

tion de radicaux libres, et que la valeur du potentiel membranaire mitochondrial ou le niveau de couplage de la respiration à la phosphorylation de l'ADP module la production des radicaux libres mitochondriaux. Les macrophages sont des cellules riches en mitochondries. Il semble donc, comme cela avait été proposé [10-12], qu'UCP2 soit un régulateur de la production des ions superoxyde.

L'absence d'UCP2 : effet protecteur... ou délétère ?

Il apparaît donc que l'absence d'UCP2 accroît la production des radicaux libres par les macrophages et confère aux souris une meilleure résistance aux agents pathogènes. Ces résultats indiquent qu'UCP2 peut moduler l'immunité innée et non spécifique et pourrait être une cible thérapeutique permettant de moduler l'activité des macrophages. Cependant, l'absence d'UCP2 dans des cellules autres que les macrophages (cellules épithéliales, neurones, cellules des îlots pancréatiques...) devrait logiquement

aboutir aussi à une augmentation des taux de radicaux libres dans ces cellules. Il reste à déterminer si dans ce cas, la moindre résistance aux stress oxydatifs pourrait être responsable de pathologies dégénératives.

En conclusion, il est probable qu'UCP2, en modifiant l'activité mitochondriale, a pour fonction principale d'empêcher l'élévation du taux des radicaux libres dans les cellules. UCP2 semble ainsi être un gène d'adaptation au métabolisme de l'oxygène et un gène de réponse aux oxydants.

1. Himms-Hagen J, Ricquier D. Brown adipose tissue. In: Bray G, Bouchard C, James WPT, eds. New York: Marcel Dekker, 1997: 415-41.
2. Ricquier D, Bouillaud F. Les protéines découplantes mitochondriales. *Med Sci* 1998; 14: 889-97.
3. Enerbäck S, Jacobsson A, Simpson E, et al. LP. Mice lacking mitochondrial uncoupling protein are cold-sensitive but not obese. *Nature* 1997; 387: 90-4.
4. Fleury C, Neverova M, Collins S, et al. Uncoupling-protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nat Genet* 1997; 15: 269-72.
5. Gimeno R, Dembski M, Weng X, et al. Cloning and characterization of an uncoupling protein

homolog. A potential modulator of human thermogenesis. *Diabetes* 1997; 46: 900-6.

6. Ricquier D, Bouillaud F. The uncoupling protein homologues: UCP1, UCP2, UCP3, StUCP and AtUCP. *Biochem J* 2000; 345: 161-79.
7. Boss O, Hagen T, Lowell BB. Uncoupling Proteins 2 and 3. Potential regulators of mitochondrial energy metabolism. *Diabetes* 2000; 49: 143-6.
8. Laloi M, Klein M, Riesmeier JW, et al. A plant cold-induced uncoupling protein. *Nature* 1997; 389: 135-6.
9. Arsenijevic D, Onuma H, Pecqueur C, et al. Disruption of the uncoupling protein-2 gene in mice reveals a role in immunity and reactive oxygen species production. *Nat Genet* 2000; 26: 345-9.
10. Nègre-Salvayre A, Hirtz C, Carrera G, et al. A role for uncoupling protein-2 as a regulator of mitochondrial hydrogen peroxide generation. *FASEB J* 1997; 11: 809-15.
11. Skulachev, VP. Uncoupling: new approaches to an old problem of bioenergetics. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1363: 100-24.
12. Diehl AM, Hoek JB. Mitochondrial uncoupling: role of uncoupling protein anion carriers and relationship to thermogenesis and weight control « the benefits of losing control ». *J Bioenerg Biomembr* 1999; 31: 493-506.

Daniel Ricquier

Cnrs UPR-9078, 9, rue Jules-Hetzel, 92190 Meudon, France.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **Identification d'un osmorécepteur.** La pression osmotique systémique est probablement l'une des constantes de l'organisme qui est soumise au contrôle le plus strict. Sa détection est classiquement attribuée à des canaux ioniques sensibles aux modifications de la tension membranaire. Cependant, si de tels canaux ont été isolés chez les bactéries, la levure, *C. elegans* ou la drosophile, aucun ne l'avait jusqu'à présent été chez les vertébrés. Le premier osmorécepteur des vertébrés vient probablement d'être identifié par l'équipe de Stephen Heller [1]. Les auteurs ont recherché une protéine homologue à deux autres canaux cationiques appartenant à la même famille : le premier, OSM-9, est exprimé chez la drosophile et impliqué dans la détection des stimulus mécaniques, et le second est le récepteur vanilloïde de type 1

(VR1) impliqué chez l'homme dans certains stimulus nociceptifs. Ils ont ainsi identifié chez le rat, la souris et l'homme un canal cationique qu'ils ont nommé VR-OAC (pour *vanilloïd receptor-related osmotically activated channel*). La structure présumptive de VR-OAC, avec six domaines transmembranaires et trois motifs ankyrine à son extrémité amino-terminale, indique que cette protéine est bien un membre de la famille OSM-9. VR-OAC est un canal cationique dont l'ouverture est activée par la diminution de la pression osmotique. Il permet l'entrée de Ca²⁺ dans la cellule, provoquant la libération de Ca²⁺ intracellulaire. Sa sensibilité à l'hypotonie est remarquable : il suffit en effet d'abaisser la pression osmotique à une valeur de 292 mosm/kg H₂O, ce qui correspond à une diminution de 1 % de sa valeur normale, pour observer une

augmentation du Ca²⁺ intracellulaire. Chez le rat, VR-OAC est exprimé dans le système nerveux central par les neurones de certains organes circumventriculaires. On sait que ces neurones sont impliqués dans la détection des variations de pression osmotique et se projettent vers les cellules neurosécrétoires des noyaux supra-optique et paraventriculaire de l'hypothalamus qui sécrètent... l'hormone anti-diurétique. On le trouve également dans l'oreille interne et le rein, qui sont tous deux sensibles aux variations de pression osmotique ou hydrostatique, ainsi que dans certains neurones du ganglion trigéminal et les cellules de Merkel où ils pourraient jouer un rôle dans la sensibilité aux stimulus mécaniques.

[1. Liedtke W, et al. *Cell* 2000 ; 103 : 525-35.]

■■■■ **Interleukine... 21.** Une nouvelle cytokine et son récepteur viennent d'être identifiés par deux équipes américaines [1, 2] par une démarche purement génétique, de crible soit d'une banque d'EST, soit d'un BAC (*bacterial artificial chromosome*) correspondant au chromosome 16p12. Le gène codant pour le récepteur est sur le chromosome 16 humain, adjacent à celui de la chaîne α du récepteur de l'IL-4, et la protéine a une certaine homologie avec la chaîne β du récepteur de l'IL-2 et appartient à la famille des récepteurs de cytokines de classe I. Celle-ci inclut les récepteurs de l'érythropoïétine, de la thrombopoïétine, de l'hormone de croissance, des IL-2 à 7, et -11, -12, -13, -15 et se caractérise par quatre résidus cystéine et un motif «WSXWS» dans le domaine extracellulaire. La partie intracytoplasmique du récepteur de l'IL-21 s'homodimérise après activation, et sa liaison avec la chaîne γ commune aux récepteurs des IL-2, -7, -9, est probable. JAK1 et STAT5 sont des intermédiaires de la voie de signalisation. Le clonage du ligand fut un jeu d'enfant : expression de l'ADNc du récepteur dans des cellules (BaF3) dont la prolifération dépend de cytokines, et criblage de multiples surnageants de cultures de cellules à la recherche de ceux qui permettent la prolifération des cellules BaF3 exprimant le récepteur. L'IL-21 est proche structurellement des IL-2, 4 et 15, et son gène est situé sur le même chromosome que celui qui contient les gènes codant pour les IL-2 et -15. Les transcrits du récepteur sont abondants dans les tissus lymphoïdes, et dans les lymphocytes T activés ou transformés par l'HTLV-1. Les seules cellules productrices du ligand, l'IL-21, sont les lymphocytes CD4⁺ activés par des anticorps anti-CD3 et anti-CD28, qui miment l'activation antigénique. Fonctionnellement, l'IL-21 ne semble agir que sur des cibles restreintes, lymphocytes T et cellules Natural Killer (NK). Son activité semble exclusivement synergique :

seule, l'IL-21 est sans effet, mais associée aux autres activateurs, anti-CD3 ou autres, IL-15, IL-7 ou IL-2, elle augmente la prolifération de lymphocytes T naïfs (mais pas mémoire). Son activité principale sur les cellules NK serait d'induire l'expression de l'antigène CD16 (ou Fc γ RIII) sur les cellules NK CD56⁺ produites *in vitro* à partir de précurseurs CD34⁺ dont la différenciation vers la lignée NK est stimulée par deux autres cytokines, Flt3-ligand et IL-15.

[1. Parrish-Noovak J, *et al. Nature* 2000; 408: 57-66.]

[2. Ozaki K, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 11439-44.]

■■■■ **Interleukine 23 et...** Nous sommes passés de l'IL-21 (*m/s 2001 n°1 p. 109*) à l'IL-23 sans entendre parler de l'IL-22. Toujours est-il que l'IL-23 identifiée par l'Institut américain de recherche DNAX [1] est proche de l'IL-12, puisque sa structure associe une sous-unité cytokinique, p19, et une sous-unité réceptrice p40. Dans le cas de l'IL-12 qui contient aussi p40, la contrepartie de p19 est p35. Hugues Gascan nous a récemment montré que le second ligand du récepteur CNTF (*ciliary neurotrophic factor*) est bâti sur le même modèle (*m/s 2000, n°10, p. 1149*). Comme p35 de l'IL-12 et la partie CLC (*cardiotrophin-like cytokine*) du CNTF-2, p19 ne peut pas être secrétée seule par les cellules qui la synthétisent, même si elle est dotée d'un signal peptide. Elle doit se coupler dans la cellule à la sous-unité récepteur p40 avant sa sécrétion, ce qui implique que les deux sous-unités soient transcrites dans les mêmes cellules. Aucune des autres sous-unités réceptrices décrites (EBI3, récepteur soluble de l'IL-6, CLF) ne peut se substituer à p40. Physiologiquement, les transcrits p19 sont détectés dans les cellules endothéliales, les lymphocytes T Th1, et les cellules dendritiques dérivées du sang périphérique (et non de la moelle

osseuse). Toutefois, le complexe p19p40 n'est produit que dans des cellules dendritiques cultivées *in vitro* et activées par le TNF- α (*tumor necrosis factor α*), le LPS (lipopolysaccharide) ou un anticorps agoniste du récepteur CD40. C'est donc l'expression et la quantité de p40 qui contrôlent la sécrétion de l'IL-23 et donc son rôle biologique. Seule, p19 n'a aucun effet biologique, et le complexe Hy-p19p40 (une molécule synthétique très puissante parce que d'affinité accrue) ou la cytokine naturelle, produite par les cellules primaires en culture, ont des cibles communes avec l'IL-12, mais agissent surtout sur les cellules T mémoire CD45RO et, dans une moindre mesure et tardivement, sur les cellules naïves. L'IL-23 se lie à la chaîne β 1 du récepteur de l'IL-12, spécifique de p40, mais pas à la chaîne β 2, suggérant qu'il existe une autre chaîne liant spécifiquement p19. On peut remarquer que l'invalidation du gène codant pour la chaîne β 1 du récepteur de l'IL-12 entraîne un phénotype plus sévère que celui qui résulte de l'inactivation de la chaîne β 2, ce qui s'explique puisque, dans ce dernier cas, l'action de l'IL-23 est préservée. Il est trop tôt pour attribuer un rôle thérapeutique à l'IL-23, mais son efficacité, moindre que celle de l'IL-12, pourrait laisser présager une moindre cytotoxicité.

[1. Oppmann B, *et al. Immunity* 2000; 13: 715-25.]

■■■■ **Les hommes, sans le savoir, se font-ils mener par le bout du nez?**

Les humains ont-ils un organe voméronasal, ou, pour le moins, des récepteurs aux phéromones? On sait que, chez les rongeurs, certains signaux chimiques différents des molécules odorantes, les phéromones, lorsqu'ils sont libérés par d'autres animaux de même espèce, sont capables de modifier le comportement sexuel ou social de ceux qui les perçoivent. Ces phéromones

se lie en effet à des récepteurs des neurones sensoriels de l'organe voméronasal (VNO), situé à la base du septum nasal. Ces récepteurs assurent la transduction du signal en potentiel d'action vers une zone particulière du bulbe olfactif, puis à certains noyaux de l'hypothalamus [1]. Les phéromones déclenchent des comportements sexuels et sociaux et des sécrétions hormonales caractéristiques. Chez l'homme, bien que certains auteurs affirment l'existence d'un VNO [2], il semble plutôt que certaines structures analogues à l'organe voméronasal existent au début du développement embryonnaire, mais qu'elles régressent après la naissance et qu'il n'en subsiste que des vestiges à l'âge adulte [3]. Pourtant, il semble que l'homme, comme le porc ou le lapin, ne soit pas insensible aux phéromones [4] qui seraient probablement reçues par des récepteurs portés par les cellules sensorielles dans la muqueuse olfactive. Ils n'ont cependant jamais été mis en évidence jusqu'à présent. Mais à partir d'une librairie génomique humaine, une équipe a recherché des séquences analogues aux gènes *V1r* et *V2r*, identifiés chez les rongeurs et qui codent pour des protéines à sept domaines membranaires, réceptrices de phéromones. De nombreuses homologues de séquence ont été trouvées mais la plupart se révèlent être des pseudo-gènes. Un seul gène avec cadre de lecture ininterrompu a retenu l'attention. Ce *V1RL1* (*V1r-like gene 1*) code pour une protéine de 313 acides aminés. Il est exprimé dans la muqueuse olfactive (ainsi que très faiblement dans le cerveau, le poumon et le rein) [5]. Cette étude préliminaire devra être confirmée (notamment par hybridation *in situ*) pour déterminer quel(s) type(s) de neurones sensoriels olfactifs possèdent des transcrits *V1RL1*. Si l'existence de tels neurones sensoriels se confirmait, nous pourrions alors expliquer certaines modifications comportementales inattendues de la part de nos

amis et connaissances et, pourquoi pas?, les diriger ou les prévenir. Mais rien n'est moins sûr...

- [1. Dulac C. *Med Sci* 1997; 13: 201-7.]
- [2. Moran DT, et al. *Steroid Biochem Mol Biol* 1991; 39: 545-52.]
- [3. Stensaas LJ, et al. *Steroid Biochem Mol Biol* 1991; 39: 553-60.]
- [4. Stern K, McClintock N. *Nature* 1998; 392: 177-9.]
- [5. Rodriguez I, et al. *Nat Genet* 2000; 26: 18-9.]

■■■■ **Bienvenue aux puces à protéines.** Le développement et l'utilisation des puces à ADN permettent maintenant l'étude simultanée de l'expression de milliers de gènes dans un contexte cellulaire normal ou pathologique. En revanche, l'étude des protéines, les réels effecteurs biologiques, est encore limitée aux approches biochimiques *in vitro* ou éventuellement à la technique du double hybride d'application très ponctuelle. Ces méthodologies non seulement ne caractérisent qu'une protéine à la fois mais comportent aussi plusieurs entraves à l'analyse de la conformation des protéines étudiées et aux modifications qu'elles peuvent subir. Dans ce contexte des efforts ont été entrepris par plusieurs équipes pour développer et appliquer la technique des puces à l'étude directe des protéines. Après plusieurs essais à l'aide de microtubes [1, 2], la première véritable puce à protéines vient d'être décrite [3]: elle utilise un support solide en verre de la taille d'une lamelle de microscope. Les protéines (jusqu'à 10 000/lamelle) sont déposées à l'aide d'un robot identique à celui qui est utilisé pour les puces à ADN et fixées au support solide dans un environnement non dénaturant par liaison chimique entre le support activé avec des aldéhydes et les groupements aminés des protéines. Cette méthodologie a pu être appliquée à la détection d'interactions protéiques (enzymes-substrat; anti-

corps; réactions chimiques nécessitant un environnement adéquat; inhibiteurs). Elle s'est révélée suffisamment sensible pour pouvoir détecter des concentrations de seulement 12,5 pM ou des affinités de l'ordre du μ M. Pour pouvoir être appliquée à une large échelle elle nécessitera cependant encore un important travail de purification de milliers de protéines en même temps et certaines ne permettront jamais de tels procédés. Néanmoins cette technologie pourrait dans un futur proche être exploitée pour quantifier l'abondance de protéines dans différents tissus ou pour déterminer l'activité de drogues potentielles sur la base d'une étude simultanée de nombreuses cibles.

- [1. Uetz P, et al. *Nature* 2000; 403: 623-7.]
- [2. Arenkov P, et al. *Anal Biochem* 2000; 278: 123-31.]
- [3. Mc Beath G, Schreiber SL. *Science* 2000; 289: 1760-3.]

**JOURNÉES
INTERNATIONALES
D'ENDOCRINOLOGIE
CLINIQUE
HENRI-PIERRE KLOTZ**
Société Française
d'Endocrinologie
17-18 mai 2001

Les 44^{es} Journées Internationales d'Endocrinologie Clinique auront lieu à Paris les 17 et 18 mai 2001 et seront consacrées à : « **Obésité : le retour vers l'endocrinologie** »

Date limite de réception des résumés : 15 janvier 2001

Renseignements :
Dr G. Copinschi
Laboratoire de Médecine
Expérimentale
Université Libre de Bruxelles -
CP 618
808, route de Lennik
B-1070 Bruxelles - Belgique