

Collagène de type IV et syndrome d'Alport

Le collagène de type IV est le principal composant des membranes basales et semble exister sous de multiples formes. Les chaînes prépondérantes $\alpha 1$ et $\alpha 2$ ont été initialement caractérisées : elles contiennent un domaine carboxy-terminal non collagénique (NC1) très conservé de 229 aa, un domaine collagénique formant la triple hélice et un court domaine 7S à l'extrémité NH_2 -terminale. Les domaines NC1 et 7S sont les sites principaux d'interaction par lesquels les molécules s'organisent en réseau.

Deux autres nouvelles chaînes $\alpha 3$ (IV) et $\alpha 4$ (IV) ont été identifiées à partir du domaine NC1 extrait de membrane basale glomérulaire (MBG) et de cristallin de bœuf.

Le syndrome d'Alport est une affection héréditaire fréquente (1 : 5000), principalement dominante liée à l'X, caractérisée par une glomérulopathie hématurique progressant vers l'insuffisance rénale associée à une surdité de perception et parfois à une atteinte oculaire (lenticône, rétinopathie). L'atteinte ultrastructurale caractéristique de la MBG (irrégularités de la *lamina densa*) associée à l'absence de fixation de certains anticorps dirigés contre le domaine NC1 du collagène IV sur les membranes basales de certains patients ont conduit à suspecter un défaut structural du collagène IV à l'origine de la maladie. Les chaînes $\alpha 1$ et $\alpha 2$, localisées sur le bras long du chromosome 13, pouvaient être innocentées dans cette affection liée à l'X. L'identification d'une nouvelle chaîne

de collagène de type IV codée par un gène situé sur le chromosome X a été récemment réalisée par deux équipes [1, 2]. Ce gène, COL4A5, localisé en Xq22, code pour une chaîne $\alpha 5$ (IV) présentant une grande homologie structurale avec la chaîne $\alpha 1$ (IV), notamment dans le domaine NC1 (83 % d'homologie). Sa structure exonique a été précisée pour la moitié 3'-terminale [3] et se révèle tout à fait identique à celle du gène COL4A1, laissant présager l'existence de 52 exons répartis sur environ 100 kb et un gène ancestral commun. L'obtention d'un sérum immun spécifique de la chaîne $\alpha 5$ a permis de montrer au niveau du rein une fixation élective sur la MBG. La responsabilité initialement supposée de ce gène dans le syndrome d'Alport est maintenant établie (*m/s* n° 6, vol. 6, p. 601 et n° 7, vol. 6, p. 710) [4] : trois types de mutations dans trois familles de malades sur 18 étudiées ont été identifiées : une large délétion intéressant les exons 5 à 10 engendrant une courte chaîne $\alpha 5$ probablement non fonctionnelle ; un variant TaqI en *Southern blot* dont la nature n'est pas encore précisée ; et une mutation ponctuelle dans l'exon 3 transformant le codon TGT (cystéine) en TCT (sérine). Cette mutation [5] concerne une cystéine appartenant à l'un des deux sous-domaines contenant chacun six cystéines, restés conservés dans le domaine NC1 de toutes les chaînes α (IV) connues, de la drosophile à l'homme. Ces résidus cystéine participent à la formation de ponts disul-

fures intracaténaires stabilisant chacun des deux sous-domaines homologues dans une chaîne α . Le changement de conformation causé par la perte d'un pont disulfure pourrait affecter soit la formation de la triple hélice, soit la création de liaisons covalentes entre le domaine NC1 concerné par la mutation et le domaine NC1 d'une autre triple hélice adjacente, perturbant l'établissement du réseau caractéristique du collagène IV au sein de la MBG. Le syndrome d'Alport est phénotypiquement très hétérogène, en rapport probablement avec de nombreuses mutations dans le gène COL4A5 restant à caractériser, à l'instar de l'hétérogénéité génétique observée dans l'ostéogenèse imparfaite (due à des mutations du gène codant pour le collagène I). Cependant, l'existence d'un autre gène du collagène IV impliqué dans le syndrome d'Alport n'est pas exclue. Celui-ci pourrait être situé au locus Xq22, « tête à tête » avec COL4A5, de manière similaire à COL4A1 et à COL4A2 sur le chromosome 13.

Très récemment [6], le gène codant pour la chaîne $\alpha 3$ du collagène IV bovin a été cloné et partiellement séquencé, montrant une forte analogie (70 %) avec le domaine NC1 de la chaîne $\alpha 5$.

Le clonage et la localisation chromosomique du gène humain s'avèreront riches d'enseignement à double titre : (1) préciser la structure de l'auto-antigène de Goodpasture (*m/s* n° 3, vol. 4, p. 197) dont la présence sur la chaîne $\alpha 3$ a été démontrée ;

(2) déterminer le rôle de COL4A3 dans le syndrome d'Alport : (a) situé sur le chromosome X, à côté de COL4A5, son altération pourrait rendre compte de l'absence de fixation d'anticorps anti- $\alpha 3$ sur la MBG de certains malades dans la forme typique liée à l'X. Cette absence d'expression antigénique de la chaîne $\alpha 3$ au sein de la MBG de certains patients pourrait cependant n'être que la conséquence d'une chaîne $\alpha 5$ mutée, modifiant la conformation d'un hétérotrimère de collagène IV comportant à la fois $\alpha 3$ et $\alpha 5$, sans lésion directe du gène COL4A3 ; (b) si le gène COL4A3 était localisé sur un autosome, il pourrait être impliqué dans les cas de syndrome d'Alport à transmission autosomique dominante.

On peut toutefois imaginer que soit en cause un autre gène du collagène IV, $\alpha 4$ partiellement caractérisé, mais non encore cloné, ou éventuellement... une sixième chaîne !

B. K.

1. Hostikka SL, Eddy RL, Byers MG, Höyhty M, Shows TB, Tryggvason K. Identification of a distinct type IV collagen α chain with restricted kidney distribution and assignment of its gene to the locus of X chromosome-linked Alport syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 1606-10.
2. Pihlajaniemi T, Pohjolainen ER, Myers JC. Complete primary structure of the triple-helical region and the carboxyl-terminal domain of a new type IV collagen chain, $\alpha 5$ (IV). *J Biol Chem* 1990 ; 265 : 13758-66.
3. Zhou J, Hostikka SL, Chow LT, Tryggvason K. Characterization of the 3' half of the human type IV collagen $\alpha 5$ gene that is affected in the Alport syndrome. *Genomics* 1991 ; 9 : 1-9.
4. Barker DF, Hostikka SL, Zhou J, et al. Identification of mutations in the COL4A5 collagen gene in Alport syndrome. *Science* 1990 ; 248 : 1224-7.
5. Zhou J, Barker DF, Hostikka SL, Gregory MC, Atkin CL, Tryggvason K. Single base mutation in $\alpha 5$ (IV) collagen chain gene converting a conserved cysteine to serine in Alport syndrome. *Genomics* 1991 ; 9 : 10-8.
6. Morrison KE, Germino GG, Reenders ST. Use of the polymerase chain reaction to clone and sequence a cDNA encoding the bovine $\alpha 3$ chain of type IV collagen. *J Biol Chem* 1991 ; 266 : 34-9.

m/s n° 5, vol. 7, mai 91

■■■ La prohibitine, une protéine cytoplasmique inhibitrice de la prolifération cellulaire. L'injection dans des cellules en croissance d'ARN purifié à partir de cellules sénescen-tes ou quiescentes du fait de l'absence de sérum dans le milieu de culture provoque le blocage de la prolifération cellulaire (*m/s* n° 7, vol. 2, p. 404). Le fractionnement des ARN de cellules hors du cycle cellulaire montrait que cette activité se trouvait avec les ARN de 2 kb. Une banque d'ADNc fut construite à partir de cette fraction et criblée de façon différentielle, positivement avec des ADNc radioactifs complémentaires d'ARN de foie en régénération, négativement avec une sonde représentative des ARN de foie normal. L'un des clones obtenus par les équipes américaines associées à l'origine de ce travail est capable de sélectionner, par hybridation, des messagers qui possèdent l'activité inhibitrice [1]. La protéine correspondante semble cytoplasmique, a un poids moléculaire de 30 000 et est présente dans de nombreux types de cellules. Le gène de la prohibitine est l'équivalent chez les mammifères du gène *Cc* de la drosophile, extrêmement important puisque sa délétion homozygote entraîne une mortalité larvaire lors de la transition vers la pupe. Cet effet létal peut expliquer que la perte de fonction du gène prohibitine ne s'accompagne pas de prolifération anormale, comme dans le cas des antioncogènes connus du type p53 et p105^{Rb} : les anomalies induites pourraient être incompatibles avec la survie cellulaire.

[1. Nuell MJ, et al. *Mol Cell Biol* 1991 ; 11 : 1372-81.]

■■■ Transfert génétique de caractéristiques comportementales chez la drosophile. Le gène *period* (*per*) contrôle différentes activités cycliques comportementales de la drosophile : le rythme du chant nuptial, le rythme circadien d'activité locomotrice, etc. (*m/s* n° 4, vol. 2, p. 223). Le chant nuptial est carac-

téristique des différentes espèces de drosophile, et diffère ainsi entre *Drosophila melanogaster* et *Drosophila simulans*. Ce chant est produit par les mâles au moyen de mouvements et de vibrations de leurs ailes. Il est composé de sonorités intermittentes, les intervalles entre deux impulsions sonores étant de 30 à 40 millisecondes chez *D. melanogaster* et de 45 à 55 millisecondes chez *D. simulans*. Cet intervalle varie également avec un rythme qui est, lui aussi, spécifique de l'espèce de mouche. Des travaux antérieurs ont indiqué que des mutations du gène *per* modifiaient les rythmes caractéristiques du chant nuptial. Afin de démontrer que les propriétés spécifiques de ce chant nuptial étaient codées par le gène *per*, des équipes anglo-américaines (Waltham, MA, USA, et Leicester, GB) [1] ont transféré un gène *per* de *D. simulans* dans la lignée germinale d'un mutant de *D. melanogaster* dépourvu de tout rythme circadien et de tout rythme sonore au cours du chant nuptial. Ce transfert aboutit à la restauration chez le mutant de *D. melanogaster* d'un chant nuptial ayant toutes les caractéristiques de celui de *D. simulans*. Le transfert de gènes hybrides permet ensuite de préciser la région du gène *per* responsable de ces caractéristiques d'espèce. Un segment de 122 acides aminés comportant 8 différences entre *D. melanogaster* et *D. simulans* put ainsi être impliqué. Ces résultats sont, à ce jour, les plus précis de ceux reliant un comportement à une information génétique. Les intermédiaires entre le programme génétique et ses conséquences comportementales restent complètement inconnus. Rappelons que le produit du gène *per* semble être un protéoglycane membranaire. Le chant nuptial constituant un signal de reconnaissance entre les mâles et les femelles d'une même espèce, il est possible que des mutations de ce gène aient joué un rôle essentiel dans l'individualisation des différentes espèces. [1. Wheeler DA, et al. *Science* 1991 ; 251 : 1082-5.]

■■■■ **Expression des molécules de classe II dans l'intestin humain normal et atteint de maladie inflammatoire chronique.** Les entérocytes matures normaux, animaux et humains, peuvent exprimer les antigènes de classe II : chez le rat, la localisation préférentielle de ceux-ci à la membrane baso-latérale, l'expression apicale étant faible ou nulle, a été rapportée, alors que la localisation est mal connue dans l'intestin humain. Mayer *et al.* [1] ont étudié l'expression des molécules de classe II, à différents niveaux de l'intestin grêle et du côlon humains, chez le sujet normal et au cours d'états inflammatoires d'étiologies variées incluant la maladie de Crohn. Dans le tube digestif normal, l'expression d'HLA-DR, nulle dans l'estomac, apparaît dans le duodénum surtout distal, puis augmente d'intensité dans le sens aboral pour être maximal dans l'iléon distal, le côlon ascendant, puis rediminuer dans le sigmoïde et le rectum ; la distribution cellulaire est à prédominance apico-latérale, alors que l'expression baso-latérale est faible ; l'expression sur les entérocytes villositaires est significativement plus grande que sur les cellules épithéliales des cryptes. L'intestin normal exprime aussi HLA-DP, de façon moins intense, mais non HLA-DQ. Au cours de diverses maladies inflammatoires du grêle et/ou du côlon — maladie de Crohn grêlo-colique, rectocolite hémorragique, sigmoïdite diverticulaire —, l'expression d'HLA-DR est augmentée, surtout dans la maladie de Crohn ; dans celle-ci, l'expression d'HLA-DR concerne aussi bien les zones lésées que les zones histologiquement saines, et la sous-muqueuse aussi bien que la séreuse et la muqueuse. Comme dans l'intestin humain normal, aucune expression d'HLA-DQ n'a été trouvée. Il est possible qu'un défaut post-transcriptionnel dans l'expression d'HLA-DQ existe dans les cellules épithéliales, défaut non corrigé, dans le travail de Mayer *et al.* [1], par l'interféron γ . Ce travail, qui a le

mérite de présenter une étude topographique très complète de l'expression des molécules de classe II dans l'intestin humain normal et pathologique, laisse bien sûr de nombreuses questions en suspens. La raison pour laquelle les entérocytes de surface stimuleraient préférentiellement les cellules CD8, contrairement aux conventionnelles cellules présentatrices d'antigènes qui stimulent préférentiellement les cellules CD4, reste mystérieuse : d'autres travaux suggèrent que ces mêmes entérocytes seraient susceptibles d'interférer avec les cellules CD4 de la *lamina propria*. Le rôle pathologique éventuel de l'expression des molécules de classe II dans la maladie de Crohn est suggéré par ce travail, mais n'est pas démontré. Il est, également, intéressant de noter que le rôle d'une augmentation de l'expression d'HLA-DR dans certaines entéropathies à contexte d'auto-immunité [2, 3] a été avancé, notamment dans certains cas d'atrophie villositaire totale de l'enfant avec diarrhée intractable [2], où les lésions pourraient être dues à des lymphocytes autoréactifs exprimant le récepteur $\alpha\beta$.

[1. Mayer L, *et al.* *Gastroenterology* 1991 ; 100 : 3-12.]

[2. Cuenod B, *et al.* *Gastroenterology* 1990 ; 99 : 1037-43.]

[3. Hill SM, *et al.* *Gut* 1991 ; 32 : 36-42.]

■■■■ **La synapsine IIb, une protéine qui induit la formation de synapses.** Les neurones communiquent entre eux grâce à des contacts intercellulaires spécialisés que l'on appelle des synapses (voir *m/s* n° 3, vol. 5, p. 256). Une telle organisation nécessite la présence d'éléments caractéristiques au niveau de la membrane de la cellule cible (densité post-synaptique, récepteurs spécifiques, etc.), mais surtout la formation d'une varicosité spécialisée du côté présynaptique, le bouton terminal. Celui-ci contient des organites très différents de ceux présents dans l'axone, notamment des vésicules dites « synaptiques », et il est le siège d'échanges ioniques transmembranai-

res indispensables à la libération de neurotransmetteurs dans l'espace synaptique. Le problème auquel l'équipe de Paul Greengard (*Rockefeller University*, New York, USA) [1] s'est attaqué est de savoir ce qui détermine la formation d'une telle structure présynaptique spécialisée au niveau d'une portion de membrane du neurone. Une famille de phosphoprotéines, appelées synapsines, semblait contenir des candidats intéressants à un tel rôle, car ces molécules sont strictement associées aux vésicules synaptiques et jouent un rôle essentiel dans leur mobilisation au moment de la transmission des messages nerveux. Les auteurs ont donc transfecté une lignée cellulaire issue d'un neuroblastome normalement déficient en synapsine IIb avec le gène codant pour cette protéine. Les cellules de cette lignée ne forment habituellement pas de contacts synaptiques reconnaissables et contiennent peu de vésicules synaptiques. L'expression du gène codant pour la synapsine IIb après transfection a non seulement provoqué une considérable augmentation du nombre de vésicules synaptiques, mais également la constitution de varicosités formant, dans certains cas, des contacts morphologiquement comparables à des synapses. Il est tout à fait intéressant de constater que l'augmentation de la concentration d'une seule protéine est ainsi capable d'induire non seulement la formation des organites auxquels elle est associée, mais bien la constitution d'une structure ressemblant à un bouton terminal et l'organisation de contacts mettant en jeu des éléments cellulaires cibles. Il est vraisemblable que, pour ce faire, la protéine joue essentiellement un rôle d'assembleur d'éléments préexistants dans les cellules du neuroblastome. On est frappé par l'extrême plasticité potentielle d'un tel système dans lequel une cellule nerveuse n'aurait besoin, pour créer un contact synaptique nouveau, que de l'intervention locale d'une seule protéine !

[1. Han HQ, *et al.* *Nature* 1991 ; 349 : 697-700.]

■■■■ La dopamine joue un rôle dans la mémorisation, par l'intermédiaire de récepteurs de type D1 situés sur les neurones du cortex préfrontal [1]. Nous avons souvent présenté dans *m/s* les travaux concernant les voies dopaminergiques issues de la substance noire *pars compacta* qui projettent dans le *striatum* et dont la faillite contribue à la maladie de Parkinson (voir *m/s* n° 2, vol. 7, p. 182). Il existe d'autres systèmes dopaminergiques très importants, décrits d'un point de vue anatomique mais sur lesquels, jusqu'à présent, les données fonctionnelles manquent. Un de ces systèmes naît dans l'aire ventrale tegmentale antérieure, proche de la substance noire, et projette dans les régions rostrales du cortex cérébral, notamment dans le cortex préfrontal. Contrairement au système nigro-strié, dont les récepteurs sont de type D1 et D2, ce système dit « méso-cortical » semble surtout associé à des récepteurs D1. Comme les neurones des régions du cortex préfrontal sont impliqués dans les mécanismes de préparation et d'orientation d'un mouvement conditionné, c'est-à-dire dans des tâches d'intégration très sophistiquées, on avait suggéré depuis plusieurs années que la dopamine pourrait jouer un rôle dans des fonctions dites supérieures. L'équipe de Patricia Goldman-Rakic (*Yale University*, USA) avait ainsi montré que la déplétion en dopamine de la région provoquait une altération des réponses comportementales conditionnées chez le primate [2]. La même équipe va plus loin dans l'analyse aujourd'hui en identifiant, dans ces comportements élaborés, la mémorisation de la tâche comme une des cibles de la dopamine. Des singes chez lesquels des antagonistes du récepteur D1 ont été injectés dans le cortex préfrontal ne parviennent plus à effectuer des tâches oculomotrices avec délai (saccades vers des points précis du champ visuel quelques secondes après visualisation d'un spot lumineux). Ce phénomène, réversible, est strictement lié à la mémorisation de la localisation du spot car

aucun trouble moteur, sensoriel ou motivationnel ne lui est associé. L'utilisation *in vivo* d'antagonistes de récepteurs est une technique comportementale ancienne (voir *m/s* n° 1, vol. 7, p. 72), mais son association, comme c'est le cas ici, aux techniques les plus modernes de conditionnement de primates apparaît pleine de promesses pour ce qu'on appelle maintenant l'étude de la « cognition ».

[1. Sawaguchi T, Goldman-Rakic PS. *Science* 1991 ; 251 : 947-9.]
[2. Brozoski TJ, et al. *Science* 1979 ; 205 : 929-32.]

■■■■ Immortalisation par effet anti-apoptose sous l'influence du virus EBV. Nous avons vu très récemment (*m/s* n° 1, vol. 7, p. 88) que la protéine Bcl 2 jouait un rôle dans l'immortalisation et la transformation cellulaire en s'opposant à l'apoptose de lymphocytes B, agissant probablement au niveau mitochondrial. Ce sont maintenant des gènes du virus d'Epstein-Barr (EBV), codant pour des protéines dites « de latence » qui, de façon coordonnée, semblent bloquer le déclenchement de l'apoptose, c'est-à-dire de la mort programmée avec fragmentation nucléaire de lymphocytes B stimulés de différentes manières : suppression du sérum fœtal dans le milieu de culture, utilisation d'un ionophore calcique et d'anticorps anti-immunoglobulines de surface. Une telle résistance à l'apoptose ne s'observe que pour les lymphocytes exprimant les huit gènes de latence et non pour ceux qui n'expriment que l'antigène nucléaire EBNA 1 et la protéine de maintenance du génome viral. L'expression coordonnée transitoire de ces gènes de latence pourrait ainsi permettre au virus EBV d'éviter la mort par apoptose des cellules infectées et ainsi de persister au sein d'un pool de cellules B à longue durée de vie [1]. Les chercheurs anglais de Birmingham à l'origine de ces résultats pensent que

l'inhibition de l'apoptose, et non l'activation de la prolifération lymphocytaire, pourrait être l'effet dominant des gènes de latence.
[1. Gregory CD, et al. *Nature* 1991 ; 349 : 612-4.]

■■■■ La profiline, un modulateur de l'hydrolyse du PIP₂ induite par des facteurs de croissance. Lorsque des facteurs de croissance du type EGF (*epidermal growth factor*) ou PDGF (*platelet-derived growth factor*) se lient à leurs récepteurs, ceux-ci activent leur activité intrinsèque de tyrosine kinase, ce qui aboutit à une autophosphorylation et à la phosphorylation de substrats exogènes, parmi lesquels la phospholipase C γ (PLC γ) [1]. Cette phospholipase ainsi activée est supposée hydrolyser le phosphatidyl-inositol 4,5-diphosphate (PIP₂) en diacylglycérol (DAG) et en inositol-3 phosphate (IP₃). *In vitro*, cependant, la PLC γ 1 hydrolyse le PIP₂ aussi bien sous sa forme phosphorylée que sous sa forme déphosphorylée. Une équipe de Baltimore (MD, USA) vient de démontrer que ce qui contrôlait l'influence de la phosphorylation de la PLC γ sur son activité enzymatique était une protéine connue depuis plusieurs années, la profiline [2]. La profiline peut se fixer au PIP₂ et au cytosquelette. Le complexe PIP₂/profiline est insensible à la PLC γ déphosphorylée alors que la forme phosphorylée de l'enzyme est susceptible de cliver le PIP₂ ainsi complexé. La profiline permet donc le couplage entre la phosphorylation de la PLC γ par les récepteurs tyrosine kinases et l'hydrolyse du PIP₂. Peut-être la profiline libérée par cette hydrolyse se fixe-t-elle électivement à l'actine et joue-t-elle un rôle dans la modification du cyto-squelette qui accompagne également la stimulation de la prolifération cellulaire sous l'action des facteurs de croissance.

[1. Filhol O, Cochet C. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 980-4.]
[2. Goldschmidt-Clermont PJ, et al. *Science* 1991 ; 251 : 1231-33.]

■■■ **L'anti-oncogène p53 est-il une ribonucléoprotéine ?** Des chercheurs de New York viennent de montrer que la protéine p53 était liée de façon covalente à de l'ARN [1]. Ces mêmes auteurs ayant antérieurement publié que l'antigène grand T du virus simien 40 (SV 40) était, comme p53, lié à de l'ARN, ces résultats suggèrent que cette propriété commune pourrait être impliquée dans les rôles opposés de ces protéines sur la prolifération cellulaire. On sait en effet que p53 et T de SV 40 peuvent former des complexes stables, à moins que p53 ne soit mutée et ait perdu ses propriétés anti-oncogéniques (*m/s n° 8, vol. 5, p. 598*). Samad et Carrol suggèrent que l'anti-oncogène p53, comme l'oncogène T, pourraient être impliqués dans le métabolisme de l'ARN, par exemple sa maturation post-transcriptionnelle ou son transport [2]. Une telle hypothèse serait cohérente avec les données de l'équipe de Pierre May (IRSC, Villejuif) montrant que p53 et T de SV 40 sont associés avec des particules de ribonucléoprotéines contenant des ARN précurseurs [3]. D'autres fonctions ont cependant été proposées pour T de SV 40 et p53, notamment au niveau transcriptionnel (*m/s n° 8, vol. 6, p. 821*).

[1. Samad A, Carrol RB. *Mol Cell Biol* 1991 ; 1 : 1598-606.]

[2. Carrol RB, et al. *Oncogene* 1988 ; 2 : 437-44.]

[3. Caron de Fromentel C, et al. *Exp Cell Res* 1986 ; 164 : 35-48.]

■■■ **Les muscles squelettiques et myocardiques captent et expriment de façon très efficace de l'ADN nu, injecté *in vivo*.** Wolff et al. (Madison, WI, USA) démontraient en 1990 que des gènes, injectés dans l'espace extravasculaire de muscles squelettiques étaient captés et exprimés pendant plus de deux mois par les fibres musculaires [1]. Des études complémentaires menées par des chercheurs du même laboratoire [2] montrent que les myocardiocytes ont aussi cette propriété qui n'est en revanche pas partagée par les autres types cellulaires

étudiés. Les mécanismes de captation des molécules d'ADN par les fibres musculaires ne sont pas connus, mais leur présence dans les myocardiocytes indique qu'ils ne peuvent être simplement rattachés à l'existence des cellules satellites ou des myofibres multinucléées, structures que l'on ne trouve pas dans le cœur adulte. En revanche, la captation facilitée d'ADN pourrait être le fait des tubules T présents aussi bien dans les muscles squelettiques que dans le muscle cardiaque, mais que ne possèdent pas les muscles lisses qui, justement, ne captent pas efficacement l'ADN. Il est suggéré par les auteurs que l'injection directe de gènes dans le cœur pourrait constituer une voie thérapeutique d'intérêt lorsqu'il s'agit de fournir, par exemple, un facteur angiogénique à un secteur myocardique dont la vascularisation est déficiente. Plus généralement, la thérapie génique au niveau du cœur pourrait être réalisée par cathétérisme, si tant est que soient résolus les problèmes de stabilité de l'expression des gènes introduits qui reste limitée à 15 jours chez l'animal non immunodéprimé. En dehors de cette application thérapeutique, la technique décrite pourrait être utilisée pour étudier *in vivo* les séquences régulatrices de gènes exprimés dans les fibres musculaires squelettiques et cardiaques, sans avoir recours à la création de souris transgéniques.

[1. Wolff JA, et al. *Science* 1990 ; 247 : 1456-68.]

[2. Acsadi G, et al. *The New Biologist* 1991 ; 3 : 71-81.]

■■■ **Stimulation permanente d'une protéine G, chez les souris transgéniques.** Les cellules somatotropes de l'hypophyse sécrètent de l'hormone de croissance sous le contrôle du GRF (*growth hormone-releasing factor*). La transduction du signal par le GRF met en jeu une protéine G, qui active l'adénylate cyclase, et entraîne par conséquent une augmentation de la concentration intracellulaire de l'AMP cyclique. La sous-

unité α_s de la protéine G_s est activée par la toxine de *Vibrio cholerae*. L'équipe de G. Sutcliffe, à La Jolla (CA, USA), a créé des souris transgéniques exprimant une construction dans laquelle un fragment de l'opéron de la toxine de *Vibrio cholerae*, codant pour le site enzymatiquement actif mais non pour la partie cytotoxique de la protéine, a été placé sous le contrôle des régions régulatrices du gène de l'hormone de croissance [1]. Ce transgène s'exprime donc dans les cellules somatotropes, la toxine active la protéine G_s, et par conséquent la production d'hormone de croissance par ces cellules. La conséquence en est la naissance de souris géantes. Une telle stratégie, utilisant la construction codant pour la toxine sous le contrôle d'autres promoteurs, pourrait permettre d'évaluer les conséquences d'une production inappropriée d'AMP cyclique par différents types cellulaires. Le potentiel oncogénique d'une telle situation pourrait, par exemple, être évalué. Il faut noter que les souris obtenues par l'équipe de Sutcliffe ne développaient pas de tumeurs hypophysaires, contrairement aux malades décrits par H.R. Bourne chez lesquels une mutation de la sous-unité α_s provoquait des tumeurs hypophysaires avec acromégalie (*m/s n° 8, vol. 6, p. 812*).

[1. Burton SH, et al. *Nature* 1991 ; 350 : 74-7.]

■■■ **Une voie alternative pour activer le canal chlore dans des cellules de mucoviscidose.** La mutation du CFTR (*cystic fibrosis transmembrane regulator*), base moléculaire de la mucoviscidose (*m/s n° 8, vol. 5, p. 589*), entraîne une absence d'activation du canal chlore par l'AMP cyclique et ses dérivés. Plusieurs équipes américaines associées, de Stanford et San Francisco (CA), viennent de montrer que ce canal pouvait néanmoins être activé par une augmentation du calcium intracellulaire, comme dans les cellules normales, et que cette activation empruntait la voie des protéine kina-

ses dépendantes de la calmoduline [1]. La calmoduline est une protéine allostérique fixant le calcium et, sous cette forme liée, activant les protéines kinases spécifiques. L'activation du canal chlore par le calcium est bloqué par des inhibiteurs de la calmoduline aussi bien que par des protéines kinases activées par le complexe Ca^{2+} /calmoduline. En revanche, l'addition de protéine kinase C purifiée, active sur des cellules normales, est sans effet dans les cellules de malade. La protéine kinase C est, rappelons-le, activée par le calcium, mais indépendamment de la calmoduline. La preuve directe de l'implication de kinase dépendante du complexe calmoduline/ Ca^{2+} , est apportée par addition de l'enzyme activée par autophosphorylation, c'est-à-dire rendue indépendante de la calmoduline et du calcium. Les expériences de *patch clamp* utilisées dans cette expérience sont réalisées en position *whole cells* [2], la micropipette étant en communication avec l'intérieur de la cellule. C'est par l'intermédiaire de cette micropipette qu'il est possible d'administrer les kinases et les inhibiteurs dans le milieu intracellulaire et de mesurer leurs effets sur la conductance pour le chlore. Des travaux doivent maintenant s'engager pour déterminer s'il est possible de trouver des agents pharmacologiques qui pourraient activer la voie endogène dépendante de la calmoduline et donc corriger l'anomalie fonctionnelle du canal chlore.

[1. Wagner JA, et al. *Nature* 1991 ; 349 : 793-6.]

[2. Sauve R. *médecine/sciences* 1987 ; 3 : 538-45.]

■■■ Des lymphocytes T auxiliaires Th2 impliqués dans la réponse allergique chez l'homme ? André Capron et Jean-Paul Dessaint ont récemment décrit dans ces colonnes [1] les populations de cellules Th1 et Th2 chez la souris, ces dernières produisant les interleukines 4 et 5, alors que les cellules Th1 pro-

duisent de l'IL-2 et de l'interféron γ ; les deux populations produisent aussi de l'IL-3 et du GM-CSF. Les équivalents humains de ces populations murines n'avaient, cependant, pas été identifiés. B. Kay et al. de Londres (GB) viennent maintenant d'apporter de très forts arguments en faveur de l'existence de cellules Th2 chez l'homme et de leur implication dans la réponse allergique [2]. Du pollen a été injecté sous la peau de 14 volontaires souffrant d'une allergie au pollen. En un autre site, une injection témoin était pratiquée. Les cellules prélevées au niveau du site d'injection du pollen, et non celles provenant du site témoin, contenaient des ARN messagers pour les interleukines 3, 4, 5 et le GM-CSF, signant la nature des cellules productrices. Les gènes de ces trois interleukines sont localisés en des sites proches du chromosome 5 et constituent donc un ensemble à la fois régional et fonctionnel. L'identification d'un probable intermédiaire cellulaire de la réponse allergique devra maintenant être suivie de recherches sur des effecteurs spécifiques permettant d'inhiber l'activation de ces cellules.

[1. Capron A, Dessaint JP. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 958-65.]

[2. Kay B, et al. *J Exp Med* 1991 ; 173 : 775-8.]

■■■ Le virus herpès peut-il être un auxiliaire des virus HIV-1 ? Les chercheurs du laboratoire de R. Gallo ont montré que l'infection *ex vivo* de cellules T par le virus herpès humain 6 (HHV-6) stimulait considérablement l'expression des molécules CD4, récepteurs des virus HIV [1]. Des cellules CD8⁺ infectées par HHV-6 accumulent l'ARN messager de CD4 et produisent de grandes quantités de cette protéine à leur membrane, ce qui semble les rendre susceptibles à l'infection par HIV-1. Le virus herpès pourrait donc augmenter l'inféctabilité des cellules cibles normales CD4⁺ et rendre infectables des lymphocytes CD8⁺. Cependant, il n'existe encore aucune preuve qu'existent, chez les

sujets infectés, les cellules doubles positives CD4⁺, CD8⁺ que laissent prévoir ces travaux, et il est encore trop tôt pour être certain qu'une infection préalable par HHV-6 favorise la contamination *in vivo* par HIV.

[1. Lusso P, et al. *Nature* 1991 ; 349 : 533-5.]

■■■ Le produit de l'oncogène *c-met* est le récepteur du facteur de croissance hépatocytaire HGF. *médecine/sciences* a informé ses lecteurs du clonage de l'ADNc de HGF (*hepatocyte growth factor*), un facteur de croissance synthétisé dans différentes cellules et capable d'induire la division des hépatocytes *in vivo* et *ex vivo*. Il a par la suite été démontré que HGF avait, comme cela est habituel pour les cytokines, de multiples activités biologiques dépassant de loin la sphère hépatique, et qu'il provoquait une phosphorylation de résidus tyrosines au niveau des cellules stimulées ; ce dernier résultat signifiait que le récepteur d'HGF était très probablement un récepteur doté d'une activité de tyrosine kinase. L'une des protéines phosphorylées sur une tyrosine au niveau de cellules mammaires humaines en culture (lignée B5/589) a un poids moléculaire de 145 000, comme la sous-unité β du produit de l'oncogène *c-met*, intracellulaire et porteuse du domaine tyrosine kinase. Des chercheurs américains de Frederick et Bethesda (MD) viennent, par différents moyens immunologiques, de démontrer que la protéine de 145 kDa, dont la phosphorylation sur une tyrosine était stimulée par HGF, était bien cette sous-unité β et qu'il était possible d'immunoprécipiter un complexe entre la protéine Met et HGF [1]. Ce facteur de croissance met donc en jeu une voie de signalisation passant par un récepteur à activité tyrosine kinase, comme EGF, IGF 1, l'insuline, c-Fms... et bien d'autres dont la possible altération dans des cancers a été démontrée.

[1. Smrcka AV, et al. *Science* 1991 ; 251 : 802-4.]