

■■■ **L'immortalité... au nanogramme près.** L'action des facteurs de transcription activant ou réprimant l'expression de gènes cibles est déterminante pour le contrôle de l'induction d'une voie de différenciation cellulaire spécifique. Cette action est toutefois très subtile : plus qu'une expression en « tout ou rien », le paramètre essentiel est le niveau d'expression de ces protéines. Ceci vient d'être confirmé de façon spectaculaire pour le facteur de transcription Oct-3/4, produit du gène *Pou5f1*. Oct-3/4 est probablement une des molécules clés du maintien par les cellules ES (*embryonic stem cells*) de leur capacité d'auto-renouvellement, et donc de leur caractère totipotent, l'autre facteur extracellulaire étant la cytokine LIF (*leukemia inhibiting factor*), qui active la voie de Stat 3. Une équipe associant des chercheurs écossais et japonais démontre aujourd'hui que le destin des cellules ES, dérivées du blastocyste murin, varie selon le niveau d'expression de cette protéine [1] : de faibles quantités de Oct-3/4 induisent la différenciation des cellules ES en cellules trophoblastiques, lignée dans laquelle elles ne sont pas normalement capables de se différencier. Au contraire, des taux très élevés de Oct-3/4 entraînent une différenciation endodermique et mésodermique, confirmée par l'induction des gènes spécifiques de cette voie de différenciation, et comparable à celle qu'entraîne le retrait du LIF (*leukemia inhibiting factor*). Des taux intermédiaires de Oct-3/4 assurent l'auto-renouvellement des cellules ES dans un état multipotent indéfini. Oct-3/4 seul ne suffit pas toutefois, et la présence de LIF est encore requise, suggérant une synergie entre ces deux voies de régulation. Techniquement les auteurs ont introduit, dans des cellules ES délétées d'un allèle du gène *Pou5f1*, ou rendues homozygotes *in vitro*, l'ADNc *Pou5f1* sous contrôle d'un promoteur inducible par la tétracycline (système *tet-off*), qui permet de contrôler à volonté la concentration du produit du trans-

gène. Comme quoi il suffit de presque rien pour changer son destin...

[1. Niwa H, *et al. Nat Genet* 2000; 24: 372-76.]

■■■ **Un nouveau récepteur pour les perturbateurs endocriniens.** De nombreux contaminants de l'environnement comme certains pesticides, herbicides ou composants industriels sont soupçonnés de perturber les fonctions endocrines et de contribuer à des troubles de la fertilité et à l'augmentation de la fréquence de certains cancers [1]. Même si leur toxicité réelle est controversée, il est admis que ces effets sont associés à leurs propriétés « xénohormonales », en particulier leur capacité de se lier au récepteur de l'œstradiol et, dans une moindre mesure, au récepteur des androgènes. Des travaux récents semblent indiquer que certaines de ces molécules ont la capacité de se lier à d'autres récepteurs et de les activer. En effet, les pesticides organochlorés [2] ainsi que l'acide phtalique et le nonylphénol [3] ont la capacité d'activer le récepteur nucléaire PXR et d'induire ainsi des cytochromes P4503A qui sont les cibles de ces récepteurs. Ces molécules stimulent l'interaction de PXR avec ses coactivateurs. Ces propriétés ne sont pas générales puisque le bisphénol A, une autre xénohormone, n'est pas reconnue par le PXR. Ainsi, chaque xénobiotique pourrait avoir un spectre d'effets différent selon la nature des récepteurs qu'il est capable d'activer. Le cas du PXR est intéressant puisque ce récepteur, qui est reconnu par plusieurs stéroïdes endogènes et par des médicaments comme la rifampicine, induit des cytochromes P450 de la sous-famille 3A qui sont capables de métaboliser des stéroïdes et des xénobiotiques. Ainsi, les contaminants de l'environnement pourraient, par l'intermé-

diaire du PXR, d'une part, modifier le métabolisme des hormones stéroïdes – et de ce fait jouer un rôle de perturbateur endocrinien par un nouveau mécanisme – et, d'autre part, interférer avec le métabolisme des médicaments.

[1. Morel Y, Barouki R. *Med Sci* 1999; 15: 1362-70.]

[2. Schuetz EG, *et al. Mol Pharmacol* 1998; 54: 1113-7.]

[3. Masuyama H, *et al. Mol Endocrinol* 2000; 14: 421-8.]

■■■ **TWIST again ou la fonction de la protéine TWIST.** La plupart des gènes impliqués dans les craniosynostoses sont à présent connus. Certains codent pour des récepteurs de facteurs de croissance, mais des facteurs de transcription peuvent aussi être en cause. C'est ainsi qu'en 1997, l'équipe d'Arnold Munnich démontrait que le syndrome de Saethre-Chotzen (ou acrocéphalosyndactylie de type III) était dû à des mutations du gène *TWIST*, très conservé au cours de l'évolution et d'abord découvert chez la drosophile (*m/s* 1997, n° 4, p. 576). Depuis, de nombreuses mutations de *TWIST* ont été trouvées (faux-sens, non-sens, insertions, délétions) dans ce syndrome dont la symptomatologie clinique est très variable; mais la relation génotype-phénotype n'a pu être clairement établie jusqu'à présent. Dans certains cas de mutations faux-sens, la possibilité d'un effet dominant négatif de la protéine a été invoqué [1], et dans certaines grandes délétions avec retard mental, l'hypothèse d'un syndrome de gènes contigus fut envisagée (*m/s* 1999, n° 5, p. 761). Mais l'haploinsuffisance semblait la conséquence la plus probable de la plupart des mutations. Encore fallait-il le démontrer et découvrir la fonction précise de cette protéine qui appartient à la famille bHLH (*basic helix-loop-helix*). C'est ce que vient de réaliser le même groupe,

sous la direction d'Arnold Munnich, en analysant par différentes approches la fonction de la protéine H-TWIST et les conséquences de trois types de mutations: (1) non-sens; (2) faux-sens portant sur le domaine des hélices; (3) faux-sens ou insertion portant sur la boucle [2]. A partir de cellules COS transfectées, il démontre que les mutations non-sens ont pour conséquence des protéines tronquées instables (disparition en 48 heures en immunoblots), alors que les produits des autres mutations restent stables. A l'état normal, on sait que les protéines bHLH de classe B forment des hétérodimères avec des protéines de la famille E (classe A de protéines bHLH). A partir d'un système double-hybride en levure, une interaction directe entre les protéines H-TWIST et E12 se produit. E12 apparaît donc comme un partenaire possible *in vivo* pour la régulation de l'activité transcriptionnelle de TWIST. Les mutations faux-sens touchant l'une ou l'autre hélice provoquent une incapacité de la protéine TWIST mutée à se lier à E12, surtout lorsque des résidus leucine sont affectés. Les mutations portant sur la boucle diminuent plus ou moins la formation de d'hétérodimères (de 10 % à 50 %) mais il est à noter que l'allongement de la boucle (par insertion en phase de sept acides aminés) n'affecte pas la dimérisation. Il était aussi intéressant d'étudier la localisation intracellulaire de la protéine H-TWIST. Dans les cellules COS co-transfectées avec E12, on observe normalement une co-localisation nucléaire des protéines TWIST et E12. Pour les deux premiers types de mutations, la localisation de H-TWIST est cytoplasmique, tandis que celle de E12 reste nucléaire. Quant aux mutations faux-sens dans la boucle, la localisation est nucléaire, comme les témoins. La perte de la fonction TWIST, observée dans ces cas de mutations dans la boucle, se situe donc à une autre étape: le complexe TWIST/E12 anormal est peut-être incapable de se lier à

l'ADN. Pour le prouver, il faudra d'abord identifier, sur l'ADN humain, la séquence cible de cet intéressant facteur de transcription.

[1. Rose CSP, Malcolm S. *Trends Genet* 1997; 13 : 945-57.]

[2. Ghouzzi V, *et al. Hum Mol Genet* 2000; 9 : 813-9.]

■■■ **Les nouveaux venus de la famille ADAM: des protéases multifonctionnelles.** L'intérêt pour les nouveaux membres de la famille ADAM (*a desintegrin and metalloproteinase*) bat son plein (*m/s* 1999, n° 10, p. 1148) avec l'apparition récente d'une nouvelle sous-famille, celle des ADAMTS, qui compte désormais 11 protéines. Celles-ci se distinguent par la présence d'un domaine thrombospondine (TS), et par l'absence de domaine transmembranaire et cytoplasmique *EGF-like*. Chez la souris, ADAMTS-1 a été récemment impliquée dans le remodelage tissulaire survenant lors de la dégradation du follicule qui précède la libération de l'ovule. L'expression d'ADAMTS-1 est en effet sous la dépendance du récepteur de la progestérone, et est indispensable à l'obtention d'une ovulation normale. L'analyse des souris chez lesquelles l'expression d'ADAMTS-1 a été inactivée vient confirmer et élargir le rôle spécifique de cette protéine, mais pose également de nouvelles questions [2]. La plupart des femelles *ADAMTS-1<sup>-/-</sup>* sont effectivement stériles et présentent des anomalies du tissu utérin ainsi que des défauts d'implantation de l'œuf. Néanmoins, des gestations se produisent chez 13 % des femelles, qui donnent naissance à des portées de taille très réduite. La régulation d'ADAMTS-1 par le récepteur de la progestérone ne semble donc pas directe et pourrait faire intervenir d'autres hormones. Par ailleurs, ces souris présentent un retard de croissance, avec une taille et un poids réduits d'environ 30 %, et de nombreuses

anomalies dans différents organes. En particulier, on observe une obstruction de la jonction urétéropelvienne responsable d'une dilatation caliciale, et éventuellement d'une hydronéphrose. Dans les glandes surrénales, la structure du réseau des cellules sécrétoires est désorganisée avec de nombreuses cavités, sans pour autant provoquer d'anomalies fonctionnelles. Ces résultats suggèrent qu'ADAMTS-1 possède probablement de multiples fonctions dans l'organisme, conservées au cours de l'évolution. Les substrats de cette protéine demeurent inconnus, et les mécanismes de régulation de son expression varient très probablement selon les tissus, comme l'indique l'existence d'interactions récepteur de la progestérone-ADAMTS-1. Enfin, son rôle dans l'angiogenèse, préalablement suggéré, pourrait être modulé au cours des différents stades du développement, ou dans des situations pathologiques.

[1. Takayuki S, *et al. J Clin Invest* 2000; 105 : 1345-52.]