

Commutation des gènes de globine au cours du développement (suite)

Détection d'un gène responsable d'une forme de persistance héréditaire

Les persistances héréditaires d'hémoglobine fœtale (PHHF) constituent un autre type d'anomalies qui s'apparente plus à une curiosité génétique qu'à une véritable affection [1, 2]. L'intérêt de leur étude réside dans la possibilité de les utiliser comme un modèle naturel pour aborder les problèmes de la commutation de l'expression des gènes fœtaux au cours du développement. Chez l'adulte normal la synthèse d'hémoglobine fœtale (Hb F; $\alpha_2\gamma_2$) représente au maximum 0,6 % de l'hémoglobine totale. La distribution de l'Hb F est limitée à une sous-population de globules rouges dénommés *F-cells*. La synthèse à des taux beaucoup plus élevés peut persister dans la vie adulte sans trouble clinique de type hématologique; c'est à cette anomalie que l'on réserve la définition de persistance héréditaire d'Hb F. L'étude phénotypique est une étape cruciale de l'exploration des PHHF; elle associe le dosage chimique et une analyse de la répartition cellulaire de l'Hb F chez les sujets index et leur famille. De façon générale, il existe une bonne corrélation entre la concentration d'Hb F et la proportion de *F-cells*.

Deux grands groupes de PHHF peuvent être distingués. Dans le premier groupe, les concentrations d'Hb F sont de l'ordre de 5 % à 25 %. Les mécanismes en cause sont, soit des délétions ou des inversions géniques de taille plus ou moins étendue au

sein du *cluster* β -globine, soit des mutations ponctuelles dans les régions promotrices des gènes γ . Dans le second groupe, la concentration d'Hb F est comprise entre 1 % et 5 % et sa distribution cellulaire est hétérogène. Ce groupe n'est défini que par l'anomalie phénotypique (% Hb F) et inclut les formes dites « d'accompagnement » (association avec une β thalassémie, une drépanocytose). Les anomalies génétiques en cause sont diverses. Parmi les facteurs influençant le taux d'Hb F, on connaît l'âge, le sexe, un polymorphisme de restriction (en position -158 du gène *G γ*), certains désordres endocriniens et l'association avec une drépanocytose, une β -thalassémie, voire une α thalassémie. Ainsi, la synthèse d'Hb F chez l'adulte peut-elle dépendre de différents facteurs génétiques liés ou non liés au *locus* β -globine. Chez des nouveau-nés normaux, on a néanmoins pu montrer que des différences importantes du niveau d'expression de l'Hb d'un sujet à l'autre n'étaient pas liées aux facteurs précédemment cités [3].

Dans quelques familles, le déterminant PHHF de type « hétérocellulaire » (cellulaire hétérogène) se comporte comme un allèle du complexe β -globine alors que dans d'autres ce déterminant « ségrége » indépendamment, suggérant alors que le *locus* susceptible de contrôler la production de *F-cells* agit en *trans* ou est localisé à une distance respec-

table du complexe β globine sur le chromosome 11. Dans deux cas, une liaison au chromosome X a été suggérée (*m/s*, n° 7, vol 4, p. 386), mais une transmission père-fils a été démontrée dans plusieurs autres cas [4].

Les résultats d'un travail échelonné sur de nombreuses années, effectué dans le groupe de S.L. Thein (D.J. Weatherall, IMM, Oxford, UK) et celui de G.M. Lathrop (Inserm U 358, Paris, France) ouvre de nouvelles perspectives. Un diagnostic de PHHF hétérocellulaire a été porté dans une famille indienne originaire de l'État de Gujarat et forte de 163 membres. La preuve des relations génétiques parents-enfants a été faite par l'utilisation des sondes minisatellites. Les *clusters* α et β -globine ont été ensuite « disséqués » — détermination des haplotypes, recherche de délétions et de mutations ponctuelles, y compris dans les promoteurs — éliminant toute anomalie génétique détectable à ce niveau. En utilisant différents modèles régressifs récemment développés [5, 6], les études de ségrégation ont permis d'arriver à la conclusion qu'un gène dominant ou codominant non lié au *locus* β globine (*lod scores* < -2 à $0 < 0.10$) (*lod score*, voir *m/s* n° 12, vol. 9 p. 1418) et non lié à l'X, était responsable de la PHHF observés [7]. Les méthodes utilisées et l'importance de la famille étudiée devraient permettre de localiser le

(ou les) gène(s) impliqués par rapport à des marqueurs connus. Les déterminants actifs en *cis* importants pour l'expression de l'Hb F commencent maintenant à être bien définis (*m/s* n° 3, vol. 10, p. 346). La question qui demeure posée est celle du mécanisme rendant compte de l'influence d'un ou de plusieurs gènes séparés du *locus* β globine sur la biosynthèse d'Hb F ? Deux mécanismes peuvent être évoqués : une action en *trans* sur la régulation des gènes globine, ou bien une action cellulaire contrôlant la maturation des *F-cells*.

J.R.

1. Labie D, Krishnamoorthy R. Activation des gènes de l'hémoglobine au cours du développement. *médecine/sciences* 1988 ; 4 : 427-34.
2. Labie D, Krishnamoorthy R. Du nouveau dans les séquences activatrices des gènes de globine (I.C.R.). *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 255-8.
3. Rochette J, Dodé C, Leturcq F, Krishnamoorthy R. Level and composition of fetal hemoglobin expression in normal newborn babies are not dependent on β cluster DNA haplotype. *Am J Hematol* 1990 ; 34 : 223-5.
4. Thein SL, Weatherall DJ. A non deletion hereditary persistence of fetal hemoglobin determinant not linked to the β globin gene complex. *Hemoglobin switching. Part B: Cellular and molecular mechanisms*. New York : Alan R Liss, 1989 ; 97-111.
5. Bonney GE. On the statistical determination of major gene in continuous human traits ; regressive models. *Am J Med Genet* 1984 ; 18 : 731-49.
6. Demenais F, Bonney GE. Equivalence of the mixed and regressive models for genetic analysis. I. Continuous traits. *Genet Epidemiol* 1989 ; 6 : 597-617.
7. Thein SL, Sampietro M, Rohde K, Rochette J, Weatherall DJ, Lathrop GM, Demenais F. Detection of a major gene for heterocellular hereditary persistence of fetal hemoglobin after accounting for genetic modifiers. *Am J Hum Genet* 1994 (sous presse).

■■■ **Le transport intracellulaire du CD4 est modifié par la protéine Nef du VIH.** Nef est une protéine précoce cytoplasmique du VIH dont la fonction reste mystérieuse malgré les nombreuses études dont elle est l'objet. L'importance de Nef dans le développement de la maladie a été démontrée chez le singe lorsque sa présence s'est révélée indispensable à l'établissement de la virémie et de l'immunodéficience. *In vitro*, Nef est associée à une réduction du niveau d'expression du CD4 à la surface des lignées T ([1], *m/s* n° 6, vol. 7, p. 625). La signification de cette action a maintenant été établie *in vivo* à l'aide de souris transgéniques pour Nef [2]. La transcription du transgène est sous le contrôle des éléments de régulation du gène codant pour CD2, une molécule d'activation lymphocytaire, et débute très tôt dans l'ontogénie des cellules T, au stade où les deux molécules accessoires CD4 et CD8 sont simultanément exprimées par les thymocytes (stade double positif : DP). Chez ces souris transgéniques adultes, l'expression du CD4 est fortement réduite à la surface des thymocytes DP. Cela s'accompagne d'une diminution du nombre de cellules CD4⁺CD8⁻, probablement à cause d'une anomalie dans le processus de sélection positive (*m/s*, suppl. au n° 1, vol. 5, p. 25). L'anomalie de la thymopoïèse observée chez ces souris Nef⁺ pourrait en partie expliquer le renouvellement déficient des cellules CD4 chez les patients infectés par le VIH. Comme d'autres protéines du VIH, Nef modifie le transport intracellulaire du CD4. Dans ce cas, la diminution d'expression du CD4 est due à son accumulation dans l'appareil de Golgi. Une étude plus approfondie devra être engagée pour déterminer le mécanisme de cette rétention et sa localisation exacte. Outre leur rôle potentiel dans le renouvellement défectueux de la

population T CD4⁺, certaines protéines du VIH (dont Nef) pourraient agir séquentiellement pour diminuer l'expression du récepteur du virus et réduire le risque de surinfection.

- [1. Sabatier JM, et al. *médecine/sciences* 1991 ; 7 : 62-5.]
- [2. Brady HJM, et al. *EMBO J* 1993 ; 12 : 4923-32.]

■■■ **Les récepteurs des stéroïdes à l'ère de la recombinaison homologue.** L'étude du rôle physiologique d'une protéine chez la souris passe de plus en plus souvent par l'analyse des modifications phénotypiques entraînées par l'inactivation du gène codant pour cette protéine. Cette inactivation est obtenue par les techniques de recombinaison homologue développées il y a quelques années [1] et déjà appliquées à plusieurs dizaines de gènes, dont récemment ceux des récepteurs de l'acide rétinolique [2, 3]. Lubahn et al. (Chapel Hill, NC, USA) ont inactivé le gène du récepteur de l'œstradiol par insertion du gène de résistance à la néomycine dans l'exon 2 [4]. Le nombre de mutants homozygotes obtenu n'était pas significativement différent du nombre attendu. Le développement prénatal et le phénotype externe des souris mutantes semble normal. Chez les femelles, une hypoplasie utérine et ovarienne est observée avec absence de corps jaune. Les femelles sont stériles alors que la fertilité des mâles est diminuée. Ces souris pourraient permettre de réévaluer les observations parfois contradictoires sur le rôle des œstrogènes à différentes étapes du développement.

- [1. Lemarchandel V, Montagutelli X. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 18-29.]
- [2. Lohnes D, et al. *Cell* 1993 ; 73 : 643-58.]
- [3. Lufkin T, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 7225-9.]
- [4. Lubahn DB, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 11162-6.]