

ble de constater que, s'il est vrai que la sélection positive est tardive, elle doit être pratiquement contemporaine de la sélection négative qui aboutit à l'élimination des clones reconnaissant un auto-antigène dans le contexte d'une molécule du CMH du *self*. Celle-ci se ferait au contact des cellules dendritiques de l'interface entre la médulla et le cortex (*m/s n° 3, vol. 5, p. 174*). Elle pourrait nécessiter un état de maturation tel que le système de transduction du signal d'activation par l'intermédiaire du TCR soit fonctionnel, c'est-à-dire que le TCR soit couplé au complexe CD3, qui comporte un ensemble de protéines nécessaires à la transduction de ce signal. En effet, deux équipes de Denver (CD, USA) viennent de montrer qu'il était possible de séparer les thymocytes corticaux TCR⁺ en trois populations : la première exprime de fortes densités des récepteurs et est stimulée à proliférer par des anticorps anti-TCR ou des antigènes à large spectre. Les deux autres contiennent peu de récepteurs membranaires ; l'une d'entre elles est insensible aux anti-

corps anti-TCR et aux antigènes, alors que l'autre, soumise à un même traitement, est détruite. La population résistante peut néanmoins être détruite par stimulation directe de CD3 à l'aide d'un anticorps spécifique. Le schéma qui se dégage de ces expériences est le suivant [6]. Les précurseurs corticaux (CD4⁻, CD8⁻, TCR⁻) seraient convertis d'abord en une population CD4⁺, CD8⁺, TCR^{faible} dans laquelle le récepteur ne serait pas couplé à CD3 et qui, de ce fait, serait résistante à la destruction par apoptose provoquée par la liaison d'un ligand spécifique au récepteur. Il se pourrait que la sélection positive commençât à ce stade, c'est-à-dire que la liaison du TCR avec les molécules du CMH provoquât un signal moléculaire, parfaitement inconnu, pouvant aboutir à la sélection ultérieure des lymphocytes ainsi « marqués ». Une population plus mature, exprimant les mêmes marqueurs, verrait s'établir le couplage TCR/CD3, dont la conséquence serait l'induction de l'apoptose après liaison du TCR à un auto-antigène présenté par une

molécule du CMH du *self*. Enfin apparaissent les thymocytes matures, simples positifs (CD4⁺ ou CD8⁺), et TCR^{forts}, stimulés à proliférer par reconnaissance d'un ligand spécifique.

A. K.

1. Le Meur M, Gerlinger P, Benoit C, Mathis D. Correcting an immune-response deficiency by creating E_a gene transgenic mice. *Nature* 1985 ; 316 : 38-42.
2. Van Ewijk W, Ron Y, Monaco J, et al. Compartmentalization of MHC class II gene expression in transgenic mice. *Cell* 1988 ; 53 : 357-70.
3. Mac Donald HR, Schneider R, Lees RK, et al. T-cell receptor V_β use predicts reactivity and tolerance to MI_g encoded antigens. *Nature* 1988 ; 332 : 40-5.
4. Benoit C, Mathis D. Positive selection of the T cell repertoire : where and when does it occur ? *Cell* 1989 ; 58 : 1027-33.
5. Berg L, Pullen AM, Fazekas de St-Groth B, et al. Antigen/MHC-specific T cells are preferentially exported from the thymus in the presence of their MHC ligand. *Cell* 1989 ; 58 : 1035-46.
6. Finkel TH, Cambier JC, Kubo RT, et al. The thymus has two functionally distinct populations of immature αβ⁺ T cells : one population is deleted by ligation of αβ TCR. *Cell* 1989 ; 58 : 1047-54.

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ L'altération de l'anti-oncogène p53 est fréquente dans le cancer du poumon. La protéine P53 est un anti-oncogène (*m/s n° 8, vol. 5, p. 598*) ; elle est codée par un gène localisé en 17p13 (bande 13 du bras court du chromosome 17). La perte d'hétérozygotie à ce niveau (c'est-à-dire la perte de matériel génétique au niveau de la tumeur) ayant été souvent rapportée dans le cancer du poumon, une équipe du NCI (Bethesda, MD, USA) s'est demandée si ces anomalies n'intéressaient pas précisément le gène p53. De fait, les altérations du gène p53 sont fréquentes dans ce type de cancer, atteignant 57 % des cas dans les lignées cancéreuses établies en culture et probablement de l'ordre de 40 à 50 % dans les cancers fraîchement opérés [1]. Les anomalies sont multiples, allant de la délétion du gène à l'accumulation de mutations ponctuelles. D'autres cancers humains sont

associés à la perte de matériel génétique sur le bras court du chromosome 17, au premier rang desquels on trouve les tumeurs coliques [2]. S'il s'avérait que, là aussi, le gène p53 est impliqué, cet anti-oncogène deviendrait l'une des cibles importantes des anomalies moléculaires permettant l'éclosion des tumeurs malignes chez l'homme.

[1. Takahashi T, et al. *Science* 1989 ; 246 : 491-4.]

[2. Thomas G, et al. *médecine/sciences* 1989 ; 4 : 274-80.]

■■■ L'hyperexpression de la calmoduline dans les cellules β de souris transgéniques provoque l'apparition d'un diabète. La calmoduline est une protéine d'expression ubiquitaire qui joue un rôle important de médiateur des effets du calcium. Sa concentration est normalement élevée dans les cellules β des îlots de Langerhans, où elle interviendrait dans la sécré-

tion de l'insuline. Une équipe du *Baylor College of medicine* (Houston, TX, USA) a créé des souris transgéniques exprimant un minigène codant pour la calmoduline, sous le contrôle des régions régulatrices du gène de l'insuline. Chez ces animaux, la concentration de la calmoduline dans les cellules β est de cinq fois la normale [1] et un diabète se développe après la naissance. Les mécanismes du diabète associent une destruction des cellules β (dont le nombre est diminué) et une probable anomalie de l'insulinosécrétion des cellules β restantes. Ces expériences permettent donc de décrire un nouveau modèle de diabète (*m/s n° 7, vol. 4, p. 444*), intéressant en ce qu'il comporte une aggravation progressive évocatrice des diabètes chez l'homme.

[1. Epstein PN, et al. *Cell* 1989 ; 58 : 1067-73.]

■■■ **Des souris transgéniques hyper-résistantes aux anticancéreux.**

Des cellules en culture chez lesquelles a été développée une résistance à des produits cytotoxiques tels que les alcaloïdes de la pervenche (vinblastine, etc.) la colchicine, l'adriamycine et l'actinomycine D présentent une amplification d'un gène codant pour une glycoprotéine membranaire de 170 kDa (gp170) qui est probablement une pompe capable d'expulser ces produits de la cellule (*m/s n° 2, vol. 3, p. 114*). Des souris transgéniques exprimant ce gène MDR (*multidrug resistance*) sous le contrôle d'un promoteur fort (celui du gène de l'actine cytosquelettique B) résistent particulièrement bien aux agents cytotoxiques suscités [1]. Ces animaux sont d'intéressants modèles pour déterminer si et comment une telle résistance peut être surmontée. Ils montrent également la faisabilité d'une approche qui consisterait à conférer à des cellules sensibles une résistance accrue à la chimiothérapie anticancéreuse. On pourrait envisager, en effet, de prélever des cellules médullaires d'un malade ayant un cancer solide chi-

miosensible, de les modifier par introduction du gène MDR, puis de les réimplanter chez les malades qui résisteraient alors à des doses très fortes de médicaments cytotoxiques, au moins pour ce qui est de la tolérance hématologique. A noter que les souris obtenues dans le travail cité ici étaient tout à fait normales, ce qui montre que l'hyperexpression de la gp170 ne semble pas avoir d'autre effet sur les cellules que leur conférer une résistance accrue à certains agents.

[1. Galski H, *et al. Mol Cell Biol* 1989 ; 9 : 4357-3.]

■■■ **Un rôle pour l'autophosphorylation du récepteur de PDGF ?** Le récepteur du facteur de croissance PDGF (*platelet derived growth factor*) possède une région intracytoplasmique carboxyterminale dotée d'une activité de tyrosine kinase. Lors de la liaison du PDGF au récepteur, la sous-unité β de ce dernier devient autophosphorylée sur deux tyrosines, aux positions 751 et 857 de la protéine. L'immunoprécipitation du récepteur ainsi phosphorylé, mais

non de la forme déphosphorylée, entraîne plusieurs protéines qui semblent ainsi se lier spécifiquement à l'espèce phosphorylée. L'une de ces protéines est la phosphatidylinositol 3-phosphate kinase (PI-3 kinase); trois autres polypeptides n'ont pas été encore identifiés [1]. L'un des mécanismes de la transduction du signal mitogénique délivré par le PDGF pourrait ainsi être, *via* l'autophosphorylation du récepteur, l'interaction avec la PI-3 kinase, son activation et l'accumulation de phospho-inositides phosphorylés à la position 3. Une telle accumulation est, de fait, observée dans les cellules stimulées par PDGF. Cette stimulation aboutit aussi à la phosphorylation sur une tyrosine d'une phospholipase C (PLC- γ) [2], si bien que les PI-3 phosphates sont probablement hydrolysés en molécules qui sont des seconds messagers potentiels, aux effets peut-être différents de ceux de l'inositol 1,4, 5 triphosphate (IP₃), bien étudié depuis plusieurs années.

[1. Kaslankas A, Cooper JA. *Cell* 1989 ; 58 : 1121-33.]

[2. Meisenhelder J, *et al. Cell* 1989 ; 57 : 1109-22.]

■■■ **La segmentation du cerveau, les gènes homéotiques et les insectes.** Les insectes ont un plan corporel nettement segmenté. Tel n'est pas le cas des mammifères, chez lesquels cependant les somites du tronc, d'où vont dériver les corps vertébraux et les masses musculaires paravertébrales, peuvent constituer un reliquat d'une segmentation ancestrale. Le cerveau postérieur lui-même, au cours du développement, passe par une phase de renflements étagés (les rhombomères) qui peuvent évoquer une ébauche de segmentation. De fait, la neurogenèse semble être initiée dans des rhombomères alternés (second, quatrième, sixième rhombomère), alors que les paires craniennes seront développées à partir de couples successifs (second et troisième pour la V^e paire, quatrième et cinquième pour la VII^e paire, etc.). Les analogies entre le développement de ces « segments » cérébraux et des segments d'insectes sont renforcées par l'étude en hybridation *in situ* des ARNm codant pour des protéines à domaine homéo [1] ou à « doigts à zinc » [2]. Les gènes de mammifère *Hox-2* sont les homologues des gènes homéotiques *Antennapedia* et *Bithorax* de la drosophile. Ces derniers sont exprimés dans des segments dont l'ordre est relié à la position propre du gène dans cette famille multigénique : les gènes situés le plus en 5' sur le chromosome sont exprimés dans des segments plus antérieurs. De même, les gènes *Hox* sont exprimés dans des rhombomères dont la limite antérieure est reliée à la position du gène, deux gènes successifs sur le chromosome donnant des messagers dont les limites antérieures d'accumulation sont situées à deux rhombomères de distance (par exemple, la limite antérieure d'accumulation des messagers *Hox 2.6*, *2.7* et *2.8* se situe au niveau des rhombomères 7, 5 et 3). Un autre gène, codant pour une protéine « dactyle » [3] se liant à l'ADN (*Krox-20*), est exprimé électivement dans les rhombomères 3 et 5 [2]. Il semble ainsi qu'au cours de l'évolution, des gènes homologues aient gardé des

fonctions homologues, c'est-à-dire gouverner l'organisation segmentaire du corps, stade définitif de la morphogenèse chez les insectes et stade transitoire chez les vertébrés.

[1. Wilkinson DG, *et al. Nature* 1989; 341 : 405-9.]

[2. Wilkinson DG, *et al. Nature* 1989; 337 : 461-4.]

[3. Helbecque W, Henichart JP. *médecine/sciences* 1988; 10 : 624-8.]

■■■ **Un nouvel élément d'ADN activant l'expression des gènes *in situ*,** c'est-à-dire intégrés dans le génome. Cet élément d'ADN, appelé « A », est situé à 10 kpb en amont du gène du lysosyme. Il est inactif lorsqu'il est ajouté à un plasmide contenant un gène test (gène « rapporteur ») dont la transcription est analysée en position extrachromosomique. En revanche, lorsque cette construction est intégrée dans l'ADN génomique, la présence de l'élément A stimule considérablement le potentiel activateur d'un *enhancer* situé entre lui-même et le promoteur. De plus, il rend l'expression du gène test insensible à l'influence des séquences environnantes du site d'intégration [1]. Cet élément correspond à un site de fixation de l'ADN chromosomique sur le « squelette » nucléaire aussi appelé « matrice nucléaire », équivalent, au niveau du noyau, du cytosquelette dans le cytoplasme. Il contient également des sites potentiels d'interaction avec l'enzyme topo-isomérase II qui modifie l'hélicité de l'ADN (c'est-à-dire le « vrillage », ou superenroulement de la double hélice). L'ADN est normalement organisé dans le noyau sous la forme de boucles de quelques dizaines à une centaine de kpb dont les pieds sont ancrés à la matrice nucléaire par des éléments du type de celui étudié ici. C'est cette immobilisation des pieds de la boucle qui peut expliquer le superenroulement du brin d'ADN... et l'intervention des topo-isomérases. On conçoit ainsi que de tels éléments puissent isoler dans une boucle un gène de l'influence de séquences environnantes localisées dans une autre boucle. Ces

sites d'ancrages peuvent parfois être immédiatement contigus à des *enhancers* (comme c'est le cas de l'élément activateur dominant situé 45 kpb en amont du gène de la globine β ; *m/s*, n° 4, vol. 4, p. 252), ou nettement séparés d'eux, comme ici. [1. Zuber MX, *et al. Nature* 1989; 341 : 343-5.]

■■■ **Mode d'action du transactivateur Tat du virus HIV-1 : suite du feuilleton.** La protéine Tat de HIV-1 reconnaît la séquence TAR qui se trouve dans la région transcrite du LTR de HIV-1 et active l'accumulation des protéines virales, cela est bien établi. En revanche, le mode d'interaction de Tat et de la séquence TAR et les conséquences de cette interaction font l'objet de résultats aussi contradictoires que multiples : l'augmentation de l'expression du virus serait secondaire à une augmentation de l'initiation de la transcription [1], à un effet « d'anti-terminaison » de la transcription permettant l'élongation des transcrits au-delà de la séquence TAR [2], ou à une augmentation de la traduction du message [3] (*Voir aussi minisynthèse sur la protéine Tat, dans ce même numéro, page 779*). Des équipes anglaises d'Oxford viennent de démontrer que l'injection de la protéine Tat purifiée dans des oocytes de *Xenopus* entraînait l'hyperexpression de messagers de HIV-1 contenant la séquence TAR, synthétisés *in vitro* et co-injectés dans l'œuf d'amphibien [4]. Cette « activation » survient dans le noyau, mais non dans le cytoplasme. Donc ces résultats ne peuvent être dus à un mécanisme transcriptionnel. En revanche, ils sont compatibles avec une modification chimique de l'ARN, survenant dans le noyau et stimulée par Tat, modification qui augmenterait la traductibilité du message. [1. Gentz R, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86 : 821-4.] [2. Kao Sy, *et al. Nature* 1987; 330 : 489-93.] [3. Rosen CA, *et al. Nature* 1986; 319 : 555-9.] [4. Braddock M, *et al. Cell* 1989; 58 : 269-79.]

■■■ **Altération des cellules souches médullaires cultivées *in vitro*.** Une des perspectives les moins éloignées de la thérapie génique serait d'introduire un gène dans les cellules souches hématopoïétiques d'un malade auquel de la moelle aurait été prélevée, puis de réintroduire ces cellules ainsi modifiées chez le donneur. Cette stratégie suppose cependant que ce sont bien, notamment, les cellules souches qui ont été modifiées, et qu'elles ont gardé leurs propriétés de reconstituer les différentes lignées des cellules du sang. Les résultats rapportés par des chercheurs de l'institut Gustave-Roussy à Villejuif (France) sont donc inquiétants en ce qu'ils montrent que la seule culture de ces cellules souches diminue considérablement leur potentiel de reconstituer les lignées médullaires [1].

[1. Dumenil D, *et al. Mol Cell Biol* 1989; 9: 4541-4.]

■■■ **Les récepteurs de la cholécystokinine gouvernent les sensations de faim et de satiété.** La cholécystokinine (CCK) est un peptide, dont la forme active compte le plus souvent huit acides aminés*, trouvé d'abord dans le tube digestif puis dans le cerveau. La CCK exogène diminue expérimentalement la prise de nourriture et provoque une sensation de satiété. Le mécanisme de cette action reste controversé. Il existe en effet deux types de récepteurs, le type périphérique (CCK-A) et le type cérébral (CCK-B). Leur discrimination est devenue possible depuis la mise au point en 1986 d'antagonistes non peptidiques, spécifiques de chacun de ces récepteurs [1, 2]. Ces deux types se sont montrés capables d'augmenter chez le rat la prise de nourriture et de retarder l'apparition de la satiété. Cependant l'antagoniste de la CCK-B (L.365.260) est 100 fois plus puissant que celui de la CCK-A (MK-329) [3]. Ces résultats suggèrent que la CCK endogène n'agit — en tout cas — pas de façon prépondérante au niveau du tube digestif, mais essentiellement au niveau des récepteurs CCK-B du cerveau. Ces conclusions

peuvent avoir une importance clinique: des agonistes spécifiques du récepteur CCK-B pourraient être des médicaments supprimeurs de l'appétit n'ayant que des effets secondaires périphériques minimes; réciproquement, des antagonistes des récepteurs CCK-B pourraient être utiles dans le traitement de certaines formes d'anorexie.

[1. Evans BE, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 4918-22.]

[2. Chang RSL, Lotti VD. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 4923-6.]

[3. Dourish CT, *et al. Science* 1989; 245: 1509-11.]

* Asp-Tyr (SO₃H)-Met-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH₂.

■■■ **Et maintenant, des cultures de matières plastiques.** Certaines bactéries, confrontées à des contraintes nutritives particulières, synthétisent des biopolymères qui leur servent de substance de réserve. Les mieux étudiées de ces substances sont les polyhydroxy-alcanoates, principalement le polyhydroxy-butyrates et ses variantes (PHB). Ces polymères ont des propriétés mécaniques, variables selon leur composition exacte, qui dépend des milieux nutritifs sur lesquels poussent les bactéries. Certains d'entre eux sont d'excellentes matières plastiques ayant l'immense avantage sur les polymères synthétiques actuels d'être biodégradables. Plusieurs sociétés industrielles importantes ont largement entrepris les essais de production de telles substances, soit à partir des microorganismes producteurs habituels, soit, après clonage des gènes assurant cette synthèse, chez *E. Coli* [1]. La proportion des biopolymères peut atteindre 90 % du poids sec des producteurs habituels et 70 % de celui de souches transformées d'*E. Coli*. Malgré cette haute concentration du produit d'intérêt, son isolement des corps bactériens pose cependant encore problème. Dans le cas d'*E. Coli*, il est possible d'utiliser des souches qui, à 42 °C, se lysent spontanément... libérant ainsi leurs biopolymères dans le milieu. A plus long terme, et quoique les obstacles

restent ici considérables, certains envisagent de transférer les gènes commandant la production du PHB et de ses dérivés dans des plantes-céréales, pommes de terre ou navets- qui fabriqueraient ainsi ces biopolymères à la place de leurs habituels amidons: ce serait, alors, la porte ouverte à une industrie peu onéreuse de matières plastiques biodégradables et indépendantes des dérivés du pétrole.

[1. Poll R. *Science* 1989; 245: 1187-9.]

■■■ **Mécanisme de l'effet protecteur des molécules de classe II du CMH chez les souris NOD génétiquement diabétiques.** *médecine/sciences* a déjà signalé que l'introduction chez la souris NOD (*non-obese diabetic*) d'un transgène codant par une molécule I-E (molécule de classe II du CMH) protégeait les animaux transgéniques de l'apparition ultérieure d'un diabète. Ces résultats qui soulignent que, comme chez l'homme, les molécules de classe II du CMH jouent un rôle essentiel dans la susceptibilité ou la résistance au diabète sucré, posent le problème du mécanisme de l'effet protecteur observé. Des clones de cellules T cytotoxiques isolées du pancréas de souris NOD diabétiques reconnaissent des antigènes spécifiques des cellules β des îlots de Langerhans, aussi bien chez les souris I-E⁺ que chez les souris I-E⁻. Les récepteurs αβ pour l'antigène de ces cellules contiennent une chaîne β incluant le segment V_β5 [1]. Or, au cours de l'ontogénèse thymique, l'expression des molécules I-E entraîne une sélection négative des thymocytes possédant un récepteur dont la chaîne β a subi ce type de réarrangement, c'est-à-dire les cellules V_β5⁺. On peut donc supposer que c'est cette sélection négative des clones cytotoxiques V_β5⁺ anti-îlots de Langerhans, sous l'influence des cellules thymiques exprimant les molécules I-E, qui est responsable de l'effet protecteur de ces molécules de classe II.

[1. Reich EP, *et al. Nature* 1989; 341: 326-8.]