

■■■■ **Les mécanismes distincts de l'instabilité génétique dans des lignées de cancers coliques.** L'instabilité génétique est l'un des phénomènes centraux de la progression tumorale, expliquant aussi bien l'accumulation d'anomalies génétiques dans les cellules malignes que l'émergence de clones résistants aux différents traitements anticancéreux. Dans le cancer du côlon, cette instabilité génétique prend parfois la forme d'une labilité des séquences microsatellites (phénotypes mutateurs), notamment en rapport avec des mutations de gènes de réparation des mésappariements [1] (*m/s n° 8, vol. 11, p. 1176; m/s n° 2, vol. 13, p. 275*). Dans d'autres cas, on n'observe pas cette instabilité des microsatellites mais des remaniements chromosomiques nombreux, avec aneuploïdie. Lengauer *et al.*, du laboratoire de Vogelstein ont étudié sur plusieurs générations 8 lignées cellulaires dérivées de cancers du côlon; elles pouvaient clairement être divisées en deux groupes, avec instabilité chromosomique (CIN) ou avec instabilité des microsatellites (MIN). Chose remarquable, il n'existait pas de chevauchement entre ces deux phénotypes; c'est-à-dire que les lignées aneuploïdes ne présentaient pas d'instabilité des microsatellites alors que les lignées de phénotypes MIN étaient presque diploïdes. Suivies pendant un grand nombre de divisions, les lignées MIN restaient diploïdes alors que les remaniements chromosomiques et l'aneuploïdie évoluaient très rapidement dans les lignées CIN. L'instabilité chromosomique des lignées CIN ne semblait pas la conséquence de l'aneuploïdie, mais bien plutôt sa cause. En effet, la création d'une aneuploïdie par fusion de cellules MIN aboutissait à la formation de caryotypes à peu près tétraploïdes... mais stables. L'instabilité des microsatellites étant récessive, liée au déficit en enzymes de réparation des mésappariements, la fusion d'une cellule CIN avec une cellule MIN permet de corriger cette instabilité.

En revanche, le phénotype CIN d'instabilité chromosomique est dominant, et se propage donc aux chromosomes de la cellule MIN fusionnée avec une cellule CIN [2]. Par conséquent, l'instabilité chromosomique avec aneuploïdie semble être secondaire à un défaut moléculaire intrinsèque associé aux cellules tumorales coliques sans instabilité des microsatellites. Deux types d'instabilités distincts peuvent donc être observés au cours de la cancérogenèse colique: l'instabilité chromosomique, dominante; et l'instabilité des microsatellites, récessive. L'une et l'autre forme d'instabilité génétique peuvent conduire aux mêmes altérations des anti-oncogènes *APC* et *P53*.

[1. Thomas G. *Med Sci* 1995; 11: 336-48.]

[2. Lengauer C, *et al. Nature* 1997; 386: 623-7.]

■■■■ **Un anti-oncogène qui pourrait interagir avec le cytosquelette et avoir une activité de tyrosine-phosphatase.** En un sprint effréné, deux équipes américaines viennent d'isoler un nouveau gène suppresseur de tumeur localisé sur le chromosome 10 (en 10q23) qui pourrait être altéré dans de nombreuses tumeurs, notamment des cancers du sein, de la prostate et des glioblastomes. L'équipe de Ramon Parsons (Université Columbia, New York, USA) utilise une méthode destinée à caractériser des marqueurs de l'ADN génomique retrouvés de façon différentielle dans des échantillons tumoraux (ici des cancers du sein) et non tumoraux [1]. Peter Steck (Houston, TX, USA) en collaboration avec la firme Myriad Genetics commencèrent, quant à eux, leur étude par des expériences de complémentation, c'est-à-dire de caractérisation des fragments du chromosome 10 capables d'inhiber la tumorigénicité de cellules gliomateuses en culture [2]. Ensuite,

lorsque les deux équipes furent proches du but, apprenant mutuellement qu'elles étaient en concurrence, elles mirent en œuvre, jour et nuit, tout l'arsenal classique des méthodes de la génétique inverse pour aboutir, *in fine*, à l'isolement d'un même gène dénommé *PTEN* (*phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10*) par le groupe de Parsons et *MMAC1* (*mutated in multiple advanced cancers 1*) par le groupe de Steck. Comme l'indique l'appellation *PTEN*, la protéine pour laquelle code ce gène a un domaine de type tyrosine phosphatase et présente des similitudes importantes avec la tensine, une protéine qui interagit avec les filaments d'actine au niveau des plaques d'adhérences focales. Les deux équipes analysèrent alors différents échantillons tumoraux, provenant de cellules en culture, de tumeurs humaines greffées chez la souris *nude* ou de pièces d'exérèse, pour la présence de délétions, mutations avec décalage de phases de lecture, mutations non-sens ou faux-sens. Quoique la totalité de la séquence codante ne soit pas testée pour la présence des mutations ponctuelles, les résultats suggèrent la très fréquente implication de ce gène dans les tumeurs humaines de la prostate, les glioblastomes et les tumeurs mammaires. En particulier, des mutations ou délétions homozygotes ou hémizygotiques furent observées dans la quasi totalité des lignées cellulaires dérivées de cancer de la prostate et dans la majorité de celles dérivées de glioblastomes. Dans ce dernier cas, des mutations furent également notées dans 17% des glioblastomes primaires. L'action précise que ce nouvel anti-oncogène n'est évidemment pas encore connue mais on peut supposer qu'il intervient dans le contrôle des signaux engendrés par des facteurs de croissance et aboutissant à un remodelage du cytosquelette, phénomène essentiel au cours de la transformation cellulaire et de la dissémination tumorale. La protéine *PTNE/MMAC1* pourrait

déphosphoryler certaines cibles des tyrosines kinases activées par des facteurs de croissance, et sa similitude avec la tensine laisse supposer qu'elle pourrait être localisée au niveau du cytosquelette. Quoique la recherche de l'implication des altérations de ce nouveau gène dans les cancers humains ne fasse que commencer, les premiers résultats suggèrent qu'il pourrait jouer un rôle très important au cours de la cancérisation humaine, du même ordre que celui joué par *P53*, *RB* et *P16^{INK4A}*. En particulier, si les premières données rapportées se confirment, ce gène pourrait être impliqué, en particulier, dans la cancérogenèse prostatique, problème évidemment majeur puisque le cancer de la prostate est l'un des cancers masculins les plus fréquents, après le cancer du poumon, des voies digestives et aériennes supérieures et du côlon. Il pourrait affecter jusqu'à un homme sur 2 à 300.

[1. Li J, *et al. Science* 1997; 275: 1943-7.]

[2. Steck P, *et al. Nature Genet* 1997; 15: 356-62.]

■■■ **Editing, traduction et transformation.** Chez les mammifères, le phénomène d'*editing* du messenger de l'apolipoprotéine B (apoB) est maintenant bien connu. Le messenger de 14kb subit une réaction de désamination dans certains tissus, avant tout l'intestin, changeant la cytidine 6666 en uridine, c'est-à-dire un codon glutamine CAA en codon stop UAA. La protéine tronquée ainsi engendrée correspond aux 48 % amino-terminaux de la protéine normale (apoB48). L'ADNc codant pour l'une des sous-unités de l'enzyme responsable de cet *editing* a été cloné : son produit peut se lier à l'ARN, en des sites d'amarrage situés environ 5 bases en aval des cytidines désaminées; de plus, cette protéine a une activité de cytidine

désaminase. S. Yamanaka *et al.* (San Francisco, CA, USA) ont créé des souris transgéniques chez lesquelles l'enzyme responsable de l'*editing*, appelé APOBEC-1 (*apoB mRNA-editing catalytic subunit polypeptide 1*) est très activement synthétisée dans le foie. De manière très surprenante, ces animaux développent une dysplasie hépatique et un hépatocarcinome détectable dès le 21^e jour de vie [1]. Afin de comprendre les bases moléculaires de ce phénomène, les auteurs ont utilisé une technique originale consistant à amplifier par PCR les messagers d'un animal transgénique et non transgénique, en utilisant comme amorces une séquence complémentaire du site d'amarrage et des oligonucléotides aléatoires. Ainsi, les auteurs espéraient spécifiquement amplifier des séquences correspondant à des messagers possédant ces sites d'amarrage. Ils utilisaient, en outre, des amorces devant reconnaître des séquences possédant, soit une cytidine, soit une thymidine en amont du site d'amarrage. Ainsi, par comparaison après migration sur gel, il fut possible de détecter des bandes spécifiquement amplifiées chez les animaux transgéniques. L'une d'entre elles correspond à une protéine appelée NAT1 (*novel APOBEC-1 target no.1*). La protéine NAT1 appartient à la famille des facteurs de démarrage de la traduction eIF. Le facteur eIF-4F est formé d'un complexe entre eIF-4G, eIF-4E et eIF-4A, et il active la traduction après fixation à la coiffe des ARN messagers eucaryotes. La protéine NAT1, quant à elle, est capable de titrer eIF-4A, l'empêchant ainsi de participer au complexe fonctionnel de démarrage de la traduction eIF-4F. La protéine NAT1 est donc un puissant inhibiteur naturel de la traduction. Chez les souris transgéniques synthétisant la protéine APOBEC-1 dans le foie, NAT1 a subi un *editing* de multiples cytidines en uridines, et est donc vraisemblablement inactivée. Cette dérégulation de la traduction peut aboutir à la synthèse en quantité

exagérée d'oncogènes, comme cela avait d'ailleurs déjà été démontré puisque la surexpression cellulaire de eIF-4E a également un pouvoir transformant (*m/s n° 7, vol. 6, p. 688; n° 9, vol. 8, p. 1001*). Il est probable que dans un tissu normal, avec une faible activité APOBEC-1, le messenger NAT1 n'est pas modifié car les sites d'amarrage de la protéine éditrice ne sont pas cano- niques. En revanche, il existe plusieurs sites cryptiques d'amarrage dans la séquence NAT1 qui peuvent être utilisés en cas de surexpression de l'enzyme APOBEC-1.

[1. Yamanaka S, *et al. Genes Dev* 1997; 11: 321-33.]

■■■ **Implication directe de Bax comme suppresseur de tumeur par induction de l'apoptose.** Le phénomène de l'apoptose ou mort programmée de la cellule [1] s'avère être un mécanisme important dans la maîtrise de la croissance de la cellule tumorale [2]. Dans ce processus la protéine p53 joue un rôle pivot: ainsi, les dommages de l'ADN provoquent l'arrêt du cycle cellulaire et des dommages sérieux entraînent l'apoptose sous l'effet de la p53. Des mutations de la p53 sont observées dans 50 % de tous les cancers humains [3]. La p53 est un facteur de transcription qui reconnaît une séquence 5'PuPuPuC(A/T)(T/A)GPyPyPy3': parmi les gènes disposant de cette séquence dans leur région promotrice et sensibles à la transactivation par p53 figurent le gène de la p21^{Cip1}, un inhibiteur de l'activité kinasique des cyclines/cdk et le gène *Bax*. Or la protéine Bax est une molécule qui intervient dans l'induction de l'apoptose. Bax peut s'hétéromériser avec Bcl-2 ou former des homodimères Bax/Bax (*m/s n° 11, vol. 9, p. 1268; n° 4, vol. 11, p. 635*). Ce serait l'équilibre entre ces deux complexes qui déterminerait le devenir de la cellule [4]: un dimère majoritaire Bcl2/Bax

protège de l'apoptose alors que le dimère Bax/Bax l'induit. Cependant le rôle direct de Bax n'avait pas encore pu être déterminé de façon claire. L'équipe de T. Van Dyke (Chapel Hill, NC, USA) en collaboration avec celle de S.J. Korsmeyer (Saint-Louis, MI, USA) [5] ont utilisé des souris exprimant un trans-gène muté T de SV40 codant pour une molécule tronquée capable de ne reconnaître que la protéine Rb mais pas la p53, ce qui provoque le développement de tumeurs du cerveau (souris T121). L'inactivation de la p53 par invalidation (*knock-out*) du gène (souris T121 $p53^{-/-}$) aboutit à une accélération dramatique du développement de la tumeur et à une réduction de 90 % de l'apoptose. Dans les tumeurs qui prolifèrent lentement, les auteurs observent l'expression de *Bax*. Il est alors constaté que la destruction du gène *Bax* chez les souris développant la tumeur (souris T121 $Bax^{-/-}$) en accélère la croissance de 50 % et réduit de 50 % également la fréquence des cellules en apoptose. Il apparaît donc que *Bax* peut fonctionner comme un suppresseur de tumeur. A la connaissance des auteurs, ces résultats constituent la première indication directe qu'*in vivo* un gène cible de la p53, comme *Bax*, est impliqué dans l'apoptose dépendante de p53. Toutefois, les auteurs insistent sur le fait que l'inactivation de *Bax* ne réduit l'apoptose que de 50 % alors que celle de p53 la réduit de 90 %. Reste à déterminer si la protéine Bax se situe bien immédiatement en aval de p53 et quelle est l'autre voie, indépendante de Bax, qui est normalement dépendante de p53.

- [1. Kahn A, Briand P. *Med Sci* 1993; 9: 663-5.]
 [2. Solary E, et al. *Med Sci* 1993; 9: 667-75.]
 [3. Soussi T, Lacronique V. *Med Sci* 1996; 12: 215-21.]
 [4. Yang E, Korsmeyer SJ. *Blood* 1996; 88: 386-401.]
 [5. Yin CY, et al. *Nature* 1997; 385: 637-40.]

■■■■ **Vieillir ou mourir pour ne pas devenir cancéreux : phénotype sénescence induit par la protéine Ras activée.** Nos lecteurs sont familiers avec plusieurs concepts reliant la transformation maligne, la sénescence et l'apoptose. L'apoptose est une réaction physiologique à l'induction abortive d'une croissance anormale, et peut ainsi être provoquée par une activation asynchrone de Myc et de Ras [1] (*m/s n° 8-9, vol. 10, p. 912*). D'une certaine manière, en culture, les cellules n'ont guère que ces trois possibilités-là : être transformées, et devenir immortelles ; mourir d'apoptose ; ou cesser progressivement de se diviser par sénescence. De ce fait, nous avons depuis longtemps proposé l'hypothèse que certains des mécanismes de la sénescence devaient impliquer l'activation d'anti-oncogènes (*m/s n° 4, vol. 1, p. 203 et n° 5, vol. 12, p. 658*). Une belle illustration de ce phénomène vient d'être apportée par Serrano et al. (Cold Spring Harbor, NY, USA). Ces auteurs viennent de montrer en effet que l'introduction dans différents types de cellules non transformées d'un vecteur d'expression pour une protéine Ras oncogénique entraînait un arrêt prolongé des divisions cellulaires et l'apparition de stigmates phénotypiques de sénescence [2]. Ce phénotype semble associé à l'accumulation anormale de deux produits d'anti-oncogènes, p53 et p16^{INK4A}. Rappelons aux lecteurs distraits que p16 est un inhibiteur de protéine kinases liée au cycle cellulaire (particulièrement Cdk4) [3]. L'accumulation conjointe de ces deux protéines anti-oncogéniques est indispensable à l'établissement du phénotype sénescence car des cellules dérivées de souris mutantes déficientes, soit en p53, soit en p16^{INK4A} sont transformées par un vecteur d'expression commandant la synthèse de Ras activée. Ainsi, le phénotype sénescence, comme l'apoptose, semblent être des moyens physiologiques de contre-carrer une activation sinon oncogé-

nique d'un gène capable de stimuler la prolifération cellulaire. Cela explique aussi pourquoi les mutations inactivatrices des gènes *P53* et *P16^{INK4A}* sont si fréquentes dans les cancers humains puisque l'une ou l'autre pourrait être indispensable à la progression de très nombreuses tumeurs.

- [1. Kahn A, Briand P. *Med Sci* 1993; 9: 663-5.]
 [2. Serrano M, et al. *Cell* 1997; 88: 593-602.]
 [3. Darbon J, et al. *Med Sci* 1995; 11: 349-56.]

13^e TABLE RONDE INTERNATIONALE

Nucléosides, nucléotides et leurs applications biologiques

6-10 septembre 1998

Le Corum-Montpellier
France

**Présidents
du Comité d'organisation**

Drs Gilles Gosselin et Bernard Raynier

Comité consultatif international

D.H.R. Barton (USA)

G.B. Elion (USA)

C. Hélène (France)

M. Ikehara (Japon)

A.A. Krayevski (Russie)

J.M. Lehn (France)

P. Potier (France)

D. Shugar (Pologne)

Renseignements

Marie-Christine Bergogne,
secrétariat de la 13^e Table Ronde,
Université de Montpellier II,
case courrier 008, place E.-Bataillon,
34095 Montpellier Cedex 5, France

Tél : 33 04 67 14 38 55

Fax : 33 04 67 04 20 29

e-mail: irt@univ.montp2.fr, http://www.univ-montp2.fr/colloque.html