

■■■■ Une nouvelle variété d'amylose rénale héréditaire. Une amylose rénale peut être une localisation prédominante au cours de certaines amyloses systémiques héréditaires : amylose AA compliquant la fièvre méditerranéenne familiale, amylose dérivée de l'apolipoprotéine A-1 (*m/s n° 8, vol. 9, p. 999*) ou de la gelsoline ([1] et *m/s n° 7, vol. 8, p. 730*). Benson *et al.* (Indianapolis, Ind, USA) [2] ont étudié une famille d'origine péruvienne où trois sujets sont décédés d'une amylose rénale. La substance amyloïde, isolée d'un transplant rénal, dérivait de l'extrémité C-terminale de la chaîne  $\alpha$  du fibrinogène, avec une substitution d'une leucine à la place d'une arginine en position 554. L'analyse génomique a montré que le *propositus* (comme les deux autres membres atteints de la famille) possède à la fois la guanine et la thymine en position 4993 dans le gène de la chaîne  $\alpha$  du fibrinogène. Il est donc hétérozygote avec un codon normal CGT (arginine) et un codon variant CTT (leucine) correspondant à l'acide aminé en position 554. Ainsi l'anomalie se rapproche de ce qu'on observe dans d'autres amyloses héréditaires : le mode de transmission est autosomique dominant ; le dépôt amyloïde contient une protéine synthétisée par le foie ; la substitution d'un seul acide aminé entraîne la formation de fibrilles amyloïdes ; enfin la sous-unité de la fibrille contient 70 à 100 acides aminés et a une masse moléculaire d'environ 10 000 daltons. [1. Grateau G, *médecine/sciences* 1992 8 : 524-31.] [2. Benson MD. *Nature Genet* 1993 3 : 252-5.]

■■■■ Le modèle de souris pour le syndrome de Lesch-Nyhan. Les *knock-out*, aboutissant à la disparition d'une protéine, sont devenus monnaie courante (*m/s n° 10, vol. 8, p. 1091*). On se rappelle que la première inactivation réussie fut celle, en 1987, de l'HPRT (hypoxanthine

phosphoribosyltransférase) (*m/s n° 6, vol. 3, p. 368*) ; cette inactivation, obtenue à partir de cellules souches embryonnaires, ne provoquait nullement les troubles neurologiques du syndrome de Lesch-Nyhan humain, retard mental et automutilation. Deux éléments restaient encourageants : l'administration à ces souris d'amphétamines, inhibiteurs de la capture des monoamines neurotransmettrices, altère leur comportement locomoteur ; d'autre part, des lésions d'automutilation ont fini par apparaître chez deux souris âgées de 2 ans [1]. L'hypothèse la plus plausible pour expliquer cet échec était que la voie d'épargne des purines, dans laquelle l'HPRT joue un rôle majeur chez l'homme, se comporte différemment chez les rongeurs, la primauté pouvant revenir à l'autre enzyme de cette voie, qui porte sur l'adénine et non sur l'hypoxanthine, l'APRT. Comme on ne dispose pas encore de souris déficientes en APRT, Wu et Melton (Edinburgh, Écosse) ont cherché à inhiber son activité [2]. Le meilleur inhibiteur de l'APRT sur le cerveau de souris, *in vivo* comme *in vitro*, s'avéra être la 9-éthyladénine et sa toxicité resta limitée. Administrée à deux mâles et à trois femelles de 9-12 mois déficients en HPRT, la 9-éthyladénine provoqua en 48 à 130 jours des automutilations dues surtout à un excès de toilettage, mais aussi à des morsures. On obtint des résultats analogues, bien que plus discrets, chez des animaux âgés de 6 à 8 semaines. Ces résultats tendent à indiquer que l'on peut reproduire certains symptômes du Lesch-Nyhan chez la souris déficiente en HPRT, à condition de mettre hors circuit l'APRT en raison de son rôle important dans la voie d'épargne des purines chez la souris. Il sera bien entendu nécessaire de confirmer ces conclusions par l'obtention d'animaux déficients en APRT.

[1. Williamson DJ, *et al. J Inher Metab Dis* 1992 ; 15 : 665-73.] [2. Wu CL, Melton DW. *Nature Genet* 1993 ; 3 : 235-40.]

■■■■ Des phosphotyrosine phosphatases sur la voie de transmission de signaux passant par des récepteurs à activité tyrosine kinase. Les phosphotyrosine phosphatases représentent maintenant une famille nombreuse de protéines possédant des domaines similaires. Trois groupes, ont caractérisé des clones d'ADNc correspondant à une telle protéine chez la souris et l'homme. Cette phosphotyrosine phosphatase, désignée Syp [1], SH-PTP2 [2] et PTP-1D [3] semble être l'homologue du produit du gène *corkscrew* (*csw*) chez la drosophile, un modulateur de l'action du gène *torso* qui code pour un récepteur à activité de tyrosine kinase. Le gène *csw* fonctionne en aval du gène *torso* et intervient dans la formation terminale de l'embryon de drosophile. La protéine de mammifère et son équivalent chez la drosophile possèdent un motif SH2 (*Src Homology 2*) responsable de l'interaction spécifique avec des séquences peptidiques contenant des tyrosine phosphorylées. De fait, cette phosphotyrosine phosphatase semble être fixée à des récepteurs tyrosine kinases autophosphorylés, mais est incapable de catalyser leur déphosphorylation. Au contraire, elles pourraient transmettre le signal passant par les récepteurs autophosphorylés. Cette protéine phosphatase est, en effet, elle-même un substrat de l'activité tyrosine kinase ; une fois autophosphorylée, son activité phosphatasique est augmentée. On peut supposer que la déphosphorylation de certaines enzymes situées en aval sur la voie de signalisation pourrait ainsi les activer, contribuant à la transmission en cascade du signal. Par exemple, on connaît le pouvoir inhibiteur d'une phosphorylation de la protéine p60<sup>src</sup> sur la tyrosine 527. On peut ainsi supposer que le domaine SH2 des protéines phosphatases du type PTP-1D ou *corkscrew* interagirait tout d'abord avec un récepteur tyrosine kinase qui catalyserait leur phosphorylation. La phosphatase phosphorylée sur une tyrosine se détacherait alors du récepteur et interagirait avec une protéine de la famille *src*

phosphorylée sur son site inhibiteur, l'activant à la suite de sa déphosphorylation.

[1. Feng GS, *et al. Science* 1993 ; 259 : 1607-11.]

[2. Freeman RM, *et al. Proc Natl Acad Sci (USA)* 1992 ; 89 : 11239-43.]

[3. Vogel W, *et al. Science* 1993 ; 259 : 1611-4.]

■■■■ **Un nouveau rôle pour le produit du gène *mdr1* : un canal à ATP.** Le gène *mdr1* (*multidrug resistance gene*) code pour la P-glycoprotéine qui est un canal capable d'expulser de la cellule différents composés, notamment des produits utilisés en chimiothérapie anticancéreuse. Cependant, la véritable fonction physiologique de la P-glycoprotéine reste incertaine. Plusieurs équipes associées de Boston (MA, USA) suggèrent maintenant que le produit du gène *mdr1* pourrait se comporter comme un canal à ATP, libérant de l'ATP dans le milieu extracellulaire [1]. La fonction d'une telle sécrétion d'ATP reste hypothétique. Il pourrait s'agir d'un mécanisme auto- ou paracrine permettant la production d'ATP susceptible de se fixer aux récepteurs purinergiques de la membrane plasmique des cellules. Alternativement, l'ATP pourrait ne constituer que la force électrochimique permettant l'expulsion d'autres composés lipophiles dont des substances chimiothérapeutiques ne constitueraient qu'un exemple. Tout est probablement encore loin d'avoir été dit en ce domaine, cependant ; rappelons, en effet, qu'un rôle différent avait été précédemment attribué à la P-glycoprotéine : celui d'un canal à chlore contrôlé par le volume cellulaire [2].

[1. Abraham EH, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 311-6.]

[2. Valverde RA, *et al. Nature* 1992 355 : 830-3.]

■■■■ **Régulation négative de la transmission du gène *GLUT4*, un mécanisme de la résistance à l'insuline du diabète de type 2.** Les tis-

sus périphériques, muscles et tissus adipeux, possèdent un transporteur de glucose activé par l'insuline, *GLUT4* [1]. Dans le diabète insulino-dépendant de type 1, le messenger codant pour ce transporteur est effondré dans le muscle et les adipocytes. Cet effet est probablement secondaire à l'augmentation de la concentration tissulaire en AMP cyclique chez ces malades. Cependant, il apparaît que l'abondance du messenger de *GLUT4* est également diminuée chez les malades atteints de diabète de type 2, avec obésité et hyper-insulinisme. Le laboratoire de Daniel Lane (Baltimore, MD, USA) vient de montrer que l'insuline aboutissait rapidement à la diminution du messenger de *GLUT4* dans des adipocytes 3T3-L1 en culture, par un double mécanisme : une inhibition de la transcription du gène et une déstabilisation du messenger [2]. Ainsi, l'insuline pourrait commencer par augmenter le transport du glucose dans les tissus périphériques ; en cas d'hyperinsulinisme chronique, tel qu'il caractérise le diabète de type 2, la diminution du messenger, et donc de la protéine *GLUT4*, aboutirait ensuite rapidement à une résistance des tissus périphériques à l'augmentation de l'utilisation de glucose sous l'action de l'insuline.

[1. Assimakopoulos-Jeannet F, Jeanrenaud B. *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 33-41.]

[2. Flores-Riveros JR, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 512-6.]

■■■■ **Le contrôle de la spermatogenèse par la FSH est relayé par une polyadénylation alternative du transcrit de CREM.** L'AMP cyclique joue un rôle extrêmement important dans la spermatogenèse : des souris homozygotes pour une mutagenèse insertionnelle du gène CREB (*cyclic AMP response element binding protein*) présentent une stérilité mâle secondaire à une absence de spermatogenèse (*m/s n° 10, vol. 8, p. 1091*). CREM (*cyclic AMP-responsive element modulator*) est un autre facteur transcriptionnel interagissant avec CREB dans la régulation des gènes répon-

dant à l'AMP cyclique. Il existe de nombreux transcrits codés par le gène CREM, dérivant les uns des autres par des processus de polyadénylation et d'épissages alternatifs. Selon l'isoforme ainsi synthétisée, CREM peut se comporter comme un inhibiteur ou un activateur transcriptionnel [1]. Dans le testicule, une commutation apparaîtrait au cours de la spermatogenèse, remplaçant une forme de la protéine CREM inhibitrice en une forme tout à fait spécifique des cellules germinales du testicule, CREM $\tau$ , un activateur transcriptionnel puissant. Cette commutation cesse chez des animaux hypophysectomisés. Chez le hamster, il existe un cycle saisonnier de la spermatogenèse : en hiver, l'alternance de jours courts et de longues nuits entraîne une réduction de la sécrétion d'hormones hypophysaires, notamment de FSH (*follicle-stimulating hormone*) et de testostérone, accompagnée d'une réduction de la spermatogenèse et d'une atrophie testiculaire. Cet effet peut être reproduit en modifiant artificiellement le cycle lumière/obscurité. Durant la période hivernale, CREM $\tau$  cesse d'être synthétisée dans les testicules. L'injection de FSH permet de restimuler la commutation entre CREM inhibiteur et CREM $\tau$  activateur et de provoquer la reprise de la spermatogenèse. Cet effet de la FSH passe par une modification du site de polyadénylation du transcrit de CREM. Dans le testicule immature incapable de spermatogenèse, le site de polyadénylation est situé en 3' d'un élément de type AUUUA dont on sait qu'il jouerait un rôle dans la déstabilisation des ARN messagers. Dans le testicule capable de spermatogenèse, en revanche, le messenger de CREM $\tau$  utilise un site de polyadénylation situé en 5' de cette séquence déstabilisatrice, ce qui aboutit à un ARN messenger beaucoup plus stable, et, par conséquent, à une augmentation importante de la synthèse de CREM $\tau$ . Ces résultats de l'équipe de Paolo Sassone-Corsi (LGME, Strasbourg, France) [2] sont révolutionnaires à plus d'un titre. C'est la première fois qu'est décrit un gène tes-

ticulaire dont l'activité est contrôlée par la FSH. C'est également l'une des toutes premières fois que l'on démontre qu'une hormone agit sur l'activité d'un gène en jouant sur la sélection d'un site de polyadénylation. Antérieurement, des indications avaient été données que les hormones thyroïdiennes pouvaient intervenir sur la longueur des répétitions d'acides adényliques en 3' des messages et plusieurs exemples de modulation de la stabilité par des hormones avaient été rapportés, sans que les mécanismes exacts en cause aient jamais pu être précisés. L'effet de la FSH pourrait être tout à fait indirect. En effet, des récepteurs de la FSH existent sur les cellules de Sertoli mais probablement pas sur les cellules germinales. Cependant, on sait que des contacts étroits existent entre ces deux types de cellules, si bien que l'effet sur la polyadénylation du transcrite CREM $\tau$  pourrait se faire par l'intermédiaire des cellules de Sertoli qui, une fois activées par la FSH, communiqueraient avec les cellules germinales par un ou des messages dont la réalité ou la nature restent à déterminer.

[1. Foulkes NS, *et al. Nature* 1993 362 : 264-7.]

[2. Laide BM, *et al. EMBO J* 1993 12 : 1179-91.]

■■■ **Knock-out des gènes de l'interféron  $\gamma$  ou de son récepteur chez la souris.** DK Dalton *et al.*, de la Société Genentech (San Francisco, CA, USA), en collaboration avec une équipe anglaise d'Oxford, viennent de créer des lignées de souris transgéniques dont les deux allèles codant pour l'interféron  $\gamma$  ont été inactivés par recombinaison homologue. Les cellules ES utilisées sont celles d'Alan Bradley (Houston, TX, USA) [1]. Parallèlement, Huang S *et al.*, de l'Université de Zurich, en Suisse, en collaboration avec des chercheurs d'Hoffmann Laroche et de New York, rapportent la création, par le même procédé, de souris homozygotes pour une mutagenèse insertionnelle du récepteur de l'interféron  $\gamma$ .

Dans les deux cas, les souris se développent tout à fait normalement et demeurent en bonne santé lorsqu'elles ne sont pas soumises à des infections. L'équipe de Genentech démontre, chez les animaux déficients en IFN  $\gamma$ , un important déficit fonctionnel des macrophages qui, lorsqu'ils sont infectés par *Mycobacterium bovis* (souche BCG) ne stimulent pas l'expression des molécules de classe 2 du complexe majeur d'histocompatibilité et présentent une déficience marquée de la production d'oxyde nitrique NO et d'anions superoxydes O<sub>2</sub><sup>-</sup>. De ce fait, des animaux transgéniques sont hypersensibles à *Mycobacterium bovis*, de même qu'au bacille tuberculeux lui-même, auquel les souris sont naturellement résistantes [1, 3]. Par ailleurs, l'absence d'IFN  $\gamma$  semble augmenter la réponse cytolytique à des cellules allogéniques. L'équipe de Zurich confirme que l'interféron  $\gamma$  est tout à fait essentiel aux fonctions macrophagiques et, de ce fait, à la résistance aux agents infectieux intracellulaires comme *Listeria monocytogenes*. Les souris dont les deux allèles codant pour le récepteur de l'interféron  $\gamma$  ont été inactivés sont également particulièrement sensibles au virus de la vaccine, alors même qu'elles développent une réponse cytotoxique normale contre ce virus [2]. L'importance de l'altération de la fonction macrophagique mise en évidence dans ces deux modèles animaux était attendue. Elle confirme le rôle essentiel de l'interféron  $\gamma$  dans la résistance aux parasites et bactéries intracellulaires. Les résultats rapportés confirment également le rôle régulateur de l'interféron  $\gamma$  sur la réponse lymphocytaire cytotoxique. En revanche, il apparaît que cette cytokine n'est pas indispensable à un développement strictement normal en dehors de toute agression infectieuse. Dans le modèle du déficit en récepteurs, l'utilisation de transgènes codant pour cette molécule dont la synthèse pourrait être ciblée dans des cellules particulières, macrophages ou autres, permettra de bien préciser l'intervention de l'interféron  $\gamma$  à différents niveaux cellulaires.

[1. Dalton DK, *et al. Science* 1993 ; 259 : 1739-42.]

[2. Huang S, *et al. Science* 1993 ; 259 : 1742-5.]

[3. Barinaga M, *Science* 1993 ; 259 : 1693-4.]

■■■ **L'ADN confirme qu'il pourrait constituer le vaccin du futur.**

Nos lecteurs ont pu lire à diverses occasions, dans *médecine/sciences*, qu'il existait une réelle perspective d'utiliser directement l'ADN comme vaccin. En effet, l'ADN codant pour une protéine vaccinale peut toujours, en théorie, remplacer cette protéine purifiée pour déclencher une réponse immune. Cette technique comporte plusieurs avantages pratiques et théoriques fort importants. Tout d'abord, l'ADN est une molécule stable, facile à purifier, à amplifier, à stériliser. L'on peut envisager d'associer, à volonté, des séquences codant pour une grande diversité de protéines antigéniques. Ces antigènes seront synthétisés dans les cellules transfectées par l'ADN utilisé comme vaccin, ce qui déclenchera une réponse de type lymphocytaire T cytotoxique puisque les antigènes endogènes sont présentés dans le contexte des molécules de classe 1 du complexe majeur d'histocompatibilité. Enfin, on sait, depuis les travaux de J. Wolff et de ses collaborateurs (Madison WI, USA), que l'injection intramusculaire d'ADN aboutit à une expression prolongée des gènes injectés par les myotubes [1]. C'est autour de cette idée que la Société américaine Vical, à laquelle est associé Jon Wolff, développe l'essentiel de ses travaux [2]. En association avec le groupe international Merck, la Société Vical vient maintenant de démontrer que l'on pouvait, par ce moyen d'une injection intramusculaire d'ADN, protéger des souris contre l'infection par le virus de l'influenza A [3]. Un résultat du même type pourrait être obtenu, quoique moins commodément, avec un canon à particules, engin projetant, sous l'effet d'une décharge de gaz comprimé ou d'une amorce de poudre, des microprojectiles en or ou en tungstène

## ■■■ BRÈVES ■■■

enrobés d'ADN. Comme chacun peut bien l'imaginer, c'est avec fébrilité que de nombreuses équipes tentent d'étendre les indications de cette vaccination du futur... notamment à la création d'une immunité contre le virus du SIDA. Puisqu'il n'est pas interdit de rêver, peut-être peut-on

imaginer que demain, des campagnes de vaccination contre le SIDA utiliseront des préparations d'ADN auxquelles on aura conféré la propriété, par mutagenèse, de provoquer une réponse contre des antigènes variables, surmontant ainsi l'obstacle de la variabilité antigénique du VIH.

[1. Wolff JA, *et al. Science* 1990 ; 247 : 1465-68.]

[2. Cohen J, *Science* 1993 ; 259 : 1691-2.]

[3. Ulmer JB, *et al. Science* 1993 ; 259 : 1745-9.]