

■■■ **Imagerie de récepteurs de la somatostatine pour la localisation des tumeurs endocrines.**

La présence de récepteurs de haute affinité pour la somatostatine a été prouvée dans un grand nombre de tumeurs endocrines pancréatiques et de tumeurs carcinoïdes ; dans ces cas, un traitement prolongé par l'octréotide, analogue de la somatostatine 14 à longue durée d'action, permet souvent d'atténuer, voire de faire disparaître les signes cliniques directement liés à l'hypersécrétion hormonale : ce traitement symptomatique palliatif est d'un intérêt tout particulier dans les tumeurs carcinoïdes, les vipomes et certains insulinomes, et a été évalué, pour les deux premières variétés de tumeurs, par la FDA en 1988. Lambert *et al.* (Rotterdam, Pays-Bas et Berne, Suisse) [1] ont récemment étendu ces données thérapeutiques à des aspects diagnostiques. Ils ont utilisé un analogue marqué de l'octréotide (le I¹²⁵-Tyr³-octréotide) pour l'imagerie *in vivo* de tumeurs endocrines et de leurs métastases ayant des récepteurs pour la somatostatine : après administration intraveineuse, le radio-ligand fixé sur les récepteurs pour la somatostatine peut être visualisé par scintigraphie (gamma caméra). Chez 42 malades ayant soit une tumeur carcinoïde métastasée, soit diverses tumeurs endocrines pancréatiques (gastrinome, insulinome, somatostatinoïde), soit des paragangliomes, la tumeur primitive et les métastases ont été localisées dans 38 cas ; en particulier ont été mises en évidence un grand nombre de métastases non repérées par échographie ou scanner. Globalement, la spécificité de la méthode était grande, comme le suggérait la corrélation étroite entre les données morphologiques *in vivo*, l'effet inhibiteur de l'octréotide sur la sécrétion d'hormone par la tumeur, et la présence de récepteurs pour la somatostatine démontrée *in vitro* sur des fragments obtenus après résection chirurgicale. Il y eut quatre faux négatifs, qui correspondaient, dans trois cas, à des tumeurs carcinoïdes et à un insuli-

nome n'ayant pas de récepteurs pour la somatostatine et de taille inférieure à 0,5 cm. Le pouvoir de résolution diagnostique de la méthode semble être de 1 cm. En outre, compte tenu de l'obtention d'une image corporelle totale, un bilan complet de l'extension métastatique peut être obtenu, notamment dans des zones qui habituellement ne sont pas soupçonnées être le siège de métastases. Enfin, une importante retombée thérapeutique de ce travail, est que la positivité de l'imagerie à l'aide de l'octréotide marqué procure un index fonctionnel des cellules tumorales en matière de récepteurs de la somatostatine, et donc permet de prévoir l'opportunité et l'efficacité d'un traitement symptomatique par l'octréotide. Ce travail, qui fait passer en clinique des données fondamentales recueillies au cours de ces dernières années sur les récepteurs de la somatostatine, peut avoir d'importantes retombées dans le diagnostic d'autres tumeurs riches en de tels récepteurs, tumeurs endocrines comme les adénomes hypophysaires fonctionnels ou non fonctionnels, ou non endocrines comme les méningiomes, les astrocytomes, les carcinomes bronchiques à petites cellules ou certains cancers du sein [2].

[1. Lamberts SWJ, *et al. N Engl J Med* 1990 ; 323 : 1246-9.]
 [2. Reubi JC, *et al. Metabolism* 1990 ; 39 (suppl 2) : 78-81.]

■■■ **Le déficit en récepteur de l'hormone de croissance dans le nanisme de Laron.**

Le nanisme de Laron, maladie à transmission récessive autosomique, ressemble cliniquement au déficit en hormone de croissance ; mais le taux sérique de cette hormone est élevé, et la résistance des tissus est due à l'absence ou à l'inactivité de son récepteur (*m/s n° 1, vol. 7, p. 87*). Le gène putatif du récepteur a été cloné ; il est porté par le chromosome 5 ; il contient au moins dix exons et code pour une protéine de 620 acides aminés, dont

la séquence évoque une protéine transmembranaire. La démonstration directe du rôle de cette protéine n'a pu encore être apportée, faute d'un test fonctionnel *in vitro*. La meilleure preuve de ce rôle reste actuellement de trouver des cas pathologiques dans lesquels l'altération du récepteur serait liée aux troubles sans équivoque. En 1989 on a décrit, d'une part, une mutation faux-sens (Phe⁹⁶→Ser), dont on ne peut prouver qu'elle soit responsable de la maladie [1], d'autre part une délétion partielle du gène [2]. L'équipe française dirigée par Michel Goossens s'est efforcée de découvrir des mutations non-sens, qui aboutiraient à former une protéine tronquée [3]. Ils ont examiné six malades non apparentés entre eux mais tous issus d'unions consanguines. L'analyse de 2 kb de la séquence codante montra une mutation ponctuelle chez trois d'entre eux : dans deux cas, un codon CGA devenait TGA, transformant une arginine en position 43 en codon de terminaison ; dans un troisième cas c'était une cystéine, dont le codon TGC devenait TGA en position 38. Chez ces trois malades la mutation se situait dans l'exon 4, et la synthèse s'arrêtait donc dès la partie initiale de la molécule. L'anomalie des trois autres sujets n'a pas été identifiée. Aucune délétion repérable par *Southern blot* n'a été observée dans cette série. On sait par ailleurs qu'il existe une homologie de séquence entre le domaine extracellulaire du récepteur et une protéine sérique capable de fixer l'hormone de croissance. Les auteurs ont constaté l'absence de cette activité dans le sérum des malades ayant un récepteur tronqué. Cette observation constitue un argument probant pour l'hypothèse que récepteur et protéine liant l'hormone de croissance sont les produits du même gène, résultant probablement d'épissages différents. Amselen *et al.* [3] font une dernière remarque de portée pratique : chez deux des trois sujets présentant les mutations non-sens, le codon muté était CGA, contenant un dinucléotide

CpG. On sait que la désamination d'une 5-méthylcytosine aboutit à une thymine. Les auteurs pensent que la cause la plus fréquente d'une mutation non-sens partirait d'un codon arginine CGA susceptible de devenir TGA. Pour donner l'exemple du récepteur de l'hormone de croissance, il existe 17 dinucléotides CpG, dont deux seulement sont à l'origine d'un codon pour l'arginine CGA. Ils proposent ainsi une méthode rapide pour cribler une mutation non-sens, fréquente au cours des maladies génétiques.

- [1. Amselen P, *et al.* *N Engl J Med* 1989 ; 321 : 989-95.]
 [2. Godowski PJ, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 8083-7.]
 [3. Amselen P, *et al.* *J Clin Invest* 1991 ; 87 : 1098-102.]

■■■■ Endothéline et cellules mésangiales glomérulaires. Zoja *et al.* [1] (Institut Mario Negri, Bergamo, Italie) montrent que la synthèse d'endothéline (ET) n'est pas limitée aux cellules endothéliales : les cellules mésangiales glomérulaires produisent de l'ET, comme l'avait déjà démontré un groupe japonais [2]. Des cellules mésangiales humaines en culture expriment l'ARN messager de la pré-pro-endothéline, identique à celui détecté dans les cellules endothéliales glomérulaires, mais avec une plus faible intensité dans les cellules mésangiales. L'expression du gène de l'ET n'est pas modifiée par l'interleukine 1- β mais elle est stimulée par le TGF- β (*transforming growth factor* β), la thrombine et un analogue du thromboxane A₂. Les cellules mésangiales stimulées libèrent dans le surnageant de l'ET, mesurée par un dosage radio-immunologique. L'ET exerce des effets sur les cellules mésangiales : elle stimule leur prolifération et leur contraction ; elle active le système d'échange Na⁺/H⁺ et augmente la transcription du proto-oncogène *c-fos*, phénomènes qui sont associés à la prolifération cellulaire.

Ainsi l'ET sécrétée par les cellules mésangiales pourrait, de façon autocrine, agir sur les cellules mésangiales elles-mêmes et contribuer à la création des phénomènes « inflammatoires » qui conduisent à la destruction progressive des glomérules. Ces effets pourraient se combiner à l'ischémie secondaire à l'action vasoconstrictive de l'ET [3].

- [1. Zoja C, *et al.* *Lab Invest* 1991 ; 64 : 16-20.]
 [2. Sakamoto H, *et al.* *Biochem Biophys Res Commun* 1990 ; 169 : 462.]
 [3. Simonson MS, Dunn MJ. *Lab Invest* 1991 ; 64 : 1-4.]

■■■■ Création de diversité des anticorps par hypermutation somatique. Chez les mammifères, le premier mécanisme en cause dans la création de la diversité des anticorps est la recombinaison entre les segments V et J ou V, D et J. En revanche, c'est un mécanisme de conversion génique qui entraîne la création du répertoire des anticorps au cours de la différenciation des lymphocytes B dans la bourse de Fabricius (*m/s n° 6, vol. 3, p. 366*). C.A. Reynaud, de l'équipe de J.C. Weill, travaillant actuellement à l'Institut d'immunologie de Bâle (Suisse) vient maintenant de démontrer qu'un troisième mécanisme pouvait jouer un rôle prédominant dans la création du répertoire des anticorps. Chez la chèvre, les plaques de Peyer de l'iléon semblent jouer un peu le rôle de la bourse de Fabricius chez les aviaires [1]. Au cours du développement, la diversification des lymphocytes B de ces organes lymphoïdes se fait par mutations somatiques extrêmement fréquentes des gènes codant pour les chaînes légères, sans important réarrangement ni conversion géniques. Ce même phénomène de mutation somatique existe également chez la souris et chez l'homme, mais elle intervient plutôt pour moduler la spécificité idiotypique d'un anticorps

produit à la suite d'un réarrangement donné et semble d'ailleurs secondaire à ce réarrangement. L'utilisation par les vertébrés de trois mécanismes pour engendrer la diversité idiotypique est un exemple tout à fait remarquable d'une situation non exceptionnelle en biologie où ce qui a été sélectionné par l'évolution est un résultat (en l'occurrence la production d'un répertoire d'anticorps), et non le moyen utilisé pour y parvenir. [1. Reynaud CA, *et al.* *Cell* 1991 ; 64 : 995-1005.]

■■■■ Origine parentale du chromosome surnuméraire dans la trisomie 21. De toutes les anomalies chromosomiques, seule la trisomie 21 (mongolisme, syndrome de Down) est communément rencontrée après la naissance (environ 1 pour 700 personnes). Elle est due à une non-disjonction au cours d'une méiose d'un des gamètes parentaux ; totale le plus souvent, avec trois 21 libres, elle peut être partielle, comportant une duplication du bras long, en totalité ou dans une zone critique limitée (*m/s n° 10, vol. 6, p. 1025 et n° 3, vol. 7, p. 286*). De nombreux travaux se sont efforcés de déterminer l'origine parentale du chromosome surnuméraire. Les méthodes ont d'abord été cytogénétiques, basées sur la reconnaissance d'hétéromorphismes des chromosomes ; à partir de 1984 se sont développées les techniques d'analyse moléculaire ; successivement ont été employés les polymorphismes de restriction, puis les empreintes génétiques, mettant en jeu à la fois un nombre croissant de sondes hypervariables et l'amplification de l'ADN, qui devraient permettre de fournir une réponse claire dans pratiquement tous les cas. Les résultats de la première méthode avaient été exposés dans une revue parue en 1984 [1]. Sur 647 familles étudiées, une conclusion avait été atteinte dans 391 d'entre elles, et l'origine était maternelle dans 80 % des cas environ. Cette proportion s'avère plus élevée d'après deux études, basées sur les polymorphismes de l'ADN, et

publiées au début de 1991. Le travail de Petersen *et al.* [2] porte sur 68 cas identifiés dont 60 sont d'origine maternelle, soit près de 90 %. Tout récemment un groupe intitulé *Down syndrome collaborative group*, dont le porte-parole est Antonarakis [3] relate un travail, qui inclut probablement une partie du précédent, et porte sur 200 familles : l'identification a pu être obtenue chez 193 patients ; une origine paternelle n'a été retrouvée que chez neuf d'entre eux ; la non-disjonction vient donc de la mère dans plus de 95 % des cas. La prédominance maternelle est en accord avec l'augmentation de la fréquence de la trisomie 21 en fonction de l'âge de la mère, alors qu'un rôle de l'âge du père n'a pu être prouvé. Deux remarques pourraient servir de points de départ pour de futurs travaux : les deux articles dont nous venons de relater les résultats n'ont pas tenté d'établir le stade de la méiose responsable de la non-disjonction, indispensable pour comprendre la pathogénie de la trisomie ; il existe un grand nombre de trisomies 21 qui ne voient pas le jour en raison d'avortements spontanés. Il serait intéressant, si cela s'avère possible, d'en établir l'origine parentale ; on peut en effet soulever l'hypothèse que l'origine maternelle du chromosome surnuméraire confère un avantage pour la survie intra-utérine, auquel cas l'origine paternelle des cas avortés serait plus fréquente.

[1. Hassold TJ, Jacobs PA. *Ann Rev Genet* 1984 ; 18 : 69-97.]

[2. Petersen MB, *et al.* *Am J Hum Genet* 1991 ; 48 : 65-71.]

[3. Antonarakis SE, *et al.* *N Engl J Med* 1991 ; 324 : 872-6.]

■■■ **Le récepteur thrombine, une nouvelle surprise de la cascade protéolytique.** La thrombine joue un rôle fondamental dans l'hémostase et la thrombose. A côté de son action puissante sur l'agrégation plaquettaire, elle induit la migration des monocytes, la multiplication des cellules du muscle lisse et joue un rôle clé sur le tonus des vaisseaux *via* une

action directe sur l'endothélium. Son activité protéolytique est essentielle pour ces multiples effets biologiques mais la nature du (des) récepteur(s) membranaire(s) relayant ces actions est restée longtemps énigmatique. Les voies de transduction impliquées dans l'agrégation plaquettaire ou la prolifération des fibroblastes et des cellules du muscle lisse sont apparemment identiques. Elles sont relayées par au moins deux protéines G, l'une activant la phospholipase C, l'autre inhibant l'adénylate cyclase. Une équipe américaine, devant de peu deux équipes françaises, vient de lever le mystère du récepteur [1]. Par expression fonctionnelle dans les ovocytes de xénope, l'équipe américaine de San Francisco (CA, USA), dirigée par Shaun Coughlin, a isolé à partir d'une banque humaine (lignée HEL) un ADNc qui, injecté dans les ovocytes, induit une élévation de Ca^{2+} intracellulaire en réponse à la thrombine. L'examen de la séquence révèle un nouveau membre de la superfamille des récepteurs couplés aux protéines G avec dans la partie N-terminale un site de clivage spécifique de la thrombine, (LDPR/S)*. L'équipe américaine montre que la thrombine en clivant le récepteur dans sa partie N-terminale, démasque une nouvelle extrémité NH_2 jouant le rôle de ligand en *cis* de ce récepteur. En effet le résultat remarquable est qu'un peptide de 14 résidus, adjacent au site de clivage, mime les effets biologiques de la thrombine. Des travaux indépendants menés par Ellen Van Obberghen-Schilling, de l'équipe de Jacques Pouyssegur (Centre de Biochimie, Cnrs, Nice) en étroite collaboration avec Ulla Rasmussen de la Société Transgène (Strasbourg) confirment ces résultats par le clonage complet du récepteur de la thrombine des fibroblastes de hamster (à paraître). Celui-ci possède un site analogue de clivage en position N-41 (VNPR/S)* et une homologie à plus de 90 % dans les sept domaines transmembranaires. S'il ne fait aucun doute que ce récepteur thrombine,

par son couplage à la phospholipase C, est responsable de l'agrégation des plaquettes, il reste à démontrer si, à lui seul, il rend aussi compte du pouvoir mitogène puissant de la thrombine. Tout en révélant un nouveau modèle d'interaction hormone-récepteur, cette avancée ouvre des perspectives très intéressantes pour la conception d'antagonistes ciblés de l'agrégation plaquettaire et de la physiopathologie vasculaire où la thrombine joue un rôle essentiel. [1. Vu TK, *et al.* *Cell* 1991 ; 64 : 1057-68.]

* L : leucine ; D = acide aspartique ; P = proline ; R = arginine ; S = sérine ; V = valine.

■■■ **Myopathie mitochondriale acquise chez des malades traités par l'AZT (zidovudine).** Chez certains patients traités par l'AZT (zidovudine) pour un SIDA, survient une myopathie inflammatoire avec, histologiquement, des fibres rouges en lambeaux et la présence de nombreuses mitochondries de grande taille. Cette symptomatologie rappelle celle de la myopathie mitochondriale congénitale de type MERRF (*myoclonus epilepsy with ragged-red fibers*) (*m/s* n° 2, vol. 7, p. 172). Une équipe américaine de New York et de Bethesda (MD) [1] vient maintenant de démontrer qu'il existait, en effet, dans les muscles de malades traités par la zidovudine et présentant des signes de myopathie inflammatoire, une importante dépression en ADN mitochondrial, dépassant parfois les 75 %. Cette anomalie est réversible après arrêt du médicament. Le mécanisme en est très probablement une inhibition de la réplication du génome mitochondrial due à l'incorporation en son sein de didésoxynucleotides (dérivés de l'AZT), incorporation catalysée par l'ADN polymérase γ . D'ailleurs, d'autres didésoxynucleosides utilisés pour le traitement du SIDA peuvent également entraîner une diminution de la quantité d'ADN mitochondrial, au moins *ex vivo* ; tel est le cas de la didésoxycytidine.

[1. Arnaudo E, *et al.* *Lancet* 1991 ; 337 : 508-10.]