6. Kaplan J, Gerber S, Bonneau D, *et al.* Location of Usher type I gene on chromosome 14q by linkage with D14S13 (MLJ14 probe). 11th International Workshop on Human Gene Mapping, London, 18-22 August, 1991.
7. Kaplan J, Gerber S, Bonneau D. A gene for Usher syndrome type I gene maps to chromosome 14q. *Genomics* 1992 ; 4 : 979-87.
8. Kimberling WJ, Moller CG, Davenport S, *et al.* Linkage of Usher syndrome type 1 gene (USH1B) to the long arm of chromosome 11. *Genomics* 1992 ; 14 : 988-94.
9. Smith RJA, Lee EC, Kimberling WJ, *et al.* Localization of two genes for Usher syndrome type I to chromosome 11, *Genomics* 1992 ; 14 : 995-1002.
10. Hunter DG, Fishman GA, Mehta RS, Kretzer FL. Abnormal sperm and photoreceptor axonemes in Usher's syndrome. *Arch Ophtalmol* 1986 ; 104 : 385-9.
11. Bonneau D, Raymond F, Kremer C, Klossek JM, Kaplan J, Patte F. Usher syndrome type I associated with bronchectiasis and immobile nasal cilia in two brothers. *J Med Genet* 1993 (sous presse).
12. Brueckner M, D'Eustachio P, Horwich AL. Linkage mapping of a mouse gene, « iv » that controls left-right asymmetry of the heart and viscera. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 5035-8.

Un colloque international sur le thème *« Anxiété : neurobiologie, clinique et perspectives thérapeutiques* se tiendra les 20 et 21 septembre 1993 à Dinard (Ille-et-Vilaine) avec, entre autres, le soutien de l'INSERM
Organisateurs : M. Hamon et M.-H. Thiebot (INSERM U.288), H. Ollat (ANPP-Association pour la Neuro-Psycho-Pharmacologie)
Au programme : Aspects cliniques des différentes formes d'anxiété pathologique ; Modèles animaux ; Comportements sociaux (agression, défense) ; Implications des systèmes mono-aminergiques, GABA-ergiques, et autres ; Implications neuro-endocriniennes et immunitaires ; Mécanismes d'action des anxiolytiques (aspects moléculaires et pharmacologiques des récepteurs du GABA, de la sérotonine, de la cholécystokinine, des acides aminés excitateurs, etc.) ; Nouvelles perspectives thérapeutiques.
Conférenciers : R. Balster (Richmond, USA), J.-C. Baron (INSERM U.320, Caen), G. Biggio (Cagliari, Italie), J.-Ph. Boulanger (INSERM, Sherbrooke, Canada), M. Bourin (Nantes), R. Dantzer (INSERM U.176, Bordeaux), V. Daugé (INSERM U.266, Paris), A. Depaulis (INSERM, Strasbourg), H. Gozlan (INSERM U.2B8, Paris), W. Haefely (Bâle, Suisse), F. Héry (INSERM U.297, Marseille), H. Lüddens (Heidelberg, Allemagne), C.A. Marsden (Nottingham, G.B.), M.-J. Millan (Puteaux), D. Sanger (Bagneux), J.-P. Tassin (INSERM U.114, Paris), M.-H. Thiebot (INSERM U.288, Paris).
Ce colloque réunira une centaine de participants. Les actes paraîtront pour le colloque, sous forme d'une co-édition INSERM/John Libbey Eurotext dans la collection des Colloques de l'INSERM.
Date limite d'inscription : **15 mars 1993**
Pour tout renseignement complémentaire et proposition de communication affichée, s'adresser à l'A.N.P.P., 25, rue de la Plaine, 75020 Paris - Tél. : 43.79.95.42 - Télécopie : 43.79.34.34.

BRÈVES

Un nouveau gène de résistance aux produits cytolytiques. Cole *et al.* (Kingston, Ontario, Canada) viennent de décrire un nouveau membre de la super-famille des transporteurs membranaires dépendant de l'ATP. L'un des mécanismes de la résistance des cellules cancéreuses aux produits cytoliques ou cytostatiques est l'hyper-expression du gène *MDR1 (multi drug resistance)*. Ce gène est souvent amplifié dans les cellules néoplasiques soumises à une chimiothérapie anti-cancéreuse. Le produit du gène *MDR1*, la P-glycoprotéine, est un transporteur membranaire qui semble capable d'expulser hors de la cellule les substances anti-mitotiques par un mécanisme consommant de l'énergie. Cette protéine appartient à une super-famille de transporteurs membranaires possédant tous un domaine de liaison de l'ATP (domaine *ABC, ATP-binding cassette*). Le produit du gène de la mucoviscidose, le CFTR *(cystic fibrosis transmembrane regulator)* et des transporteurs de peptides se liant à des molécules de classe 2 du complexe majeur d'histocompatibilité (gènes *TAP*) appartiennent également à cette famille. L'hyper-expression de la P-glycoprotéine et l'amplification du gène *MDR1* sont des phénomènes rares dans le cancer du poumon. La lignée cellulaire H69 est dérivée d'un cancer du poumon à petites cellules et a été très intensément utilisée pour étudier les caractéristiques de ce type de prolifération. Une variante résistante aux substances chimiothérapiques a été appelée H69 AR. Une banque d'ADN complémentaire des cellules variantes H69 AR a été construite et soumise à un criblage différentiel utilisant des sondes dérivées de cellules H69 et H69 AR. Ainsi a pu être caractérisé un ADN complémentaire caractéristique des cellules résistantes, hybridant avec un ARN messager de 7,8 à 8,2 kb. La séquence codante complète de ce messager indique qu'il possède un domaine *ABC* de liaison de l'ATP, et semble donc appartenir, lui aussi, à cette super-famille des transporteurs membranaires. Cependant, le reste de sa séquence est extrêmement éloigné de celle des autres membres de cette famille. Alors que les gènes *MDR1* et *CFTR* sont localisés sur le bras long du chromosome 7, ce nouveau gène, appelé *MRP (multi-drug resistance-associated protein)* est situé en 16 p 13.1. Les auteurs n'ont pas prouvé que le produit du gène *MRP* était la cause de la résistance des cellules H69 AR aux anti-mitotiques. Cependant, une bonne corrélation existe entre l'amplification du gène *MRP* et la résistance à ces substances. Le mécanisme précis d'action de la protéine MRP n'est pas clair, lui non plus, puisque la concentration intracellulaire des anti-mitotiques n'est pas diminuée dans des cellules résistantes par rapport aux cellules sensibles. Les auteurs suggèrent, mais, là encore, sans preuve, que la protéine MRP pourrait intervenir dans la localisation subcellulaire de ces produits. Enfin, une hyper-expression de cette protéine a aussi été observée *ex vivo*, dans des cellules cancéreuses établies (cellules HeLa dérivées d'un cancer du col utérin) et *in vivo*, dans des cancers pulmonaires « non à petites cellules ».

[1. Marie JP. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 443-8.]
[2. Cole SPC, *et al.* *Science* 1992 ; 258 : 1650-4.]

INTÉRÊT DES CULTURES CELLULAIRES ANIMALES ET HUMAINES EN PHARMACOTOXICOLOGIE

du 15 au 26 mars 1993

Cycle d'études organisé par le laboratoire de Pharmacologie Cellulaire de l'EPHE. Ce stage rentre dans le cadre de la Formation Permanente et s'adresse aux chercheurs et techniciens scientifiques du secteur privé et public.
Responsable scientifique : Madame Monique Adolphe • Laboratoire de Pharmacologie Cellulaire, 15, rue de l'École de Médecine • 75006 Paris • Tél. : 43.29.28.69 • Fax 44.07.10.52

Cardiomyopathie hypertrophique sporadique et mutations *de novo* de la myosine. Le groupe de J. G. et C. E. Seidman (Boston, MA, USA) a découvert en 1990 que la cardiomyopathie hypertrophique familiale, affection transmise selon le mode autosomique dominant, était liée, dans la moitié des cas environ, à une mutation de la chaîne lourde β de la myosine cardiaque *(m/s n° 9, vol. 6, p. 920)*. Un total de sept mutations a été trouvé, toutes du type faux-sens, et toutes situées dans la moitié amino-terminale de la molécule [1]. Cette même équipe [2] a analysé ce gène chez sept malades atteints de la forme sporadique de la maladie. Dans deux cas, des mutations furent trouvées, montrant que des mutations peuvent survenir *de novo*. Un des sujets mutés a transmis la maladie à un descendant, indiquant qu'il devait s'agir d'une mutation de la lignée germinale. L'apparition simultanée, dans une famille, d'une cardiomyopathie et d'une mutation d'une chaîne lourde de la myosine est un argument probant en faveur du rôle causal des altérations de la myosine dans la genèse de la maladie.

[1. Watkins H, *et al. N Engl J Med* 1992 ; 326 : 1108-14.]
[2. Watkins H, *et al. J Clin Invest* 1992 ; 90 : 1666-71.]

Ataxie-télangiectasie, instabilité génomique et p53. La protéine p53 bloque en G1 le cycle cellulaire de cellules dont l'ADN a été endommagé *(m/s n° 9, vol. 8, p. 1002)*. Lorsque des fibroblastes normaux sont soumis à des radiations ionisantes, même à des doses entraînant peu de lésions de l'ADN, ils cessent de proliférer alors qu'augmente l'expression des gènes *p53* et *GATT45*. Dans l'ataxie-télangiectasie, une maladie humaine autosomique récessive caractérisée par une ataxie cérébelleuse progressive avec dégénérescence des cellules de Purkinje, une hypersensibilité aux radiations ionisantes et une susceptibilité au cancer, les fibroblastes en culture sont remarquables par l'insensibilité de leur synthèse d'ADN à l'irradiation. Ce phénomène est parallèle à une non-activation des gènes *p53* et *GATT45* lors d'un traitement aux radiations ionisantes. Cependant, le transfert dans ces cellules d'un vecteur d'expression commandant l'accumulation de protéine p53 entraîne une activation du gène *GATT45* et un blocage du cycle cellulaire en G1. Par conséquent, M.D. Kastan, *et al.* (Baltimore, MD ; Bethesda et Cambridge, MA, USA) proposent un schéma dans lequel le gène de l'ataxie-télangiectasie (AT) est indispensable à la transmission du signal induit par les radiations ionisantes, et donc à l'activation du gène *p53*. La protéine p53 peut se fixer en un site intronique du gène *GATT45* dont elle est, très probablement, un activateur transcriptionnel. Le produit de ce dernier gène serait alors, directement ou indirectement, responsable du blocage des cellules en G1 [1]. L'absence d'induction de *p53* et de *GATT45* faciliterait la fixation et l'accumulation de lésions de l'ADN et jouerait donc un rôle dans la susceptibilité de ces malades au cancer.

[1. Kastan MD, *et al. Cell* 1992 ; 71 : 587-97.]

Le *knock-out* du gène de l'inhibine est associé au développement de tumeurs gonadiques. Les inhibines sont des hétérodimères α/β composés de sous-unités appartenant à la même famille que le TGFβ, l'hormone anti-müllérienne et des inducteurs de la différenciation mésodermique chez *Xenopus*. L'action des inhibines est antagoniste de celle des activines (dimères de structure générale β/β) sur la sécrétion de FSH par l'hypophyse et la gamétogenèse. Chez la femelle, l'inhibine entraîne une atrésie folliculaire et inhibe la prolifération des cellules de la *granulosa* alors que l'activine a un effet inverse. L'équipe de A. Bradley (Houston, TX, USA) vient de montrer que les mâles et les femelles homozygotes pour une mutagenèse insertionnelle du gène de l'inhibine α étaient stériles et développaient des tumeurs gonadiques, ovariennes et testiculaires, accompagnées d'une prolifération de tissu stromal mal différencié avec d'importants remaniements tissulaires. Dans les testicules, la spermatogenèse est bloquée parallèlement au développement de la tumeur et la proportion des cellules de Leydig est diminuée, suggérant la participation des cellules de Sertoli au processus tumoral. Dans les ovaires, on trouve une prolifération des cellules de la *granulosa* et de la thèque [1]. Ces résultats suggèrent que l'inhibine et l'activine sont des facteurs respectivement freinateurs et stimulateurs de la croissance de certaines cellules gonadiques, par un mécanisme autocrine dans le cas des cellules de Sertoli et de la *granulosa*, et par un mécanisme paracrine dans les cellules thécales. D'une certaine manière, on pourrait considérer le gène de l'inhibine comme un anti-oncogène pour ses cellules cibles. L'intervention d'anomalies de ce système dans des tumeurs gonadiques spontanées reste à prouver, de même que l'éventuelle utilité d'inhibine recombinante dans certains cancers des testicules et de l'ovaire dans l'espèce humaine.

[1. Matzuk MM, *et al. Nature* 1992 ; 360 : 313-19.]

Le gène codant pour la protéinase-3 est localisé sur le chromosome 19. La protéinase-3 (PR-3) est une sérine protéinase neutre d'environ 26 000 daltons localisée dans les granulations azurophiles des polynucléaires neutrophiles humains. Elle est identique à la myéloblastine, identifiée pour la première fois dans une lignée de cellules leucémiques, et elle représente l'auto-antigène principal associé à la granulomatose de Wegener, à l'origine de la formation des anticorps correspondants *(voir m/s n° 8, vol. 8, p. 927)*. A.B. Sturrock *et al.* [1] ont cloné et séquencé le gène codant pour la PR-3. Le gène comporte environ 6 500 paires de bases

et est constitué de cinq exons et de quatre introns. Son organisation est identique à celle des gènes des autres sérines protéases. Cependant il est plus grand que les gènes de celles-ci, du fait de la taille accrue des introns I et III. Les gènes de la PR-3, de l'élastase leucocytaire et de la cathepsine G ont probablement un ancêtre commun. Le gène de la PR-3 a été localisé sur le chromosome 19. Les auteurs rappellent que la PR-3 pourrait être impliquée dans la prolifération et la différenciation des cellules myéloïdes. Il est intéressant de noter que des anomalies portant sur le chromosome 19 ont été rapportées dans les leucémies aiguës myéloïdes et chez 18 % des malades ayant une leucémie myéloïde chronique en transformation aiguë myéloblastique.

[1. Sturrock AB, *et al. J Biol Chem* 1992 ; 267 : 21193-9.]

Les armes secrètes des myxomavirus : de faux récepteurs de cytokines. Le myxomavirus de type sauvage est un poxvirus extrêmement virulent chez les lapins adultes domestiques. Parmi ses gènes de virulence, la séquence ouverte M-T7 code pour une protéine soluble qui a une ressemblance significative avec le récepteur de l'interféron γ. L'équipe canadienne d'Edmonton à l'origine de cette découverte [1] montre que la protéine virale M-T7 est effectivement capable de fixer l'interféron γ. Par conséquent, la sécrétion par les cellules infectées d'un analogue soluble non fonctionnel du récepteur de l'interféron γ empêche cette cytokine de manifester son puissant effet antiviral en se fixant à ses récepteurs cellulaires normaux. Cette stratégie est également utilisée par un autre poxvirus, le virus du fibrosarcome de Shope, dont l'un des gènes de virulence ressemble à un récepteur du facteur TNF *(tumor necrosis factor)*. Ce dernier gène semble protéger des cellules infectées contre l'action des interférons α et β. Les auteurs canadiens proposent d'appeler « virorécepteurs » ces gènes de virulence agissant en divertissant des cytokines antivirales de leur fonction physiologique normale.

[1. Watkins DC, *et al. Science* 1992 258 : 1373-5.]

Les lymphocytes T des cancéreux ne répondent plus ! De nombreux travaux ont tenté de comprendre les mécanismes des déficits immunitaires acquis observés chez les porteurs de cancers, souris ou humains. Dans certains cas une insuffisance de présentation des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité a pu être mise en cause, notamment dans les tumeurs expérimentales provoquées par les souches oncogéniques d'adénovirus. D'autres fois, le désordre semble intrinsèque aux lymphocytes T. L'équipe de A.C. Ochoa (NCI, Frederick, MD, USA), vient de montrer que les lymphocytes de souris cancéreuses ne répondaient pas à une stimulation par un anticorps anti-CD3. CD3 est un complexe multimoléculaire, associé au récepteur de l'antigène des lymphocytes T, composé normalement de quatre types de chaînes, γ, δ, ϵ et ζ. Le complexe CD3 joue un rôle très important dans la transduction du signal d'activation, agissant notamment par l'intermédiaire de protéines kinases cytoplasmiques spécifiques des résidus tyrosine, produits des proto-oncogènes $p56^{lck}$ [1] et $p59^{fyn}$ [1]. H. Mizoguchi *et al.* ont observé que ces lymphocytes T non réactifs des souris tumorales ne possédaient pas de protéines $p56^{lck}$ et $p59^{fyn}$ détectables, alors que les messagers codant pour ces protéines étaient normalement synthétisés. Cette absence des tyrosine kinases associée à la transduction du signal d'activation des lymphocytes T pourrait être secondaire à un déficit en sous-unités ζ, elles aussi à peine détectables dans ces lymphocytes alors que leur messager est normal. Il est possible que des sous-unités γ, identiques à celles du récepteur pour le fragment Fc des immunoglobulines E [2], remplacent ici les sous-unités ζ pour stabiliser le récepteur T (α, β), mais soient incapables d'être normalement couplées aux protéines kinases $p56^{lck}$ et $p59^{fyn}$ qui seraient alors dégradées [3]. Les auteurs supposent que les cellules cancéreuses agissent sur la stabilité des sous-unités ζ par un facteur soluble qui reste, à ce jour, parfaitement spéculatif.

[1. Fagard R. *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 554-60.]
[2. Rochet N, *et al. médecine/sciences* 1992 ; 8 : 359-67.]
[3. Mizoguchi H, *et al. Science* 1992 ; 258 : 1795-8.]

Effet *in vivo* d'un oligonucléotide anti-sens anti NF-κB sur une tumeur transplantée de souris transgéniques HTLV1-Tax. Les souris transgéniques exprimant le gène *tax* du virus HTLV1 sous le contrôle du LTR de ce virus développent des fibrosarcomes transplantables. En culture, les cellules tumorales synthétisent la protéine Tax et, également, de grandes quantités du facteur de transcription NF-κB. I. Kidajima *et al.* (La Jolla, CA, USA) ont démontré que des oligonucléotides anti-sens anti-Tax n'ont pas d'effet sur ces cellules alors que des oligo-nucléotides anti NF-κB en bloquent la croissance. *In vivo*, l'administration intrapéritonéale de 40 μg d'oligonucléotides anti-sens anti-NF-κB par gramme de poids de souris, dose répétée trois jours après la première injection, inhibe la croissance d'une tumeur transplantée sept jours auparavant à la base du membre postérieur. Là aussi, les oligonucléotides anti-Tax sont inactifs. Ce remarquable résultat souligne l'intérêt d'une thérapeutique dirigée spécifiquement contre NF-κB dans les tumeurs provoquées par HTLV-1, par exemple les leucémies T. L'effet transformant de ces virus pourrait en effet passer par la production continue de NF-κB. De plus, ces résultats s'ajoutent au petit nombre de cas où un effet *in vivo* d'oligonucléotides anti-sens a pu être démontré.

[1. Briand P. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 208-13.]
[2. Kidajima I, *et al. Science* 1992 ; 258 : 1792-5.]