

Les souris transgéniques exprimant l'antigène HBs du virus de l'hépatite B : un modèle des phénomènes immunopathologiques des hépatites

Nous terminions la nouvelle de *médecine/sciences* consacrée, en janvier 1986 (*m/s*, n° 1, vol. 2, p. 48), à la création de souris transgéniques exprimant l'antigène HBs, par le paragraphe suivant : « L'absence de conséquences pathologiques de la production chronique d'antigène HBs chez les souris transgéniques peut être due à une barrière d'espèce (le virus humain étant inoffensif chez la souris), à l'absence de réplication virale (la production isolée d'antigène HBs étant sans effet), ou à la tolérance immunologique (l'agression hépatique chez l'homme étant le résultat d'une réponse immune inappropriée). Cette dernière hypothèse pourrait être bientôt testée en traitant les animaux exprimant l'antigène HBs par des anticorps ou des cellules T d'animaux témoins immunisés contre l'antigène humain. » Moins rapidement que nous ne le prévoyions, cela a, en fin de compte, été réalisé par les équipes américaines associées de F.V. Chisari (Scripps Clinic, La Jolla, CA), R.L. Brinster (Philadelphia, PA), R.D. Palmiter (Seattle, WA) et O. Kanagawa (Laboratoires Lilly, La Jolla, CA) [1]. Les animaux transgéniques pour une construction dans laquelle la région S et les régions pré-S1 et pré-S2 [2] étaient placées sous le contrôle du promoteur et du enhancer du gène albumine ne présentaient aucune symptomatologie particulière. L'injection de sérum hyperimmun ou de cellules cytotoxiques T CD8+ provenant d'un animal syngénique non transgénique immunisé contre l'antigène HBs par infection avec un virus recombinant de vaccine contenant la région codante pour HBs provoquait

une cytolysse hépatique uniquement chez les souris transgéniques ; cette cytolysse était dépendante de la dose d'anticorps ou de la quantité de cellules administrées. Un clone particulier de cellules cytotoxiques (CTL), dirigées contre le fragment peptidique 21-40 d'HBs, suffisait à provoquer une cytolysse.

Ce modèle s'avérera extrêmement précieux pour analyser plusieurs aspects de l'immunopathologie de l'hépatite B : quel est le rôle respectif des lésions dues aux anticorps anti-HBs et aux cellules T cytotoxiques ? Existe-t-il une modulation de l'effet cytotoxique en fonction des allèles du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) présentant tel ou tel épitope peptidique ? Une thérapeutique immunosuppressive ou immunomodulatrice est-elle envisageable ? Cet exemple renforcera par ailleurs l'intérêt des chercheurs académiques ou des laboratoires pharmaceutiques pour les souris transgéniques comme modèles de maladies humaines, et donc comme précieux outils d'investigations physiopathologiques et thérapeutiques. En gardant cependant toujours en mémoire que, quelle que soit sa valeur, un tel modèle animal ne reproduira jamais exactement les conditions de l'affection humaine.

A.K.

1. Moriyama T, Guilhot S, Klopchin K, et al. Immunobiology and pathogenesis of hepatocellular injury in hepatitis B virus transgenic mice. *Science* 1990 ; 248 : 361-4.
2. Pourcel C. Souris transgéniques pour le génome du virus de l'hépatite B. *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 626-37.

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ De la démence des boxeurs à la maladie d'Alzheimer. La démence des boxeurs (*dementia pugilistica*) s'accompagne de lésions cérébrales qui ressemblent à celles rencontrées dans la maladie d'Alzheimer. Cette maladie est caractérisée par la présence dans les lésions cérébrales d'une substance amyloïde composée de protéine β ou A4. Allsop *et al.* [1] ont étudié les cerveaux de huit boxeurs, à l'aide d'une méthode immunohistochimique utilisant deux anticorps dirigés contre la protéine β . Dans 3 cas sur 8, seulement après prétraitement par l'acide formique, des lésions de dégénérescence neurofibrillaire, prédominant dans le cortex temporal, sont mises en évidence et fixent les anticorps anti-protéine β . La coloration par le rouge Congo qui détecte l'amylose, confirme les résultats de l'étude immunohistochimique. La plupart des neurofibrilles positives sont des structures « nues » autour desquelles les neurones ont complètement dégénéré. De même, après traitement par l'acide formique, des lésions en plaque ressemblant aux plaques séniles de la maladie d'Alzheimer sont observées et fixent également les antisérums anti-protéine β , dans 7 cas sur 8. L'immunoréactivité positive semble limitée aux cas avec un grand nombre de lésions neurofibrillaires avancées. Il n'y a pas eu d'étude chimique des paires de filaments en hélice qui constituent la dégénérescence neurofibrillaire, mais les résultats disponibles peuvent suggérer que ces filaments sont identiques à ceux de la maladie d'Alzheimer et sont composés de protéine amyloïde β . Cependant le dépôt de cette substance n'est ni diffus ni constant dans la *dementia pugilistica*. Deux explications peuvent être avancées : 1) les filaments sont bien composés de protéine β , mais les épitopes de la protéine β sont cachés, recouverts par un matériel amorphe ; il faut le prétraitement par l'acide formique pour les révéler ; 2) les paires de filaments en hélice

seraient constituées en fait de protéine τ , d'ubiquitine ou d'autres protéines ; les épitopes de protéine β se déposeraient à la surface des neurofibrilles dégénérées, exposées au milieu extracellulaire. L'analyse chimique des filaments hautement purifiés permettra de répondre aux questions qui se posent encore.

[1. Allsop D, *et al.* *Am J Pathol* 1990 ; 136 : 255-9.]

■■■ **L'hydroxyurée augmente la synthèse d'hémoglobine fœtale chez les sujets drépanocytaires.** L'hydroxyurée est un agent cytostatique utilisé dans le traitement de leucémies humaines. Elle est capable de provoquer une augmentation, variable selon les cas, de la production d'hémoglobine fœtale ; le mécanisme de cette action est inconnu. Des chercheurs du NIH de Bethesda (MD, USA) viennent d'évaluer l'influence de l'hydroxyurée sur la concentration d'hémoglobine fœtale et les paramètres hématologiques de 10 malades atteints de drépanocytose homozygote [1]. Chez 7 d'entre eux, la proportion d'hémoglobine fœtale augmenta de 1-2 % avant traitement à 3-12 % après traitement, provoquant une diminution de la falciformation des globules rouges placés à basse pression en oxygène et une légère amélioration de l'hémolyse et de l'anémie, cette dernière observée malgré la myélosuppression imputable à l'hydroxyurée. Les bases moléculaires de l'amélioration sont l'action de l'hémoglobine fœtale $\alpha_2\gamma_2$ sur la précipitation de l'hémoglobine S $\alpha_2\beta_2$ et la légère diminution de la concentration de cette dernière du fait de son remplacement très partiel par des molécules d'hémoglobine fœtales non porteuses de la mutation β^s . Des essais cliniques indiqueront si l'hydroxyurée a réellement une place dans le traitement de la drépanocytose.

[1. Rodgers GP, *et al.* *N Engl J Med* 1990 ; 322 : 1037-45.]

Un modèle de polyneuropathie amyloïde créé par transgénèse

Maladie autosomique dominante caractérisée par des dépôts extracellulaires de protéine amyloïde et une neuropathie périphérique, la polyneuropathie amyloïde familiale (FAP) est une maladie sévère apparaissant chez l'adulte jeune et évoluant progressivement vers la mort. A ce jour, malgré la découverte d'une liaison génétique entre cette maladie et une mutation du gène de la transthyréline ou pré-albumine (TTR) [1], protéine sérique produite dans le foie et les plexus choroïdes, la compréhension des mécanismes impliqués dans le développement des signes cliniques reste limitée et il n'existe aucune thérapeutique. C'est dire l'importance de la création de modèles animaux de cette maladie, tant sur un plan fondamental que clinique. Kazunori Shimada *et al.* (Kumamoto, Japon) ont, dans cette optique, créé des souris transgéniques portant le gène TTR muté (val-met en position 30) [2]. Dans une première série d'expériences, 0,6 kb des séquences 5' du gène humain ont été utilisées pour contrôler l'expression du gène muté. Dans la seconde, les séquences régulatrices de la méthallothionéine ont été choisies afin de créer des modèles exprimant de façon plus importante la FAP. Ces souris expriment précocement la TTR mutée, mais le dépôt de substances amyloïdes ne survient qu'entre 6 et 12 mois, selon le niveau d'expression du transgène, reproduisant ainsi la latence observée chez l'homme entre l'apparition des symptômes et l'expression du gène muté. Une telle latence suggère l'intervention d'autres facteurs et, de fait, comme cela est observé chez l'homme [3], d'autres molécules — tel le composant P de la substance amyloïde sérique (SAP)

— sont trouvées dans les dépôts amyloïdes murins présents dans l'intestin, le cœur, les reins et de nombreux autres organes. Il est à noter qu'aucun dépôt amyloïde n'est observé dans les nerfs périphériques et que, par conséquent les modèles obtenus restent imparfaits. Ils sont cependant d'ores et déjà intéressants pour tester des thérapeutiques susceptibles de retarder ou d'empêcher le dépôt de TTR et de SAP et pour comprendre les mécanismes à l'origine de la latence entre l'expression du gène muté et l'apparition des signes cliniques. Des souris « doubles transgéniques » portant, le gène SAP et le gène TTR muté, devraient sur ce point apporter de précieux renseignements. En outre, des souris transgéniques pour le gène TTR muté comportant 6 kb de séquences régulatrices 5' ont aussi été produites dans l'espoir d'obtenir des niveaux d'expression et des lieux de synthèse de la protéine plus proches de ceux observés chez l'homme et de constituer ainsi des modèles encore plus performants de polyneuropathie amyloïde familiale.

P.B.

1. Tawara S, Nakazato M, Kangawa K, Matsuo H, Araki S, *et al.* Identification of amyloid prealbumin variant in familial amyloidotic polyneuropathy (Japanese type). *Biochem Biophys Res Commun* 1983 ; 116 : 880-8.
2. Shimada K, Maeda S, Murakami T, *et al.* Transgenic mouse model of familial amyloidotic polyneuropathy. *Mol Biol Med* 1989 ; 6 : 333-43.
3. Skinner M, Sipe JD, Yood RA, Shirahama T, Cohen AS. Characterization of P-component (AP) isolated from amyloidotic tissue: Half-life studies of human and murine AP. *Ann NY Acad Sci* 1982 ; 389 : 190-8.