

## **L**e système *W* ; *c.kit/Steel* : de la génétique murine à la découverte d'un nouveau facteur de croissance hématopoïétique

Les mutations *W* (*dominant white spotting*) et *Steel* (*SI*) de la souris aboutissent à un même phénotype associant des anomalies de trois lignages cellulaires : les mélanocytes (dérivés de la crête neurale), les cellules germinales et certaines cellules hématopoïétiques.

La plupart des homozygotes ne sont pas viables, du fait d'une anémie profonde. Certains homozygotes pour des allèles particuliers ou, surtout, des hétérozygotes composés pour deux allèles différents de *W* ou de *SI*, sont viables, mais très anémiques, stériles, avec des anomalies de pigmentation. Les hétérozygotes simples sont légèrement affectés. Au point de vue hématopoïétique, ce sont les lignées érythroïde et mastocytaire qui sont le plus profondément atteintes. Malgré leurs similitudes phénotypiques, ces deux mutations sont nettement distinctes et affectent l'une les lignées cellulaires anormales (mutation *W*) et l'autre leur micro-environnement (mutation *SI*). C'est ainsi que la greffe de cellules de crête neurale, précurseurs des mélanocytes, de génotype *SI/SI* à des souris normales aboutit à une pigmentation de type « sauvage ». De même, des cellules souches hématopoïétiques *SI/SI* peuvent constituer un greffon efficace pour repeupler la moelle de receveurs normaux irradiés, alors que des cellules *W/W* sont parfaitement inefficaces. Ces particularités avaient permis de suggérer, dès 1980, que le gène *W* pouvait coder pour un récepteur dont le ligand pouvait être le produit du gène *SI* [1].

En 1988, plusieurs équipes parvinrent à cloner le gène d'un proto-oncogène, *c.kit*, homologue de l'oncogène viral *v.kit* du virus HZ 4 du sarcome félin, qui code pour un récepteur membranaire dont la région intracytoplasmique a une acti-

vité de tyrosine kinase, appartenant donc à une large famille de récepteurs de facteurs de croissance et d'hormones (insuline, IGF-1, EGF, PDGF, CSF-1, etc.). Le gène est muté chez les souris porteuses des différents allèles de *W*, ces mutations semblant constamment affecter l'activité tyrosine kinase du récepteur, c'est-à-dire intéresser sa région intracytoplasmique.

Simultanément, trois équipes [2-9] viennent, par différentes méthodes, d'isoler un nouveau facteur de croissance mastocytaire qui est un ligand de la protéine *c-Kit* et dont le gène est altéré chez la souris *SI*.

Cette nouvelle cytokine, dénommée SCF (*stem cell factor*) [5-7], MGF (*mast cell growth factor*) [2-4], KL (*kit ligand*) [8] ou SLF (*steel factor*) [1], possède, comme cela est fréquent pour ce type de molécule, des activités biologiques variées. En association avec l'érythropoïétine, SLF stimule fortement l'érythropoïèse et, en association avec le GM-CSF (*granulocyte macrophage colony stimulating factor*) et avec l'interleukine 7, il est très actif sur les lignées myéloïdes et lymphoïdes. A lui tout seul, ce facteur stimule la croissance des précurseurs des mastocytes et permet, *in vivo*, de corriger l'anémie et le déficit mastocytaire des souris *SI/SI*. Deux formes de SLF semblent exister, l'une soluble et l'autre liée à la membrane [4]. La protéine soluble est fortement glycosylée et compte environ 200 acides aminés, alors que le messenger majoritaire est de très grande taille (6 000 pb), ce qui laisse supposer qu'il est traduit en un précurseur qui subit ultérieurement une maturation protéolytique. L'éventuelle signification biologique d'autres peptides que SLF engendrés par le clivage du précurseur reste absolument inconnue. Enfin, certaines don-

nées de séquence suggèrent que le gène *SLF*, c'est-à-dire selon toute évidence le gène *Steel*, pourrait, comme cela est également de plus en plus fréquemment observé, donner plusieurs transcrits à la suite de phénomènes d'excision-épissage différentiels.

L'expression de ce gène au cours du développement, de même d'ailleurs que celle du gène *c.kit/W*, n'est pas limitée aux cellules cibles supposées [10] (hématopoïétiques, dérivés de la crête neurale et cellules primordiales à l'origine de la lignée germinale), ce qui permet de penser que le système *c.kit/Steel* de récepteur/ligand joue, dans l'embryogenèse, un rôle plus large que ne l'indique le phénotype des souris viables *W/W* et *SI/SI*.

Au-delà de l'évident intérêt du système pour l'élucidation d'étapes importantes du développement et de la différenciation tissulaire, il faut remarquer que cette recherche partant de la génétique murine permet de mettre la main sur un facteur de croissance hématopoïétique qui pourrait bien se révéler très intéressant en clinique humaine pour accélérer la régénération après greffe de moelle ou aplasie thérapeutique, ou pour traiter certaines formes d'insuffisance médullaire.

A. K.

1. Witte ON. *Steel locus* defines new multipotent growth factor. *Cell* 1990 ; 63 : 5-6.
2. Williams DE, Eisenman J, Baird A, et al. Identification of a ligand for the *c-kit* proto-oncogene. *Cell* 1990 ; 63 : 167-74.
3. Copeland NG, Gilbert DJ, Cho BC, et al. Mast cell growth factor maps near the *Steel locus* on mouse chromosome 10 and is deleted in a number of *Steel* alleles. *Cell* 1990 ; 63 : 175-83.
4. Anderson DM, Lyman SD, Baird A, et al. Molecular cloning of mast cell growth factor, a hematopoietin that is active in both mem-

brane bound and soluble forms. *Cell* 1990 ; 63 : 235-43.

5. Zsebo KM, Wypych J, McNiece IK, *et al.* Identification, purification, and biological characterization of hematopoietic stem cell factor from buffalo rat liver-conditioned medium. *Cell* 1990 ; 63 : 195-201.

6. Martin FH, Suggs SV, Langley KE, *et al.* Primary structure and functional expression of rat and human stem cell factor DNAs. *Cell* 1990 ; 63 : 203-11.

7. Zsebo KM, Williams DA, Geissler EN, *et al.* Stem cell factor is encoded at the *Sl* locus of the mouse and is the ligand for the c-kit tyrosine kinase receptor. *Cell* 1990 ; 63 : 213-24.

8. Huang E, Nocka K, Beier DR, *et al.* The hematopoietic growth factor KL is encoded by the *Sl* locus and is the ligand of the c-kit receptor, the gene product of the *W* locus. *Cell* 1990 ; 63 : 225-33.

9. Flanagan JG, Leder P. The *kit* ligand : a cell surface molecule altered in steel mutant fibroblasts. *Cell* 1990 ; 63 : 185-94.

10. Matsui Y, Zsebo KM, Hogan BL. Embryonic expression of a hematopoietic growth factor encoded by the *Sl* locus and the ligand for *c-kit*. *Nature* 1990 ; 347 : 667-8.

## ■■■■ BRÈVE ■■■■

■■■■ Le facteur natriurétique atrial stimule *in vitro* la sécrétion d'érythropoïétine. L'hypoxie stimule la production de facteur natriurétique atrial (ANF) et également celle d'érythropoïétine (Epo). Ueno *et al.* [1], New Orleans (Louisiane, USA), ont étudié l'effet de l'ANF sur des cellules de carcinome rénal humain, maintenues en culture, produisant de l'Epo. Ces cellules ont des sites de liaison de haute affinité pour l'ANF. L'incubation de ces cellules avec des doses croissantes d'ANF entraîne une nette stimulation de la sécrétion d'Epo. L'action de l'ANF passe par la stimulation de la synthèse intracellulaire de GMP cyclique. Dans cette étude, l'ANF, en présence d'un inhibiteur de la phosphodiesterase, augmente les taux intracellulaires de GMP cyclique. Le GMP cyclique pourrait ainsi être le médiateur responsable de l'effet de l'ANF sur la production d'Epo. Cependant Ueno *et al.* n'ont pas pu démontrer jusqu'à présent un effet comparable sur des cellules rénales normales en culture.

[1. Ueno M, *et al.* *Am J Physiol* 1990 ; 259 : C427-31.]

*m/s* n° 10, vol. 6, décembre 90

# Un nouveau membre de la superfamille des récepteurs nucléaires activé par les inducteurs peroxysomiaux

Les inducteurs peroxysomiaux sont, pour certains, utilisés en thérapeutique humaine comme hypolipémiants. Ils induisent, en effet, une importante prolifération des peroxysomes hépatiques, associée à une stimulation de la  $\beta$ -oxydation des acides gras à longue chaîne par augmentation de la synthèse des enzymes impliquées dans cette voie métabolique. Leur innocuité a été plusieurs fois mise en doute car ils sont, chez les rongeurs, hépatocarcinogènes. Ils représentent d'ailleurs une classe particulière de carcinogènes car ils n'ont aucun pouvoir mutagène détectable, contrairement à la grande majorité des carcinogènes « génotoxiques ». Le mécanisme de leur pouvoir tumorigène pourrait être l'hyperproduction d' $H_2O_2$  liée à l'hyperplasie peroxysomiale, eau oxygénée engendrant des radicaux libres oxydants pouvant léser, indirectement, l'ADN.

Une protéine intracellulaire liant ce type de molécule a été décrite, ce qui, joint au pouvoir activateur de ces composés sur l'expression de nombreux gènes, a fait proposer l'hypothèse selon laquelle ils agiraient par l'intermédiaire de récepteurs nucléaires de la même famille que ceux des hormones stéroïdes, thyroïdiennes et de l'acide rétinolique. I. Issemann et S. Green, en Grande-Bretagne, ont voulu tester cette hypothèse en examinant des clones d'ADNc hépatiques codant pour des récepteurs de cette famille mais ne correspondant à aucun de ceux décrits jusqu'à présent [1]. De fait, ils ont trouvé une séquence codant pour un PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptor*) dont les propriétés sont cohérentes avec celles attendues pour un médiateur de l'action des inducteurs peroxysomiaux. Un ADNc hybride a été synthétisé par génie génétique, codant pour le domaine de liaison à l'ADN des

récepteurs des glucocorticoïdes ou des œstrogènes et la région supposée de liaison du ligand du PPAR. Le vecteur d'expression permettant la synthèse de ce récepteur chimérique a été introduit par transfection dans des cellules, en même temps qu'un gène test contrôlé par un élément de réponse aux glucocorticoïdes ou aux œstrogènes. Cette stratégie, d'utilisation très générale lorsqu'il s'agit de tester la spécificité de ligand d'un récepteur nucléaire dont on ne connaît pas la cible sur l'ADN, est fondée sur le caractère modulaire de ces protéines récepteurs. Un domaine de liaison d'un ligand A associé à une région de fixation sur une cible B connue d'ADN (ici des éléments de réponse à des hormones stéroïdes) doit permettre au ligand A testé d'activer un gène contrôlé par l'élément B. Ainsi, dans l'expérience d'Issemann et Green, le traitement des cellules transfectées stimule-t-il de 10 à 40 fois l'expression du gène test. Néanmoins, la molécule PPAR ne semble pas avoir d'affinité pour l'inducteur peroxysomial testé, la nafénopine, ce qui suggère qu'elle est différente de la protéine de liaison préalablement décrite. L'effet pourrait donc être indirect, que la nafénopine induise la libération d'un ligand ou une activation par modification du récepteur, par exemple une phosphorylation. Quoiqu'il en soit, ces résultats montrent que les membres de la superfamille des récepteurs nucléaires tiennent sous leur contrôle une grande diversité de phénomènes, ici impliqués dans le métabolisme lipidique et, peut-être, certaines formes de carcinogenèse hépatique.

A. K.

1. Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 1990 ; 347 : 645-50.

S  
E  
T  
T  
E  
N  
O  
M