

FLASH

UN GÈNE CANDIDAT POUR LE SYNDROME DE KALLMANN OU DE MORSIER ET SANS DOUTE UNE NOUVELLE MOLÉCULE D'ADHÉRENCE

Au terme d'une collaboration étroite avec le NCBI (national center for biotechnology information, USA), le CEPH (centre d'étude du polymorphisme humain) et Généthon, et grâce à l'aide de nombreux cliniciens, nous venons d'isoler un gène candidat pour le syndrome de Kallmann de Morsier lié au chromosome X.

Syndrome de Kallmann pour les anglophones ou de Morsier pour les francophones, il recouvre l'association d'un hypogonadisme hypogonadotrope par déficit en gonadolibérine (GnRH) et d'une anosmie (déficit de l'olfaction). Il représente la majorité des hypogonadismes hypogonadotropes (soit 1 garçon pour 10 000) et sa forme la plus fréquente est liée au chromosome X. L'obtention d'une carte physique de la région terminale du bras court de ce chromosome (Xp22.3) et l'analyse de l'ADN de patients porteurs de délétions de cette région et présentant ou non un syndrome de Kallmann de Morsier, nous avons progressivement permis d'affiner la définition d'un intervalle contenant tout ou partie du gène (intervalle KAL) (travail principalement réalisé par Jacqueline Levilliers). Il y a 18 mois, nous estimions la taille de cet intervalle inférieure à 350 kb, et décidions alors de tenter le clonage du gène KAL par génétique inverse.

Après sous-clonage de cette région d'ADN, nous avons pu reestimer à 67kb la taille de cet intervalle. Un séquençage complet de l'intervalle a alors été réalisé et la recherche d'exons dans cette séquence entreprise par des algorithmes classiques et originaux. Ce travail a permis d'isoler un ADNc codant pour une protéine de 679 acides aminés, vraisemblablement extracellulaire. Chez deux patients atteints de la maladie, une délétion partielle de la partie codante de ce gène, l'une en 3', l'autre en 5', a pu être détectée [1].

Les deux tiers terminaux de cette protéine présentent des analogies avec des molécules impliquées dans l'adhérence cellulaire*. D'où le nom, ADMLX pour « adhesion molecule-like from the X chromosome », donné à ce gène. Or selon des travaux récents, la migration des neurones qui synthétisent la GnRH et l'extension axonale des neurones olfactifs emprunteraient une voie commune lors de l'embryogenèse, depuis l'épithélium olfactif jusqu'à leur point d'entrée dans le cerveau. C'est ce « processus de migration » qui serait défectueux en cas d'anomalie du gène KAL. Ainsi, tout comme d'autres molécules d'adhérence guident la migration cellulaire, ADMLX pourrait jouer ce rôle pour les neurones à GnRh et les neurones olfactifs.

[1. Legouis R, Hardelin JP, Levilliers J, et al. The candidate gene for the X-linked Kallmann syndrome encodes a protein related to adhesion molecules. *Cell* 1991 ; 67 : 1-20]

* Des résultats similaires viennent d'être publiés par une équipe italo-américaine de Pavie, Naples, St-Louis (MO) et Stanford (CA).

Franco B, Guioli S, Pragliola A, et al. A gene deleted in Kallmann's syndrome shares homology with neural cell adhesion and axonal path-finding molecules. *Nature* 1991 ; 353 : 529-36.

Christine Petit

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ Le proto-oncogène *int-2* est responsable de l'induction de l'oreille interne. Par une série de très belles expériences comportant la formation *in vitro* de la vésicule otique de poulet à partir d'explants contenant le rhombencéphale et d'une zone correspondant à l'ectoderme présomptif, une équipe espagnole (Valladolid, Espagne), démontre que le proto-oncogène *int-2* qui code pour des protéines appartenant à la famille du facteur de croissance des fibroblastes (FGF), est impliqué dans la formation de l'oreille interne [1]. Deux approches sont utilisées : la première consiste à incuber les explants dans du sérum de veau en présence d'oligonucléotides complémentaires du gène *int-2* soit au niveau du site d'initiation de la forme sécrétée de la protéine soit au niveau du site d'initiation correspondant à une forme non sécrétée de Int-2. Avec le premier oligonucléotide, la vésicule otique ne se forme pas, alors qu'avec le second le développement se fait normalement. Repressa *et al.* [1] ont ensuite confirmé leurs résultats en incubant les explants avec des anticorps dirigés contre le produit du gène *int-2*. Là encore, la formation de la vésicule ne peut se faire, montrant que la protéine doit être sécrétée pour jouer son rôle d'inducteur. Ainsi, le développement de l'oreille interne pourrait, comme le suggérait Acland *et al.* [2], comporter deux étapes, l'une d'elle étant la sécrétion par le rhombencéphale de la protéine Int-2, la seconde étant l'action sur la différenciation d'une forme intracellulaire de Int-2 exprimée dans la vésicule otique. L'étude de souris transgéniques n'exprimant plus le gène *int-2* obtenues par recombinaison homologue et actuellement en cours d'analyse dans le laboratoire de M. Capecchi (UT, USA), devrait rapidement venir conforter ces résultats.

[1. Repressa J, *et al.* *Nature* 1991 ; 353 : 561-3.]
[2. Acland P, *et al.* *Nature* 1990 ; 343 : 662-5.]

■■■ **En Afrique de l'ouest, certains antigènes HLA ont un rôle protecteur contre les formes sévères de paludisme.**

Les différents gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) sont, sans doute les gènes les plus polymorphes observés chez l'homme (*m/s, suppl. au n° 1, vol. 7, p. 20*). Jusqu'à 50 allèles différents ont été décrits pour le gène B de la classe I et 47 allèles pour le gène DRB1 de la classe II. Il a été admis pendant longtemps que cette très grande variabilité est essentiellement neutre. Cependant l'absence de perte d'allèles par dérive génétique, la répartition étonnamment égale des allèles dans toutes les populations sont des arguments en faveur d'un certain mode de sélection. A ces arguments génétiques, on peut ajouter un argument fonctionnel : dans la majorité des cas, les substitutions d'acides aminés qui résultent des mutations se regroupent dans la molécule HLA autour du site de fixation peptidique. Puisque la réponse immunitaire du lymphocyte T nécessite son association aux molécules de la classe I ou de la classe II du CMH, on a proposé que le polymorphisme de ce CMH pouvait être entretenu par le fait que différents allèles offraient à des agents pathogènes infectieux un degré variable de résistance. Il ne pourrait s'agir que d'une susceptibilité différente à quelque infection majeure, analogue aux associations maintenant classiques entre HLA et de nombreuses maladies autoimmunes. Cette recherche s'est longtemps avérée infructueuse. Pour la première fois, une étude statistique menée en Gambie, démontre l'influence des variations HLA de classe I et de classe II sur la susceptibilité au *Plasmodium falciparum*. Cette étude a porté, pendant trois ans, sur plus de 600 enfants ayant présenté des formes de paludisme grave : paludisme cérébral ou anémie aiguë (< 5g dl⁻¹). A titre de contrôle, les mêmes examens ont été pratiqués dans plusieurs groupes témoins : enfants présentant un paludisme sans gravité, enfants présentant une autre maladie, grave ou bénigne, ou adul-

tes bien portants. Chez tous ces sujets, les groupes HLA ont été déterminés par les méthodes sérologiques et vérifiés par amplification génique (PCR) spécifique d'allèle. Une différence statistiquement significative a été trouvée dans deux groupes : chez les sujets porteurs d'un antigène leucocytaire de classe II (HLA Bw53) et chez les sujets porteurs d'un haplotype défini de classe II (DRB1*1302-DQB1*0501). Ces antigènes, particulièrement fréquents en Afrique de l'ouest, se présentent comme associés à une protection contre les formes sévères de paludisme. La même étude statistique montre une protection comparable à celle que l'on observe chez les hétérozygotes AS, et contre les mêmes formes de la maladie. Il n'y a apparemment pas de déséquilibre de liaison entre les molécules protectrices de classe I et de classe II, et les mécanismes semblent intervenir de façon indépendante. Une explication plausible, compatible avec les cellules où sont retrouvés ces antigènes, serait que les molécules de classe I agiraient au stade hépatique et seules les molécules de classe II au stade sanguin. Il s'agit en tous cas du premier exemple de sélection naturelle par un agent infectieux pathogène ayant contribué à l'évolution extraordinairement polymorphe des gènes du CMH.

[Hill AVS, et al. *Nature* 1991 ; 352 : 595-600.]

■■■ **Le GABA peut être un neurotransmetteur excitateur au niveau de certaines synapses hippocampiques.** L'acide gamma-amino butyrique (GABA) est considéré comme un neurotransmetteur inhibiteur ubiquitaire du système nerveux central. Dans la quasi-totalité des sites, en effet, la mise en jeu de ses récepteurs provoque une hyperpolarisation neuronale liée à l'ouverture de canaux Cl⁻. Cela n'est toutefois pas aussi systématique que l'on aurait pu le penser. Dans le cortex hippocampique,

le contrôle de l'activité des neurones pyramidaux, à l'origine des voies de sortie de la structure, est assuré par des réseaux complexes formés par différentes populations d'interneurones parmi lesquelles un groupe d'interneurones « inhibiteurs » contenant du GABA situé dans le hilus. Michelson et Wong [1] (State University, New York, USA) ont remarqué que, dans certaines conditions expérimentales caractérisées notamment par le blocage des récepteurs aux aminoacides excitateurs, les neurones pyramidaux présentent rythmiquement des potentiels postsynaptiques d'inhibition (IPSP, voir *lexique m/s n° 6, vol. 5, p. 419*). Ils ont trouvé la source de ces IPSP synchronisés dans le groupe d'interneurones GABAergiques du hilus qui présentent simultanément une activité en bouffées de potentiels d'action liée à une activation synaptique dépolarisante de large amplitude. A la recherche de l'origine de cet événement synaptique, les auteurs ont appliqué sur ces neurones du hilus des antagonistes des récepteurs GABA_A (picrotoxine, bicuculline) et obtenu ainsi la preuve du rôle excitateur du GABA à ce niveau. C'est donc une dépolarisation produite par une synapse GABAergique qui provoque la synchronisation de l'activité des interneurones GABA du hilus et, secondairement, les bouffées rythmiques d'inhibition dans les cellules pyramidales, le GABA étant (« normalement ») inhibiteur à ce niveau. Les auteurs concluent, avec philosophie, que la résultante de ce circuit dans lequel le GABA est successivement excitateur puis inhibiteur est une inhibition, ce qui est compatible avec le dogme du neurotransmetteur inhibiteur ubiquitaire. Cette pirouette de dernière ligne ne doit pas masquer la conclusion fondamentale de leur étude qui est qu'on ne peut pas, sans contrôle physiologique, identifier la direction de l'effet d'une synapse sur la base du neurotransmetteur qu'elle libère.

[1. Michelson HB, Wong RK, *Science* 1991 ; 253 : 1420-3.]

■■■ **Vaccin anti-SIDA, la désillusion vient des singes.** L'immuno-déficience acquise du singe macaque, due à une infection par SIV (*simian immunodeficiency virus*) est un bon modèle du SIDA si bien que de nombreux programmes expérimentaux de vaccination contre l'infection par SIV sont conduits de par le monde. Une équipe britannique de St-Mary's Hospital à Londres (GB) a, notamment, conduit la vaccination de tels animaux à l'aide de préparations de SIV, cultivées sur les cellules humaines puis inactivées. Entre la moitié et les trois quarts des animaux vaccinés se révélèrent être résistants à une infection par une préparation de SIV vivant, mais l'étude des mécanismes de cette protection devait se révéler extrêmement décevant : il existe en effet une corrélation de la résistance antivirale, non pas avec le titre d'anticorps dirigés contre des protéines virales, mais avec celui d'anticorps reconnaissant des protéines humaines ! Les virus utilisés pour infecter les animaux étant cultivés sur des cellules humaines, de même que ceux utilisés pour fabriquer le vaccin, il semble hautement probable que la protection a été conférée par des anticorps reconnaissant des constituants humains inclus dans le virus. La production des particules rétrovirales par bourgeonnement emporte, en effet, des constituants membranaires qui participent à la structure de la membrane rétrovirale. Ces résultats vont maintenant amener toutes les équipes à travers le monde qui ont réalisé de semblables essais à reconsidérer leurs résultats. Il semble, en effet, qu'aucune d'entre elles n'ait effectué les expériences contrôles fondamentales, à la base de l'observation de l'équipe anglaise [1] : vacciner les singes avec des préparations inactivées de cellules humaines non infectées. L'équipe londonienne s'est aperçue que les singes ainsi vaccinés étaient tout autant protégés que ceux vaccinés à l'aide d'une préparation cellulaire infectée par le virus SIV.

[1. Brown P. *New Scientist*, 1991 ; 131 : 14.]

■■■ **Le SIDA est peut-être une maladie auto-immune... provoquée par le HIV.** Deux chercheurs canadiens de Vancouver (BC, Canada) viennent de démontrer que l'allo-immunisation de souris n'ayant jamais été en contact avec le virus HIV entraînait l'apparition d'anticorps dirigés contre la protéine d'enveloppe gp120 et contre la p24. De mêmes anticorps sont détectés chez les souris de la souche MRL-*lpr/lpr* qui développent spontanément des désordres auto-immuns. Chez ces deux types d'animaux, enfin, des anticorps anti-idiotypes (anti-anti-molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité) sont mis en évidence [1]. La protéine gp120 partage avec les molécules de classe II du CMH la propriété de se fixer au récepteur CD4 du virus ; de plus, quelques similitudes de séquence peuvent être observées entre gp120 et CMH de classe II. Des anticorps anti-gp120 peuvent, par conséquent, être actifs contre les molécules de classe II du CMH, de même que les anti-CMH des souris allo-immunisées par les lymphocytes réagissent avec gp120 et p24. Le réseau idiotypique (*m/s*, suppl. au n° 1, vol. 5, p. 13) implique que les anti-CMH engendrent l'apparition d'anti-anti-CMH qui doivent être des images des molécules de classe II... et donc capables de se lier à CD4, provoquant une activation des lymphocytes auxiliaires CD4+... ou leur destruction par apoptose (*m/s* n° 6, vol. 7, p. 604). Il va de soi que si cette théorie est exacte, ce qui reste à prouver, les travaux de l'équipe canadienne n'ayant pas directement testé l'hypothèse, toute vaccination anti-gp120 ou dirigée contre d'autres constituants viraux (p24, Nef, dont nous avons vu dans un numéro antérieur de *m/s* qu'elle avait quelques analogies avec les molécules de classe II) risque d'avoir des effets délétères. Il y a cependant une marge entre la constatation que, coup sur coup, les perspectives vaccinales anti-HIV viennent d'être mises à l'épreuve (voir brève ci-contre) et l'affirmation, sous la plume de John Maddox, le rédacteur

en chef de *Nature*, que tout cela renforce la thèse de Peter Duesberg selon laquelle HIV n'a pas grand chose à faire avec le SIDA [2]. Ce que suggèrent les hypothèses « auto-immunes », c'est comment le HIV, qui n'infecte qu'un petit pourcentage de lymphocytes T CD4+, peut néanmoins provoquer un tel effondrement du système immunitaire ; dans ce scénario le coupable, particulièrement retors, puisqu'il détourne les défenses immunitaires de l'organisme infecté contre cet organisme même, c'est bien le virus HIV.

[1. Kion TA, Hoffman GW. *Science* 1991 ; 253 : 1138-40.]

[2. Maddox J. *Nature* 1991 ; 353 ; 297.]

■■■ **Une sous-unité commune à plusieurs récepteurs d'interleukine.**

La super famille des récepteurs d'interleukine [1] comporte de nombreuses molécules qui semblent s'associer deux à deux pour former des récepteurs de haute affinité. La sous-unité α de ces dimères porte la spécificité pour le ligand qu'elle lie, cependant, avec une très faible affinité en l'absence d'une sous-unité β . Plusieurs résultats physiologiques suggèrent le partage de sous-unités β par plusieurs récepteurs. Ainsi, IL3 (interleukine 3) et GM-CSF (*granulocyte macrophage colony stimulating factor*) sont-ils en compétition pour la liaison à des cellules érythroïdes. De même, il existe une compétition entre IL5 et GM-CSF pour la liaison aux polynucléaires éosinophiles. Une équipe américano-japonaise de Palo Alto (CA USA) et Tokyo (Japon) [2] et une équipe belge de Gand [3] viennent de démontrer que les récepteurs à haute affinité IL3 et IL5 et de GM-CFS étaient composés d'unités α spécifiques et de la même sous-unité β .

[1. Wendling F, et al. *médecine/sciences* 1991 ; 7 : 569-77.]

[2. Ktimoura T, et al. *Cell* 1991 ; 66 : 1165-74.]

[3. Tavernier J, et al. *Cell* 1991 ; 66 : 1175-84.]

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ La concentration du TNF- α dans le liquide céphalo-rachidien pourrait être un index d'évolutivité chez les malades atteints de sclérose en plaques. Le *tumor necrosis factor-alpha* est une cytokine produite massivement par les macrophages, notamment, lorsque ceux-ci sont activés ; elle est impliquée dans la signalisation inter-cellulaire au cours de l'inflammation. L'intérêt que lui portaient les spécialistes des maladies associant inflammation et démyélinisation — comme la sclérose en plaques (SEP) — a été récemment renforcé par la démonstration de son action toxique sur les oligodendrocytes mûrs et la myéline [1] qui suggère la possibilité de son implication directe à l'origine de la démyélinisation pathologique. Dans un travail associant des équipes de neurologues anglais et belges [2], le TNF- α appa-

raît aujourd'hui comme un marqueur intéressant des périodes actives de la SEP. Cette maladie est en effet caractérisée par une alternance de périodes de poussée et de rémissions partielles et il est parfois difficile de définir les conditions précises dans lesquelles le patient se trouve au moment de l'examen. La concentration de TNF- α dans le liquide céphalo-rachidien — mais pas sa concentration sérique — est augmentée de façon statistiquement significative chez les malades en période de poussée par rapport tant à ceux présentant une rémission transitoire qu'à un groupe contrôle. Cinquante trois pour cent des patients en poussée identifiable présentaient une quantité détectable de TNF- α dans le liquide céphalo-rachidien contre zéro dans le groupe en rémission. Les taux de la cytokine et le degré des troubles cli-

niques observés ainsi que leur rythme de progression sont, par ailleurs, remarquablement corrélés chez ces patients positifs. La détection du TNF- α dans le liquide céphalo-rachidien apparaît ainsi comme un marqueur particulièrement sensible de l'évolutivité des poussées de SEP dont les changements pourraient refléter, notamment, les effets d'un traitement. Si ces résultats se vérifient sur des séries de malades en études longitudinales, le dosage du TNF- α entrera probablement bientôt dans l'arsenal des examens complémentaires de tous les services de neurologie.

[1. Selmaj KW, Raine CS. *Ann Neurol* 1988 ; 23 : 339-46.]

[2. Sharief MK, Hentges R. *N Engl J Med* 1991 ; 325 : 467-72.]