

■■■ **La cyclophiline A, un chaperon du virus VIH-1.** La cyclophiline, capable de lier l'immunosuppresseur ciclosporine, appartient à la famille des immunophilines dont la FKBP (*FK506-binding protein*) est un autre membre. Ces deux immunophilines sont des peptidyl-prolyl *cis-trans* isomérases, capables de catalyser l'isomérisation des ponts peptidiques prolyl de la conformation *trans* à la conformation *cis*. On admet que les chaînes peptidiques sont synthétisées avec de telles liaisons peptidiques en conformation *trans* qui, dans un certain nombre de cas, doivent donc être isomérisées. Cette isomérisation peut être spontanée, mais elle est aussi catalysée par les isomérases. L'activité enzymatique des cyclophilines et des FKBP est bloquée par leur liaison à leur ligand immunosuppresseur, ciclosporine et FK506, mais là ne réside pas le mécanisme de l'immunosuppression. Celle-ci est due à l'interaction du complexe immunophiline/immunosuppresseur avec la protéine phosphatase calcineurine qui est inhibée, ce qui aboutit à bloquer le transport du facteur de transcription NF/AT du cytoplasme vers le noyau au cours de l'activation des lymphocytes T [1]. Deux articles montrent maintenant que la protéine Gag du virus VIH-1 (mais non celle du virus simien SIV) pourrait être l'un des substrats de l'activité peptidyl-prolyl *cis-trans* isomérase. Franke *et al.* (New York, USA) et Thali *et al.* (Boston, MA, USA) démontrent en effet, dans deux articles publiés dans le numéro du 24 novembre de *Nature*, que la cyclophiline A est incorporée très efficacement dans les VIH-1 [2, 3]. La cyclophiline interagit avec une région riche en proline de la protéine Gag et cette interaction est bloquée par la modification d'une seule de ces prolines. *Ex vivo*, le traitement par la ciclosporine, un inhibiteur de l'activité enzymatique de la cyclophiline A, ne modifie pas la production de virions mais bloque leur infectivité. Le même résultat est obtenu avec des analogues de la ci-

closporine qui gardent leur activité anti-isomérasique mais ne sont pas immunosuppresseurs [3]. Tous ces effets inhibiteurs ne sont pas observés sur le virus SIV^{MAC}. On peut proposer que l'action de la cyclophiline A est liée à la catalyse de la conformation *trans-cis* de la protéine Gag de VIH-1 ; alternativement, la cyclophiline A pourrait se comporter comme une molécule chaperon plus que comme une enzyme. De fait, la ciclosporine inhibe aussi l'interaction entre Gag et la cyclophiline A. On se rappelle probablement qu'une équipe française avait proposé, il y a quelques années, un traitement du SIDA par la ciclosporine. Les résultats n'avaient pas été concluants. Les doses de ciclosporine nécessaires à l'action sur l'activité isomérasique aussi bien que sur l'infectivité des virions VIH-1 sont élevées et il est possible qu'*in vivo*, elles aboutissent à une toxicité générale. De plus, la résistance de SIV à la ciclosporine (due à son indépendance de la cyclophiline A) indique que des virions mutants infectieux résistants à la ciclosporine pourraient apparaître assez rapidement. Malgré ces réserves, ces résultats sont à l'évidence spectaculaires pour au moins deux raisons : d'une part, et malgré tout, ils constituent l'amorce d'une éventuelle piste thérapeutique ; d'autre part, ils sont l'un des rares exemples du rôle de l'activité isomérasique des immunophilines.

[1. Israël A. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 894-5.]

[2. Franke EK. *Nature* 1994 ; 372 : 359-62.]

[3. Thali M, *et al.* *Nature* 1994 ; 372 : 363-5.]

■■■ **Les femmes porteuses de la mutation Leyden du facteur V accroissent leur risque de thrombose veineuse lorsqu'elles prennent des contraceptifs oraux.** Depuis le premier rapport en 1961 que la pilule contraceptive augmentait les risques thrombotiques, le sujet est resté très débattu. On ne connaît toujours pas le mécanisme en cause, et pourquoi

seul un petit nombre de femmes est menacé. Ces risques ont diminué de façon importante avec les mini-dosages actuels, mais ils n'ont pas disparu. Les lecteurs de *médecine/sciences* ont été tenus au courant de la mutation Leyden du facteur V qui, entraînant une résistance à la protéine C activée, prédispose à la thrombose veineuse ; cette mutation est retrouvée dans 20 % à 50 % des cas de première thrombose veineuse (*m/s* n° 2, vol. 10, p. 231, n° 6-7, vol. 10, p. 733). Naturellement, les investigateurs qui ont décrit cette mutation ont recherché si elle était en cause dans les thromboses qui affectent les jeunes femmes utilisant des contraceptifs oraux, et rapportent la dernière en date des enquêtes épidémiologiques, basée sur une étude cas-contrôle exhaustive [1]. Tous les sujets de moins de 70 ans ayant fait un premier épisode de thrombose veineuse traité dans l'un des trois centres spécialisés hollandais entre 1988 et 1993, sans affection maligne sous-jacente, ont été inclus dans l'étude, appariés avec des sujets témoins ; on a recherché chez tous les facteurs de risques thrombotiques et la présence de la mutation Leyden du facteur V. De cette vaste enquête est extraite l'étude actuelle du risque thrombotique chez les femmes sous pilule. Les résultats sont clairs : le risque de faire une thrombose est multiplié par quatre chez les femmes prenant un contraceptif oral, par huit chez les porteuses de la mutation Leyden, si bien que les femmes utilisant un contraceptif oral et hétérozygotes pour la mutation ont un risque de thromboser multiplié par plus de trente relativement aux femmes sans contraception orale ni mutation du facteur V, et par plus de cent chez les homozygotes pour la mutation. Les conséquences de la mutation et les modifications métaboliques de la cascade de la coagulation dues aux contraceptifs oraux s'accroissent mutuellement. Doit-on rechercher une mutation du facteur V chez toutes les jeunes femmes au début d'une

contraception ? Les auteurs penchent pour l'abstention car le risque absolu de thrombose reste faible et les inconvénients de ne pouvoir pratiquer une contraception par voie orale importants. A l'inverse, devant une thrombose veineuse de la femme jeune, rechercher un trouble de la coagulation est légitime et, si cette recherche est positive, devrait faire conseiller l'abandon de ce mode de contraception.

[1. Vandenbroucke JP, *et al. Lancet* 1994 ; 344 : 1453-7.]

■■■ **Dernière née des NGF, la neurotrophine 6.** Le *nerve growth factor* (NGF) est la molécule dont l'action trophique et de différenciation neuronale est, aujourd'hui, la mieux documentée [1]. Il s'agit, en fait, d'une large famille composée notamment du *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) et, plus récemment, des neurotrophines 3 et 4/5, tous fort conservés au cours de l'évolution (*m/s* n° 11, vol. 9, p. 1266). Une équipe allemande de l'Institut Max Planck rapporte le récent clonage et séquençage du gène d'une nouvelle recrue chez le poisson *Xiphophorus maculatus*, baptisée neurotrophine-6 (NT-6) [2]. L'étude de l'expression du gène a révélé une synthèse très précoce, dès les premières étapes de l'embryogenèse, mais également une production tout au long de l'âge adulte. Chez l'animal adulte, l'expression du gène a été objectivée principalement dans le cerveau, au niveau des zones germinatives correspondant au cervelet, mais aussi dans les branchies, le foie, les yeux et, de façon moindre, dans la peau, la rate, le cœur et les muscles squelettiques. Bien que son activité soit moins puissante que celle du NGF, la NT-6 aurait un spectre d'action similaire. En particulier, cette nouvelle molécule semble bien promouvoir la survie des neurones sympathiques. Mais, contrairement aux autres neurotrophines, la NT-6 n'est pas une molécule soluble, sécrétée d'em-

blée dans le milieu extracellulaire. Seule l'addition d'héparine permettrait son relargage. Selon les auteurs, cette molécule serait séquestrée sur les protéoglycanes de la matrice extracellulaire ou des membranes cytoplasmiques, fixée par ses sites de liaison à l'héparine. L'ajout d'héparine au milieu saturerait ces sites, provoquant ainsi le relargage observé. Ainsi, cette fixation sous contrôle spécifique pourrait rendre compte d'un champ d'action spatialement restreint au cours des étapes précoces de la neurogenèse. Les neurones embryonnaires des poissons remonteraient-ils un gradient d'héparine morphogène parsemé de NT-6 ? A suivre...

[1. Brachet P. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 854-62.]

[2. Göltz R, *et al. Nature* 1994 ; 372 : 266-9.]

■■■ **Un TCR pré-T au cours du développement des thymocytes.** Le développement des lymphocytes T est, comme celui des lymphocytes B, le résultat d'une succession d'événements coordonnés. Au cours de la maturation des thymocytes pourvus du récepteur pour l'antigène TCR $\alpha\beta$, le gène β est réarrangé avant le gène α . Un blocage du réarrangement des gènes du TCR, à un niveau quelconque, empêche la maturation ultérieure des thymocytes. Un tel phénomène est observé chez les souris mutantes homozygotes pour les recombinaisons RAG1 et RAG2, obtenues par recombinaison homologue, ainsi que chez les souris SCID (*severe combined immunodeficiency*). Le transfert *ex vivo* ou *in vivo* (chez les souris transgéniques) d'un gène β réarrangé à des lymphocytes déficients pour le réarrangement des gènes de TCR et d'immunoglobulines permet de stimuler la différenciation lymphocytaire,

avec apparition des protéines CD4 et CD8 et début d'accumulation de transcrits issus du gène α . Claude Saint-Ruf, de l'Institut Necker (Paris), en collaboration avec Harald von Boehmer, vient maintenant de démontrer que cet effet du transfert d'un gène β réarrangé pouvait être indirect [1]. Dans des thymocytes immatures, la chaîne β du TCR s'assemble en effet avec une protéine glycosylée de 33 kDa, au sein d'un complexe comportant encore des partenaires inconnus et associés aux molécules CD3. Le partenaire de la chaîne TCR β a été dénommé pT α . Cette protéine a été purifiée et microséquencée. Un oligonucléotide déduit de la séquence protéique a permis d'amplifier par PCR un fragment de l'ADN de pT α qui a, lui-même, servi de sonde pour cloner un ADNc de pleine longueur. Ce dernier a le potentiel de coder pour une protéine transmembranaire comportant une extrémité carboxyterminale cytoplasmique et, au niveau extracellulaire, un domaine de type immunoglobuline. Dans les thymocytes immatures, un dimère TCR β /pT α se forme et est transporté à la membrane où il s'associe donc à CD3. Il est probable que d'autres partenaires soient également impliqués ; TCR β possède deux domaines de type immunoglobuline et pT α un seul, si bien que l'on peut supposer qu'il existe un partenaire du deuxième domaine de TCR β . Le messager de pT α est exprimé avant celui de TCR β et de TCR α . Il est hautement probable que pT α soit impliqué dans la transmission d'un signal essentiel à la maturation ultérieure des pré-thymocytes. L'extrémité intracytoplasmique de cette protéine comporte des sites de phosphorylation et est riche en proline, ce qui pourrait constituer un motif de reconnaissance par les domaines SH3 de protéines impliquées dans la transduction du signal, avant tout p56^{lck} [2].

[1. Saint-Ruf C, *et al. Science* 1994 ; 266 : 1208-12.]

[2. Fagard R, Danielan S. *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 554-60.]

■■■ **Oscillator, un mutant létal de la sous-unité α du récepteur du glyco-colle.** La souris *spasmodic (spd)* porte une mutation ponctuelle, Ala 52 \rightarrow Ser, dans la sous-unité $\alpha 1$ du récepteur du glyco-colle, provoquant une maladie récessive (*m/s n° 8-9, vol. 10, p. 910*). Il existe un allèle de *spd*, appelé *oscillator (ot)*, qui provoque une maladie récessive, comme *spd*, mais beaucoup plus sévère puisqu'elle aboutit à la mort dans un tableau neurologique au bout de trois semaines environ. Le gène siège sur le chromosome 11 de la souris. Buchwalter *et al.* (Ann Arbor, MI, et Bar Harbor, ME, USA) [1] ont analysé la mutation responsable de *ot* ; il s'agit d'une délétion d'un petit nombre de bases, qui entraîne un décalage de phase au codon 308 et supprime la troisième boucle cytoplasmique et le quatrième et dernier domaine transmembranaire. Les membranes isolées des homozygotes ont perdu leur pouvoir normal de lier la strychnine ; il s'agit donc d'une perte totale de fonction. Cette mutation montre que, bien qu'il existe quatre types différents de sous-unités α susceptibles d'entrer dans la composition du récepteur du glyco-colle, la perte de fonction du type $\alpha 1$ ne peut être compensée. Rappelons que l'on connaît chez l'homme une maladie, appelée hyperekplexie ou maladie des sursauts, qui est due à une mutation de la sous-unité $\alpha 1$ (remplacement de l'arginine 271) (*m/s n° 3, vol. 10, p. 354*). Les auteurs [1] ont comparé les mutations connues de l'homme et de la souris. La mutation *spd* siège dans une région de la molécule qui n'est pas cruciale – elle n'empêche pas la liaison à la strychnine ou au glyco-colle – tandis que *ot* ampute une grande partie de la molécule. Quant à la mutation humaine, elle se trouve dans une zone adjacente au canal Cl⁻ ; elle est dominante et on ne connaît pas de cas homozygote. On peut rappeler aussi que l'on connaît chez la souris un autre mutant, *spastic (spa)*, dont le gène est sur le 3 murin, cliniquement semblable à *spd*, dû à l'inser-

tion d'un élément LINE 1 dans un intron de la sous-unité β du récepteur du glyco-colle (*m/s n° 8-9, vol. 10, p. 910*). On croyait l'atteinte de la sous-unité β moins cruciale que celle de $\alpha 1$. Or il n'en est probablement rien, car on a décrit un allèle de *spa*, le mutant *spa* Albany, aussi grave que *ot* [2], qui porte probablement une mutation nulle de β .

[1. Buckwalter MS, *et al. Hum Mol Genet* 1994 ; 3 : 2024-30.]

[2. White WF, *et al. J Neurogenet* 1987 ; 4 : 253-9.]

■■■ **Des opérons chez les eucaryotes.** Une différence classique entre l'organisation et la fonction des gènes chez les procaryotes et les eucaryotes est l'existence d'opérons chez les premiers et non chez les seconds. Un opéron comporte plusieurs gènes contigus transcrits à partir d'un promoteur unique, ce qui aboutit à la production d'ARN messagers polycistroniques portant la séquence des différents gènes de l'opéron. A l'inverse, les gènes des eucaryotes sont presque toujours transcrits sous la forme d'ARN monocistroniques. Les exemples de gènes eucaryotes possédant plusieurs promoteurs sont maintenant légion mais, en revanche, on ne connaît guère de promoteur unique fonctionnant pour plusieurs gènes. Une autre différence entre les procaryotes et les eucaryotes est l'épissage, en *cis* ou en *trans*. Rappelons que l'épissage en *trans* (*trans-splicing*) est le phénomène par lequel vont se trouver liés des exons appartenant à des transcrits différents. Un tel phénomène est universel chez le trypanosome et est également noté chez un métazoaire, le nématode *Caenorhabditis elegans*. Environ 60 % des gènes étudiés chez *C. elegans* codent pour des ARN débutant par une séquence SL1 qui est jointe au messenger par épissage en *trans*. Un plus petit nombre de transcrits spécifiques débute par une séquence SL2, jointe à ces transcrits par le même mécanisme. En 1993, l'équipe de T. Blumenthal

(Bloomington, IN, USA) décrivait l'existence d'opérons chez *C. elegans* [1]. Six groupes de gènes dans la même orientation et distants les uns des autres d'une centaine de pb étaient observés. Dans tous les cas, le transcrit du gène amont était épissé à la séquence SL1 alors que le transcrit du gène aval était épissé à SL2. Dans le cas d'un groupe de trois gènes, le transcrit du premier gène était épissé à SL1, celui du second à SL1 ou SL2 alors que celui du troisième était épissé exclusivement à SL2. La même équipe montre maintenant, grâce à l'examen attentif de 2 millions de pb de séquences génomiques, que cette organisation est extrêmement fréquente, un quart des gènes de *C. elegans* pouvant être organisés sous la forme d'opérons [2]. Très classiquement, ces opérons sont transcrits sous la direction du promoteur du gène amont. Les différents transcrits sont alors polyadénylés et épissés en *trans* selon un mécanisme coordonné : l'inactivation d'un signal de polyadénylation bloque l'épissage en *trans*. Contrairement à ce qui se passe chez les procaryotes, chacun des transcrits est traduit isolément, après le clivage du précurseur par le mécanisme des épissages en *trans*. Les transcrits de *Caenorhabditis elegans* peuvent être épissés en *cis*, ce mécanisme étant tout à fait indépendant des phénomènes liés à l'épissage en *trans*. Le rôle spécifique des séquences, toujours 5' non traduites, SL1 et SL2, situées au début de la plupart des messagers de *C. elegans* n'est pas connue ; elles pourraient améliorer la constitution des complexes d'initiation de la traduction. Ces résultats confirment bien le caractère très exceptionnel de *Caenorhabditis elegans*, un eucaryote métazoaire possédant des caractéristiques des procaryotes aussi bien que des eucaryotes plus évolués. Cette observation ne dit cependant rien du sens de l'évolution dont *C. elegans* représente une étape : s'agit-il d'un phénomène d'expansion du génome vers une organisation monocistronique caracté-

ristique des eucaryotes développés ou, au contraire, d'une évolution inverse de compaction, équivalent à une véritable « bactérisation » d'un génome eucaryote préalablement plus diffus.

[1. Spieth J, *et al. Cell* 1993 ; 73 : 521-32.]

[2. Zorio DAR, *et al. Nature* 1994 ; 372 : 270-2.]

■■■ **Exclusion allélique des récepteurs olfactifs.** Les fidèles lecteurs de *médecine/sciences* savent que chaque cellule sensorielle olfactive ne synthétise qu'un seul type de récepteur olfactif, ou au moins un très petit nombre [1, 2]. L'équipe de Richard Axel (New York, USA) démontre maintenant que les mécanismes en jeu pour limiter à une seule entité l'expression des récepteurs olfactifs dans les neurones sensoriels sont en effet si stringents qu'ils aboutissent à une exclusion allélique. Cela signifie que, dans un seul neurone, non seulement un seul *locus* de récepteur est actif, mais encore que, au niveau de ce *locus*, un seul des deux allèles est exprimé [3]. Le mécanisme de l'exclusion allélique est bien connu dans les cellules du système immunitaire dont un seul allèle des gènes codant pour les immunoglobulines ou les récepteurs des lymphocytes T est réarrangé de manière fonctionnelle. Les travaux de Chess *et al.* indiquent que l'une des deux copies alléliques peut être inactivée extrêmement précocement au cours de l'embryogenèse, intéressant tous les allèles d'un même groupe de gènes de récepteur sur l'une des paires chromosomiques. L'hypothèse formulée pour expliquer ce phénomène est celle d'une sélection très forte en faveur d'une diversification croissante des spécificités des récepteurs pour des molécules odorantes différentes. Ainsi seraient sélectionnés, au cours de l'évolution, des organismes possédant à la fois un plus grand nombre de *loci* et un polymorphisme allélique ayant des conséquences fonctionnelles. Puisque l'intégration cérébrale des mes-

sages odorants véhiculés vers le cerveau nécessite très probablement que chaque neurone ne possède qu'un seul type de récepteur, la sanction de ce polymorphisme allélique est bien évidemment alors la nécessité de l'exclusion allélique.

[1. Holley A. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 1077-8.]

[2. Parmentier M, *et al. médecine/sciences* 1994 ; 10 : 1083-90.]

[3. Chess A, *et al. Cell* 1994 ; 78 : 923-34.]

■■■ **Épidémie de grossesses extra-utérines dans le monde développé.** Devant le doublement, voire le triplement des grossesses extra-utérines, une grande étude cas-contrôle a été réalisée en France, destinée à évaluer l'impact des maladies sexuellement transmissibles sur cette affection [1]. Le travail de l'équipe de Nadine Job Spira (Bicêtre, France) a porté sur 15 maternités de la région Rhône-Alpes, incluant 624 femmes ayant une grossesse extra-utérine et 1 247 témoins accouchant dans les mêmes maternités, au même moment. Il a montré que plusieurs indicateurs de maladies sexuellement transmissibles constituaient de grands facteurs de risque indépendants. L'ensemble des trois éléments : antécédents de maladie sexuellement transmissible, infection du partenaire et séropositivité pour *Chlamydia trachomatis* peut être tenu pour responsable de 43 % des grossesses extra-utérines. Seul ce germe a été étudié car la majorité des infections pelviennes actuelles lui sont imputées ; cependant, on doit estimer cette valeur de 43 % des grossesses tubaires d'origine postinfectieuse comme une valeur minimale, les gonocoques et autres responsables de maladies sexuellement transmissibles n'ayant pas été pris en compte. L'infection par *C. trachomatis* est très souvent silencieuse ; seules des mesures préventives (préservatifs) et la recherche régulière d'infections vaginales devraient permettre un recul de cette affection redoutable, première cause de mortalité mater-

nelle pendant le premier trimestre de la grossesse par hémorragie cataclysmique due à la rupture de la trompe, et responsable de stérilités ultérieures.

[1. Coste J, *et al. Fertil Steril* 1994 ; 62 : 289-95.]

■■■ **Protection et réparation des épithéliums, un nouveau rôle des lymphocytes T $\gamma\delta$.** Il existe deux populations principales de lymphocytes T périphériques, ceux qui possèdent un récepteur pour l'antigène TCR $\alpha\beta$, et ceux qui possèdent un TCR $\gamma\delta$. Ces lymphocytes T $\gamma\delta$ sont particulièrement importants dans différents épithéliums, notamment de la peau et de l'intestin, mais leur rôle reste mal connu. En effet, le répertoire des TCR de ces lymphocytes est très limité, si bien qu'ils ne peuvent reconnaître qu'un petit nombre de peptides. L'un d'entre eux pourrait être un antigène du soi présenté par les kératinocytes en culture ou stimulés *in vivo*. Cette observation est intéressante car, dans la peau, kératinocyte et lymphocyte T $\gamma\delta$ sont en contact intime. R. Boismenu et W.L. Harvran (La Jolla, CA, USA) montrent maintenant que les cellules T $\gamma\delta$ de la peau et de l'intestin synthétisent, lorsqu'ils sont stimulés, le facteur de croissance KGF (*keratinocyte growth factor*), un agent capable d'induire la prolifération des kératinocytes. On peut supposer, par conséquent, qu'un des rôles des lymphocytes $\gamma\delta$ est de surveiller l'intégrité des kératinocytes et de contribuer à la réparation des épithéliums endommagés [1]. En cas d'altération, les kératinocytes stimulés pourraient présenter des auto-antigènes reconnus par les lymphocytes T $\gamma\delta$ qui seraient ainsi activés et se mettraient à sécréter du KGF. Ce dernier contribuerait à augmenter la division des kératinocytes, hâtant la guérison des lésions.

[1. Boismenu R, Harvran WL. *Science* 1994 ; 266 : 1253-5.]