

■■■■ **Une souris « humanisée » et drépanocytaire.** L'obtention d'un modèle animal est une étape majeure dans l'étude d'une maladie génétique, tant pour en comprendre le mécanisme physiopathologique que dans la perspective d'essais pharmacologiques. Les premières souris transgéniques exprimant l'hémoglobine (Hb) S, responsable de la maladie drépanocytaire, ont été obtenue en 1990 par les groupes de Grosveld et Luzzatto, par transfection dans la même construction des gènes  $\alpha$ - et  $\beta^S$ -globine [1]. Un nombre considérable d'essais ont été effectués depuis, l'amélioration portant soit sur le génome de l'hôte – réduction de l'expression des gènes endogènes chez des souris thalassémiques – soit sur la construction transfectée – utilisation de gènes de globine porteurs de deux ou trois mutations, la tendance à falciformer étant de ce fait majorée (*m/s n° 3, vol. 6, p. 314; n° 1, vol. 8, p. 77*). Des résultats techniquement spectaculaires ont été obtenus, on a observé des signes hématologiques ou des désordres systémiques rappelant la drépanocytose; cependant les souris transgéniques ne reproduisent que médiocrement la maladie humaine. Les raisons de cette imperfection du modèle se classent sous trois têtes de chapitre. Chez les animaux chimeres continuant à exprimer les globines murines, les chaînes  $\alpha$ -globine murines sont inhibitrices de polymérisation. Le stade d'Hb fœtale est absent du développement ontogénique de la souris; la commutation de synthèse se fait donc pendant la gestation, ce qui peut expliquer les morts intra-utérines des sujets malades. L'érythrocyte de la souris, enfin, présente des caractères de taille et de membrane différents de ceux de l'homme. Une communication récente, faite au VII<sup>e</sup> Symposium de l'anémie de Cooley (Cambridge, MA, USA; 30 mai-2 juin 1997) par Tim Townes (*Birmingham, AL, USA*) semble apporter une solution à au moins deux de ces difficultés. Il a d'abord

présenté le modèle d'une souris  $\beta^0$ -thalassémique (c'est-à-dire ne synthétisant aucune chaîne  $\beta$ -globine), obtenue non par invalidation du gène  $\beta$  majeur, toujours accompagnée d'une surexpression vicariante du gène  $\beta$  mineur, mais par deux recombinaisons homologues invalidant simultanément les deux gènes. Il a, parallèlement, créé une lignée de souris  $\alpha^0$ -thalassémique dont les deux gènes  $\alpha$  étaient invalidés par le même procédé. Une troisième lignée, enfin, a été réalisée, par transfection simultanée dans des cellules ES de deux constructions, LCR- $\gamma$ - $\beta^S$  et LCR- $\alpha$ , ces derniers animaux exprimant les Hb murines, mais aussi les Hb humaines F et S. Des croisements successifs entre ces différentes lignées ont permis d'obtenir trois animaux qui ne synthétisent plus que de l'Hb S et un peu d'Hb F. L'étude, dans cette nouvelle lignée, de la chronologie d'expression a montré que la commutation HbF  $\rightarrow$  HbA est devenue principalement postnatale. Sachant que toute une voie thérapeutique est fondée sur l'inhibition de l'extinction normale du gène  $\gamma$ -globine, un premier essai pharmacologique a été fait par le butyrate, qui a réactivé le gène. On a aussi montré que cette réactivation était possible par la trichostatine, qui est un inhibiteur d'histone-désacétylase, dont le mécanisme est celui d'une protéine se fixant aux nucléosomes contacts et permettant ainsi l'acétylation et l'expression du gène. Les perspectives qu'ouvre cette souris « humanisée » pour des essais pharmacologiques, associés ou non à une thérapie génique, semblent particulièrement intéressantes.

[1. Greaves DR, *et al. Nature* 1990; 343: 183-5.]

■■■■ **Une famille de gènes *nm23* de nucléoside-bisphosphate-kinases: rôle dans le cancer et les métastases?** Le premier gène *nm23* a été

identifié et proposé comme un suppresseur de métastase du fait de son expression inversement corrélée au potentiel métastatique de lignées tumorales murines et de tumeurs solides humaines [1, 2]. Ce rôle et l'identification de Nm23 comme une nucléoside diphosphate kinase (NDP) a suscité un très grand intérêt au début des années 1990. La question s'est avérée cependant très complexe, d'autant plus qu'un deuxième gène, identique à 80 % au premier, *nm23-H2*, a été identifié. Les résultats sont encore controversés (pour revue: [3]) et, à ce jour, l'argument le plus convaincant en faveur de l'implication de *nm23*, appelé aujourd'hui *nm23-H1*, dans le contrôle du potentiel métastatique est que sa surexpression, induite par transfection, dans des cellules très métastasantes permet de réduire fortement le nombre de métastases. En ce qui concerne les tumeurs solides humaines, ce n'est que pour certains types de cancers (mélanomes, cancers de l'ovaire et des voies digestives) qu'une perte de l'expression de *nm23-H1* est observée dans des tumeurs de stade avancé par rapport à des tumeurs de stade plus précoce, éventuellement corrélée au taux de survie (*m/s n° 8, vol. 4, p. 528*). Il faut aussi noter que dans la plupart des cancers humains, *nm23-H1* et *nm23-H2* sont surexprimés dans les cellules tumorales par rapport au tissu normal adjacent. Pour compliquer la situation, dans certains types de tumeurs comme les neuroblastomes, une relation positive entre l'expression de *nm23-H1* et le stade tumoral est même observée [4]. Le gène *nm23-H2* ne serait pas ou serait peu impliqué dans ce processus, mais la protéine possède la propriété, non observée pour Nm23-H1, de se lier à une séquence riche en pyrimidine du promoteur du proto-oncogène *c-myc* et de régler son expression. En 1995, l'équipe de B. Calabretta aux États-Unis a identifié un troisième gène humain DR-*nm23*, par sa surexpression dans des leucémies [5]. Ce gène serait impliqué dans la dif-

férenciation et l'apoptose de cellules myéloïdes. Très récemment, un quatrième gène humain a été identifié par un groupe de l'Unité Inserm 402 à l'hôpital Saint-Antoine (Paris, France) par criblage d'une banque d'ADNc avec une sonde déduite de séquences EST (*expressed sequence tags*) ressemblant à *nm23-H1* [6]. Ce gène, localisé sur le chromosome 16, en 16p13.3, est exprimé de façon très variable selon les tissus, avec une forte expression, en particulier dans le foie et la prostate et selon un profil différent de celui des gènes *nm23* précédemment décrits. La protéine correspondante présente une séquence NH<sub>2</sub> terminale supplémentaire qui pourrait indiquer un ciblage membranaire, éventuellement mitochondrial. Unique parmi les NDP kinases actuellement séquencées, Nm23-H4 possède de façon constitutive l'équivalent d'une mutation ponctuelle d'une NDP kinase de drosophile responsable d'anomalies létales du développement. Nm23-H4 est plus proche phylogénétiquement de DR-Nm23 que des deux autres isoformes, suggérant que les NDP kinases actuelles résultent de plusieurs duplications de gènes au cours de l'évolution. On peut se demander si Nm23-H4, à l'instar des trois autres NDP kinases décrites, serait impliquée dans la progression tumorale. Ainsi, il existe chez l'homme, une famille de NDP kinases, présentant très probablement des localisations tissulaires et subcellulaires et des fonctions physiologiques différentes à préciser.

[1. Rosengard AM, *et al. Nature* 1989 ; 342: 177-80.]

[2. Lacombe ML, *et al. Med Sci* 1992; 8: 448-54.]

[3. De la Rosa A, *et al. BioEssays* 1995; 17: 53-62.]

[4. Bénard J, *et al. Med Sci* 1996; 12: 756-65.]

[5. Venturelli D, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7435-9.]

[6. Milon L, *et al. Hum Genet* 1997; 99: 550-7.]