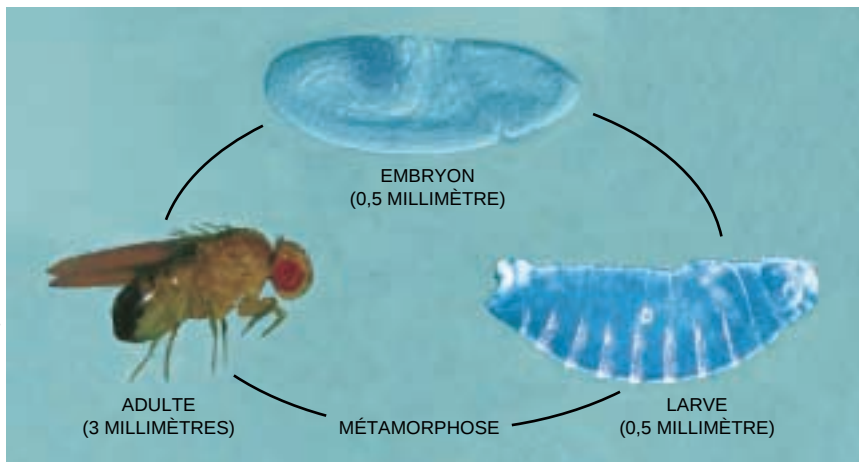




2. LA DROSOPHILE est un modèle intéressant pour les généticiens à la recherche des gènes suppresseurs de tumeurs humains. L'embryon évolue vers un stade larvaire, constitué de trois étapes, et, après une métamorphose, l'insecte adulte naît. La recherche des gènes suppresseurs de tumeurs a lieu sur les larves ou sur l'adulte.

stades larvaires, puis se métamorphose avant de donner l'insecte adulte. La larve contient des cellules qui ne se divisent pas, mais qui grossissent au fil des stades larvaires, et des cellules imaginales, petites, mais qui se multiplient. Les cellules imaginales sont groupées dans des tissus épithéliaux nommés disques imaginaux. La quasi-totalité des cellules larvaires meurt au moment de la métamorphose, laissant la place aux cellules imaginales, qui donnent les tissus adultes.

E. Gateff disséqua divers mutants de drosophile et observa, chez certains, des organes larvaires qui présentaient une prolifération cellulaire excessive en fin de troisième stade larvaire (on obtient des mutants, par exemple en irradiant les insectes par des rayons X ou gamma, ou en les exposant à diverses substances chimiques). Ces observations lui permirent de découvrir les premiers gènes suppresseurs de tumeurs.

On peut également étudier la tumorigénèse chez la drosophile en injectant des fragments de tissus dans des larves normales : on obtient alors une culture de tissus *in vivo*. Quand on injecte des fragments de tissus normaux, ils croissent modérément et ne perturbent pas le développement de la larve ; au contraire, un tissu dont les cellules ont perdu un gène suppresseur de tumeurs prolifère rapidement et tue l'hôte en une quinzaine de jours. Ce test de transplantation tissulaire a permis de mieux caractériser les tumeurs de la mouche et de les

classer en deux catégories : les hyperplasies et les néoplasies.

Les hyperplasies et les néoplasies correspondent toutes deux à une prolifération cellulaire notable, mais elles ne contiennent pas les mêmes types cellulaires. Dans une tumeur hyperplasique, les cellules épithéliales, bien qu'elles prolifèrent, conservent certaines caractéristiques, notamment la polarité, des cellules épithéliales normales (une cellule épithéliale normale n'est pas symétrique et présente une orientation, ou polarité, préférentielle). En outre, les fragments de tissus mutants injectés n'envahissent pas leur hôte après transplantation. Au contraire, les cellules des tissus néoplasiques perdent toute polarité, et elles envahissent l'hôte après transplantation, provoquant sa mort. Plus d'une trentaine de gènes suppresseurs de tumeurs ont ainsi été isolés chez la drosophile. Quelles en sont les fonctions ?

Le rôle antitumoral des jonctions adhérentes

Les exemples qui suivent illustrent les principales propriétés de ces gènes suppresseurs de tumeurs : les protéines qu'ils codent participent à l'adhérence entre les cellules et à la transmission des signaux intercellulaires au cours du développement.

L'étude des mutations du gène *fat* menée par l'équipe de Peter Bryant, à l'Université d'Irvine, a révélé que la suppression de l'adhérence entre les cellules est responsable de la tumori-

génèse. On sait aujourd'hui que des molécules d'adhérence orchestrent la reconnaissance et l'agrégation des cellules, chez l'embryon en développement et chez l'adulte. L'épithélium est un tissu de revêtement constitué de cellules juxtaposées, disposées en une ou plusieurs couches, et les cellules épithéliales sont liées par des molécules d'adhérence.

Les larves de drosophile dépourvues du gène *fat*, sont plus grosses que la normale et meurent avant la métamorphose ; elles présentent une hyperplasie de certains tissus. Ainsi, l'élimination du gène *fat* déclenche les mécanismes tumoraux : c'est un gène suppresseur de tumeurs, puisque son absence suffit à déclencher une hyperplasie chez la drosophile.

Le gène *fat* code une grosse protéine transmembranaire, dont la structure ressemble à celle des molécules de la famille des cadhérines, une des grandes familles de molécules d'adhérence. Chez les vertébrés, les cadhérines jouent un rôle essentiel dans l'établissement de contacts intercellulaires stables : deux cellules adjacentes portent des molécules de cadhérines identiques dont les extrémités s'accrochent, créant des liaisons stables quand elles sont regroupées.

Les molécules adhérentes s'assemblent en «jonctions», notamment les jonctions adhérentes, les desmosomes et les jonctions étanches. Pour schématiser, nous assimilerons les jonctions adhérentes et les desmosomes à des «boutons-pression», et les jonctions étanches à des «joints d'étanchéité» (voir la figure 3). Les différents éléments du cytosquelette qui forme l'ossature interne des cellules établissent des liens solides aux points de jonction entre les cellules.

À l'intérieur des cellules ainsi accolées, les cadhérines s'assemblent avec des protéines cytoplasmiques, dont les plus abondantes sont les caténines. Dans le cas des jonctions adhérentes, les caténines servent de relais entre les cadhérines et les microfilaments d'actine, les protéines qui forment le cytosquelette. Dans le cas des desmosomes, les caténines relient les cadhérines à d'autres protéines, les desmoplakines. Ainsi, les cellules épithéliales coordonnent l'organisation de leur architecture cellulaire, par l'intermédiaire des molécules d'adhérence qui les

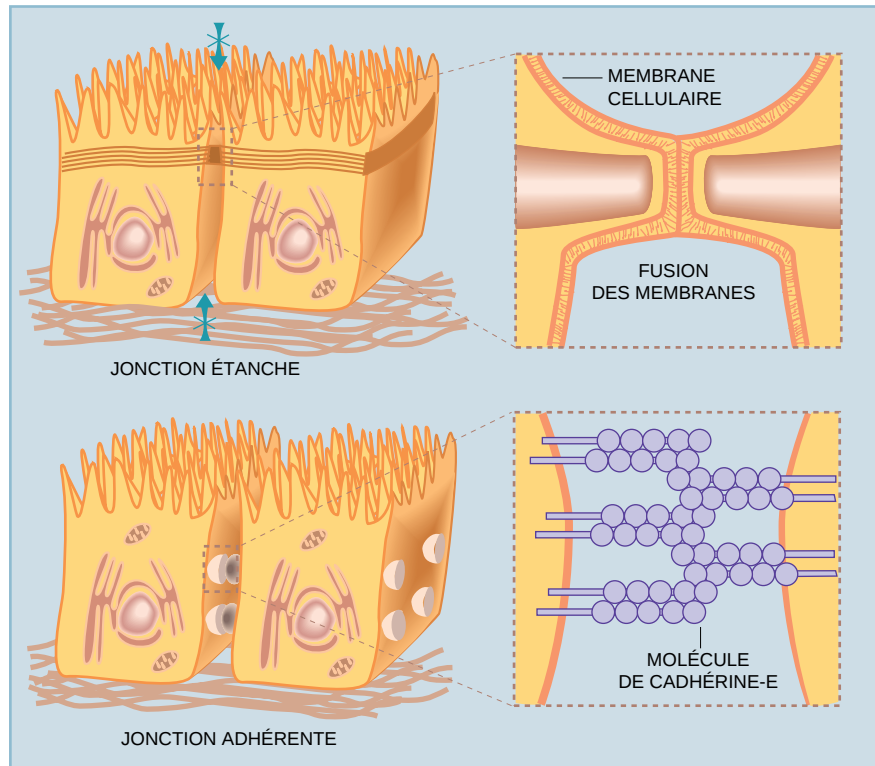
relient, assurant la cohésion du tissu épithélial.

Comme le gène *fat* appartient à la famille des gènes codant les cadhérines, on s'interroge : les cadhérines ont-elles, chez les vertébrés, une fonction de suppression de tumeurs ? On sait que la région génétique qui contient le gène codant la Cadhérine-E contient un gène suppresseur de tumeurs, mais on n'a pas encore démontré que ces deux gènes n'en font qu'un. Divers arguments sont en faveur de cette hypothèse : des lignées cellulaires qui expriment peu de Cadhérine-E deviennent malignes, d'autant plus que la quantité de Cadhérine-E exprimée est faible. Inversement, on peut inhiber le caractère invasif de lignées cellulaires issues de carcinomes, en introduisant dans les cellules le gène codant la Cadhérine-E. Enfin, dans certains carcinomes, on retrouve souvent des mutations dans le gène codant la Cadhérine-E. La perte de l'adhérence cellulaire favorise le développement des tumeurs, et les molécules d'adhérence, assurant les jonctions, auraient un rôle antitumoral.

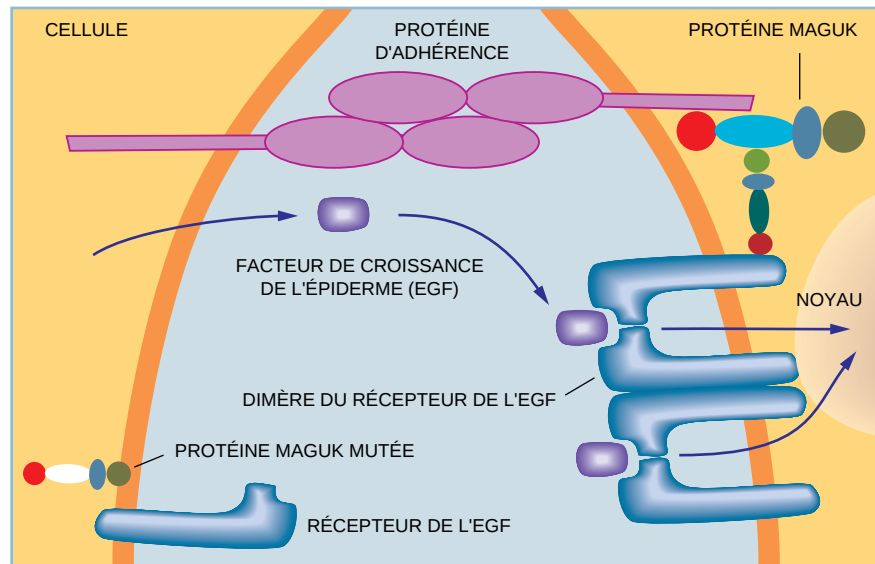
Communication cellulaire et jonctions étanches

Un dysfonctionnement des jonctions étanches, qui participent à la transmission des signaux d'une cellule à l'autre, aboutirait également à la formation de tumeurs. Les mutations du gène *disc-large* se manifestent par une transformation néoplasique des épithéliums larvaires. Ce gène code la protéine Disc-large, qui appartient à la superfamille des protéines MAGUK. Ces protéines sont localisées sur la face interne de la membrane plasmique, et sont concentrées aux jonctions étanches. Elles peuvent se lier directement aux protéines transmembranaires qui forment ces jonctions, ainsi qu'à d'autres protéines transmembranaires qui y sont associées. Elles participent notamment à l'organisation des membranes cellulaires, en regroupant les récepteurs aux endroits des jonctions étanches.

Ainsi, des protéines MAGUK assurent une agglutination des récepteurs de l'EGF à proximité des jonctions étanches. Le facteur de croissance EGF sert à la communication entre les cellules : libéré par une cellule, il se fixe sur son récepteur, porté par la cellule



3. LES JONCTIONS qui lient deux cellules adjacentes sont de deux types. Chez les vertébrés, les jonctions étanches, sont constituées de molécules permettant la fusion des membranes plasmiques. Elles forment des sortes de joints circulaires d'étanchéité, qui empêchent toute communication entre le milieu où baigne la partie supérieure des cellules et le milieu qui entoure leur base (en haut). Les jonctions adhérentes et les desmosomes sont organisés par points, à la façon de boutons-pression. Elles sont formées de l'assemblage de molécules adhérentes, des cadhérines, par exemple, qui s'enchevêtrent à l'endroit de la jonction (en bas).



4. LES PROTÉINES MAGUK participent à la communication entre les cellules épithéliales de drosophile. Quand une cellule libère le facteur EGF, un messager de l'information (à gauche), ce dernier ne transmet de messages qu'à condition de trouver son récepteur sur la cellule cible. Son récepteur est fonctionnel seulement s'il est dimérisé, c'est-à-dire constitué de l'assemblage de deux sous-unités. En outre, les récepteurs doivent être concentrés à proximité des jonctions étanches, où se transmet le signal. La protéine MAGUK, liée d'une part aux récepteurs de l'EGF et d'autre part aux molécules adhérentes de la jonction, assure une agglutination des récepteurs à proximité des jonctions (à droite). En revanche, quand la protéine MAGUK est mutée, les récepteurs ne forment plus de dimères et ne se concentrent plus près des jonctions : la communication entre les deux cellules est interrompue (à gauche).

voisine. Le récepteur de l'EGF est fonctionnel seulement quand deux sous-unités sont assemblées. Il est connecté aux molécules adhérentes de la jonction étanche par l'intermédiaire de protéines MAGUK, qui concentrent les récepteurs de l'EGF près de la zone de communication. Quand le nombre de récepteurs, proches de la jonction étanche, est insuffisant, la signalisation est inefficace.

Chez la drosophile, l'absence de la protéine Disc-large aboutit à une désorganisation des jonctions étanches, qui s'accompagne d'une perte de la polarité cellulaire. Au lieu d'être concentrés dans les zones utiles, les récepteurs de l'EGF sont alors sans doute répartis uniformément à la surface des cellules dont le gène *disc-large* est muté. La réduction de la densité locale de ces récepteurs semble abolir leur fonction de signalisation.

L'analyse de la protéine Disc-large éclaire certains mécanismes humains : l'homologue humain du gène *disc-large* a récemment été isolé grâce aux informations de séquences fournies par la drosophile. La protéine Disc-large humaine se lie au produit du gène suppresseur de tumeurs APC, un gène de prédisposition au cancer colorectal chez l'homme ; elles participeraient à la régulation de la prolifération cellulaire. Ainsi les protéines de la famille MAGUK joueraient un rôle indirect dans la

tumorigénèse : quand elles sont mutées ou absentes, elles désorganisent la signalisation intercellulaire, ce qui perturberait notamment la transmission des signaux antiprolifératifs.

Ainsi l'intégrité des jonctions adhérentes et des jonctions étanches est indispensable à la régulation de la prolifération des cellules épithéliales. Un autre type de jonction, les jonctions communicantes, participerait également à cette régulation. Deux cellules adjacentes mettent en commun deux molécules qui s'assemblent en un canal transmembranaire par lequel diverses molécules passent d'une cellule à l'autre. Ces canaux participent aux échanges moléculaires entre les cellules. Elles ont également un rôle antitumoral : un mutant de drosophile dont la structure ou le fonctionnement des jonctions communicantes est perturbé a diverses tumeurs.

L'échange de signaux intercellulaires requiert un contact étroit entre la cellule qui émet un signal et celle qui le reçoit. Les interactions fortes entre les molécules d'adhérence rendent efficaces des interactions de faible intensité entre une molécule signal et son récepteur. Réciproquement, les liaisons entre des ligands et leurs récepteurs, concentrés à proximité des jonctions intercellulaires renforcent l'adhérence entre les cellules communicantes.

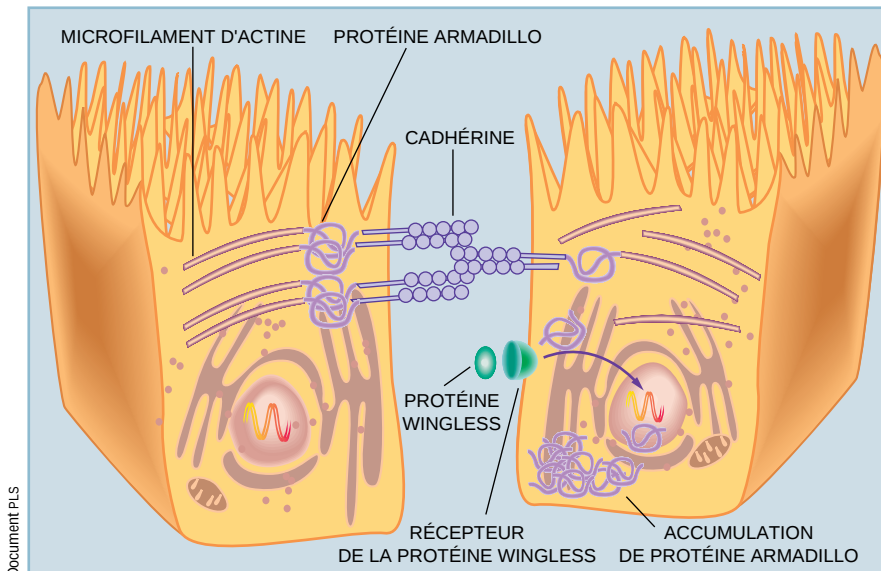
Toute désorganisation des jonctions perturbe plusieurs voies de signalisation. De surcroît, une anomalie d'un type de jonctions risque d'enrayer la formation et le fonctionnement des autres jonctions. Ainsi, en l'absence de Cadherine-E, les cellules épithéliales de l'embryon de drosophile ne forment pas de jonctions adhérentes, perdent leur polarité membranaire et présentent des jonctions étanches anormales. Adhérence, communication intercellulaire et prolifération cellulaire sont étroitement associées dans les pathologies cancéreuses.

Gènes du développement et cancer

Comment un signal peut-il agir sur l'adhérence et sur la communication cellulaire et, par voie de conséquence, sur la prolifération cellulaire ? Parce qu'il peut entraîner simultanément une réorganisation globale des contacts cellulaires et un changement de la programmation génétique. Ainsi, chez la drosophile, les molécules de Cadherine-E sont-elles reliées aux microfilaments d'actine par une protéine nommée Armadillo. Aux jonctions adhérentes, Armadillo assure le maintien de l'ossature des cellules. Au cours de l'embryogenèse, elle intervient dans la mise en place des segments de l'embryon.

Enfin, Armadillo participe aussi à la transduction du signal : en réponse à un signal Wingless, elle s'accumule dans le cytoplasme et dans le noyau. Aux jonctions adhérentes, la quantité de cette protéine semble diminuer : la délocalisation d'Armadillo de la membrane vers le cytoplasme, au cours de la fixation de la protéine Wingless, entraînerait une diminution de la force de cohésion des jonctions adhérentes. Dans le noyau, Armadillo se fixe à la protéine nucléaire LEF-1. Cette dernière se lie à l'ADN, notamment au promoteur du gène codant la Cadherine-E : on suppose que la synthèse de Cadherine-E diminue quand Armadillo se lie à LEF-1 ; l'adhérence intercellulaire et la transmission des signaux antiprolifératifs diminueraient.

Ainsi, dans le cytoplasme, la protéine Armadillo participerait à la transduction du signal Wingless ; dans le noyau, elle commanderait la transcription du génome ; aux jonctions adhérentes, elle serait l'un des consti-



5. LA PROTÉINE ARMADILLO a plusieurs fonctions : dans les jonctions adhérentes normales (à gauche), elle sert de lien entre les molécules de Cadherine-E et les microfilaments d'actine du cytosquelette, l'armature des cellules. Quand une protéine Wingless se lie à son récepteur, la protéine Armadillo s'accumule dans le cytoplasme, quitte partiellement la jonction adhérente et, dans le noyau, active ou inhibe la transcription du génome (à droite). Armadillo assure à la fois l'adhérence et la signalisation, ce qui montre combien ces deux fonctions sont liées.

tuants de la superstructure qui relie les cellules entre elles. La fonction de signalisation et la fonction d'adhérence sont regroupées au sein d'une même molécule, ce qui confirme les liens étroits qui lient ces deux fonctions.

Chez les mammifères, l'homologue de la protéine Wingless intervient dans la morphogenèse. En outre, chez la souris, la surexpression du gène *wingless* dans les glandes mammaires y déclenche la formation de tumeurs.

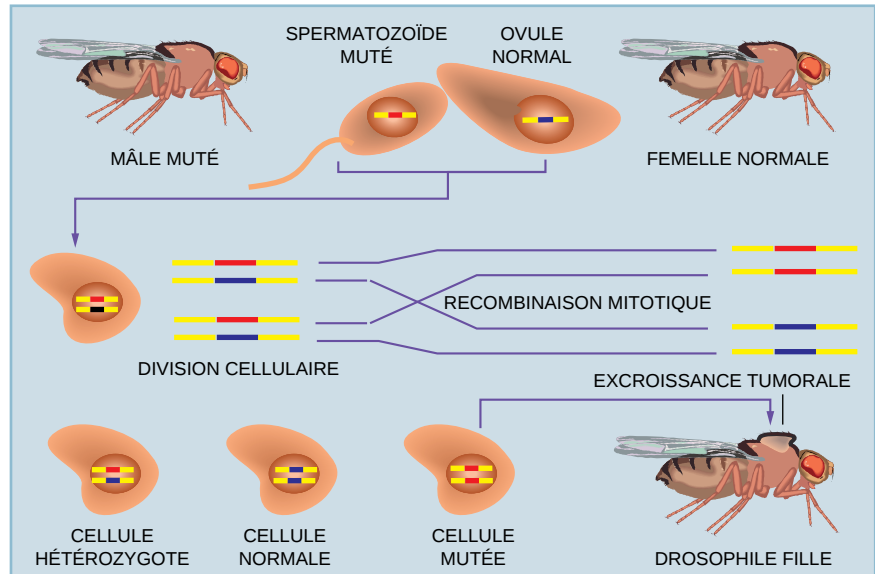
Gènes du développement et gènes du cancer sont étroitement liés. La fonction normale des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs consiste souvent à contrôler la prolifération et la différenciation cellulaire au cours du développement.

Production de mosaïques

Une nouvelle méthode devrait permettre d'isoler la quasi-totalité des gènes suppresseurs de tumeurs chez la drosophile. Elle consiste à obtenir, chez des drosophiles adultes, des amas de cellules tumorales. Pour ce faire, on mute les gènes de drosophiles normales. Les mutations sont réparties de façon aléatoire, dans tout le génome. Lorsque les cellules de la reproduction de la mouche portent une mutation, cette dernière est transmise à la descendance.

Quand on croise cette drosophile mutée et une drosophile normale, les individus de la descendance ont une copie (ou allèle) normale et une copie mutée du même gène. Quand cette mutation est localisée dans un gène suppresseur de tumeurs, la mouche ne présente aucun défaut visible. Au cours d'une division cellulaire, les chromosomes sont dupliqués et chaque cellule fille reçoit le même lot de gènes que la cellule mère (notamment une copie normale et une copie anormale du gène muté).

Pourtant, dans certaines conditions, on réussit à regrouper dans une des deux cellules filles les deux copies normales, et dans l'autre cellule fille, les deux copies mutées. La drosophile obtenue est qualifiée de mosaïque génétique : elle est constituée d'une majorité de cellules hétérozygotes (c'est-à-dire portant un allèle normal et un allèle muté du gène), de quelques cellules qui ont deux allèles



6. IDENTIFICATION DES GÈNES SUPPESSEURS DE TUMEURS chez la drosophile. Pour isoler ces gènes chez la mouche, on introduit des mutations dans le génome d'un individu mâle et on le croise avec une femelle normale. Les descendants héritent d'une copie mutée et d'une copie normale de divers gènes. Ces insectes ont été manipulés pour qu'ils expriment aussi une enzyme, la FLP recombinase, qui permet des recombinaisons intéressantes dans un petit nombre de cellules : la recombinaison est telle que les deux allèles anormaux d'un même gène se regroupent dans une cellule, tandis que l'autre cellule issue de la même division cellulaire emporte les deux gènes normaux issus de la mère. Ainsi, la drosophile fille est viable puisqu'elle a l'ensemble des cellules qui portent les deux allèles normaux, mais elle a, en surplus, des cellules qui portent les deux gènes mutés. Quand ces gènes correspondent à des gènes suppresseurs de tumeurs, leur inhibition déclenche une prolifération tumorale. Quand les individus issus de ce type de croisement portent des tumeurs visibles, on peut isoler le gène muté. Cette méthode devrait permettre d'isoler l'essentiel des gènes suppresseurs de tumeurs chez la drosophile, et de découvrir leurs homologues humains.

normaux et de quelques cellules qui ont deux allèles mutés.

Quand la mutation est localisée sur un gène suppresseur de tumeurs, les cellules qui ont deux gènes mutés se multiplient sans contrôle, et quand la prolifération se traduit par une tumeur visible en surface, on la détecte aisément. On isole alors le gène dont la mutation a déclenché les mécanismes tumoraux, et l'on recherche s'il s'agit bien d'un gène suppresseur de tumeurs. On pourra ainsi tester la participation potentielle de chacun des gènes de la drosophile à la formation de tumeurs.

De cette façon, on devrait isoler de nombreux gènes suppresseurs de tumeurs chez la drosophile et identifier leurs homologues chez l'homme. Menées parallèlement au séquençage du génome humain, ces études permettront de dresser la liste des gènes de prédisposition au cancer chez l'homme. Le dépistage précoce des personnes à risque de cancer et la compréhension des mécanismes fondamentaux de la tumorigenèse en seront améliorés.

François SCHWEISGUTH mène des recherches sur la génétique du développement de la drosophile, à l'Institut Jacques Monod (CNRS, UMR 9922, Université Paris VII). Jean Paul THIERY dirige le laboratoire *Compartimentation et dynamique cellulaires*, Unité CNRS UMR 144, à l'Institut Curie.

Jean Paul THIERY et Brigitte BOYER, *Les molécules adhésives et la communication cellulaire*, in *Pour la Science*, n° 179, septembre 1992.

Mark PEIFER, Sandra ORSULIC, Li-Mei PAI et Joseph LOUREIRO, *A Model System for Cell Adhesion and Signal Transduction in Drosophila*, in *Development*, supplément, pp. 163-176, 1993.

Kellie L. WATSON, Robin W. JUSTICE et Peter J. BRYANT, *Drosophila in Cancer Research : The First Fifty Tumor Suppressor Genes*, in *Development*, n° 18, pp. 19-33, 1994.

Tian XU, Sheng ZHANG, Rodney A. STEWART et Wan YU, *Identifying Tumor Suppressor Genes in Mosaics*, in *Development*, n° 121, pp. 1053-1063, 1995.