

## Cancers génitaux et virus du papillome

Les condylomes génitaux sont des tumeurs bénignes sexuellement transmissibles dus à des virus à ADN, les papillomavirus, ou virus du papillome. Chez la femme, ils sont souvent associés à des anomalies du col utérin. On sait depuis les travaux de l'équipe de Zur Hausen en Allemagne [1,2] que les cellules de cancers du col utérin contiennent très fréquemment de l'ADN viral que l'on peut mettre en évidence par la technique de *Southern blot* après avoir extrait l'ADN des tumeurs (voir *médecine/sciences* n° 2, vol. 2, p. 104). Il existe de très nombreux types de papillomavirus désignés par les nombres de 1 à 33, le 33<sup>e</sup> ayant été récemment caractérisé dans le laboratoire de Gérard

Orth à l'Institut Pasteur de Paris [3]. Les génomes de ces différents types étant différents, il est aisé d'identifier l'origine de l'ADN viral détecté dans les tumeurs à l'aide de sondes virales spécifiques (voir *médecine/sciences* n° 2, vol. 2, p. 105). Alors que les types 6 et 11 sont principalement associés avec les condylomes génitaux, deux types, 16 et 18, sont très fréquemment détectés dans les échantillons de cancers du col et de la vulve [1,2]. Le type 33 semble également associé au développement de cancers [3].

L'ADN viral peut être trouvé sous une forme extra-chromosomique (dite « épisomale »), ou bien intégré dans l'ADN de la cellule maligne.

Ces résultats suggéraient donc que l'infection virale pouvait être la cause de la transformation maligne, mais n'en constituait d'aucune façon la preuve. Celle-ci vient d'être apportée de manière magistrale par une équipe japonaise [4] utilisant la technique classique de la transfection de fibroblastes de souris NIH 3T3 par de l'ADN extrait d'une tumeur du col utérin (figure 1). Des foyers de prolifération anarchique apparaissant dans les boîtes de culture indiquent que les fibroblastes ont acquis un phénotype « transformé » supposé être la conséquence de l'intégration d'un gène transformant actif dans la tumeur humaine. L'ADN de ces foyers est lui-même purifié et utilisé

Figure 1. **Détection d'un gène transformant humain.** En traits pleins, l'ADN humain; en rouge, le gène transformant; en traits pointillés, l'ADN de souris.

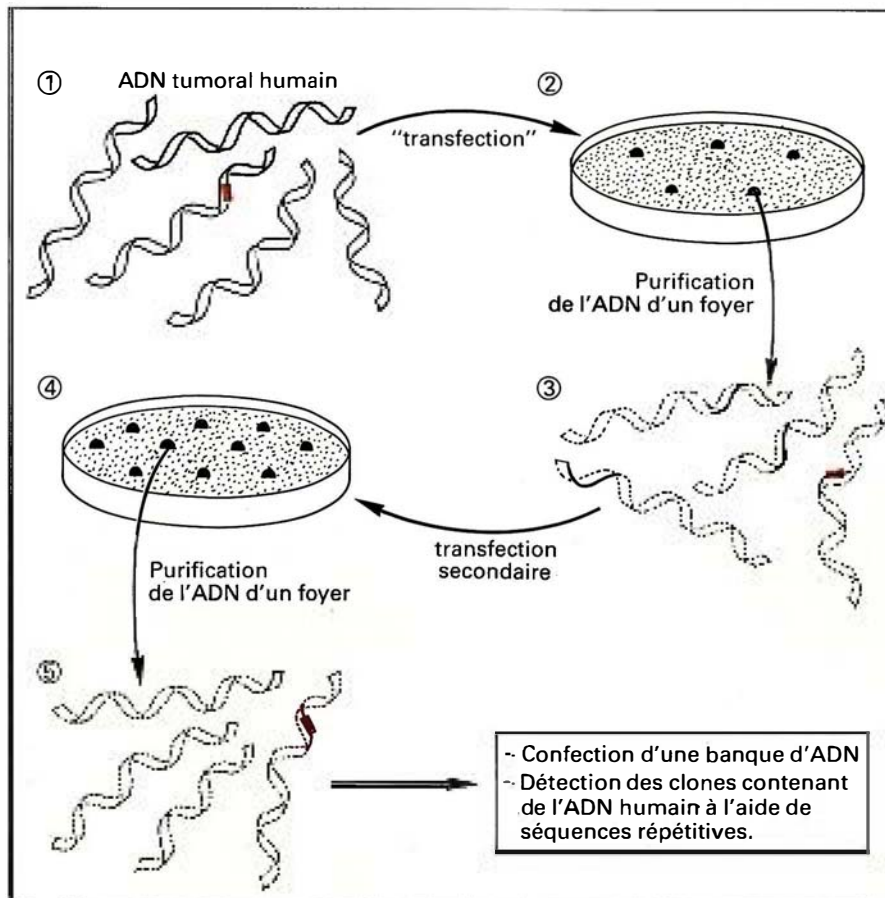
Étape 1: L'ADN de la tumeur humaine est isolé et utilisé pour « transfecter » des fibroblastes de souris NIH 3T3.

Étape 2: Des foyers apparaissent sur le fond de la culture en monocouche. Leur ADN est purifié.

Étape 3: L'ADN des foyers contient le gène transformant mais aussi d'autres fragments d'ADN humain. Il est utilisé pour transfecter à nouveau des cellules NIH 3T3.

Étape 4: Des foyers secondaires apparaissent, leur ADN est purifié.

Étape 5: A ce stade, l'ADN des foyers secondaires ne contient plus qu'un seul type d'ADN humain, celui portant le gène transformant. Après confection d'une banque d'ADN, ce fragment de génome humain est repéré parce qu'il contient généralement des éléments de séquence, répétitifs dans le génome (il y en a plus de 500 000 par génome haploïde) mais spécifiques d'espèce: il suffit donc de cribler la banque avec, comme sonde, les séquences répétitives humaines pour détecter les clones qui contiennent de l'ADN humain.



pour transférer de nouvelles cultures de cellules NIH 3T3. Des foyers apparaissent à nouveau, dus aussi au transfert du gène transformant humain. Une banque d'ADN génomique est alors constituée à partir de ces foyers secondaires (*voir médecine/sciences n° 6, vol. 2, p. 333*) et est criblée avec des séquences d'ADN répétitives dans le génome humain, mais absentes du génome de souris. Le fragment d'ADN humain, candidat pour être responsable de l'acquisition du phénotype malin, est alors isolé et sa structure peut être caractérisée (*figure 1*). Son pouvoir transformant peut aussi être confirmé par une troisième expérience de transfection de cellules NIH 3T3 à l'aide de cet ADN cloné. Dans l'exemple de l'ADN d'un cancer du col utérin étudié ici, le gène transformant se révéla contenir tout ou partie du génome d'un papillomavirus type 16. Un fragment de cet ADN viral utilisé comme sonde permettait de détecter

dans les cellules transformées des ARN de 1,8 (forme prédominante) à 6,8 kb. Un résultat similaire avait été rapporté l'an dernier par l'équipe de Zur Hausen : des ARN hybridant avec des sondes virales type 16 étaient détectés dans des biopsies de cancer du col utérin [5]. Il apparaît donc que les papillomavirus type 16 et 18, comme les rétrovirus HTLV 1 et 2 responsables de leucémies humaines, sont les agents directs de cancers humains, étendant donc le nombre des tumeurs malignes viroinduites chez l'homme. Dans ce cas, il s'agit de plus d'une infection sexuellement transmissible, comme le suggère fortement la présence de certains types de papillomavirus dans le sperme d'hommes ayant des condylomes génitaux [6]. Rappelons que dans d'autres cancers humains associés à une infection virale par le virus de l'hépatite B ou par le virus d'Epstein Barr par exemple, le mécanisme de la cancé-

risation procéderait plutôt d'une interaction entre le génome viral et l'ADN de la cellule infectée que de l'action directe d'un gène transformant viral. **A. K.**

1. Durst M, Gissmann L, Ikenberg H, Zur Hausen H. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 3812-5.
2. Boshart M, Gissmann L, Ikenberg H, Kleinhein A, Scheurlen W, Zur Hausen H. A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. *EMBO J* 1984; 3: 1151-7.
3. Beaudenon S, Kremsdorf D, Croissant O, Jablonska S, Wain-Hobson S, Orth G. A novel type of human papillomavirus associated with genital neoplasias. *Nature* 1986; 321: 246-9.
4. Tsunokawa Y, Takebe N, Kasamatsu T, Terada M, Sugimura T. Transforming activity of human papillomavirus type 16 DNA sequences in a cervical cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 2200-3.
5. Schwartz E, Freese UK, Gissmann L, et al. Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. *Nature* 1985; 314: 111-4.
6. Ostrow RS, Zachow KR, Niimura M et al. Detection of papillomavirus DNA in human semen. *Science* 1986; 231: 731-3.

## Une utilisation inédite des essais nucléaires : la datation des calculs biliaires

Lorsque l'on découvre des calculs biliaires, on n'a le plus souvent aucun renseignement sur leur âge et la façon dont ils se sont développés depuis leur formation. Ce type d'information pourrait avoir une importance pour comprendre l'histoire naturelle de la lithiase et tenter d'identifier les causes de ses complications.

Mok et coll. [1] ont utilisé une méthode élégante pour dater les calculs biliaires chez des malades opérés. Ils ont mis à profit l'enrichissement de l'atmosphère en  $^{14}\text{C}$  depuis les premiers essais thermonucléaires des années 1950-1960 : ces explosions ont eu pour résultat un doublement du

$^{14}\text{C}$  atmosphérique, par rapport à son taux antérieur, en 1963. Le  $^{14}\text{C}$  ainsi produit a été rapidement oxydé en  $^{14}\text{CO}_2$ . Celui-ci a été utilisé par les végétaux, puis par les animaux qui l'ont incorporé avec un retard moyen d'environ deux ans. Il a été montré que le rapport du  $^{14}\text{C}$  au  $^{12}\text{C}$  (le carbone naturel) était virtuellement identique dans les composants de la « biosphère » et dans l'atmosphère, depuis 1955. Cela permet de dater un échantillon biologique à 1 an 1/2 à 2 ans près.

Les calculs de 15 malades ont ainsi été étudiés. Aucun n'avait eu d'exams utilisant un isotope radioactif et

tous avaient eu des cholécystographies antérieurement. Onze malades avaient des symptômes en rapport avec leurs calculs et quatre étaient asymptomatiques. Les calculs (obtenus à l'intervention chez 13 malades et à l'autopsie chez deux malades) ont été analysés par couches concentriques. Le  $\text{CO}_2$  de chaque couche de calculs a été obtenu par combustion, purifié sur une colonne de charbon activé et la radioactivité du  $^{14}\text{C}$  mesurée par compteur à gaz proportionnel.

L'âge du calcul a été obtenu à partir du contenu en  $^{14}\text{C}$  du calcul, au moyen d'une courbe de référence