

■■■ **Un facteur inhibiteur de la croissance cérébrale est abaissé dans la maladie d'Alzheimer.**

La recherche sur la maladie d'Alzheimer, dont *m/s* se fait régulièrement l'écho, est orientée vers deux voies principales : l'étude moléculaire de protéines dont on pense qu'elles ont une position centrale dans le dépôt de la protéine amyloïde, comme l'APP ou précurseur de la protéine amyloïde, et la recherche de facteurs qui interviennent dans la régulation du métabolisme cérébral, dont le NGF est un exemple. Une hypothèse nouvelle est proposée par des chercheurs de Tokyo (Japon) [1, 2]. Leur point de départ était l'hypothèse d'un déficit en un facteur neurotrophique nécessaire à la survie neuronale. Or c'est l'inverse qu'ils ont trouvé, sous forme d'une augmentation de l'activité neurotrophique dans les extraits de cerveaux provenant de maladies d'Alzheimer. Cette augmentation fut reliée à la perte d'un facteur inhibiteur de croissance (GIF, *growth inhibitory factor*). Celui-ci a été purifié et sa séquence en acides aminés déterminée [1]. La séquence en acides aminés dérivée d'un clone ADNc récemment clonée est identique à celle du GIF [2]. Le messenger compte environ 500 nucléotides et le peptide a 68 acides aminés ; il fait partie de la famille des métallothionéines avec lesquelles il possède une forte homologie. Son gène a été localisé sur le chromosome 16, qui porte aussi les métallothionéines. Le GIF purifié, naturel ou recombinant, possède un pouvoir inhibiteur sur la croissance de neurones corticaux de rat nouveau-né. L'expression du messenger est limitée au système nerveux, cerveau et cervelet ; il n'en existe pas dans le cerveau fœtal ; elle contraste avec celle des métallothionéines, qui dominent dans le foie et le rein. L'ARN total a été extrait du cerveau de trois témoins et de six malades, 4 à 5 heures après le décès. Le niveau du messenger du GIF était d'environ 25 % chez les malades par rapport aux témoins. Il semble donc y avoir une inhibition de l'expression du GIF dans la maladie d'Alzheimer expli-

quant le bourgeonnement somatodendritique observé chez ces malades. D'évidentes questions se posent à la suite de ces travaux : est-il plausible d'attribuer à la baisse du GIF l'accumulation des plaques et des filaments dans le cerveau des malades ? pour répondre, il faudra analyser le gène du GIF et notamment sa portion promotrice et ses séquences régulatrices. [1. Uchida Y, *et al. Neuron* 1991 ; 7 : 337-47.] [2. Tsuji G, *et al. EMBO J* 1992 ; 33 : 4843-50.]

■■■ **Adhérence focale cytosquelette et transmission du signal.**

Les zones d'adhérence focale sont, dans les cellules, les points d'ancrage des faisceaux d'actine à la membrane ; c'est à ce niveau que la cellule interagit le plus étroitement avec le *substratum* extracellulaire. Au niveau de ces adhérences focales se trouvent concentrées des protéines du cytosquelette (tensine, vinculine, taline, la protéine kinase p60^{src} dans les cellules infectées par le virus de Rous, et p125^{FAK}). Cette dernière protéine (*focal adhesion kinase*) est une tyrosine kinase dont le domaine catalytique est entouré de grandes régions amino- et carboxy-terminales dans lesquelles on ne retrouve pas les domaines caractéristiques d'autres protéine kinases du même type, notamment les sites SH2 et SH3 (*Sarc homology 2 and 3*). La présence de P60^{src} oncogénique conduit à une hyperphosphorylation de p125^{FAK} qui entraîne l'augmentation de son activité catalytique. Un même résultat est obtenu en traitant les cellules par des peptides activateurs (bombésine, vasopressine, endothéline). Au niveau des plaquettes sanguines, la phosphorylation de p125^{FAK} peut être provoquée par le fibrinogène qui se fixe à l'intégrine majeure de ces cellules, la glycoprotéine GPIIb-IIIa. En présence de fibrinogène, la thrombine est également capable d'augmenter la phosphorylation de p125^{FAK}. Ce dernier phénomène est bloqué par des anticorps anti-intégrine ou chez des mala-

des atteints de thrombasthénie de Glanzmann dans laquelle les plaquettes sont dépourvues de l'intégrine GPIIb-IIIa [1, 2]. Ces résultats indiquent que les adhérences focales peuvent engendrer, par l'intermédiaire des intégrines, un signal passant par la tyrosine kinase p125^{FAK}. Les signaux empruntant la voie de récepteurs de peptides ou de l'hyper-expression de p60^{src} oncogénique passeraient également par cette même tyrosine kinase. Ces signaux pourraient contrôler l'assemblage du cytosquelette au niveau de ses régions d'adhérence focale. Il est possible qu'une hyper-phosphorylation aille de pair avec un relâchement de l'attachement des faisceaux d'actine à la membrane, et, par conséquent, avec une désorganisation du cytosquelette. Cependant de plus faibles niveaux de phosphorylation accompagneraient la constitution des adhérences focales dans des conditions plus physiologiques. Des inhibiteurs des tyrosine kinases inhibent, en effet, la formation des fibres de tension et des adhérences focales alors qu'un résultat inverse est obtenu en utilisant des inhibiteurs des tyrosine phosphatases [2]. Quoique plusieurs autres protéines phosphorylées sur des tyrosines aient été identifiées au niveau des régions d'adhérence focale, les intermédiaires situés en aval de p125^{FAK} dans la transduction de ce type de signal ne sont pas connus. D'une manière ou d'une autre, ce signal pourrait passer par les protéines de la famille Ras (*m/s* n° 10, vol. 8, p. 1097), Rac et Rho [3].

- [1. Zachary I, Rozengurt E. *Cell* 1992 ; 71 : 891-4.]
- [2. Burridge K, *et al. Curr Biol* 1992 ; 2 : 537-9.]
- [3. Fort P, Vincent S. *médecine/sciences* 1993 ; 9 : 59-65.]

■■■ **Effet compensateur possible de la DRP dans les myopathies par carence en dystrophine.**

La myopathie de Duchenne et sa forme atténuée allélique, la myopathie de Becker, sont liées à des anomalies quan-

titatives ou qualitatives de la protéine dystrophine. Cette dernière est normalement amarrée à un complexe oligomérique glycoprotéique enchâssé dans la membrane musculaire (*m/s* n° 10, vol. 7, p. 1090 et n° 9, vol. 8, p. 983). Le déficit en dystrophine est associé à un déficit secondaire des glycoprotéines membranaires, également appelées DAG (*dystrophin-associated glycoproteins*). Dans la myopathie autosomique récessive maghrébine, l'une de ces glycoprotéines, la protéine DAG-50kDa, est spécifiquement absente et son gène est par conséquent un bon candidat au rôle de responsable de l'affection. La dystrophine appartient à une famille de protéines codées par plusieurs gènes, dont celui de la DRP (*dystrophin related protein*) également appelée utrophine, localisé sur le chromosome 6 [1]. La détermination de la séquence complète de l'ADN complémentaire de la DRP, et la séquence protéique qui en est déduite, montrent que dystrophine et DRP sont homologues sur toute leur longueur, leurs gènes dérivant probablement l'un de l'autre par un processus ancien de duplication [2]. La DRP est, dans les conditions normales, particulièrement localisée aux jonctions neuromusculaires. Chez les myopathes, ou chez la souris *mdx*, déficiente en dystrophine, une étude en immunohistochimie utilisant des anticorps anti-DRP ou bien reconnaissant à la fois la DRP et la dystrophine, montre la persistance d'un marquage important à la face interne du sarcolemme en regard des jonctions neuromusculaires. A ce niveau, K.P. Campbell *et al.* (Iowa City, IO, USA) viennent de montrer que persistaient les protéines DAG, alors qu'elles sont absentes sur le reste du sarcolemme, du fait du déficit en dystrophine. Ce résultat a suggéré aux auteurs que la protéine DRP, comme la dystrophine, pouvait permettre la stabilisation des complexes de glycoprotéines membranaires DAG. Pour confirmer ce fait, les auteurs ont examiné d'autres muscles au niveau desquels les lésions associées à la carence en dystrophine sont peu importantes : les petits muscles

squelettiques et, chez la souris *mdx*, le cœur. Dans les deux cas, la quantité de DRP a été trouvée augmentée, distribuée sur tout le sarcolemme, avec persistance des protéines DAG [3]. Ces résultats sont d'une considérable importance puisqu'ils indiquent que la protéine DRP, si elle était synthétisée de manière importante et localisée sur toute la surface du sarcolemme, pourrait compenser fonctionnellement le déficit en dystrophine, peut-être en permettant la stabilisation du complexe des glycoprotéines DAG. Nul doute qu'il existe là une voie thérapeutique potentiellement importante, définie par les tentatives de stimuler, chez les myopathes, la synthèse d'une DRP dont on espère, qu'elle pourrait pallier les conséquences de l'altération du gène de dystrophine.

- [1. Léger JJ, *et al. médecine/sciences* 1991 ; 7 : 805-19.]
- [2. Tinsley JM, *et al. Nature* 1992 ; 360 : 591-3.]
- [3. Matsumura K, *et al. Nature* 1992 ; 360 : 588-91.]

■■■ Des souris transgéniques, modèles de l'emphysème. Des souris transgéniques exprimant dans leurs poumons le gène de la collagénase, sous le contrôle des séquences régulatrices du gène de l'haptoglobine, ont une symptomatologie et des lésions anatomo-pathologiques évoquant de très près l'emphysème chez l'homme. Quoique cette dernière maladie ait été plutôt mise en relation avec une destruction de l'élastine de la matrice extracellulaire du poumon, d'autres mécanismes ne sont pas exclus, notamment une atteinte des fibres de collagène. Par ailleurs, et même si les mécanismes pathogéniques sont différents dans l'emphysème usuel de l'homme et chez ces souris, celles-ci constituent néanmoins un intéressant modèle pour les recherches physiopathologiques et thérapeutiques.

- [1. D'armiento J, *et al. Cell* 1992 ; 71 : 955-61.]

■■■ Récepteurs 5-HT₄ et stéroïdogénèse surrénalienne. L'ACTH, l'angiotensine II et la kaliémie jouent un rôle prépondérant dans le contrôle de l'activité des cellules corticosurrénales. A cette régulation de type hormonal vient s'ajouter une régulation directe de type paracrine et neuroendocrine du cortex surrénalien : différents neurotransmetteurs et neuropeptides libérés localement, soit par les cellules médulo-surrénales soit par les terminaisons nerveuses, peuvent ainsi contribuer à la régulation des taux de corticostéroïdes. La sérotonine est l'un des neuromédiateurs susceptibles de stimuler les cellules corticosurrénales selon un mode paracrine. Toutefois, son mécanisme d'action restait inconnu, certains auteurs proposant l'implication de récepteurs 5-HT₂ couplés positivement à l'adénylate cyclase, alors qu'il est maintenant bien établi que l'effet de la sérotonine sur les sites 5-HT₂ est associé à l'activation de la phospholipase C. La découverte récente d'un nouveau type de récepteurs sérotonergiques dans le cerveau de souris (appelés récepteurs 5-HT₄) par A. Dumis et J. Bockaert (Montpellier, France [1]) a permis de résoudre rapidement ce problème. Une équipe de biologistes et de médecins du laboratoire d'endocrinologie Moléculaire (CNRS URA 650, Rouen, France) en collaboration avec le laboratoire de Neuro-Endocrinologie expérimentale (Inserm U.297, Marseille, France) vient en effet de montrer que, chez l'homme, l'effet stimulant de la sérotonine sur la sécrétion des corticostéroïdes est relayé par un récepteur de type 5-HT₄ [2]. Compte tenu de la relative homogénéité du cortex surrénalien, ce tissu apparaît comme un bon modèle pour sélectionner de nouveaux ligands 5-HT₄ et pour disséquer la cascade de transduction associée à l'activation des récepteurs 5-HT₄.

- [1. Bockaert J, *et al. Trends Pharmacol Sci* 1992 ; 131 : 141-5.]
- [2. Lefebvre H, *et al. Neuroscience* 1992 ; 47 : 999-1007.]

■■■■ Réarrangement de l'ADN et cancer : un modèle chez les souris transgéniques. Des souris transgéniques dans lesquelles le gène codant pour l'activateur du plasminogène de type urokinase (uPA) a été placé sous le contrôle des séquences régulatrices du gène de l'albumine ont une maladie hémorragique extrêmement grave, due à l'hyper-expression de l'activateur du plasminogène. Cependant, dans deux lignées particulières, certaines souris échappent à la mort, leur foie étant le siège de processus intenses de régénération et d'un développement de nodules. A l'âge adulte, tout syndrome hémorragique a disparu chez ces animaux. L'examen du transgène montre alors qu'il a été excisé ou inactivé par remaniement, expliquant ainsi la cessation du syndrome hémorragique et la viabilité des hépatocytes. Chez tous les animaux de ces lignées, apparaissent, après le 8^e mois, des hépatocarcinomes au niveau desquels le transgène n'est plus retrouvé. Un examen attentif des remaniements de l'ADN chez les animaux ayant survécu à l'épisode hémorragique mais n'ayant pas encore développé de cancer montre trois types de réarrangements : des remaniements internes au transgène, une conversion génique ou une large délétion de la totalité des transgènes et des parties bordantes en 5' et en 3'. C'est ce troisième type de remaniement qui est trouvé dans la totalité des tumeurs hépatiques. L'urokinase par elle-même n'a aucun pouvoir carcinogène. Pour expliquer ces résultats EB Sandgren *et al.*, du laboratoire de R.I. Brinster (Philadelphie, PA, USA) [1] suggèrent que la survie des animaux n'est possible que par sélection clonale des hépatocytes au niveau desquels un réarrangement inactivant le transgène délétère est apparu. Certains de ces réarrangements emportent une partie plus ou moins importante de l'ADN environnant le site d'intégration des transgènes. Cette large délétion pourrait intéresser un anti-oncogène, ou être, par elle-même, un facteur d'instabilité de l'ADN. L'un et l'autre de ces mécanismes conduirait à la progres-

sion tumorale, avec ses différentes étapes nécessitant la coopération entre plusieurs altérations génétiques, ce qui explique, comme dans d'autres modèles d'oncogénèse ciblée chez les souris transgéniques, le caractère clonal des cancers. L'aspect remarquable du modèle ainsi créé par le laboratoire de R.L. Brinster est qu'il complète superbement la panoplie des mécanismes connus de la carcinogénèse que l'on peut reproduire par la transgénèse animale.

[1. Sandgren EP, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 1183-7.]

■■■■ Oncogène grand T de SV40 : apoptose et prolifération.

Nous avons récemment mentionné dans *m/s* (n° 6, vol. 8, p. 613) que l'expression de l'oncogène grand T de SV40, ciblée dans les bâtonnets de la rétine par les séquences régulatrices du gène opsine, entraînait dans un premier temps le maintien en cycle des photorécepteurs puis, leur mort cellulaire [1]. Afin de savoir si cette réponse était spécifique du type de photorécepteur et/ou du stade à partir duquel s'exprimait grand T, les auteurs de ce premier article, Al-Ubaidi *et al.* (Houston, TX, USA) ont ciblé l'expression du même oncogène à l'aide des séquences régulatrices du gène IRBP (*interphotoreceptor retinoid binding protein*) [2]. Ce gène est exprimé dès le 17^e jour de la vie embryonnaire, plus précocément que le gène opsine dont les séquences régulatrices avaient été utilisées dans le travail précédemment évoqué [1]. En outre le gène IRBP s'exprime dans les cônes et les bâtonnets alors que l'opsine n'est présente que dans ces derniers. Contrairement au résultat obtenu avec le transgène opsine-T SV40, les souris IRBP-T SV40 développent des tumeurs de la rétine. Deux hypothèses non exclusives peuvent être formulées pour expliquer cette différence de réponse. Soit seuls les cônes sont sensibles à l'effet transformant de grand T et participent à

la formation tumorale, l'absence d'expression du marqueur opsine dans la tumeur et d'antigènes spécifiques des bâtonnets dans les rétinoblastomes allant à l'appui de cette hypothèse, soit l'expression très précoce de l'oncogène dirigée par le promoteur IRBP implique des cellules dont l'état de différenciation est tel qu'elles ne peuvent engager un programme de contrôle de la prolifération par apoptose, le caractère très indifférencié de la tumeur obtenue étant parfaitement compatible avec cette hypothèse. Reste maintenant à cibler l'oncogène uniquement dans les cônes à un stade plus ou moins précoce au cours du développement pour étudier les spécificités respectives de ces deux types de photorécepteurs vis-à-vis de l'oncogène grand T.

[1. Al-Ubaidi M, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 1194-8.]

[2. Al-Ubaidi M, *et al. J Cell Biol* 1992 ; 119 : 1681-7.]

■■■■ Une action transcriptionnelle inédite de la protéine p53 : l'inhibition du complexe TATA-box.

Les promoteurs des gènes comportent des facteurs généraux de transcription dont l'assemblage et l'efficacité sont contrôlés par des protéines modulatrices souvent fixées à des éléments d'ADN situés plus à distance. Le plus fréquemment, le complexe d'initiation de la transcription, constitué d'un grand nombre de facteurs généraux, est assemblé autour de la séquence TATA (TATA-box). La TATA-box se fixe à la protéine TBP (*TATA-binding protein*) qui s'associe à de nombreux facteurs auxiliaires pour former le complexe TFIID. TFIID interagit lui-même avec un grand nombre d'autres facteurs transcriptionnels. E. Seto *et al.*, du laboratoire de T. Shenk (Princeton, NJ, USA) viennent de montrer que p53, outre sa fixation élective à une séquence d'ADN spécifique (*m/s* n° 7, vol. 8, p. 732), pouvait inhiber, dans un milieu acellulaire, la transcription commandée par un promoteur mini-

mal limité à la TATA *box*. De plus, une interaction directe existe entre p53 et TBP [1]. Les protéines p53 mutées, ayant perdu leur pouvoir antiprolifératif, ont également perdu leur aptitude de se fixer à TBP et d'inhiber la transcription d'un promoteur minimum. Cette multiplicité des effets, notamment transcriptionnels, de p53 rappelle celle de la protéine adénovirale E1A qui peut, elle aussi, se fixer au complexe d'initiation de la transcription ainsi qu'à d'autres complexes à action modulatrice sur l'expression des gènes.

[1. Seto E, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 12028-32.]

■■■ Deux formes moléculaires distinctes de somatostatine sont exprimées dans le cerveau des amphibiens. La plupart des neuropeptides sont produits sous forme de copies multiples issues soit du clivage d'un même précurseur (par exemple, pro-opiomélanocortine, pro-enképhaline, pro-IRH), soit de précurseurs dérivant de familles multigéniques (par exemple, famille du NPY, famille du VIP...). Certains neuropeptides hypophysiotropes semblaient échapper à cette règle. Ainsi, il était généralement admis que, dans le cerveau, un seul gène codant pour le précurseur de la somatostatine était exprimé. Une étude récente montre que deux formes moléculaires, la somatostatine 14 et un variant dont la séquence est modifiée en position 2 (Gly → Pro) et 13 (Ser → Met), sont synthétisées dans le cerveau de la grenouille [1]. Le fait que les deux molécules présentent la même affinité pour les récepteurs centraux chez le rat suggère que la seconde forme de somatostatine est biologiquement active. Ces résultats soulèvent au moins deux questions importantes : y a-t-il chez d'autres groupes de vertébrés expression de plusieurs formes de somatostatine dans le cerveau comme cela a été montré pour le GnRH [2] et si oui, quels rôles respectifs jouent les différentes formes

moléculaires en tant que neurohormone et/ou neurotransmetteur ?

[1. Vaudry H, *et al. Biochem Biophys Res Commun* 1992 ; 188 : 477-82.]

[2. Andersen A, *et al. Int Rev Cytol* 1992 ; 138 : 89-208.]

■■■ Les mutations du gène APC sont également fréquentes dans les adénocarcinomes du pancréas. Le gène APC (*adenomatous polyposis coli*) est un anti-oncogène localisé sur le bras long du chromosome 5. Son altération constitutionnelle semble être à la base des polyposes coliques familiales ; de plus, il est fréquemment altéré dans des cancers sporadiques du côlon, de l'estomac et de l'œsophage. Une équipe japonaise de Tokyo vient de montrer que des mutations somatiques étaient également fréquemment observées dans des adénocarcinomes pancréatiques. En utilisant une amplification par PCR de régions fréquemment modifiées du gène APC, les auteurs ont en effet détecté quatre mutations sur dix échantillons examinés [1].

[1. Horii A, *et al. Cancer Res* 1992 ; 52 : 6696-8.]

■■■ Le gène de la dystrophie musculaire autosomique « maghrébine » est porté par le chromosome 13. La dystrophie musculaire autosomique récessive dite « maghrébine », qui ressemble à la maladie de Duchenne, fait l'objet de recherches actives. Une équipe américaine et tunisienne a étudié 52 malades originaires de Tunisie. Une liaison a été trouvée avec un marqueur localisé sur le chromosome 13 en 13q12 (*lod score* 9,1), non loin du centromère. Il reste maintenant à cerner le gène de plus près ; la première recherche devrait porter sur une protéine de membrane de 50 kDa que l'équipe de Campbell a trouvée fortement diminuée dans les biopsies de ces malades. (*m/s* n° 9, vol. 8, p. 985 et n° 2, vol. 9, p. 224).

[1. Ben Othmane K, *et al. Nature Genet* 1992 ; 2 : 315-7.]