

■■■ **Le soir au coucher, un comprimé pour induire votre transgène.**

Ye *et al.* décrivent, dans un numéro récent de *Science*, un système réglé de production de protéines thérapeutiques après transfert de gènes *in vivo* chez la souris [1]. Ce système repose sur la co-administration de deux vecteurs AAV (*adeno-associated virus*). Le premier code pour deux facteurs de transcription, FKBP12 et FRAP 5, qui peuvent être couplés par la rapamycine [2, 3]. Le second AAV code pour le transgène sélectionné (ici l'érythropoïétine ou Epo), placé sous contrôle d'un promoteur dont l'activité est induite par la fixation des facteurs de transcription. Cette stratégie d'expression génétique inductible par la rapamycine s'est déjà révélée efficace dans des lignées tumorales transfectées de façon stable [4]. Il existe deux autres avantages à cette approche: (1) les AAV permettent une expression prolongée du transgène car le génome viral peut s'intégrer dans le génome cellulaire; et (2) l'injection d'AAV n'entraîne pas de réponse immune cellulaire contre le produit du transgène [5]. Chez la souris et le macaque Rhésus, la co-injection intramusculaire des deux vecteurs n'entraîne une élévation du taux plasmatique d'Epo, suivie d'une augmentation de l'hématocrite, qu'après administration de rapamycine. Il existe aussi une corrélation entre la dose de rapamycine administrée et la concentration plasmatique d'Epo. L'hormone revient à son niveau de base 14 jours après l'arrêt de la rapamycine, mais des injections répétées de rapamycine permettent d'obtenir une concentration élevée d'Epo de façon prolongée. Contrastant avec ce système modulable, l'injection d'un AAV codant pour l'Epo sous contrôle d'un promoteur constitutif CMV (*cytomegalovirus*) entraîne une élévation de l'Epo plasmatique certes prolongée, mais difficilement contrôlable, entraînant le développement

d'une polycythémie sévère. Cette stratégie permettrait donc de régler à la demande, dans le temps, et peut-être aussi quantitativement, l'induction d'un transgène codant pour une protéine thérapeutique. Autre avantage non négligeable, les prises de rapamycine se font par voie orale... Ce sera peut-être une prescription de l'an 2000.

[1. Ye X, *et al. Science* 1999; 283: 88-91.]  
 [2. Brown EJ, *et al. Nature* 1994; 369: 756-8.]  
 [3. Beretta L, Grolleau A. *Med Sci* 1998; 14: 600-2.]  
 [4. Rivera VM, *et al. Nat Med* 1996; 2: 1028-32.]  
 [5. Xiao X, *et al. J Virol* 1996; 70: 8098-108.]

■■■ **Twist again!... dans les craniosynostoses.**

Parmi les craniosynostoses, le syndrome de Saethre-Chotzen dont le phénotype comporte en outre un ptosis bilatéral, des malformations des mains (brachy-, clin-, syndactylie) et des pieds (hallux valgus, syndactylie), est une des plus difficiles à diagnostiquer en raison des variations phénotypiques extra- et intrafamiliales et du caractère parfois extrêmement discret des manifestations. Ce syndrome, autosomique dominant, est dû, dans la majeure partie des cas, à une mutation du gène *TWIST*, localisé en 7p27 (*m/s* 1997, n° 4, p. 576). Des mutations des récepteurs de croissance fibroblastique *FGFR3* et *FGFR2* – normalement impliqués dans d'autres types de craniosténose (*m/s* 1995, n° 12, p. 1748, et 1996 n° 12, p. 1419) – ont été quelquefois trouvées dans certains cas considérés cliniquement comme des syndromes de Saethre-Chotzen. Pour tous ces grands syndromes cliniques, une

querelle sémantique entre hétérogénéité génétique et erreur diagnostique serait totalement stérile. Des études récentes sur des groupes de patients dont le phénotype est typique d'un syndrome de Saethre-Chotzen, et sur des séries de cas difficiles à classer sont infiniment plus éclairantes [1, 2]. Elles démontrent que le gène *TWIST*, qui code pour un facteur de transcription hélice-boucle-hélice, est effectivement en cause dans la plupart des cas cliniquement évocateurs. Les fusions touchent surtout les sutures coronales de façon uni- ou bilatérale, les sutures sagittales et métopiques étant plus rarement atteintes. Mais dans les cas de fusion unilatérale d'une suture coronale sans autre signe clinique de syndrome de Saethre-Chotzen, il convient de rechercher la mutation Pro250Arg de *FGFR3* [3]. Les mutations diverses observées, qui sont très nombreuses (plus de 35), semblent toujours correspondre à une haplo-insuffisance. Si le séquençage ne met en évidence aucune mutation, il faut explorer la région par SSCP (polymorphisme de conformation simple brin) (*m/s* 1992, n° 8, p. 803) car certains cas présentent des délétions plus ou moins étendues d'un segment englobant le gène *TWIST* qui peuvent passer inaperçues. Quand la délétion excède 1Mb, les malades présentent en outre des difficultés d'apprentissage de la lecture. Ainsi, certains cas de syndrome de Saethre-Chotzen sont en fait des syndromes microdélétionnels, avec perte probable d'un gène contigu encore inconnu intervenant dans le développement intellectuel.

[1. Johnson D, *et al. Am J Hum Genet* 1998; 63: 1282-93.]  
 [2. Zackai EH, Stolle CA. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 1277-81.]  
 [3. Gripp KW, *et al. J Pediat* 1998; 132: 714-6.]

■■■■ **Les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> contrôlent *in vivo* l'infection par le VIS.** Les arguments en faveur d'un contrôle de la réplication du VIH-1 par les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> sont de trois ordres: l'inhibition de la réplication *in vitro* par les cellules CD8<sup>+</sup> des sujets infectés, la corrélation inverse entre l'apparition de lymphocytes T cytotoxiques (LTC) spécifiques du VIH-1 et la diminution drastique de la réplication virale lors de la primo-infection, la persistance de LTC spécifiques chez les sujets infectés par le VIH-1 et asymptomatiques à long terme. Le rôle direct de l'immunité cellulaire dans le contrôle de la réplication virale a été mis en évidence dans un modèle de SIDA chez le macaque infecté par le VIS (virus de l'immunodéficience simienne) [1]. L'injection intraveineuse d'anticorps humanisés anti-CD8 aux macaques entraîne une déplétion totale des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> du sang, et de 90 % à 100 % au niveau des ganglions. La durée de cette déplétion est variable en fonction de l'âge: elle peut être inférieure à 21 jours ou plus longue, de 28 à

60 jours, chez les macaques âgés. L'effet de la déplétion des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> est très net sur la durée de la réplication virale lors de la primo-infection par le VIS. La survenue, et le niveau, du pic de virémie sont identiques chez les macaques traités par des anticorps anti-CD8, ou par des anticorps témoins ne reconnaissant pas l'antigène CD8. Cependant, le contrôle de cette réplication par le système immunitaire est incomplet lors de la déplétion des lymphocytes T CD8<sup>+</sup>. En effet la baisse de la réplication virale est retardée ou inexistante respectivement chez les singes ayant une déplétion courte (inférieure à 21 jours) ou longue (supérieure à 28 jours) des LTC. La réplication virale persiste également dans les organes lymphoïdes des singes traités par anticorps anti-CD8. La déplétion des LTC réduit considérablement la durée de vie des macaques infectés. Chez les singes ayant une déplétion en LTC inférieure à 3 semaines, la réapparition de lymphocytes T CD8<sup>+</sup> spécifiques du VIS, mis en évidence par l'utilisa-

tion de tétramères MHC couplés aux peptides du VIS est contemporaine de la diminution de la réplication virale. Les mêmes observations ont été faites chez les macaques chroniquement infectés par le VIS. Dans ces cas, déplétion en LTC et augmentation de la réplication virale vont de pair et la réapparition de lymphocytes T CD8<sup>+</sup> (dont 5 % à 15 % sont spécifiques du VIS) est associée à une baisse de la virémie. Cette étude, confirmée par une autre équipe [2], démontre l'importance du contrôle de la réplication virale par l'immunité cellulaire, lors de la primo-infection, ou de la phase chronique de l'infection par le VIS. Cela donne des arguments pour le développement de vaccins capables d'induire une réponse cellulaire protectrice lors de la primo-infection ou à visée thérapeutique chez les sujets chroniquement infectés.

[1. Schmitz JE, *et al. Science* 1999; 283: 857-60.]

[2. Jin X, *et al. J Exp Med* 1999; 189: 991-8.]