

Structure et pathologie des membranes basales

Les membranes basales sont de fins feuillets de matrice extracellulaire spécialisée qui séparent des cellules d'origine différente, jouent un rôle de soutien pour les cellules et les tissus, de filtre pour divers sels et molécules, et de régulateur du comportement cellulaire. Leur composition a été déterminée en grande partie pendant les quinze dernières années. Le collagène IV, la laminine, le nidogène et les protéoglycanes à chaînes de sulfate d'héparine en sont les composants essentiels, ubiquitaires et spécifiques. Les macromolécules constitutives sont assemblées selon des schémas précis pour former des complexes et des polymères. Tout défaut de l'une ou de plusieurs de ces protéines entraîne une modification de l'assemblage supramoléculaire des membranes basales et une altération de leurs propriétés mécaniques et biologiques. Des défauts du collagène IV ont été identifiés dans deux glomérulonéphrites (syndromes de Goodpasture et d'Alport), alors que des anomalies du collagène VII et, probablement, d'une isoforme de la laminine pourraient être incriminées dans certaines épidermolyses bulleuses.

Monique Aumailley
Patrick Verrando

Les membranes basales sont des matrices extracellulaires hautement spécialisées. Ce sont de fins feuillets de 50 à 80 nm d'épaisseur visualisés selon les méthodes classiques de microscopie électronique à transmission comme une zone transparente aux électrons, la *lamina lucida*, et une zone dense aux électrons, la *lamina densa* [1]. Elles assurent des fonctions non seulement mécaniques de soutien et de cohésion, mais aussi biologiques, tels la filtration de sels et de petites molécules ou le confinement des différents types cellulaires dans les compartiments tissulaires adéquats de l'organisme. De plus, par l'intermé-

diaire de récepteurs à la surface des cellules, les membranes basales adressent des signaux modulant l'adhérence, la migration, la prolifération et la différenciation cellulaire [1]. Ce contrôle du comportement cellulaire est crucial au cours du développement et des remaniements tissulaires physiologiques, et il est mis en faille, par exemple, au cours de l'invasion néoplasique. Plus récemment, il a été reconnu que les membranes basales assuraient un rôle de réservoir pour divers facteurs de croissance. Des progrès substantiels ont été accomplis dans la compréhension de la biologie et de la pathologie des membranes basales grâce à la carac-

ADRESSE

M. Aumailley : directeur de recherche au Cnrs.
P. Verrando : chargé de recherche à l'Inserm.
Institut de biologie et chimie des protéines,
Cnrs, UPR 412, 7, passage du Vercors,
69367 Lyon Cedex 07, France.

Tableau I
 CONSTITUANTS DES MEMBRANES BASALES

Constituants	Masse moléculaire	Chaînes et composition moléculaire
1. Constituants ubiquitaires et spécifiques		
Collagène IV	550 kDa	$[\alpha 1(IV)]_2 \alpha 2(IV)$
Laminine	850 kDa	A (400 kDa), B1 (220 kDa), B2 (210 kDa)
Nidogène	150 kDa	une chaîne
Perlécane	650 kDa	une chaîne protéique de 550 kDa trois chaînes d'héparan sulfate
2. Constituants ubiquitaires mais non spécifiques		
BM-40/SPARC	40 kDa	une chaîne
BM-90/fibuline	90 kDa	une chaîne
3. Constituants spécifiques mais non ubiquitaires*		
Collagène IV		$\alpha 3(IV), \alpha 4(IV)$ et $\alpha 5(IV)$
Collagène VII	1 000 kDa	$[\alpha 1(VII)]_3$
Variants de laminine :		
K-laminine		A (190 kDa), B1 (220 kDa), B2 (210 kDa)
Kalinine/nicéine/épiligrine		hétérotrimère (140, 155 et 200 kDa) chaîne A2 ou mérosine (380 kDa) chaîne B3 ou S-laminine chaîne B4 ou B2 tronquée

* Excepté pour le collagène VII, les poids moléculaires de ces constituants ainsi que leur composition moléculaire ne sont pas encore précisément déterminés.

térisation de leurs macromolécules constitutives (Tableau I). La composition complexe des membranes basales a été en partie élucidée grâce à l'utilisation d'une tumeur transplantable à la souris, la tumeur d'Engelbreth-Holm-Swarm (EHS), produisant les composants des membranes basales en quantité appréciable et sous forme facilement solubilisable [2]. En effet, les composants des membranes basales sont organisés en complexes d'une insolubilité notoire, ce qui a pendant longtemps entravé leur caractérisation biochimique. L'utilisation de la tumeur EHS a donc permis non seulement la caractérisation de molécules prototypes, mais également le développement de réactifs, tels des anticorps et des sondes d'ADNc, qui ont permis, à leur tour, d'appréhender la biologie des membranes basales de tissus normaux. Par ailleurs, l'étude de différentes maladies, notamment rénales et cutanées, a déjà largement contribué à l'identification de certaines protéines constitutives et à l'élucidation de leurs fonctions.

Les constituants essentiels des membranes basales représentent des familles de macromolécules à domaines structuraux et activités biologiques multiples, dont la nature et les proportions varient d'un tissu à l'autre et au cours du développement [3]. En règle générale, les composants des membranes basales, ainsi que ceux d'autres matrices extracellulaires, sont des chimères de quelques motifs structuraux issus d'un répertoire génétique assez limité et associés selon différentes combinaisons [4]. Ces motifs ne sont cependant pas exclusifs des macromolécules des membranes basales. L'un des premiers domaines structuraux identifiés est le domaine collagénique [5], constitué par trois chaînes polypeptidiques enroulées en une super-hélice. Un motif, riche en cystéine, très fréquemment rencontré, est homologue à celui retrouvé dans le facteur de croissance épidermique (motifs EGF-like). D'autres types de modules sont rencontrés, particulièrement des heptapeptides propres à l'association de trois chaînes polypeptidiques en hélice α super-enroulée [4].

L'identification de motifs communs au niveau de la séquence des acides

aminés, couplée à l'observation de la morphologie des domaines correspondants en microscopie électronique, permet de faire des prédictions structurales. Certaines d'entre elles sont déjà confirmées par des études en résonance magnétique nucléaire, au moins en ce qui concerne des domaines moléculaires de petite taille. De telles études permettent d'obtenir des informations sur l'orientation spatiale de certaines séquences peptidiques et sur leur accessibilité, requise pour assurer des fonctions biologiques par le biais d'interactions avec les molécules voisines de la matrice ou de la surface cellulaire.

Macromolécules des membranes basales*

L'élément structural le plus important est le collagène IV [1], molécule de 400 nm de longueur, formée par l'enroulement en hélice de trois chaînes α polypeptidiques : deux chaînes $\alpha 1(IV)$ et une chaîne $\alpha 2(IV)$ pour le collagène IV classique, ubiquitaire et spécifique des membranes basales. Selon les tissus, et peut-être à l'intérieur d'une même membrane basale, il existe d'autres chaînes de collagène IV : $\alpha 3(IV), \alpha 4(IV)$ et $\alpha 5(IV)$,

* Les lecteurs pourront aussi se reporter au n° 4 de médecine/sciences (avril 1993), notamment aux articles de J.-F. Nicolas et al. et de G. Meneguzzi et al.

identifiées au cours de l'étude de maladies rénales, et dont l'assemblage moléculaire n'est pas exactement caractérisé. La molécule de collagène IV comporte trois domaines différents : le domaine hélicoïdal central, qui représente la majeure partie de la molécule ; le domaine 7S à la partie N-terminale et au niveau duquel se trouvent des liaisons intercaténaire ; et le domaine globulaire C-terminal non collagénique, NC1 (figure 1).

Certaines membranes basales, en particulier la jonction dermo-épidermique, contiennent également du collagène VII, composant des fibrilles d'ancrage [6]. Ce collagène se

distingue par la longueur de son domaine hélicoïdal, 450 nm, et par la présence de domaines non collagéniques, l'un petit à l'extrémité carboxylée, l'autre plus important et en forme de trident à la partie N-terminale. Le collagène VII se dimérise par chevauchement des extrémités C-terminales, puis les dimères forment des polymères par agrégation latérale de leurs extrémités carboxylées (figure 1).

La laminine [1, 7] est la glycoprotéine non collagénique la plus largement représentée. La molécule prototype est composée de trois chaînes polypeptidiques, A (Mr 400 000), B1

RÉFÉRENCES

1. Timpl R. Structure and biological activity of basement membrane proteins. *Eur J Biochem* 1989 ; 180 : 487-502.
2. Orkin RW, Gehron P, McGoodwin EB, Martin GR, Valentine T, Swarm R. A murine tumor producing a matrix of basement membrane. *J Exp Med* 1987 ; 145 : 204-20.
3. Aumailley M. Structure and function of basement membrane components. Laminin, nidogen, collagen IV, BM-40. *Adv Mol Cell Biol* 1993 ; 6 : 183-206.
4. Engel J. Common structural motifs in proteins of the extracellular matrix. *Curr Op Cell Biol* 1991 ; 3 : 779-85.
5. Van der Rest M, Garrone R. The collagen family of proteins. *FASEB J* 1992 ; 5 : 2814-23.
6. Bruckner-Tuderman L. Collagens of the dermo-epidermal junction : role in bullous disorders. *Eur J Dermatol* 1991 ; 1 : 89-100.
7. Beck K, Hunter I, Engel J. Structure and function of laminin : anatomy of a multidomain glycoprotein. *FASEB J* 1990 ; 4 : 148-60.
8. Ehrig K, Leivo I, Argraves WS, Ruoslahti E, Engvall E. Merosin, a tissue-specific basement membrane protein, is a laminin-like protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 3264-8.
9. Hunter DD, Porter BE, Bullock JW, Merlie JP, Sanes JR. Primary sequence of a motor neuron-selective adhesive site in the synaptic basal lamina protein S-laminin. *Cell* 1989 ; 59 : 905-13.
10. Kallunki P, Sainio K, Eddy R, Byers M, Kallunki T, Sariola H, Beck K, Hirvonen H, Shows TB, Tryggvason K. A truncated laminin chain homologous to the B2 chain : structure, spatial expression, and chromosomal assignments. *J Cell Biol* 1992 ; 119 : 679-93.

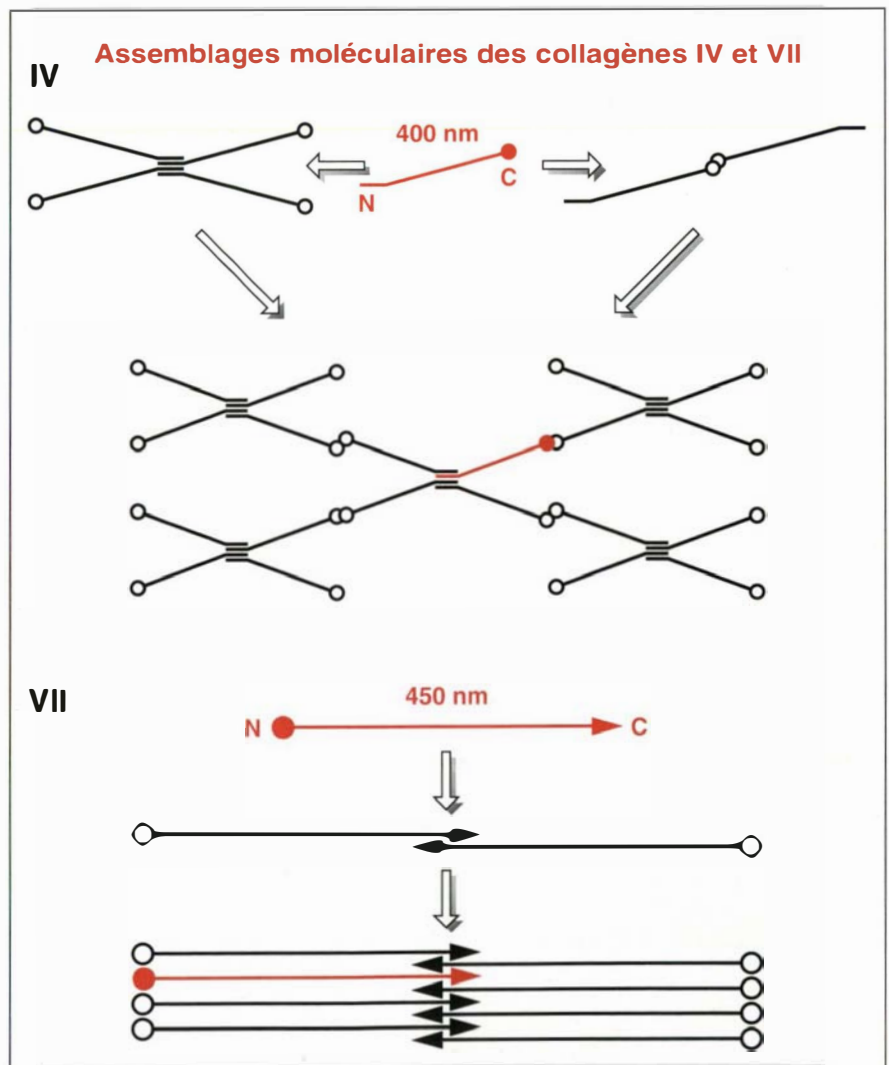


Figure 1. **Représentation schématique des molécules de collagène IV et VII et de leurs assemblages supramoléculaires.** Les parties linéaires représentent les triples hélices collagéniques. Les globes représentent les domaines non collagéniques. Le monomère de chaque type collagénique apparaît en rouge.

et B2 (Mr 200 000), dont l'assemblage, visualisé en microscopie électronique, représente une croix asymétrique (figure 2). Les trois bras courts de la croix, formés par les parties N-terminales des chaînes polypeptidiques ont des domaines globulaires (deux sur les chaînes B1 et B2, trois sur la chaîne A), séparés par des parties en bâtonnets. Ces dernières contiennent de nombreux résidus cystéine, formant des ponts disulfures et dont la répartition détermine une homologie avec le facteur de croissance épidermique. Le bras long est formé par les trois chaînes assemblées en une hélice α super-enroulée. Les chaînes B1 et B2 se terminent avec la partie linéaire du bras long, et la chaîne A, plus longue, se termine à son extrémité carboxylée par un domaine pluriglobulaire, constitué de cinq petits globes correspondants à cinq motifs homologues, les domaines G [7].

Des ADNc codant pour d'autres chaînes de laminine ont été récemment séquencés : A2 ou mérosine [8], B3 ou S-laminine [9], et B4 [10], qui sont respectivement des isoformes des chaînes A, B1 et B2 initialement décrites (Tableau I). Ces chaînes vont vraisemblablement s'assembler pour former des molécules différentes (A1B1B2, A2B1B2, etc.), qui sont encore peu ou pas caractérisées au niveau moléculaire [11]. Ces chaînes ainsi qu'une molécule de laminine plus petite, la K-laminine [12], ne sont cependant pas ubiquitaires. La chaîne A2 ou mérosine est préférentiellement exprimée dans les membranes basales musculaires, la chaîne B3

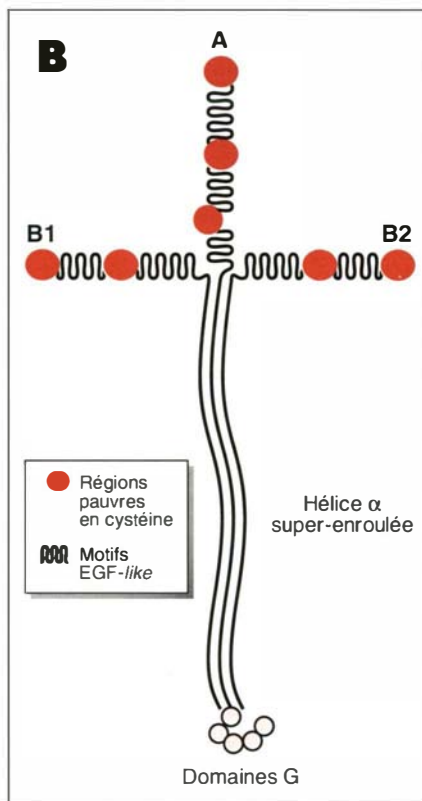
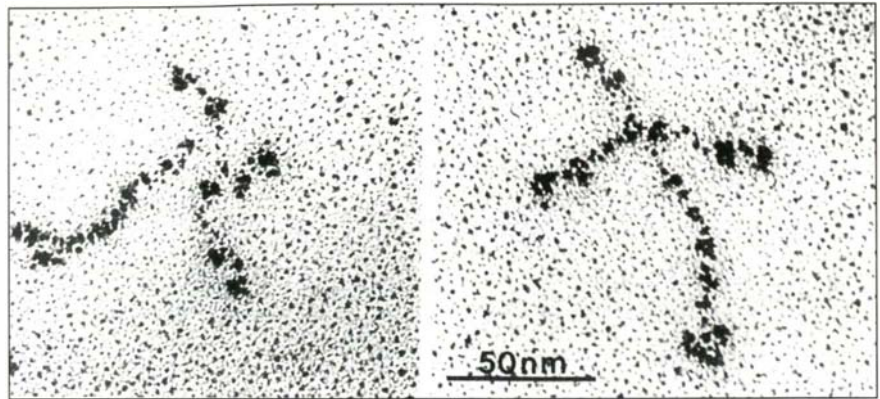


Figure 2. **La molécule de laminine.** **A.** Molécule de laminine visualisée en microscopie électronique après ombrage tournant. **B.** Modèle représentant l'assemblage des trois chaînes polypeptidiques de la molécule.

ou S-laminine est plus spécifique des jonctions neuromusculaires et la K-laminine, du tissu cutané. De même, d'autres molécules — la kalinine [13], la nicéine [14] et l'épiligrine [15], nommées par des laboratoires différents — sont spécifiques des membranes basales mais non ubiquitaires. Elles sont toutes localisées dans les filaments d'ancrage reliant les hémidesmosomes des kératinocytes basaux à la membrane basale sous-jacente dans les épithéliums stratifiés. Ces molécules sont très certainement identiques et sans doute homologues à la laminine (P. Verrando, résultats non publiés). L'expression des différentes chaînes et isoformes de laminine, de même que celles du collagène IV, varie de façon spatio-temporelle [11, 16], ce qui laisse présumer d'un polymorphisme structural et sans doute

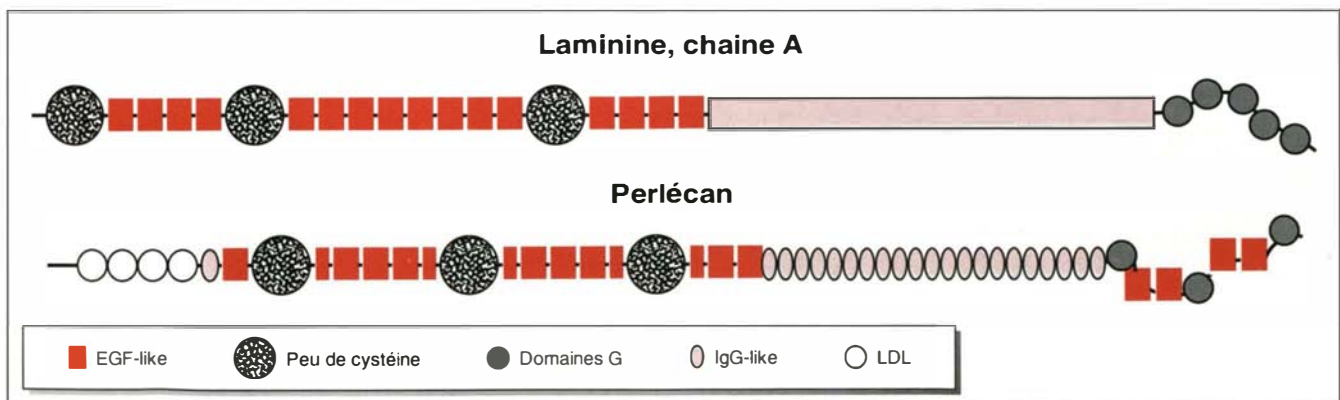


Figure 3. **Représentation détaillée de la structure en mosaïque de la chaîne A de laminine et du perlécan, et de leurs homologues.**

RÉFÉRENCES

11. Engvall E, Earwicker D, Haaparanta T, Ruoslahti E, Sanes JR. Distribution and isolation of four laminin variants ; tissue restricted distribution of heterotrimers assembled from five different subunits. *Cell Reg* 1990 ; 1 : 731-40.
12. Marinkovich MP, Lunstrum GP, Keene DR, Burgeson RE. The dermal-epidermal junction of human skin contains a novel laminin variant. *J Cell Biol* 1992 ; 119 : 695-703.
13. Rousselle P, Lunstrum G, Keene DR, Burgeson RE. Kalinin : an epithelium-specific basement membrane adhesion molecule that is a component of anchoring filaments. *J Cell Biol* 1991 ; 114 : 567-76.
14. Verrando P, Pisani A, Ortonne JP. The new basement membrane antigen recognized by the monoclonal antibody GB3 is a large size glycoprotein : modulation of its expression by retinoic acid. *Biochim Biophys Acta* 1988 ; 942 : 46-56.
15. Carter WG, Ryan MC, Gahr PJ. Epiligrin, a new cell adhesion ligand for integrin $\alpha 3 \beta 1$ in epithelial basement membranes. *Cell* 1991 ; 65 : 599-610.
16. Sanes JR, Engvall E, Butkowski R, Hunter DD. Molecular heterogeneity of basal laminac : isoforms of laminin and collagen IV at the neuromuscular junction and elsewhere. *J Cell Biol* 1990 ; 111 : 1685-99.
17. Paulsson M, Aumailley M, Deutzmann R, Timpl R, Beck K, Engel J. Laminin-nidogen complex. Extraction with chelating agents and structural characterization. *Eur J Biochem* 1987 ; 166 : 11-9.
18. Mann K, Deutzmann R, Aumailley M, Timpl R, Raimondi L, Yamada Y, Pan TC, Conway D, Chu ML. Aminoacid sequence of mouse nidogen, a multidomain basement membrane protein with binding activity for laminin, collagen IV and cells. *EMBO J* 1989 ; 8 : 65-72.
19. Fox J, Mayer U, Nischt R, Aumailley M, Reinhardt D, Wiedemann H, Mann K, Timpl R, Krieg T, Engel J, Chu ML. Recombinant nidogen consists of three globular domains and mediates binding of laminin to collagen IV. *EMBO J* 1991 ; 10 : 3137-46.
20. Yurchenco PD, Schittny JC. Molecular architecture of basement membranes. *FASEB J* 1990 ; 4 : 1577-90.

aussi fonctionnel des membranes basales. Le nidogène ou entactine est une glycoprotéine plus petite de 150 kDa, formant un complexe stable avec la laminine [17]. Elle est constituée d'une seule chaîne polypeptidique [1] repliée en trois domaines globulaires, G1 et G2 à l'extrémité amino-terminale et G3 à la partie carboxy-terminale ; les deux premiers sont séparés du troisième par un bâtonnet formé par la succession de cinq motifs EGF-like [18, 19].

Les membranes basales contiennent également des protéoglycanes, la plupart d'entre eux à chaînes de sulfate d'héparine. Le mieux caractérisé est le perlécan (figure 3) avec un noyau protéique pluriglobulaire de 550 kDa et trois chaînes glycaniques à sulfate d'héparine à l'une des extrémités [1, 20]. La séquence de la partie protéique présente des homologies avec celle de la chaîne A de laminine — entre autres les motifs EGF-like en série et les domaines G — et avec les immunoglobulines [21]. Cela illustre clairement une des caractéristiques des molécules de la matrice extracellulaire, celle d'être des chimères de différents motifs structuraux.

Des molécules plus petites, BM-90/fibuline et BM-40/SPARC, non exclusives des membranes basales, sont ubiquitairement présentes [22]. Ce sont des protéines fixatrices du calcium qui pourraient jouer un rôle dans la régulation de la concentration calcique du milieu. Cette régulation est sans doute importante puisque le calcium est impliqué dans la formation de certains complexes et

polymères entre les différentes molécules de la membrane basale [22]. En effet, tous ces constituants sont agencés de façon extrêmement précise pour former des structures supramoléculaires maintenues par des interactions spécifiques entre certains de leurs domaines.

Agencement supramoléculaire des membranes basales

La stabilité des membranes basales est assurée en premier lieu par la polymérisation du collagène IV (figure 1), conduisant à la formation de dimères par association des extrémités carboxylées, et de tétramères par association des extrémités aminées [1]. Un troisième type d'interactions fait intervenir une agrégation latérale d'une partie des domaines centraux hélicoïdaux [20]. Cet assemblage complexe peut être comparé à un filet à mailles lâches qui va servir de charpente pour arrimer les autres protéines de la membrane basale. En présence de calcium, la laminine est également capable de former des polymères par association des domaines globulaires à l'extrémité des bras courts de la molécule [23]. De même, le perlécan peut former au moins des oligomères [20].

Ces différents polymères sont très vraisemblablement maintenus associés les uns aux autres par l'intermédiaire du nidogène. En effet, ce dernier développe des interactions de haute affinité ($K_d \leq 1nM$) avec le collagène IV, la laminine et le perlé-

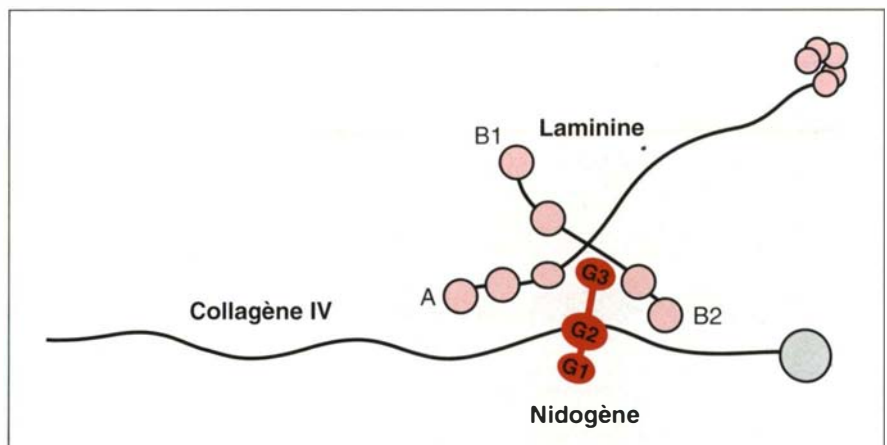


Figure 4. **Modèle illustrant l'agencement des complexes ternaires entre le collagène IV, la laminine et le nidogène.**

can [19,24]. Par son globule G3 carboxy-terminal, le nidogène se lie à la partie interne du bras court correspondant à la chaîne B2 de laminine, pour former un complexe équimoléculaire stable (figure 4). Par ailleurs, les domaines amino-terminaux du nidogène se fixent sur la triple hélice de collagène IV, à 80 nm du domaine NC1 de ce dernier [25]. Des complexes ternaires entre le collagène IV, le nidogène et la laminine, d'une part, et entre le collagène IV, le nidogène et le perlécane, d'autre part, ont pu être reconstitués *in vitro* [19, 24], ce qui laisse supposer une réalité physiologique.

Le collagène IV contient également un site de liaison pour la protéine BM-40 situé à peu près à mi-longueur de la triple hélice [22]. Les protéoglycanes à sulfate d'héparine se lient, quant à eux, à l'extrémité carboxylée de la chaîne A de laminine par leurs chaînes hydrocarbonées et au nidogène par leur partie protéique [24]. Plusieurs de ces macromolécules ont la propriété de fixer le calcium. C'est le cas du nidogène, de la laminine, de la protéine BM-90 et surtout de la protéine BM-40, dont la liaison au collagène IV est dépendante du calcium [22].

Enfin, dans les tissus contenant le collagène VII, par exemple la peau, on suppose que les globules N-terminaux de ce dernier sont engagés dans des interactions spécifiques avec le collagène IV, donnant ainsi aux fibrilles d'ancrage la propriété d'assurer la cohésion entre les membranes

basales des épithéliums stratifiés et le tissu conjonctif interstitiel sous-jacent [6].

L'organisation supramoléculaire des membranes basales a vraisemblablement un rôle important à jouer pour le maintien de leurs fonctions mécaniques, physiologiques et biologiques. Il n'est donc pas surprenant que des altérations qualitatives ou quantitatives des molécules constituantes soient à l'origine, ou accompagnent, divers états pathologiques.

Maladies associées aux membranes basales

De nombreuses affections, généralisées ou locales, acquises ou héréditaires, sont associées à des anomalies de la membrane basale (Tableau II).

Les affections généralisées touchant les membranes basales sont essentiellement les microangiopathies, où elles sont épaissies, et certaines tumeurs néoplasiques, dans lesquelles leur raréfaction ou leur disparition entraîne une perte de contention des cellules, conduisant à la dissémination de métastases. De nombreux travaux ont montré que les interactions cellules-matrices sont défectueuses dans les cancers. En particulier, les cellules tumorales à haut potentiel métastatique ne sont plus en contact avec une membrane basale, cette dernière ayant disparu en partie ou totalement. L'étiologie de ces maladies ne réside cependant pas dans un défaut initial des membranes basales.

En revanche, deux maladies liées au

collagène IV sont maintenant assez bien expliquées et concernent des syndromes rénaux, l'un acquis, le syndrome de Goodpasture, et l'autre héréditaire, le syndrome d'Alport. Dans ces deux glomérulopathies, des altérations de la membrane basale glomérulaire avaient été observées. Le composant structural majeur étant le collagène IV, les investigations ont tout naturellement porté sur celui-ci et ont permis d'identifier de nouvelles chaînes de collagène IV ainsi que les défauts moléculaires sous-tendant ces pathologies.

Le syndrome de Goodpasture est une affection immuno-allergique altérant les membranes basales pulmonaires et rénales par dépôts d'immunoglobulines, et se traduisant par des hémorragies intra-alvéolaires et une glomérulonéphrite. L'antigène responsable avait été localisé sur le domaine NC1 du collagène IV, suscitant des études plus détaillées de ce domaine isolé de membranes basales glomérulaires. Cela a permis la mise en évidence de séquences peptidiques différentes de celles des chaînes $\alpha 1(IV)$ et $\alpha 2(IV)$, puis la caractérisation de la chaîne $\alpha 3(IV)$, contenant l'épitope induisant la production des auto-anticorps spécifiques du syndrome de Goodpasture [26] et de la chaîne $\alpha 4(IV)$ [27]. A l'aide d'anticorps dirigés contre ces chaînes, il a été montré qu'elles sont fréquemment co-localisées, particulièrement dans les membranes basales des synapses musculaires ; en revanche, elles sont absentes des membranes basales nerveuses et vasculaires [16].

Le syndrome d'Alport dénomme un groupe hétérogène de glomérulonéphrites héréditaires évoluant progressivement vers une insuffisance rénale totale et souvent accompagnées d'un déficit neurosensoriel bilatéral se traduisant par une surdité. Dans certains cas, des atteintes de la rétine et/ou du cristallin ont également été décrites. Les symptômes sont en général plus graves chez l'homme que chez la femme et la transmission semble se faire sur un mode dominant lié à l'X dans 80 % des cas. En microscopie électronique, la lamina densa de la membrane basale apparaît irrégulière, avec des zones d'épaississement et des fenestrations. Là encore les investigations se sont orientées

Tableau II

ANOMALIES MOLÉCULAIRES ET PATHOLOGIE DES MEMBRANES BASALES

Syndrome d'Alport	mutations dans COL4A5
Syndrome de Goodpasture	auto-anticorps contre le domaine NC1 de $\alpha 3(IV)$
EBD récessive généralisée	absence immunologique de collagène VII
EBD localisée ou inversée	polymérisation anormale des fibrilles d'ancrage
EB aquise	auto-anticorps contre le domaine N-terminal du collagène VII
Syndrome d'Herlitz	absence immunologique de nicéine

RÉFÉRENCES

21. Noonan DM, Fulle A, Valente P, Cai S, Horigan E, Sasaki M, Yamada Y, Hassell JR. The complete sequence of perlecan, a basement membrane heparan sulfate proteoglycan, reveals extensive similarity with laminin A chain, LDL-receptor and N-CAM. *J Biol Chem* 1991 ; 266 : 22939-47.
22. Timpl R, Aumailley M. Other basement membrane proteins and their calcium binding potential. In : Rohrbach DH, Timpl R, eds. *Molecular and Cellular Aspects of Basement Membranes*. London : Academic Press, 1993 ; 211-35.
23. Yurchenco PD, Cheng YS, Colongnato H. Laminin forms an independent network in basement membranes. *J Cell Biol* 1992 ; 117 : 1119-33.
24. Battaglia C, Mayer U, Aumailley M, Timpl R. Basement membrane heparan sulfate proteoglycan binds to laminin by its heparan sulfate chains and to nidogen by sites in the protein core. *Eur J Biochem* 1992 ; 208 : 359-66.
25. Aumailley M, Wiedemann H, Mann K, Timpl R. Binding of nidogen and the laminin-nidogen complex to basement membrane collagen type IV. *Eur J Biochem* 1989 ; 184 : 241-8.
26. Hudson BG, Wieslander J, Wisdom BJ, Noelken ME. Goodpasture syndrome : molecular architecture and function of basement membrane antigen. *Lab Invest* 1989 ; 61 : 256-62.
27. Gunwar S, Saus J, Noelken ME, Hudson BG. Glomerular basement membrane. Identification of a fourth chain, $\alpha 4$, of type IV collagen. *J Biol Chem* 1990 ; 265 : 5466-9.
28. Barker DF, Hostikka SL, Zhou J, Chow LT, Oliphant AR, Gerken SC, Gregory MC, Skolnick MH, Atkin CL, Tryggvason K. Identification of mutations in the COL4A5 collagen gene in Alport syndrome. *Science* 1990 ; 248 : 1224-7.
29. Gammon WR, Abernethy ML, Padilla KM, Prisanh PS, Cook ME, Wright J, Briggaman RA, Hunt SW. Non-collagenous (NC1) domain of collagen VII resembles multidomain adhesion proteins involved in tissue-specific organization of extracellular matrix. *J Invest Dermatol* 1992 ; 99 : 691-6.
30. Guidice GJ, Emery DJ, Diaz LA. Cloning and primary structural analysis of the bullous pemphigoid autoantigen BP 180. *J Invest Dermatol* 1992 ; 99 : 243-50.
- vers la recherche d'une anomalie du collagène IV et ont abouti à la mise en évidence de la chaîne $\alpha 5(IV)$ et de mutations dans le gène COL4A5 localisé sur le chromosome Xq22 [28]. L'étude de plusieurs affections cutanées — en particulier certaines épidermolyses bulleuses acquises ou héréditaires — a largement contribué à la compréhension de la structure et de la biologie de la membrane basale [6]*. Les épidermolyses bulleuses représentent un groupe très hétérogène de lésions du tégument, provoquées par une déhiscence intracutanée. La cohésion entre derme et épiderme n'est plus assurée, et il y a formation de « bulles » à la surface de la peau. Selon le niveau anatomique de la déhiscence, couche kératinocytaire, membrane basale ou zone sous-basale, on distingue respectivement les épidermolyses bulleuses de types épidermolytique, jonctionnel et dermolytique. En ce qui concerne les deux dernières catégories, les recherches menées pour caractériser un défaut moléculaire se sont bien sûr orientées vers les constituants des membranes basales.
- Dans les épidermolyses bulleuses dystrophiques héréditaires, l'observation en microscopie électronique des lésions avait mis en évidence une raréfaction et, dans certains cas, une absence des fibrilles d'ancrage (structures anatomiques reliant la lame basale au derme sous-jacent). Lorsque le collagène VII a été découvert et que des anticorps anti-collagène VII ont été produits, leur utilisation en immunomarquage a montré, d'une part, que ce collagène était un composant majeur des fibrilles d'ancrage, et, d'autre part, qu'il était absent dans les tissus de malades affectés de formes mutilantes et généralisées d'épidermolyses bulleuses dystrophiques [6]. Il reste maintenant à définir si les polypeptides correspondants ne sont pas exprimés, ou s'ils le sont sous une forme anormale conduisant au « suicide protéique » par dégradation rapide. En revanche, dans les formes inversées ou localisées d'épidermolyse bulleuse dystrophique, le collagène VII est présent, mais les fibrilles d'ancrage apparaissent mal polymérisées, ce qui laisse supposer une mauvaise stabilisation des dimères de ce collagène.
- Des mutations ponctuelles ont été mises en évidence, notamment dans le collagène I de malades atteints d'ostéogenèse imparfaite [5]. Certaines de ces mutations entraînent la protéolyse des chaînes collagéniques anormales, d'autres sont suffisantes pour entraver la formation de la triple hélice collagénique et, par conséquent, la polymérisation des molécules en fibrilles. A l'instar du collagène I, on peut donc imaginer que de telles mutations dans le collagène VII pourraient avoir des conséquences analogues et conduire à l'absence des fibrilles d'ancrage ou à leur instabilité par polymérisation défectueuse. Dans les deux cas, la cohésion dermo-épidermique ne serait plus assurée, d'où la formation de bulles cutanées.
- Dans les épidermolyses bulleuses acquises — maladie inflammatoire auto-immune —, on observe des dépôts d'immunoglobulines le long de la face interne de la membrane basale, plus particulièrement au niveau des fibrilles d'ancrage, là où se produit la déhiscence. *In vitro*, les auto-anticorps reconnaissent l'extrémité N-terminale du collagène VII, et non l'extrémité C-terminale comme on le pensait avant le séquençage de l'ADNc correspondant [29]. En revanche, dans la pemphigoïde bulleuse, les immunoglobulines se déposent le long de la face externe de la membrane basale. A l'aide des auto-anticorps présents dans le sérum des malades, deux antigènes ont été clonés et séquencés. L'un d'eux, le BP180, ou auto-antigène 180kDa de la pemphigoïde bulleuse, est une protéine transmembranaire, avec un grand domaine extracellulaire, constitué d'une succession de motifs collagéniques [30]. Sa localisation est réduite à la membrane des kératinocytes basaux, au niveau des hémidesmosomes. Cette molécule a donc été découverte et caractérisée en étudiant les maladies. Dans les deux cas, la raison pour laquelle le BP180 ou le domaine amino-terminal du collagène VII sont devenus des auto-antigènes reste à déterminer.
- Enfin, un type d'épidermolyse bulleuse jonctionnelle récessive et rapidement létale, le syndrome d'Herlitz, est caractérisé par une paucité des hémidesmosomes et des filaments

* Voir aussi médecine/sciences (n° 4, vol. 9, avril 1993), articles de J.-F. Nicolas et al. et G. Meneguzzi et al.

d'ancrage reliant les kératinocytes basaux à la membrane basale et au derme sous-jacent. Un anticorps, GB3, se fixe par immunofluorescence indirecte au niveau de ces structures dans la peau normale, alors que l'antigène correspondant semble être absent dans la peau de nouveau-nés présentant ce syndrome. Cet anticorps a permis l'identification de la protéine BM-600/nicéine [14] de la famille des laminines, ce qui laisse penser qu'une altération de cette dernière pourrait être à l'origine de la maladie.

En conclusion, plusieurs maladies ont suscité des efforts de recherche qui ont déjà abouti à l'identification de plusieurs molécules de la membrane basale, par exemple certaines chaînes du collagène IV, la nicéine ou le BP180. Dans le syndrome d'Alport, des mutations dans le gène COL4A5 ont été identifiées. Dans un proche avenir, des anomalies du collagène VII, molécule maintenant clonée et en grande partie séquencée, devraient être précisées pour certaines épidermolyses bulleuses. La définition, au niveau moléculaire, de plusieurs affections permet déjà de contribuer au diagnostic et à la classification plus fine des maladies bulleuses.

Jusqu'à présent, seules des affections impliquant des isoformes mineures, ou des molécules dont la localisation est restreinte à certaines membranes basales, ont été décrites. Aucune maladie impliquant une anomalie des composants ubiquitaires des membranes basales n'a été identifiée à ce jour, ce qui suggère que ces molécules sont essentielles à la vie ■

Summary

Structure and pathology of basement membranes

Basement membranes are thin layers of specialized extracellular matrix separating cells of different origins. They fulfill mechanical functions as a scaffolding for cells and tissues as well as biological functions such as filtration of salts and molecules and control of cellular behaviour. The complex composition of basement membranes has been elucidated to a large extent during the last 15 years. Collagen IV, laminin, nidogen and heparan sulfate proteoglycans are major specific and ubiquitous components. Several of these proteins represent families of isoforms, the expression of which is spatio-temporally regulated, providing a certain degree of polymorphism. In the skin, for example, additional components like collagen VII are associated with basement membranes. Constitutive molecules are assembled according to precise patterns into large polymers and complexes. Collagen IV and laminin can separately form large and stable polymeric networks considered as the scaffolding for anchoring cells and other basement membranes components. These two polymers are probably held together by nidogen which can develop high affinity interactions with both collagen IV and laminin. One can therefore predict that a molecular defect in one of these proteins could yield an abnormal supramolecular assembly of basement membranes and thus alterations in their biological and mechanical functions. Nature has provided us with some clues for this hypothesis in the form of diverse pathologies especially in kidneys and skin. In two renal diseases, Goodpasture and Alport syndromes, defects of collagen IV chains have been identified while several bullous diseases of the skin may have their origin in alterations of collagen VII and of a laminin variant.

TIRÉS A PART

M. Aumailley.

m/s n° 8-9 vol. 9, août-septembre 93