

Oncogènes et développement

Les oncogènes cellulaires correspondant à des gènes qui interviennent normalement dans le contrôle de l'une quelconque des étapes de la mitose. Dans l'embryon, le couplage étroit existant entre prolifération et différenciation suggère que nombre des oncogènes pourraient intervenir dans le développement de cellules et de tissus particuliers. De fait, une mutation de la souris perturbant la différenciation de différentes lignées cellulaires (locus W) affecte en fait le proto-oncogène *c-kit*. De plus, des souris transgéniques exprimant de façon anormale certains oncogènes (*mos*, *myc* et *fos*) présentent également des troubles du développement de certains tissus.

Dominique Morello
Charles Babinet

RÉFÉRENCES

1. Hunter T. Oncogenes and growth control. In : Bradshaw RA, Prentis S, eds. *Oncogenes and Growth Factors*. New York : Elsevier publishers, 1987 : 135-42.
2. Goustin AS, Betsholtz C, Pfeiffer-Ohlsson, et al. Co-expression of the *sis* and *myc* protooncogenes in human placenta suggests autocrine control of trophoblast growth. *Cell* 1985 ; 41 : 301-12.
3. Downward J, Yarden Y, Mayes E, et al. Close similarity of epidermal growth factor receptor and *v-erbB* oncogene protein sequences. *Nature* 1984 ; 307 : 521-7.
4. Hayman MJ. *Erb-B* : growth factor receptor turned oncogene. *TIG* 1986 ; 2 (10) : 260-2.
5. Stern DF, Kamps MP, Cao H. Oncogenic activation of p185^{neu} stimulates tyrosine phosphorylation *in vivo*. *Mol Cell Biol* 1988 ; 8 (9) : 3969-73.

ADRESSE

D. Morello : *Chargée de recherche au Cnrs*.
Ch. Babinet : *Directeur de recherche au Cnrs*.
Unité de génétique des mammifères, Institut Pasteur, 25, rue du Docteur-Roux, 75015 Paris, France.

Depuis quelques années, nos connaissances sur les mécanismes qui gouvernent la prolifération et la différenciation cellulaires, mécanismes dont le dérèglement aboutit à la transformation, ont beaucoup progressé grâce, principalement, à l'étude des oncogènes viraux et à l'identification de leurs contreparties cellulaires, les proto-oncogènes. Lorsqu'ils sont capturés par les rétrovirus, ces derniers se trouvent modifiés dans le génome viral et confèrent aux cellules infectées une capacité de prolifération anormale. L'analyse de nombreuses tumeurs, induites ou non par des rétrovirus, a montré qu'il existait une corrélation étroite entre modification de proto-oncogènes (ou dérégulation de leur expression) et transformation, ce qui suggérait très fortement que la fonction normale des proto-oncogènes était de participer à la régulation de la croissance cellulaire. On connaît aujourd'hui plus d'une cinquantaine d'oncogènes et de proto-oncogènes. Les caractéristiques (localisation cellulaire, activité enzymatique...) de certains d'entre eux sont résumées dans le *Tableau I*. Nous allons montrer, en suivant les différentes étapes de la transmission d'un signal mitotique

(figure 1), que les proto-oncogènes codent pour des protéines qui ont de multiples fonctions dans la vie de la cellule et dont le dérèglement est susceptible d'empêcher le bon déroulement du développement.

Oncogènes et contrôle de la croissance

L'événement initial de l'action des facteurs de croissance est de se fixer spécifiquement à un récepteur membranaire. La liaison du facteur de croissance à son récepteur entraîne l'induction de seconds messagers, intracytoplasmiques, qui transmettent le signal au noyau, où il provoque alors une modification des programmes génétiques en modulant l'abondance ou l'activité de facteurs transcriptionnels.

Oncogènes et facteurs de croissance. C'est en 1983 qu'il fut démontré pour la première fois qu'un oncogène pouvait coder pour une molécule impliquée dans le contrôle de la croissance : l'oncogène *v-sis*, porté par le virus sarcomateux du singe SSV et responsable de cancers variés chez cet animal, code pour une protéine qui a des analogies structurales et fonctionnelles avec le produit du gène cellulaire *c-sis* [1]. Or ce produit n'est autre que la chaîne B du facteur

Tableau I
ACTIVITÉ ET LOCALISATION DES PRODUITS DE QUELQUES PROTO-ONCOGÈNES

On peut schématiquement classer les proto-oncogènes en deux catégories : (a) les proto-oncogènes qui sont apparus dans des rétrovirus tels qu'*abl*, *erbA*, *erbB*, *fos*, *jun*, *myc*, *myb*, *Ha-ras*, *Ki-ras*, *sis*, *src*, etc. ; (b) les proto-oncogènes qui n'ont pas de contrepartie rétrovirale tels que *bcl*, *bcr*, *int1*, *int2*, *met*, *neu*, *N-myc*, *N-ras*, etc. Les protéines pour lesquelles ces deux groupes codent peuvent elles-mêmes être divisées en trois classes : (1) les protéines qui ont une activité kinase (c'est-à-dire capable de phosphoryler d'autres protéines) ; elles regroupent une majorité de proto-oncogènes incluant *erbB*, *neu*, *c-kit*, *src*, *fms*, *raf*... ; (2) les protéines qui participent probablement à la transmission des signaux extracellulaires, telles que les p21 codées par la famille des proto-oncogènes ras ; (3) les protéines qui ont des fonctions nucléaires telles que Fos, Myc, Myb, Jun, etc.

<i>c-onc</i>	Identité homologie ou taille	Localisation, distribution	Activité
I. Tyrosine-kinase et <i>c-onc</i> apparentés			
• <i>c-erb-B</i>	Récepteur EGF 170K	Membrane plasmique de nombreuses cellules	Liaison EGF-tyr. kinase
• <i>c-fms</i>	Récepteur CSF1 140 K	Membrane plasmique des macrophages et cellules extra-embryonnaires	Liaison CSF1-tyr. kinase
II. GTPases			
• <i>c-Ki-ras-2</i> • <i>c-Ha-ras-1</i> • <i>N-ras</i>	21 K	Partie cytoplasmique de la membrane plasmique de nombreuses cellules	Liaison GTP et GDP GTPase
III. Protéines nucléaires			
• <i>c-fos</i>	55K	Noyau de la plupart des cellules ; expression forte dans les cellules hématopoïétiques, macrophages et cellules extra-embryonnaires	Liaison indirecte ADN
• <i>c-myc</i> • <i>N-myc</i> • <i>L-myc</i>	62-64K	Noyau de la plupart des cellules	Liaison ADN
• <i>c-jun</i>	AP-1	Noyau	Liaison directe ADN
IV. Autres			
• <i>c-erb-A</i>	Récepteur hormone thyroïdienne	Cytoplasmique et nucléaire	Liaison thyroxine
• <i>c-sis</i>	Chaîne B du PDGF	Protéine sécrétée	Liaison récepteur du PDGF

D'après Adamson, 1987.

de croissance PDGF (*platelet derived growth factor*). *In vivo*, le SSV transforme des cellules qui ont le récepteur du PDGF ; les cellules ainsi transformées produisent un facteur de croissance qui se lie au récepteur du PDGF et ce faisant l'active, entraînant ainsi la production constitutive, c'est-à-dire permanente et auto-entretenu, d'un signal de croissance. Il faut noter que ce mécanisme de croissance qu'on appelle autocrine (par opposition au mécanisme paracrine où la cellule est stimulée par un facteur de croissance

produit par une autre cellule) pourrait agir également lors de la croissance cellulaire normale : l'analyse de l'expression du proto-oncogène *c-sis* au cours du développement suggère que le PDGF stimulerait la croissance des cellules cytotrophoblastiques du placenta humain durant une phase précise de l'embryogenèse [2].

Oncogènes et récepteurs de facteurs de croissance. Les oncogènes peuvent également coder pour des récepteurs de facteurs de croissance. L'étude de

l'oncogène *v-erbB* du virus de l'érythroblastose aviaire (AEV) en fut la première indication. Les rétrovirus contenant le gène *v-erbB* transforment sélectivement les cellules souches de la lignée rouge, provoquant ainsi une croissance non contrôlée d'érythroblastes immatures. Ces derniers peuvent néanmoins se différencier en globules rouges matures, mais leur maturation ne nécessite pas la présence d'érythropoïétine. Ceci suggère que les voies de transmission du signal normalement utilisées par les récep-

RÉFÉRENCES

6. De Vos AM, Tong L, Milburn MV, *et al.* Three dimensional structure of an oncogene protein : catalytic domain of human *c-H-ras* p21. *Science* 1988 ; 239 : 888-93.
7. Pawson T. Transcription factors as oncogenes. *TIG* 1987 ; 3 (12) : 333-4.
8. Varmus HE. Oncogenes and transcriptional control. *Science* 1987 ; 238 : 1337-9.
9. Rauscher III FJ, Sambucetti LC, Curran T, Distel RJ, Spiegelman BM. Common DNA binding site for Fos protein complexes and transcription factor AP-1. *Cell* 1988 ; 52 : 471-80.
10. Chiu R, Boyle WJ, Meek J, Smeal T, Hunter T, Karin M. The *c-fos* protein interacts with *cJun/AP-1* to stimulate transcription of AP-1 responsive genes. *Cell* 1988 ; 54 : 541-52.
11. Bos TJ, Bohmann D, Tsuchie H, Tjan R, Vogt P. *v-jun* encodes a nuclear protein with enhancer binding properties of AP-1. *Cell* 1988 ; 52 : 705-12.
12. Müller R. Proto-oncogenes and differentiation. *Trends Biochem Sci* 1986 ; 11 : 129-32.
13. Adamson ED. Oncogenes in development. *Development* 1987 ; 99 : 449-71.
14. Mercola M, Stiles C. Growth factor super-families and mammalian embryogenesis. *Development* 1988 ; 102 : 451-60.
15. Probst F, Rosenberg MP, Van de Woude GF. Proto-oncogene expression in germ cell development. *TIG* 1988 ; 4 (7) : 183-7.
16. Nusse R. The *int* genes in mammary tumorigenesis and in normal development. *TIG* 1988 ; 4 (10) : 291-5.
17. Rijsewijk F, Schuermann M, Wagenaar E, Parren P, Weigel D, Nusse R. The drosophila homolog of the mouse mammary oncogene *int-1* is identical to the segment polarity gene *wingless*. *Cell* 1987 ; 50 : 649-57.
18. Cabrera CV, Alonso MC, Johnston P, Phillips RG, Lawrence PA. Phenocopies induced with antisense RNA identify the *wingless* gene. *Cell* 1987 ; 50 : 659-63.
19. Chabot B, Stephenson DA, Chapman VM, Besmer P, Bernstein A. The proto-oncogene *c-kit* encoding a transmembrane tyrosine kinase receptor maps to the mouse *W* locus. *Nature* 1988 ; 335 : 88-9.
20. Geissler EN, Ryan MA, Housman DE. The dominant-white spotting (*W*) locus of the mouse encodes the *c-kit* proto-oncogene. *Cell* 1988 ; 55 : 185-92.
21. Compere SJ, Baldacci P, Jaenisch R. Studies of oncogenes in transgenic mice. *Biochim Biophys Acta* 1988 ; 948 : 129-49.

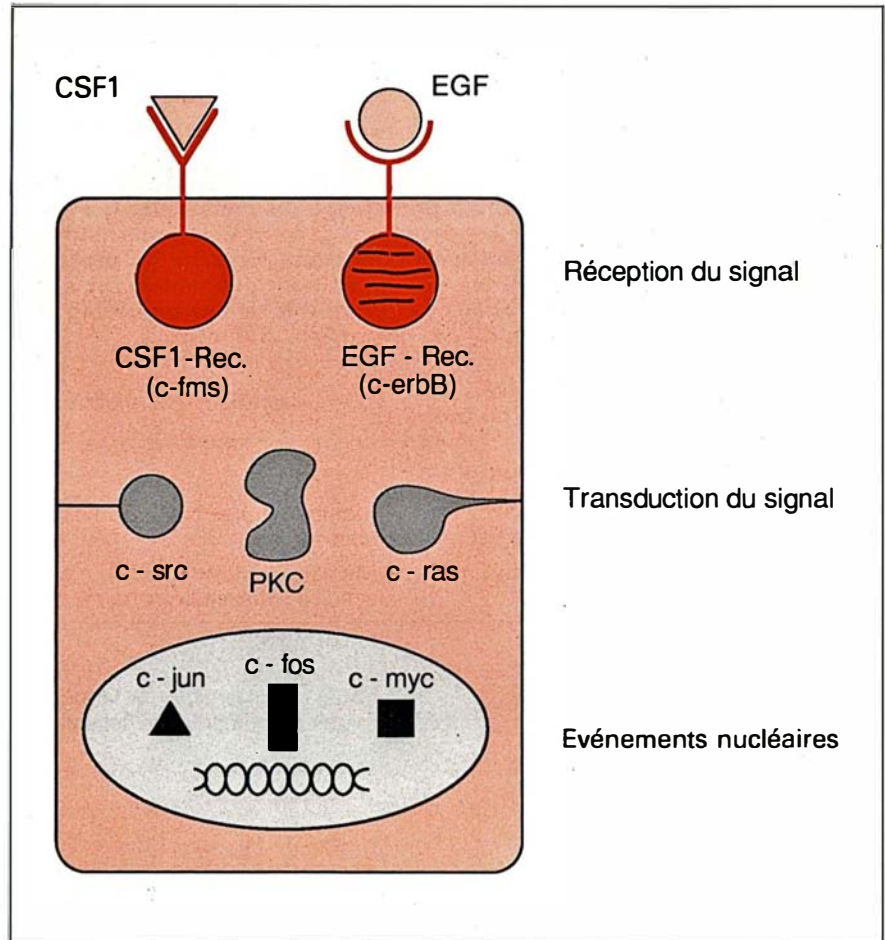


Figure 1. **Les différentes étapes de la transmission d'un signal mitotique.** PKC = protéine kinase C (d'après la couverture du livre cité dans [31]). CSF1 = colony stimulating factor 1, spécifique des macrophages.

teurs spécifiques de la lignée rouge, tels que le récepteur à l'érythropoïétine, sont constitutivement activées par le produit de l'oncogène *v-erbB*. La surprise fut de constater que ce dernier, la protéine GP74^{v-erbB}, est une version modifiée du récepteur à l'EGF (*epidermal growth factor*) [3]. Ce récepteur possède une activité tyrosine-kinase et peut également s'autophosphoryler. La fixation de ses ligands, l'EGF et le TGF alpha (*transforming growth factor alpha*, analogue de l'EGF) accroît considérablement l'activité kinase du récepteur. La GP74^{v-erbB} ne possède qu'une très courte région extracellulaire, qui ne lui permet pas de fixer l'EGF, et sa partie intracytoplasmique est légèrement tronquée (*figure 2B*); elle conserve néanmoins l'activité tyrosine-kinase et la capacité de s'auto-

phosphoryler. On ne sait pas encore très bien comment ces modifications peuvent provoquer l'activité oncogénique du récepteur [4].

Le cas de *v-erbB* n'est pas isolé, et d'autres gènes impliqués dans des phénomènes de transformation tumorale se sont avérés coder pour des protéines transmembranaires, riches en cystéines, possédant une activité tyrosine-kinase et susceptibles de fixer des facteurs de croissance, comme par exemple les gènes *c-fms*, *c-neu*, *c-kit*, etc. (*Tableau 1 et figure 2A*). Toutes ces molécules ont en commun la particularité de posséder une activité protéine-kinase qui est inductible par la fixation du ligand; c'est probablement par ce mécanisme que ces récepteurs transfèrent le signal à travers la membrane plasmique des cellules cibles.

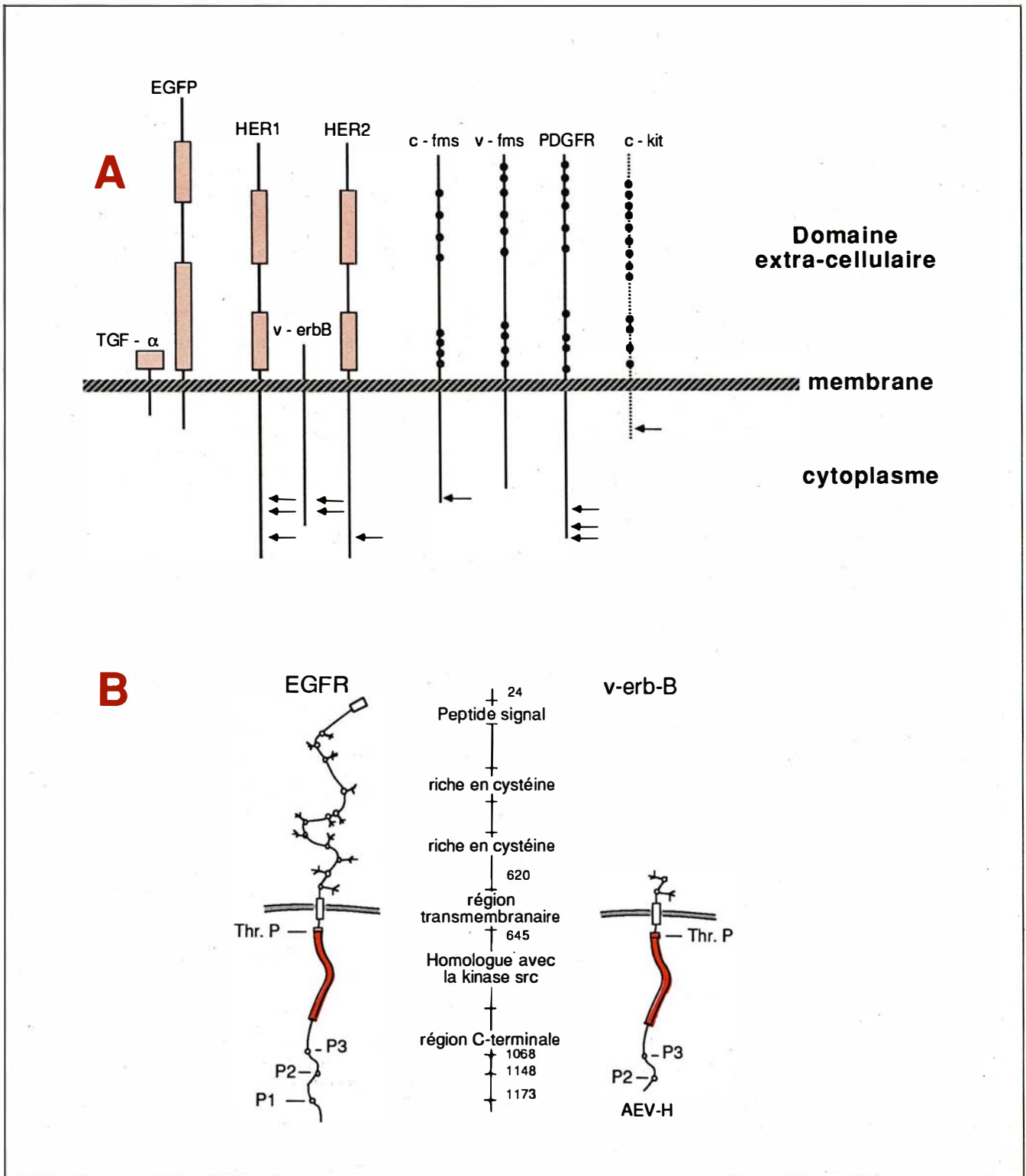


Figure 2. **A. Représentation schématique de quelques molécules transmembranaires riches en cystéine, de récepteurs qui ont une activité tyrosine-kinase et de produits d'oncogènes.** Les régions de forte concentration en cystéine sont colorées en rose ; les cercles noirs représentent les cystéines isolées. → représente les sites potentiels de phosphorylation des tyrosines ; EGFP = précurseur de l'EGF murin ; HER1 = récepteur de l'EGF humain 1 ; HER2 (encore appelé c-erb-B-2 ou c-neu) = récepteur de l'EGF humain 2 ; PDGFR = récepteur du PDGF (d'après [33]). La représentation de c-kit a été effectuée d'après [34]. **B. Comparaison schématique de la protéine V-erbB et du récepteur à l'EGF (EGFR).** P1, P2 et P3 sont des sites d'autophosphorylation ; P1, le site majeur d'autophosphorylation, est absent de la protéine modifiée V-erbB. (D'après [4]).

Oncogènes et transmission du signal. Une fois que le récepteur du facteur de croissance a été activé par sa liaison avec le ligand, le signal mitotique doit voyager du cytoplasme au noyau pour permettre la synthèse d'ADN et la division cellulaire. Il existe plusieurs voies de transmission du signal faisant intervenir des protéines transductrices du signal, des effecteurs et des « seconds messagers », qui servent en quelque sorte de relais d'information. Si l'on ne peut pas décrire la chronologie des événements qui aboutissent à l'arrivée du signal au noyau, on connaît néanmoins des mécanismes et des composants cellulaires qui jouent un rôle majeur dans la transmission du message. Parmi eux nous citerons :

(1) La phosphorylation, qui permet de moduler l'activité de protéines d'une façon rapide et réversible. Le fait que de nombreux proto-oncogènes et oncogènes codent pour des récepteurs de facteurs de croissance ayant une activité tyrosine-kinase et pouvant également s'auto-phosphoryler suggère que la phosphorylation joue un rôle important dans la réponse mitogénique. Stern *et al.* ont récemment confirmé cette hypothèse en démontrant qu'il y avait une augmentation globale du nombre de protéines phosphorylées dans les cellules transformées par la forme activée de la protéine p185^{neu} codée par le proto-oncogène *c-neu* [5].

(2) La stimulation du métabolisme des phosphatidylinositols (PI) dans la membrane (dont un des effecteurs pourrait être le proto-oncogène *c-src*), qui entraîne la production d'inositol triphosphate (IP₃) et de diacylglycérol (DG); ces derniers sont à leur tour responsables de l'augmentation du pH et de la concentration intracellulaire de Ca²⁺, ce qui a pour conséquence *in fine* de stimuler la transcription de certains gènes, dont les proto-oncogènes *c-myc* et *c-fos* (figure 3).

(3) Les G-protéines, qui appartiennent à la classe des molécules à fonction transductrice du signal. Ces protéines transmettent les signaux extracellulaires à des systèmes effecteurs variés, incluant l'adénylate

cyclase. L'interaction des G-protéines avec les enzymes effectrices est gouvernée non seulement par les récepteurs des hormones ou des facteurs de croissance, mais également par le GTP (guanosine triphosphate). La liaison au GTP permet aux G-protéines d'interagir avec les effecteurs appropriés. L'hydrolyse du GTP en GDP permet ensuite de bloquer l'activation du système. Étant donné qu'il existe une homologie de séquences entre une des sous-unités des protéines G et les proto-oncogènes de la famille *ras*, il se pourrait que les oncogènes *ras* participent également à la transduction des signaux mitotiques. Tout comme les protéines G, les protéines c-Ras normales sont associées à la membrane plasmique (cette localisation est indispensable à leur fonction); elles se lient au GTP et ont une activité GTPase. La forme Ras transformante est codée par un oncogène présent dans différentes souches de virus murins sarcomateux et dans une grande variété de tumeurs

humaines. Les protéines transformantes Ras se lient au GTP mais l'hydrolysent très peu. On ne sait pas actuellement comment les mutations qui caractérisent les protéines Ras modifiées confèrent aux p21^{ras} une activité transformante [6].

Oncogènes et facteurs de transcription

La régulation de l'expression des gènes s'effectue grâce à l'interaction de facteurs régulateurs agissant de façon positive (activateurs) ou négative (inhibiteurs) avec de multiples éléments ou séquences de l'ADN (promoteurs et/ou *enhancers*) généralement localisés en 5' des séquences codantes. Ces facteurs de transcription appartiennent à un réseau de protéines nucléaires dont l'expression conjointe ou successive permet la reprogrammation de l'expression génétique en réponse à des signaux extracellulaires.

Dans les minutes qui suivent la stimulation cellulaire par différents

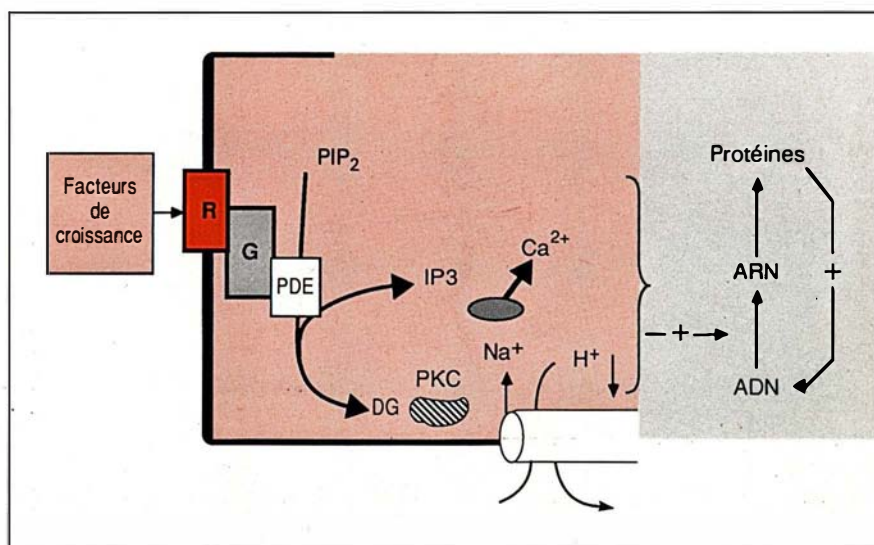


Figure 3. **Voie de transduction du signal par l'intermédiaire du phosphatidylinositol bisphosphate (PIP₂).** Un récepteur R est spécifiquement activé par un facteur de croissance. Une des G-protéines couple ce récepteur à la phosphodiestérase (PDE) qui hydrolyse le PIP₂ en inositol triphosphate (IP₃) et diacylglycérol (DG). Le DG, par l'intermédiaire de la protéine-kinase C (PKC) active l'échangeur Na⁺/H⁺, ce qui augmente le pH intracellulaire. L'IP₃ mobilise le calcium intracellulaire. L'augmentation du pH et du Ca²⁺ contribue à l'activation de la transcription et à la synthèse de protéines qui à leur tour provoquent la synthèse d'ADN (d'après [32]).

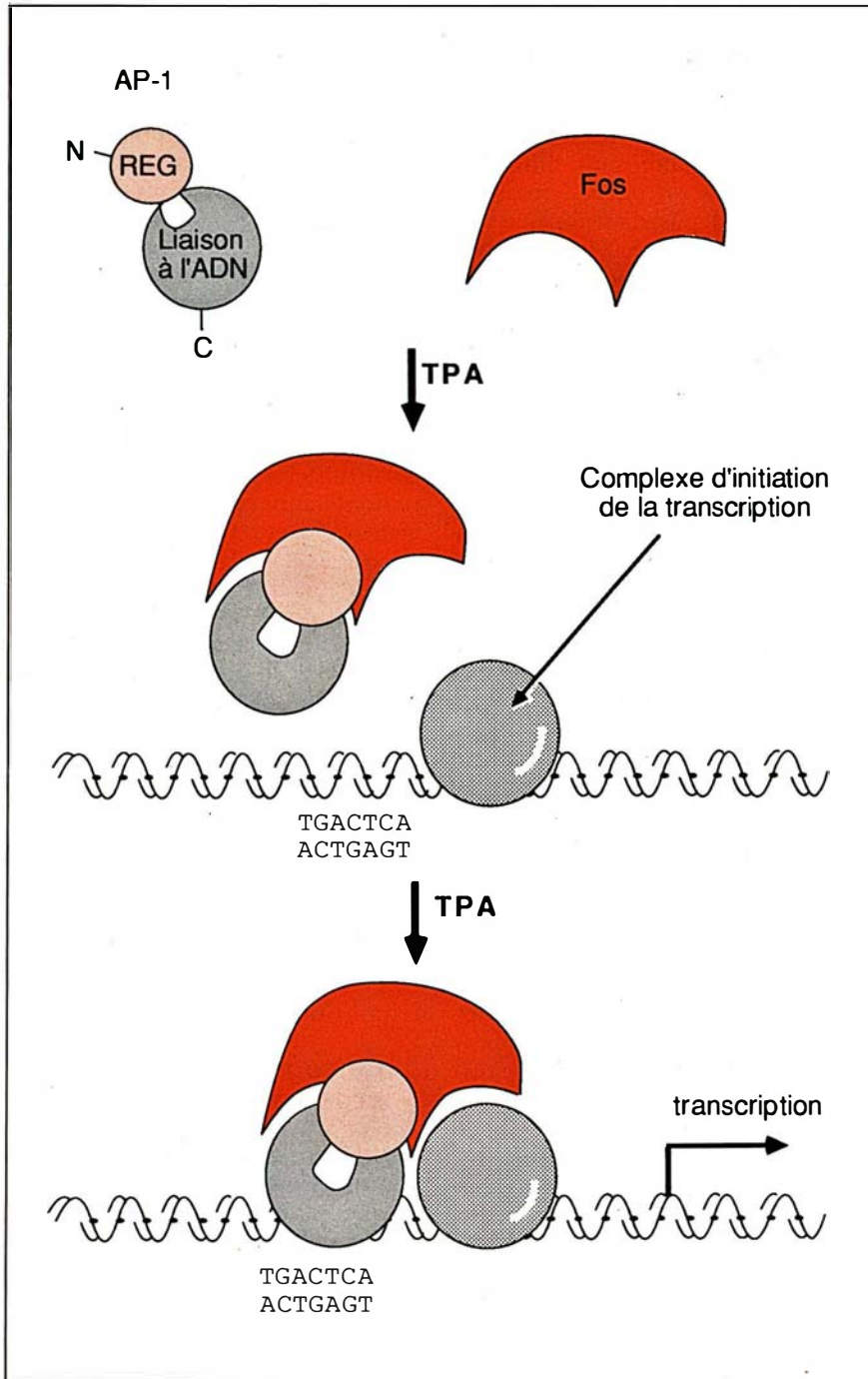


Figure 4. La protéine AP-1 possède deux domaines fonctionnels, l'un qui se fixe à l'ADN et l'autre qui interagit avec d'autres composants de la machinerie transcriptionnelle (indiqué par REG, pour « régulateurs »), tels que la protéine c-Fos. Après stimulation cellulaire (ici produite par l'ester de phorbol TPA), les protéines AP-1 et c-Fos s'associent pour former un complexe qui peut alors se fixer à l'ADN. La fixation se fait par l'intermédiaire du domaine spécifique de liaison à l'ADN de la protéine AP-1. Dans ce modèle, c'est la protéine c-Fos qui se lie à la machinerie transcriptionnelle. Alternativement, la protéine AP-1 pourrait interagir directement avec la machinerie transcriptionnelle, c-Fos servant alors à stabiliser la liaison AP-1-ADN. La séquence d'ADN reconnue par la protéine AP-1, le motif TGACTCA, est également reconnue par le produit de l'oncogène c-jun (d'après [10]).

m/s n° 1 vol. 5, janvier 89

facteurs (sérum, agents mitotiques, facteurs de croissance), on observe un pic de synthèse d'ARN qui se traduit par l'apparition d'un grand nombre de transcrits dont les transcrits des proto-oncogènes *c-myc* et *c-fos*. Il y a quelques années, l'hypothèse suivante avait été formulée: les protéines *c-myc* et *c-fos* nouvellement synthétisées seraient capables d'activer sélectivement la transcription de certains gènes en se fixant spécifiquement à leurs séquences régulatrices. Les travaux entrepris sur la protéine c-Fos et les protéines qui lui sont associées confirment cette hypothèse, tout en montrant que le mécanisme de fixation et d'activation transcriptionnelle est complexe [7, 8]: la protéine c-Fos ne se lie pas directement à l'ADN; elle le fait par l'intermédiaire d'autres protéines, en particulier la protéine AP-1 (pour *activator protein 1*). Celle-ci reconnaît une séquence nucléotidique particulière et active la transcription des gènes qui possèdent cette séquence dans leurs régions régulatrices (figure 4 et [9, 10]). Grâce à l'isolement par Vogt *et al.* d'un nouvel oncogène, *v-jun*, dont le produit se fixe spécifiquement à l'ADN, il a été montré récemment que la protéine AP-1 n'était autre que le produit de l'oncogène cellulaire *c-jun* [11]. Ces études montrent clairement le rôle que peuvent jouer les proto-oncogènes dans la régulation de la transcription et comment la modification d'éléments régulateurs transcriptionnels peut aboutir à la transformation.

Oncogènes et développement

Du fait de leur implication dans les processus de prolifération et/ou de différenciation cellulaire et de leur conservation à travers l'évolution, il était tentant de penser que les oncogènes pouvaient participer aux processus normaux du développement. De nombreux laboratoires se sont lancés dans l'analyse de l'expression des proto-oncogènes au cours de la différenciation *in vitro* de différents types cellulaires (types neuronal, hématopoïétique et cellules de tétocarcinome) ainsi qu'au cours du développement dans l'embryon et les annexes embryonnaires [12-14]. Les

RÉFÉRENCES

22. Sinn E, Müller W, Pattengale P, Tepler I, Wallace R, Leder P. Coexpression of *MMTV/v-Ha-ras* and *MMTV/c-myc* genes in transgenic mice: synergistic action of oncogenes *in vivo*. *Cell* 1987; 49: 465-75.
23. Quaife CJ, Pinkert CA, Ornitz DM, Palmiter RD, Brinster RL. Pancreatic neoplasia induced by ras expression in acinar cells of transgenic mice. *Cell* 1987; 48: 1023-34.
24. Müller WJ, Sinn E, Pattengale PK, Wallace R, Leder P. Single step induction of mammary adenocarcinoma in transgenic mice bearing the activated *c-neu* oncogene. *Cell* 1988; 54: 105-15.
25. Williams RL, Courtneidge SA, Wagner EF. Embryonic lethality and endothelial tumors in chimeric mice expressing polyoma virus middle T oncogene. *Cell* 1988; 52: 121-31.
26. Rüther U, Garber C, Komitowski D, Müller R, Wagner EF. Deregulated *c-fos* expression interferes with normal bone development in transgenic mice. *Nature* 1987; 325: 412-6.
27. Rüther U, Müller W, Sumida T, Tokuhisa T, Rajewsky K, Wagner EF. *c-fos* expression interferes with thymus development in transgenic mice. *Cell* 1988; 53: 847-56.
28. Khillan JS, Oskarsson MK, Probst F, Kuwabara T, Van de Woude GF, Westphal H. Defects in lens fiber differentiation are linked to *c-mos* overexpression in transgenic mice. *Genes Dev* 1987; 1: 1327-35.
29. Adams JM, Harris AW, Pinkert CA, et al. The *c-myc* oncogene driven by immunoglobulin enhancers induces lymphoid malignancy in transgenic mice. *Nature* 1985; 318: 533-8.
30. Klinken SP, Alexander WS, Adams JM. Hemopoietic lineage switch: *v-raf* oncogene converts E μ -myc transgenic B cells into macrophages. *Cell* 1988; 53: 857-67.
31. Kahn P, Graf T. *Oncogenes and growth control*. New York: Springer-Verlag, 1986.
32. Berridge MJ. Inositol lipids and cell proliferation. In: Kahn P, Graf T, eds. *Oncogenes and Growth Control*. New York: Springer-Verlag, 1986: 147-53.
33. Pfeffer S, Ullrich A. Structural relationships between growth factor precursors and cell surface receptors. In: Kahn P, Graf T, eds. *Oncogenes and Growth Control*. New York: Springer-Verlag, 1986: 70-6.
34. Qiu F, Ray P, Brown K, et al. Primary structure of *c-kit*: relationship with the CSF-1/PDGF receptor kinase family — oncogenic activation of *v-kit* involves deletion of extracellular domain and C terminus. *EMBO J* 1988; 7 (4): 1003-11.
- résultats de ces expériences ne sont encore, dans la majorité des cas, que qualitatifs : ils montrent essentiellement que les profils d'expression des oncogènes au cours du développement embryonnaire sont différents pour différents oncogènes, mais ils ne permettent pas d'attribuer à un type cellulaire particulier l'expression observée. Néanmoins, dans les études récentes, où des techniques complémentaires et sensibles ont été utilisées, les résultats sont encourageants : c'est ainsi, par exemple, que l'étude de l'expression des proto-oncogènes au cours des étapes successives de la différenciation des cellules germinales a permis de montrer que : (1) la fenêtre d'expression de certains proto-oncogènes est très étroite; (2) que leur expression est séquentielle; (3) que la taille des transcrits d'un proto-oncogène donné est différente dans les cellules germinales haploïdes et les cellules somatiques et (4) qu'elle varie selon qu'il s'agit du testicule ou de l'ovaire [15]. L'ensemble de ces données, bien que non directement démonstratif, suggère très fortement un rôle fonctionnel des proto-oncogènes au cours de la gamétogenèse.
- La preuve ultime qu'un proto-oncogène joue un rôle précis dans le développement serait d'obtenir des mutants de ce gène entraînant l'absence ou la modification de son produit et, corrélativement, un développement anormal. De deux études récentes, l'une nous rapproche de ce but, l'autre paraît bien l'avoir atteint. La première concerne l'oncogène *int-1* qui est un des oncogènes cellulaires activés par l'insertion du virus MMTV (*mouse mammary tumor virus*) dans les tumeurs mammaires de la souris (pour une revue sur les oncogènes *c-onc int*, voir [16]). Au cours du développement de la souris, ce gène est transcrit dans le système nerveux des embryons âgés de 9 à 14 jours. Chez l'adulte, il est exprimé uniquement dans les spermatides. Rijsewijk et al. ont montré récemment qu'un gène de segmentation de la drosophile, le gène *wingless*, était l'homologue du gène *int-1* de la souris [17]. Or on sait, grâce à des mutations du gène *wingless* et également à des expériences utilisant des ARN *wingless* anti-sens [18], que ce gène a une fonction dans la morphogénèse
- de la mouche. Il est donc hautement probable, compte tenu de la très forte homologie entre les protéines *Wingless* et *Int-1*, que cette dernière remplit une fonction morphogénétique chez la souris.
- La deuxième étude concerne les mutations *W* de la souris, qui intriquent depuis fort longtemps les embryologistes. Ces mutations, généralement létales à l'état homozygote, ont une action pléiotropique puisqu'elles perturbent la formation des cellules souches des trois lignées cellulaires qui donnent naissance aux cellules pigmentaires, sanguines et germinales. Deux séries d'expériences viennent de démontrer que le gène *W* n'est autre que le proto-oncogène *c-kit*. D'une part, la mutation *W^{19H}*, qui est une délétion, ne contient pas le gène *c-kit* [19]; d'autre part, chez deux autres mutants, *W⁴⁴* et *W^X*, le produit du gène *c-kit* est modifié [20]. Ces données permettent donc, de manière directe, pour la première fois chez un mammifère, d'impliquer le produit d'un proto-oncogène dans un processus du développement. Il reste à comprendre comment *c-kit*, qui code pour une protéine transmembranaire possédant une activité kinase (apparentée aux récepteurs du PDGF et du CSF-1, *colony stimulating factor 1*), remplit une fonction aussi cruciale.

Oncogènes et transgénèse

Le développement récent de la « transgénèse », ou fabrication d'animaux transgéniques, offre les moyens d'étudier *in vivo*, dans le temps, c'est-à-dire au cours du développement, et dans l'espace, c'est-à-dire dans un organe ou un tissu particulier, la fonction des oncogènes. Les animaux transgéniques sont des animaux qui ont intégré dans toutes les cellules de leur organisme une nouvelle séquence d'ADN introduite expérimentalement durant l'embryogenèse précoce. A l'heure actuelle, plusieurs dizaines de lignées de souris transgéniques ont été construites qui ont intégré dans leur génome différents oncogènes cellulaires ou viraux dont l'expression dépend soit de leurs propres promoteurs, soit de promoteurs hétérologues [21]. Ces animaux permet-

m/s n° 1 vol. 5, janvier 89

tent d'analyser les conséquences biologiques de l'expression anormale des oncogènes ; expression anormale dans la mesure où, grâce à l'inclusion de séquences régulatrices appropriées, éventuellement inductibles, elle peut être sélectivement dirigée dans un ou des tissus spécifiques et/ou modulée durant le développement. Les conclusions que l'on peut actuellement tirer de l'étude de ces différentes lignées sont les suivantes : (1) suivant les tissus dans lesquels ils sont exprimés, différents oncogènes ont des pouvoirs transformants distincts : le spectre tissulaire d'action d'un oncogène donné lui est caractéristique ; (2) exception faite des quelques cas que nous verrons plus loin, les oncogènes prédisposent, mais ne sont pas suffisants, à la formation et au développement de la tumeur. La preuve en est donnée par la période de latence observée pour la formation de la tumeur, par le fait que les cellules qui expriment l'oncogène ne sont pas toutes transformées et enfin par le caractère clonal des tumeurs ; (3) les produits de différents oncogènes peuvent coopérer ; leur interaction aboutit à l'accélération de l'apparition de la tumeur dont l'origine reste néanmoins monoclonale [22].

Cependant, dans de rares cas, il semble que l'expression d'un oncogène soit suffisante pour provoquer l'apparition d'un cancer dans l'organe dans lequel cet oncogène s'exprime : des tumeurs massives impliquant toutes les cellules acinaires ont été observées dans le pancréas de souris, exprimant la forme activée de l'oncogène *ras* (*EJ-ras*) sous contrôle des séquences régulatrices, spécifiques du pancréas, du gène de l'élastase [23]. De même, l'induction en une seule étape d'adénocarcinomes mammaires a été observée chez les souris transgéniques MMTV-*c-neu* qui expriment l'oncogène activé *c-neu* dans la glande mammaire [24]. Enfin l'expression de l'oncogène *mt* (moyen T) du virus de polyome dans les cellules endothéliales du sac vitellin empêche le développement à terme des embryons transgéniques correspondants [25], en provoquant la formation de tumeurs des cellules endothéliales.

En dehors de leur utilisation pour tester le pouvoir transformant d'un

oncogène et comprendre les processus séquentiels qui aboutissent à l'apparition d'une tumeur, les souris transgéniques peuvent également servir à déterminer quelle est la fonction normale d'un proto-oncogène. Si ce but est encore loin d'être atteint, l'étude des souris transgéniques exprimant les proto-oncogènes *c-fos* [26, 27], *c-mos* [28] et *c-myc* [29, 30] laisse prévoir un rôle de ces proto-oncogènes respectivement dans le développement de l'os et du thymus, dans celui du cristallin et enfin dans la différenciation des cellules de l'hématopoïèse.

Conclusion

Nous avons vu que les oncogènes codaient pour des molécules impliquées dans les processus fondamentaux de la vie cellulaire, la croissance, la prolifération, et la différenciation et qu'ils contribuaient ainsi au développement harmonieux d'un organisme. Cependant, si la fonction de certains oncogènes est bien connue, l'activité et le rôle biologiques de la majorité d'entre eux restent à élucider, d'autant plus que nous sommes certainement encore loin d'en avoir dressé la liste complète. Il est actuellement concevable que tout gène codant pour un facteur de croissance (extracellulaire), un récepteur (membranaire) d'un facteur de croissance, un messager secondaire du signal (cytoplasmique) ou encore une protéine impliquée dans la régulation de la transcription (nucléaire) soit un proto-oncogène. La voie d'approche, pratiquée depuis une dizaine d'années, qui consiste à étudier les mécanismes qui aboutissent à la transformation maligne dans les cancers induits par des rétrovirus ou par des carcinogènes est d'une importance capitale. En effet, elle permet non seulement d'isoler de nouveaux oncogènes, mais également d'identifier leurs homologues cellulaires et d'éclaircir le rôle qu'ils peuvent jouer dans des processus biologiques normaux. Le développement récent de la transgénèse permet de franchir une nouvelle étape en apportant l'outil indispensable à l'étude *in vivo* au cours de l'embryogenèse et dans différents tissus de la fonction de ces molécules ■

Summary

In the past few years, it has been realized that a number of genes whose products are involved in regulating normal cell growth and development are also capable of inducing malignancy. These genes are called oncogenes and include: (1) the cellular oncogenes (*c-onc*) or proto-oncogenes and (2) the viral oncogenes (*v-onc*) which are most probably derived from *c-onc* and which are the transforming genes of several strains of animal retrovirus. The retroviruses *c-onc* are present in the genome of all vertebrate cells and show a remarkable degree of evolutionary conservation, suggesting that they serve essential cellular functions. The analysis of the biological properties of both types of oncogenes is of importance for an understanding of the role of proto-oncogenes in normal cell proliferation and/or differentiation and development and how alterations in their structure play a role in malignant transformation. In order to get an insight into the diversity of their activities, we describe several oncogene products which are involved either in growth control, signal transduction, gene expression or development. We also present recent results obtained with transgenic mice which provide some clues as to their transforming spectrum and their normal function in the living animal.

TIRÉS A PART

D. Morello.