

Dystrophine : le charme discret d'une délétion

Le record de la taille d'une délétion moléculaire ayant pour conséquence clinique une dystrophie de Becker vient d'être battu. Récemment, une équipe anglaise a en effet décrit le cas d'un patient dont les doléances restent très mineures puisqu'à 61 ans, celui-ci a conservé une bonne autonomie de marche [2]. Le remaniement génique responsable de cette dystrophie de Becker familiale est une délétion du gène de la dystrophine d'environ 700 kilobases, correspondant sur le plan transcriptionnel à 31 exons, soit environ la moitié de la séquence protéique ! Cette délétion survient au sein d'un domaine constitué de 26 unités répétées, homologues à celles de la spectrine (figure 1) et dont 15 ont ici été amputées (figure 2). Un tel remaniement dans cette région protéique avait déjà été décrit à l'origine d'une symptomatologie très mineure, faite de crampes et de myalgies [3], sans toutefois atteindre cette taille inhabituelle. L'analyse d'une biopsie musculaire d'un autre membre de la famille, également atteint, révèle effectivement une protéine d'environ 200 kilodaltons (pour une taille normale de 427 kDa). La fonction de la protéine tronquée ainsi que les contacts qu'elle doit lier avec d'autres glycoprotéines membranaires [1] semblent donc préservés. Les implications d'une telle observa-

tion sont doubles, cognitives et pratiques.

• **Cognitives tout d'abord** ; en 1988, Monaco et al. [5] proposaient une élégante hypothèse pour expliquer l'absence de corrélation entre la taille, la localisation des nombreuses

délétions observées — plus de la moitié des cas de dystrophies de Duchenne (DMD) et de Becker (BMD) sont en effet dus à une délétion moléculaire intragénique — et le phénotype clinique qui en résulte. Cette hypothèse suppose qu'une délé-

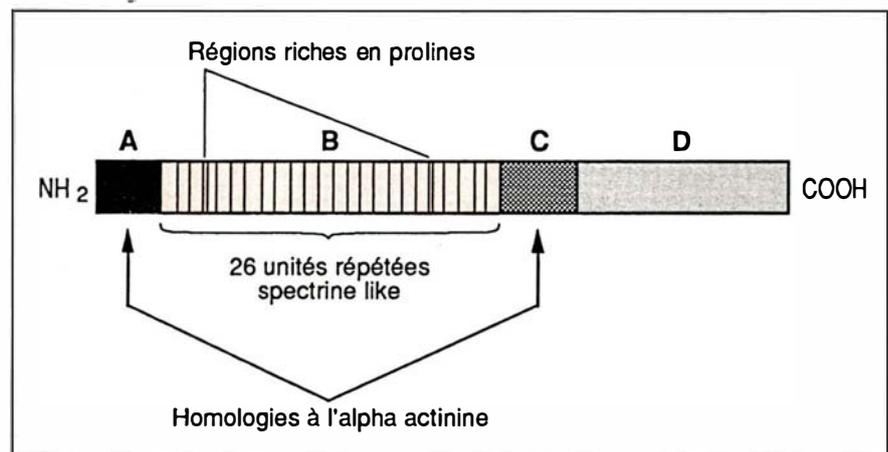


Figure 1. **Représentation générale de la dystrophine.** Les quatre domaines sont annotés de quatre lettres (A, B, C, D). La région aminoterminale possède de fortes homologies avec le domaine de liaison à l'actine de l' α -actinine. Le second domaine comprend 26 unités répétées proches de celles de la spectrine. La troisième région est riche en cystéine, on y retrouve une homologie avec la partie carboxyterminale de l' α -actinine. Le dernier domaine, enfin, n'est homologue à aucune protéine connue à ce jour.

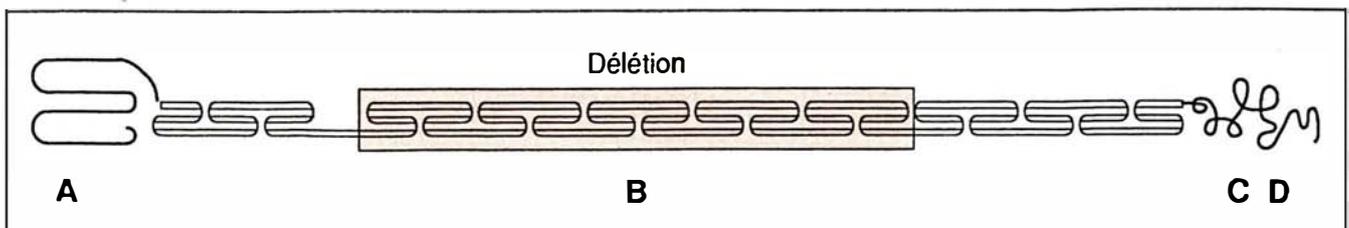


Figure 2. **Structure secondaire de la dystrophine.** La délétion dépistée chez le patient est encadrée.

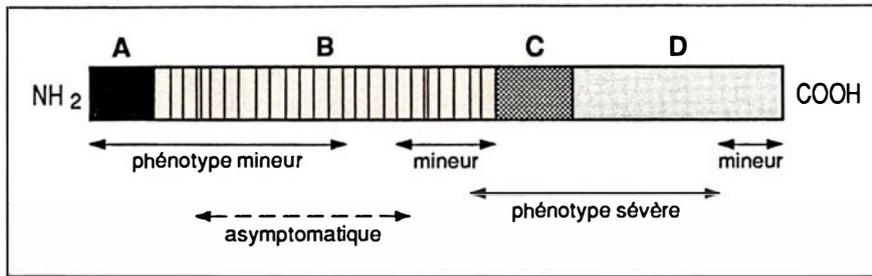


Figure 3. **Corrélations symptomatologie/altérations de la protéine.** Des différentes délétions qui ne perturbent pas le cadre de lecture, on peut déduire, selon la symptomatologie qui leur correspond, les domaines essentiels de la protéine. On voit ici que seules la région riche en cystéine et la partie proximale du domaine carboxyterminal sont essentielles à un fonctionnement minimal. (D'après Koenig et al., Am J Hum Genet 1989.)

tion perturbant le cadre de lecture protéique entraîne un phénotype sévère, alors qu'une même mutation maintenant ce cadre est à l'origine d'un phénotype mineur. Ce modèle a été vérifié dans 92 % des cas et Koenig *et al.* [4], en comparant les délétions portées par des cas de DMD et les délétions ne décalant pas le cadre de lecture a proposé une représentation fonctionnelle de la protéine (figure 3). Les 8 % restants constituent des exceptions à la théorie de Monaco. Certaines d'entre elles sont des délétions à l'origine de phénotypes DMD ne décalant pas le cadre de lecture. L'hypothèse généralement admise pour expliquer ce type d'exception est un remaniement délétionnel trop important pour conserver une quelconque fonction protéique. On voit par l'observation rapportée ici d'une énorme délétion entraînant un phénotype « Becker » qu'il n'existe pas de règle pour ces exceptions et l'on peut suggérer que certaines de ces délétions en phase entraînent, par leur localisation, et non pas par leur taille, des modifications de la structure secondaire de la dystrophine, susceptibles d'entraîner sa déstabilisation.

• **Pratiques ensuite :** en effet, une thérapie somatique avait déjà été proposée par Partridge *et al.* [6] qui avaient, avec succès, mis à profit les capacités de fusion des cellules musculaires en injectant des précurseurs myoblastiques normaux à des souris mdx dont le muscle est déficient en

dystrophine. Ainsi, les myotubes formés par la fusion des myoblastes donneurs avec les cellules myogéniques hôtes synthétisent cette protéine. Cependant, la taille du transcrite du gène DMD (14 kb) rendait difficile une thérapie génique somatique, utilisant l'ADNc dystrophine sous le contrôle d'un promoteur spécifique du muscle. Grâce à l'observation rapportée ici, on peut désormais envisager la construction de vecteurs ne contenant qu'une portion, réduite de moitié, de l'ADNc dystrophine, suffisante néanmoins à assurer une fonction protéique minimale.

H.G.

1. Campbell KP, Kahl SD. Association of dystrophin and an integral membrane glycoprotein. *Nature* 1989 ; 338 : 259-62.
2. England SB, Nicholson LVB, Johnson MA, *et al.* Very mild muscular dystrophy associated with the deletion of 46 % of dystrophin. *Nature* 1990 ; 343 : 180-2.
3. Gospe SM, Lazaro RP, Lava NS, Groot-scholten PM, Scott MO, Fischbeck MD. Familial X-linked-myalgia and cramps : a non-progressive myopathy associated with a deletion in the dystrophin gene. *Neurology* 1989 ; 39 : 1277-80.
4. Koenig M, Beggs AH, Moyer M, *et al.* The molecular basis for Duchenne versus Becker muscular dystrophy : correlation of severity with type of deletion. *Am J Hum Genet* 1989 (sous presse).
5. Monaco AP, Kunkel LM. Cloning of the Duchenne/Becker muscular dystrophy locus. *Adv Hum Genet* 1988 ; 17 : 61-98.
6. Partridge TA, Morgan JE, Coulton GR, Hoffman EP, Kunkel LM. Conversion of mdx myofibers from dystrophin-negative to -positive by injection of normal myoblasts. *Nature* 1989 ; 337 : 176-9.

■■■ **Inhibition de l'angiogenèse par un peptide biologique dérivé des plaquettes.** *m/s* a déjà insisté sur l'importance de l'angiogenèse, notamment au cours des processus tumoraux (n° 5, vol. 4, p. 318). Ce n'est que récemment que l'on a pu mettre en évidence des protéines endogènes capables de s'opposer à l'angiogenèse, et d'abord une protéine de 140 kDa isolée du rein de hamster (*m/s* n° 7, vol. 5, p. 516). Une équipe de Boston [1] a récemment démontré les propriétés inhibitrices de peptides dérivés d'une protéine des plaquettes (facteur 4). Cette protéine est libérée des plaquettes lors de leur agrégation, sous forme d'un complexe associé à du chondroïtine-sulfate, et présentant une forte affinité pour l'héparine. Maione *et al.* ont obtenu du facteur 4 recombinant dans le colibacille, et montré son pouvoir inhibiteur de l'angiogenèse dans le test de la membrane chorio-allantoïque du poulet et sur des cultures de cellules endothéliales de veine ombilicale humaine. Ce peptide est actif sous sa forme native de 70 acides aminés, mais aussi en employant les 13 acides aminés C-terminaux qui possèdent l'affinité pour l'héparine. En revanche, la partie N-terminale est complètement inactive. Le facteur 4 n'est pas cytotoxique car on peut restituer les propriétés de prolifération des cellules par apport de milieu frais. On ne sait pas encore si le facteur joue un rôle physiologique, mais les auteurs espèrent surtout découvrir un effet thérapeutique, antiprolifératif et anticancéreux, de la part des peptides qu'on peut en détacher. Les protéines dotées d'un pouvoir angiostatique, comme les protamines, sont toxiques ; on peut espérer que ces nouveaux peptides, provenant d'une protéine endogène, le seront moins et, de plus, ne seront pas immunogènes.

[1. Maione TE, *et al.* *Science* 1990 ; 247 : 77-9.]

■■■■ **De nouvelles pistes pour le traitement des réactions inflammatoires.** L'interleukine-1 (IL-1) est un important intermédiaire de l'inflammation. Libérée par les monocytes et les macrophages en réponse à une agression tissulaire, l'IL-1 entraîne toute une série de réponses cellulaires allant de la libération de prostaglandine et de protéase à l'augmentation de la production d'interleukine-2 (IL-2) et de son récepteur par les lymphocytes T. Le contrôle de la synthèse d'IL-1, et par conséquent de la réaction inflammatoire, semble principalement transcriptionnel. Cependant, comme pratiquement toujours en biologie, il existe un autre niveau de régulation de la stimulation des récepteurs d'IL-1 que la production de cette interleukine. Un inhibiteur de l'action d'IL-1 a été isolé de monocytes stimulés par des complexes antigènes-anticorps. L'ADN complémentaire de cet inhibiteur a pu être cloné ; il a le potentiel de coder pour une protéine de 152 acides aminés qui se fixent avec une forte affinité sur les récepteurs d'IL-1, mais ne les stimulent pas. Il s'agit par conséquent d'un antagoniste des récepteurs [1, 2]. Il est probable que cet inhibiteur naturel synthétisé par les monocytes préalablement stimulés puisse rétrocontrôler le signal inflammatoire engendré par la production d'IL-1. L'on peut envisager de développer toute une stratégie thérapeutique fondée sur l'utilisation d'antagonistes fonctionnellement équivalents à celui qui vient d'être décrit, administrés sous une forme galénique permettant d'aboutir à une bonne biodisponibilité. En réalité, comme cela est général lorsqu'il s'agit de reproduire en thérapeutique l'effet d'une substance peptidique, c'est probablement là qu'auront à être résolus les problèmes les plus difficiles. Nul doute que les laboratoires responsables de cette recherche (Synergen, Boulder, CO, USA) s'emploient

d'ores et déjà à trouver des solutions [1]. Par ailleurs, une équipe de *Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals* (Ridgefield, CT, USA) vient d'identifier une cible importante de la réaction inflammatoire bronchique au cours de la crise d'asthme. Il s'agit de la protéine ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule 1*) qui intervient dans l'adhérence et la migration des éosinophiles au cours de la crise d'asthme. Des anticorps monoclonaux dirigés contre ICAM-1 atténuent considérablement l'hyper-réactivité bronchique après stimulation. L'expression de ICAM-1 par les cellules de l'endothélium bronchique est augmentée lors de la réaction inflammatoire et sous l'action de l'IL-1, du TNF et de l'interféron gamma. De la même manière qu'il est possible d'interrompre la réaction inflammatoire par un blocage en amont, au niveau de la stimulation des récepteurs IL-1, peut-être est-il possible d'atténuer ses conséquences à l'aide de substances inhibant l'interaction de ICAM-1 avec des éosinophiles [3].

[1. Hanoune CH, *et al. Nature* 1990 ; 343 : 336-40.]

[2. Eisenberg SP, *et al. Nature* 1990 ; 343 : 341-6.]

[3. Wegner CD, *et al. Science* 1990 ; 247 : 456-9.]

■■■■ **Le R82 150, un dérivé TIBO à forte activité contre la réplication d'HIV-1.** Il existe plusieurs stratégies pour parvenir à l'identification de molécules actives sur les virus du SIDA. Une approche consiste à partir des renseignements accumulés sur la biologie du virus, afin d'imaginer des produits actifs sur des cibles bien identifiées ; des molécules d'antiprotéase, destinées à s'opposer à la maturation protéolytique des protéines de la membrane virale, ont ainsi été récemment produites et testées, avec des résultats *in vitro* intéressants. L'autre approche, plus traditionnelle en

recherche pharmacologique, consiste à cribler, sans idées préconçues, des centaines ou des milliers de molécules dont disposent les laboratoires. C'est à une stratégie de ce type, menée par des chercheurs de Louvain (Belgique) associés aux équipes de recherche de la Fondation Janssen (Beerse, Belgique et Spring House, MA USA) que l'on doit une description récente d'une molécule qui est *in vitro*, le plus puissant inhibiteur de la réplication d'HIV-1 qui ait été décrit à ce jour. Environ 600 composés ont ainsi été testés parce qu'ils n'étaient pas toxiques pour l'animal de laboratoire ni pour les cellules en culture, et que l'on ne leur avait pas assigné de propriété pharmacologique particulière. Une de ces molécules se révéla être douée d'une activité anti-HIV-1, faible mais certaine. Il s'agit d'un composé tricyclique azoté (TIBO) qui a été le chef de file d'une famille de molécules obtenue en modifiant variablement des radicaux latéraux. L'un des produits de ces modifications se révéla posséder une activité antirépliquative sur HIV-1 environ cinq fois supérieure à celle de l'AZT. Cette molécule (R82 150) ne semble toxique ni sur l'animal d'expérience, ni sur les cellules en culture. Le mode d'action semble être d'inhiber la transcriptase inverse du virus. Contrairement à l'AZT, le dérivé TIBO étudié ici semble inactif sur HIV-2. C'est par conséquent avec impatience que l'on attend maintenant le résultat des premiers essais cliniques de cette molécule qui pourrait se révéler l'un des plus puissants produits antiviral utilisable dans le SIDA. L'absence d'efficacité sur HIV-2 fait cependant craindre, que du fait de sa variabilité génétique, HIV-1 puisse lui aussi échapper à ce produit, par exemple grâce à des modifications de sa transcriptase inverse.

[Powelse R. *Nature* 1990 ; 343 : 470-4.]