

■■■ Apoptose indépendante de p53 et relayée par une protéine phosphatase.

Les agents provoquant des lésions de l'ADN entraînent une accumulation de la protéine p53 qui conduit, soit à un arrêt de la croissance en phase G₁ du cycle cellulaire, soit à l'apoptose. L'arrêt du cycle cellulaire passe, au moins en partie, par l'induction de la protéine P21^{WAF1/CIP1}, un inhibiteur de nombreuses kinases du cycle cellulaire de type Cdk [1]. Dans des cellules déficientes en cet inhibiteur de kinases, les radiations ionisantes perdent leur pouvoir de bloquer le cycle cellulaire en G₁ [2]. L'inhibition de ces kinases bloque la phosphorylation de la protéine Rb, nécessaire à la poursuite du cycle cellulaire. La protéine Rb déphosphorylée est, en effet, un inhibiteur de la croissance cellulaire, probablement du fait de son interaction avec des facteurs de transcription de la famille E2F (*m/s n° 8, vol. 7, p. 864*). Cependant, Dou *et al.*, de Pittsburgh (PA, USA) ont observé que le traitement par des agents anticancéreux de cellules dépourvues de p53 entraînait également une déphosphorylation de la protéine Rb accompagnée d'un arrêt en G₁ et d'une apoptose [3]. Cet arrêt de croissance et l'apoptose sont inhibés par des inhibiteurs des protéines phosphatases (acide okadaïque, calyculine). De fait, les cellules p53⁻ traitées par les anticancéreux sont le siège de l'induction d'une activité de sérine/thréonine phosphatase qui co-immunoprécipite avec la protéine Rb hyperphosphorylée. Les agents susceptibles d'entraîner des lésions de l'ADN peuvent donc stimuler une protéine phosphatase qui induit la déphosphorylation de la protéine Rb, bloquant ainsi les cellules en G₁ et les engageant dans l'apoptose.

[1. Darbon JM, *et al. médecine/sciences* 1995; 11 : 349-56.]

[2. Brugarolas J, *et al. Nature* 1995; 377: 552-7.]

[3. Dou QP, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 9019-23.]

■■■ Les protéases de type ICE, point de convergence des différents types de signaux apoptotiques.

Pierre Golstein rappelait récemment que les lymphocytes T cytotoxiques détruisaient leur cible grâce à deux systèmes majeurs: la perforine et le transfert de protéases à sérine de la famille des granzymes, et la stimulation du récepteur Fas par le ligand de Fas lymphocytaire [1]. Par ailleurs, des résultats ont récemment démontré que le signal apoptotique passant par le récepteur Fas, de même que celui passant par le récepteur du TNF α , pouvait être inhibé en bloquant l'activité de protéases de la famille ICE/Ced-3 [2] (*m/s n° 7, vol. 11, p. 1053*). Les protéases de la famille ICE/Ced-3, appartenant à la famille des protéases à cystéine, sont synthétisées sous une formule inactive et doivent être activées par clivage protéolytique. L'une d'entre elles, récemment découverte, est CPP32, dont l'une des cibles est la poly(ADP-ribose) polymérase nucléaire dont le clivage est un signe précoce de l'apoptose de nombreuses cellules (*m/s n° 10, vol. 11, p. 1487*). Darmon *et al.* (Québec, Canada) montrent maintenant que l'enzyme granzyme B clive, et donc active très efficacement la protéase CPP32 [3]. Par conséquent, l'effet cytolytique des lymphocytes T CD8 pourrait être relayé par l'activation de cette famille de protéases ICE/Ced-3, d'une part par un signal passant par Fas et, d'autre part, par leur activation protéolytique directe sous l'effet de granzymes pénétrant dans la cellule cible grâce aux pores provoqués par l'action de la perforine.

[1. Golstein P. *médecine/sciences* 1995; 11 : 99-104.]

[2. Martinou J. *médecine/sciences* 1995; 11 : 367-73.]

[3. Darmon AJ, *et al. Nature* 1995; 377: 446-8.]

■■■ **Polyglobulie familiale à transmission dominante due à une mutation du récepteur de l'érythropoïétine.** Nous vous rapportons, il y a quelques mois, les derniers travaux concernant le mécanisme d'action du récepteur de l'érythropoïétine (EPOR) qui avaient permis de réinterpréter les résultats d'une étude de polyglobulie héréditaire liée à une anomalie de EPOR (*m/s* n°6, vol. 11, p. 927). Une nouvelle famille souffrant d'un trouble très voisin a été reconnue. La séquence du gène EPOR démontrait l'insertion d'un nucléotide G en position 5974, entraînant un décalage du cadre de lecture, un codon stop prématuré et la production d'une protéine amputée de 64 acides aminés à son extrémité C-terminale. L'étude a été poussée plus loin; on a pu montrer que le transcrit EPOR anormal est exprimé et stable. On a fait aussi une étude fonctionnelle après transfection en lignée cellulaire Ba/F3 de souris du gène muté et du gène normal: une hypersensibilité significative à l'EPO a été retrouvée. Le

gène EPOR a été cloné, séquencé, et la structure protéique déduite; elle comporte trois domaines, extracellulaire, transmembranaire et cytoplasmique. On a pu montrer chez la souris infectée par le virus de Friend qu'une mutation du domaine extracellulaire confère une activité autonome au gène EPOR qui se comporte alors comme un oncogène. Des délétions de la partie 3' (exons 7 et 8), codant pour le domaine cytoplasmique, ont permis de définir une région de régulation positive à l'extrémité 5' de ce segment et une région de régulation négative en 3' (figure 1). La mutation 5974insG étudiée ici (mutation non sens G6002A dans le cas précédemment décrit [1]) modifierait ce domaine de régulation négative, d'où la sensibilité à l'EPO et la prolifération accrues. Ce domaine correspond vraisemblablement au site d'ancrage sur le récepteur de la phosphatase SH-PTP1 [2]. Celle-ci est responsable de la déphosphorylation de la kinase Jak2, autophosphorylée lors de la liaison de l'hormone au récepteur;

en l'absence de cet ancrage, Jak2 reste phosphorylée, ce qui aboutit à une prolongation de la transmission du signal.

[1. Sokol L, et al. *Blood* 1995; 86: 15-22.]

[2. Klingmüller U, et al. *Cell* 1995; 80: 729-38.]

■■■ **Interaction entre les récepteurs de l'érythropoïétine et du SCF (stem-cell factor).**

Le récepteur Kit, une protéine-tyrosine kinase transmembranaire, est spécifique du SCF (*stem-cell factor*). Une mutation de ce récepteur aboutit à une diminution considérable de précurseurs érythroïdes CFU-E dans le foie fœtal, malgré la présence d'érythropoïétine. Par conséquent, les voies de signalisation passant par le récepteur Kit et par le récepteur de l'érythropoïétine semblent toutes deux indispensables à la différenciation érythroïde. Wuh et al., du laboratoire de H.F. Lodish (Cambridge, MA, USA) montrent maintenant qu'une lignée cellulaire de progéniteurs érythroïdes (HCD57), synthétisant en grandes quantités la protéine Kit et le récepteur de l'érythropoïétine, peut être maintenue en survie *ex vivo* par le SCF en l'absence d'érythropoïétine [1]. Dans ces conditions, le récepteur Kit et celui de l'érythropoïétine semblent s'associer physiquement par leurs domaines intracytoplasmiques, aboutissant à la phosphorylation du récepteur de l'érythropoïétine. Ainsi, la tyrosine kinase Kit pourrait activer les récepteurs de l'érythropoïétine par phosphorylation d'une tyrosine qui semble différente de celle impliquée dans la transcription du signal par la tyrosine kinase JAK2 [2, 3]. La liaison de l'érythropoïétine à son récepteur entraîne la phosphorylation de la kinase JAK2 et du récepteur lui-même en une région qui ne semble pas impliquer le site phosphorylé par l'interaction avec Kit. Par conséquent, les kinases Kit et

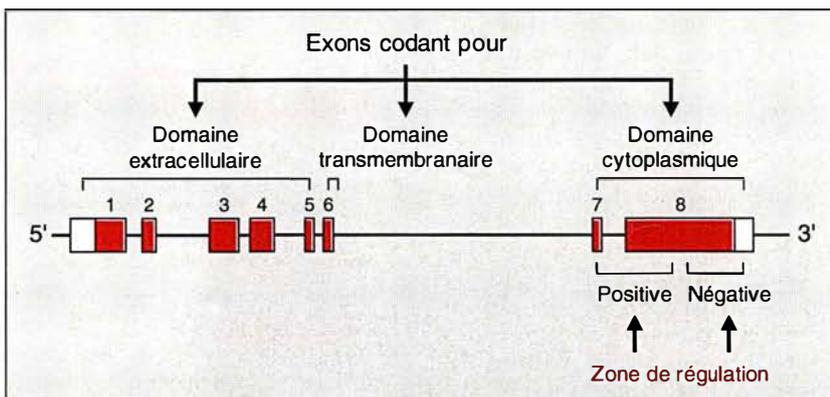


Figure 1. Représentation du gène EPOR. Les premiers exons codent pour le domaine extracellulaire de la protéine. Une mutation dans cette région peut conférer au gène une expression autonome constitutive. Les exons 7 et 8 codent pour le domaine cytoplasmique de la molécule, engagée dans la transmission du signal. La partie 5' de cette région du gène est impliquée dans une régulation positive, la partie 3' dans une régulation négative. L'amputation de 64 résidus décrite dans cette dernière, supprimant la régulation négative, rend compte de l'hypersensibilité à l'érythropoïétine du récepteur et de la polyglobulie qui en résulte.

JAK2 pourraient catalyser, de façon coopérative mais indépendante, la phosphorylation de deux sites intervenant tous deux dans la transmission du signal de l'érythropoïétine, ce qui expliquerait la nécessaire coopération entre les signaux SCF et érythropoïétine.

[1. Wuh, *et al. Nature* 1995; 377: 242-6.]

[2. Kahn A. *médecine/sciences* 1994; 10: 202-5.]

[3. Lacombe C, Mayeux P. *médecine/sciences* 1995; 11: 947-55.]

■■■ **Nouvelles données sur les propriétés de la déféripone, un chélateur du fer actif par voie orale.**

L'hémossidérose est une complication iatrogène de la transfusion sanguine, particulièrement redoutable chez les thalassémiques et drépanocytaires polytransfusés. Le seul traitement en est la chélation du fer, et le seul chélateur universellement admis depuis trente ans, la desferrioxamine (DFO ou Desféral). Outre une neurotoxicité occasionnelle contrôlable, ce médicament a cependant deux inconvénients majeurs: un coût prohibitif et un mode d'administration parentérale par perfusion sous-cutanée lente quotidienne extrêmement contraignant. La recherche d'un chélateur d'administration orale, peu coûteux et non toxique a conduit à la déféripone ou L1, chimiquement 1,2-diméthyl-3-hydroxypyridine-4-one, qui a été en juin 1995 l'objet d'une nouvelle de J.C. Dreyfus résumant ses avantages et inconvénients par comparaison avec le Desféral (*m/s n° 6, vol. 11, p. 909*). Mais ces deux molécules agissent-elles sur les mêmes compartiments? Un travail récent israélo-américain apporte des données complémentaires [1]. A côté du fer héminique, ou lié à la ferritine, bien chélaté par le Desféral, il existe un fer dit « libre » qui se dépose sélectivement sur la face cytoplasmique de

la membrane érythrocytaire. Il facilite la peroxydation des lipides et accélère l'hémolyse. Les auteurs ont fait l'hypothèse que ce fer libre pourrait être préférentiellement chélaté par le L1, parce qu'il s'agit d'une molécule neutre, qui devient hydrophile après fixation du fer, et pourrait, de ce fait, mieux perméabiliser la membrane. L'hypothèse a été vérifiée *in vitro* et *in vivo* sur des globules rouges de sujets présentant une thalassémie intermédiaire ou une drépanocytose homozygote et n'ayant reçu aucune transfusion depuis au moins quatre mois. *In vitro*, on a montré que ce fer libre était libéré de la membrane des globules rouges, en rapport avec le temps d'incubation et les doses de L1 qui restent situées dans le registre des concentrations plasmatiques normalement obtenues; le Desféral, au contraire, est sans action sur le fer libre de la membrane érythrocytaire. Ces résultats ont été confirmés *in vivo* chez six thalassémiques, traités par des doses modérées de L1. Il existe donc un compartiment de fer chélatable qui ne serait pas accessible au Desféral, et le L1 pourrait être protecteur de la membrane cellulaire, diminuant la fixation d'hémichromes, la peroxydation des lipides et l'hémolyse qui en résulte. Les questions pratiques n'en sont pas pour autant toutes résolues; il reste à déterminer la dose minimale non toxique assurant cet effet protecteur. Une étude à long terme s'avérera nécessaire pour évaluer l'efficacité, la toxicité éventuelle, le coût d'un traitement dans le contexte des hémoglobinopathies. Faudrait-il envisager un traitement mixte?

En outre, il a été montré que le fer libre est indispensable à la croissance du *Plasmodium* dans son cycle humain (*m/s n° 10, vol. 11, p. 1501*); la déféripone pourrait donc faire partie du traitement de l'accès palustre.

[1. Shalev O, *et al. Blood* 1995; 86: 2008-13.]