

vées de l'épithélium rénal de porc, expriment en culture des niveaux de transport Na^+ -dépendant d'acides aminés et de sucres qui sont inversés pendant la phase exponentielle de croissance et la confluence. D'autres cellules, dérivées d'ovaires de hamsters chinois (cellules CHO), régulent les systèmes A et L de transport des acides aminés neutres selon la disponibilité des acides aminés dans les milieux de culture. Les manipulations génétiques ont permis d'isoler des mutants dont l'activité du système L est augmentée et non régulée ou déficiente en système L. De plus, des hybrides de cellules CHO et de leucocytes humains ont été isolés qui possèdent une activité élevée du transport de leucine, ce qui a permis de démontrer l'association du système L avec le chromosome 20 humain.

En conclusion, ce congrès a permis de présenter les données récentes qui viennent étayer la réalité physiologique et l'universalité de la théorie du gradient. Il resterait toutefois à préciser si les systèmes de co-transport peuvent à eux seuls satisfaire les exigences nutritionnelles de certaines cellules et expliquer les mécanismes d'homéostasie tels la régulation du volume ou du pH intracellulaires. D'autre part, s'il est hors de doute que les fonctions de transport couplé aux ions sont assurées par des protéines codées par des gènes spécifiques, il apparaît que l'aspect régulation n'a encore été que très peu exploré. On peut toutefois prédire un développement très rapide en ce domaine au cours des prochaines années, par l'introduction des techniques biotechnologiques. Finalement, les mécanismes moléculaires du fonctionnement se résument essentiellement à des modèles de travail dont la nature biochimique et physicochimique restent à déterminer. On peut également prédire un développement rapide dans ce domaine avec les succès obtenus dans la purification de certaines protéines dont l'identification avec le transporteur ou une partie de celui-ci semble probable. A. B.

Le clonage du Facteur antihémophilique A

Dans le numéro de *Nature* du 22 novembre 1984, quatre articles décrivaient le clonage du Facteur antihémophilique A humain ou Facteur VIII C, et son expression dans des lignées de cellules de mammifères. Cette réalisation, la plus ambitieuse de la biotechnologie à ce jour, est à mettre au crédit de deux compagnies américaines : Genentech, aidée par des chercheurs du Royal Free Hospital de Londres, et Genetic Institute, avec des chercheurs de la Mayo Clinic.

Le déficit en Facteur VIII C est la cause de l'hémophilie A, qui atteint environ 20 sujets de sexe masculin sur 100 000. Les fractions plasmatiques enrichies en Facteur VIII en sont une thérapeutique efficace. Mais, en dehors de leur coût élevé, leur injection fréquemment répétée entraîne un risque de transmission de certains virus d'hépatite et du SIDA. C'est dire avec quel enthousiasme serait accueillie une source de Facteur VIII totalement exempte de ces risques.

Dans la technique choisie par chacun des deux groupes, la stratégie du clonage exigeait la possession de protéine antihémophilique pure. Or celle-ci n'existe qu'en quantités infimes dans le plasma (200 microgrammes par litre). On a cependant réussi à la purifier grâce à l'emploi d'anticorps monoclonaux. On a analysé la séquence en

acides aminés de petits fragments de la protéine. En appliquant les données du code génétique, on en a déduit la séquence la plus probable de la partie correspondante du gène et on a synthétisé chimiquement des chaînes contenant de 15 à 50 nucléotides. Dans des conditions techniques précises, ces séquences peuvent s'apparier (on dit s'hybrider) avec des portions du gène lui-même. On a ainsi identifié des séquences appartenant au gène du Facteur VIII, à partir desquelles on a pu analyser la totalité du gène.

Les résultats obtenus font rêver. La protéine antihémophilique possède 2 332 acides aminés, dont la séquence est entièrement déduite de celle des acides nucléiques. On lui trouve des homologies avec un autre facteur de la coagulation, le Facteur V, mais aussi, de façon imprévue, avec la ceruloplasmine, protéine impliquée dans le transport du cuivre dans le plasma. Quant au gène, le plus grand encore analysé avec celui de la thyroglobuline, il occupe 0,1 % du chromosome X et s'étend sur 186 kilobases, une taille près de 100 fois supérieure à celle d'un gène de globine. Il contient 26 exons, et, sur près de 95 % de sa longueur, est constitué par des introns.

Les compagnies qui travaillent sur le Facteur VIII ont une ambition ultime, la fabrication d'un produit commercialisable. Il ne suffit pas d'analyser le gène, il faut aussi en

obtenir l'expression. On a construit pour ce faire un ADN complémentaire à l'ARN messager du Facteur VIII, présent par exemple dans le foie. Cet ADNc porte toute l'information nécessaire pour synthétiser la protéine et ne contient pas d'introns. Il a fallu ensuite, avant de l'introduire dans des lignées cellulaires permanentes, lui fournir une information supplémentaire permettant sa transcription. On y parvient en le liant à des séquences d'ADN qu'on appelle promotrices et stimulatrices.

Cette molécule complexe ainsi construite a été introduite dans des cellules en culture (cellules rénales de hamster ou de singe); elle donne naissance à une protéine à activité faible (moins de 10% de celle du plasma normal) mais ayant toutes les propriétés biologiques et immunologiques du Facteur VIII C humain.

Les conséquences à terme de ces découvertes s'annoncent considérables. Il reste bien des obstacles pratiques à surmonter. Il faudra trouver des vecteurs de l'ADNc et des systèmes de culture plus efficaces. Le Facteur VIII est fortement glycosylé, c'est pourquoi on le fait pousser sur des cellules animales alors que les systèmes bactériens, de meilleur rendement, donneraient une protéine non glycosylée. Enfin une purification complète est indispensable, pour éviter l'introduction de protéines de la culture dans la préparation, ce qui créerait des risques nouveaux. L'avenir appartient peut-être à une technique encore plus audacieuse : on devrait parvenir à préciser quelle est la plus petite partie de la protéine nécessaire à l'activité coagulante et n'insérer dans les cellules productrices que la partie du gène qui dirige la synthèse du fragment actif. On évalue, certes avec une grande approximation, à 3 à 5 ans le délai nécessaire pour qu'un produit fiable puisse être mis sur le marché en quantités suffisantes. Mais c'est d'ores et déjà avec impatience que médecins et malades attendent les résultats des premiers essais cliniques. J. C. D.

Vers la 2 000^e greffe de foie

La fin de l'année 1984 a vu se réaliser la 1 000^e transplantation hépatique. La première transplantation de foie chez l'homme a été effectuée en 1963 par T. Starzl, alors à Denver. Aux États-Unis et au Canada, 568 greffes avaient été faites au 30 juin 1984. En Europe, le nombre total à la même date s'élevait à 424 dont 70 en France. En Amérique du Nord, 269 des 568 patients greffés en 21 ans sont toujours vivants (soit 47%). Ces quelques chiffres montrent que la transplantation du foie est devenue, en 1984, un traitement accepté des maladies graves du foie. En outre, son taux de succès augmente rapidement. Ainsi, le taux de survie à 1 an des 170 premiers patients greffés par Starzl était de 32%. Depuis 1980, et surtout depuis 1982, plusieurs séries font état de taux de survie à 1 an compris entre 50 et 70%. A quoi tient cette amélioration? Une des raisons majeures est probablement l'utilisation de la cyclosporine comme immunodépresseur et la diminution du nombre de rejets. D'autres raisons, cependant, ont probablement joué aussi un rôle important : sélection des « candidats » à la greffe (dont la moitié ont moins de 18 ans), meilleure technique de conservation du foie, meilleure technique chirurgicale, portant principalement sur l'anastomose biliaire, soins pré-, per- et post-opératoires de meilleure qualité, enfin, recours accru à une seconde transplantation en cas de rejet du premier greffon.

Les meilleures indications de la transplantation hépatique en 1985 sont les atrésies des voies biliaires extra-hépatiques chez l'enfant, les maladies du foie au stade préterminal (hépatite chronique active, cirrhose post-hépatitique, cirrhose biliaire primitive) et les maladies métaboliques avec insuffisance hépatique grave, comme la maladie de Wilson ou le déficit en α_1 -antitrypsine. Des résultats moins bons ont été obtenus dans les cancers du foie, du fait des récidives. Outre son intérêt thérapeutique, la transplantation hépatique a des retombées précieuses et passionnantes pour nos connaissances, notamment en immunologie et dans le domaine des maladies métaboliques héréditaires. Un exemple spectaculaire a été une double transplantation, hépatique et cardiaque, chez une fillette de 6 ans atteinte d'hypercholestérolémie familiale majeure, avec une cholestérolémie entre 12 et 14 g/l, ayant eu plusieurs infarctus gravissimes. Elle vit actuellement normalement avec une cholestérolémie à 2,50 à 3 g/l.

Bien que de mieux en mieux acceptée, la greffe du foie ne trouvera son potentiel thérapeutique optimal que si ses indications et ses résultats sont soigneusement évalués dans un nombre limité de centres ayant entre eux une bonne coordination.

Au rythme mondial actuel d'environ 2 interventions par jour, la 2 000^e transplantation hépatique ne devrait guère tarder. S. E.