

De nouveaux mutants du facteur nécrosant des tumeurs (TNF), capables de dissocier les activités anti-tumorale et cytotoxique générale

Une *mini-synthèse* parue en 1988 dans *m/s* [1] décrivait le facteur nécrosant des tumeurs (*tumor necrosis factor*, TNF), une protéine « à facettes multiples », et insistait déjà sur la principale difficulté à son utilisation : la variété de ses effets gêne pour mettre à profit l'action anti-tumorale, le problème le plus difficile à résoudre étant d'éliminer la toxicité sur l'organisme normal. Les essais cliniques dans les cancers ont dans l'ensemble été décevants, la dose nécessaire dépassant celle qui est tolérée. La situation est différente chez la souris, car le TNF murin est 50 fois plus actif et peut donc avoir une action anti-tumorale plus efficace. La nature du TNF est bien connue, sa molécule compte chez l'homme 157 acides aminés, et sa capacité de se combiner en trimères est capitale pour sa fonction. Son ADNc a été cloné dès 1984.

L'idée de séparer les activités anti-tumorale et toxique sous-tend nombre d'efforts de recherche. Cette séparation est possible, par exemple en induisant une tolérance chez la souris, permettant la survie à des doses normalement toxiques, sans entacher l'action anti-tumorale [2]. La découverte des récepteurs du TNF a été une étape décisive pour les progrès ultérieurs ; ils ont été individualisés puis leurs gènes clonés à la fin des années 1980. Grâce à l'emploi d'anticorps monoclonaux, on a pu en séparer deux [3] ; le plus petit, TNF-R55, est présent dans la plupart des cellules ; le plus grand, TNF-R75, est surtout présent sur les cellules d'origine myéloïde et les lymphocytes. Le comportement des TNF humain et murin est différent : l'humain ne se lie, chez la souris, qu'au récepteur R-55 ; au contraire, le TNF murin se lie aux deux récepteurs humains [3]. Cette action différentielle permet donc, en étudiant la liaison du TNF humain aux cellules murines, de

savoir ce qui revient à chacun des deux récepteurs.

Le principe de la méthode employée pour atteindre cet objectif est de modifier la molécule du TNF par mutagenèse dirigée et de voir si le TNF muté a perdu certaines de ses propriétés. Certains mutants du TNF humain (hTNF) avaient déjà été préparés [4] ; on avait constaté qu'ils avaient perdu toute activité dans le test standard de cytotoxicité sur la lignée 129 de fibrosarcome murin, et donc leur capacité de liaison au récepteur R-55 murin. Une orientation pour choisir les mutations efficaces est de les cibler dans la région critique pour la trimérisation du peptide. Van Ostade *et al.* (Gand, Belgique et Bâle, Suisse) ont pris pour objectif de préparer des mutants hTNF dont la capacité de liaison à l'un des récepteurs serait altérée sélectivement [5]. Deux mutants, Leu 29 → Ser et Arg 32 → Try ont perdu presque totalement leur pouvoir de se lier à R-75. Capables seulement de se lier à R-55, ils gardent leur action anti-tumorale, vérifiée sur une lignée humaine dérivée d'un carcinome du larynx, qui ne possède que des récepteurs R-55. Il est également possible de démontrer directement, sur des lignées riches en R-75 et pauvres en R-55 (lignée prémyélocytaire U937), l'absence de liaison avec le hTNF mutant. Il était important de confirmer ces observations *in vivo*. La lignée humaine HT-29 dérivée d'un adénocarcinome du côlon induit des tumeurs chez la souris *nude*. L'administration de TNF humain, sauvage ou muté, se montre capable de retarder la croissance de la tumeur, et même, en combinaison avec de l'interféron γ , de la supprimer.

On peut donc conclure que des mutants TNF qui ne se lient plus qu'au récepteur R-55 ont perdu leur toxicité *in vitro* sur des lignées huma-

nes et *in vivo* chez la souris. Cette découverte inspire de grands espoirs d'utiliser effectivement le TNF en cancérologie. Il faut cependant, pour l'instant tout au moins, tempérer ces espoirs [6]. Bien entendu, les essais de toxicité doivent être étendus aux primates avant de passer à l'homme, chez lequel des essais « précliniques » semblent toutefois déjà en cours [6]. Il faut se rappeler que le TNF normal a des activités sur la vascularisation et sur l'immunité, et que son comportement est loin d'être univoque sur les divers types de cellules. Mais, surtout, il est arbitraire de traiter le TNF seul sans tenir compte des multiples interactions qu'il subit, ou même qu'il déclenche, avec d'autres cytokines, en particulier IL-2.

En conclusion, il faut rester prudent sur l'utilisation pratique de ces mutants, tout en saluant une percée, qui, bien exploitée, sera peut-être décisive.

J.-C. D.

1. Dreyfus JC. Une protéine à facettes multiples : le facteur nécrosant des tumeurs (*tumor necrosis factor*, TNF). *médecine/sciences* 1988 ; 4 : 651-4.
2. Takahashi N, Brouckaert P, Fiers W. Induction of tolerance allows separation of lethal and antitumor activities of tumor necrosis factor in mice. *Cancer Res* 1991 ; 51 : 2366-72.
3. Tartaglia LA, Weber RF, Figari IS, Reynolds C, Palladino MA, Goeddel DV. The two different receptors for tumor necrosis factor mediate distinct cellular responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 9292-6.
4. Van Ostade X, Tavernier J, Prange T, Fiers W. Localization of the active site of human tumor necrosis factor (hTNF) by mutational analysis. *EMBO J* 1991 ; 10 : 827-36.
5. Van Ostade X, Vandenabeele P, Everaerd B, Loetscher H, Gentz R, Brockhaus M, Lesslauer W, Tavernier J, Brouckaert P, Fiers W. Human TNF mutants with selective activity on the p55 receptor. *Nature* 1993 ; 361 : 266-9.
6. Balkwill F. Improving on the formula. *Nature* 1993 ; 361 : 206-7.