

■■■■ **Un nouveau mécanisme de dérégulation de la prolifération cellulaire.** Deux virus de type herpès, *Herpes virus Saimiri* (HVS) et *Human Herpes virus 8* (HHV8), sont impliqués dans certaines affections tumorales (sarcome de Kaposi, lymphome B des cavités) (*m/s n° 11, vol. 11, p. 1605*) et leur génome est aussi retrouvé dans les cellules stromales médullaires au cours du myélome [1]. Le génome viral de HHV8 code pour un analogue de l'interleukine-6 humaine, facteur de croissance pour ces trois affections. Cependant, ces virus codent aussi pour des cyclines: cyclines K pour HHV8 et cycline V pour HVS; ils peuvent modifier, par cette voie, la prolifération tumorale. Ces cyclines virales présentent 53 % de similitude entre elles et plus de 40 % avec les cyclines D. Elles s'associent presque exclusivement à la kinase dépendante des cyclines Cdk6 [2] et activent fortement les complexes kinasiques provoquant *in vitro* la phosphorylation de Rb ou de l'histone H1. L'analyse de la phosphorylation de Rb dans un lysat contenant Cdk6 et l'une des cyclines virales montre que les complexes ainsi formés sont résistants à l'action des inhibiteurs des CDK (CKI) [3]. Les deux familles d'inhibiteurs sont concernées [4]: p16<sup>INK4a</sup> spécifique de Cdk4 et Cdk6 ainsi que les CKI à plus large spectre d'action de la famille p21<sup>WAF1</sup> sont inaptes à inhiber la phosphorylation du substrat. Cette résistance persiste encore lorsque les inhibiteurs sont en grand excès par rapport aux complexes cycline-CDK. Dans ces mêmes conditions, les kinases associées à la cycline D1 sont inhibées. Cette incapacité des CKI d'inhiber efficacement les kinases en présence des cyclines virales peut être expliquée par des particularités conformationnelles de ces dernières. En effet, l'activité inhibitrice de p16<sup>INK4a</sup> dépend de sa liaison aux CDK; cette liaison s'effectue par compétition avec les cyclines. Pour être actifs p21<sup>WAF1</sup> et p27<sup>KIP1</sup> doivent se lier aux CDK mais aussi aux cyclines. L'analyse tridimensionnelle du complexe

cycline A-Cdk2-p27<sup>KIP1</sup> a mis en évidence la liaison directe de l'inhibiteur à la cycline par des interactions hydrophobes et électrostatiques. Les cyclines virales présentent des modifications de séquence dans ces zones de liaison aux CKI. Sur le plan expérimental, alors que les cyclines virales sont co-immunoprécipitées avec Cdk6, elles ne sont que très médiocrement co-précipitées avec p21<sup>WAF1</sup> ou p27<sup>KIP1</sup> contrairement à la cycline D1. La résistance à l'action inhibitrice de cette famille de CKI viendrait donc de l'incapacité de l'inhibiteur de se lier efficacement à la cycline. Pour p16<sup>INK4a</sup>, cette résistance pourrait être liée à la très forte affinité de la cycline virale pour les CDK empêchant la fixation de l'inhibiteur sur ces dernières. La cotransfection de la cycline virale K avec les différents inhibiteurs dans la lignée d'ostéosarcome humain U2-OS montre que les complexes kinasiques formés avec les cyclines virales sont capables d'assurer la progression des cellules en G1 malgré la forte expression des CKI. En outre, la transfection de cellules NIH-3T3 avec le gène de la cycline virale K placé sous le contrôle d'un promoteur inductible pour l'IPTG démontre que cette cycline peut provoquer le passage en phase S de cellules quiescentes, cultivées à faible concentration en sérum. La cycline K cumule ainsi l'activité séquentielle des cyclines D et de la cycline E qui sont normalement nécessaires pour assurer la progression en G1 et le passage de la transition G1/S. Les virus HVS et HHV8 sont donc capables d'agir sur la prolifération des cellules hôtes par l'expression de cyclines. Les particularités structurales de ces cyclines confèrent aux complexes kinasiques qu'elles contrôlent une insensibilité aux CKI, ce qui constitue un nouveau mécanisme de dérégulation de la prolifération cellulaire.

[1. Rettig MB, *et al. Science* 1997; 276: 1851-4.]

[2. Wolowiec D, Ffrench M. *Med Sci* 1996; 12: 165-73.]

[3. Swanton C, *et al. Nature* 1997; 390: 184-7.]

[4. Cayrol C, Ducommun B. *Med Sci* 1997; 13: 1259-65.]

■■■■ **Encore un virus qui a piraté l'ADN eucaryote: KHSV, transformation tumorale et angiogénèse.** Le sarcome de Kaposi est une maladie qui, rare autrefois, est devenue endémique chez certains malades atteints du SIDA. Presque toujours associée à l'infection par HHV8/KHSV (KHSV pour *Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus*), elle est caractérisée par la prolifération de cellules fusiformes dont l'origine, cellules endothéliales, dendritiques ou musculaires lisses reste controversée (*m/s n° 6, vol. 11, p. 914; n° 11, vol. 11, p. 1605*) [1]. On savait que les cellules fusiformes, considérées comme des cellules tumorales, sécrétaient une quantité importante de VEGF (*vascular endothelial growth factor*), on apprend aujourd'hui par quel mécanisme [2]. Le virus KHSV code pour un récepteur membranaire serpentin couplé aux protéines G, nommé KHSV-GPCR (*G-protein-coupled receptor*) qui est activé de façon constitutive et induit transformation tumorale et commutation angiogénique. La transmission du signal aboutissant à la transcription du gène *VEGF* passe dans ces cellules par deux voies relayées par des MAP kinases différentes, les JNK-SAPK (*Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase*) et celle de la MAPK p38 (*m/s n° 3, vol. 11, p. 467*). Les cellules fibroblastiques NIH3T3 transfectées avec un vecteur d'expression de KHSV-GPCR subissent aussi une transformation tumorale; cette dernière ne survient pas si on transfecte en même temps un vecteur d'expression pour une kinase spécifique de ce récepteur (GRK) qui le phosphoryle et le désensibilise (*m/s n° 12, vol. 13, p. 1461*). L'activation constitutive de ce récepteur est donc suffisante pour la transformation tumorale. D'autres gènes du virus formant un bouquet oncogénique semblent, par ailleurs, impliqués dans la prolifération en codant pour: l'équivalent d'une cycline D, un analogue de l'interleu-

kine-6 humaine (*m/s n° 2, vol. 14, p. 228*), un inhibiteur de l'apoptose v-FLIP, un antigène nucléaire voisin des EBNA du virus d'Epstein-Barr (*m/s n° 11, vol. 11, p. 1621*). Cette situation n'est pas sans rappeler celle du virus *Herpes saimiri*, responsable chez de nombreux primates de leucémies T fulgurantes (*m/s n° 1, vol. 10, p. 113*). Ce dernier a acquis un récepteur serpentin couplé aux protéines G, proche de ceux des chimiokines  $\alpha$ , et récepteur fonctionnel de l'interleukine-8 et des chimiokines à l'action transformante.

[1. Lebbé C. *Med Sci* 1996; 12: 1055-63.]

[2. Bais C, *et al. Nature* 1998; 391: 86-9.]

■■■■ **Le gène de la tumeur de Wilms dans les leucémies.** La tumeur de Wilms est un néphroblastome de l'enfant lié à l'existence de mutations ou délétions du gène *WT1*. Le développement d'une leucémie est relativement fréquent chez des enfants porteurs d'une tumeur de Wilms. Le gène *WT1* est aussi retrouvé muté ou délété dans un certain nombre de processus néoplasiques, parmi lesquels des leucémies aiguës. Une recherche systématique avait fait rechercher des mutations du gène *WT1* chez des malades ayant une leucémie aiguë sporadique; elles ont été trouvées dans quatre cas sur trente-six, responsables alors d'une protéine tronquée [1]. Ce phénomène est cependant rare, et le problème se posait d'une spécificité hématopoïétique. Le gène *WT1*, établi donc comme un gène suppresseur de tumeur, a, par ailleurs, un rôle important dans le développement urogénital précoce. Il code pour un facteur de transcription à doigts de zinc, qui est exprimé dans les cellules hématopoïétiques normales mais à un niveau beaucoup plus élevé dans les cellules les plus immatures (précurseurs médullaires CD34<sup>+</sup>CD33<sup>-</sup>Lin<sup>-</sup> ou cellules du foie fœtal). Dans les leucémies, son expression est associée aux cellules immatures qui donnent naissance aux cellules leucé-

miques. Il serait de ce fait un facteur de pronostic et un marqueur de la maladie résiduelle dans les leucémies aiguës. On a pu montrer que les éléments régulateurs de transcription du promoteur n'ont pas de spécificité tissulaire; celle-ci devait donc être recherchée ailleurs. Un travail récent du groupe de G.F. Saunders (Houston, TX, USA) rapporte les éléments impliqués dans le contrôle transcriptionnel du gène [2]. La même équipe avait identifié, en 3' du gène à 50kb en aval du promoteur, l'existence d'un *enhancer* de spécificité érythroïde, transactivé par le facteur GATA-1 [3]. Le présent travail identifie un autre *enhancer* spécifique intragénique au niveau du troisième intron. Cette séquence de 258 pb est transactivée par GATA-1, mais aussi par c-Myb, dont le motif de liaison est très proche. L'ensemble des études par transfections dans différentes lignées montre que ces deux séquences activatrices, potentiellement synergiques, ont des spécificités différentes: le *enhancer* 3', qui ne lie que GATA-1, est actif majoritairement dans les cellules érythroïdes HEL, le *enhancer* intronique, qui lie aussi c-Myb, est actif également dans les cellules HL60 qui ont des caractéristiques myéloïdes. Une surexpression (x5) du gène est observée dans ces cellules quand il y a co-transfection d'un vecteur d'expression c-Myb; c'est donc l'action de ce proto-oncogène, ou un complexe GATA-1/c-Myb qui expliquerait la transactivation de *WT1* dans les leucémies myélocytaires.

[1. King-Underwood L, *et al. Blood* 1996; 87: 2171-9.]

[2. Zhang X, *et al. J Biol Chem* 1997; 272: 29272-80.]

[3. Fraizer GC, *et al. J Biol Chem* 1994; 269: 8892-900.]

■■■■ **Le gène du proglucagon pancréatique sous le contrôle du facteur neuronal brain 4!** Doit-on rebaptiser le facteur neuronal «brain 4»? Sans aucun doute si l'on en croit les travaux d'une équipe de Boston qui vient de démontrer le rôle activateur

de ce facteur de transcription (de la famille des protéines à domaine POU) (*m/s n° 5, vol. 3, p. 172*) sur le gène du proglucagon dans la cellule  $\alpha$  pancréatique [1]. A l'instar du gène de l'insuline pancréatique, réglé lui aussi par un facteur supposé neuronal (BETA2/NeuroD), le gène du proglucagon possède dans sa région promotrice proximale un site de liaison pour un facteur considéré jusque-là comme strictement neuronal, brain 4. Rappelons ici que, selon le tissu, la maturation post-traductionnelle du proglucagon conduit à des peptides structurellement et fonctionnellement différents: le glucagon et le GLP-1 (*glucagon-like peptide 1*) dans le pancréas, l'intestin et le système nerveux central, et le GLP-2 (*glucagon-like peptide 2*), l'oxyntomoduline et la glicentine dans l'intestin [2]. Tout d'abord, les auteurs ont mis en évidence, chez le rat et la souris, la présence de la protéine brain 4 dans les cellules  $\alpha$  pancréatiques qui bordent les îlots de Langerhans et dans différentes lignées de cellules  $\alpha$  pancréatiques en culture. Des expériences, utilisant une de ces lignées ou des fibroblastes co-transfectés avec un vecteur d'expression brain 4 et différentes régions du promoteur du gène *Proglucagon* fusionnées à un gène rapporteur, ont permis de démontrer l'effet transactivateur puissant de brain 4 sur le gène *Proglucagon*. Le site de liaison de brain 4 a été localisé dans une région du promoteur proximal (désignée G1), spécifique de la cellule  $\alpha$  pancréatique et riche en AT. Avec la protéine cdx2/3, un facteur de transcription déjà reconnu comme essentiel à l'expression du gène du proglucagon dans la cellule  $\alpha$  pancréatique, brain 4 apparaît aujourd'hui comme un activateur essentiel de ce gène dans le pancréas endocrine. Participe-t-il aussi à la différenciation de la cellule  $\alpha$  pancréatique? la question se pose aujourd'hui.

[1. Hussain MA, *et al. Mol Cell Biol* 1997; 17: 7186-94.]

[2. Bataille D. *Med Sci* 1991; 7: 900-10.]