

diminué d'intensité après un an, or tout est rentré dans l'ordre après 1987. Surtout, ces résultats reposent sur 12 cas de leucémie infantile dont le défaut génétique n'est pas (encore) précisé. Comme tout travail d'épidémiologie, il ne prendra sa signification entière que lorsque des études analogues auront été rapportées. A l'heure actuelle, la responsabilité d'une irradiation pendant la vie intra-utérine dans les leucémies infantiles demeure une hypothèse ■

RÉFÉRENCES

1. Petridou E, Trichopoulos D, Dessypris N, Flytzani V, Haidas S, Kalmanti M, Koliouskas D, Kosmidis H, Piperopoulou F, Tzortzatou F. Infant leukaemia after *in utero* exposure to radiation from Chernobyl. *Nature* 1996 ; 382 : 352-3.
2. Petridou E, Proukakis C, Tong D, *et al.* Trends and geographical distribution of childhood leukemia in Greece in relation to the Chernobyl accident. *Scand J Soc Med* 1994 ; 22 : 127-31.
3. Mole RH. Childhood cancer after prenatal exposure to diagnostic X-ray examinations in Britain. *Br J Cancer* 1990 ; 62 : 152-68.
4. Darby SC, Roman E. Links in childhood leukaemia. *Nature* 1996 ; 382 : 303-4.

14^e CONFÉRENCE ANNUELLE SUR L'OBÉSITÉ

L'AFERO (Association Française d'Études et de Recherches sur l'Obésité) dont l'objet est de promouvoir les échanges scientifiques, la diffusion des connaissances et la formation dans le domaine de la recherche biomédicale sur l'obésité, organise sa 14^e conférence annuelle

**Les 13 et 14 décembre 1996
à Strasbourg**

**École Nationale d'Administration
(ENA)**

**1, rue Sainte-Marguerite
67000 Strasbourg, France.**

Pour tous renseignements :
s'adresser au Secrétariat Général de l'AFERO :
Mme Quignard-Boulangé, Inserm U. 177,
Institut Biomédical des Cordeliers,
15, rue de l'École-de-Médecine,
75270 Paris Cedex 06, France.
Tél. : 43.29.29.22/23/24 - Fax : 40.51.85.86

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ Activité antileucémique d'un inhibiteur de JAK2.

La prolifération *in vivo* et *in vitro* des cellules de leucémie aiguë lymphoblastique dépend de la présence de cytokines. Les signaux délivrés sont transmis par des récepteurs membranaires en direction de la machinerie transcriptionnelle par des cascades biochimiques impliquant notamment la phosphorylation de protéines à activité tyrosine kinase (PTK) (*m/s* n° 2, vol. 10, p. 202). Certaines PTK sont activées en permanence dans les cellules leucémiques, probablement en rapport avec leur intense activité proliférative. Des efforts importants ont donc été mis en œuvre pour bloquer ces voies de transmission et tenter d'inhiber ainsi la prolifération cellulaire. Des molécules inhibitrices des PTK, les tyrophostines, ont été testées sur des cellules de leucémies aiguës lymphoblastiques par l'équipe israélo-canadienne de C. Roifman [1]. Il est apparu qu'une de ces molécules, appelée AG490, avait une activité antiproliférative majeure sur les cellules leucémiques de phénotype pré-B, fraîches ou en lignées. En revanche les cellules B plus différenciées ou T, leucémiques ou normales, et les progéniteurs hématopoïétiques normaux semblent insensibles à l'AG490. Afin de comprendre le mécanisme inhibiteur de cette molécule dans les leucémies pré-B, les niveaux de phosphorylation des principales PTK ont été analysés avant et après incubation avec l'AG490. Parmi les PTK de la famille JAK, particulièrement impliquées dans la transduction de signaux dans les cellules hématopoïétiques, JAK2 se révèle phosphorylée de façon constitutive dans les cellules pré-B leucémiques mais non dans des cellules pré-B normales triées. Après incubation des cellules leucémiques (intactes ou de leurs extraits protéiques) avec l'AG490, l'activité tyrosine kinase autophosphorylante de JAK2 apparaît nettement inhibée, avec un effet-dose

analogue à celui observé dans les tests d'inhibition de la prolifération cellulaire. En revanche, JAK1 et JAK3 ne sont quasiment pas synthétisées dans les leucémies pré-B, et les activités tyrosine kinase de protéines abondamment produites de la famille Src (Lck, Lyn, Btk, Syk et Src) ne sont pas modifiées par l'AG490. JAK2 est donc un excellent candidat pour être la cible de la molécule inhibitrice. L'interruption des signaux passant par JAK2 pourrait être équivalente à une privation de facteur de croissance, les aspects cytologiques et en cytométrie de flux des cellules leucémiques traitées suggérant un mécanisme de mort cellulaire par apoptose, sans doute responsable de l'activité antiproliférative de l'AG490. L'étape ultérieure a été de tester l'action de l'AG490 dans un modèle *in vivo*. Des souris *nude* ont reçu des perfusions intrapéritonéales de la molécule ou de placebo, immédiatement ou jusqu'à quatre semaines après une greffe de cellules leucémiques humaines. Une activité antileucémique nette a été observée chez les animaux ayant reçu l'AG490, avec un effet-dose proche de celui observé *in vitro*. Enfin, aucun effet secondaire n'a été détecté, notamment sur l'hématopoïèse murine. Ces résultats encourageants doivent être confirmés et les propriétés pharmacologiques de cette molécule améliorées avant d'envisager des essais thérapeutiques chez l'homme, d'autant plus importants que la leucémie pré-B est fréquente chez l'enfant et souvent réfractaire aux traitements classiques.

[1. Meydan N, *et al.* *Nature* 1996 ; 379 : 645-8.]

■■■ **L'interleukine 3 et la perte des potentialités des cellules souches hématopoïétiques à maintenir une hématopoïèse à long terme.**

Les cellules souches hématopoïétiques ont la propriété essentielle de produire après leur injection à un receveur adéquatement conditionné une hématopoïèse à long terme assurant le renouvellement des diverses lignées hématopoïétiques. Un ensemble de travaux sont conduits depuis quelques années visant à accroître *in vitro* la fréquence des cellules souches dans un prélèvement médullaire afin d'obtenir une reconstitution plus rapide du receveur [1]. Cette amplification *in vitro* a été tentée depuis qu'ont été décrites les propriétés de diverses cytokines capables de stimuler la prolifération des cellules souches, ou de cellules proches de ces dernières: *stem cell factor* (SCF), l'interleukine (IL) 3, l'IL6 et l'IL11 (ces deux cytokines favorisant l'entrée des cellules souches en cycle), l'IL1, le G-CSF et le GM-CSF, le cocktail des cytokines utilisées pouvant varier d'un laboratoire à l'autre. Dans ces conditions, on peut obtenir une expansion des progéniteurs immatures (HPP-CFC, *cobble stone area-forming cells* selon la cible cellulaire utilisée). Si les résultats obtenus confirment largement qu'une certaine amplification peut être obtenue dans ces conditions, la question non résolue concernait la conservation nécessaire des propriétés initiales des cellules souches, à savoir leur aptitude à reconstituer à long terme l'hématopoïèse du receveur. Dans un article récent, Peters *et al.* (Worcester, MA, USA) avaient déjà signalé que la culture de cellules de moelle osseuse de souris, en présence de SCF, IL3, IL6 et IL11, procurait bien en 48 heures une expansion notable des HPP-CFC (la cellule la plus proche de la cellule souche que l'on puisse révéler en culture *in vitro*), de 49 à 206 % pour deux souches de souris testées et provoquait l'entrée en cycle de pratiquement 100 % de ces HPP-CFC. Mais les cellules ainsi cul-

tivées (mâle), injectées à des souris femelles receveuses, en compétition avec des cellules femelles fraîchement prélevées, ne pouvaient assurer de prise de greffe conséquente, contrairement à ce que l'on observe avec des cellules de moelle osseuse mâle fraîchement prélevées utilisées dans les mêmes conditions de compétition. Les auteurs avaient conclu que la culture de cellules de moelle osseuse, même si elle produisait une amplification des progéniteurs immatures, faisait perdre aux cellules souches leurs propriétés fondamentales [2]. Dans la dernière parution des *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Yonemura *et al.* (Charleston, SC, USA) ont repris la question et testé le rôle de l'IL3 et de l'IL1 dans la perte des capacités de reconstitution à long terme de cellules souches maintenues en culture *in vitro* [3]. Les cellules de moelle osseuse enrichies en cellules souches (Lin-, Ly-6A/E+, c-kit⁺) ont été cultivées en présence de SCF, IL6, IL11 et érythropoïétine en présence ou non d'IL3. Les cultures réalisées en présence d'IL3 montrent une plus forte prolifération cellulaire mais sont pauvres en progéniteurs engagés (*colony forming cells*, CFC) et en progéniteurs multipotents (CFU-GEMM). L'IL1 a les mêmes effets. Lorsqu'on les injecte à des souris irradiées en présence de cellules de moelle de souris dites «compromises» (ces souris, reconstituées par des cellules de moelle ayant été transférées à intervalles courts dans plusieurs receveurs intermédiaires, ont une moelle osseuse très pauvre en cellules souches hématopoïétiques qui ne permet que la survie initiale des souris), les cellules cultivées sans IL3 montrent une aptitude bien meilleure à assurer une prise de greffe 5 mois plus tard que les cellules cultivées en présence d'IL3. Ces résultats suggèrent donc fortement que l'IL3, si elle montre un effet positif sur la prolifération des cellules hématopoïétiques, ne permet pas le maintien et/ou l'expansion des cellules souches pluripo-

tentes dans leurs conditions initiales. Ces résultats sont donc très surprenants car l'IL3 semblait bien pour l'instant être la cytokine incontournable pour toute amplification *in vitro* des cellules souches et ils posent donc sérieusement la question du maintien de l'IL3 dans le cocktail des cytokines utilisées. Nul doute que l'on saura bientôt si des résultats similaires sont obtenus avec les cellules de moelle osseuse humaine.

- [1. Coulombel L, Vainchenker W. *médecine/sciences* 1995; 11: 13-6.]
- [2. Peters SO, *et al.* *Blood* 1996; 87: 30-7.]
- [3. Yonemura Y, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*; 93: 4040-4.]

■■■ **Efficacité anticancéreuse du TNF α en circulation extracorporelle.**

Lors d'un récent congrès qui s'est déroulé en mars 1996 en Caroline du Sud (*TNF and related cytokines: clinical utility and biologic action*) les essais cliniques de l'utilisation anticancéreuse du TNF α ont été rapportés. Plus de 300 malades ont été traités par des perfusions continues de TNF α dans des systèmes de dérivation extracorporelle. Cette stratégie s'applique particulièrement à des tumeurs des membres, et les résultats sont bons dans le cadre du mélanome: dans certaines études, la fréquence des rémissions complètes de mélanomes avancés des membres atteint 78 % auxquels il faut ajouter 22 % de rémissions partielles [1]. Ces résultats sont, à vrai dire, obtenus par une combinaison de trois produits, le melphalan, l'interféron γ et le TNF α . Cependant, l'addition de TNF α améliore significativement les résultats obtenus par la seule perfusion extracorporelle de melphalan (50 % de rémissions complètes avec le melphalan seul, comparé à 78 % avec les trois produits). La même stratégie est également efficace dans des sarcomes des parties molles des membres, avec 36 % de rémissions complètes et 28 % de rémissions

■■■ BRÈVES ■■■

partielles. Quelques résultats préliminaires montrent que la stratégie peut, dans certains cas, être appliquée à des cancers du poumon, du foie, du rein et du côlon. Le TNF α pourrait entraîner une rétraction sélective des capillaires tumoraux, s'accompagnant d'une thrombose inflammatoire conduisant à la nécrose tumorale. Un autre mécanisme pourrait être l'augmentation de la perméabilité vasculaire provoquée par le TNF α . Voilà des résultats qui contrastent significativement avec la modestie, à ce jour, de ceux des essais de thérapie génique du cancer [1].

[1. Lejeune FJ, Liénard T. *Nature Biotech* 1996; 14: 706-8.]

■■■ **La protéine p21^{WAF1/CIP1} est aussi un inhibiteur des protéines kinases liées au stress.** La protéine p21^{WAF1/CIP1} est l'un des relais essentiels de l'action inhibitrice de p53 sur la phase G1 du cycle cellulaire. Cet inhibiteur agit normalement en s'opposant à l'action de protéines kinases liées au cycle cellulaire (Cdk) (*m/s n° 6/7, vol. 10, p. 744*). Shim *et al.* (Kyongki-do, Corée) proposent maintenant que l'inhibiteur p21 pourrait également contrôler négativement l'activité des SAPK/JNK (*stress-activated protein kinases/c-Jun amino-terminal kinases*),

des membres de la famille des MAP kinases (*m/s n° 3, vol. 11, p. 467*) [1]. Ces auteurs montrent que p21 se fixe à la SAPK/JNK, et inhibe son activité alors qu'elle est de peu d'effets sur une autre MAP kinase, la protéine ERK (*extracellular-signal-regulated kinase*). Cet effet de p21 n'est pas partagé par d'autres inhibiteurs des Cdk; en effet p16^{INK4} n'a aucune action sur les kinases SAPK/JNK. Ces kinases sont capables de phosphoryler des facteurs de transcription, notamment c-Jun et TCF/Elk1, le partenaire de SRF (*serum response factor*) dans l'activation de gènes de réponse précoce au sérum du type de *c-fos*. Agissant sur *c-jun* et *c-fos*, les SAPK/JNK se comportent donc comme des activateurs fondamentaux du complexe API qui joue lui-même le rôle d'un activateur transcriptionnel de nombreux gènes impliqués dans l'inflammation, la réponse au stress et la division cellulaire. Puisqu'il a également été montré que p21^{WAF1/CIP1} était capable de bloquer la réplication de l'ADN dépendante du PCNA (*proliferating cell nuclear-antigen*), cette protéine pourrait donc jouer un rôle déterminant dans le contrôle de la réponse cellulaire au stress et aux stimulations prolifératives.

[1. Shim J, *et al. Nature* 1996; 381: 804-7.]

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ **Un petit peptide remplacerait-il bientôt l'érythropoïétine ?** Bien que le contact des cytokines et de leur récepteur s'étende apparemment sur une grande surface, on a pu démontrer que l'énergie de liaison, et donc la transmission du signal, est en fait concentrée sur un très petit nombre de résidus. Cela a suscité l'idée que de petites molécules pourraient faire fonction de ligands et transmettre le même signal que l'hormone. C'est ce type de mimétisme de l'érythropoïétine (EPO) par des petits peptides que présente ces jours-ci le travail collaboratif de deux équipes américaines de recherche pharmacologique (*Alfymax Research Institute*, Palo Alto, CA et *RW Johnson Pharmaceutical Research Institute*, Raritan, NJ) et d'un groupe de la Fondation Scripps (La Jolla, CA, USA) [1, 2]. La méthode utilisée, dénommée « exposition de phages » (*phage display*) fait appel à la force des méthodes modernes de détection de séquences aléatoires. Des courtes séquences, totalement ou partiellement aléatoires, codant pour une énorme densité de peptides, sont intégrées dans des protéines d'enveloppe de phages filamenteux qui sont produits en masse, représentant des centaines de milliers ou des millions de séquences différentes. Pour augmenter la possibilité pour ces phages d'être retenus par des récepteurs potentiels, chaque séquence peptidique est répétée plusieurs dizaines de fois. La suspension de phage contenant toute la diversité de la banque construite est alors mise en contact avec le récepteur immobilisé. Le criblage des peptides a ici été fait par affinité sélective des phages pour le récepteur (EPOR) immobilisé. Un peptide cyclique, à fixation faible, a été pris comme départ pour des optimisations successives, mutations et allongements, qui ont permis l'isolement de nombreux autres peptides par des étapes de compétition avec l'EPO. Ces peptides se comportent comme des agonistes de l'EPO *in vitro*: ils stimulent spécifiquement la proliféra-

tion de lignées cellulaires présentant le récepteur EPOR et la lignée érythroïde de cellules médullaires. Ils ont aussi actifs *in vivo* chez la souris. Cependant, leur affinité pour le récepteur EPOR reste 1 000 fois inférieure à celle de l'érythropoïétine. La séquence consensus minimale définie, YxCxxGPxTWxCxP*, a permis de préciser l'importance des différents résidus. Le peptide doit être cyclisé par un pont disulfure qui se forme entre les cystéines, et dont l'absence supprime toute activité; le motif GPxTW semble essentiel; enfin une tyrosine (Y) en dehors du pont S-S et la présence de prolines sont aussi des facteurs de contact. Les voies de transmission du signal au noyau sont les mêmes que celles du ligand naturel, l'hormone. Il est tout à fait remarquable, cependant, que la séquence consensus active ne soit pas retrouvée au niveau de la structure primaire de l'EPO. Ce travail a donc été complété par une détermination de structure quaternaire par diffraction de rayons X. La co-cristallisation d'un peptide actif et du domaine extracellulaire du récepteur EPO s'est avérée facile et a montré qu'un dimère du peptide induit une dimérisation presque parfaite du récepteur. Cette dimérisation, un peu différente de celle qu'induit l'hormone, ou de celle qu'on observe par action d'autres cytokines sur leur récepteur, démontre donc que le fait important pour la transmission du signal est la dimérisation plus que sa modalité stéréochimique. Le peptide peut être considéré comme une hormone minimale, dont la structure est différente de celle du ligand naturel, mais qui en serait un agoniste parfait. L'effet potentiel en thérapeutique humaine n'a pas été établi; la mise au point de peptidomimétiques non peptidiques actifs *per os* compléterait la démarche qui pourrait connaître des développe-

* Code à une lettre des acides aminés: C: Cys; G: Gly; P: Pro; T: Thr; W: Trp; Y: Tyr. x représente n'importe quel acide aminé.

ments majeurs, quand on connaît le coût et la multiplicité d'usages de l'EPO recombinante (*m/s n° 8-9, vol. 12, p. 1004 et 1005*). Quant à la substitution de l'hormone de croissance ou d'autres hormones par de petits peptides agonistes, peut-être en reparlera-t-on aux prochaines olympiades.

[1. Wrighton NC, *et al. Science* 1996; 273: 458-63.]

[2. Livnah ●, *et al. Science* 1996; 273: 464-71.]

FONDATION FYSSEN

194, RUE DE RIVOLI - 75001 PARIS, FRANCE
TÉL. : 33 (1) 42.97.53.16 - FAX : 33 (1) 42.60.17.95

La FONDATION FYSSEN a pour objectif général « de promouvoir sous toutes ses formes l'analyse scientifique des mécanismes logiques du comportement animal et humain ainsi que leur développement ontogénétique et phylogénétique ».

PRIX INTERNATIONAL

UN PRIX INTERNATIONAL de 200 000 F sera attribué à un chercheur qui se sera distingué par une activité de recherche fondamentale qui correspond, directement ou indirectement, à l'objectif de la Fondation et qui concerne des disciplines telles que l'éthologie, la paléontologie, l'archéologie, l'anthropologie, la psychologie, l'épistémologie, la logique et les sciences du système nerveux. Il a été décerné à MM. Les Professeurs A. LEROIGOURHAN (1980), W.H. THORPE (1981), V.B. MOUNTCASTLE (1982), H.C. CONKLIN (1983), R.W. BROWN (1984), P. BUSER (1985), D. PILBEAM (1986), D. PRE-MACK (1987), J.C. GARDIN (1988), Mme P.S. GOLDMAN-RAKIC (1989), J. GOODY (1990), G.A. MILLER (1991), P. RAKIC (1992) et L.L. CAVALLI-SFORZA (1993), L. GLEITMAN (1994).

Discipline considérée pour le Prix 1996 :

TECHNIQUES ET SYMBOLES AU COURS DE L'ÉVOLUTION HUMAINE

Les propositions de candidature doivent comporter :

- le curriculum vitæ,
- la liste des publications du candidat,
- un résumé (quatre pages maximum) du travail de recherche qui justifie l'attribution du Prix.

On ne peut se porter directement candidat.

Les candidatures au PRIX de la FONDATION FYSSEN doivent être adressées en 15 exemplaires au Secrétariat de la Fondation, 194, rue de Rivoli, 75001 PARIS.