

Le point de vue de la biologie moléculaire

physiologiques, peuvent être aussi inducteurs : les dérivés de la vitamine A (les acides rétinoïques *trans* et *cis*), la vitamine D₃ sous sa forme activée : 1-25 OH, le butyrate de sodium ...

Mais la reversion de la malignité ne dépend pas seulement de l'action de différents agents. Plusieurs faits tendent à prouver que le problème est plus complexe : toutes les cellules malignes ne peuvent être induites à se différencier, soit parce que les marqueurs actuels d'évaluation du stade de différenciation sont maigres, soit par défaut d'agents efficaces; les agents différenciants sont actifs sur certaines lignées leucémiques et non sur d'autres, et spécifiques d'une voie particulière de différenciation hématopoïétique; la régression de la malignité sous l'influence des agents inducteurs de différenciation dépend du temps d'incubation en présence de l'agent : le point de non retour peut être obtenu en 24-48 heures ou nécessite la présence constante de la drogue dans le milieu; quel que soit l'agent différenciant, il persiste souvent un faible pourcentage de cellules non différenciées, soulignant une résistance spécifique de certaines cellules malignes à devenir normales, ainsi que l'hétérogénéité des populations cellulaires malignes. Certaines cellules malignes sont donc capables d'aller jusqu'à une différenciation terminale, mais la persistance d'anomalies chromosomiques, ainsi que la possibilité, *in vitro*, de retourner à l'état malin, tendent à confirmer que la cellule différenciée n'est que phénotypiquement normale.

Au cours des dernières années, la toute récente biologie moléculaire du cancer a connu deux générations de concepts. Tout d'abord celle de l'oncogène cellulaire, c'est-à-dire d'un gène normalement présent dans les cellules qui, à la suite de modifications, peut jouer un rôle central dans la tumorigenèse. Puis celle de la coopération entre oncogènes, donc de la nécessité de modifier plusieurs gènes pour aboutir à une cellule tumorale.

Dans le cadre d'une éventuelle application clinique des travaux sur les oncogènes, la question centrale devient donc : sera-t-il suffisant d'agir au niveau d'un seul oncogène, ou, seuls des mécanismes pléiotropiques permettent-ils de normaliser une cellule tumorale?

L'exemple le plus classique d'un arrêt de prolifération pour une cellule tumorale est fourni par la différenciation cellulaire. En effet, la perte de la capacité de prolifération au cours de la différenciation cellulaire est un fait solidement établi, notamment pour la moelle osseuse. Pour la plupart des tissus cancéreux, la relation entre prolifération et différenciation se traduit par la double constatation d'une prolifération accrue et d'un arrêt de la différenciation normale, ces deux caractères étant diversement associés selon le type de cancer. Il est remarquable que pour des lignées tumorales établies au laboratoire, certaines substances soient capables d'induire une différenciation des cellules cancéreuses avec arrêt de leur prolifération. La différenciation cellulaire modifiant l'expression de très nombreux gènes, on peut se demander si l'arrêt de la prolifération nécessite la modification de l'expression de tous les oncogènes activés dans la cellule tumorale.

Le système modèle le plus étudié est la lignée cellulaire HL 60 établie à partir d'une leucémie aiguë promyélocytaire humaine [2]. Il a

RÉFÉRENCES

- Collins S. J., Gallo R., Gallagher R. Continuous growth and differentiation of human myeloid leukemic cells in suspension culture. *Nature* 1977; 270: 347-9.
- Dalla Favera R., Wong-Staal F., Gallo R. Oncogene amplification in promyelocytic leukemia cell line HL-60 and primary leukaemic cells of the same patient. *Nature* 1982; 299: 61-3.
- Murray M., Cunningham J., Parada L., Dautry F., Lebowitz P., Weinberg R. The HL-60 transforming sequence: A ras oncogene coexisting with altered myc genes in hematopoietic tumors. *Cell* 1983; 33: 749-57.
- Colbert D. A., Fontana J. A., Bode U., Deisseroth A. B. Changes in the translational activity of polyadenylated messenger RNA of HL-60 promyelocytic leukemia cells associated with myeloid or macrophage differentiation. *Cancer Res.* 1983; 43: 229-34.
- Westin E., Wong-Staal F., Gelmann E. et al. Expression of cellular homologues of retroviral oncogenes in human hematopoietic cells. *PNAS* 1982; 79: 2490-4.
- Marx J. L. New ways to « mutate » genes. *Science* 1984; 225: 819.
- Izant J. G., Weintraub H. Inhibition of thymidine kinase gene expression by anti-sense RNA : a molecular approach to genetic analysis. *Cell* 1984; 36: 1007-15.

Christine Chomienne

*Assistante des hôpitaux.
Hôpital Saint-Louis.*

Jean-Pierre Abita

*Directeur de l'Unité de
recherches de cinétique des
populations cellulaires en
hématologie et cancérologie
(Inserm U204). Hôpital
Saint-Louis.
Maître de recherches au
Cnrs.*

été montré que, en plus de l'amplification de l'oncogène *c-myc* [3], la lignée HL 60 contient un oncogène N-ras activé par une mutation ponctuelle [4]. Il est possible d'induire, avec une bonne efficacité, la différenciation de ces cellules soit en granulocytes soit en monocytes, selon la substance utilisée. Il apparaît que l'agent différenciant modifie l'expression de tout un ensemble de gènes; en effet, l'étude des produits de traduction *in vitro* des ARN messagers isolés des cellules avant et après différenciation, montre un ensemble de modifications d'ailleurs dépendantes du type de différenciation [5].

L'augmentation de certains ARN messagers lors de la différenciation peut notamment se faire par activation de la transcription des gènes correspondants; ainsi, la 5-azacytidine entraîne une hypométhylation de certains gènes permettant leur plus grande expression lors de la différenciation granuleuse. L'expression des oncogènes est également modifiée au cours de la différenciation, que ce soit en granulocytes ou encore en monocytes.

Indépendamment des inducteurs utilisés, l'expression de *c-myc* et d'un autre oncogène *c-myb* disparaît, tandis que celle de N-ras est maintenue [6]. Les produits des gènes *c-myc* et *c-myb* sont des protéines nucléaires capables d'interagir directement avec le génome. Il faut souligner que la persistance de l'expression de N-ras activé n'est pas incompatible avec la différenciation cellulaire; par contre, *c-myc* et *c-myb* apparaissent comme des éléments essentiels du couplage entre différenciation et arrêt de la prolifération.

Il devient donc tentant d'essayer de diminuer l'expression des oncogènes activés dans des cellules malignes pour étudier l'effet obtenu sur la capacité de prolifération de ces cellules. L'expression des gènes peut être régulée à divers niveaux depuis la transcription jusqu'à la traduction, sans oublier la possibilité de développer une pharmacologie spécifique des mutations qui affectent les protéines des oncogènes dans certaines cellules tumorales. Des recherches très récentes viennent de montrer la possibilité

de diminuer la traduction d'un ARN messenger donné, en utilisant un ARN complémentaire capable de s'apparier avec le messenger. Des résultats expérimentaux sont disponibles dans certains systèmes modèles. Ainsi, des chercheurs de Harvard [7] ont réussi à empêcher la traduction d'un ARN messenger de bêta-globine dans des œufs de grenouille, en micro-injectant dans ces œufs un ARN complémentaire du messenger de la bêta-globine; l'interaction ARN messenger-ARN complémentaire s'effectue ici dans le cytoplasme.

Un ARN complémentaire, également appelé ARN anti-sens, peut aussi être obtenu lorsque, derrière un promoteur de transcription, on insère un fragment d'ADN double brin en sens opposé au sens codant. Une équipe de Seattle a ainsi réussi à diminuer fortement le niveau d'expression du gène thymidine kinase du virus Herpès Simplex [8]. La formation du duplex ARN messenger-ARN anti-sens peut se faire dans le noyau et aboutir à une dégradation rapide du duplex ou à l'empêchement de la migration du messenger vers le cytoplasme, mais l'ARN anti-sens peut aussi agir directement dans le cytoplasme en empêchant la traduction du messenger par la formation du duplex. Les chercheurs de Seattle ont, en outre, montré que la synthèse de thymidine kinase pouvait être inhibée par un ARN anti-sens beaucoup plus court que l'ARN messenger et se liant à une région non codante proche du début du messenger [7]. Il faut insister sur le fait qu'aucun résultat positif n'a encore été rapporté pour l'utilisation d'anti-sens d'oncogènes. Dans ce domaine, l'utilisation d'ARN anti-sens pourrait permettre d'étudier le rôle, fondamental pour la cellule, des protéines codées par les proto-oncogènes.

Outre les difficultés techniques de cette approche, une difficulté conceptuelle essentielle demeure, c'est le problème de l'effet sur les cellules saines, c'est-à-dire celui de la spécificité. En effet, mis à part le cas, non encore décrit, d'un oncogène qui serait normalement exprimé uniquement au cours du développement embryonnaire et ré-

exprimé par une cellule tumorale, la suppression de l'expression d'un oncogène particulier sera peut-être aussi néfaste pour certaines cellules normales que pour les cellules tumorales. Néanmoins, la possibilité de manipuler l'expression des oncogènes viendra probablement prendre une place dans l'ensemble des moyens thérapeutiques que les progrès de la biologie moléculaire permettent d'entrevoir.

Pierre Lehn

*Assistant des hôpitaux.
Hôpital Saint-Louis.*

François Dautry

Chargé de recherche au laboratoire d'oncologie moléculaire du Cnrs. Institut Gustave-Roussy. 39, rue Camille-Desmoulins, 94805 Villejuif Cedex.

Une nouvelle voie thérapeutique?

Le traitement des maladies malignes se fait en supprimant la tumeur par polychimiothérapie, radiothérapie ou chirurgie. Dans de rares cas, il est possible de changer l'organe (transplantation). Est-il possible d'envisager un traitement par la différenciation de la cellule maligne?

La principale difficulté d'interprétation est de savoir s'il s'agit réellement d'une maturation de la cellule maligne, et notamment leucémique, ou si ce sont les cellules normales qui régénèrent à partir de précurseurs non leucémiques. En effet, deux phénomènes surviennent dans une leucémie: d'une part la présence accrue de cellules malignes, d'autre part l'inhibition de la croissance des cellules normales.

Quels sont les résultats obtenus dans les leucémies? Nous avons montré qu'à de très faibles doses, la cytosine arabinoside permet de mettre en rémission complètes des