

51

## LA COOPERATION D'ONCOGENES DANS LA TRANSFORMATION CELLULAIRE

Samarut J., Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Ecole Normale Supérieure de Lyon, 46, allée d'Italie 69364 Lyon Cédex 07

La transformation oncogène des cellules s'accompagne de modifications dans leur structure et leur physiologie (changements de morphologie, blocage de la différenciation, altérations du cytosquelette et de la matrice extracellulaire, dérèglements de la croissance). Ces modifications affectent à des degrés divers le comportement des cellules transformées, en culture ou *in vitro*: croissance anarchique indépendante des facteurs régulateurs externes, formation de tumeurs *in vivo*. Les modèles expérimentaux de la transformation reposent sur l'introduction et l'expression de séquences génétiques oncogènes dans des cellules cibles en culture ou *in vivo*. Les approches *in vivo* trouvent une extension nouvelle dans l'utilisation d'animaux transgéniques. Dans la plupart des modèles étudiés, la transformation complète de cellules primaires en cellules tumorales ou leucémiques nécessite l'intervention de plusieurs oncogènes qui agissent en coopération. Ces observations confirment les hypothèses faisant intervenir plusieurs événements génétiques dans le développement de cancers. Cependant dans des tumeurs humaines spontanées il n'a pas encore été possible d'identifier des ensembles coopératifs d'oncogènes, et les seuls oncogènes identifiés sont très peu diversifiés entre les différents types de tumeurs. Ces données conduisent à imaginer l'existence d'autres systèmes de gènes impliqués dans la transformation. Parmi ces gènes pourraient se trouver des gènes, les oncogènes récessifs ou anti-oncogènes, dont la fonction normale serait de réprimer la croissance, et dont l'inactivation pourrait contribuer à la transformation.

52

PROLIFERATION D'HEPATOCYTES DE RAT PAR TRANSFECTION *IN VITRO* OU *IN VIVO* A L'AIDE DE  
PLASMIDES ONCOGENES (Ha-ras ou BPV) VEHICULES PAR DES LIPOSOMES :  
EXPRESSION D'UN ONCOGENE ET DE PHENOTYPES METABOLIQUES DU FOIE.

Fischbach M., Cao H., Diez Ibanez M., Tsacanas G., Alouani S.\*, Montandon F., Chessebeuf-Padieu, M., Bromley P.\*, Dreano M.\*, Padieu P.

Biochimie Médicale, Faculté de Médecine, F-21033 Dijon ; (\*) Intracel, CH-1227 Carouge-Genève.

Une méthode de transfection cellulaire utilisant un plasmide oncogène, soit le pEJ vecteur du c. onc. Ha-ras muté, soit le plasmide p17HBN porteur de la séquence transformante du BPV et du gène de l'hGH, encapsulé dans des liposomes a été appliquée à la transfection *in vitro* d'hépatocytes de rat isolés par la collagénase et à la transfection *in vivo* du foie d'un rat en injectant par voie intraveineuse la préparation de liposomes. La recombinaison de l'oncogène a permis d'isoler les cellules hépatiques prolifératives d'origine parenchymateuse. L'hybridation par "dot blot" de la sonde 4,3 kpb KpnI du BPV a montré sa recombinaison dans les hépatocytes prolifératifs. L'hormone de croissance humaine (hGH) est sécrétée soit *in vivo* dans le plasma du rat soit *in vitro* par les hépatocytes prolifératifs recombinant dans le cas de la transfection par le p17HBN ou d'une co-transfection par les plasmides pEJ et p17hGHneo. Les lignées d'hépatocytes prolifératifs résultant de la recombinaison du Ha-ras ont gardé après plusieurs mois de culture la capacité d'exprimer des fonctions propres au foie et au même niveau d'activité : synthèse des acides biliaires primaires libres et conjugués, sécrétion d'albumine et de transferrine, et expression des mono-oxygénases à cytochrome P-450 métabolisant un procancérogène, le 2-acétylamino-fluorène, en métabolites aryl hydroxylés et surtout en son cancérogène proche, le N-hydroxy-2-acétylamino-fluorène. En conclusion, la recombinaison d'un plasmide oncogène dans des hépatocytes, quiescents par nature, se traduit par une réactivation de leur cycle mitotique sans perte par la lignée d'hépatocytes de phénotypes métaboliques du foie. Enfin, la co-transfection avec un gène codant pour une protéine exogène se traduit par son expression dans la lignée recombinée transformée.