

Actualité du facteur Willebrand

Le facteur Willebrand (WF) est une glycoprotéine de grande taille et de structure multimérique, qui joue un rôle important dans l'hémostase : il intervient dans l'adhérence des plaquettes à la paroi vasculaire et dans la formation du caillot, et représente le support plasmatique du facteur VIII ou antihémophilique A. Contrairement au cas de l'hémophilie, son déficit se transmet comme un caractère autosomique. Le clonage de son ADN complémentaire, réalisé en 1985 (*m/s* n° 7, vol. 1, p. 392), l'emploi du microscope électronique et d'anticorps monoclonaux ont permis de progresser dans deux directions : la structure de la molécule normale et la compréhension de certaines formes pathologiques.

Le WF est synthétisé dans les cellules endothéliales et les mégacaryocytes avant d'être sécrété dans le plasma. Il se forme initialement un pré-propolypeptide. Le peptide signal, le propeptide, et la sous-unité mature comprennent respectivement 22, 741 et 2 050 acides aminés [1, 2], rendant compte d'une taille supérieure à 200 kDa pour le monomère. Dans le réticulum endoplasmique rugueux, la molécule se dimérise et est glycosylée. La polymérisation, accompagnée de remaniements de la copule glucidique, a lieu dans l'appareil de Golgi ; enfin, une coupure protéolytique détache le propeptide ; dans le plasma sont libérés des agrégats hétérogènes allant de 450 à 20 000 kDa, soit de un à environ 50 dimères, séparables par

électrophorèse sur gel d'agarose. Ce sont les polymères élevés qui portent l'activité biologique. L'analyse de la molécule éclaire certaines de ses propriétés (*figure 1*) [2, 3]. L'ensemble propeptide-WF comporte, sous forme répétée, deux types princi-

N-terminales que se font les contacts entre dimères, mettant en jeu à la fois des liaisons disulfures et des interactions hydrophobes. On peut penser que les interactions entre sous-unités sont réalisées par les cystéines des domaines D ; c'est la ressemblance

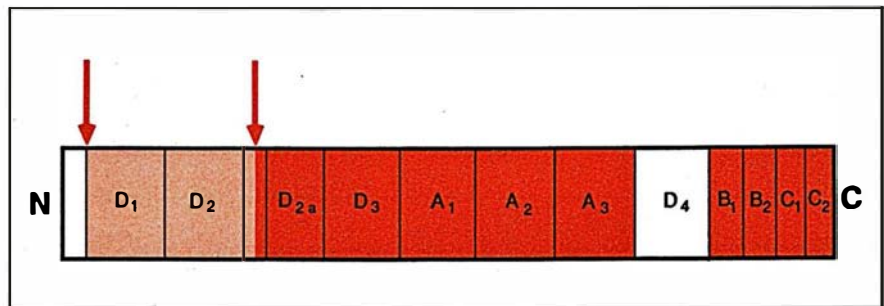


Figure 1. **Structure du facteur Willebrand.** Les flèches rouges indiquent les points de coupure du pré- et propeptide ; N = extrémité NH₂ terminale ; C = extrémité COOH terminale.

aux de domaines : le domaine A, central, répété trois fois, dépourvu de cystéine ; le domaine D, très riche en cystéine, répété quatre fois. La coupure du propeptide se fait après le domaine D2, tronqué, et la partie N-terminale du WF (D2a et D3) présente donc une homologie frappante avec le propeptide. Une répétition supplémentaire (D4) suit les domaines A, et la molécule se termine par deux domaines B et deux domaines C, beaucoup plus courts. Des études au microscope électronique [3] ont montré que les dimères sont liés à leur extrémité C-terminale par des ponts disulfure. C'est au contraire au voisinage des extrémités

entre les domaines D du propeptide et ceux du WF lui-même qui a fait penser que la partie propeptidique pourrait jouer un rôle dans les interactions des sous-unités entre elles ou des dimères entre eux.

Le défaut en WF se présente sous deux formes biologiques principales [4] : la forme I est due à une diminution du nombre des molécules dans le plasma sans anomalie qualitative apparente du WF restant ; la maladie est d'autant plus sévère que ce nombre est plus bas : variable chez l'hétérozygote, la gravité est très grande chez les rares homozygotes. A l'opposé, la forme II A se caractérise par une quantité globale

normale ou modérément abaissée du WF mais la proportion des multimères est diminuée. On a décrit également d'autres formes, moins bien étudiées jusqu'à présent.

Par quels mécanismes pourrait être empêchée la formation de multimères stables dans la forme II A de la maladie de Willebrand ? On peut faire l'hypothèse soit d'anomalies de la formation des multimères, soit d'une trop grande rapidité de leur dégradation. Plusieurs publications récentes illustrent ces deux possibilités. Un travail de Gralnick *et al.* de 1985 [5], confirmé par d'autres auteurs, suggérerait le rôle vraisemblable d'une protéolyse trop rapide chez plusieurs malades atteints du type II A : le prélèvement du plasma en présence de leupeptine, inhibiteur d'une protéase activée par le calcium, permet de diminuer nettement la perte des multimères. Tout récemment Levene *et al.* [6] ont étudié la biosynthèse du WF dans une culture de veine ombilicale après césarienne chez l'enfant d'une femme présentant des saignements abondants. Au cours des deux premières heures suivant la mise en culture, la taille de la sous-unité synthétisée et l'assemblage des multimères sont normaux. Mais après six heures les multimères diminuent, et il s'accumule un polypeptide de 170 kDa témoignant d'une protéolyse accélérée. Cet excès de protéolyse est dû à une anomalie de la molécule du WF, non encore identifiée, comme le montrent des expériences croisées, mettant en présence du WF normal et des cellules du malade et réciproquement.

Particulièrement intéressantes sont les expériences de Verweij *et al.* [7] qui utilisent un système d'expression pour la protéine WF en transfectant une lignée cellulaire de rein de singe (COS) avec un ADNc complet de WF [2, 7]. Ce système produit la protéine et assemble correctement les dimères et multimères. Les auteurs

ont ensuite pratiqué dans l'ADNc une délétion de 2 220 paires de base, éliminant le propeptide mais conservant la séquence signal. Cette protéine mutée est exprimée par les cellules COS mais ne dépasse pas le stade de dimère. On en conclut que la présence du propeptide est inutile à la formation du dimère, mais indispensable à celle du multimère. Les proprotéines ne sont donc pas seulement des intermédiaires obligatoires de la biosynthèse de nombreuses protéines, mais leur présence peut être exigée pour l'assemblage correct des sous-unités entre elles. Des mutations du propeptide ou de la partie N-terminale du WF pourraient ainsi être cause d'une élimination trop rapide du propeptide, à l'origine peut-être de certaines formes de type IIA.

Jean-Claude Dreyfus

RÉFÉRENCES

1. Titani K, Kumar S, Takio K, *et al.* Amino acid sequence of human von Willebrand factor. *Biochemistry* 1986 ; 25 : 3171-84.
2. Bonthron DT, Handrin RI, Kaufman RJ, *et al.* Structure of pre-pro-von Willebrand factor and its expression in heterologous cells. *Nature* 1986 ; 324 : 270-3.
3. Fretto LJ, Fowler WO, McCaslin DR, Erickson HP, McKee PA. Substructure of human von Willebrand factor. *J Biol Chem* 1986 ; 261 : 15679-89.
4. Ruggeri ZM, Zimmerman TS. Variant von Willebrand disease. *J Clin Invest* 1980 ; 65 : 1318-25.
5. Gralnick HR, Williams SB, McKeown LP, *et al.* In vitro correction of the abnormal multimeric structure of von Willebrand factor in type IIA von Willebrand disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985 ; 82 : 5968-72.
6. Levene RB, Booyse FM, Chediak J, *et al.* Expression of abnormal von Willebrand factor by endothelial cells from a patient with type IIA von Willebrand disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 6550-4.
7. Verweij CL, Hart M, Pannekoek H. Expression of variant von Willebrand factor cDNA in heterologous cells : requirement of the pro-polypeptide in vWF multimer formation. *EMBO J* 1987 ; 6 : 2885-90.

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ L'existence de « *enhancers* » localisés dans un intron ou en aval de gènes vient d'être démontrée dans quatre nouveaux exemples. Dans les gènes de collagène de souris et de troponine I (une protéine myofibrillaire) de caille, le *enhancer* est localisé dans le premier intron [1, 2] ; il est en revanche en aval du gène, à quelques centaines de bases du site de polyadénylation, pour les gènes β -globine de poulet et d'homme et pour le gène de l'histone H5 de poulet [3, 5]. On connaissait déjà les exemples de l'hormone de croissance et des gènes d'immunoglobuline qui possèdent un *enhancer* intronique. Dans tous ces cas, les *enhancers* sont spécifiquement actifs dans certains types seulement de cellules différenciées.

- [1. Rossi P, Crombrughe B. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 5590-4.]
- [2. Konieczny SF, Emerson CP. *Mol Cell Biol* 1987 ; 7 : 3065-75.]
- [3. Emerson BM, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 4786-90.]
- [4. Koliass G, *et al.* *Nucleic Acids Res* 1987 ; 15 : 5739-47.]
- [5. Trainor CD, *et al.* *Nature* 1987 ; 326 : 827-9.]

■■■ Il existe, dans les 9 observations de cancer pulmonaire à petites cellules analysées de cette manière, une perte d'allèles du bras court du chromosome 3. Cette anomalie est associée à de nombreuses aberrations cytogénétiques. Le bras court du chromosome 3 a déjà été impliqué dans d'autres cancers humains : le cancer rénal et le mélanome. Cette observation confirme que le phénomène de perte de matériel génétique, associé à l'activation d'oncogènes, pourrait être constant dans les cancers.

- [Naylor SL, *et al.* *Nature* 1987 ; 329 : 451-4.]