

Déficits immunitaires liés à l'X. Détection des femmes transmettrices

L'immunodéficience combinée sévère constitue un groupe hétérogène de maladies de pronostic très grave, dans lesquelles la fonction des lymphocytes T est déficiente. Elle peut être due à l'absence d'activité de deux enzymes du métabolisme des purines, la purine nucléoside phosphorylase et l'adénosine désaminase, dont le mode de transmission est récessif autosomique. Le rapport des fréquences garçons/filles est de quatre à un, suggérant que 60 % des cas

blastés de hamster chinois [2]. Une méthode plus rapide a été récemment mise au point en Angleterre [3], qui utilise directement de l'ADN de lymphocytes T concentrés. Ces travaux ont permis de développer considérablement les recherches antérieures consacrées à l'analyse clonale. Cette méthode s'est montrée d'emblée très prometteuse en cancérologie pour déterminer si une tumeur dérive ou non d'une cellule unique. La méthode utilisée dans les premiers

toute sa progénie; (b) on peut distinguer les gènes d'origine maternelle et paternelle par leurs RFLP, à condition que ceux-ci soient informatifs; (c) l'activité de certains gènes est liée au type de méthylation de résidus cytosine, qui peut être analysé par des enzymes de restriction appropriées. En pratique, l'analyse requiert l'utilisation d'un gène porté par le chromosome X et de deux endonucléases: la première distingue la copie maternelle du gène de la copie paternelle par leurs RFLP; la deuxième distingue, grâce à l'enzyme HpaII qui mesure la méthylation à des sites connus, gènes actifs et inactifs. L'inactivation de l'X se faisant au hasard, on trouvera dans la population normale à la fois des cellules à X paternel et maternel actifs. Si, au contraire, la population est monoclonale, les cellules d'origine maternelle seront ou toutes actives ou toutes inactives. Pour se donner plus de chances de trouver une hétérozygotie, on utilise deux gènes, HPRT et phosphoglycérate kinase (PGK). Avec le gène de cette dernière enzyme, l'enzyme BstXI montre, en cas de polymorphisme, deux bandes de 1,05 et 0,90 kb (figure 1). Sur le fragment isolé par BstXI se trouvent huit sites de méthylation HpaII, tous méthylés (donc résistants à HpaII) sur l'allèle inactif et non méthylés (donc coupés par HpaII) sur l'allèle actif. La bande provenant de l'allèle actif disparaît donc. Une femme normale, avec inactivation au hasard de l'X, montre deux bandes, avant comme après action de HpaII. Si, au contraire, un X est systématiquement inactivé, la bande qui lui correspond reste seule visible et une seule bande persiste après HpaII. C'est ce qui se produit chez les femmes porteuses du gène de l'immunodéficience; la raison en est que les précurseurs des lymphocytes T, bien qu'initialement présents, sont

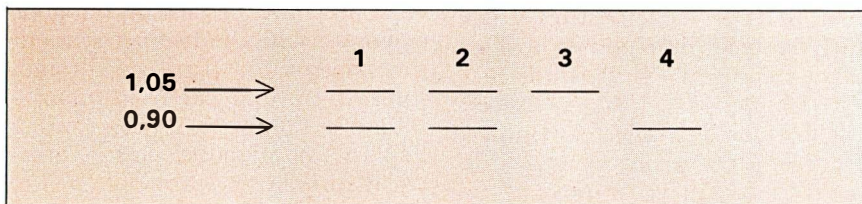


Figure 1. **Analyse de l'inactivation de l'X** (modifié d'après [3]). Piste 1: avant action de HpaII. Pistes 2 à 4: après HpaII. Piste 2: femme normale. Pistes 3 et 4: transmettrices du déficit. On trouvera une analyse plus détaillée de cette expérience dans *m/s* n° 5, vol. 4, p. 278 et dans la figure 5, p. 279.

sont liés au sexe. Le locus responsable sur le chromosome X a été récemment localisé en Xq11-Xq13, ce qui permet une reconnaissance des hétérozygotes et un diagnostic prénatal dans un certain nombre de cas [1]; mais dans beaucoup de familles les données que l'on possède ne suffisent pas à établir le mode de transmission. Un abord plus général a été proposé, en employant une méthode basée sur l'analyse de l'inactivation de l'X dans les lymphocytes T chez les femmes supposées transmettrices, qui ne présentent elles-mêmes aucune anomalie immunologique. L'identification des chromosomes X, actifs et inactifs, a d'abord été pratiquée sur des hybrides somatiques entre cellules T humaines et fibro-

travaux qui visaient à identifier des clones dans des affections liées à l'X se basait sur le polymorphisme de la glucose 6 phosphate déshydrogénase, permettant, chez des femmes hétérozygotes, de savoir si un seul des allèles était exprimé. Mais le nombre des sujets susceptibles d'entrer dans ce cadre est très limité. En 1985 Vogelstein *et al.* [4] ont proposé une méthode générale, utilisant conjointement les polymorphismes de restriction (RFLP) et les modes de méthylation de gènes portés par le chromosome X.

La base conceptuelle comporte trois principes [5]: (a) un seul X est actif dans chaque cellule somatique de la femme, et le modèle d'inactivation d'une cellule donnée est transmis à

► incapables d'arriver à maturation. Le chromosome porteur de la tare est présent mais systématiquement inactivé. Puck *et al.* [2], puis Goodship *et al.* [3] ont ainsi pu, d'une part, distinguer les cas d'hérédité liée à l'X de ceux qui sont autosomiques, et d'autre part dépister les femmes hétérozygotes dans les familles à risque.

A côté de ce remarquable travail, la même méthode a permis de reconnaître les femmes porteuses du trait dans une autre anomalie immunologique liée au chromosome X, l'agammaglobulinémie liée au sexe, dans laquelle le défaut porte sur le développement des lymphocytes B, et où l'analyse doit donc employer exclusivement de l'ADN extrait des cellules B [6]. Elle pourra aussi s'appliquer à d'autres syndromes immunologiques liés au sexe, comme le syndrome de Wiscott-Aldrich (McKusick 30100): cette affection qui comporte un eczéma, des infections, une thrombocytopenie et un déficit immunitaire, présente une inactivation systématique d'un X, comme on l'a montré par le polymorphisme de la glucose 6 phosphate déshydrogénase.

J.-C. D.

1. Saint-Basile G (de), Arveiler B, Oberlé I, *et al.* Close linkage of the locus for X chromosome-linked severe combined immunodeficiency to polymorphic DNA markers in Xq11-q13. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 7576-9.
2. Puck JM, Nussbaum RL, Conley ME. Carrier detection in X-linked severe combined immunodeficiency based on patterns of X chromosome inactivation. *J Clin Invest* 1987; 79: 1395-400.
3. Goodship J, Malcolm S, Lau YL, Pembley ME, Levinsky RJ. Use of X chromosome inactivation analysis to establish carrier status for X-linked severe combined immunodeficiency. *Lancet* 1988; i: 729-32.
4. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Feinberg AP. Use of restriction fragment length polymorphisms to determine the clonal origin of human tumors. *Science* 1985; 277: 642-5.
5. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, *et al.* Clonal analysis using recombinant DNA probes from the X-chromosome. *Cancer Res* 1987; 47: 4806-13.
6. Fearon ER, Winkelstein JA, Civin CI, Pardoll DM, Vogelstein B. Carrier detection in X-linked agammaglobulinemia by analysis of X-chromosome inactivation. *N Engl J Med* 1987; 316: 427-31.

Et maintenant, le (ou les) récepteur(s) des androgènes

Tout le laissait supposer, et l'étonnement venait de ce que la nouvelle n'arrivait pas : les gènes et les ADNc codant pour le ou les récepteurs des androgènes devaient être isolés ! Deux équipes publient, simultanément, un tel résultat dans le numéro de *Science* daté du 15 avril 1988. Toutes deux ont utilisé comme sondes des oligonucléotides synthétisés d'après la région C conservée des récepteurs nucléaires (la région C est responsable de la liaison aux éléments d'ADN caractéristiques des différents types de réponses hormonales). Le groupe de l'institut Ben May (Chicago, IL, USA) a d'abord isolé des clones d'ADNc de banques préparées à partir des messagers de testicule humain et de prostate de rat ; ceux des clones initialement isolés qui hybridait avec des sondes spécifiques d'autres récepteurs de la famille (récepteurs des glucocorticoïdes et des minéralocorticoïdes notamment) ont été éliminés. Parmi les clones restants, certains correspondaient à un gène lié au chromosome X et ayant le potentiel de coder pour des protéines de 76 et 94 kDa ; cette dernière, dont la séquence a été déduite de celle d'un ADNc de rat, est plus longue du côté N-terminal que la protéine de 76 kDa. La protéine synthétisée *in vitro* sous la direction d'une copie ARN des clones d'ADNc liait spécifiquement les androgènes, particulièrement la 5-dihydrotestostérone qui est l'hormone naturelle. Au point de vue structure, le récepteur des androgènes présente l'homologie maximale avec le récepteur de la progestérone (79 % d'homologie pour la région C, 55 % pour la région E de fixation de l'hormone), et une homologie seulement un peu faible avec les récepteurs des gluco-

corticoïdes et des minéralocorticoïdes.

L'autre article est co-signé par des chercheurs de Chapell Hill (Caroline du Nord, USA) et de Toronto (Ontario, Canada) qui ont utilisé une stratégie légèrement différente [2]. Des travaux anciens avaient localisé le récepteur des androgènes sur le chromosome X, près du centromère. La maladie connue sous le nom de « testicule féminisant » semble due à l'absence de récepteurs fonctionnels et est liée à l'X. Les auteurs ont donc d'abord criblé une banque génomique construite à partir de chromosomes X purifiés par tri chromosomique en cytométrie de flux. Puis, à l'aide d'un oligonucléotide synthétisé d'après la séquence de la région du gène située immédiatement en amont de la région C, des clones d'ADNc ont été isolés à partir de banques utilisant comme matériel de départ les ARN de testicule ou de fibroblastes de prépuce.

Les données structurales obtenues par les deux équipes sont convergentes. Le second article indique, de plus, que l'espèce majoritaire d'ARN, détectée dans les tissus qui synthétisent le récepteur, a 9,6 kilobases de bases et que le gène est localisé entre le centromère du chromosome X et la bande q13 [2].

Outre le clone codant pour le récepteur des androgènes (RA), l'équipe de Chicago a isolé un second type de clone d'ADNc appelé TR-2, non codé par l' X [1].

A.K.

1. Chang C, *et al.* *Science* 1988; 240: 324-6.
2. Lubahn DD, *et al.* *Science* 1988; 240: 327-31.