médecine/sciences 1993; 9: 1415-7

Les nouvelles de ce numéro ont été préparées par :

Armand Bensussan[1]
Laurence Boumsell[1]
Elisabeth Bursaux
Jean-Claude Dreyfus
Sylvie Gerber[2]
Jean-Pierre Grünfeld
Axel Kahn
Josseline Kaplan[2]
Dominique Labie[3]
Claude Matuchansky
Arnold Munnich[2]
Jean-Claude Rambaud[4]
Christian de Rouffignac[5]
Gilbert Vassart[6]

SOMMAIRE DES NOUVELLES BRÈVES

Le gène de l'ataxie de type Friedreich avec avitaminose E est sur le chromosome 8 *(p. 1417)*.

L'ARN polymérase doit être bien accrochée ! *(p. 1420)*.

Des anticorps monoclonaux anti-interleukine 8 préviennent les troubles de la reperfusion pulmonaire *(p. 1425)*.

Les cas sporadiques de maladie de Huntington *(p. 1426)*.

Un nouveau *locus* pour la polykystose rénale autosomique dominante (ADPKD) *(p. 1426)*.

Le syndrome de Pinocchio *(p. 1426)*.

Aquaporines : comment l'eau entre dans les cellules ou en sort *(p. 1428)*.

Des anomalies moléculaires de la monoamine oxydase A (MAO A) à l'origine de troubles du comportement *(p. 1428)*.

Mécanisme original de régulation de l'antiport sodium/proton dans les érythrocytes de poisson *(p. 1429)*.

Hyperméthylation de l'ARN et cancer *(p. 1429)*.

Héparine, endothéline et monoxyde d'azote *(p. 1430)*.

Localisation chromosomique de la maladie de Darier *(p. 1430)*.

Le hantavirus qui tue : une nouvelle maladie pulmonaire aux États-Unis *(p. 1430)*.

L'environnement génique d'une mutation peut modifier son expression phénotypique : cas de la mucoviscidose *(p. 1431)*.

Le chromosome 21 n'est pas soumis à empreinte parentale *(p. 1432)*.

Une vaccination préventive contre le diabète insulino dépendant... chez la souris NOD *(p. 1432)*.

Compétition transcriptionnelle dans les thalassémies

En 1985, Smithies *et al.* démontraient la possibilité d'insérer une séquence d'ADN exogène dans le gène de β-globine d'un chromosome 11 humain introduit par fusion cellulaire dans des cellules érythroleucémiques de souris (cellules MEL). Le choix des séquences de recombinaison permet de cibler cette insertion de façon précise, et le couplage de l'ADN inséré à un gène conférant la résistance à la néomycine (gène *néo*) permet de vérifier son expression correcte *(m/s n° 8, vol. 1, p. 445 et [1])*. Par la suite, il fut démontré que des gènes insérés dans le *locus* β-globine subissaient la même activation transcriptionnelle que le gène de β-globine lui-même lorsque les cellules MEL étaient traitées par l'inducteur de différenciation hexaméthylénebisacétamide (HMBA), alors que des gènes insérés au hasard étaient insensibles à cette induction.

Dans un travail récent, l'équipe d'O.H. Smithies (Chapel Hill, NC, USA) a appliqué cette technique de recombinaison homologue à une étude de la thalassémie murine, modèle animal d'étude de la thalassémie humaine. Il existe, en effet, une relative homologie entre les gènes du complexe β-globine chez la souris et chez l'homme. Le fonctionnement du complexe β-globine humain est bien connu, avec l'expression successive d'un gène embryonnaire, puis de deux gènes foetaux, enfin une commutation périnatale et l'expression de deux gènes adultes, le gène β et le gène δ, dont les taux d'expression respectifs sont dans un rapport d'environ 97-98 %/2-3 %. Dans le modèle murin, il y a quatre gènes : deux

(1) Hôpital Saint-Louis, Centre Hayem, 1, rue Claude Vellefaux, 75475 Paris Cedex 10, France.
(2) Unité de recherches sur les handicaps génétiques de l'enfant, Inserm U. 12, hôpital des enfants malades, 149, rue de Sèvres, 75475 Paris Cedex 15, France.
(3) Inserm U. 129, ICGM, 24, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France.
(4) Hôpital Saint-Lazare, service de gastroentérologie, 107 bis, rue du Faubourg-Saint-Denis, 75010 Paris, France.
(5) Département de biologie cellulaire et moléculaire, Centre d'Études de Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex, France.
(6) Université Libre de Bruxelles, Institut de recherche interdisciplinaire en biologie humaine et nucléaire, CP 602, Campus hôpital Érasme, Route de Lennik 803, 1070 Bruxelles, Belgique.

gènes embryonnaires *bh1* et γ dont l'expression cesse vers le 16-17e jour de gestation, et deux gènes adultes *b1* (β majeur) et *b2* (β mineur), responsables chacun pour environ 80 % et 20 % de l'hémoglobine adulte. On a, par ailleurs, décrit une thalassémie spontanée chez la souris, et démontré qu'elle était due à une délétion de 3 709 pb englobant le gène majeur ainsi que les régions régulatrices en 5' du gène.

Employant la technique d'insertion ciblée par recombinaison homologue, dans des cellules embryonnaires ES, les auteurs ont introduit dans le deuxième exon du gène majeur de β-globine un gène *neo*, sous contrôle d'un promoteur tk, interrompant de ce fait la séquence du gène normal. Après les contrôles nécessaires, les cellules comportant l'insertion ont été injectées dans des blastocystes et ceux-ci réimplantés dans l'utérus d'une femelle pour assurer leur développement. Après croisement avec des femelles saines, quelques animaux chimères ont transmis la mutation induite, sans aucune manifestation phénotypique dans la première génération d'hétérozygotes. Dès la deuxième génération, en revanche, sont apparus des homozygotes pour le gène interrompu. Ils présentaient tous une anémie profonde, létale *in utero* ou dans les quatre heures suivant la naissance, avec les signes cytologiques d'une thalassémie grave : hypochromie, poïkilocytose, cellules nucléées dans la circulation périphérique. Le phénomène s'est reproduit à toutes les générations successives chez les homozygotes, et on a pu montrer qu'il commençait dès le 18e jour de gestation, quand cessait l'activité des gènes embryonnaires [3].

Une comparaison s'imposait avec la thalassémie spontanée, apparemment nettement moins grave, puisque la moitié environ des homozygotes survit à l'âge adulte. Dans cette forme délétionnelle, on a suggéré une augmentation compensatoire de l'activité du gène mineur *b2*, puis de la chaîne polypeptidique correspondante. Des expériences de dosage de l'ARNm, puis de la protéine, ont, en effet, montré que ce mécanisme de compensation joue probablement au niveau de la transcription puis de la traduction. Les travaux encore préliminaires effectués par comparaison chez des animaux présentant à l'état hétérozygote, soit une délétion de *b1* (Hbb $^{th-1}$), soit un gène *b1* interrompu (Hbb $^{th-2}$) montrent que le gène *b2* intact produit au total plus de protéine dans le premier cas que dans le second.

Ce phénomène paradoxal a pu être rapproché d'observations faites en pathologie humaine. La notion d'une augmentation vicariante de l'hémoglobine A_2 au cours des thalassémies est un signe classique, et même de valeur diagnostique. L'augmentation observée se situe dans la fourchette 3,5-6,8 %. Une série de cas identifiés ces dernières années signale cependant des augmentations se situant entre 7 % et 12 %. Dans tous les cas, la mutation thalassémique comporte une délétion de taille variable, mais affectant toujours la région promotrice en 5' du gène β-globine. Quelques observations ont pu être faites chez des sujets qui, outre la β-thalassémie, étaient hétérozygotes pour une mutation du gène δ-globine, laquelle permettait donc de différencier

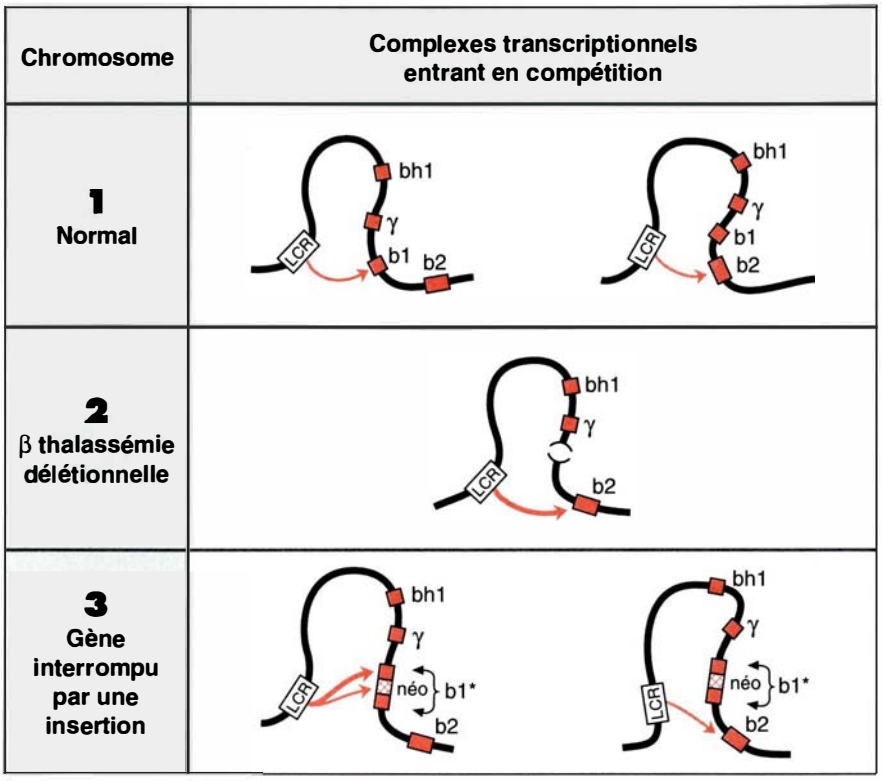

Figure 1. ***Facteurs intervenant dans l'expression des gènes adultes chez la souris.*** *Les flèches représentent les interactions probables entre le LCR distal et les promoteurs de chaque gène. Du haut en bas :* ***1.*** *Le chromosome normal sur lequel les deux gènes adultes* (b1 *et* b2) *sont activés successivement.* ***2.*** *Le chromosome présentant une délétion ; l'activité du LCR s'exercerait ici sur le gène* b2 *sans aucune compétition.* ***3.*** *Le chromosome dont le gène majeur b1 est interrompu par insertion du gène* néo. *Ici, l'action du LCR peut s'exercer sur le gène b1 inactif (b1*), sur le gène* néo *et sur le gène b2, d'où une compétition aboutissant à une moindre activation de b2 que en cas de délétion de b1. De plus, une compétition pourrait également exister au niveau de la traduction entre les messagers b1*, néo et b2, seul ce dernier donnant une globine fonctionnelle. bh1 et γ : gènes embryonnaires.*

l'expression des deux allèles. On a ainsi pu démontrer que les mutations délétionnelles du promoteur β s'accompagnent d'une augmentation de l'hémoglobine A_2 très largement majoritaire en *cis*, alors que d'autres mutations retentissent de façon égale en *cis* et en *trans* [4, 5].

C'est à partir de toutes ces données que Smithies propose un modèle, faisant l'hypothèse que cette similitude d'expression entre maladie animale et maladie humaine évoque un mécanisme commun. Il est admis que les séquences stimulatrices du LCR situées loin en amont de l'ensemble des gènes du complexe β-globine, et conservées à travers les espèces, agissent successivement sur les promoteurs des différents gènes de globine *(m/s n° 3, vol. 8, p. 255)*. Ces séquences du LCR peuvent également interagir avec des promoteurs hétérologues, et donc ceux des gènes insérés artificiellement. Dans le cas d'une β-thalassémie murine délétionnelle, son action peut s'exercer sur le gène *b2* sans compétition et stimuler la transcription. En présence d'un gène interrompu par une insertion, aucune séquence promotrice n'est supprimée, et il y a même addition d'un promoteur inséré. Il y aurait donc compétition pour les facteurs transcriptionnels. Au niveau de la traduction, l'ARNm utile entrerait en compétition pour différents facteurs, non seulement avec l'ARNm α, mais aussi avec les ARNm non traduisibles, d'où une exacerbation possible du syndrome thalassémique *(figure 1)*. Le même raisonnement peut être transposé aux données de la pathologie humaine.

Il est évident que des études précises de production des ARNm provenant des différents cas de figure sont encore nécessaires. Le modèle semble cependant séduisant. Evoquant un mécanisme de même type, on serait également tenté d'expliquer les observations bien connues faites en ce qui concerne les α-thalassémies. La forme délétionnelle la plus fréquente $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ ne s'accompagne, à l'état hétérozygote, d'aucune symptomatologie ; il y a spontanément augmentation de production du gène hybride unique formé. Chez les hétérozygotes pour le mutant du gène α_2 Constant Spring, $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$, on observe, en revanche, un syndrome thalassémique mineur, le gène α_1 en 3' maintenant une synthèse faible.

D.L.

1. Smithies O, Gregg RG, Boggs SS, *et al.* Insertion of DNA sequences into the human chromosomal β-globin *locus* by homologous recombination. *Nature* 1985 ; 317 : 230-4.
2. Nandi AK, Roginski RS, Gregg RG, *et al.* Regulated expression of genes inserted at the human chromosomal β-globin *locus* by homologous recombination. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 3845-9.
3. Shehee WR, Oliver P, Smithies O. Lethal thalassemia after insertional disruption of the mouse major adult β-globin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 3177-81.
4. Codrington JF, Li HW, Kutlar F, *et al.* Observations on the levels of Hb A_2 in patients with different β-thalassemia mutations and a δ chain variant. *Blood* 1990 ; 76 : 1246-9.
5. Craig JE, Kelly SJ, Barnetson R, Thein SL. Molecular characterization of a novel 10.3 kb deletion causing β-thalassemia with unusually high Hb A_2. *Br J Haematol* 1992 ; 82 : 735-44.

BRÈVES

Le gène de l'ataxie de type Friedreich avec avitaminose E est sur le chromosome 8. Le gène de la forme commune de l'ataxie de Friedreich est localisé sur le chromosome 9 en 9q13-q21. Un syndrome très proche, d'hérédité autosomique récessive, englobe, avec les mêmes symptômes, une avitaminose E. Il a suffi à une équipe internationale (Tunis, Strasbourg, CEPH, Milan, Rome, Tirana) de trois grandes familles consanguines tunisiennes pour établir la localisation du gène sur le bras long du chromosome 8 [1]. Cette localisation a ensuite été confirmée par trois autres familles, une tunisienne, une italienne, une albanaise. La méthode utilisée, qui permet de déterminer un *locus* génétique avec un nombre très restreint de familles, est appelée « cartographie d'homozygotie » *(homozygoty mapping)*. Elle a été théorisée en 1987 [2] et à nouveau récemment [3] car elle n'avait pas encore eu d'applications pratiques. Nous nous bornerons ici à en donner le principe. Quand un sujet présente sur un de ses allèles un déficit récessif, il transmet à sa descendance, outre cet allèle déficient, le segment d'ADN voisin dans son ensemble ; un consanguin, frère ou cousin, a des chances, s'il est porteur du même gène déficient récessif, de posséder autour du gène ce même segment ; si, après une ou deux générations, à la suite d'un mariage consanguin, le gène se retrouve à l'état homozygote, il y a des chances que le segment soit lui aussi transmis à l'état homozygote ; la présence de plusieurs marqueurs homozygotes augmente beaucoup la probabilité de signification. On conçoit que la condition indispensable de cette recherche soit la possession de marqueurs d'hétérozygotie à proximité du gène d'intérêt, condition qui commence maintenant à être remplie.

[1. Ben Hamida CB, *et al. Nature Genet* 1993 ; 5 : 195-200.]
[2. Lander ES, Botstein D. *Science* 1987 ; 236 : 1567-70.]
[3. Farrall M. *Nature Genet* 1993 : 5 : 107-8.]