

■■■ Des souris transgéniques modèles de l'atteinte hépatique des déficits humains en  $\alpha_1$  antitrypsine. L' $\alpha_1$  antitrypsine est une protéine hépatique dont il existe, chez l'homme, plusieurs variantes moléculaires différant les unes des autres par la mutation d'un seul acide aminé. Les trois formes moléculaires les plus fréquentes sont codées par les allèles  $P_i^M$  (95 % des gènes),  $P_i^S$  (3 %) et  $P_i^Z$  (2 %). Les homozygotes ZZ contiennent une très faible concentration de protéine  $P_i^Z$  circulante et, en revanche, l'accumule dans le foie. La mutation (glu→lys en position 342) n'altère pas l'activité antiprotéolytique de la protéine  $P_i^Z$ , dont le taux de synthèse est, par ailleurs, normal (*m/s n° 3, vol. 3, p. 181*). Les mécanismes normaux de transport à travers le réticulum endoplasmique et la sécrétion de l' $\alpha_1$  antitrypsine  $P_i^Z$  sont cependant perturbés, ce qui conduit à son accumulation dans le foie et, pense-t-on, à des anomalies hépatiques : une hépatite néonatale observée chez 15 % des homozygotes ZZ et, chez 25 % d'entre eux, une maladie choléstatique, puis une cirrhose rapidement évolutive, mortelle avant l'âge de huit ans. Nous avons rendu compte il y a deux ans des premiers succès obtenus dans la création de souris transgéniques exprimant le gène humain d' $\alpha_1$  antitrypsine (*m/s n° 6, vol. 3, p. 368*). Des chercheurs américains de La Jolla et Los Angeles (CA) et de Cold Spring Harbor (NY) viennent de montrer que des souris transgéniques synthétisant de très grandes quantités de protéines  $P_i^Z$  ont des hépatites néonatales très voisines de ce qui est observé chez les homozygotes ZZ. En revanche, d'autres lignées exprimant le transgène à un plus faible niveau ne présentent pas de signes histologiques anormaux, ce qui démontre bien la relation existant entre l'importance de l'accumulation intra-hépatocytaire de la protéine et les conséquences pathologiques. Dans le même sens va la constatation que des souris transgéniques exprimant à un très fort niveau l'allèle  $P_i^M$  mais ne l'accumulant pas dans les cellules,

ne présentent que de minimes anomalies histologiques au niveau du foie. Les souris  $P_i^Z$  malades ont un retard de croissance très important, qui est rattrapé progressivement pour disparaître à 80 jours de vie, ce qui rappelle la situation observée chez l'homme. Des observations ultérieures indiqueront si un certain pourcentage des souris ayant une hépatite néonatale développeront une cirrhose, ce qui rapprocherait encore le modèle murin de la maladie humaine. [1. Dycalco MJ, *et al. Science* 1988 ; 242 : 1409-12.]

■■■ Réparation d'une molécule mutée d' $\alpha_1$ -antitrypsine par addition d'une seconde mutation. La forme la plus commune de déficit en  $\alpha_1$ -antitrypsine ( $\alpha_1$ -AT) est due au mutant Z sous sa forme homozygote. Le remplacement d'un acide glutamique en position 342 (sur 394 acides aminés en tout) a comme conséquence, non une impossibilité de la synthèse, mais un blocage au niveau du réticulum endoplasmique qui entraîne une insuffisance de sécrétion dans le plasma sanguin (*voir m/s n° 3, vol. 3, p. 181*). Or l'analyse cristallographique de la protéine normale suggère que Glu 342 forme un pont salin avec une lysine en position 290, adjacente dans l'espace, pont qui disparaît chez le mutant. Brantly *et al.* (Bethesda et Strasbourg) ont fait l'hypothèse que si telle était bien la cause des troubles, on pourrait « guérir » la molécule en recréant le pont salin à partir du mutant, cette fois en remplaçant la lysine 290 par un acide glutamique. Ils ont préparé [1] trois ADNc, un témoin, un de type Z, un portant les deux mutations 342 Glu → Lys et 290 Lys → Glu. Après insertion dans un vecteur d'expression, les ADNc ont été utilisés pour transfecter une lignée de cellules COS I (lignée de rein de singe vert transformée par SV 40, qui n'ex-

prime pas l' $\alpha_1$ -AT spontanément). Les trois variants ont produit une protéine de 52 kDa ; mais les cellules contenant le variant Z ne sécrétaient que 25 % de l' $\alpha_1$ -AT par rapport au témoin comme au variant « guéri ». Il est donc possible, en créant une deuxième mutation sur la protéine, de supprimer les effets du mutant délétère, en rétablissant la configuration normale de la molécule. Un bémol doit cependant être apporté à une conclusion aussi formelle : la seule mutation 290 Lys → Glu sur une  $\alpha_1$ -AT normale, qui devrait provoquer le même déséquilibre, n'empêche pas la sécrétion de la protéine [2]. Le résidu Lys 342 garde donc une importance primordiale. [1. Bantly M, *et al. Science* 1988 ; 242 : 1700-2.] [2. Foreman RC. *FEBS Lett* 1987 ; 216 : 79-82.]

■■■ L'anti-oncogène Rb... se comporte en effet comme un anti-oncogène. Rb code pour une protéine qui serait absente ou anormale dans la majorité des rétinoblastomes et dans les ostéosarcomes (*m/s n° 8, vol. 4, p. 520*). Le locus Rb (ou RB... selon les auteurs), en 13q14, est génétiquement modifié dans les formes familiales de la maladie. La démonstration définitive que Rb est un anti-oncogène exigeait que fût observée sous une influence une suppression de la tumorigénicité de cellules cancéreuses ayant une altération de ce gène. Ceci vient d'être rapporté par l'équipe de La Jolla (CA, USA) qui avait déjà cloné le gène [1]. L'ADNc complémentaire Rb a été mis sous le contrôle du promoteur et du *enhancer* d'un rétrovirus et, dans un vecteur rétroviral, a été transféré à des cellules de rétinoblastome et d'ostéosarcome n'ayant pas de protéine Rb. Les cellules ainsi modifiées perdirent leur tumorigénicité et furent à l'origine de clones cellulaires exprimant de façon stable la protéine

## ■■■ BRÈVES ■■■

Rb [1]. En revanche, l'expression de l'ADNc Rb dans des cellules tumorales sans altération de l'anti-oncogène endogène Rb ne modifia pas le potentiel prolifératif de ces cellules. Ces résultats sont très importants car, sur le plan théorique, ils valident la notion de gène « suppresseur de cancer » et, sur le plan pratique, démontrent la faisabilité d'une stratégie de « guérison » de la cellule cancéreuse par apport d'une substance ou d'une information génétique antiproliférative.

[1. Huang HJS, *et al. Science* 1988 ; 242 : 1563-6.]

■■■ L'apport alimentaire de sel détermine l'hypertrophie du ventricule gauche chez l'hypertendu. Chez 42 hypertendus essentiels, Schmieder *et al.* [1] ont analysé les corrélations entre le degré d'hypertrophie ventriculaire gauche (mesurée par échographie) et différentes variables : l'épaisseur de la paroi du ventricule gauche est fortement reliée à l'apport alimentaire en sel (apprécié par l'excrétion urinaire quotidienne de sodium), alors que d'autres paramètres comme la pression artérielle diastolique, l'hématocrite, l'adrénaline ou la rénine plasmatique ont peu ou pas d'influence. Des observations antérieures ont montré que la restriction stricte en sel peut diminuer la masse ventriculaire gauche chez l'hypertendu. Ces résultats concordent parfaitement avec ceux du groupe d'A Mimran (présentés aux Journées d'Hypertension artérielle, 1988, sous presse) : chez 41 hypertendus, la masse ventriculaire gauche est positivement corrélée à l'excrétion sodée urinaire. Les mécanismes qui relient l'apport alimentaire de sel et la masse ventriculaire gauche chez l'hypertendu restent mal connus.

[1. Schmieder RE, *et al. Circulation* 1988 ; 78 : 951-6.]

m/s n° 3 vol. 5, mars 89

## Système rénine-angiotensine et hypertension artérielle (suite)

Récemment, le clonage moléculaire du gène de la rénine humaine et de son ADN complémentaire, grâce aux techniques issues de la biologie moléculaire, a permis d'acquérir de nouvelles connaissances sur la régulation de l'expression de ce gène, et sur la biosynthèse et la sécrétion de la rénine. Ces progrès sont résumés dans l'article de synthèse de Dzau *et al.* [1] Le gène de la rénine a une taille d'environ 12,5 kb (kilobases). Chez l'homme, il comporte dix exons et neuf introns (alors que chez le rat et la souris, il ne contient que neuf exons). L'exon supplémentaire trouvé chez l'homme (exon 5A) code seulement pour trois acides aminés et sa fonction est mal connue. Entre les différentes espèces étudiées, il y a une grande homologie de séquence dans la région bordante 5'. Dans cette région du gène humain, deux *TATA boxes* ont été localisées ; ces séquences sont bien conservées dans toutes les espèces et représentent probablement des éléments du promoteur du gène de rénine. Chez les rongeurs, la déplétion sodée, la stimulation  $\beta$ -adrénergique ou l'ischémie rénale augmentent les taux d'ARN messager de la rénine dans le rein ; en revanche, les androgènes et les œstrogènes n'augmentent pas l'ARN messager rénal (alors que l'expression est accrue dans d'autres tissus). En l'absence de modèle cellulaire *ex vivo* reproduisant la production rénale de rénine, c'est la technique des souris transgéniques qui devrait permettre de préciser les éléments d'ADN responsables de ces différentes réponses du gène à ses effecteurs.

La plupart des protéines importantes du système rénine-angiotensine ont été aujourd'hui clonées. Soubrier *et al.* [2] viennent d'effectuer le clonage moléculaire de l'ADNc codant pour

l'enzyme de conversion humaine (responsable de la transformation de l'angiotensine I en angiotensine II). Cette enzyme a deux sites catalytiques potentiels mais seul l'un des deux domaines doit être actif puisque un seul atome de zinc se lie à la molécule d'enzyme de conversion. La séquence de l'ADN complémentaire de l'enzyme suggère que le gène résulte d'une duplication. Il existe probablement un seul gène par génome haploïde humain, codant pour les différentes formes d'enzyme de conversion : l'enzyme plasmatique dériverait de l'enzyme présente dans les cellules vasculaires endothéliales ; en revanche, l'enzyme testiculaire est synthétisée sous la forme d'une chaîne peptidique plus courte. L'ARN messager de l'enzyme testiculaire (3 kb) et l'ARNm de l'enzyme endothéliale (4,3 kb) proviendraient d'un épissage différentiel du transcrit du gène.

Ces progrès ouvrent la voie à l'étude des mécanismes génétiques qui contrôlent le système rénine-angiotensine et qui pourraient être à l'origine des hypertensions artérielles familiales [3].

J.-P.-G.

1. Dzau VJ, Burt DW, Pratt RE. Molecular biology of the renin-angiotensin system. *Am J Physiol* 1988 ; 255 : F563-73.

2. Soubrier F, Alhenc-Gelas F, Hubert C, *et al.* Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 9386-90.

3. Corvol P, Jeunemaitre X, Plouin PF, Cambien F, Soubrier F. Approche de l'hypertension artérielle familiale par la génétique moléculaire. *Actualités Néphrologiques de l'Hôpital Necker*. Paris : Flammarion, 1989 (sous presse).