

de neurotransmission eux-mêmes, est clairement dépendante de la perte d'un système enzymatique spécifiquement impliqué dans la LTP. La même souche de souris mutante a été observée lors d'épreuves destinées à apprécier l'existence éventuelle de troubles mnésiques. La méthode utilisée — dite de la piscine de Morris — permet de séparer diverses composantes des systèmes de mémorisation. Les animaux sont placés dans une cuve remplie d'eau opacifiée et, pour s'en échapper, doivent retrouver une plate-forme. Toutes les combinaisons — donc tous les tests — sont possibles suivant que

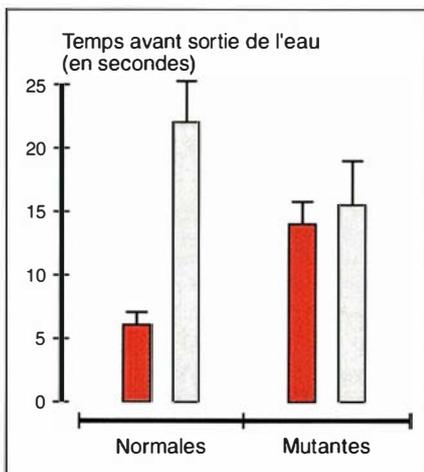


Figure 2. Temps mis par les souris normales (à gauche) et mutantes (à droite) pour monter sur la plate-forme dans deux épreuves au cours desquelles la souris doit retrouver la plate-forme après trois à cinq séances d'entraînement. Dans la première épreuve, la plate-forme est laissée à la place où la souris a appris à la retrouver (barres rouges); dans la seconde, l'emplacement de la plate-forme est changé avant le dernier test et la souris parviendra donc fortuitement à la plate-forme (barres grises). Dans le cas de la souris normale, les indices visuels permettant de retrouver l'emplacement ont été mémorisés et la souris se met très vite au sec si l'on ne bouge pas la plate-forme (dans le cas contraire, la découverte redevient aléatoire et est même perturbée par l'insistance que met la souris à tenter de retrouver de mémoire la plate-forme). Dans le cas de la souris mutante, la découverte de la plate-forme n'est pas plus rapide dans un cas que dans l'autre, suggérant l'absence d'apprentissage.

m/s n° 8, vol. 8, octobre 92

l'on place la plate-forme au-dessus de l'eau (visible) ou en dessous, qu'on l'indique par un drapeau ou que la souris doit apprendre à la localiser sans la voir en l'associant à des indices visuels présents dans la pièce d'expérience (etc.). Le résultat de toutes ces épreuves a révélé, chez la souris mutante, un déficit net de l'utilisation des indices visuels, très probablement dû à une mémorisation déficiente (figure 2).

L'interprétation des résultats de ces expériences doit sans doute faire place à un minimum de prudence. L' α -CaMKII n'est pas impliquée uniquement dans la LTP, et la suppression de la LTP n'est vraisemblablement pas la seule façon, pour une souris, de perdre la faculté d'acquiescer ou d'utiliser un apprentissage. La réactivité des souris mutantes est assez nettement accrue, par exemple, et l'on pourrait éventuellement interpréter certains résultats comportementaux comme la conséquence d'une inattention liée à une certaine « fébrilité ». Il n'en reste pas moins que l'outil créé par Silva *et al.* se révèle d'une très grande puissance pour faire un pont entre des mécanismes intimes du fonctionnement neuronal et des comportements hautement intégrés du cerveau. On attend avec impatience l'analyse des autres mutations réalisées (et annoncées) par la même équipe car la cohérence des résultats sera, à l'évidence, l'argument majeur de la validité de cette approche d'une grande élégance.

M. P.

1. Zola-Morgan S, Squire LR. The primate hippocampal formation: evidence for a time-limited role in memory storage. *Science* 1990; 250: 288-91.
2. Silva AJ, Stevens CF, Tonegawa S, Wang Y. Deficient hippocampal long-term potentiation in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science* 1992; 257: 201-6.
3. Silva AJ, Paylot R, Wehner JM, Tonegawa S. Impaired spatial learning in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science* 1992; 257: 206-11.
4. Mark M, Lufkin T, Dierich A, LeMeur M, Chambon P. Inactivation du gène *Hox-1.6* chez la souris: vers le décodage des réseaux d'homéogènes de mammifères. *médecine/sciences* 1992; 8: 334-9.
5. Le Mouellic H, Lallemand Y, Brûlet P. Transformations homéotiques chez la souris provoquées par l'inactivation de l'homéogène *Hox-3.1*. *médecine/sciences* 1992; 8: 340-5.

■■■ Un modèle d'étude de l'infection du cerveau par HIV-1 chez le rat. Le virus HIV-1 est très spécifique de l'espèce humaine. La recherche de modèles expérimentaux utilisables s'est de ce fait heurtée à des problèmes difficilement solubles. On ne connaît en effet comme hôtes utilisables que des primates (le chimpanzé [1] et, d'apparition très récente, le macaque *Nesotrina* [2]) et la souris SCID. En ce qui concerne l'atteinte du système nerveux central, les travaux concernent de ce fait essentiellement, jusqu'à présent, d'autres lentivirus. Le modèle expérimental proposé par Epstein *et al.* (University of Rochester, USA) chez le rat [3] est donc très bienvenu. L'idée de base de ce modèle a été de créer, chez le rat, un petit territoire de cerveau humain. Le tissu nerveux est particulier, du point de vue immunologique, du fait de l'absence quasi complète de cellules capables de présenter les antigènes et de déclencher la réponse immunitaire. Il est donc possible, dans des conditions dans lesquelles d'autres tissus seraient rejetés, de greffer du tissu nerveux chez des hôtes non compatibles. Epstein *et al.* ont réalisé ainsi des xénogreffes homme-rat en implantant du tissu dissocié à partir du cerveau de fœtus de 11 à 18 semaines dans la chambre antérieure de l'œil, un site également immunologiquement « protégé ». Ces xénogreffes subissent une maturation à peu près normale, suffisamment en tout cas pour que l'on puisse les considérer comme des ébauches de tissu nerveux humain. En mélangeant à ces tissus des monocytes infectés par le HIV, ou en injectant directement du virus, les auteurs ont obtenu une infection caractérisée par la présence de sites cellulaires de réplication virale (y compris des cellules géantes multinucléées, caractéristiques de l'atteinte) et même une certaine dégénérescence neuronale. Si ces résultats sont confirmés sur un nombre d'animaux plus important (moins d'une

S
E
T
E
T
E
N
O
M

dizaine actuellement) et pour des temps de survie plus longs (plus d'un mois), il s'agirait là d'un modèle tout à fait intéressant car aisément manipulable pour l'étude des mécanismes de l'infection et de ceux de l'atteinte neuronale — qui est indirecte (voir *m/s* n° 8, vol. 7, p. 867) — mais aussi, potentiellement, de thérapeutiques dirigées spécifiquement contre l'atteinte cérébrale.

[1. Fultz PN, *et al. Science* 1992 ; 256 : 1687-90.]

[2. Agy MB, *et al. Science* 1992 ; 257 : 103-6.]

[3. Cvetkovich TA, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 5162-6.]

■■■■ **Myotonie congénitale humaine et canal chlore.** *m/s* a relaté au début de 1992 (n° 2, vol. 8, p. 173) la découverte, par une équipe allemande, de la nature d'une myotonie de la souris de souche ADR : elle est due à l'inactivation d'un canal chlore musculaire, dont le gène est localisé sur le chromosome 6 de la souris. Or la région qui porte ce gène *Clc1* est homologue d'une région du bras long du chromosome 7 humain ; il était donc logique d'explorer cette région chez l'homme ; c'est ce qu'a fait cette même équipe [1]. Elle a cloné un ADNc *CLC-1* par criblage avec un ADNc de rat, et localisé un gène en 7q32-qter. Grâce à l'emploi de polymorphismes de restriction avec les enzymes Nsi I et Ava II, une liaison étroite a été mise en évidence avec le récepteur β des cellules T, comme c'est le cas chez la souris. On s'est servi ensuite des deux sondes, *CLC-1* et *TCRB*, pour tester des familles atteintes de myotonie. On sait qu'il existe deux types génétiques de myotonie non dystrophique chez l'homme, une forme dominante, maladie de Thomsen ou *myotonia congenita* (MC), et une forme récessive généralisée (GM). Les auteurs ont d'abord étudié sept familles de GM, affection dont nous avons signalé la grande ressemblance avec les souris myotoniques. Ils ont observé une liaison de la maladie avec un haplotype *CLC-1*. De

plus, dans deux familles, la sonde *CLC-1* détectait une image inhabituelle en employant l'enzyme Nsi I. Il s'est avéré que cet aspect était directement lié à une mutation exonique T \rightarrow G créant un nouveau site de coupure pour Nsi I. Cette mutation engendre un remplacement d'une Phe par une Cys, dans une zone transmembranaire ; cette Phe est conservée au cours de l'évolution, et de plus une Cys supplémentaire peut induire une liaison disulfure inadéquate. Des expériences d'expression fonctionnelle du canal muté sont probablement en cours. Comme cette mutation n'est présente que dans une minorité de familles, l'hétérogénéité des lésions moléculaires se trouve démontrée. Rappelons que chez la souris ADR il s'agit non d'une mutation ponctuelle mais d'une insertion ; toutefois, d'autres mutants de souris sont peut-être dus à des changements ponctuels. On testa ensuite de la même façon quatre familles de MC. Un *lod score* de 4,58 fut obtenu, suggérant l'implication du *CLC-1* dans la maladie de Thomsen également. Il n'y a pas encore eu cependant d'identification de mutations dans cette forme. Un des grands intérêts de cette étude, si elle est confirmée, est de montrer que l'altération d'un gène peut provoquer une maladie — soit récessive, soit dominante — mettant ainsi en cause les fondements des classifications génétiques. Une forme récessive s'explique en général par l'absence complète du produit protéique, comme c'est le cas chez les souris ADR, une demi-dose étant suffisante pour assurer une fonction correcte. Dans les formes dominantes, on est amené à admettre qu'est en cause une interaction délétère entre monomères normaux et altérés. On a là un argument en faveur d'une structure multimérique du canal *CLC-1*, question actuellement en suspens. Cette notion, capitale, de la possibilité, pour une anomalie génétique, d'entraîner des formes récessives ou dominantes — est en train de connaître une extension remarquable. Elle est déjà démontrée pour la maladie de von Willebrand (*m/s* n° 6, vol. 7, p. 606). Elle vient de l'être dans la rétinite pigmentaire avec

la découverte d'un allèle « zéro » dans le gène de la rhodopsine, provoquant la survenue d'une forme récessive [2]. [1. Koch M, *et al. Science* 1992 ; 257 : 797-800.] [2. Rosenfeld PJ, *et al. Nature Genet* 1992 ; 1 : 209-13.]

■■■■ **Une réaction auto-immune est vraisemblablement en cause dans l'entretien de la sclérose en plaques (SEP).** On trouve dans les lésions cérébrales et dans le liquide céphalo-rachidien des patients atteints d'une SEP en phase active de nombreux lymphocytes T qui réagissent contre des protéines de la myéline telles la protéine basique ou la protéine protéolipidique [1]. Depuis leur découverte, le problème se pose de savoir si ces lymphocytes jouent effectivement un rôle pathogène — même s'ils ne sont pas l'agent causal primitif de la maladie — ou si leur présence traduit seulement une réponse à la dégradation myélinique liée à une atteinte d'origine différente. Des expériences de transfert de lymphocytes T avaient démontré que, dans le cas de l'encéphalite allergique expérimentale, modèle murin de sclérose en plaques, l'introduction de lymphocytes T provenant d'animaux malades provoquait une atteinte myélinique centrale chez des animaux sains [2], indiquant donc une activité pathogène propre. Sacki *et al.* (Université d'Osaka, Japon) apportent aujourd'hui la confirmation qu'il en est de même dans la SEP proprement dite [3]. Ces auteurs ont transféré, dans le système ventriculaire cérébral de souris SCID, du liquide céphalo-rachidien de patients en phase active, donc contenant des lymphocytes T auto-immuns. A la suite de cette injection, les souris ont effectivement développé des atteintes fonctionnelles — paralysie, ataxie — associées à la formation de plaques de démyélinisation dans le système nerveux central. Le liquide céphalo-rachidien de patients contient donc des éléments fortement encéphalitogènes. Quoique l'on ne puisse totalement exclure qu'il s'agisse d'éléments viraux

plutôt que de monocytes, cette éventualité est rendue fort peu probable par les expériences contrôlées — qui se sont révélées négatives — dans lesquelles le liquide seul a été injecté, après élimination des cellules. La participation de monocytes et, bien que cela reste spéculatif, plus précisément des lymphocytes T auto-immuns dans l'induction des plaques de démyélinisation au cours de la SEP paraît donc vérifiée. La mise en route de traitements spécifiquement dirigés contre ces cellules — ou contre certaines de leurs sécrétions (voir *m/s* n° 1, vol. 8, p. 90) — semble donc bien une voie thérapeutique d'avenir.

[1. Ota K, *et al.* *Nature* 1990 ; 356 : 183-7.]

[2. Johnson D, *et al.* *Neuroimmunol* 1986 ; 13 : 99-108.]

[3. Sacki Y, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 6157-61.]

■■■ Une synthèse protéique a lieu dans les dendrites. Dans la conception classique du fonctionnement des neurones, le corps cellulaire assure l'essentiel de la synthèse des protéines qui sont ensuite transportées vers les différents prolongements, dendritiques ou axonaux, grâce à un adressage spécifique. Il existe cependant dans les dendrites, mais pas dans les axones, des groupes de polyribosomes dont la présence suggérerait l'existence d'une synthèse protéique propre. Torre et Stewart (University of Virginia, USA) viennent de démontrer la réalité de cette synthèse grâce à des expériences de culture neuronale *ex vivo* [1]. Pour réaliser cette démonstration, les auteurs ont mis au point une technique élégante qui permet de supprimer les corps cellulaires neuronaux et d'étudier de façon isolée les prolongements. Ils ont associé latéralement à une fine bande de filtre polycarbonate nucléopore des espaces de « matrigel »*. En ensemençant le filtre avec des neurones d'hippocampe fœtal, ils ont obtenu

des neurones dont le corps cellulaire était contenu dans le filtre et dont les prolongements, dendritiques et axonaux, poussaient au travers des pores de 3 µm du filtre dans le gel. En décollant délicatement le filtre, ils ont alors obtenu une préparation dans laquelle seuls des prolongements étaient présents. L'incubation de ces prolongements avec de la leucine tritiée leur a permis de visualiser une capture de l'acide aminé qui disparaît lorsque l'opération est réalisée en présence d'un inhibiteur de la synthèse protéique. L'identification des prolongements synthétisant des protéines comme des dendrites — alors que les axones ne sont pas des sites de synthèse — a été faite sur les mêmes préparations par immunocytochimie à l'aide d'un anticorps qui reconnaît la protéine associée aux microtubules MAP 2. La synthèse locale de certaines protéines dans les dendrites est vraisemblablement un mécanisme de polarisation neuronale complémentaire de celui réalisé par l'adressage des protéines à partir du corps cellulaire. S'il s'avérait que la synthèse dendritique concerne une population spécifique de protéines, il s'agirait d'une notion fondamentale pour la compréhension des mécanismes de la transmission synaptique car ces prolongements sont responsables, en grande partie, de la réception des influx provenant d'autres neurones.

[1. Torre ER, Stewart O. *J Neurosci* 1992 ; 12, 762-72.]

■■■ Le LIF, beaucoup d'effets biologiques et bien peu d'utilité *in vivo* ! Le LIF (*leukemia inhibitory factor*) est une cytokine aux effets extrêmement nombreux : inhibition de la différenciation des cellules souches embryonnaires, action inhibitrice sur les cellules leucémiques de la lignée myéloïde, action sur les neurones, les ostéoblastes, les adipocytes, les hépatocytes, les cellules endothéliales, etc. L'administration de grandes quantités de LIF chez l'animal adulte entraîne, d'ailleurs, de nombreux symptômes : amaigrissement, troubles du comporte-

ment, calcifications ectopiques et anomalies osseuses [1]. Le LIF est apparenté, fonctionnellement, à d'autres cytokines telles que l'IL6, l'oncostatine (*m/s* n° 5, vol. 8, p. 490) et le CNTF (*ciliary neurotrophic factor*) ; tous ces agents se fixent à des récepteurs hétérodimériques partageant une même sous-unité, la glycoprotéine transmembranaire gp130 qui est la molécule de « conversion du signal » (*signal converter*). On pouvait, par conséquent, s'attendre à ce que l'inactivation des deux gènes codant pour le LIF à la suite d'une mutagenèse insertionnelle par recombinaison homologue (*knock-out*) entraîne de multiples conséquences. Des équipes américaines du New Jersey, associées au laboratoire Hoffman-La-Roche (Bâle, Suisse) viennent de réussir à obtenir de telles souris homozygotes pour un *knock-out* du gène *LIF* : les animaux sont parfaitement viables, normalement formés, quoique leur taille soit peut-être légèrement réduite. Les mâles sont normalement fertiles. En fait, la seule anomalie réside en une stérilité des femelles, due à une non-implantation des blastocystes dans la paroi utérine [2]. Ces résultats indiquent que le rôle physiologique principal du LIF pourrait être, *in vivo*, de préparer la muqueuse utérine à l'implantation de l'embryon. De fait, on observe une importante accumulation du messenger du LIF et une synthèse de la protéine dans la paroi utérine dans les heures qui précèdent l'implantation de l'embryon. En revanche, les autres actions biologiques du LIF pourraient n'être que la conséquence de son interaction avec les récepteurs intervenant dans les voies de signalisation d'IL6, de l'oncostatine et, peut-être, d'autres cytokines. Alternativement, le LIF pourrait avoir, *in vivo*, d'autres fonctions, compensées par les autres cytokines, se fixant à des récepteurs associés à la gp130, à l'exception de la fonction dans l'implantation de l'embryon.

[1. Heath JK. *Nature* 1992 ; 359 : 17.]

[2. Stewart CL, *et al.* *Nature* 1992 ; 359 : 76-9.]

* Matrigel : préparation biologique riche en matrice extracellulaire et en divers facteurs de croissance.