

■■■ **La base moléculaire des gravités différentes des myopathies de Duchenne et de Becker est moins univoque que ne le prétendait un article récent commenté dans *m/s* (n° 7, vol. 4, p. 453).** Dans certains cas, comme rapporté précédemment, la délétion d'exons du gène de la dystrophine ne change pas la phase de lecture du messenger résiduel, qui est donc traductible en une protéine tronquée qui pourrait être partiellement fonctionnelle. Cependant, le laboratoire de R.G. Worton a démontré dans un article publié en novembre 1988 [1] que, très souvent, la délétion du gène conduisait, chez les malades atteints de symptômes modérés (myopathie de Becker), à un changement de phase de lecture. Deux hypothèses peuvent être proposées pour expliquer ce phénomène : (a) un épissage anormal surajouté à la délétion aboutit à la perte dans le messenger d'exons supplémentaires, ce qui rétablit la phase de lecture ; (b) un nouveau codon AUG d'initiation de la traduction situé en aval de la délétion est utilisé, conduisant à la synthèse d'une protéine raccourcie dans sa région aminoterminal (pour laquelle code l'extrémité 5' du messenger).
[1. Malhotra SB, et al. *Science* 1988 ; 242 : 755-9.]

■■■ **Ce qui fait la spécificité pour les minéralocorticoïdes du récepteur de l'aldostérone !** Le récepteur de l'aldostérone a autant d'affinité pour les glucocorticoïdes que pour les minéralocorticoïdes (*m/s* n° 9, vol. 3, p. 556). Il est localisé au niveau de tissus qui sont des cibles physiologiques des minéralocorticoïdes (reins, parotides, côlon), mais aussi de tissus qui ne répondent pas à ces hormones (hippocampe, cœur). Chez l'animal, des minéralo- et des glucocorticoïdes marqués sont identiquement fixés par les tissus qui ne sont pas des cibles de l'aldostérone, alors que seuls les premiers sont fixés au niveau des tissus cibles. Le mécanisme de cette spécificité des récep-

teurs est la présence au niveau des tissus cibles de l'enzyme 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase, qui transforme le cortisol et la corticostérone (les glucocorticoïdes naturels) en dérivés de la cortisone pour lesquels le récepteur a peu d'affinité [1]. Cette enzyme est en revanche inactive sur l'aldostérone qui, seule, pourra donc se lier au récepteur. Au niveau des tissus non cibles (cœur, hippocampe), les glucocorticoïdes ne sont pas détruits car l'enzyme est absente ; ils peuvent donc se fixer au récepteur au même titre que les minéralocorticoïdes. Dans ces tissus, le récepteur de l'aldostérone est donc principalement utilisé comme récepteur des glucocorticoïdes.
[1. Funder JW, et al. *Science* 1988 ; 242 : 583-5.]

■■■ **La sécrétion du facteur natriurétique auriculaire (ANF) par les myocytes cardiaques en culture est augmentée par les glucocorticoïdes.** L'ANF est contenu dans les granules denses des oreillettes cardiaques sous la forme de pro-ANF (1-126), qui est le précurseur de l'hormone circulante ANF (99-126). Les myocytes auriculaires, maintenus en culture dans un milieu dépourvu de sérum, contiennent de l'ANF (1-126). L'addition d'un glucocorticoïde provoque la sécrétion d'une molécule identique à l'ANF (99-126) ; cet effet est inhibé par un antiglucocorticoïde, le RU 486 [1]. Les myocytes ventriculaires en culture ne contiennent pas (ou peu) de granules mais sécrètent cependant de l'ANF à un taux relativement élevé : les myocytes ventriculaires sécrètent par heure 50 à 60 % du contenu cellulaire total en ANF, alors que les myocytes auriculaires n'en libèrent que 5 à 10 %. Les glucocorticoïdes stimulent la sécrétion d'ANF des ventricules comme des oreillettes. Enfin la transformation de la prohormone en ANF (99-126) s'effectue probablement dans le myocyte ou à son contact, et ne dépend

pas de la présence de grandes quantités de granules.

[1. Shields PP, et al. *J Biol Chem* 1988 ; 263 : 12619-28.]

■■■ **Surmortalité secondaire au SIDA chez les drogués new-yorkais.** Chez les drogués par voie intraveineuse de New York, la mortalité directement attribuable à la toxicomanie est passée de 492/an en 1981 à 1996/an en 1986. Cette augmentation se décompose en des décès directement secondaires à des SIDA reconnus (de 0 à 905) et en d'autres dus à des causes variées, avant tout des maladies infectieuses (de 492 à 1091) [1]. Les plus fréquentes de ces infections mortelles sont des pneumonies d'origine indéterminée et des endocardites qui surviennent le plus souvent chez des drogués homo- ou bisexuels, noirs ou d'origine hispanique, séropositifs pour HIV-1. Il semble donc probable qu'il y ait une relation entre l'infection par le virus HIV et l'importante augmentation des infections mortelles chez les toxicomanes, même chez ceux qui n'ont pas toute la symptomatologie d'immunodéficience acquise.
[1. Stoneburner RL, et al. *Science* 1988 ; 242 : 916-9.]

■■■ **Clonage de l'ADN complémentaire et du gène codant pour le récepteur de l'interféron γ .** Des chercheurs français de l'Inserm (Institut Curie, Paris) et suisses (université de Zürich et laboratoires Hoffman-Laroche, Bâle) viennent d'isoler et de caractériser des clones d'ADNc et génomiques codant pour le récepteur de l'interféron γ [1]. Le messenger principal mesure 2,3 kilobases ; il a le potentiel de coder pour une protéine de 489 acides aminés qui a les caractéristiques d'une molécule transmembranaire ne présentant aucune analogie avec d'autres protéines connues. Le gène est localisé sur le bras long du chromosome 6. Pour la

première fois, on dispose donc maintenant de la structure d'un récepteur d'un des interférons, ainsi que du gène correspondant. Nul doute que cela permettra de préciser très rapidement le mécanisme de la transmission à la cellule du message des interférons... ou, au moins, pour commencer, de l'un d'entre eux, l'interféron γ .

[1. Aguet M, *et al. Cell* 1988 ; 55 : 273-80.]

■■■ Le récepteur des hormones thyroïdiennes et celui de l'acide rétinoïque reconnaissent les mêmes éléments d'ADN, et pourraient donc contrôler la transcription des mêmes gènes. Les laboratoires de R.M. Evans et de M.G. Rosenfeld (Salk et Howard Hughes institutes, La Jolla, CA, USA) viennent de démontrer que l'élément d'ADN qui confère à un gène en amont duquel il est placé la propriété d'être stimulé par les hormones thyroïdiennes répondait également à l'acide rétinoïque. Le principe des expériences qui ont permis de parvenir à ce résultat est le suivant : un gène test composé d'un promoteur et d'un oligonucléotide reproduisant un élément de réponse aux hormones thyroïdiennes contrôlant la transcription d'un gène « rapporteur » (dont le produit est facile à doser) est introduit dans des cellules en même temps que le gène codant soit pour le récepteur des hormones thyroïdiennes, soit pour celui de l'acide rétinoïque (*m/s n° 3, vol. 3, p. 172, et n° 3, vol. 4, p. 196*). Les cellules transfectées sont alors traitées par les hormones thyroïdiennes ou par l'acide rétinoïque, et l'expression du gène rapporteur est mesurée. Les cellules contenant le gène du récepteur des hormones thyroïdiennes répondirent à ces hormones par une augmentation importante de l'expression du gène rapporteur, de même que celles contenant le gène du récepteur de l'acide rétinoïque se révélèrent sensibles à cet agent. Les hormones thyroïdiennes et l'acide rétinoïque sont

des molécules fort différentes, elles interviennent dans des phénomènes cellulaires et des voies métaboliques distinctes ; que leurs récepteurs reconnaissent les mêmes éléments d'ADN est donc surprenant. On peut, à ce stade, émettre trois hypothèses : d'une part, que les résultats de Rosenfeld et Evans ne s'appliquent peut-être pas à toutes les séquences d'ADN capables de fixer les récepteurs, certaines pouvant être spécifiques de l'un ou de l'autre ; d'autre part, que l'interaction des récepteurs fixés à des cibles communes avec les autres facteurs transcriptionnels participant au contrôle des gènes pourrait être très différente selon le type de récepteur ; enfin, il se pourrait que la distribution cellulaire différente de ces récepteurs soit à l'origine de tout ou partie de la spécificité d'action des hormones thyroïdiennes et de l'acide rétinoïque.

[1. Umesono K, *et al. Nature* 1988 ; 336 : 262-5.]

■■■ Le gène murin *Pax 1* est le siège de la mutation *undulated* entraînant des troubles du développement. Nous avons très récemment présenté dans ces colonnes le gène *Pax 1* de la souris, cloné sur la base d'homologies de séquence avec les gènes *gooseberry* de drosophile, gènes de segmentation de type *paired* (*m/s n° 8, vol. 4, p. 525*). L'intérêt particulier de ce gène est qu'il est le premier qui, chez les mammifères, s'exprime d'une façon nettement segmentaire, l'ARN étant détecté, chez l'embryon de neuf jours, en bandes alternées correspondant aux sclérotomes (précurseurs des corps vertébraux et des disques intervertébraux) puis, plus tard, au niveau des disques intervertébraux. *Pax 1* est également transcrit dans le sternum et le thymus. Or il existe, chez la souris, une mutation récessive, dénommée *undulated* (*un*) qui, chez les homozygotes, entraîne un développement anormal des vertèbres et du sternum.

Pax 1 et *un* sont localisés dans la même région du chromosome 2, et semblent en fait, être le même gène : en effet, la séquence nucléotidique du gène *Pax 1* de souris *undulated* (déterminée après amplification de l'ADN par PCR, *m/s n° 8, vol. 4, p. 515*) révèle une mutation ponctuelle transformant une glycine en une sérine, la glycine étant toujours conservée chez les souris normales. L'avantage majeur de la drosophile sur la souris est sa « génétique », avec les nombreuses mutations de gènes de développement connues. Des gènes homologues chez les mammifères des gènes de développement de la drosophile ont été isolés depuis plusieurs années, mais il n'existait aucune preuve formelle qu'ils intervenaient aussi dans l'embryogenèse : dans le cas du gène *Pax 1*, voilà qui est fait !

[1. Balling R, *et al. Cell* 1988 ; 55 : 531-5.]

■■■ Efficacité de l'interféron γ dans la granulomatose chronique. La granulomatose chronique est une maladie rare et grave entraînant généralement la mort avant l'âge adulte du fait d'infections à répétition. Dans sa forme classique, récessive liée au sexe, elle est due au déficit en cytochrome membranaire b558, un élément de la chaîne de transport des électrons indispensable au fonctionnement de la NADPH oxydase. Cette enzyme joue un rôle clé dans l'activation des voies oxydatives dans les macrophages et les polynucléaires stimulés par la phagocytose. Il existe aussi des formes autosomiques de la maladie, probablement dues à un défaut d'activation des voies oxydatives par des facteurs solubles. Un groupe du NIH à Bethesda (MD, USA) vient de montrer que, *in vitro*, le traitement par l'interféron γ augmentait le métabolisme oxydatif et la production d'anion superoxyde O_2^- des monocytes chez 19 malades sur 30, dont un tiers de malades atteints de la forme classique liée à l'X, sans

cytochrome b558, et la presque totalité des malades souffrant de la forme autosomique [1]. Trois malades ont été traités par voie sous-cutanée : dans tous les cas, la production d'anion superoxyde des monocytes a été augmentée par ce traitement, de même que l'activité bactéricide des polynucléaires. Les mécanismes de cette efficacité de l'interféron γ pourraient être multiples : une augmentation de l'expression du gène codant pour le cytochrome b558, peut-être aussi d'autres gènes codant pour des régulateurs des voies métaboliques oxydatives, une stimulation, enfin, des voies non-oxydatives de la bactéricidie.

[1. Sechler JMG, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 4874-8.]

■■■ La dysgénésie musculaire de la souris est due au déficit en une protéine sensible au voltage et couplant l'excitation et la contraction des myotubes. En 1987, le groupe de S. Numa (Kyoto, Japon) clonait l'ADNc codant pour une protéine du tubule transverse qui est l'une des sous-unités d'un complexe intervenant dans le couplage entre l'excitation et la contraction des myotubes [1]. Au cours du déclenchement de la contraction musculaire, la dépolarisation secondaire à l'excitation agit sur le tubule T, une invagination du sarcolemme qui est en contact avec le réticulum sarcoplasmique. Une structure de ce tubule transverse détecte la dépolarisation et transmet aux citernes du réticulum un signal provoquant la sortie de calcium ionisé ; l'augmentation du calcium intrasarcoplasmique jouerait alors un rôle essentiel dans le déclenchement de la contraction. Une série d'arguments pharmacologiques suggèrerait que la structure du tubule T sensible au voltage serait le récepteur d'un composé organique, la dihydropyridine (DHP) qui bloque le couplage excitation-contraction et module l'activité de canaux calciques lents. C'est donc l'ADN complémentaire du messageur de ce

récepteur qui fut cloné ; la séquence protéique déduite de la séquence nucléotidique indiquait que le récepteur possédait une région ressemblant à d'autres canaux ioniques et une autre région comportant des segments intramembranaires qui pourraient jouer le rôle de « détecteur de voltage ». La sonde du récepteur du DHP a permis de détecter des anomalies du gène correspondant chez certaines souris atteintes de dysgénésie musculaire, une maladie autosomique récessive fatale comportant un découplage excitation-contraction et une inactivité des canaux calciques lents sensibles au DHP. Chez ces souris, le messageur du récepteur du DHP est très abaissé. L'injection dans les noyaux de myotubes en culture, issus de souris dysgénésiques d'un plasmide d'expression contenant l'ADNc du récepteur du DHP, permet de rétablir le couplage entre l'excitation et la contraction musculaire, ainsi que l'activité des canaux calciques lents sensibles au DHP [2]. Ainsi, ces études constituent-elles une double « première » : la première caractérisation moléculaire d'une structure clé du couplage excitation-contraction dans le muscle, et la première identification d'un clone d'ADN chez un mammifère par sa capacité à restaurer une fonction dans des cellules issues d'un animal ayant une anomalie héréditaire.

[1. Tanake T, et al. *Nature* 1987 ; 328 : 313-8.]

[2. Tanake T, et al. *Nature* 1988 ; 336 : 134-9.]

■■■ Des inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase des récepteurs de facteurs de croissance ont-ils un avenir dans le traitement des cancers ? A partir d'un composé isolé du champignon actinomycète, l'erbstatin, une équipe israélienne de Jérusalem [1] a synthétisé toute une série de dérivés qui sont de puissants inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase et de l'autophosphorylation du récepteur d'EGF (*epidermal growth factor*). Les plus actifs de ces composés

sont hydrosolubles et ont une constante d'inhibition de l'ordre de $3 \mu\text{M}$ pour le récepteur d'EGF ; ils sont beaucoup moins actifs sur le récepteur de l'insuline. Ces composés bloquent la réponse proliférative de cellules humaines (lignée A 431) à l'EGF. De nombreux oncogènes, dont *c-erbB*, qui est le gène cellulaire codant pour le récepteur d'EGF, sont des tyrosine kinases, ce qui justifie l'intérêt potentiel de ces travaux. De nombreuses études complémentaires sont évidemment indispensables *in vivo* pour déterminer l'absence de toxicité générale et l'efficacité éventuelle de ces produits dans l'organisme entier.

[1. Yaish P, et al. *Science* 1988 ; 242 : 933-5.]

■■■ Les formes autosomiques de la granulomatoïse chronique de l'enfant sont dues au déficit en cofacteurs cytosoliques de la NADPH-oxydase. La forme liée à l'X de la granulomatoïse chronique est due au déficit en une des sous-unités du cytochrome b558, liée à la membrane. Le cytochrome participe au complexe enzymatique appelé « NADPH oxydase » dont le rôle normal est d'engendrer, à partir de l'oxygène moléculaire de l'air, de l'anion superoxyde O_2^- et d'autres dérivés toxiques de l'oxygène. Cette activité requiert également la présence de protéines cytosoliques qui ont été partiellement purifiées. Des anticorps ont été obtenus. Deux équipes ont étudié la présence (par des méthodes immunologiques) [1] et l'activité de certains de ces facteurs cytosoliques [2]. Trois types de protéine ont été ainsi décrits : NCF-1 (*neutrophil cytosol factor*), de 47 kDa ; NCF-2, de 65 kDa ; et NCF-3 [2]. Des malades atteints de formes autosomiques de la maladie sont déficients en NCF-1 ou NCF-2.

[1. Volpp BD, et al. *Science* 1988 ; 242 : 1295-7.]

[2. Nunoï H, et al. *Science* 1988 ; 242 : 1298-301.]