médecine/sciences 1997 ; 13 : 858-60

Infections, virus et apoptose

La subtile organisation des chromosomes du Plasmodium pour échapper à la reconnaissance immunitaire

Depuis au moins 10 ans, les études génétiques de *Plasmodium falciparum* se sont multipliées dans un but évident, l'identification d'antigènes utilisables pour la préparation d'un vaccin. L'extrême variabilité antigénique observée d'une souche à l'autre s'est avérée, dans cette perspective, un obstacle majeur. Cette variabilité antigénique est liée à des polymorphismes alléliques transmis de façon stable de génération en génération [1], alliés à des variations intraclonales de l'expression d'antigènes à la surface des globules rouges parasités [2]. L'approche a aussi été rendue difficile par un cycle de vie complexe qui fait alterner l'hôte humain et le vecteur Anophèle. Dans les érythrocytes et hépatocytes de l'homme, la propagation se fait sous forme haploïde et implique des divisions mitotiques, alors que la reproduction sexuée avec formation d'un zygote et méïose a lieu chez le moustique. Ces difficultés imposaient donc de d'abord bien comprendre les données de base de la génétique du parasite.

Le génome du *P. falciparum* comporte 14 chromosomes, dont un caractère majeur est le polymorphisme de taille. Des études de différents chromosomes ont démontré une similitude de la structure de base : une région centromérique conservée où sont concentrés les gènes commandant des fonctions ubiquitaires, des régions terminales très polymorphes où l'on retrouve la majorité des gènes codant pour les antigènes immunodominants. De plus, entre le télomère lui-même et cette région codant pour les antigènes, on met en évidence une longue batterie d'éléments complexes, souvent répétitifs, qui ne sont pas des séquences codantes, pour lesquels n'a été retrouvée aucune fonction essentielle, dont l'organisation est à peu près conservée d'un chromosome à l'autre, et qui pourraient avoir un rôle protecteur pour isoler du télomère et de son action extinctrice la région codant pour les antigènes, et faciliter les conversions géniques [3] *(figure 1)*.

Deux modes d'approche différents ont récemment apporté un nouvel éclairage sur les mécanismes qui sont à l'origine de la variabilité antigénique. L'un est l'identification et la caractérisation de la famille des gènes *var*, codant pour les antigènes de la variation antigénique, et l'autre est l'étude structurale comparative de plusieurs chromosomes et de leur variabilité.

La famille des gènes *var*

Plusieurs années avant que les gènes n'en soient connus, les protéines de la variation antigénique, appelées protéines PfEMP1 *(Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1)*, ont été caractérisées comme des protéines de haut poids moléculaire, présentes à la surface des globules rouges contenant des formes mûres du parasite, responsables de l'attachement des globules rouges aux endotheliums vasculaires et capables de commutations spontanées à des fréquences pouvant atteindre 2 % par génération en culture [2,4]. Les commutations des pro-

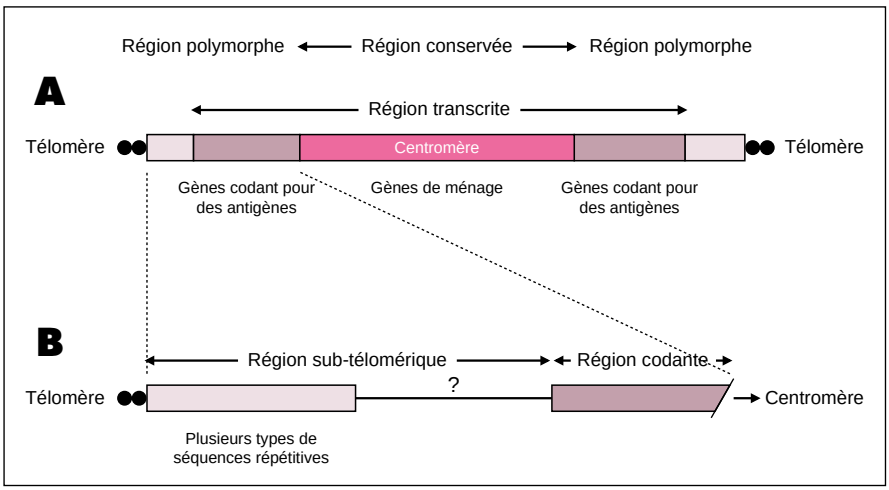

Figure 1. ***Organisation structurale des chromosomes du* Plasmodium falciparum*. A.*** *Un chromosome type dans son entier : la région centrométrique est transcrite et conservée, une région transcrite mais fréquemment recombinée code pour des antigènes souvent répétitifs, séparée du télomère par une région de longueur variable, faite d'éléments répétitifs, en majorité non codants.* ***B.*** *Vue agrandie de la région polymorphe, qui comporte une partie codante et des séquences répétitives variables en nombre, mais d'organisation conservée, ainsi qu'un segment d'organisation et de fonction inconnues.*

téines PfEMP1 s'accompagnent de modifications des profils d'antigénicité et de cytoadhérence des érythrocytes parasités. Les caractéristiques mêmes des protéines PfEMP1, leur expression variante et difficile à maintenir en culture, et leur organisation en larges familles, expliquent les difficultés rencontrées lors des tentatives de clonage. La mise en évidence des gènes *var* codant pour les protéines PfEMP1 a finalement été le résultat d'une découverte fortuite confirmée ensuite dans le cadre d'une collaboration entre plusieurs laboratoires.

C'est, en effet, au cours de l'analyse « extensive », dans le laboratoire de T. Wellems (NIH, Bethesda, MD, USA) d'une région du chromosome 7 de *P. falciparum* liée à la résistance vis-à-vis de la chloroquine qu'a été détectée dans le voisinage la présence d'un groupe de gènes dont les séquences spécifiques, utilisées comme sondes, s'hybridaient à de nombreux fragments répartis dans l'ensemble du génome, signalant ainsi l'existence d'une large famille polygénique [5]. Les membres de la famille *var*, définis par l'existence de motifs conservés séparés par des régions variables, sont répartis sur l'ensemble des chromosomes, et ont été estimés constituer de 2 % à 6 % du génome. Un degré supplémentaire de polymorphisme est apparu lorsque la comparaison de plusieurs clones de *P. falciparum* a révélé que les répertoires *var* diffèrent d'un clone à l'autre. Deux autres types de données sont venus compléter ces résultats et confirmer que la famille des gènes *var* code pour la famille protéique PfEMP1 : (1) un gène cloné par Baruch *et al.* (*Affymax Research Institute*, CA, USA) à partir d'anticorps spécifiques d'une protéine PfEMP1 s'est avéré avoir la structure et les motifs caractéristiques de la famille *var* [6] ; (2) le groupe de Miller (NIH), en collaboration avec le groupe de Newbold (Oxford, GB), a mis en évidence une corrélation entre la transcription de certains gènes *var* et le profil d'antigénicité et de cytoadhérence de parasites variants [7].

Variabilité des chromosomes du Plasmodium

Une approche différente et complémentaire a été l'étude systématique des chromosomes du *Plasmodium* et des mécanismes responsables de leur variabilité. C'est ainsi qu'une étude, portant initialement sur la compartementalisation du chromosome 2, avait montré que les éléments répétitifs présents dans les régions subtélomériques de ce chromosome étaient conservés d'un chromosome à l'autre et retrouvés sur les chromosome 1, 3 ou 4, et 8 ou 9 [3]. Les mêmes auteurs (*Memorial Sloane Kettering Cancer Center*, NY, USA) avaient démontré la périodicité des cassures chromosomiques, impliquant un rôle de la chromatine. Une recherche particulièrement originale a été menée par l'équipe d'Artur Scherf à l'Institut Pasteur de Paris qui a centré son étude sur les structures et les remaniements chromosomiques. L'analyse des gènes codant pour des protéines riches en His, HRPI et HRPII, dans différents clones de laboratoire et isolats de terrain, a montré que des cassures chromosomiques emportant toute l'extrémité du chromosome à partir de ces gènes surviennent fréquemment en culture [8]. Les cassures sont suivies de l'addition de répétitions télomériques plus ou moins dégénérées qui suggèrent l'action d'une enzyme de type telomérase [8]. Le même processus a été retrouvé en culture au niveau du gène *Pf11-1* situé sur le chromosome 10 et potentiellement impliqué dans la rupture du globule rouge et l'émergence des gamètes dans la cavité intestinale du moustique [9]. Des cassures survenant dans des régions internes par rapport aux antigènes subtélomériques *(figure 1)* n'ont, cependant, jamais été mises en évidence, peut-être parce que ces régions sont essentielles à la survie du parasite en culture. L'identification, dans un clone de laboratoire, d'un échange chromosomique subtélomérique par duplication d'un segment du chromosome 11 transloqué au chromosome 13 [10] et l'observation que plusieurs familles multigéniques codant pour des antigènes immunodominants (toutes celles qui ont été étudiées en fait) sont situées près de l'extrémité du chromosome ont conduit les auteurs à proposer un nouveau mécanisme pour la création de familles d'antigènes et l'accroissement de la diversité antigénique : un processus de cassure-duplication-translocation, suivi d'une divergence secondaire des différentes copies

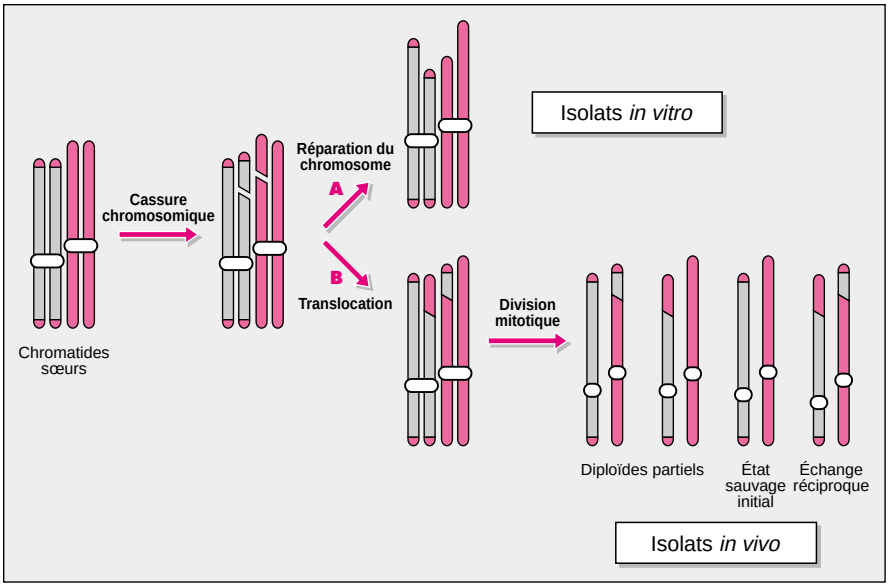

Figure 2. ***Modèle expliquant la variabilité chromosomique constamment observée chez le* Plasmodium falciparum*. A.*** *En culture, les cassures chromosomiques sont réparées par la télomérase, ce qui explique la variabilité de taille.* ***B.*** In vivo, *les cassures chromosomiques ont pu être suivies de translocation réciproque, d'où la présence des gènes var et d'autres antigènes sur plusieurs chromosomes.*

ainsi produites [11] *(figure 2)*. La présence, dans les régions subtélomériques, de familles d'antigènes dont les membres sont dispersés sur plusieurs chromosomes, augmente alors l'instabilité et le potentiel polymorphique de ces régions, en permettant des recombinaisons entre chromosomes hétérologues, ce qu'illustre bien l'analyse des descendants d'un croisement expérimental [10].

Dans un dernier travail, enfin, les auteurs, étudiant les gènes *var*, ont démontré que ceux-ci sont fréquemment présents dans les séquences associées aux télomères [12], confirmant ainsi les données obtenues par Rubio *et al.* (Melbourne, Australie) [13]; certains de ces gènes sont transcrits à partir de ces régions classiquement considérées comme non codantes [12]. Il faut noter, cependant, que tous les gènes *var* transcrits ne sont pas télomériques [5,13], à la différence des gènes de la variation antigénique chez les trypanosomes [14]. Quoiqu'il en soit, il est probable que l'association des gènes *var* à des séquences répétées, dispersées sur l'ensemble des chromosomes et connues pour être réactives et polymorphes joue un rôle important dans la génération de la remarquable diversité des répertoires *var*. Toute réponse immunitaire, spontanée ou induite par des essais de vaccination, peut aboutir ainsi à un phénomène d'évasion immunitaire, à la destruction des parasites sensibles et à l'émergence de nouveaux variants engendrés par ces phénomènes d'instabilité chromosomique.

Peut-on penser que l'ensemble de ces travaux ouvrent la perspective de développements thérapeutiques? Étant donné le rôle déterminant de la famille des gènes *var* dans le profil immunologique et les phénomènes de cytoadhérence de tout paludisme grave, il est sûrement essentiel d'en élucider le fonctionnement. De plus, l'importance des télomères dans la stabilité des chromosomes fait de la télomérase une enzyme cruciale pour le parasite, qui pourrait s'avérer une cible thérapeutique contre un organisme où des cassures chromosomiques apparaissent à fréquence élevée ■

RÉFÉRENCES

1. Foote SJ, Kemp DJ. Chromosomes of malaria parasites. *Trends Genet* 1989; 5: 337-42.

2. Roberts DJ, Craig AG, Berndt AR, Pinches R, Nash G, Marsh K, Newbold CI. Rapid switching to multiple antigenic and adhesive phenotypes in malaria. *Nature* 1992 ; 357: 689-92.

3. de Bruin D, Lanzer M, Ravetch JV. The polymorphic subtelomeric regions of *Plasmodium falciparum* chromosomes contains arrays of repetitive sequence elements. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 619-23.

4. Howard RJ, Gilladoga AD. Molecular studies related to the pathogenesis of cerebral malaria. *Blood* 1989; 74: 2603-18.

5. Su X, Heatwole VM, Wertheimer SP, Guinet F, Herrfeldt JA, Peterson DS, Ravetch JA, Wellems TE. The large diverse gene family *var* encodes proteins involved in cytoadherence and antigenic variation of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. *Cell* 1995; 82: 89-100.

6. Baruch DI, Pasloske BL, Singh HB, Bi X, Ma XC, Feldman M, Taraschi TF, Howard RJ. Cloning the *P. falciparum* gene encoding PfEMP1, a malarial variant antigen and adherence receptor on the surface of paratized human erythrocytes. *Cell* 1995; 82: 77-87.

7. Smith JD, Chitnis CE, Craig AG, Roberts DJ, Hudson-Taylor DE, Peterson DS, Pinches R, Newbold CI, Miller LH. Switches in expression of *Plasmodium falciparum var* genes correlate with changes in antigenic and cytoadherent phenotypes of infected erythrocytes. *Cell* 1995; 82: 101-10.

8. Scherf A, Mattei D. Cloning and characterization of chromosome breakpoints of *Plasmodium falciparum*: breakage and new telomere formation occurs frequently and randomly in subtelomeric genes. *Nucl Acids Res* 1992; 20: 1491-6.

9. Scherf A, Carter R, Petersen C, Alano P, Nelson R, Aikawa M, Mattei D, Pereira da Silva L, Leech J. Gene inactivation of *Pf11-1* of *Plasmodium falciparum* by chromosome breakage and healing: identification of a gametocyte-specific protein witn a potential role in gametogenesis. *EMBO J* 1992; 11: 2293-301.

10. Hinterberg K, Mattei D, Wellems TE, Scherf A. Interchromosomal exchange of a large subtelomeric segment in a *Plasmodium falciparium* cross. *EMBO J* 1994; 13: 4174-80.

11. Scherf A. Plasmodium telomeres and telomere proximal gene expression. *Semin Cell Dev Biol* 1996; 7: 49-57.

12. Hernandez-Rivas R, Mattei D, Sterkers Y, Peterson DS, Wellems TE, Scherf A. Expressed *var* genes are found in *Plasmodium falciparum* subtelomeric regions. *Mol Cell Biol* 1997; 17: 604-11.

13. Rubio JP, Thompson JK, Cowman AF. The *var* genes of *Plasmodium falciparum* are located in the subtelomeric region of most chromosomes. *EMBO J* 1996; 15: 4069-77.

14. Pays E, Berberof M. Antigènes variables et non variables des trypanosomes africains. *Med Sci* 1995; 11: 261-7.

Françoise Guinet

Institut Pasteur, bâtiment Immunologie, 25, rue du Docteur-Roux, 75015 Paris, France.

Dominique Labie

Inserm U. 129, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

TIRÉS À PART

F. Guinet.