

■■■■ **Les intégrines seraient-elles d'excellents anti-inflammatoires ?** Les gènes *TGF-β* (*transforming growth factor β*) codent pour des précurseurs protéiques dont la partie carboxy-terminale constitue les TGF-β proprement dit, tandis que la partie amino-terminale, plus longue, constitue le LAP (*latency-associated peptide*). Après clivage, les deux entités moléculaires restent associées de façon non covalente, et sous cette forme, le TGF-β ne peut pas se lier à ses récepteurs. En fait, le complexe LAP-TGF-β est même plus large, puisque s'y associe en général une protéine de la matrice extracellulaire appelée *latent TGF-β binding protein 1* (LTBP1). La forme active du TGF-β1 peut être produite par clivage protéolytique, par la plasmine, ou par l'action de radicaux libres oxygénés, intermédiaires probables de l'activation du TGF-β1 après irradiation. Elle peut l'être aussi par la thrombospondine 1 (TSP1), qui se lie au LAP1, et induit un changement conformationnel du TGF-β1. De fait, les souris *TSP1*^{-/-} développent, comme les souris *TGF-β1*^{-/-}, une infiltration de cellules mononucléées diffuse, mais plus atténuée, suggérant que la TSP1 est un activateur physiologique du TGF-β1 [1]. Les deux protéines LAP-β1 et LAP-β3 contiennent une séquence arginine-glycine-aspartate (RGD), présente aussi dans de nombreuses protéines de la matrice extracellulaire et reconnue par certaines intégrines. De fait, LAP-β1 peut se fixer sur l'intégrine αvβ1. Une autre intégrine, αvβ6, principalement exprimée à la surface des cellules épithéliales, reconnaît les motifs RGD de la fibronectine, de la vitronectine et de la tenascine. De façon surprenante, les souris mutantes *β6*^{-/-} développent une réponse inflammatoire exagérée en réponse à une lésion mais restreinte aux tissus cutané et pulmonaire, et qui ne s'accompagne pas de fibrose secondaire, suggérant un rôle de l'intégrine dans le contrôle de la biodisponibilité du TGFβ. Le groupe de Dean Sheppard (*University of California, San Francisco, CA, USA*) montre aujourd'hui, par une approche biochimique directe, que l'intégrine αvβ6 lie le complexe TGF-β1-LAP1 et que cette seule interaction permet l'activation locale du TGF-β1, pourvu que le cytosquelette d'actine soit intact [2]. Cela pourrait

expliquer l'absence de fibrose pulmonaire induite par la bléomycine chez les souris *β6*^{-/-} et l'expression, au niveau de l'épithélium pulmonaire de ces souris, de TGF-β1 sous forme inactive. La fibrose induite par la bléomycine résulte en effet d'une sécrétion accrue de TGF-β1, elle-même secondaire à une augmentation de l'expression pulmonaire de l'intégrine αvβ6. Ces travaux ont un double intérêt : (1) ils confirment que l'activation du TGF-β1 peut faire intervenir un mécanisme non protéolytique ; et (2) démontrent l'importance, dans la réponse locale à l'inflammation, d'une coopération entre cytokines et intégrines, conduisant à la cicatrisation et, dans certains cas, à une fibrose. Ce mécanisme suggère une nouvelle approche de prévention des fibroses associées à une inflammation ou à une irradiation thérapeutique, par exemple par ciblage de l'intégrine β6.

[1. Crawford SE, *et al. Cell* 1998 ; 93 : 1159-70.]

[2. Munger JS, *et al. Cell* 1999 ; 96 : 319-28.]

■■■■ **FLASH, un (imposant) petit nouveau dans la voie de signalisation de Fas.** Les deux « récepteurs de mort » les plus étudiés sont sans conteste le TNFR1 (*tumor necrosis factor receptor*) et CD95 (appelé aussi Fas ou Apo1) [1]. L'étude de souris déficientes pour CD95 et son ligand (CD95L/FasL) a permis de montrer que c'est au niveau de la modulation de la réponse immunitaire que se situe leur fonction principale [2]. La fixation de son ligand sur CD95 entraîne une trimérisation de CD95 et le recrutement d'une molécule intracytoplasmique appelée FADD, la liaison FADD/CD95 s'effectuant *via* des interactions entre des domaines homologues (appelés « domaines de mort ») présents sur ces deux molécules (*m/s* 1999, n° 6-7, p. 893). FADD contient de plus un domaine dit « effecteur de mort » (DED: *death effector domain*) par lequel s'effectue la liaison avec un domaine homologue de la pro-caspase 8. Le complexe formé par l'ensemble de ces protéines est appelé DISC (*death inducing signalling complex*) et jusqu'à l'article publié par Imai *et al.* [3], on pensait que l'oligomérisation de la pro-caspase 8 dans le

DISC induisait son clivage et donc son activation. On sait maintenant que le DISC contient également une autre protéine (de 220 kDa) qui est capable de stimuler l'activation de la caspase 8. Cette molécule appelée FLASH a été isolée par la technique du double hybride dans la levure en utilisant une sonde constituée du domaine DED de la caspase 8. FLASH serait associé à la caspase 8, y compris dans les cellules au repos, alors qu'il ne se lie à FADD et CD95 qu'après stimulation de ce récepteur ; ce serait donc le complexe FLASH/caspase 8 qui serait recruté dans le DISC. Enfin, Imai *et al.* ont montré que FLASH serait aussi capable de s'associer avec la protéine de l'adénovirus E1B19K ce qui diminuerait les propriétés anti-apoptotiques de cette molécule. Deux questions viennent à l'esprit : quel est le rôle précis dans l'activation de la caspase 8, et quelle est la signification physiologique de son interaction avec E1B19K ? A n'en pas douter de nouveaux flashs d'information paraîtront bientôt sur FLASH.

[1. Ashkenazi A, Dixit VM. *Science* 1998 ; 281 : 1305-8.]

[2. Van Parijs L, Abbas AK. *Curr Opin Immunol* 1996 ; 8 : 355-61.]

[3. Imai Y, *et al. Nature* 1999 ; 398 : 777-85.]

■■■■ **La surexpression de la PrP^C ne suffit pas à la réplication du prion.** Les maladies à prions sont caractérisées sur le plan biochimique par l'accumulation d'une protéine, PrP^{Sc}, partiellement résistante aux protéases et qui est la forme modifiée d'un composant cellulaire normal, la PrP^C (*m/s* 1997, n° 2, p. 287). Selon la théorie de Stan Prusiner, la protéine PrP^{Sc} est l'agent exclusif de l'infectiosité. Cette hypothèse est étayée par plusieurs arguments expérimentaux. L'un des principaux est que les souris dont le gène *prp* a été invalidé par recombinaison homologue ne développent pas la maladie. Les encéphalopathies spongiformes sont des affections neurodégénératives dont l'atteinte neurologique requiert l'intervention du système immunitaire [1]. Cependant la nature des effecteurs immunologiques impliqués reste controversée.

Deux observations suggèrent le rôle clé des cellules folliculaires dendritiques: la détection immunohisto-chimique de la PrP^{Sc} dans ces cellules, et l'absence d'effet d'une irradiation corporelle sublétales sur l'infection, que peut expliquer la radio-résistance de ces cellules. Plus récemment, un rôle des cellules B a été évoqué, au vu d'une comparaison de la sensibilité à l'inoculation aux prions d'une large gamme de souris immunodéficientes (*m/s* 1999, n° 2, p. 296). Charles Weissmann, qui vient de rejoindre l'équipe de John Collinge à l'*Imperial College School of Medicine* de St. Mary à Londres, a entrepris d'étudier si la surexpression de la PrP^C dans un organe donné suffit, par elle-même, à induire la réplication du prion [2]. Compte tenu du rôle du système immunitaire, sa stratégie a consisté à cibler, par transgénèse, l'expression de la protéine PrP^C dans les compartiments B et/ou T de souris *ppp*^{-/-}. Plusieurs constructions ont été utilisées: pour cibler l'expression de PrP^C dans les lymphocytes B et T, le gène *ppp* a été placé sous le contrôle d'un promoteur hybride comportant les séquences promotrices du gène du facteur de régulation de l'interféron de type 1 (IRF) [3] et les séquences activatrices du gène de la chaîne lourde des immunoglobulines μ (Tg94/IRF). Pour restreindre l'expression de PrP^C aux seuls lymphocytes T le gène a été mis sous le contrôle du promoteur du gène de la protéine-tyrosine kinase p56^{lck} (Tg/p56^{lck}). Enfin, une construction utilisant le promoteur du gène de l'albumine, dont l'expression est restreinte aux hépatocytes (Tg/album), a été choisie comme témoin. La sensibilité des trois lignées d'animaux transgéniques à l'inoculation intrapéritonéale de la PrP^{Sc} a été testée. Seules les souris Tg94/IRF homozygotes développent la maladie et de l'infectiosité qui est détectée dans les organes lymphoïdes et le cerveau. En revanche, aucune infectiosité n'est détectée dans les tissus lymphoïdes périphériques des deux autres lignées de souris transgéniques. La spécificité d'expression de la PrP^C dans les souris transg-

niques n'est cependant pas parfaite puisque la PrP^C est détectable dans le cerveau des souris Tg/IRF et Tg/album, alors que seuls les animaux Tg/IRF développent la maladie. On ne peut donc pas exclure que la sensibilité des souris Tg/IRF aux prions résulte de l'expression de la PrP^C par certaines cellules cérébrales, et/ou par certaines cellules périphériques autres que les cellules B et T. Si les résultats présentés peuvent suggérer que les cellules folliculaires spléniques des souris Tg/IRF expriment PrP^C, les auteurs ne donnent, en revanche, aucun renseignement sur l'expression cellulaire du transgène dans le cerveau. Quoi qu'il en soit, ces travaux montrent que la simple surexpression de la PrP^C n'est pas suffisante à la réplication du prion. En soi, cela n'est pas très surprenant compte tenu de la diversité des organes exprimant la PrP^C tout en n'étant pas infectieux, comme le muscle, ou la peau ! La nature du ou des facteur(s) cellulaire(s) nécessaires à l'infectiosité reste mystérieuse. S'agit-il d'un récepteur pour la PrP^C? D'une molécule chaperonne?...

- [1. Cesbron JY, et al. *Med Sci* 1998; 11 : 1204-10]
- [2. Raeber AJ, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96 : 3887-92.]
- [3. Harada H, et al. *Mol Cell Biol* 1994; 14 : 1500-9.]

■■■■ **GATA-6, un facteur GATA spécifique de l'épithélium respiratoire.** Le facteur de transcription TTF-1 (*thyroid transcription factor 1*), protéine de la famille Nkx-2, est exprimé au cours du développement dans la thyroïde, l'épithélium respiratoire et certaines régions du système nerveux central. TTF-1 est impliqué non seulement dans la morphogenèse pulmonaire, mais aussi dans la régulation des gènes de l'épithélium respiratoire. Après la naissance, son expression se restreint aux cellules épithéliales respiratoires bronchiolaires et alvéolaires, où il active la transcription de gènes codant pour les protéines surfactantes A, B et C et pour la protéine CCSP (*Clara cell secretory pro-*

tein). TTF-1 n'agit pas seul: on sait, par les travaux du groupe de JA. Whitsett (Cincinnati, OH, USA), qu'il interagit avec le facteur nucléaire HNF-3 (*hepatocyte nuclear factor 3*), un membre de la famille des *forkhead* (*m/s* 1997, n° 11, p. 1356) [1]. Deux sites de fixation pour HNF-3 existent dans la région promotrice 5' de TTF-1. Cette même équipe démontre aujourd'hui la colocalisation de TTF-1 avec GATA-6, un membre de la famille GATA exprimé dans les tissus non hématopoïétiques. Les deux protéines sont co-exprimées dans les cellules épithéliales respiratoires [2], et leur interaction est confortée par l'existence, dans la région régulatrice 5' de TTF-1, à proximité de la séquence fixant HNF-3, d'un élément GATA, conservé à travers l'évolution. Des expériences de co-transfection ont confirmé que GATA-6 activait la transcription de TTF-1 et, par l'intermédiaire de TTF-1, contrôlait l'expression des protéines surfactantes. GATA-5, exprimé dans les cellules mésenchymateuses et non dans les cellules épithéliales, n'est pas impliqué. Une combinaison de trois facteurs de transcription, HNF-3, GATA et Nkx, appartenant à des familles distinctes, contrôle donc les gènes cibles de l'intestin primitif antérieur. Des travaux récents ont, d'ailleurs, montré la conservation phylogénétique de ce processus chez *Caenorhabditis elegans*, chez lequel trois gènes, *pha-4*, *elt-2* et *che-22* (respectivement homologues d'un gène *forkhead*, d'un gène *GATA* et d'un gène *Nkx*) sont impliqués dans le développement pharyngé et intestinal [3]. On a là, au niveau de l'épithélium respiratoire, l'exemple d'un complexe moléculaire impliquant un facteur GATA (ici GATA-6) qui s'associe à d'autres protéines pour contrôler la synthèse des protéines nécessaires à l'adaptation post-natale de l'épithélium respiratoire.

- [1. Ikeda K, et al. *Mol Cell Biol* 1996; 16 : 3626-36]
- [2. Shaw-White JR, et al. *J Biol Chem* 1999; 274 : 2658-64]
- [3. Kalb JM, et al. *Development* 1998; 125 : 2171-80]