

> Les leucémies sont des maladies clonales et acquises de la cellule souche hématopoïétique ou d'un précurseur déjà commis vers les lignées lymphoïde et/ou myéloïde. Leur classification repose sur des critères morphologiques, l'expression de marqueurs membranaires, et pour les leucémies lymphoïdes, l'étude des réarrangements des gènes du récepteur T ou d'immunoglobulines qui permettent de caractériser le stade de différenciation des cellules leucémiques. Le clonage moléculaire de remaniements chromosomiques récurrents a permis d'identifier de nombreuses altérations géniques qui constituent des outils diagnostiques et de suivi thérapeutique maintenant pris en compte dans les nouveaux critères de classification des leucémies. Le développement récent de thérapeutiques ciblées sur l'activité ou la stabilité d'une protéine oncogénique a été récemment illustré par les succès thérapeutiques obtenus dans le traitement des leucémies aiguës promyélocytaires et de la leucémie myéloïde chronique. <

Oncogènes et leucémies : historique et perspectives

Sylvie Gisselbrecht



Département d'Hématologie
de l'Institut Cochin,
Inserm U.567, Cnrs UMR 8104,
Bâtiment Gustave Roussy,
27, rue du Faubourg Saint-
Jacques, 75014 Paris, France.
gisselbrecht@cochin.inserm.fr

Découverte des oncogènes : importance des modèles expérimentaux

Les oncogènes ont été découverts à la suite d'études menées sur des rétrovirus responsables de tumeurs expérimentales chez l'animal.

Les rétrovirus dits « aigus » provoquent des tumeurs polyclonales en quelques jours ou semaines après l'infection et transforment leurs cellules cibles *in vitro*. Les propriétés transformantes de ces virus sont dues à la présence dans leur génome de séquences particulières, les oncogènes viraux (Figure 1A). Ceux-ci sont des formes altérées de gènes d'origine cellulaire, les proto-oncogènes, capturés par les rétrovirus au cours de leur réplication. Les oncogènes viraux sont à l'origine de la découverte, entre autres, des kinases Src, Abl, Raf et B-Raf, du récepteur de l'EGF (*epidermal growth factor*) ou c-ErbB, du récepteur du *macrophage colony stimulating factor* (M-CSF) ou c-Fms, du récepteur du *stem cell factor* (SCF) ou c-Kit, du récepteur de la thrombopoïétine ou c-Mpl, de deux membres de la famille Ras, Harvey et Kirsten Ras, des oncogènes nucléaires Myc, Myb, et de Ets1, le membre fondateur de la famille Ets.

Les oncogènes ont été classiquement définis comme des gènes, à caractère dominant, qui, lorsqu'ils sont exprimés de façon dérégulée ou lorsque leur structure est altérée, contribuent au phénotype transformé d'une cellule. Actuellement, plus de 100 oncogènes ont été décrits dans les hémopathies malignes humaines. Ces gènes codent pour des protéines de fonctions très diverses. Un grand nombre d'entre elles sont des facteurs de transcription, des activateurs ou des répresseurs transcriptionnels, mais aussi des protéines impliquées dans le remodelage de la chromatine. D'autres jouent un rôle dans la prolifération et la survie cellulaire comme la protéine anti-apoptotique BCL-2, les récepteurs de facteurs de croissance, les effecteurs intracellulaires de la transmission du signal comme les protéines de la famille Ras et des tyrosine kinases intracellulaires.

Oncogènes et leucémies humaines

Les rétrovirus dits « lents » et dont le génome ne code que pour des protéines nécessaires à la réplication virale provoquent, après une latence de plusieurs mois, des leucémies d'origine clonale ou oligoclonale. Il est maintenant bien établi que le pouvoir pathogène de ces virus est lié à un mécanisme de mutagenèse insertionnelle: du fait de leur intégration dans l'ADN des cellules infectées, les rétrovirus se comportent comme des agents mutagènes (Figure 1B). L'expression de gènes cellulaires situés à proximité du provirus intégré est alors réglée par les LTR (*long terminal repeats*) viraux qui sont des séquences activatrices de la transcription présentes aux deux extrémités du provirus intégré. Il est admis que si la surexpression d'un gène confère un avantage sélectif à une cellule, celle-ci peut être à l'origine d'un clone de cellules leucémiques. Le mécanisme de mutagenèse insertionnelle

conduit en général à l'expression d'un produit de structure normale, plus rarement à un produit tronqué si le provirus est intégré à l'intérieur de la région codante du gène (pour revue, voir [1]). Les rétrovirus s'intégrant dans l'une des deux copies d'un gène, les phénomènes de mutagenèse insertionnelle conduisent rarement à l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeur, sauf si la perte d'un allèle est suivie de perte d'hétérozygotie par recombinaison mitotique.

La coexistence, au sein d'un même clone de cellules leucémiques, de plusieurs événements de mutagenèse insertionnelle non aléatoire, a suggéré que plusieurs oncogènes coopéraient pour l'acquisition d'un phénotype transformé. S'il est maintenant acquis que la leucémogénèse est un phénomène multi-étapes, la démonstration la plus convaincante repose sur l'étude de souris transgéniques pour un oncogène dont l'expression est ciblée dans les cellules hématopoïétiques. En effet, les leucémies se développant dans ces modèles ont toujours une origine clonale, ce qui indique qu'un deuxième événement est requis pour la transformation leucémique. Cet événement peut être expérimentalement déclenché par des carcinogènes chimiques ou par l'infection des souris transgéniques par un rétrovirus compétent pour la réplication. L'analyse des gènes activés par mutagenèse insertionnelle permet alors de caractériser les oncogènes coopérant avec le transgène pour la transformation leucémique [1]. La caractérisation des gènes ciblés par mutagenèse insertionnelle a été grandement facilitée par les techniques de PCR inverse qui permettent d'identifier les séquences cellulaires flanquant un provirus intégré et par les banques de données issues du séquençage du génome murin. Trois articles récents rapportent l'analyse, à grande échelle, de gènes activés par mutagenèse insertionnelle dans les leucémies viro-induites de la souris [2-4].

L'introduction en cytogénétique des techniques de bandes chromosomiques au début des années 1970 permit d'identifier précisément chaque chromosome et de caractériser des remaniements chromosomiques présents dans les cellules leucémiques. Trente-cinq pour cent des cellules leucémiques humaines ont un caryotype normal, alors que 65 % présentent un remaniement chromosomique le plus souvent unique [5]. Les anomalies les plus fréquentes sont principalement des inversions intrachromosomiques ou des translocations qui résultent de l'échange réciproque de matériel génétique entre deux chromosomes. Ces altérations sont acquises et présentes dans toutes les cellules leucémiques d'un même patient, ce qui témoigne de l'origine clonale de la leucémie. Leur caractère souvent récurrent, voire leur association systématique à certains types d'hémopathies suggèrent qu'elles pouvaient être l'événement causal du processus de transformation. Il semblait donc possible que des oncogènes connus ou à découvrir étaient localisés à proximité des points de cassure chromosomique. Une étape fut franchie en 1982 lorsque les

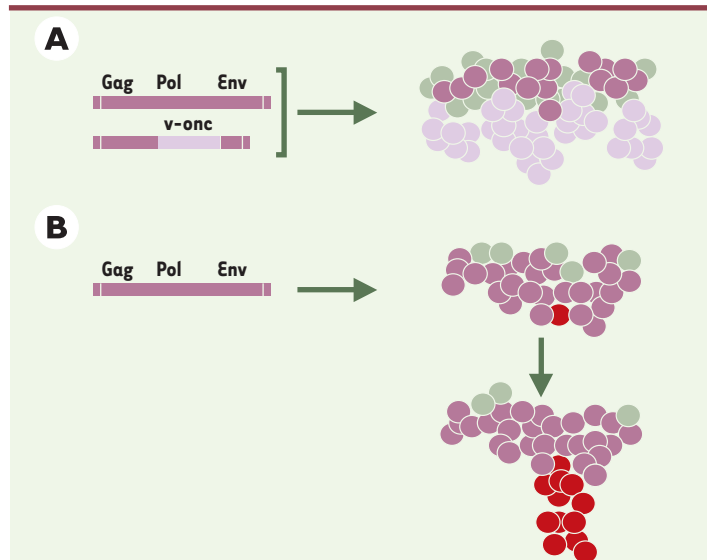


Figure 1. Représentation schématique des mécanismes à l'origine des tumeurs viro-induites. A. Les rétrovirus contenant un oncogène (ou v-onc indiqué par la boîte rose) sont déficients et ne se répliquent qu'en présence d'un virus dont le génome code pour toutes les protéines nécessaires à la réplication virale. Le complexe viral répliquatif infecte un grand nombre de cellules cibles qui deviennent transformées et sont à l'origine de tumeurs polyclonales se développant rapidement. B. Les rétrovirus compétents pour la réplication et dépourvus d'oncogènes peuvent, du fait de leur intégration dans le génome des cellules infectées, augmenter l'expression d'un gène particulier. Si cet événement, qui survient avec une fréquence faible, confère un avantage à la cellule infectée (rouge), celle-ci peut être à l'origine d'une tumeur d'origine clonale (cellules rouges).

équipes de Croce et Leder démontrèrent que le gène *MYC*, identifié dans plusieurs modèles de leucémies lymphoïdes expérimentales et localisé chez l'homme en 8q24, était la cible des translocations du lymphome de Burkitt [6, 7]. L'année suivante, il fut établi que la translocation t(9;22), caractéristique de la leucémie myéloïde chronique (LMC) et responsable de la formation du chromosome Philadelphie, impliquait un autre oncogène connu, ABL [8]. Ces deux découvertes eurent un impact considérable et conduisirent à rechercher systématiquement des altérations chromosomiques dans les hémopathies malignes humaines.

Plus de 300 translocations récurrentes ont été rapportées. La liste de ces remaniements peut être consultée dans l'*Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology* (<http://www.infobiogen.fr/services/chromcancer>). La plupart des inversions et des translocations récurrentes ont été caractérisées au niveau moléculaire (pour revue, voir [9-12]) et ces études ont permis la découverte de nouveaux oncogènes. Les principaux remaniements chromosomiques conduisant à l'expression de protéines oncogéniques dans les leucémies sont présentés dans le *Tableau 1*.

D'une façon générale, les leucémies aiguës *de novo* s'accompagnent d'un blocage de différenciation et sont associées à des réarrangements chromosomiques impliquant des facteurs qui règlent l'activité transcriptionnelle. Deux types de gènes sont très souvent impliqués : des facteurs de transcription qui jouent un rôle majeur dans l'hématopoïèse normale (pour revue, voir [13]) et des gènes à homéodomaine ou des gènes qui règlent l'expression de gènes homéotiques. Ces oncogènes peuvent bloquer la différenciation par plusieurs mécanismes : mutation de type perte de fonction, effet dominant négatif sur la copie résiduelle ou sur des facteurs transcriptionnels hétérologues, recrutement de complexes co-activateurs ou co-répresseurs de la transcription. Certains gènes sont altérés avec une fréquence particulière : le récepteur α de l'acide rétinoïque ou RAR α est remanié dans 5 translocations, 20 réarrangements altèrent les gènes du CBF (*core binding factor*) qui comporte deux sous-unités CBFA2 (ou AML1, RUNX1) et CBF β , et le gène *MLL*, qui est l'orthologue humain du gène *Trithorax* de la drosophile et qui règle positivement l'expression de gènes homéotiques, est impliqué dans plus de 40 translocations différentes [10, 11].

Les oncogènes qui confèrent aux cellules un avantage de croissance ou de survie sans bloquer la différenciation sont plus généralement associés à des leucémies à cellules matures, aux lymphomes, ainsi qu'aux syndromes myéloprolifératifs comme la LMC et la leucémie myélo-monocytaire chronique.

Conséquences des réarrangements chromosomiques : surexpression ou production d'une protéine de fusion

Expression anormale d'un gène de structure normale

Les réarrangements des gènes d'immunoglobuline (BCR) et du récepteur T (TCR) qui surviennent physiologiquement au cours du développement lymphoïde B et T et qui font intervenir une cassure double brin sur l'ADN par les recombinases RAG1 et RAG2, prédisposent à la survenue de translocations par recombinaison illégitime. Ces translocations conduisent à l'expression aberrante d'oncogènes cellulaires, par un effet activateur de la transcription (mécanisme proche de la mutagenèse insertionnelle des leucémies expérimentales) : l'oncogène est de structure normale mais un de ses deux allèles est sous le contrôle d'éléments activateurs présents dans les régions régulatrices des gènes du BCR ou du TCR. Les oncogènes surexprimés dans les leucémies aiguës lymphoblastiques T (LAL T) codent le plus souvent pour des facteurs de transcription ou pour des protéines associées à des complexes transcriptionnels comme les protéines LYL1, TAL1/SCL, LMO1 et LMO2, HOX11 et HOX11L2 (*Figure 2*). Dans les hémopathies lymphoïdes à cellules plus matures, ce sont habituellement des gènes dont les produits règlent le cycle et la survie cellulaire qui sont surexprimés : le gène de la cycline D1 dans les lymphomes du manteau, *MYC* dans les lymphomes et leucémies de Burkitt et de rares LAL T, le gène anti-apoptotique *BCL-2* dans les lymphomes folliculaires, alors que les gènes *TCL1* et *MTCP1* surexprimés dans les leucémies polymphocytaires T favorisent la survie cellulaire du fait de leur association à la kinase AKT qui règle la survie cellulaire [14].

Dans les leucémies myéloïdes, le gène *EVII* est surexprimé dans de rares leucémies myéloblastiques aiguës (LAM) à la suite d'inversion inv(3)(q21;q26) ou de translocations t(3;3) (q21;q26) [15]. Ce gène avait été antérieurement identifié comme cible de mutagenèse insertionnelle dans des leucémies myéloblastiques chez la souris.

Production d'une protéine de fusion

Les remaniements chromosomiques conduisent souvent à la création d'un gène chimérique codant pour une protéine de fusion dont les propriétés sont différentes de celles de chacun des deux partenaires de la fusion. Plusieurs mécanismes peuvent participer aux propriétés oncogéniques de ces protéines : modification du niveau d'expression, de la localisation intracellulaire, de l'activité d'une protéine ou de son association à des protéines qui règlent son activité.

A. SUREXPRESSION DE PROTÉINES ONCOGÉNIQUES

Type de gène	Fonction	Gène	Translocation	Régions régulatrices	Type de leucémie
Facteurs de transcription et régulateurs transcriptionnels	Protéine de type bHLH	<i>MYC</i> (8q34)	t(8;14)(q24;q11)	TCR α	LAL T
			t(8;14)(q24;q32)	IgH, IgL	Lymphomes et leucémies de Burkitt, leucémies lymphoïdes chroniques
		<i>TAL 1</i> (1p32)	t(1;14)(p32;q11)	TCR α	LAL T
		<i>LYL 1</i> (19p13)	t(7;19)(q35;p13)	TCR β	LAL T
	Protéine à homéodomaine	<i>HOX11</i> (10q24)	t(10;14)(q24;q11)	TCR α , TCR β	LAL T
		<i>HOX11L2</i> (5q35)	t(7;10)(q35;q24) t(5;14)(q35;q32)	gène: <i>CTIP2</i>	LAL T
	Protéine à domaine LIM	<i>LMO1</i> (11p15)	t(11;14)(p15;q11)	TCR δ	LAL T
		<i>LMO2</i> (11p13)	t(11;14)(p13;q11) t(7;11)(q35;p13)	TCR δ , TCR α , TCR β	LAL T
	Protéine à doigts de zinc	<i>EVI 1</i> (3;q26)	t(3;3)(q21;q26) inv (3)(q21;q26)	gène: <i>ribophorine</i>	LAM
		<i>LAZ 3/BCL6</i> (3q27)	t(3;14)(q27;q32) t(3;22)(q27;q11) t(3;4)(q27;p11)	IgH, IgL gène: <i>TTF</i>	Lymphomes non hodgkiniens
Autres	Tyrosine kinase	<i>LCK</i> (1p34)	t(1;7)(p34;q34)	TCR β	LAL T
	Activateur d'AKT	<i>TCL1</i> (14q32)	t(14;14)(q11;q32) inv (14)(q11;q32)	TCR α	Leucémies polylmphocytaires T
		<i>MTCP1</i> (Xq28)	t(X;14)(q28;q11)	TCR α	Leucémies polylmphocytaires T
	Récepteur de la famille Notch (forme tronquée)	<i>TAN1</i> (9q34)	t(7;9)(q34;q34)	TCR β	LAL T
	Interleukine-3	<i>IL-3</i> (5q31)	t(5;14)(q31;q32)	IgH	LAL pré-B
	Cycline D1	<i>BCL1</i> (11q13)	t(11;14)(q13;q32)	IgH	Leucémies lymphoïdes chroniques et lymphomes du manteau
	Protéine anti-apoptotique	<i>BCL-2</i> (18q21)	t(14;18)(q32;q21)	IgH	Lymphomes folliculaires

Tableau I. Principaux réarrangements chromosomiques décrits dans les leucémies humaines. Les réarrangements peuvent conduire soit à la surexpression de protéines oncogéniques (A), soit à la production de protéines de fusion (B). On peut remarquer la fréquence des réarrangements conduisant à l'expression dérégulée de gènes de structure normale dans les LAL T, alors que la production d'un gène de fusion est l'anomalie la plus fréquente dans les LAL B et les leucémies myéloïdes. Les translocations les plus fréquentes des lymphomes B sont également indiquées. bHLH: *basic helix-loop-helix*; CBF: *core-binding factor*; FGF: *fibroblast growth factor*; LAM: leucémies aiguës myéloblastiques; LAP: leucémies aiguës promyélocytaires; LMC: leucémie myéloïde chronique. LIM: motif riche en cystéines; SRF: *serum responsive factor*; PDGF: *platelet-derived growth factor*; FGF: *fibroblast growth factor*; IgH: chaîne lourde d'immunoglobuline; IgL: chaîne légère d'immunoglobuline; CTIP2: gène codant pour une protéine à doigts de zinc fortement exprimée dans le thymus et les lymphocytes T; TTF: *translocation three four*: gène codant pour une petite protéine G fortement exprimée dans les cellules hématopoïétiques.



B. PRODUCTION DE PROTÉINES DE FUSION

Type de gène	Translocation	Gènes affectés	Fonction	Type de leucémie
Facteurs de transcription et régulateurs transcriptionnels	t(12;21)(p13;q22)	<i>TEL</i> (12p13) <i>AML1</i> (21q22)	Facteur ETS Sous-unité du CBF ou CBF α fixant l'ADN (domaine runt)	LAL pro-B
	t(8;21)(q22;q22)	<i>AML1</i> (21q22) <i>ETO</i> (8q22)	Sous-unité CBF α du CBF Protéine nucléaire à doigts de zinc	LAM
	t(3;21)(q26;q22)	<i>AML1</i> (21q22) <i>EV11</i> (3q26)	Sous-unité CBF α du CBF Protéine nucléaire à doigts de zinc	LAM secondaires
	Inv(16)(p13;q22)	<i>CBFB</i> (16q22) <i>SMMHC</i> (16p13)	Sous-unité CBF β du CBF Chaîne lourde des chaînes de myosine du muscle lisse	LAM à éosinophiles
	t(1;19)(q23;p13)	<i>E2A</i> (19p13) <i>PBX1</i> (1q23)	Facteur de transcription de type bHLH Facteur de transcription à homéodomaine	LAL pré-B
	t(17;19)(q22;p13)	<i>E2A</i> (19p13) <i>HLF</i> (17q22)	Facteur de transcription de type bHLH Facteur de transcription à <i>leucine zipper</i>	LAL pro-B
	t(15;17)(q21;q12)	<i>PML</i> (15q21)	Protéine à doigts de zinc de type <i>ring</i> (corps nucléaires)	Leucémies aiguës promyélocytaires (LAP)
	t(11;17)(q23;q12)	<i>RARα</i> (17q12) <i>PLZF</i> (11q23)	Récepteur α de l'acide rétinoïque Protéine nucléaire à doigts de zinc	apparenté aux LAP
	t(11;17)(q13;q12)	<i>RARα</i> (17q12) <i>NuMA</i> (11q13)	Récepteur α de l'acide rétinoïque Protéine de la matrice nucléaire	apparenté aux LAP
	t(5;17)(q35;q12)	<i>RARα</i> (17q12) <i>NPM</i> (5q35)	Récepteur α de l'acide rétinoïque Nucléophosmine (protéine nucléaire)	apparenté aux LAP
	t(17;17)(q11;q12)	<i>RARα</i> (17q12) <i>STAT5B</i> (17q11)	Récepteur α de l'acide rétinoïque Facteur de transcription de la famille STAT	apparenté aux LAP
	t(4;11)(q21;q23)	<i>RARα</i> (17q12) <i>MLL</i> (11q23) <i>AF4</i> (4q21)	Récepteur α de l'acide rétinoïque Orthologue du gène <i>Trithorax</i> Activateur transcriptionnel	Leucémies bi-phénotypiques de l'enfant
	t(6;11)(q27;q23)	<i>MLL</i> (11q23) <i>AF6</i> (6q27)	Orthologue du gène <i>Trithorax</i> Fonction mal connue	LAM myélo-monocytaires et monoblastiques
	t(9;11)(p22;q23)	<i>MLL</i> (11q23) <i>AF9</i> (9p22)	Orthologue du gène <i>Trithorax</i> Activateur transcriptionnel	LAM myélo-monocytaires et monoblastiques Leucémies secondaires (inhibiteurs de topo-isomérase II)
	t(11;19)(q23;p13)	<i>MLL</i> (11q23)	Orthologue du gène <i>Trithorax</i>	LAM, LAL B et leucémies bi-phénotypiques de l'enfant
	t(7;11)(p15;p15)	<i>ENL</i> (19p13) <i>NUP98</i> (11p15)	Activateur transcriptionnel Nucléoporine (protéine associée au pore nucléaire)	LAM secondaires
	t(6;9)(p23;q34)	<i>HOXA9</i> (7p15) <i>DEK</i> (6p23) <i>CAN</i> (9q34)	Facteur de transcription à homéodomaine Facteur de transcription NUP214 (protéine associée au pore nucléaire)	LAM à basophiles
	t(1;22)(p13;q13)	<i>OTT</i> (1p13)	Protéine nucléaire de la famille Spen	Leucémies aiguës mégacaryocytiques de l'enfant
	t(16;21)(p11;q22)	<i>MAL</i> (22q13) <i>FUS</i> (16p11) <i>ERG</i> (21q22)	Co-activateur du facteur SRF Protéine se liant à l'ARN Facteur de transcription famille ETS	LAM
	Tyrosine kinases	t(9;22)(q34;q11)	<i>BCR</i> (22q11)	Ser/Thr kinase, facteur d'échange de Rho, GAP de Rac
t(9;12)(q34;p13)		<i>ABL</i> (9q34) <i>TEL</i> (12p13)	Tyrosine kinase intracellulaire Facteur ETS	apparenté à la LMC
t(9;12)(p24;p13)		<i>ABL</i> (9q34) <i>TEL</i> (12p13)	Tyrosine kinase intracellulaire Facteur ETS	LAL B, LAL T, LMC
t(5;12)(q33;p13)		<i>JAK2</i> (9p24) <i>TEL</i> (12p13) <i>PDGFRβ</i> (5q33)	Tyrosine kinase intracellulaire Facteur ETS Récepteur β du PDGF	Leucémies myélomonocytaires chroniques
t(5;7)(q33;q11)		<i>HIP1</i> (7q11)	Protéine interagissant avec la protéine de Huntington	Leucémies myélomonocytaires chroniques
t(5;17)(q33;p13)		<i>PDGFRβ</i> (5q33) <i>Rabaptine</i> (17p13)	Récepteur β du PDGF Protéine impliquée dans l'endocytose (interagit avec rab 4 et 5)	Leucémies myélomonocytaires chroniques
t(6;8)(q27;p12)		<i>PDGFRβ</i> (5q33) <i>FOP</i> (6;q27) <i>FGFR1</i> (8p12)	Récepteur β du PDGF Fonction inconnue Récepteur 1 du FGF	Syndromes myéloprolifératifs atypiques
t(8;9)(p12;q33)		<i>CEP110</i> (9q33) <i>FGFR1</i> (8p12)	Protéine associée au centrosome Récepteur 1 du FGF	Syndromes myéloprolifératifs atypiques
t(8;13)(p12;q12)		<i>FIM</i> (13q12) <i>FGFR1</i> (8p12)	Protéine à doigts de zinc Récepteur 1 du FGF	Syndromes myéloprolifératifs atypiques

La production d'un gène de fusion est l'anomalie la plus fréquemment retrouvée dans les leucémies aiguës lymphoblastiques B (LAL B), les leucémies aiguës biphenotypiques de l'enfant et les leucémies myéloïdes qu'elles soient aiguës ou chroniques (Figure 2).

Certains gènes sont systématiquement et exclusivement remaniés dans les leucémies d'un même type. Ainsi, le gène *RARα* participe à la production de toutes les protéines de fusion associées aux leucémies aiguës promyélocyaires (LAP) et apparentées: *PML-RARα* pour la translocation *t(15;17)* la plus fréquente, *PLZF-RARα* pour la *t(11;17)*, les fusions *NPM-RARα*, *NuMA-RARα* et *STAT5B-RARα* étant beaucoup plus rares. Ces observations suggèrent que l'interférence avec la fonction physiologique des rétinoides dans la différenciation myéloïde joue un rôle majeur dans le blocage de différenciation des LAP (pour revue, voir [16]).

À l'inverse, le gène *AML1* est remanié dans des LAL B et des LAM. Ce gène, essentiel au développement de l'hématopoïèse primitive, code pour la sous-unité *CBFα* fixant l'ADN du complexe CBF. La translocation la plus fréquente des LAL B de l'enfant, la *t(12;21)*, conduit à la formation d'une protéine chimérique *TEL-AML1* contenant l'extrémité amino-terminale du facteur ETS *TEL* fusionné au domaine de liaison à l'ADN d'*AML1*, alors que, dans la translocation *t(8;21)* associée aux LAM, le domaine de fixation à l'ADN d'*AML1* est fusionné à la protéine *ETO*. La sous-unité *CBFβ*, quant à elle, est l'un des deux partenaires du produit de fusion *CBFβ-SMMHC* (chaîne lourde des chaînes de myosine du muscle lisse) résultant d'inversions du

chromosome 16 associées à des LAM. Toutes ces protéines de fusion interfèrent avec la fonction d'*AML1* dans l'hématopoïèse (pour revue, voir [17]).

La plupart des remaniements qui impliquent des protéines à activité tyrosine kinase conduisent à la formation d'un produit de fusion ayant une activité kinase constitutivement active. Dans les fusions impliquant un récepteur membranaire à activité tyrosine kinase (*PDGFR* dans certaines formes de leucémies myélomo-

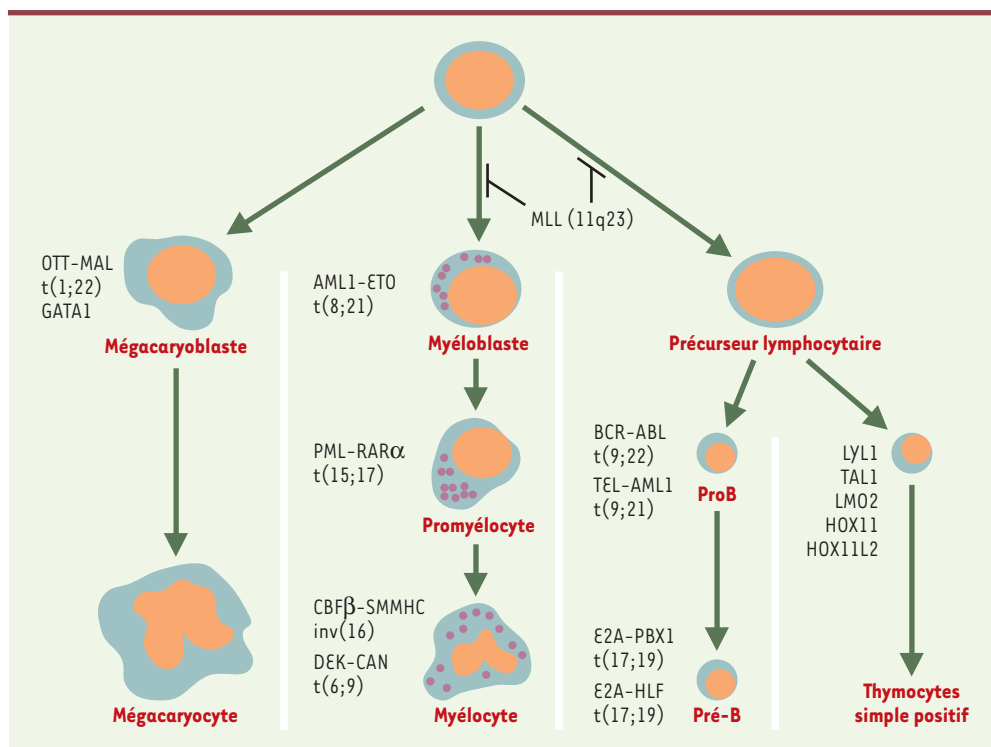


Figure 2. Principales altérations génétiques observées dans les leucémies aiguës. Le gène *MLL* est impliqué dans un très grand nombre de réarrangements conduisant à la formation de protéines de fusion, associées à des leucémies lymphoblastiques, myéloblastiques ou à des leucémies bi-phénotypiques. Dans les leucémies aiguës lymphoblastiques T (LAL T), des prothymocytes sont bloqués à un stade précoce de différenciation. Les altérations génétiques les plus fréquentes conduisent à la surexpression de facteurs de transcription de type bHLH (*LYL1* et *TAL1*) ou de protéines à homéodomaine (*HOX11* et *HOX11L2*). Citons aussi la surexpression de la tyrosine kinase *LCK*, de *MYC* et d'une forme tronquée et constitutivement active du récepteur *Notch1* dans de rares LAL T. Les translocations *t(14;14)* et *t(X;14)* conduisant respectivement à la surexpression de *TCL1* et de *MTCP1* sont associées à des leucémies proliférotaires T, post-thymiques. Les translocations *t(1;19)* et *t(17;19)* associées aux leucémies pré-B impliquent toutes deux la protéine *E2A*. La translocation *t(1;19)* conduit à la formation d'une protéine chimérique contenant l'extrémité amino-terminale de *E2A* fusionnée au domaine de fixation à l'ADN de la protéine à homéodomaine *PBX1* alors que dans la translocation *t(17;19)* *E2A* est fusionné au domaine de fixation à l'ADN de la protéine à *leucine zipper* *HLF*. L'inversion du chromosome 16 est présente dans des leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) à différenciation éosinophile alors que la translocation *t(6;9)* *DEK-CAN* est associée à une différenciation basophile. Les leucémies mégacaryoblastiques de l'enfant sont associées à la translocation récurrente *t(1;22)* qui conduit à la formation d'une protéine de fusion *OTT-MAL* (*one twenty two-megakaryocytic acute leukemia*). Cette translocation n'est qu'exceptionnellement présente dans les leucémies mégacaryoblastiques survenant chez des enfants ayant une trisomie 21 constitutionnelle. Ces leucémies présentent des mutations ponctuelles du gène *GATA1*. Il n'existe pas d'anomalie récurrente dans les leucémies érythroblastiques, qui ne sont pas représentées sur ce schéma.

nocytaires chroniques [18], ALK dans les lymphomes anaplasiques à grandes cellules [19], FGFR1 dans les syndromes myéloprolifératifs atypiques avec anomalie de la bande chromosomique 8p12 [20, 21]), les domaines extracellulaire et transmembranaire du récepteur sont absents de la fusion. Le domaine cytoplasmique du récepteur, situé en position carboxy-terminale dans la protéine chimérique, est fusionné à un partenaire qui contient un motif d'oligomérisation nécessaire aux propriétés oncogéniques du produit de fusion. Ce type de motif est également et systématiquement présent dans le partenaire amino-terminal des protéines de fusion contenant des kinases intracellulaires (ABL, ARG [*Abelson related gene*], JAK2 [22], SYK [23]). Cela est en accord avec le mode de fonctionnement de ces kinases qui sont physiologiquement activées en réponse à un stimulus extracellulaire par dimérisation et transphosphorylation. La nature des séquences en amont de la kinase peut aussi influencer sur le type de la leucémie. Les leucémies associées à un produit de fusion BCR-ABL ont toutes pour origine une cellule immature multipotente, mais en fonction du point de cassure dans le gène *BCR*, les produits de fusion BCR-ABL sont associés à des LAL pro B (p190 BCR-ABL), à la LMC (p210 BCR-ABL) ou à une leucémie à polynucléaires neutrophiles (p230 BCR-ABL).

Les leucémies humaines : un processus de transformation par étapes

Étude des leucémies congénitales et mise en évidence de remaniements chromosomiques chez les sujets normaux

Certaines leucémies se développent très tôt chez l'enfant. L'étude génétique de jumeaux identiques a montré que l'événement initiateur de la leucémie survenait *in utero* [24]. La longueur et la variabilité de la latence des leucémies survenant chez des jumeaux ayant une translocation t(12;21) TEL-AML1 suggéraient que ce réarrangement favorisait mais n'était pas suffisant pour la transformation leucémique et que celle-ci dépendait de la survenue d'un événement additionnel. Cette hypothèse a été confortée par une étude systématique récente qui a mis en évidence des transcrits de fusion TEL-AML1 et AML1-ETO, par RT-PCR et par FISH, dans des cellules de sang de cordon avec une fréquence 100 fois plus élevée que la fréquence des leucémies associées à ces anomalies. La fréquence des cellules positives pour la fusion TEL-AML1 (10^{-3} à 10^{-4}) indique que la translocation survient dans une cellule immature qui prolifère mais se différencie en l'absence d'altération génétique additionnelle [25].

De même, il a été rapporté que la translocation t(14;18) associée aux lymphomes folliculaires était présente dans une sous-population de cellules lymphoïdes chez 50 % des sujets adultes [26] et des transcrits de fusion BCR-ABL ont été décrits avec une fréquence de 30 % dans le sang périphérique d'adultes non leucémiques [27]. Cependant, le très faible nombre de cellules positives suggère que ce réarrangement survient dans des cellules relativement matures et à capacité d'expansion limitée.

Altérations génétiques en l'absence d'anomalie cytogénétique

Des mutations ponctuelles et des microdélétions non détectables par les méthodes les plus performantes de cytogénétique, peuvent aussi conduire à l'activation d'oncogènes.

Des mutations ponctuelles activatrices des gènes *K-RAS* et *N-RAS* ont été décrites dans des syndromes myélodysplasiques et des LAM. Plus récemment, des mutations activatrices des récepteurs à activité tyrosine kinase FLT3 et c-KIT ont été mises en évidence avec une fréquence respectivement de 20-25 % et 5 % dans des LAM ayant une translocation impliquant les gènes du CBF, *MLL*, ou les oncogènes *PML-RAR α* et *DEK-CAN* [12](→). Des mutations de gènes de facteurs de transcription jouant un rôle majeur dans l'hématopoïèse normale ont également été récemment identifiées dans les leucémies. Ainsi, des mutations du gène *C/EBP α* , qui code pour un facteur de transcription essentiel à la différenciation granulocytaire ont été détectées dans certaines LAM à caryotype normal et dans des myélodysplasies [28, 29].

Les leucémies mégacaryoblastiques de l'enfant sont associées à la translocation récurrente t(1;22) [30, 31]. Cependant, cette translocation n'est qu'exceptionnellement présente dans les leucémies mégacaryoblastiques survenant chez des enfants ayant une trisomie 21 constitutionnelle. Il a été émise l'hypothèse selon laquelle une altération du gène *GATA1*, localisé sur le chromosome X, pourrait être associée à ces leucémies. *GATA1* est un facteur de transcription essentiel à la différenciation érythroïde et mégacaryocytaire et des mutations germinales du domaine de liaison à l'ADN de *GATA1* sont responsables d'anémie congénitale avec dysérythropoïèse et thrombocytopenie liée à l'X(→). En raison de l'hyperplasie mégacaryocytaire avec anomalie de maturation présente chez des souris n'exprimant pas *GATA1* dans la lignée mégacaryocytaire [32], ce gène a été envisagé comme gène candidat. De façon remarquable, des mutations conduisant à l'expression d'une protéine tronquée de son extrémité amino-terminale

(→) m/s
2003, n°3,
p. 133

(→) m/s
2002, n°11,
p. 1080

mais fixant l'ADN et aux propriétés transactivatrices probablement diminuées, sont systématiquement et spécifiquement associées aux leucémies mégacaryocytaires d'enfants trisomiques. Il a été suggéré qu'un gène situé sur le chromosome 21 pourrait, du fait de sa surexpression, coopérer avec la forme tronquée de GATA1 pour l'induction de ces leucémies [33].

L'identification de mutations inactivatrices bi- ou mono-alléliques du gène *AML1* dans un faible pourcentage de LAM acquises a suggéré que l'haplo-insuffisance à ce locus pourrait favoriser la survenue de LAM. Cette hypothèse a été confortée par la découverte de mutations inactivatrices mono-alléliques et germinales d'*AML1* dans des familles présentant une thrombocytopénie et une fréquence élevée de LAM [34].

La translocation t(1;14), présente dans 3 % des LAL T, a permis la découverte de *TALI*. Mais des délétions intrachromosomiques de 80 kb, plaçant le gène *TALI* sous le contrôle des régions régulatrices du gène *SIL* adjacent sont 8 fois plus fréquentes que les translocations dans les LAL T de l'enfant [35]. De plus, une délétion bi-allélique du locus p16^{ink4a}/p14^{ARF} qui contient deux gènes suppresseurs de tumeur est retrouvée dans 60 à 80 % des LAL T [36]. Il en résulte que dans un grand nombre de LAL T un facteur de transcription est surexprimé et une délétion de gène suppresseur de tumeur est observée.

Ces observations démontrent la coexistence de plusieurs altérations génétiques dans un même clone leucémique et indiquent que, dans les leucémies humaines comme dans d'autres types de cancer, plusieurs événements oncogéniques participent à la transformation maligne.

Nouvelles perspectives thérapeutiques

Différents modèles ont montré que l'avantage conféré par un oncogène rend les cellules tumorales dépendantes du maintien de l'activité et/ou de l'expression de la protéine oncogénique.

En effet, des cellules présentant une activation constitutive d'une voie de signalisation sont « dépendantes » de cette voie et plus sensibles que les cellules normales à son inhibition. Ainsi, des cellules tumorales ayant une activation constitutive de la kinase FRAP/mTOR à la suite de la délétion du gène suppresseur de tumeur *PTEN* sont plus sensibles que des cellules normales à un inhibiteur spécifique de mTOR [37,38]. De même, il a été observé que les cellules de myélome arrêtent de proliférer et meurent par apoptose en présence d'inhibiteurs de protéasome qui inhibent l'activation de la voie NF- κ B [39]. Dans des modèles de souris transgéniques pour un oncogène (*BCR-ABL* chez des souris développant une LAL B, ou *MYC* chez des souris développant des lymphomes T et

une LAM) dont l'expression peut être réglée par la tétracycline, il a été montré que les masses tumorales régressent de façon spectaculaire lorsque le transgène cesse d'être exprimé [40, 41]. Des résultats similaires ont été obtenus dans des modèles de tumeurs cutanées, du pancréas, de sarcome ostéogénique et de mélanome se développant chez des souris transgéniques pour une construction inductible de *MYC* ou *H-RAS* muté. La réversion de tumeurs à des stades avancés et dans lesquelles plusieurs événements oncogéniques coexistent (ce phénomène étant attesté par la clonalité des tumeurs hématopoïétiques) souligne l'intérêt du développement à des fins thérapeutiques d'agents pharmacologiques ciblant la fonction et/ou la stabilité de protéines oncogéniques.

De telles thérapeutiques ont déjà montré leur efficacité pour éliminer des cellules leucémiques. Le STI 571, un inhibiteur des kinases ABL, KIT et PDGFR, permet la mise en rémission de LMC [42] et la régression de certaines tumeurs gastriques (GIST, *gastrointestinal stromal tumors*) dans lesquelles *KIT* est muté. La découverte de mutations de *FLT3* dans les LAM, et de *KIT* dans les LAM associées ou non à une mastocytose systémique permet d'envisager que les inhibiteurs spécifiques des formes mutées des kinases FLT3 et KIT qui ont été récemment développés [43, 44](→) pourraient être associés au traitement de certaines LAM. En raison de phénomènes de résistance qui surviennent habituellement sous traitement par un seul inhibiteur, il est nécessaire de développer des modèles animaux reproduisant les leucémies humaines (par transgénèse ou par transplantation de moelle infectée par un virus contenant un oncogène) pour évaluer l'efficacité d'associations médicamenteuses. Une telle stratégie a été utilisée pour démontrer l'efficacité de l'association acide rétinoïque/arsenic qui conduit à la différenciation et à l'apoptose des cellules de LAP en interférant avec la fonction de PML-RAR α et en induisant la dégradation de cette protéine oncogénique [45]. ♦

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie très vivement toutes celles et ceux qui ont relu ce manuscrit, pour leurs critiques et suggestions. Merci aussi à l'Inserm, la Ligue contre le Cancer et la Fondation pour la Recherche Médicale pour leur soutien.

SUMMARY

Oncogenes in leukemia: historical background and therapeutic prospect

Oncogenes involved in the development of hematological malignancies were first discovered through the study of experimental leukemias induced in animals by retroviruses. The discovery that some of these genes were located at the breakpoints of chromosome rearrangements in human malignancies, such as the *MYC* gene in Burkitt's lymphoma and the *ABL* gene in chronic myeloid leukemia (CML) has suggested that chromosome abnormalities were causally implicated in the pathogenesis of human diseases. Numerous nonrandom somatically acquired chromosomal translocations or inversions have been identified in human leukemias. The molecular cloning of the genes located at the breakpoints of these rearrangements allowed to identify more than 100 new oncogenes, the products of which affect normal programs of cell proliferation, differentiation and survival. Chromosome translocations can lead to the deregulated expression of a normal gene product, but in most cases of leukemia, chromosome rearrangements result in the expression of a chimeric fusion protein. Oncogene products associated with acute leukemias are often transcription factors while tyrosine kinases and antiapoptotic proteins are more commonly activated or overexpressed in chronic leukemias and in lymphomas. Recent data indicated that gene rearrangements were not the sole gene alterations occurring in human leukemia since point mutations could also affect the function of transcription factors playing a key role in hematopoiesis such as C/EBP α , GATA1 and AML1. But the most exciting finding was the discovery of activating point mutations in tyrosine kinase receptors such as FLT3 and c-KIT in acute leukemia. Treatment of leukemia could therefore benefit from new therapeutic approaches targeting the function of specific oncogene products as already demonstrated for CML and acute promyelocytic leukemia. \diamond

RÉFÉRENCES

1. Jonkers J, Berns A. Retroviral insertional mutagenesis as a strategy to identify cancer genes. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1287: 29-57.
2. Mikkers H, Allen J, Knipscher P, et al. High-throughput retroviral tagging to identify components of specific signaling pathways in cancer. *Nat Genet* 2002; 32: 153-9.
3. Lund AH, Turner G, Trubetskoy A, et al. Genome-wide retroviral tagging of genes involved in cancer in Cdkn2a-deficient mice. *Nat Genet* 2002; 32: 160-5.
4. Suzuki T, Shen H, Akagi K, et al. New genes involved in cancer identified by retrovirus tagging. *Nat Genet* 2002; 32: 166-74.
5. Look AT. Oncogenic transcription factors in the human acute leukemias. *Science* 1997; 278: 1059-64.
6. Dalla-Favera R, Bregni M, Erikson J, et al. Human *c-myc* oncogene is located on the region of chromosome 8 that is translocated in Burkitt lymphoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79: 7824-7.
7. Taub R, Kirsch I, Morton C, et al. Translocation of the *c-myc* gene into the immunoglobulin heavy chain locus in human Burkitt lymphoma and murine plasmacytoma cell. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79: 7837-41.
8. Heisterkamp N, Stephenson JR, Groffen J, et al. Localization of the *c-abl* oncogene adjacent to a translocation breakpoint in chronic myelocytic leukemia. *Nature* 1983; 306: 239-42.
9. Rabbitts TH. Chromosomal translocations in human cancer. *Nature* 1994; 372: 143-9.
10. Rabbitts TH. Chromosomal translocation master genes, mouse models and experimental therapeutics. *Oncogene* 2001; 20: 5763-77.
11. Scandura JM, Boccuni P, Cammenga J, Nimer SD. Transcription factor fusions in acute leukemia. *Oncogene* 2002; 21: 3422-44.
12. Scheijen B, Griffin JD. Tyrosine kinase oncogenes in normal hematopoiesis and hematological disease. *Oncogene* 2002; 21: 3314-33.
13. Zhu J, Emerson SG. Hematopoietic cytokines, transcription factors and lineage commitment. *Oncogene* 2002; 21: 3295-313.
14. Künstle G, Laine J, Pierron G, et al. Identification of Akt association and oligomerisation domains of the Akt kinase coactivator TCL1. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 1513-25.
15. Levy ER, Parganas E, Morishita K, et al. DNA rearrangements proximal to the *EV11* locus associated with the 3q21q26 syndrome. *Blood* 1994; 83: 1348-53.
16. Lallemand-Breitenbach V, Zhu J, de Thé H. La leucémie aiguë promyélocytaire: un paradigme des traitements ciblés sur l'oncogène? *Med Sci* 2001; 17: 14-22.
17. Poirel H, Bernard O. Implication des gènes du CBF dans la leucémogénèse. *Hématologie* 2000; 6: 30-6.
18. Golub TR, Barker GF, Lovett M, Gilliland DG. Fusion of PDGF receptor beta to a novel ets-like gene, *tel*, in chronic myelomonocytic leukemia with t(5;12) chromosomal translocation. *Cell* 1994; 77: 307-16.
19. Morris SW, Kirstein MN, Valentine MB, et al. Fusion of a kinase gene, *ALK*, to a nuclear protein gene, *NPM* in non-Hodgkin's lymphoma. *Science* 1994; 263: 1281-4.
20. Popovici C, Adélaïde J, Ollendorff V, et al. Fibroblast growth factor receptor 1 is fused to FIM in

- stem cell myeloproliferative disorder with t(8;13) (p12;q12). *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 5712-7.
21. Guasch G, Mack GJ, Popovici C, et al. FGFR1 is fused to the centrosome-associated protein CEP110 in the 8p12 stem cell myeloproliferative disorder with t(8;9) (p12;q33). *Blood* 2000; 95: 1788-96.
 22. Lacronique V, Boureux A, Valle VD, et al. A TEL-JAK2 fusion protein with constitutive kinase activity in human leukemia. *Science* 1997; 278: 1309-12.
 23. Kuno Y, Abe A, Emi N, et al. Constitutive activation of the TEL-Syk fusion gene in myelodysplastic syndrome with t(9;12) (q22;p12). *Blood* 2001; 97: 1050-5.
 24. Wiemels JL, Cazzaniga G, Daniotti M, et al. Prenatal origin of acute lymphoblastic leukemia in children. *Lancet* 1999; 354: 1499-503.
 25. Mori H, Colman SM, Xiao Z, et al. Chromosome translocations and covert leukemic clones are generated during normal fetal development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 8242-7.
 26. Liu Y, Hernandez AM, Shibata D, Cortopassi GA. Bcl2 translocation frequency rises with age in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 8910-4.
 27. Biernaux C, Loos M, Sels A, Huez G, Stryckmans P. Detection of major *bcr-abl* gene expression at a very low level in blood cells of some healthy individuals. *Blood* 1995; 86: 3118-22.
 28. Pabst T, Mueller BU, Zhang P, et al. Dominant-negative mutations of mutations of C/EBP α , encoding CCAAT/enhancer binding protein alpha, in acute myeloid leukemia. *Nat Genet* 2001; 27: 263-70.
 29. Gombart AF, Hofmann WK, Kawano S, et al. Mutations in the gene encoding the transcription factor CCAAT/enhancer binding protein alpha in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemias. *Blood* 2002; 99: 1332-40.
 30. Mercher T, Coniat MB, Monni R, et al. Involvement of a human gene related to the *Drosophila spen* gene in the recurrent t(1;22) translocation of acute megakaryocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 5776-9.
 31. Ma Z, Morris SW, Valentine V, et al. RBM15 and MKL1, in the t(1;22)(p13;q13) of acute megakaryoblastic leukemia. *Nat Genet* 2001; 28: 220-1.
 32. Shivadsani RA, Fujiwara Y, McDevitt MA, Orkin SH. A lineage-selective selective knockout establishes the critical role of transcription factor GATA-1 in megakaryocyte growth and platelet development. *EMBO J* 1997; 16: 3965-73.
 33. Wechsler J, Greene M, McDevitt MA, et al. Acquired mutations in GATA 1 in the megakaryoblastic leukemia of Down syndrome. *Nat Genet* 2002; 32: 148-52.
 34. Song WJ, Sullivan MG, Legare RD, et al. Haploinsufficiency of CBFA2 (AML1) causes familial thrombocytopenia with propensity to develop acute myelogenous leukemia (FPD/AML). *Nat Genet* 1999; 23: 166-75.
 35. Brown L, Cheng JT, Chen Q, et al. Site-specific recombination of the *tal-1* gene is a common occurrence in human T cell leukemia. *EMBO J* 1990; 9: 3343-51.
 36. Cayuela JM, Madani A, Sanhes L, Stern MH, Sigaux F. Multiple tumor-suppressor gene 1 inactivation is the most frequent genetic alteration in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1996; 87: 2180-6.
 37. Neshat MS, Mellinghoff IK, Tran C, et al. Enhanced sensitivity of PTEN-deficient tumors to inhibition of FRAP/mTOR. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10314-9.
 38. Podsypanina K, Lee RT, Politis C, et al. An inhibitor of mTOR reduces neoplasia and normalizes p70/S6 kinase activity in *Pten*^{-/-} mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10320-5.
 39. Hideshima T, Richardson P, Chauhan D, et al. The proteasome inhibitor PS-341 inhibits growth, induces apoptosis, and overcomes drug resistance in human multiple myeloma cells. *Cancer Res* 2001; 61: 3071-6.
 40. Huettner CS, Zhang P, Van Etten RA, Tenen D. Reversibility of acute B-cell leukaemia induced by BCR-ABL1. *Nat Genet* 2000; 24: 57-60.
 41. Felsher DW, Bishop M. Reversible tumorigenesis by MYC in hematopoietic lineages. *Mol Cell* 1999; 4: 199-207.
 42. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR/ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2001; 344: 1031-7.
 43. Weisberg E, Boulton C, Kelly LM, et al. Inhibition of mutant FLT3 receptors in leukemia cells by the small molecule tyrosine kinase inhibitor PKC412. *Cancer Cell* 2002; 5: 433-43.
 44. Liao AT, Chien MB, Shenoy N, et al. Inhibition of constitutively active forms of mutant kit by multitargeted indolinone tyrosine kinase inhibitors. *Blood* 2002; 100: 585-93.
 45. Lallemand-Breitenbach V, Guillemin MC, Janin A, et al. Retinoic acid and arsenic synergize to eradicate leukemic cells in a mouse model of acute promyelocytic leukemia. *J Exp Med* 1999; 189: 1043-52.