

malade totalement dépourvu de protéine E2.

De l'ensemble des résultats que nous venons de rapporter, il ressort que le déficit en l'une des sous-unités est suffisant pour provoquer le tableau clinique de la maladie ; la gravité du syndrome est comparable, quelle que soit la lésion moléculaire qui en est à l'origine ■

J.C. D.

## RÉFÉRENCES

1. Danner DJ, Elsas II LJ. Disorders of branched chain amino acid and keto acid metabolism. In : Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. New York : McGraw-Hill, 1989 ; 671-92.
2. Reed LJ, Hackert ML. Structure-function relationship in dihydrolipoamide acyltransferases. *J Biol Chem* 1990 ; 265 : 8971-4.
3. Zhang B, Edenberg HJ, Crabb DW, Harris RA. Evidence for both a regulatory mutation and a structural mutation in a family with maple syrup urine disease. *J Clin Invest* 1989 ; 83 : 1425-9.
4. Matsuda I, Nobukuni Y, Mitsubichi H, et al. A T to A substitution in the E1 subunit gene of the branched chain  $\alpha$ -keto acid dehydrogenase complex in two cell lines derived from Mennonite maple syrup urine disease patients. *Biochem Biophys Res Commun* 1990 ; 172 : 646-51.
5. Nobukuni Y, Mitsubichi H, Akoboshi I, et al. Maple syrup urine disease. Complete defect of the E1 $\beta$  subunit of the branched chain  $\alpha$ -keto acid dehydrogenase complex due to a deletion of an 11-bp repeat sequence with encodes a mitochondrial targeting leader peptide in a family with the disease. *J Clin Invest* 1991 ; 87 : 1862-6.
6. Mitsubichi H, Nobukuni Y, Akoboshi I, et al. Maple syrup urine disease caused by a partial deletion in the inner E2 core domain of the branched chain keto acid dehydrogenase complex due to aberrant splicing. *J Clin Invest* 1991 ; 87 : 1207-11.
7. Akli S, Chelly J, Mezard C, Gandy S, Kahn A, Poenaru L. A G to A mutation at position - 1 of a 5' splice site in a late infantile form of Tay-Sachs disease. *J Biol Chem* 1990 ; 265 : 7324-30.

## ■■■■ BRÈVE ■■■■

■■■■ **Diabète insulino-dépendants obtenus par infection de souris transgéniques exprimant, dans le pancréas, un des antigènes du virus infectant.** Le diabète insulino-dépendant de type I (IDDM) ou diabète juvénile résulte de la destruction des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas. Une réponse auto-immune, l'expression d'haplotypes particuliers du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II et diverses infections virales sont souvent proposées comme jouant un rôle dans l'apparition ou le développement de cette maladie dont la transmission héréditaire complexe signe, en outre, la multiplicité des gènes impliqués. La mise en jeu d'une réaction auto-immune pose le problème de la mise en place de la tolérance immunitaire vis-à-vis de protéines non exprimées dans le thymus et de sa perturbation. Le ciblage par transgénèse de protéines variées dans les cellules  $\beta$  du pancréas, a permis de créer divers modèles de diabète (*ms/n° 7, vol. 4, p. 444*). Cependant, dans ces cas, l'hyperglycémie et l'hypo-insulinémie étaient les conséquences de perturbations métaboliques de la cellule  $\beta$  (provoquées par l'expression de molécules de classes I et II) et l'insulite caractéristique de l'agression auto-immune observée dans les IDDM était absente. De nouveaux modèles viennent d'être créés par P. Ohashi (Zurich, Suisse) en collaboration avec B. Malissen (Marseille Luminy, France) [1] et M. Oldstone (La Jolla, CA, USA) [2], qui, par des approches similaires, apportent des arguments en faveur d'une tolérance périphérique n'impliquant pas de délétion (*ms suppl. au n° 1, vol. 5, p. 25*) ou d'anergie clonale (*ms n° 2, vol. 6, p. 164*), mais une absence d'activation appropriée des cellules T cytotoxiques dirigées contre des antigènes du soi. En situation d'activation, la tolérance immunitaire pourrait s'effondrer et la maladie auto-immune se développer. Ces conclusions ont été déduites de l'étude de souris transgéniques exprimant la glycoprotéine virale GP du

virus de la chorioméningite lymphocytaire (LCMV) dans les cellules  $\beta$  du pancréas et de doubles transgéniques exprimant, outre la protéine GP, un récepteur T capable de la reconnaître dans le contexte d'une molécule de classe I du CMH. Ce dernier modèle a permis d'affirmer que les cellules T spécifiques de la protéine GP n'avaient pas subi de délétion clonale et que la tolérance n'était pas liée à une diminution de l'expression du récepteur T ou des molécules auxiliaires à la surface des cellules CD8<sup>+</sup>. L'infection de ces souris par le LCMV entraîne d'ailleurs une activation de ces cellules T et une infiltration lymphocytaire. Chez les animaux non infectés, l'absence d'activation pourrait être expliquée par au moins deux phénomènes : (1) les cellules  $\beta$  langerhans normales, n'exprimant pas les molécules de classe II du CMH, ne pourraient présenter les peptides GP aux cellules auxiliaires ; (2) d'autres signaux, indispensables à l'activation des lymphocytes T CD8<sup>+</sup>, pourraient être absents. En revanche, après infection, l'activation de ces cellules T anti-GP serait déclenchée à la faveur d'une présentation des peptides viraux par des cellules dont la fonction normale est de présenter les antigènes (macrophages et lymphocytes B). Ces cellules présentatrices participent en effet à la réaction immunitaire en sécrétant des lymphokines indispensables à l'activation des cellules effectrices. La réaction auto-immune vis-à-vis des cellules  $\beta$  exprimant l'antigène viral pourrait alors se faire, provoquant un diabète ayant toutes les caractéristiques d'un diabète auto-immun. Un mécanisme similaire pourrait être à l'origine des maladies auto-immunes liées à l'activité de cellules T cytotoxiques vis-à-vis de cellules exprimant un antigène dit périphérique, c'est-à-dire n'ayant jamais été exprimé dans le thymus.

[1. Ohashi PS, et al. *Cell* 1991 ; 65 : 305-17.]

[2. Oldstone MBA, et al. *Cell* 1991 ; 65 : 319-31.]

## ■■■ BRÈVES ■■■

■■■ Le produit du gène *bcr* est une protéine GAP active sur un membre de la famille Ras. Il existe au moins une trentaine de protéines appartenant à la famille des petites G-protéines de type Ras. Ces G-protéines sont douées d'une activité GTPasique intrinsèque qui est stimulée par leur association à des protéines GAP (*GTPase activating proteins*). La protéine GAP spécifique de  $p21^{ras}$  et le produit du gène NF1 altéré chez les malades souffrant de neurofibromatose de type 1 sont, chez les mammifères, les deux premiers exemples connus de ce type de molécules (*m/s n° 7, vol. 6, p. 703 et n° 8, vol. 6, p. 815*). Des chercheurs britanniques de Londres (GB)[1] ont isolé d'une rate humaine une protéine GAP de 29 kDa semblant être active sur la protéine  $p21^{ras}$ , mais inactive sur  $p21^{rac}$ . La séquence protéique partielle de cette molécule révèle des similitudes avec l'extrémité carboxyterminale du produit du gène *bcr*, partenaire du gène *abelson* dans les translocations spécifiques de la leucémie myéloïde chronique. Des similitudes étaient également observées avec une autre protéine précédemment caractérisée, la n-chimaerine. La n-chimaerine et la partie carboxyterminale de la protéine Bcr furent alors exprimées par des bactéries recombinées et les produits testés quant à leur activité de type GAP sur plusieurs membres de la famille Ras :  $p21^{ras}$  et  $p21^{rac}$ . Les protéines recombinantes Bcr et n-chimaerine se révélèrent inactives sur  $p21^{ras}$  mais, en revanche, extrêmement actives sur  $p21^{rac}$ . Le rôle de  $p21^{rac}$  n'est pas connu, mais son appartenance à la famille *ras* suggère qu'elle pourrait avoir des fonctions de régulation. Dans les leucémies myéloïdes chroniques, la translocation 9 ; 22, engendrant le chromosome Philadelphie, aboutit à la synthèse d'une protéine hybride Bcr-Abelson (*m/s n° 7, vol. 1, p. 390*). L'activité de la tyrosine kinase Abl est stimulée alors que sa localisation subcellulaire (normalement nucléaire, mais membranaire dans la LMC) est

modifiée par sa fusion à l'extrémité aminoterminal de Bcr. Cette protéine hybride ne comporte pas la région de Bcr dotée de l'activité GAP. Cependant, on ne peut éliminer l'hypothèse selon laquelle le produit du réarrangement réciproque, supposé contenir la partie aminoterminal de Abl et la région carboxyterminale de Bcr, soit également fonctionnelle chez les malades ayant un chromosome Philadelphie. Le rôle d'une telle protéine hybride, susceptible de perturber la régulation de  $p21^{rac}$ , dans la leucémogénèse mérite par conséquent d'être réévalué. [1. Diekmann D, *et al. Nature* 1991 ; 351 : 400-2.]

■■■ Clonage de l'ADNc du récepteur de l'angiotensine II. L'enzyme rénale, la rénine, convertit l'angiotensinogène en angiotensine I, elle-même transformée en angiotensine II active par l'enzyme de conversion synthétisée par le poumon. L'angiotensine II (AT II) a de nombreux effets, cardio-vasculaires, neuronaux et sur la régulation du transport électrolytique. L'activité sur le système cardio-vasculaire dépend de récepteurs de type I. L'ADNc codant pour ce récepteur vient d'être cloné par deux équipes, l'une japonaise de Tokyo [1], et l'autre américaine d'Atlanta (GE, USA) [2]. Les deux équipes ont utilisé des techniques extrêmement proches : confection d'une banque d'ADN complémentaire de surrénale bovine dans le premier cas, de cellules musculaires lisses de rat dans le second, puis transfection de cellules COS, naturellement dépourvues de récepteurs de l'AT II, par l'ADN de cette banque fabriquée dans des vecteurs d'expression. L'étape suivante consiste à détecter la liaison d'un antagoniste radioactif de l'AT II à la membrane des cellules COS exprimant le récepteur. Ce récepteur a 359 acides aminés et comporte les 7 segments transmembranaires caractéristiques de la super-famille des récepteurs couplés aux G-protéines ; le traitement par

l'AT II des clones de cellules COS l'exprimant provoque une augmentation du calcium et de l'inositol-1,4,5-triphosphate, ce qui suggère un couplage avec une phospholipase C, la signalisation passant par l'hydrolyse du phosphatidyl-inositol. [1. Sasaki K, *et al. Nature* 1991 ; 351 : 230-2.] [2. Murphy DJ, *et al. Nature* 1991 ; 351 : 233-6.]

■■■ Le facteur vasorelaxant d'origine endothéliale (EDRF) atténue l'effet vasoconstricteur de l'angiotensine II sur l'artériole préglomérulaire. Ito *et al.* (Henry Ford Hospital, Detroit, MI, USA) ont mis au point une technique remarquable d'isolement et de microperfusion d'une artériole afférente (ou préglomérulaire) et du glomérule situé en aval, chez le lapin [1]. La perfusion est effectuée à une pression de 60 mmHg. L'angiotensine II (A II), à la dose de 0,1  $\mu$ M, dans le bain et dans le perfusé, entraîne une diminution du diamètre de l'artériole d'environ 50 % ; la vasoconstriction est segmentaire et s'efface en grande partie en 1 minute environ (au contraire, la noradrénaline produit une vasoconstriction sur toute la longueur de l'artériole, persistant à 3 minutes). La réexposition de l'artériole à l'A II s'accompagne d'une contraction moindre, témoignant d'une tachyphylaxie. Le prétraitement par le  $N^W$ -nitro-L-arginine (N-arg) qui inhibe la synthèse du monoxyde d'azote, NO (un EDRF), réduit légèrement le diamètre de l'artériole et surtout majore et prolonge l'effet vasoconstricteur de l'A II. Cependant il ne supprime pas la tachyphylaxie (qui n'est effacée que par un lavage avec une solution contenant un homogénat de rein, riche en angiotensinase). Ainsi, l'effet vasoconstricteur passager de l'A II pourrait être dû à la production d'EDRF alors que la tachyphylaxie résulterait de l'occupation prolongée des récepteurs. [1. Ito S, *et al. J Clin Invest* 1991 ; 87 : 1656-63.]