qui n'est pas activateur. En **D**, le complexe AH/R déplace le récepteur tronqué de l'HRE, inhibant la transcription. (D'après [2].)

quer la protéine v-ErbA. Puisque, de plus, les récepteurs de l'acide rétinoïque et des hormones thyroïdiennes reconnaissent les mêmes séquences cibles (*m/s n° 2, vol. 5, p. 125*), il est probable que v-ErbA est également un antagoniste de l'action des rétinoïdes, autres agents importants de différenciation. Il est possible qu'un mécanisme du même type soit en cause dans d'autres types de cancer qui pourraient être associés à des mutations de récepteurs hormonaux les transformant en antagonistes d'hormones normalement requises pour le développement et la différenciation cellulaire.

A. K.

1. Webster N.J.G., Green S., Jin J.R., Chambon P. The hormone binding domains of the estrogen and glucocorticoid receptors contain an inducible transcription activation function. *Cell* 1988 ; 54 : 199-207.
2. Guiochon-Mantel A., Loosfelt H., Ragot T., et al. Receptors bound to anti-progestin form abortive complexes with hormone responsive elements. *Nature* 1989 ; 336 : 695-8.
3. Damm K., Thompson C.C., Evans R.M. Protein encoded by v-ErbA functions as a thyroid-hormone receptor antagonist. *Nature* 1989 ; 339 : 593-7.
4. Sap J., Munoz A., Schmitt J., Stunnenberg H., Vennström B. Repression of transcription mediated at a thyroid hormone response element by the v-ErbA oncogene product. *Nature* 1989 ; 340 : 242-4.



**La Structure  
et  
les Fonctions  
du  
Cyto-  
squelette**

B.A.F. ROUSSET

**Co-édition John Libbey  
Eurotext/INSERM**

- Structure, assemblage et organisation intracellulaire des éléments du cytosquelette
- Expression des gènes codant pour les protéines du cytosquelette dans des situations normales et pathologiques
- Fonctions des éléments du cytosquelette dans la distribution des organites, le transport de vésicules, l'assemblage des membranes, l'exocytose, l'endocytose
- Régulation de l'assemblage et des fonctions du cytosquelette

1988, vol. 171, 610 pages  
500 FF, 42 £, 82 \$ US

6, rue Blanche, 92120 Montrouge  
Tél. : (1) 47.35.85.52

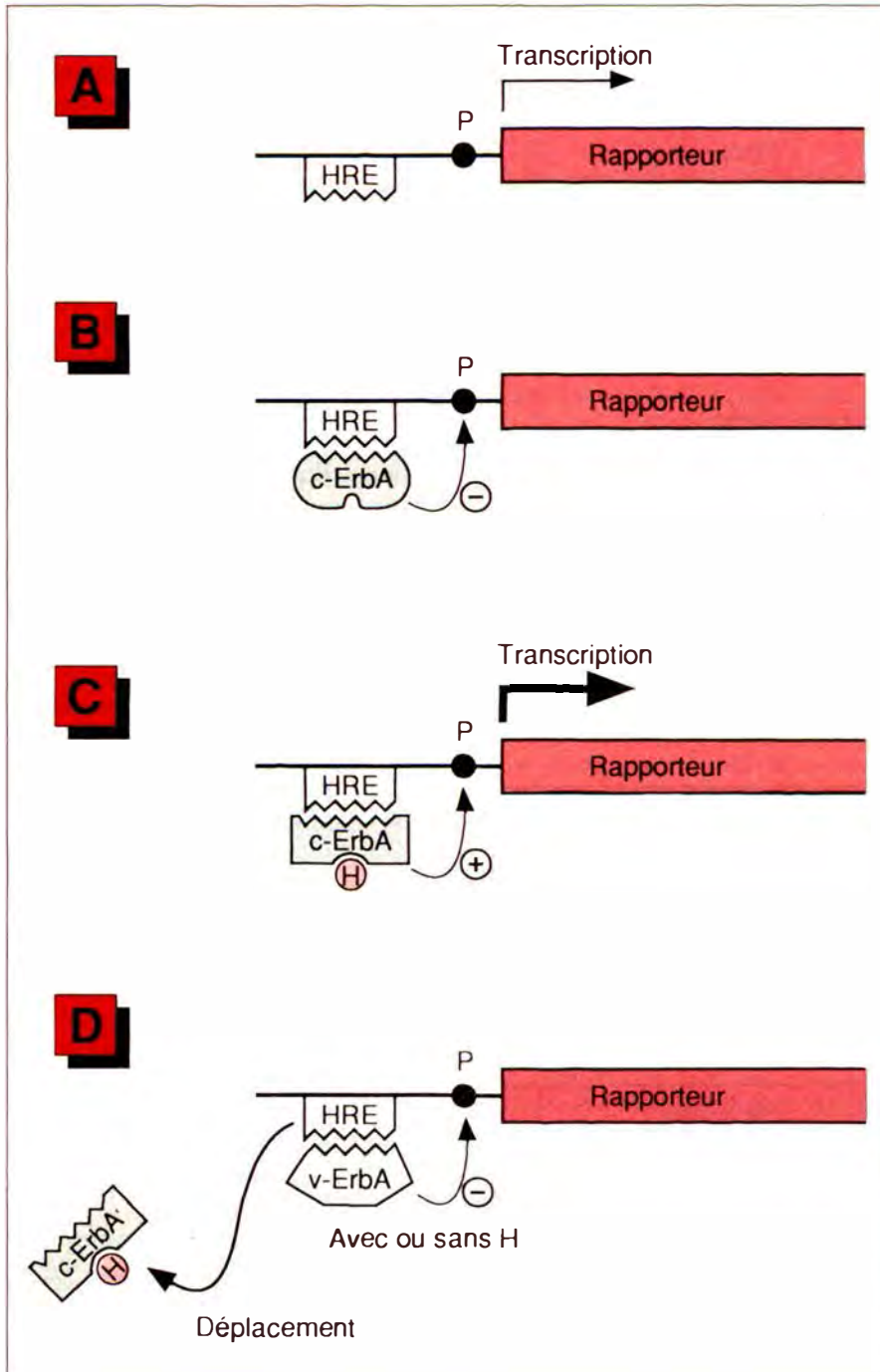


Figure 2. **Mode d'action des protéines c-ErbA (récepteur des hormones thyroïdiennes) et v-ErbA (produit de l'oncogène viral v-erbA).** En A, en l'absence de récepteur, le gène rapporteur est faiblement transcrit. En B, la fixation de c-ErbA sans hormone inhibe la transcription. En C, la fixation du complexe hormone thyroïdienne/c-ErbA active considérablement la transcription. En D, v-ErbA, en présence aussi bien qu'en l'absence d'hormones, se fixe à l'élément de réponse aux hormones thyroïdiennes (HRE), déplaçant éventuellement le complexe H/c-ErbA. v-ErbA est toujours inhibiteur. (D'après [3].)



# Un virus révélateur de l'acolyte préférentiel d'un oncogène

## Une nouvelle approche pour disséquer le processus de cancérisation

De nombreux modèles d'oncogenèse ont été récemment produits par la technologie des souris transgéniques (*m/s n° 3, vol. 5, p. 166*). Ils ont permis de confirmer le fait généralement admis que le processus de transformation tumorale fait le plus souvent intervenir plusieurs facteurs. En effet, l'expression d'un transgène oncogénique dans un type cellulaire donné n'entraîne généralement la transformation que d'une fraction seulement des cellules. De plus, l'apparition de la tumeur est le plus souvent retardée par rapport au moment où le transgène commence à s'exprimer. Enfin, ces tumeurs sont en grande majorité clonales, alors que les hyperplasies qui précèdent leur apparition sont polyclonales. Ce second événement n'est certes pas rare, puisque toutes les souris transgéniques issues d'un fondateur ayant développé une tumeur vont développer un cancer, mais il est dans un sens peu fréquent puisque, comme nous l'avons dit, il ne survient que dans quelques cellules parmi toutes celles qui expriment le transgène. Les facteurs susceptibles de constituer ce deuxième événement sont multiples : stimulation hormonale, absence d'expression d'un antioncogène, surexpression d'un oncogène ou d'un facteur de croissance, et l'on conçoit bien que parmi tous ces événements potentiels, l'un d'entre eux soit particulièrement efficace pour interagir dans un contexte cellulaire donné, avec le premier événement oncogénique survenu. Ainsi, dans des lymphomes T résultant d'une activation de l'oncogène *pim 1* par insertion du virus murin MuLV, une surexpression de *c-myc* est souvent observée, faisant de ce gène un bon candidat pour exercer un effet fortement synergique avec *pim-1*. Pour confirmer cette hypothèse, M. Van Lohuizen *et al.* ont adopté une stratégie originale qui consiste à créer, dans un premier temps, des souris transgéniques exprimant *pim 1* dans les lymphocytes [1]. Après un temps de latence important, un faible pourcentage de ces souris développent des lymphomes confirmant le caractère oncogénique de *pim 1*, qui avait été suspecté devant l'activation fréquente de ce gène dans les lymphomes T que développent des souris infectées par le virus MuLV (*murine leukemia virus*). Ce virus ne porte pas d'oncogène, mais il est capable d'activer les gènes cellulaires auprès desquels il s'insère (activation dite par mutagenèse insertionnelle [2]). C'est cette propriété qu'utilisent les auteurs pour identifier le facteur le plus apte à coopérer avec *pim 1* dans un processus de transformation. Les souris transgéniques *pim 1* sont donc infectées par le virus MuLV. En moins de sept semaines, elles développent des lymphomes T dans lesquels une expression élevée de l'oncogène *myc* est détectée et correspond dans 80 % des cas à une insertion de MuLV près de *c-myc* et dans 20 % des cas à une insertion près de *N-myc*. Une telle fréquence d'activation montre à l'évidence que parmi les divers gènes qui ont été activés par l'intégration de l'ADN viral, l'oncogène *myc* est de loin le plus apte à co-agir avec *pim 1* dans la leucémogénèse T. Cette méthodologie est très largement applicable à la recherche de gènes cellulaires ou viraux, exacerbant par synergie leur potentiel oncogénique.

### JOURNAL DE PHARMACIE CLINIQUE

4 numéros par an  
Vient de paraître

Vol. 9, n° 1 — mars 1990



6, rue Blanche, 92120 MONTROUGE

1. Van Lohuizen M, Verbeek S, Krimpenfort P, *et al.* Predisposition to lymphomagenesis in *pim 1* transgenic mice: cooperation with *c-myc* and *N-myc* in murine leukemia virus-induced tumors. *Cell* 1989; 56: 673-82.
2. Panthier JJ, Condamine H. La mutagenèse insertionnelle chez la souris. *médecine/sciences* 1988; 9: 568-75.

# Des inhibiteurs de la croissance cellulaire

« Transforming Growth Factor  $\beta$  »  
(le mal nommé)  
et hormone antimüllérienne

Antioncogènes [1], facteur de vieillissement (médecine/science, n° 7, vol. 2, p. 404), inhibiteurs de la croissance, « transforming growth factor  $\beta$  » (TGF- $\beta$ ) [2], hormone antimüllérienne [3], du général à l'individuel et sous plusieurs dénominations, les agents s'opposant à la croissance et à la prolifération cellulaire font une entrée rapide sur la scène de la biologie moderne. Le concept de « Chalones » prédisant l'existence de substances s'opposant à la croissance cellulaire est ancien mais les premières mises en évidence de tels agents antiprolifératifs sont une retombée des techniques de la génétique somatique : un hybride formé par la fusion d'une cellule normale et d'une cellule cancéreuse perd souvent son potentiel invasif lorsqu'il est transféré dans la souris immuno-déprimée [4]. La récupération du pouvoir invasif de ces hybrides est corrélée avec la perte de certains chromosomes, notamment du chromosome 11 dans le cas particulier d'une fusion entre des fibroblastes et des cellules dérivées d'un cancer du col utérin (lignée Hela). Ce même chromosome 11, Claudine Junien l'a récemment rappelé dans ces colonnes [1], est impliqué dans un syndrome malformatif héréditaire (syndrome de Beckwith-Wiedeman) se compliquant très fréquemment de trois types de tumeur, le néphroblastome (tumeur rénale de Wilms), l'hépatoblastome (tumeur hépatique), et le rhabdomyosarcome (tumeur du muscle strié). Dans ces tumeurs, on retrouve une lésion des deux chromosomes 11, alors qu'un seul est atteint dans les autres cellules de malade. Ces données suggèrent par conséquent que les

malades atteints d'un syndrome de Beckwith-Wiedeman seraient hétérozygotes pour une mutation à un locus dont le défaut homozygote, qui pourrait être acquis par une mutation somatique supplémentaire, entraînerait le blocage de différenciation et la prolifération de certains tissus. Rien ne dit que ce locus, qui pourrait correspondre à un gène codant pour un « antioncogène », soit également celui responsable de la récupération du pouvoir prolifératif d'hybrides entre des cellules normales et des cellules cancéreuses ayant perdu le chromosome 11. La réintroduction d'un chromosome 11 normal dans ces hybrides aussi bien que dans des cellules de tumeur de Wilms serait cependant, selon des résultats encore préliminaires [4], capable de supprimer leur tumorigénicité, indiquant qu'il porte bien un ou plusieurs types d'informations anti-prolifératives. D'autres résultats très récents indiquent que la transformation maligne d'une cellule par la combinaison d'un oncogène « immortalisant » (tel c-myc) et d'un oncogène « transformant » (tel c-ras) requiert, en plus, la perte de tout ou partie d'un chromosome qui pourrait coder pour une information suppressive.

Quelles pourraient-être les substances synthétisées sous la direction de tels gènes supresseurs de la prolifération, ou anti-oncogènes? L'une d'entre elles, bien mal nommée, est le TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor  $\beta$ ), d'abord identifié par sa capacité à stimuler la prolifération des fibroblastes. Cet effet stimulateur est en fait dû à une induction secondaire de la synthèse d'un facteur de croissance, le PDGF (Platelet Derived Growth

Factor), et le TGF- $\beta$  est le plus souvent un supprimeur de la prolifération. Il est synthétisé sous la forme d'une chaîne protéique inactive de 391 acides aminés, secondairement clivée en sous-unités actives de 112 résidus, le produit final étant formé de deux de ces sous-unités. Certains exemples sont connus où le potentiel prolifératif de lignées cancéreuses est associé soit à l'impossibilité de transformer le précurseur de 391 acides aminés en la forme active, soit à l'absence des récepteurs membranaires du TGF- $\beta$ , indispensables à son action. Les interférons constituent également une classe de substances antiprolifératives s'opposant notamment à l'expression de certains oncogènes. L'interféron  $\beta$  semble ainsi jouer un rôle déterminant dans le contrôle de l'expression de l'oncogène c-myc au cours de la différenciation terminale des cellules hématopoïétiques [5]. L'hormone anti-müllérienne (AMH, Anti-Müllerian Hormone) peut, elle aussi, être considérée comme protéine antiproliférative, responsable de la régression des canaux de Müller chez les embryons mâles chez lesquels elle est synthétisée par les cellules testiculaires de Sertoli [6]. Elle pourrait aussi inhiber la prolifération de lignées cancéreuses dérivées d'endomètres et d'ovaires [6]. Deux équipes, l'une américaine et l'autre française [3, 8], viennent de « cloner » l'ADN complémentaire du messageur de cette hormone, et donc d'élucider la structure complète de la protéine. Il apparaît que la partie carboxy-terminale de l'AMH est significativement homologue au TGF- $\beta$ , suggérant que le gène de l'AMH a pu être formé dans l'évolution par ce mécanisme de redistribution des exons (exon shuffling) dont nous avons parlé ici même (médecine/science, n° 1, vol. 2, p. 51). Le domaine de l'AMH ressemblant au TGF- $\beta$  et le TGF- $\beta$  lui-même, dériveraient d'un gène ancestral qui pourrait avoir déjà eu un rôle d'inhibition de la prolifération. L'origine de l'AMH [9] et du TGF- $\beta$  pourrait être une duplication ancienne du gène ancestral suivie de l'acquisition par chacun des deux nouveaux gènes de nouvelles « particules d'informations »... sous la forme d'exons, conférant aux pro-

# Les anti-oncogènes en vedette

## Absences et liaisons dangereuses du produit p 110-114<sup>Rb</sup> du gène du rétinoblastome

téines correspondantes des spécificités d'action différentes. Il faut noter que les gènes de l'AMH et du TGF- $\beta$  sont tous deux situés sur le chromosome 19; mais en des régions différentes [9]. Les oncogènes sont « nés » en 1976 et chacun voit ce que fut leur « développement ». Voici maintenant qu'apparaît le concept d'antioncogène... « le Yin et le Yang » selon l'expression du Dr Marx [4]. Souhaitons d'autant plus vivement longue vie aux « nouveaux-nés » que si les oncogènes nous ont permis de comprendre le cancer... les antioncogènes nous font percevoir comment le combattre.

A.K.

1. Junien C. Les antioncogènes *médecine/sciences*, 1986 ; 2 : 238-45.

2. Roberts AB, Anzano MA, Wakefield LM, Roche NS, Stern DF, Sporn MB. Type B transforming growth factor : a bifunctional regulatory of cellular growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985 ; 82 : 119-23.

3. Cate RL, Mattaliano RJ, Hession C *et al.* Isolation of the bovine and human genes for müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. *Cell* 1986 ; 45 : 685-98.

4. Marx JL. The « Yin and Yang » of cell growth control. *Science* 1986 ; 232 : 1093-5.

5. Resnitzky D, Yarden A, Zipori D, Kimchi A. Autocrine  $\beta$ -related interferon controls *c-myc* suppression and growth arrest during hematopoietic cell differentiation. *Cell* 1986 ; 46 : 31-40.

6. Josso N. In vitro synthesis of müllerian inhibiting substance hormone by seminiferous tubules isolated from the calf fetal testis. *Endocrinology* 1973 ; 93 : 829-34.

7. Füller AF, Krane IM, Budzik GP, Donahoe PK. Müllerian inhibiting substance reduction of colony growth of human gynecologic cancers in a stem cell assay. *Gynecol Oncol* 1985 ; 22 : 135-48.

8. Picard JY, Benarous R, Guerrier D, Josso N, Kahn A. Cloning and expression of cDNA for anti-müllerian hormone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986 ; 83 : 5464-8.

9. Cohen-Haguenaer O, Picard JY, Serero S, *et al.*, Mapping of the gene for anti-müllerian hormone to human chromosome 19. *Cytogenet Cell Genet* 1986 ; (sous presse).

*médecine/sciences* a déjà beaucoup parlé du gène du rétinoblastome qui code pour la protéine p 110-114<sup>Rb</sup> (de 110 à 114 kilodaltons) (*m/s n° 6, vol 3, p. 363*); elle en parlera probablement encore beaucoup.

La multiplication des cancers dans lesquels on peut mettre en évidence une perte d'une portion de matériel génétique a permis de généraliser le concept selon lequel la transformation cellulaire exigeait au moins deux étapes, l'une d'entre elle étant souvent l'inactivation ou la perte d'un locus gouvernant la production d'un anti-oncogène. Le gène *Rb* (gène du rétinoblastome) étant le premier gène codant pour un anti-oncogène à avoir été cloné, un nombre considérable de travaux a porté sur ses anomalies dans différents cancers. Outre les rétinoblastomes, dans lesquels la modification du locus *Rb* pourrait être constante, au moins trois autres types de cancers humains semblent parfois associés à des anomalies d'expression ou de structure du gène *Rb* : l'ostéosarcome, le cancer du sein et le cancer à petites cellules du poumon.

Les malades traités avec succès pour leur rétinoblastome développent ultérieurement avec une certaine fréquence d'autres tumeurs, principalement des ostéosarcomes, si bien qu'il paraît logique qu'une même anomalie génétique — l'altération du locus *Rb* — puisse favoriser l'apparition de ces deux types de cancer [1, 2].

Il semble exister aussi une légère augmentation des cancers du sein chez les survivants à un rétinoblastome; de plus les mères des enfants ayant un ostéosarcome ont un risque accru d'avoir ce type de cancer. Différentes équipes ont trouvé des ano-

malies du gène *Rb* dans 20 à 30 % des lignées établies à partir de cancers mammaires... et dans environ 10 % des tumeurs primitives [2, 3].

Dans les cancers pulmonaires à petites cellules et tumeurs carcinoïdes du poumon, d'autres chercheurs ont mis en évidence une fréquence du réarrangement du locus *Rb* comparable à celle rapportée pour le cancer du sein, tant au niveau des lignées que des tumeurs primitives [2]. De plus, l'utilisation d'un anticorps dirigé contre la p 110-114<sup>Rb</sup> a conduit à la constatation d'une forte diminution ou d'une disparition de la protéine dans 80 % des lignées de tumeurs pulmonaires à petites cellules. Si c'est bien la diminution de l'activité biologique de la p 110-114<sup>Rb</sup> qui est la cause de la prédisposition au cancer, plusieurs mécanismes peuvent être en cause : la diminution de l'expression du gène, comme nous l'avons discuté plus haut; et son inactivation post-traductionnelle, selon un type de mécanisme que nous avons discuté dans cette revue à propos du phénomène inverse, l'activation post-traductionnelle des oncogènes (*m/s suppl. au n° 7, vol 3, p. 27*). Certains produits d'oncogènes cellulaires seraient activés (p 60<sup>src</sup>) ou stabilisés (p 53) par interaction avec des oncogènes viraux (antigènes T de polyome et de SV 40) dont ce pourrait être l'un des modes d'action. Si ces protéines virales ont la propriété de contracter des interactions avec différents types de protéines cellulaires, on conçoit qu'elles pourraient agir aussi bien en inactivant ainsi un anti-oncogène qu'en activant un oncogène. Deux articles récents viennent de démontrer qu'en effet l'on pouvait aisément



mettre en évidence des complexes entre deux types d'oncogènes viraux, E<sub>1</sub>A d'adénovirus et T de SV40, et la protéine p 110-114<sup>Rb</sup> [4, 5].

Il existe une courte région protéique des oncogènes viraux qui est très conservée chez tous les papovavirus (SV-40, polyome, BK, LPV), appelée domaine 2 [6]. La vingtaine d'acides aminés de cette région joue un rôle essentiel dans le pouvoir transformant de l'oncogène, pratiquement toute mutation à ce niveau l'inactivant. De telles modifications du domaine 2 de l'antigène T de SV 40 (entre les résidus 105 et 114) suppriment également sa capacité à s'associer avec la p 110-114<sup>Rb</sup> [5]. Ces résultats prennent une signification accrue à la lecture d'un autre article qui montre que le domaine 2 de l'antigène de SV 40 (résidus 101 à 118) est fonctionnellement équivalent (et partiellement similaire au niveau structural) à la région comprise entre les résidus 121-139 du produit de l'oncogène E<sub>1</sub>A [6]. Ces deux produits d'oncogènes pourraient donc former des complexes avec la p 110-114<sup>Rb</sup> grâce, particulièrement, à une courte séquence peptidique qui est aussi indispensable à l'activité transformante. L'importance potentielle de ce domaine 2 est renforcée par l'observation récente qu'elle était la cible de phénomènes de phosphorylation sur des sérines et des thréonines, catalysés par une protéine kinase insensible à l'AMP cyclique et activée par les facteurs de croissance [7, 8].

Les papillomavirus étroitement associés aux cancers du col utérin codent, eux aussi, pour une protéine fonctionnellement apparentée à E<sub>1</sub>A et comportant une séquence homologue du domaine 2 [9]. On peut donc faire l'hypothèse que la « séquestration » de p 110-114<sup>Rb</sup> dans un complexe au sein duquel elle pourrait être biologiquement inactive constitue l'un des procédés par lesquels les oncogènes nucléaires des virus à ADN exercent leur pouvoir transformant.

Il faut cependant se garder de tout enthousiasme excessif et ne pas considérer que l'on tient là la cause de l'oncogenèse virale. Rappelons que E<sub>1</sub>A est aussi un activateur de certains facteurs transcriptionnels

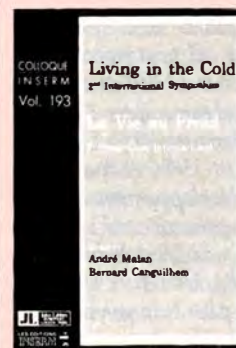
(facteur *TATA box*), un inducteur ou un activateur de protéines activateuses de *enhancers*, un inhibiteur d'autres *enhancers*..., que T de SV 40 forme des complexes non seulement avec p 110-114<sup>Rb</sup> mais aussi avec p 53, le facteur transcriptionnel AP2 (qui intervient dans la réponse transcriptionnelle aux inducteurs de prolifération), une sous-unité de l'ADN polymérase. L'ensemble reste donc passablement confus, suggérant toute une série de pistes dont beaucoup probablement se révéleront fausses. Reste — et cela ne sera probablement pas démenti — que les anti-oncogènes, comme nous le disions il y a plus de deux ans (*m/s suppl. au n° 7, vol. 3, p. 22*), constituent une des clés du contrôle de la prolifération cellulaire.

A. K.

1. Friend SH, Horowitz JM, Gerber MR *et al.* Deletions of a DNA sequence in retinoblastomas and mesenchymal tumors: organization of the sequence and its encoded proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 9059-63.
2. Marx JL. Eye cancer gene linked to new malignancies. *Science* 1988; 241: 293-4.
3. Lee EY, To H, Shew JY, Bookstein R, Scully P, Lee WH. Inactivation of the retinoblastoma susceptibility gene in human breast cancers. *Science* 1988; 241: 218-21.
4. Whyte P, Buchkovitch KJ, Horowitz JM, *et al.* Association between an oncogene and an antioncogene: the adenovirus E1A proteins bind to the retinoblastoma gene product. *Nature* 1988; 334: 124-9.
5. De aprio JA, Ludlow JW, Figge J, *et al.* SV 40 large tumor antigen forms a specific complex with the product of the retinoblastoma susceptibility gene. *Cell* 1988; 54: 275-83.
6. Moran E. A region of SV 40 large T antigen can substitute for a transforming domain of the adenovirus E<sub>1</sub>A product. *Nature* 1988; 334: 168-70.
7. Robertson M. Molecular associations and conceptual connections. *Nature* 1988; 334: 100-2.
8. Sommer J, Mulligan JA, Lozman FJ, Krebs EG. Activation of casein kinase II in response to insulin and to epidermal growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 8834-8.
9. Phelps WC, Yee CL, Munger M, Howley P. The human papillomavirus type 16E7 gene encodes transactivation and transformation functions similar to those of adenovirus E<sub>1</sub>A. *Cell* 1988; 53: 539-47.

**John Libbey**  
EUROTEXT  
LONDON - PARIS

Paris - Londres  
EDITIONS MEDICINE-SCIENCES



**La Vie  
au Froid**

A. MALAN  
B. CANGUILHEM

**Co-édition INSERM/  
John Libbey Eurotext**  
1989, broché, vol. 193, 546 pages  
380 FF, 30 £, 58 \$ US

*L'utilisation croissante de l'hypothermie pour la conservation d'organes et la chirurgie impose une amélioration des connaissances des effets du froid sur les tissus.*

UNE APPROCHE  
PLURIDISCIPLINAIRE

- Adaptation aux réponses écho-physiologiques au froid et au manque de nourriture.
- Effets du froid sur les enzymes et les membranes.
- Mécanismes de production de chaleur.
- Régulation du métabolisme.

BON DE COMMANDE

NOM ..... Prénom .....

Adresse .....

Désire recevoir « La Vie au Froid »  
au prix de 390 FF + 30 FF de frais  
de port, soit 420 FF.

Ci-joint mon règlement à l'ordre de  
**John Libbey Eurotext**  
6, rue Blanche,  
92120 Montrouge, France

## Des précisions sur l'interaction du produit du gène *Rb* avec des oncogènes

Le gène *Rb* de susceptibilité au rétinoblastome code pour une protéine d'environ 105 000 daltons (les estimations varient en fait de 105 à 114 kDa) que nous désignerons ici par « p105<sup>Rb</sup> ». Cette protéine forme des complexes stables avec les produits d'oncogènes nucléaires viraux tels *E<sub>1</sub>A* d'adénovirus et l'antigène T de SV40 (*m/s* n° 8, vol. 4, p. 520 et n° 10, vol. 4, p. 606). P105<sup>Rb</sup> aussi bien que T de SV40 sont des phosphoprotéines. L'équipe de De Caprio et Livingston (Dana-Farber Cancer Institute et Harvard medical school, Boston, MA, USA) vient de montrer que c'était la forme déphosphorylée (ou sous-phosphorylée) de p105<sup>Rb</sup> qui complexait préférentiellement l'antigène T [1], ce qui suggère que le pouvoir antiprolifératif de cette protéine pourrait être modulé par phosphorylation-déphosphorylation.

- L'examen des immunoprécipités obtenus avec un anticorps anti *E<sub>1</sub>A* révèle, outre *E<sub>1</sub>A* et p105<sup>Rb</sup>, des protéines de 300 kDa et de 107 kDa [2]. P. Whyte, du laboratoire de Ed Harlow (Cold Spring Harbor Laboratory, New York, USA) a analysé les acides aminés de la protéine *E<sub>1</sub>A* nécessaires à ces interactions. p300 et p107 semblent interagir avec les résidus 1 à 76 et 121 à 127, alors que p105<sup>Rb</sup> interagit avec les résidus 30 à 60 et 121 à 127. Les modifications de *E<sub>1</sub>A* dans ces régions, même celles qui n'empêchent pas la fixation de p105<sup>Rb</sup>, suppriment son pouvoir transformant, ce qui suggère que l'interaction avec p300 et p107 est également indispensable à la cancérisation cellulaire. Ces deux protéines sont de bons candidats pour correspondre aux produits d'oncogènes encore inconnus.

- Il existe une lignée cellulaire, dérivée d'un cancer de vessie, dans laquelle la protéine *E<sub>1</sub>A* n'interagit pas avec le produit du gène *Rb* qui a ici un poids moléculaire légèrement diminué (102 000 au lieu de 105 000). Les laboratoires de RA Weinberg (Whitehead, MIT, Cambridge MA, USA), Ed Harlow et le département d'ophtalmologie de T.P. Dryga (Harvard medical school, Boston, MA, USA) ont démontré que cette anomalie était secondaire à une mutation de la séquence « consensus » AG à l'extrémité 3' d'un intron, entraînant l'excision anormale de l'exon adjacent du transcrit et la production d'un message et d'une protéine tronqués [3]. Peut-être peut-on imaginer que cette anomalie inhibe la complexation d'oncogènes, tel *E<sub>1</sub>A*, qui restent ainsi libres et disponibles pour activer la prolifération cellulaire.

- Ni les adénovirus, ni SV40 ne semblent impliqués dans l'apparition de cancers humains. C'est dire l'importance des travaux de l'équipe de Ed Harlow qui a démontré que la protéine E7 des papillomavirus, équivalent très probable d'*E<sub>1</sub>A* d'adénovirus, formait elle aussi un complexe stable avec p105<sup>Rb</sup> [4]. Les sérotypes 16 et 18 des papillomavirus humains sont à l'origine d'une proportion très importante des cancers du col de l'utérus (*m/s* n° 7, vol. 2, p. 405) et les résultats de Harlow suggèrent l'un des mécanismes possibles de cette carcinogenèse. Si le gène *Rb* est vraiment impliqué dans ce processus, on pourrait cependant s'attendre à ce que certains de ces cancers soient associés à son inactivation, comme cela a été montré (outre, évidemment, le rétinoblastome) dans des cancers du sein, du

poumon et des tumeurs mésenchymateuses (*m/s* n° 8, vol. 4, p. 520).

De tous ces résultats émerge une confirmation : la prolifération cellulaire est bien contrôlée par un équilibre entre des substances la stimulant et d'autres l'inhibant. Des ambiguïtés persistent cependant sur les mécanismes d'action respectifs des oncogènes et des anti-oncogènes nucléaires. Des mutations d'*E<sub>1</sub>A* et de T de SV40 qui altèrent leur action propre sur l'expression d'autres gènes (et, pour T, sa liaison à l'ADN) ne suppriment pas leur pouvoir transformant dès lors qu'ils restent capables de se complexer avec p105<sup>Rb</sup> [5], ce qui suggère un modèle dans lequel le produit du gène *Rb* contrôle, à l'état libre, l'activité de gènes dont l'action contribue à inhiber la prolifération cellulaire (activation de gènes inhibiteurs ou inhibition de gènes activateurs); les oncogènes nucléaires entraîneraient une « titration » de p105<sup>Rb</sup> qui ne serait ainsi plus disponible pour exercer son rôle inhibiteur et n'auraient, par eux-mêmes, pas d'action stimulatrice de la prolifération. Cependant, l'observation d'une mutation du gène *Rb*, supprimant son interaction avec des oncogènes dans une lignée cancéreuse interpelle les spécialistes : dans ce cas, en effet, les oncogènes ont, justement, perdu leur pouvoir de « titrer » le produit du gène *Rb* qui, de plus, a gardé ses propriétés de liaison à l'ADN (l'exon excisé ne contient pas les structures en doigts contactant probablement l'ADN). A ce stade, deux explications peuvent être proposées : soit, en fait, les oncogènes nucléaires libres jouent un rôle propre dans la carcinogenèse ; soit, l'exon excisé de l'ARNm *Rb* anormal code pour une



structure peptidique qui est impliquée à la fois dans la fixation des oncogènes et dans le contrôle de l'activation de gènes cibles, cibles encore parfaitement inconnues. On peut même supposer que, normalement, les complexes oncogènes – p105<sup>Rb</sup> n'ont pas perdu leur propriété de liaison à l'ADN mais, une fois fixés, n'exercent plus l'influence modulatrice de p105<sup>Rb</sup> seule ; une mutation de la zone d'interaction avec les oncogènes aurait le même effet que son « blocage » par ces mêmes oncogènes. A noter que nous parlons dans les lignes qui précèdent de l'interaction du produit du gène du rétinoblastome avec les « oncogènes nucléaires »... alors qu'elle n'a, à ce jour, été démontrée qu'avec ceux codés par des virus oncogènes à ADN et dont il n'existe pas d'équivalent dans les génomes animaux. Qu'en est-il des produits des oncogènes nucléaires endogènes tels *myc*, *myb*, *fos*, *jun* ? Nul doute que la réponse sera apportée très prochainement. *Fos* et *Jun* sont des activateurs transcriptionnels avérés de gènes répondant à la stimulation de la prolifération cellulaire, si bien que leur éventuel interaction avec p105<sup>Rb</sup> pourrait bien avoir la double signification d'une modulation mutuelle de substances jouant, par elles-mêmes, pour certaines un rôle activateur et pour d'autres un rôle inhibiteur de la prolifération. Tout excès d'oncogènes aboutirait à la présence d'activateurs libres, tout excès de p105<sup>Rb</sup> aboutissant à la présence de molécules inhibitrices libres.

A.K.

1. Ludlow JW, DeCaprio JA, Huang CM, Lee W-H, Paucha E, Livingston DM. SV40 large T antigen binds preferentially to an underphosphorylated member of the retinoblastoma susceptibility gene product family. *Cell* 1989 ; 56 : 57-65.
2. Whyte P, Williamson NM, Harlow E. Cellular targets for transformation by the adenovirus E1A proteins. *Cell* 1989 ; 56 : 67-75.
3. Horowitz JM, Yandell DW, Park SH, et al. Point mutational inactivation of the retinoblastoma antioncogene. *Science* 1989 ; 243 : 937-40.
4. Dyson N, Howley PM, Münger K, Harlow E. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 1989 ; 243 : 934-7.
5. Green MR. When the products of oncogenes and antioncogenes meet. *Cell* 1989 ; 56 : 1-3.

## De nouveaux anti-oncogènes

### Existe-t-il des protéines Ras activatrices et d'autres inhibitrices ?

De l'extérieur de la membrane plasmique au noyau, il existe de multiples étapes par lesquelles passent les « messages » de prolifération cellulaire. Un dérèglement à l'une ou à l'autre de ces étapes peut conduire à la cancérisation. De même qu'il est possible, pratiquement, de décrire des oncogènes caractéristiques de chacun des stades de la transmission d'un signal prolifératif au noyau cellulaire, existe-t-il, à tous ces niveaux, des produits d'anti-oncogènes exerçant un contrôle négatif ? On connaît déjà le gène de susceptibilité au rétinoblastome dont le produit, nucléaire, interagit avec les produits d'oncogènes nucléaires (voir nouvelle précédente). Très récemment, de nouveaux anti-oncogènes présumés ont été isolés, et il est probable que le mouvement est appelé à se développer. La stratégie utilisée par le groupe de M. Noda (Tsukuba, Japon) a été d'introduire dans des cellules tumorales (transformées par l'oncogène *v-Kirsten-ras*) des ADNc de fibroblastes humains clonés dans un vecteur d'expression. Des clones ayant perdu l'essentiel de leur tumorigénicité ont été isolés. Chacun de ces clones semble spécifiquement résistant à la surtransformation par un groupe d'oncogènes donné. L'ADNc de l'un de ces clones a été caractérisé en détail. Il se révèle en effet capable d'entraîner une reversion des cellules transformées vers un phénotype peu ou pas tumorigène [1], résistant à la surtransformation par des oncogènes de type *v-ras*, mais non *v-src*, *v-mas*, *v-*

*raf*, ou *v-fos*. La séquence nucléotidique révèle que ce clone, appelé *Krev-1*, code pour une protéine de 21 kDa à 50 % analogue aux p21<sup>ras</sup>. *Krev-1* est identique au produit du gène *rap-1* isolé par V. Pizon *et al.* (laboratoire d'Armand Tavitian, INSERM, Paris) [2] sur la base d'analogies de séquence avec les gènes de la famille *ras*. Rappelons que les protéines de la famille *ras* sont des molécules liant le GTP, dont on pense qu'elles interviennent dans la transduction d'un signal prolifératif, encore que l'on ne connaisse pas encore le récepteur et le système effecteur qu'elles coupleraient. Quoiqu'il en soit, les protéines p21<sup>ras</sup> rappellent beaucoup les sous-unités  $\alpha$  des G-protéines, par exemple de celles couplées à l'adénylate cyclase. Il existe des sous-unités  $\alpha$ , (stimulatrices) et  $\beta$ , (inhibitrices). De même, existe-t-il des p21<sup>as</sup> (les produits des gènes *Ha-ras*, *Ki-ras*, *N-ras*) et des p21<sup>as</sup> (le produit du gène *Krev-1/rap-1*) ? La nature nous a habitué à ce que les processus clés de la vie soient tous contrôlés à la fois par des systèmes positifs et par des systèmes négatifs. Si cela est applicable (et comment cela pourrait-il ne pas l'être !) au contrôle de la division cellulaire, il faut nous attendre à ce que soient décrits des produits d'anti-oncogènes agissant aux mêmes niveaux que les produits d'oncogènes. On connaît déjà des substances diffusibles inhibitrices de croissance (TGF $\beta$ , hormone antimüllerienne, peut-être les interférons, *m/s n° 8, vol. 2, p. 467*)



---

## Empreinte parentale du génome et cancers congénitaux

et leurs récepteurs. Voici qu'est décrite maintenant une protéine p21<sup>Krev-1/rap-1</sup> inhibitrice et on connaît l'anti-oncogène nucléaire *Rb*. Un inhibiteur de l'angiogenèse vient d'être décrit [3], de même qu'un inhibiteur de métalloprotéase semblant lui aussi bloquer la prolifération [4]. Lecteurs de médecine/sciences, vous entendrez reparler des anti-oncogènes !

A.K.

Il existe des formes héréditaires et des formes sporadiques des cancers congénitaux du type rétinoblastome et néphroblastome [1]. Dans les premières, l'enfant hérite de l'un de ses parents un « gène de susceptibilité » anormal.

Un événement somatique aboutit alors à la perte de l'allèle issu du parent sain, ce qui provoque le développement de la tumeur. Dans les formes sporadiques, le premier événement survient soit au niveau d'un gamète mâle ou femelle (il sera alors à l'origine d'une forme héréditaire), soit d'une cellule somatique. Le second événement, dans les formes sporadiques aussi bien qu'héréditaires, est le plus souvent une recombinaison mitotique, ou une non-dissociation chromosomique, et aboutit à la perte de tout ou partie du chromosome portant l'allèle sain.

Différentes équipes européennes, japonaises et américaines ont en fait démontré que, dans ces formes sporadiques, c'était le chromosome paternel qui était retrouvé dans les tumeurs (néphroblastomes ou rétinoblastomes, ostéosarcomes), l'allèle maternel étant perdu [2, 5]. Le taux de mutation étant probablement différent dans les gamètes mâles et femelles, les auteurs ont exclu de leurs études toutes les observations où le premier événement pouvait être germinale ; malgré cela, neuf cas d'ostéosarcome avec anomalie du locus *Rb* (gène de susceptibilité au rétinoblastome en 13q14) sur 10 [5] et cinq cas de néphroblastome avec anomalie de la région 11p13 (censée contenir un gène de susceptibilité au

néphroblastome) sur 5 [4] possédaient l'allèle paternel, et non l'allèle maternel. Les résultats sont interprétés en invoquant une « empreinte » parentale sur les deux allèles, l'empreinte paternelle prédisposant les gènes de susceptibilité à une mutation inactivante [3-6].

La base moléculaire de l'« empreinte parentale » est probablement une différence de méthylation de dinucléotides CG ; une méthylation des cytosines favorise leur désamination en thymine. Une hyperméthylation (non prouvée) des allèles paternels pourrait donc favoriser une telle sensibilité aux mutations. Une autre possibilité serait que des mutations, survenant sinon à la même fréquence au niveau des allèles paternels et maternels, confèrent un avantage spécifique aux cellules possédant un allèle paternel muté. Un semblable scénario serait possible si c'étaient, en fait, les allèles maternels qui étaient, dans le plus grand nombre des cellules de l'embryon, hyperméthylés et donc inactifs. Une mutation d'un allèle maternel, ou d'un allèle paternel coexistant avec un allèle maternel déméthylé (c'est-à-dire actif), n'aurait pas de conséquence car persisterait, dans la cellule, un anti-oncogène (c'est-à-dire l'un des deux gènes de susceptibilité) actif. En revanche, la cellule ayant un allèle paternel muté et un allèle maternel inactif car hyperméthylé ne produirait pas la protéine anti-oncogénique codée par le gène de susceptibilité et subirait une expansion clonale qui pourrait cesser lors de la déméthylation de l'allèle sain ou être

---

1. Kitayama H, Sugimoto Y, Matsuzaki T, Ikawa Y, Noda M. A *ras*-related gene with transformation suppressor activity. *Cell*. 1989 ; 56 : 77-84.

2. Pizon V, Chardin P, Lerosey I, Olofsson B, Tavittian A. Human cDNAs *rap1* and *rap2* homologous to the drosophila gene *Dras3* encode proteins closely related to *ras* in the effector region. *Oncogene* 1988 ; 3 : 201-4.

3. Rastinejad F, Polverini P.J, Bouck NP. Regulation of the activity of a new inhibitor of angiogenesis by a cancer suppressor gene. *Cell* 1989 ; 56 : 345-55.

4. Khokha R, Waterhouse P, Yagel S, et al. Antisense RNA-induced reduction in murine TIMP levels confers oncogenicity on swiss 3 T 3 cells. *Science* 1989 ; 243 : 947-50.

à l'origine d'une tumeur irréversible en cas de perte de cet allèle. Il faut remarquer que ce dernier événement aurait alors d'autant plus de risque de se produire que la population, déjà hétérozygote pour la mutation, serait, du fait de son expansion, devenue abondante [6].

L'un des gènes de susceptibilité (celui du rétinoblastome) étant maintenant connu, ces différentes hypothèses devraient pouvoir être directement testées. Des études ultérieures diront aussi si de tels phénomènes peuvent être étendus aux autres cancers dans la genèse desquels semble intervenir une perte de matériel génétique et une inactivation d'anti-oncogènes.

A.K.

1. Junien C. Les anti-oncogènes. *médecine/sciences* 1986 ; 2 : 238-45.
2. Junien C, Henry L. Empreinte parentale différentielle, tumorigenèse et perte d'allèles. Nouvelles interprétations. *médecine/sciences* 1989 (sous presse).
3. Mannens M, Slater RM, Heyting C, et al. Molecular nature of genetic changes resulting in loss of heterozygosity of chromosome 11 in Wilms tumours. *Hum Genet* 1988 ; 81 : 41-8.
4. Schroeder WT, Chao LY, Dao DD, et al. Nonrandom loss of maternal chromosome 11 alleles in Wilms tumours. *Am J Hum Genet* 1987 ; 40 : 413-30.
5. Toguchida J, Ishizaki K, Sasaki M, et al. Preferential mutation of paternally derived RBA gene as the initial event in sporadic osteosarcoma. *Nature* 1989 ; 338 : 156-8.
6. Reik W, Surani MA. Genomic imprinting and embryonal tumours. *Nature* 1989 ; 338 : 112-3.



Paris - Londres  
**ÉDITIONS MÉDECINE-SCIENCES**



Coordinateurs  
A. Davy  
R. Stemmer

1989, broché  
1 300 pages, 2 volumes  
Index des auteurs,  
mots clés et keywords

Actes du 10<sup>e</sup> Congrès Mondial Union Internationale de Phlébologie

400 conférences réparties en 11 sections principales :

- Notions fondamentales (anatomie, histologie, histochimie...)
- Clinique (malformations veineuses, varices primaires et secondaires, ulcères de jambe...)
- Examens complémentaires (doppler, duplex scanner, pléthysmographie, endoscopie...)
- Pathologies associées (affections dermatologiques, maladies hématologiques, atteintes lymphatiques...)
- Informatique
- Prophylaxie
- Thérapeutique médicale (médications veinotoniques, sclérothérapie, traitements compressifs...)
- Traitement chirurgical
- Traitements des ulcères
- Expertise phlébologique
- Enseignement phlébologique

..... ✂

**BON DE COMMANDE**

NOM \_\_\_\_\_ Prénom \_\_\_\_\_

Adresse \_\_\_\_\_

Désire recevoir « Phlébologie 89 », au prix de 760 F + 30 FF de frais de port, soit 790 FF.  
Ci-joint mon règlement à l'ordre de **John Libbey Eurotext**  
6, rue Blanche, 92120 MONTROUGE - France - Tél. : (1) 47.35.85.52