

# L'hétérocaryon, système de reprogrammation du génome cellulaire

C'est à Ephrussi que l'on doit les premiers travaux sur l'emploi des hybrides somatiques dans la différenciation cellulaire. Dans les syncaryons obtenus par exemple entre fibroblastes et hépatocytes, il n'y a qu'un seul noyau et les hybrides poursuivent leurs divisions. Dans ce type d'hybride somatique, les résultats les plus habituels sont une extinction des fonctions codées par les chromosomes dérivés des cellules parentales différenciées (ici, les hépatocytes), ce phénomène d'extinction étant lié à un locus génétique précis du génome des cellules parentales indifférenciées (ici, les fibroblastes). Cependant, les cellules hybrides perdent progressivement des chromosomes, si bien que le développement ou l'extinction de fonctions spécifiques sont souvent difficiles à interpréter. Si l'on parvient à fusionner des cellules dont les noyaux restent distincts, on obtient des hétérocaryons. Dans ces conditions, toute action activatrice ou inhibitrice d'un type de cellules sur les fonctions de l'autre est nécessairement médiée par des substances qui ont diffusé dans le cytoplasme et agissent en trans sur le génome du noyau de l'autre type. Deux exemples ont démontré le pouvoir de cette technique. Le premier est celui des cellules musculaires. Ce modèle a été développé depuis 1983 par Helen Blau (Stanford), qui a pu former des hétérocaryons stables entre des myocytes de souris et soit des cellules peu différenciées comme les amniocytes et des fibroblastes humains, soit des cellules très différenciées comme les hépatocytes. Les méthodes destinées à identifier les produits musculaires spécifiques de la souris et de l'homme ont évolué au cours des années depuis l'analyse électrophorétique [1] (créatine kinase,

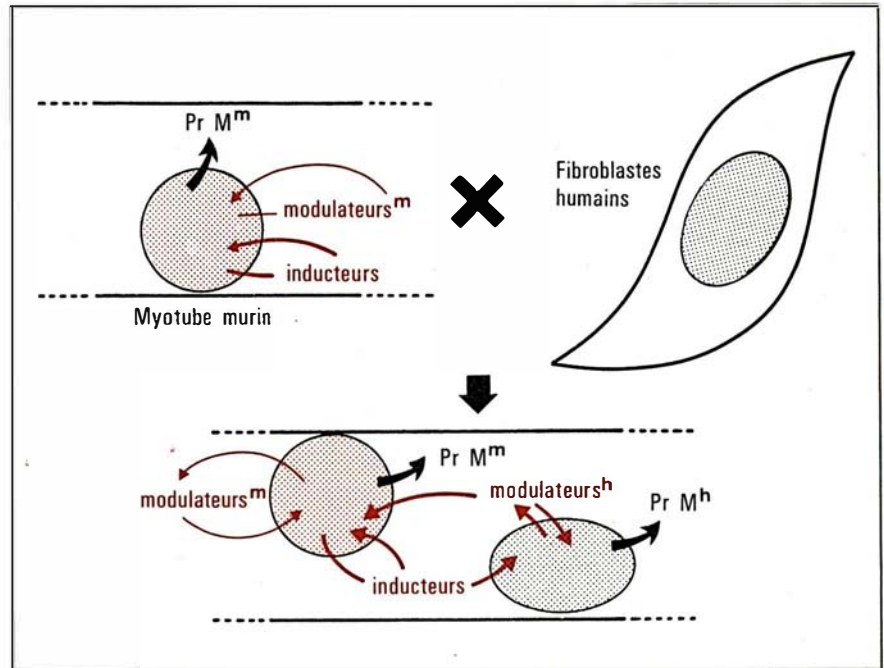


Figure 1. **Reprogrammation de l'expression des gènes codant pour des protéines musculaires dans les hétérocaryons entre des myotubes murins et des fibroblastes humains.** Modulateurs<sup>m</sup> = modulateurs murins, régulant le rapport et la chronologie de l'expression des gènes codant pour des protéines musculaires ; modulateurs<sup>h</sup> = modulateurs humains ; inducteurs = substances responsables de l'induction de l'expression des gènes codant pour des protéines musculaires ; Pr M<sup>m</sup> = protéines musculaires murines ; Pr M<sup>h</sup> = protéines musculaires humaines. Dans l'hétérocaryon, les inducteurs de souris induisent les gènes humains codant pour les « modulateurs humains » et les protéines musculaires humaines. Les modulateurs<sup>h</sup> agissent sur le noyau de souris et l'emportent sur les modulateurs<sup>m</sup>, l'expression du « programme musculaire » par le noyau de myotube murin devenant ainsi de type « humain ».

chaînes légères de la myosine) jusqu'à des sondes d'ADN spécifiques des  $\alpha$  actines de type musculaire et cardiaque, en passant par des anticorps dirigés contre des antigènes de surface caractéristiques des myoblastes ou des myotubes [2, 3]. Un fait fondamental ressort de ces travaux : les fibroblastes humains subissent une activation de leurs propres gènes musculaires et les protéines musculaires retrouvées dans le cyto-

plasme sont à la fois d'origine humaine et murine.

L'emploi récent de sondes d'actine a permis d'affiner l'analyse en quantifiant les ARN synthétisés. Le mode d'accumulation des transcrits humains dans les hétérocaryons s'est montré distinct de celui des cellules musculaires de souris et très semblable à celui de cellules musculaires humaines. La fusion de cellules musculaires de souris avec des

fibroblastes humains a donc déclenché chez ces derniers une activation de leurs gènes musculaires ; les cellules humaines agissent ensuite pour leur propre compte, tendant à se comporter comme d'authentiques cellules musculaires humaines, dont les facteurs régulateurs vont même pouvoir modifier l'évolution dans le temps des protéines de type souris.

Dans les expériences de Blau, le rapport du nombre de noyaux dérivés des cellules musculaires et non musculaires varie dans des limites assez étroites de 2/1 à 1/2. L'effet de dose ne s'est pas révélé important dans le cas des fibroblastes ; lorsque les cellules humaines étaient des hépatocytes, au contraire, le pourcentage des noyaux d'origine musculaire au départ exerçait une influence décisive. Les facteurs « d'extinction » semblaient donc beaucoup plus actifs lorsque la fusion avait lieu entre deux types de cellules différenciées.

On pouvait s'attendre à des difficultés pour étendre à d'autres cellules le modèle des hétérocaryons : les myocytes sont des cellules multinucléées, dont la forme assure un contact aisé avec les fibroblastes qui leur sont accolés. C'est pourquoi il faut souligner l'importance du travail de Baron et Maniatis (Harvard) qui ont réussi à former des hétérocaryons, de durée limitée à quelques jours, à partir de cellules hémapoïétiques. Leur modèle fusionne des cellules K 562 d'origine humaine avec des cellules d'érythroleucémie de souris (MEL). Les K 562 synthétisent uniquement des globines embryonnaires et fœtales et non la  $\beta$  globine adulte, dont le gène est cependant présent. Les cellules MEL sont des précurseurs érythroïdes adultes transformés par le virus de Friend, qui produisent de très faibles quantités de globine  $\alpha$  et  $\beta$ . Traitées par le diméthylsulfoxyde (DMSO), elles subissent une différenciation terminale comportant une forte

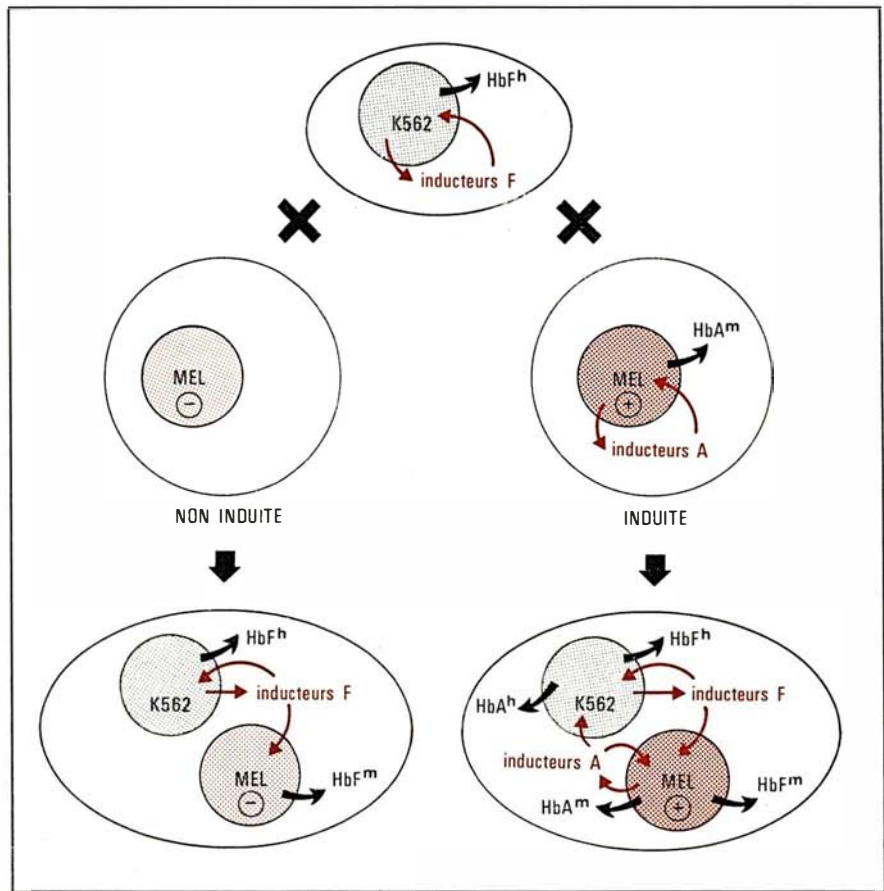


Figure 2. **Modulation respective de l'expression des gènes globines par les noyaux de cellules érythroleucémiques murines et de la lignée K 562 humaine dans des hétérocaryons.** HbF<sup>h</sup> = hémoglobines fœtales humaines ; HbF<sup>m</sup> = hémoglobines fœtales murines ; HbA<sup>h</sup> = hémoglobines adultes humaines ; HbA<sup>m</sup> = hémoglobines adultes murines ; inducteurs F = facteurs transactivateurs, programmés par les noyaux K 562 ; inducteurs A = facteurs transactivateurs adultes, programmés par les noyaux MEL induits ; MEL (-) = cellule MEL non traitée ; MEL (+) = cellule MEL traitée par le DMSO. Les flèches en noir indiquent la nature des hémoglobines synthétisées sous le contrôle des différents noyaux, celles en rouge indiquent l'origine et les points d'impact des facteurs trans-activateurs.

induction des messagers des globines  $\alpha$  et  $\beta$ . Les expériences ont été faites en 2 temps, distinguant l'effet de cellules induites ou non. Lorsqu'on fusionne des cellules MEL non induites avec des K 562, on observe uniquement l'apparition d'ARNm et de globine  $\epsilon$  de souris, précurseur embryonnaire de  $\beta$  (la souris ne possède pas d'équivalent des gènes  $\gamma$  humains). Les cellules fœto-embryonnaires humaines ont donc activé le gène embryonnaire de la

souris. Si l'on utilise, pour la fusion, des cellules MEL induites par le DMSO, on constate la production de globine  $\beta$  adulte humaine en même temps que de globine  $\epsilon$  de souris. Il y a donc eu, dans ce cas, activation réciproque des gènes de globine. L'apparition des globines nouvelles est rapide, elle se fait en moins de vingt-quatre heures. Il n'existe aucune indication en faveur de l'existence de plusieurs étapes dans cette activation.



Les auteurs ont ensuite étendu leurs expériences en hybridant le partenaire humain K 562 avec des cellules murines de lignées non hématopoïétiques. Une expression des gènes de globine de souris  $\alpha$  et  $\epsilon$  a été obtenue, non seulement avec des fibroblastes en culture primaire — ce que l'on peut réaliser aussi par la méthode des syncaryons — mais aussi avec plusieurs lignées établies, alors que les syncaryons avaient toujours fourni une réponse négative. Dernière donnée importante : la réponse n'est pas identique pour toutes les cellules, ni pour tous les gènes de globine ; le gène embryonnaire de type alpha murin, appelé  $\zeta$ , n'est jamais activé ; certaines lignées expriment à la fois  $\alpha$  et  $\epsilon$ , d'autres seulement  $\alpha$ .

De ces recherches émergent plusieurs conclusions importantes. La fusion de cellules spécialisées avec d'autres cellules, spécialisées ou non, provoque une reprogrammation du génome induisant la production de régulateurs spécifiques

capables de déterminer l'expression d'un phénotype, par exemple myogénique ou érythroïde. Cette reprogrammation dépend de l'état des cellules « inductrices », puisque seules des cellules MEL traitées par le DMSO sont capables de provoquer la synthèse d'hémoglobine humaine adulte dans des cellules fœtales humaines. Si, comme de très nombreux travaux actuels semblent l'indiquer et selon le modèle présenté ici même récemment (*m/s* n° 7, vol. 2, p. 410), l'expression des gènes spécifiques de l'état de différenciation est régulée en fonction d'un équilibre dynamique entre les facteurs activateurs et extincteurs, les résultats résumés ici indiquent que la richesse en ce type de facteurs diffère selon les cellules. Ainsi, les facteurs « activateurs musculaires » pourraient être particulièrement abondants ou actifs, l'emportant, en cas de fusion myocyte/hépatocyte, sur les facteurs « activateurs hépatocytaires ». On ne comprend pas bien, dans l'état actuel de nos connais-

sances, la raison pour laquelle la constitution de syncaryons permet surtout de mettre en évidence les facteurs extincteurs alors que ce sont les phénomènes d'activation de fonctions différenciées qui prédominent dans les hétérocaryons. Enfin, pour un type donné de cellules, certains gènes sont plus facilement activés que d'autres ; tandis que, pour un gène donné, l'activation est plus facile à déclencher dans certains types cellulaires que dans d'autres.

J.-C.D.

1. Blau HM, Chiu CP, Webster C. Cytoplasmic activation of human nuclear genes in stable heterokaryons. *Cell* 1983 ; 32 : 1171-80.
2. Hardeman EC, Chiu CP, Minty A, Blau HM. The pattern of actin expression in human fibroblast and mouse muscle heterokaryons suggests that human muscle regulatory factors are produced. *Cell* 1986 ; 47 : 123-30.
3. Blau HM, Pavlath GK, Hardeman EC *et al.* Plasticity of the differentiated state. *Science* 1985 ; 230 : 758-66.
4. Baron MH, Maniatis T. Rapid reprogramming of globin gene expression in transient heterokaryons. *Cell* 1986 ; 46 : 591-602.

## ■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■ Une anomalie d'un canal ionique à potassium a été observée dans une lignée de souris ayant des anomalies héréditaires des lymphocytes T (souris MRL.1). La symptomatologie comporte une prolifération du système immunitaire et un syndrome proche du lupus érythémateux disséminé humain. Les canaux ioniques sont des systèmes pouvant exister dans une configuration « ouverte » et « fermée », contrôlant les mouvements d'ions de part et d'autre de la membrane plasmique. On sait depuis plusieurs années que certains d'entre eux sont très importants dans la réponse proliférative de cellules en culture stimulées à proliférer. Ce que démontre l'article de Chandy *et al.*, c'est qu'une fonction normale de ces canaux est également indispensable à un

fonctionnement normal de cellules du système immunitaire. La relation existant entre la mutation des souris MRL. 1 et l'anomalie des canaux à potassium (un excès important de l'un des deux types de canaux présents sur la cellule normale, et l'absence de l'autre) reste inconnue. [Chandy KG *et al.* *Science* 1986 ; 233 : 1197-200.]

■■■ TRH et sclérose latérale amyotrophique : c'est au Colloque de Tours sur les maladies neuromusculaires (début octobre 1986) que W. King Engel (Los Angeles) a montré l'action du tripeptide TRH\* sur les déficits moteurs d'origine neurale, notamment la sclérose latérale amyotrophique. Le TRH augmente la force musculaire des malades et ses effets ne s'épuisent pas avec le

temps. Comme il n'exerce pas d'effets secondaires sur la fonction thyroïdienne, on pourrait espérer avoir un traitement à long terme comparable à la L-dopa dans la maladie de Parkinson. Malheureusement, outre le prix encore très élevé, les effets trophiques que montre le TRH en culture ne s'exercent pas *in vivo*, et il n'empêche pas l'évolution de la maladie. La recherche s'oriente donc activement en direction de peptides voisins qui seraient dotés d'une action trophique sur le muscle *in vivo*.

[Engel WK *et al.* Peptide treatment of neuromuscular disorders : TRH results, mechanisms, future. Résumés des communications du Colloque, p. 42-3.]

\* Le TRH (thyreostimulin releasing factor) est produit surtout par l'hypothalamus, mais on le trouve aussi dans les motoneurones