

Le seul antigène HLA du trophoblaste humain serait l'antigène HLA G

Le paradoxe immunologique apparent qui fait que la mère ne rejette pas un fœtus constitué pour moitié de protéines étrangères n'est que partiellement résolu [1]. Parmi les causes évoquées figure l'absence, totale ou presque, des antigènes HLA de classe I dans le trophoblaste. Cependant, si les antigènes majeurs, HLA A, B et C paraissent en effet manquer, certaines couches du trophoblaste réagissent, par exemple, avec l'anticorps monoclonal MAG W6 32 qui reconnaît l'ensemble des déterminants de classe I. Rappelons que les antigènes de classe I sont formés d'une chaîne α de 44 kDa, sont très polymorphes, et se combinent à une chaîne invariante de 12 kDa, la β 2 microglobuline ; cette association est nécessaire à la stabilité de l'antigène à la surface des cellules.

On a récemment [2, 3] isolé et caractérisé trois antigènes mineurs, appelés HLA E, F et G. Ils sont présents en quantité très faible et leur taille est d'environ 40 kDa, leur molécule étant tronquée à l'extrémité C-terminale. S. Kovats, *et al.* [4] (Madison, WI, et San Francisco, CA, USA) ont recherché l'expression de ces antigènes mineurs dans le trophoblaste. La couche la plus externe, en contact direct avec le sang maternel, ne fixe pas l'anticorps MAG W6 32, mais la couche située immédiatement au-dessous, couche des cellules souches dites cytotrophoblastes, réagit avec lui. Les gènes de HLA E, F et G ont été isolés à partir d'un mutant d'une souche lymphoblastoïde humaine, dont on avait, par mutagenèse dirigée, éliminé les antigènes majeurs. C'est l'antigène HLA G sur lequel s'est focalisée la recherche. Comme on ne dispose pas encore d'un anticorps spécifique, on précipite les cellules LCL 221 de la lignée mutée, marquées à la méthionine

radioactive, par l'anticorps MAG W632, puis on fait une révélation après séparation électrophorétique en deux dimensions ; on détecte ainsi un chapelet de bandes séparées par leur charge électrique. La constatation essentielle est que les cytotrophoblastes du premier trimestre de la grossesse montrent la même image que les cellules LCL 221. Cette image est intense, et s'affaiblit beaucoup en fin de gestation. L'expression de HLAG a été retrouvée dans certaines lignées (mais non dans toutes) provenant de choriocarcinomes dérivés de tumeurs d'origine trophoblastique. On n'en trouve pas, en revanche, dans des cellules B ou T, des fibroblastes ou des lignées hépatocytaires. D'autres auteurs, Wei et Orr (cité dans [4]), en ont montré l'absence dans les autres tissus humains. Enfin la comparaison des électrophorèses provenant de 13 fœtus différents ne donne aucune indication de polymorphisme. L'ensemble des résultats conduit Kovats *et al.* à conclure que la présence d'antigènes HLA dans le trophoblaste est liée à celle d'HLA G, et à suggérer un rôle de cet antigène — qui probablement n'est pas polymorphe — dans les interactions fœto-maternelles. Malheureusement, la découverte récente faite par Zijlstra *et al.* (*m/s* n° 6, vol. 6, p. 592 de ce numéro) montrant que des souris rendues déficientes en β 2 microglobuline, et donc en antigènes de classe I, peuvent se développer normalement, jette un doute sur tous les travaux antérieurs concernant le rôle des antigènes de classe I dans l'embryogenèse. Cela n'empêche peut-être pas, néanmoins, l'antigène HLA G de jouer un rôle dans les conditions normales où l'ensemble des HLA est présent.

J.C.D.

1. Chaouat G, Szekeres-Bartno J, Menu E, *et al.* Immunologie de la relation materno-fœtale. *médecine/sciences* 1989 ; 5 (suppl) : 20-6.
2. Geraghty DE, Koller BH, Orr HT. A human major histocompatibility complex class I gene that encodes a protein with a shortened cytoplasmic segment. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 9145-9.
3. Shimizu Y, Geraghty DE, Koller BH, Orr HT, De Mars R. Transfer and expression of three cloned human non-HLA A, B, C class I major histocompatibility complex genes in mutant lymphoblastoid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 227-31.
4. Kovats S, Main EK, Librach C, *et al.* A class I antigen, HLA-G, expressed in human trophoblasts. *Science* 1990 ; 248 : 220-3.

■■■■ BRÈVE ■■■■

■■■■ **Obésité et nature des fibres musculaires.** Les muscles sont composés de deux types de fibres musculaires, dites fibres lentes et fibres rapides. Les premières sont très riches en mitochondries et ont donc un métabolisme oxydatif très intense ; elles utilisent bien les acides gras comme source d'énergie. Les fibres rapides, surtout chez le sujet sans entraînement sportif, sont avant tout glycolytiques et possèdent peu de mitochondries. Deux équipes londoniennes (GB) viennent de démontrer qu'il existait une relation inverse entre la proportion de fibres lentes dans un échantillon du muscle vaste latéral du quadriceps (proportion qui peut varier, selon les individus, de 13 à 96 %) et la teneur en graisse de sujets ayant une vie sédentaire. Reste, si ces résultats sont confirmés, à apprécier le déterminisme de la proportion respective des fibres lentes et rapides dans les muscles.

[1. Wade AJ, *et al.* *Lancet* 1990 ; 335 : 805-8.]

■■■ L'expression du gène de souris *Ren-2* chez des rats transgéniques provoque l'apparition précoce d'une importante hypertension contrôlée par le captopril, inhibiteur de l'enzyme de conversion, et donc liée à la conversion massive d'angiotensine I en angiotensine II (Mullins *et al.*, Heidelberg, RFA) [1]. Ce résultat est en accord apparent avec le mécanisme d'action supposé de la rénine qui, synthétisée dans le rein, agit dans la circulation en transformant l'angiotensine I en l'agent hypertenseur angiotensine II. Mais, comme on l'observe chez de nombreux malades hypertendus, la concentration plasmatique de rénine chez ces rats transgéniques est très faible et le mécanisme de cette hypertension fulgurante reste obscur. Le gène *Ren-2* est normalement transcrit dans les reins et les glandes sous-maxillaires de souris où il produit une protéine salivaire, sécrétée non glycosylée, qui ne participe pas à la régulation de la pression artérielle. Une très faible expression est aussi trouvée dans les testicules et les surrénales. Ce gène n'existe pas chez le rat et l'homme. C'est le gène *Ren-1* qui assure, dans toutes ces espèces, la production dans le rein d'une rénine active. De façon surprenante, l'introduction d'une séquence *Ren-2* dans des embryons de rats et de souris ne conduit pas à un même profil d'expression. Chez plusieurs lignées de souris, il est identique au profil *Ren-2* endogène [2] (présence de messages en quantité abondante dans les glandes sous-maxillaires et les reins), alors que chez le rat transgénique, l'expression, très importante dans les surrénales et les reins, n'est pas détectable dans les glandes sous-maxillaires. Il faut noter que dans ces dernières, le gène rénine endogène (*Ren-1*) n'est pas transcrit et l'on peut donc suspecter qu'il n'existe pas de facteurs transcriptionnels susceptibles

d'activer le transgène. A ces lieux d'expression différents d'un même transgène correspondent des phénotypes différents : seuls les rats développent une hypertension. Celle-ci n'est pas liée à une augmentation de rénine plasmatique ; au contraire, la synthèse de rénine dans le rein est significativement diminuée chez ces animaux, probablement en réponse à l'hypertension. Seule la prorénine se trouve en quantité élevée, mais son rôle dans l'hypertension n'a jamais été démontré. Alors, comment expliquer l'hypertension des rats transgéniques *Ren-2* ? Doit-on l'attribuer à la synthèse abondante de prorénine dans les surrénales qui serait à l'origine d'une surproduction de stéroïdes ? On pourrait expliquer alors l'absence d'hypertension chez les souris transgéniques *Ren-2* par la beaucoup plus faible expression du transgène dans cet organe. Vient à l'appui de cette hypothèse, l'excrétion élevée d'aldostérone chez les rats exprimant le transgène. Outre l'intérêt de ce modèle pour la compréhension des mécanismes en cause dans le développement d'une hypertension, la production de rats transgéniques ouvre le champ à la création de modèles animaux mieux adaptés que la souris à la physiologie expérimentale, en particulier cardiovasculaire. [1. Mullins J, *et al.* *Nature* 1990 ; 344 : 541-4.] [2. Mullins J, *et al.* *EMBO* 1989 ; 8 : 4065-72.]

■■■ Démonstration, par transgénèse, d'une relation directe entre chromosome Philadelphie et leucémie. Dans les leucémies humaines, le chromosome Philadelphie, résultat d'une translocation réciproque t(9; 22), est fréquemment observé et utilisé comme marqueur diagnostique. Récemment, un modèle murin de leucémie myéloïde chronique fut créé par greffe de cellules médullaires

murines préalablement infectées par un rétrovirus recombinant contenant le gène hybride humain *bcr-abl* formé au niveau de la translocation (9; 22) (*m/s* n° 4, vol. 6, p. 401). L'intervention directe du gène de fusion *bcr/abl* qui code pour une protéine p190 autophosphorylable, à activité tyrosine kinase augmentée par rapport à celle de la protéine Abl, vient d'être prouvée par transgénèse. Heisterkamp *et al.* (Los Angeles, CA, USA) ont placé la séquence *bcr/abl* sous la dépendance du promoteur de la métallothionéine et obtenu des souris transgéniques qui développent des leucémies aiguës myéloïdes et lymphoblastiques ayant beaucoup d'analogies avec la phase blastique des leucémies myéloïdes chroniques décrites chez l'homme, en particulier avec, dans certains cas, des infiltrations du système nerveux central. Ces leucémies sont polyclonales, la majorité des lymphoblastes ayant des gènes des immunoglobulines (chaînes lourdes et légères kappa) en configuration germinale. Cette association d'une leucémie myéloïde et d'une lymphoïde, conforte l'hypothèse de l'existence d'un précurseur commun qui pourrait être affecté par la protéine *bcr/abl* p190, forme de la protéine hybride fréquemment observée dans les leucémies aiguës à chromosome Philadelphie. Le caractère d'emblée aigu de la leucémie pourrait être dû à l'expression précoce du transgène dans un grand nombre de types cellulaires. En conclusion, ces résultats prouvent la relation directe entre présence du chromosome Philadelphie et leucémie et fournissent un modèle complémentaire du modèle précédemment décrit, permettant de tester *in vivo* des protocoles thérapeutiques efficaces sur la phase blastique des leucémies myéloïdes chroniques. [1. Heisterkamp N, *et al.* *Nature* 1990 ; 344 : 251-3.]

■■■ **Inhibition spécifique de l'oncogène c-myc réarrangé par un oligonucléotide antisens.**

Lors du réarrangement de l'oncogène *c-myc* dans le lymphome de Burkitt [1], une translocation survient entre le chromosome 8 et l'un des chromosomes (2, 14, 22) contenant les gènes d'immunoglobuline. La cassure passe souvent dans le premier intron de l'oncogène *c-myc* qui donne ainsi un transcrit composé, après maturation, des exons 2 et 3 précédés d'un fragment de longueur variable dérivé de l'intron 1. Ce fragment ne peut être excisé puisque le site donneur (5') de l'intron a disparu. Plusieurs équipes américaines de Bethesda (MD) et Raleigh (NC) viennent de montrer qu'un oligonucléotide complémentaire de cette séquence d'origine intronique inhibait la prolifération de cellules appartenant à des lignées dérivées de lymphomes de Burkitt, mais pas celle de cellules n'ayant pas de réarrangement du gène *c-myc* [2]. Ces effets sur la prolifération cellulaire étaient corrélés à une diminution de la quantité de protéine Myc dans les cellules normales. Les problèmes de biodisponibilité et de ciblage vers des cellules particulières étant réglés, il est sûr que l'approche thérapeutique utilisant les ARN antisens aura un grand avenir dans les maladies infectieuses et tumorales.

[1. Kaplan JC, Sjaznert MF. *médecine/sciences* 1985 ; 1 : 17-23.]

[2. McManaway ME, et al. *Lancet* 1990 ; 335 : 808-11.]

■■■ **Le cytomégalovirus code pour des récepteurs potentiels appartenant à la famille des récepteurs couplés aux G-protéines.**

Malgré son très grand génome de plus de 230 kb, le cytomégalovirus (CMV) a vu son ADN être totalement séquencé par une équipe du MRC de Cambridge (Grande-Bretagne). Il contient au moins 200 gènes, dont trois semblent coder pour des molécules appartenant à la famille des récepteurs liés aux G-protéines : l'analyse informatisée de

leur séquence nucléotidique prédit en effet que la protéine correspondante a sept segments intramembranaires, une extrémité N-terminale extracellulaire et une extrémité C-terminale intracellulaire [1]. Certaines positions très caractéristiques de cette famille de récepteurs sont conservées dans les protéines de ces gènes de CMV.

On comprend bien en quoi une telle synthèse de récepteurs par les cellules infectées par le CMV pourrait, via des G-protéines et des systèmes effecteurs variés, profondément perturber le métabolisme cellulaire. La nature des ligands éventuels des protéines réceptrices reste en revanche inconnue. Il se pourrait d'ailleurs, comme cela est commun pour des oncogènes (*v-erb B*, *neu*, *v-fms*, par exemple), que ces molécules activent les systèmes effecteurs indépendamment de tout signal.

On peut aussi faire l'hypothèse que de telles protéines virales pourraient jouer un rôle dans la perception de signaux indéterminés activant dans la cellule le cycle lytique d'un virus latent. Cet exemple renforce la diversité des mécanismes par lesquels les agents infectieux peuvent interférer avec l'homéostasie cellulaire [2].

[1. Chee MS, et al. *Nature* 1990 ; 344 : 744-7.]

[2. Ross FM. *Nature* 1990 ; 344 : 707-8.]

■■■ **Souris transgéniques et test de l'immunogénicité des protéines recombinantes.**

Le génie génétique appliqué à la production de polypeptides d'intérêt biologique est capable de modifier la structure des molécules naturelles afin de tenter d'en améliorer certaines propriétés et d'en augmenter l'efficacité thérapeutique. Ce faisant, cependant, il est possible de modifier l'immunogénicité d'une protéine naturelle, et donc d'induire la production d'anticorps chez les malades recevant ce produit. Des chercheurs du laboratoire Genentech (San Francisco, CA, USA) ont eu l'idée d'utiliser des souris transgéniques

pour tester cette éventualité. La technique consiste à créer tout d'abord des animaux transgéniques synthétisant la protéine humaine naturelle (l'activateur tissulaire du plasminogène, par exemple). Les souris considèrent la protéine humaine comme l'un de leurs constituants propres et ainsi ne développent ainsi pas d'anticorps contre elle. Le produit modifié est alors injecté à ces animaux. Si la modification a changé son antigénicité, les souris s'immuniseront contre lui.

[Stewart TA, et al. *Mol Biol Med* 1989 ; 6 : 275-81.]

■■■ **L'ablation de la moitié du pancréas est-elle dangereuse à terme ?**

En 1977, l'université du Minnesota entreprit un programme de transplantation d'hémipancreas (en fait la moitié distale) à des receveurs atteints de diabète de type I. Chez vingt-huit donneurs sains, les auteurs [1] ont tenté de déterminer les conséquences à moyen terme de cette ablation, en comparant les paramètres du métabolisme glucidique avant et un an après l'intervention. Les examens ont porté sur : hyperglycémie provoquée, mesure en continu de la glycémie sur 24 heures, dosage de l'insulinémie et de l'excrétion urinaire du peptide C comme test de la sécrétion insulinaire. On a constaté une détérioration de la tolérance au glucose et de la sécrétion d'insuline (Tableau I). Les différences sont statistiquement significatives mais dans aucun cas on n'a observé de valeurs franchement anormales. Chez huit des donneurs, revus après plusieurs années, il n'y avait pas aggravation. Il faut néanmoins poursuivre la surveillance de ces donneurs pour vérifier qu'ils ne deviennent pas diabétiques à long terme, d'autant que, pour des raisons de compatibilité HLA, ils étaient apparentés aux receveurs, eux-mêmes diabétiques.

[1. Kendall DM. *N Engl J Med* 1990 ; 322 : 898-903.]

■■■ Un signal de communication entre les bactéries fixant l'azote et les plantes. Les légumineuses (luzerne, pois...) n'ont pas besoin d'engrais azotés... et donc de nitrates, car elles peuvent fixer l'azote moléculaire de l'air grâce à des bactéries symbiotiques du groupe *Rhizobium*. Ces bactéries induisent la formation de nodules au niveau des racines, nodules qu'elles envahissent et colonisent. Toutes ces transformations sont sous le contrôle de gènes de *Rhizobium* appelés *nod* ; *nod A*, *B* et *C* gouvernent l'émission par la bactérie d'un signal non spécifique d'une espèce végétale donnée, alors que d'autres gènes *nod* (par exemple *nod H*) seraient responsables de l'étroite complémentarité entre espèces particulières de *Rhizobium* et de légumineuses. L'intérêt du système est considérable, notamment en vue d'éventuelles applications biotechnologiques. Si on connaissait, en effet, les règles gouvernant la symbiose *Rhizobium*-plante, il serait peut-être possible de modifier la spécificité d'hôte de ces bactéries et de les amener à s'adapter à des espèces végé-

tales incapables de fixer l'azote de l'air et dépendant ainsi des nitrates du sol, par exemple les céréales. C'est dire l'intérêt de la découverte de deux équipes, Cnrs et Cnrs/Inra, de Toulouse qui ont identifié et purifié une molécule produite par *Rhizobium meliloti* et capable à elle seule de produire des déformations des racines de la luzerne, étape probable de la formation des nodules [1]. La molécule en cause, dénommée Nod Rm1, est active à très faible concentration. Sa structure est celle d'un tétrasaccharide lié à des résidus glucosamine, à un sulfate et à un acide gras. Les étapes prochaines de l'analyse du phénomène de nodulation comprendront probablement la mise en évidence des récepteurs de Nod Rm1, des modifications induites dans la cellule végétale et du contrôle génétique de la biosynthèse de cette molécule de signalisation [2].

[1. Lerouge P, et al. *Nature* 1990 ; 344 : 781-4.]
 [2. Long SR, Atkinson EM. *Nature* 1990 ; 344 : 712-3.]

■■■ Les astrocytes sont des cellules excitables, dont la membrane porte des canaux ioniques modulés par divers agents neuroactifs, notamment par le glutamate, neurotransmetteur excitateur quasi ubiquitaire dans le système nerveux central. Les effets sur le fonctionnement des systèmes de transmission nerveux qui découlent de l'activation des astrocytes restent encore mystérieux. Il semble, cependant, que les astrocytes puissent jouer un rôle direct dans certaines formes de transmission, grâce à des mécanismes oscillatoires impliquant le calcium [1]. Des astrocytes mis en culture ont été chargés en fluo-3, une substance fluorescente dont l'émission est d'autant plus intense que la concentration en calcium est élevée. Les cellules ont été stimulées par l'introduction de glutamate dans le milieu, ce qui s'est traduit tout d'abord par un rapide accroissement (attendu) de la concentration en calcium. Le maintien du neurotransmetteur dans la solution a ensuite provoqué deux types de réponses : une succession de vagues de calcium dans certaines cellules d'une part, et d'autre part une diffusion de ces oscillations à des populations astrocytaires éloignées du site d'application du glutamate et donc, jusque-là, restées inactives. Comme des astrocytes sont situés, dans le tissu nerveux central, à proximité de synapses utilisant le glutamate, on peut penser que ces réponses observées *in vitro* traduisent des mécanismes capables d'intervenir *in vivo*. Les astrocytes se présentent donc non seulement comme des cellules excitables, mais aussi comme des éléments capables de former un réseau et d'y faire passer une information. Un « système astrocytaire » pourrait ainsi jouer un rôle dans le fonctionnement même du cerveau, à côté des réseaux neuronaux et sans doute en interaction avec eux.

[1. Cornell-Bell AH. *Science* 1990 ; 247 : 470-3.]

Tableau I

COMPARAISON DES DONNEURS AVANT ET UN AN APRÈS HÉMIPANCRÉATECTOMIE

	Avant	Après
Glycémie à jeûn (mmol/l)	4,9 + 0,5	5,4 + 0,9
Glycémie (2 heures après charge)	6,5 + 1,0	8,7 + 2,9
Insulinémie à jeûn (pmol/l)	38,4 + 21,6	33,0 + 21,9
Peptide C urinaire moyen (nmol/24 heures)	30,8 + 3,5	19,3 + 3,9