

Cancer

■■■ Des cibles de la protéine Myc.

L'oncogène *Myc* peut induire l'apoptose en l'absence de coopération avec des événements anti-apoptotiques ou co-inducteurs de prolifération (*m/s n° 9, vol. 8, p. 1002*). On sait que la protéine Myc agit dans la cellule sous la forme d'un hétérodimère avec la protéine Max, ces deux sous-unités appartenant à la famille des facteurs bHLH-LZ (*basic-helix-loop-helix-leucine-zipper*). Les éléments d'ADN reconnus par l'hétérodimère sont de type CACGTG. Cependant, les véritables cibles de l'action physiologique de Myc ne sont pas encore connues avec précision. C'est dire l'importance de la description récente de deux cibles dont la nature indique comment elles pourraient relayer l'action de Myc. L'équipe de David Beach (New York, USA) montre que le gène codant pour la protéine phosphatase Cdc25A a sa transcription activée par la protéine c-Myc [1]. Cette phosphatase est un activateur des kinases liées au cycle cellulaire (complexes Cdk), notamment du complexe entre la cycline E et Cdk2. Il est probable que Cdc25A intervienne en déphosphorylant la thréonine 14 ou la tyrosine 15 de la kinase Cdk2. De ce fait, cette phosphatase est indispensable à la progression dans le cycle cellulaire et, d'ailleurs, son activité est stimulée par le sérum et les facteurs de croissance. Cependant, Cdc25A peut également intervenir dans le déclenchement de l'apoptose: l'inhibition de sa synthèse par un ARN anti-sens protège des cellules en culture de ce type de mort programmée. Il existe trois sites potentiels de fixation du complexe Myc/Max dans le promoteur du gène *Cdc25A*. De son côté, l'équipe de Robert Eisenman (Seattle, WA, USA) a isolé une cible potentielle, jusqu'alors inconnue, en utilisant une laborieuse et très

intéressante méthode. Celle-ci repose sur la purification de fragments de chromatine à l'aide d'anticorps reconnaissant les protéines Myc et Max [2]. Le but est ici d'isoler des gènes à proximité desquels le complexe Myc/Max est fixé *in vivo*. L'un de ces gènes code pour une protéine MrDb, qui possède un motif DEAD (Asp, Glu, Ala, Asp), caractéristique des hélicases de l'ARN. Le gène correspondant est induit lors de la stimulation de la prolifération de cellules par le sérum ou les facteurs de croissance, et par la protéine Myc. Ici, cependant, les relations entre cette protéine MrDb et les effets de Myc sont moins évidents que dans le cas de Cdc25A. On ne peut que spéculer sur l'éventuelle stabilisation (ou activation traductionnelle) par la protéine MrDb d'ARN messagers codant pour des facteurs impliqués dans la prolifération cellulaire. Cependant, la méthode utilisée d'immunoprécipitation de fragments de chromatine active est potentiellement extrêmement puissante pour isoler des gènes réellement contrôlés *in vivo* par des facteurs de transcription donnés. Ces deux articles laissent espérer que s'éclaire enfin, dix-sept ans après la découverte de l'oncogène *c-Myc*, le mode d'action de l'un des premiers « gènes de cancer » étudiés.

[1. Galaktionov K, *et al. Nature*. 1996; 382: 511-17.]

[2. Grandori C, *et al. EMBO J* 1996; 15: 4344-57.]

■■■ L'effet carcinogène du tabac: mutations identiques du gène *P53* par action du benzo[a]pyrène et dans les cancers bronchiques des fumeurs. Dans une nouvelle parue en 1992, nous indiquions l'intérêt de la protéine *p53* pour explorer la nature des facteurs oncogéniques dans l'environnement (*m/s n° 3, vol. 8, p. 289*); nous concluons particulièrement en indiquant que cette méthode permettrait probablement d'établir une corrélation entre la

carencé due à certains toxiques, tel le tabac, et des mutations particulières de *P53*. Cette prévision vient d'être confirmée par un article de Denissenko *et al.* (Duarte, CA, et Smithville, TX, USA). Ces auteurs observent qu'une carcinogénèse expérimentale par le Benzo[a]pyrène diol epoxyde intéresse particulièrement les guanines 157, 248 et 273 du gène *P53*. Or, ce sont là trois points chauds des mutations observées dans les cancers bronchiques qui se développent chez les fumeurs [1]. De plus, la majorité des mutations observées chez les malades sont des transversions de G vers T, ce qui est attendu pour une mutagenèse provoquée par l'addition de chaînes hydrocarbonnées aromatiques polycycliques.

[1. Denissenko MF, *et al. Science* 1996; 274: 430-2.]

Génétique

■■■ Le diagnostic prénatal précoce d'une mutation fait sur sang maternel. Le diagnostic prénatal des hémoglobinopathies est pratiqué depuis plus de 20 ans par diverses techniques. L'abord obstétrical employé a cependant deux inconvénients: un risque faible mais non négligeable pour le fœtus, le coût et la difficulté du prélèvement de trophoblastes. D'où l'intérêt des deux cas de diagnostic prénatal effectués sur sang maternel que présente le groupe de Y.W. Kan (San Francisco, CA, USA) [1]. L'existence de cellules fœtales dans le sang de la mère est connue depuis longtemps, et on l'a utilisée pour la mise en évidence d'anomalies chromosomiques ou la recherche d'un fœtus de sexe masculin. Leur purification insuffisante, la persistance éventuelle de lymphocytes fœtaux pendant des années, en a interdit l'usage pour le diagnostic de maladies monogéniques. Le processus employé par le groupe

de San Francisco est ingénieux, il repose sur des concepts simples et a pu être utilisé dès la huitième semaine de la grossesse. Après un premier enrichissement par gradient de densité, l'étape suivante est le tri cellulaire des érythroblastes, maternels et fœtaux, par des anticorps contre le récepteur de la transferrine fixés sur des billes magnétiques. Une technique d'immunofluorescence utilisant un anticorps contre la chaîne embryonnaire ζ identifie sur lame les cellules fœtales, et la dernière étape de purification est une microdissection des noyaux sous contrôle microscopique. Les auteurs ont ainsi obtenu entre 8 et 22 noyaux, transférés directement dans le tampon de PCR. Celle-ci est effectuée de façon prolongée (70 cycles), en amplifiant les deux allèles avec les mêmes amorces afin d'éviter un biais éventuel dû à l'amplification préférentielle d'un allèle [2]. Le résultat génotypique s'est avéré identique à celui des méthodes classiques et différait dans les deux cas entre la mère et le fœtus. En cas d'identité, on peut d'ailleurs envisager un contrôle par typage HLA sur les mêmes cellules. D'autres résultats doivent naturellement confirmer la fiabilité de cette méthode, précoce, non invasive et peu onéreuse, dont on peut penser qu'elle serait applicable à d'autres maladies monogéniques fréquentes.

[1. Cheung MC, *et al. Nature Genet* 1996; 14: 264-8.]

[2. Viville S, *et al. Med Sci* 1996; 12: 1378-88.]

■■■■ **Nos potes les Gitans...** Bien que les Tsiganes constituent un important groupe humain, tant par leur nombre (estimé à plus de cinq millions de par le monde) que par leur culture, peu d'études génétiques ont été consacrées jusqu'à présent aux maladies récessives qui doivent exister dans cette population à forte endogamie. Même quand ils furent contraints d'aban-

donner le nomadisme, les Tsiganes furent souvent marginalisés au sein des populations dans lesquelles ils vivaient; aujourd'hui encore, ils ne bénéficient pas toujours pleinement des services de soins des pays dans lesquels ils séjournent. Leur point de départ, ainsi que l'origine de leurs langues se situeraient au nord de l'Inde et leur nom, *athsinganos*, en grec byzantin, signifierait « ne touche pas ». Leur présence en Europe est mentionnée pour la première fois au XI^e siècle, dans les écrits d'un moine du mont Athos. Une neuropathie démyélinisante atteignant une communauté d'une centaine de personnes vivant à Lom, une petite ville au bord du Danube en Bulgarie, vient de faire l'objet d'une étude génétique [1]. Cette maladie se caractérise par un ralentissement de la vitesse de conduction nerveuse débutant dès la première décennie, évoluant vers une incapacité motrice avec aréflexie, atrophie musculaire et surdité. Par analyse de ségrégation, le locus a pu être situé en 8q24. Puis l'étude fut étendue à d'autres groupes, l'un originaire de Valachie (ancienne principauté danubienne) et parlant un dialecte différent, l'autre de religion musulmane et parlant le turc. L'analyse multipoint confirme une même localisation pour les trois communautés et l'étude des haplotypes révèle un déséquilibre de liaison, tous les malades étant homozygotes pour les marqueurs *D8S378* et *D8S529*. Étant donné l'absence apparente de liens récents entre ces trois groupes de Tsiganes (mais les différences de langues ou de religion ne peuvent constituer des preuves) et en raison des résultats de l'étude des recombinaisons d'un certain nombre de marqueurs polymorphes dans la région distale de l'haplotype (17 marqueurs furent étudiés), les auteurs supposent que la maladie a préexisté à l'implantation de ces populations dans les Balkans et que la mutation se serait produite il y a environ 800 ans. Il faudrait que les équipes australienne, anglaise, bulgare, espagnole

et grecque qui se sont associées pour réaliser cette étude recherchent cette neuropathie dans d'autres populations tsiganes que les Rom, chez des Manouches ou des Kalé par exemple, pour étayer leur hypothèse. Il leur restera ensuite à trouver un nouveau gène de myéline en 8q24. Cela n'est pas impossible: une neuropathie de Déjerine-Sottas, observée dans une famille américaine d'origine africaine et transmise en dominance cette fois, vient d'être cartographiée sur ce même locus [2], ce qui laisserait donc supposer deux types de mutations alléliques d'un même gène.

[1. Kalaydjieva L, *et al. Nature Genet* 1996; 14: 214-7.]

[2. Ionasescu VV, *et al. Muscle and Nerve* 1996; 19: 319-23.]

■■■■ **Le collagène, partenaire de la dystrophine?** Les dystroglycannes sont des éléments importants du complexe dystrophine-glycoprotéine. Le rôle de l' α -dystroglycane est de lier la laminine au sein de la matrice extracellulaire (*m/s n° 10, vol. 7, p. 1090*). Dans la dystrophie musculaire congénitale avec absence de mérosine (qui est la laminine musculaire), des mutations du gène codant pour la sous-unité α de la laminine (*LAMA2*) sont observées [1, 2]. Bien qu'on ne connaisse pas encore le mécanisme initial de la mort de la cellule musculaire dans les dystrophinopathies, le lien entre cytosquelette et matrice extracellulaire semble essentiel pour stabiliser la membrane et protéger le sarcolemme des tensions produites par la contraction musculaire. Or, il apparaît que le collagène peut lui aussi être impliqué dans le processus myopathique: des mutations dans les gènes codant pour les chaînes α du collagène de type VI viennent en effet d'être observées dans une forme rare de myopathie, la myopathie de Bethlem. Cette dystrophie musculaire bénigne, dominante autosomique, ressemble à une myo-

pathie des ceintures mais s'accompagne de contractures articulaires. Une équipe hollandaise avait d'abord exclu une liaison avec la région 5q où se trouve le locus de la dystrophie musculaire autosomique LGMD1A et, en poursuivant ses analyses de ségrégation dans six familles, elle avait trouvé une liaison avec un locus en 21q22.3, où sont localisés les deux gènes *COL6A1* et *COL6A2* [3]. Le collagène de type VI n'avait encore jamais été impliqué dans une maladie humaine mais on savait par des études au microscope électronique qu'il était un composant des structures microfibrillaires de nombreux tissus et qu'il devait avoir une fonction d'ancrage [4]. Les mutations observées ségrégent avec la maladie dans les familles et aucun des sujets bien portants et des témoins étudiés n'en sont porteurs [5]. Ce sont des mutations faux sens perturbant le motif Gly-X-Y dans le domaine de la triple hélice [6], dans les protéines COLVIA1 et COLVIA2. En outre, dans une autre famille dans laquelle la maladie ne ségrége pas avec le locus en 21q22, le gène *COL6A3* est très probablement en cause car il existe une liaison avec la région 2q37 où il se situe. Bien que la myopathie de Bethlem soit une maladie rare et peu connue, sa pathogénie, avec l'implication des gènes *COL6A* dans un processus dystrophique, mérite toute notre attention car elle suggère que le tissu conjonctif de l'endomysium (gaine conjonctive entourant chaque fibre musculaire) participe à l'ancrage des fibres musculaires et que la rupture de la membrane basale pourrait être l'élément initial du processus dystrophique.

- [1. Duclos F, *et al. Med Sci* 1995; 11: 1732-8.]
 [2. Helbling-Leckler A, *et al. Nature Genet* 1995; 11: 216-8.]
 [3. Speer MC, *et al. Hum Mol Genet* 1996; 5: 1043-6.]
 [4. Engel J, *et al. Ann Acad Sci* 1985; 460: 25-37.]

- [5. Jöpsis GJ, *et al. Nature Genet* 1996; 14: 113-5.]
 [6. Van der Rest M. *Med Sci* 1987; 3: 411-20.]

■■■ **Comment une mutation du gène des récepteurs des androgènes suffit-elle à menacer le sexe mâle?**

L'intégrité du récepteur des androgènes est nécessaire à la différenciation sexuelle mâle. Cette affirmation est illustrée principalement par l'étude des syndromes d'insensibilité aux androgènes. Ces maladies héréditaires récessives liées à l'X se manifestent, dans le cas d'insensibilité complète aux androgènes, par la formation de testicules féminisants associée à un phénotype complètement féminin. Dans le cas d'insensibilité partielle aux androgènes, le phénotype est ambigu [1]. Comme d'autres récepteurs des stéroïdes, le récepteur des androgènes possède un domaine de liaison du ligand dans la région carboxy-terminale, un domaine de liaison à l'ADN, et, dans la région amino-terminale, un domaine de transactivation impliqué dans la dimérisation et la stabilisation du récepteur. C'est dans cette région du récepteur qu'une nouvelle mutation (Glu → Lys) à l'extrémité amino-terminale a été identifiée dans une famille atteinte d'insensibilité partielle aux androgènes (au niveau de trois générations au moins), mutation due à la substitution G → A au niveau du premier exon du gène codant pour le récepteur des androgènes [2]. Les conséquences fonctionnelles de cette nouvelle mutation du récepteur ont été analysées par expression transitoire du récepteur muté dans des cellules en culture (cellules Cos), et mesure de sa capacité de liaison. Alors que les récepteurs normaux et mutés ont la même affinité pour un ligand spécifique, une légère augmentation de la vitesse de dissociation du complexe ligand/récepteur est observée dans le cas du

récepteur muté. Plus spectaculaire, en revanche, est l'effet de la mutation sur l'activité transcriptionnelle du récepteur. Cette activité (mesurée après co-transfection avec un plasmide contenant un gène rapporteur placé sous le contrôle d'un promoteur activé par les androgènes) est diminuée deux fois, tout comme l'est le niveau d'expression de la protéine mutée (estimé par immunomarquage). Ces altérations ne semblent pas liées à la quantité d'ARNm synthétisé, identique pour le récepteur muté et le récepteur normal. Enfin, l'efficacité relative de la traduction du message du récepteur muté est, elle aussi, deux fois plus faible, au moins au cours des dix premières minutes de synthèse de la protéine (dans une expérience de radiomarquage des protéines), la dégradation des récepteurs mutés et non mutés, étant par ailleurs tout à fait comparable. L'ensemble de ces observations indique clairement qu'une seule mutation au niveau du premier nucléotide en 3' du codon ATG affecte la traduction de la protéine récepteur. D'ailleurs, cette observation pouvait être attendue du fait de la très grande conservation d'une séquence consensus entourant les codons Met initiateur (^A/_CCCATGG) [3]. Cette mutation ayant pour effet de diminuer le nombre de récepteurs de 50 % suffit donc à rendre compte du phénotype d'insensibilité partielle aux androgènes observé dans la famille affectée, et confirme la notion qu'un seuil d'expression du récepteur des androgènes est essentiel à la différenciation sexuelle normale chez l'homme.

- [1. Sultan C, *et al. Med Sci* 1991; 7: 697-704.]
 [2. Choong CS, *et al. J Clin Invest* 1996; 98: 1423-31.]
 [3. Jean-Jean O, *et al. Med Sci* 1993; 9 (suppl. 11): SFG I-XI.]