

Métabolisme et signal

■■■■ Un nouveau modèle murin de diabète non-insulinodépendant par déficit hétérozygote combiné du récepteur de l'insuline et de la protéine IRS-1. Le diabète non-insulinodépendant frappe près de 5% de la population des pays de l'Ouest. Il est parfois caractérisé par un trouble de la sécrétion d'insuline, mais le plus souvent par une résistance périphérique à l'action de l'insuline sur les muscles et le tissu adipeux. Ces diabètes semblent comporter un élément important de susceptibilité génétique, et sont favorisés par des facteurs de l'environnement, au premier rang desquels l'obésité. Pour l'instant, les gènes en cause n'ont été détectés que dans un petit nombre de cas: les diabètes sévères de la maturité, avec troubles de l'insulino-sécrétion (MODY), qui peuvent être dus à des mutations hétérozygotes des gènes de la gluco-kinase [1] ou des facteurs de transcription HNF1 α et HNF4 (*m/s n° 3, vol. 12, p. 405*). Des mutations du récepteur de l'insuline sont, quoique rares, également en cause. Aucun modèle animal de ce type de diabète ne mime de manière satisfaisante la maladie humaine commune. Les souris *ob/ob* et *db/db*, ainsi que les rats *Zucker fat* sont plus des modèles d'obésité génétique en rapport avec des anomalies du système de la leptine et de son récepteur (*m/s n° 3, vol. 12, p. 386*) que vraiment des modèles de diabète [2]. L'équipe de Ronald Kahn (Boston, MA, USA) montre maintenant que des souris hétérozygotes pour l'inva-

lidation d'un allèle du gène de récepteur de l'insuline et d'un allèle du gène du facteur IRS-1 pourraient constituer un honnête modèle de ce type de maladie. Le facteur IRS-1 (*insulin receptor substrate-1*) interagit avec le récepteur phosphorylé de l'insuline et fixe différentes protéines relais des signaux dépendants de l'insuline: Grb-2, la PI(3-kinase) (*m/s n° 10, vol. 9, p. 1126*) et la tyrosine protéine phosphatase Syt-SHPTP2. Les souris homozygotes pour un déficit en récepteur de l'insuline ont un diabète acidocétosique sévère, mortel après quelques jours de vie alors que les souris totalement déficitaires en IRS-1 ont des symptômes modérés, probablement du fait de la redondance avec d'autres molécules pouvant transmettre le signal du récepteur de l'insuline, par exemple Shc et IRS-2 [3]. Quoique les animaux hétérozygotes pour chacune de ces mutations soient strictement normaux, l'hétérozygotie double conduit à l'apparition, après 4 à 6 mois de vie, d'un diabète caractérisé par une très importante augmentation de l'insulino-sécrétion, avec hyperplasie des cellules β des îlots de Langerhans et une importante résistance à l'insuline des tissus périphériques [4]. Une autre association diabétogène d'anomalies génétiques a été décrite par une équipe japonaise de Tokyo qui a obtenu des souris totalement déficitaires en IRS1 et hétérozygotes pour un déficit en gluco-kinase pancréatique [5]. Comme indiqué plus haut, les animaux *IRS1^{-/-}* ont des troubles très modérés de la glycorégulation avec hyperplasie des cellules β des îlots de Langerhans alors que les souris *GK^{+/-}* ont un trouble modéré de la réponse insulinique. La combinaison des deux anomalies aboutit à un diabète non-insulinodépendant patent qui apparaît après quelques mois de vie. Les anomalies des animaux *IRS1^{-/-}* et *GK^{+/-}* sont stables alors que leur association conduit au phénomène de progressivité si caractéristique du diabète de type 2. Ces animaux pourront permettre d'étudier les facteurs qui

coopèrent à l'apparition du diabète patent, et pourraient permettre d'intéressantes études thérapeutiques.

- [1. Froguel P, *et al. Med Sci* 1994; 10: 795-804.]
- [2. Guerre-Millo M, *et al. Med Sci* 1996; 12: 383-5.]
- [3. Joshi R, Jami J. *Med Sci* 1996; 12: 620-3.]
- [4. Brüning JC, *et al. Cell* 1997; 88: 561-72.]
- [5. Terauchi Y, *et al. J Clin Invest* 1997; 99: 861-6]

■■■■ Le locus *IDDM2* de susceptibilité au diabète de type 1: transcription élevée du gène de l'insuline dans le thymus. Le diabète insulino-dépendant de type 1 est une maladie auto-immune dans laquelle apparaissent de nombreux autoanticorps, dirigés notamment contre l'insuline, l'acide glutamique décarboxylase (GAD), l'antigène ICA69 et la tyrosine phosphatase IA-2. Nous avons récemment rappelé les essais de prévention de cette maladie par immunosuppression spécifique de cette réponse auto-immune, notamment par tentative d'immunosuppression par absorption orale des antigènes (*m/s n° 1, vol. 13, p. 114*). On connaît plusieurs locus de susceptibilité au diabète de type 1. L'un d'entre eux, *IDDM2*, correspond à une région mini-satellite située juste en amont du gène de l'insuline. Il existe deux grandes classes d'allèles: les allèles de classe 1 correspondent à un VNTR (*variable number of tandem repeats*) court alors que l'allèle de classe 3 à un VNTR long. L'homozygotie pour l'allèle de classe 1 est associée à une susceptibilité au diabète alors que l'allèle de classe 3 a un effet protecteur dominant (c'est-à-dire observé aussi bien chez les hétérozygotes que les homozygotes). L'allèle de classe 3 semble associé à une plus faible expression du gène de l'insuline dans le pancréas *in vivo* et dans des cellules insulaires en culture après

transfection d'une construction dirigée par les séquences régulatrices du gène de l'insuline, incluant le VNTR (*m/s n° 7, vol. 11, p. 1042*). Il faut bien reconnaître que le mécanisme par lequel un allèle diminuant la transcription du gène d'insuline pouvait avoir un effet protecteur vis-à-vis d'un diabète auto-immun amenait les spécialistes à se perdre en conjectures. C'est dire l'intérêt de la nouvelle hypothèse qui vient d'être proposée dans deux lettres à *Nature Genetics* par des chercheurs américains, canadiens et britanniques [1, 2]. Pugliese *et al.* montrent que, au cours du développement, les différents autoantigènes contre lesquels est dirigée la réaction auto-immune caractéristique du diabète de type 1 sont très faiblement synthétisés dans le thymus humain. A noter que *médecine/sciences* avait, en son temps, déjà émis l'hypothèse que le phénomène de « transcription illégitime », c'est-à-dire de transcription à bas bruit de pratiquement tous les gènes dans tous les tissus, pouvait être mis à profit, dans le thymus, pour établir la tolérance immunitaire aux antigènes du soi [3]. Les deux équipes notent également que l'allèle de classe 3 semble deux à trois fois plus exprimé dans le thymus que l'allèle de classe 1 ; par conséquent, la tolérance immunitaire liée à la délétion clonale des lymphocytes T immunoréactifs anti-insuline pourrait être plus efficacement établie chez les personnes portant l'allèle de classe 3 que chez ceux portant l'allèle de classe 1.

[1. Pugliese A, *et al. Nature Genet* 1997; 15: 293-7.]

[2. Vafiadis P, *et al. Nature Genet* 1997; 15: 289-3.]

[3. Briand P. *Med Sci* 1990; 6: 55-6.]

■■■■ **Un gène de type *agouti* surexprimé chez les souris génétiquement obèses *ob/ob* et *db/db*.** Nous avons récemment rapporté à nos lecteurs que le gène *agouti* code pour une

protéine de 131 acides aminés qui est un ligand inhibiteur des récepteurs de la mélanocortine de type 1 et de type 4. Le récepteur de type 1 est exprimé par les mélanocytes et contrôle la synthèse de mélanine alors que le récepteur de type 4 est impliqué dans le contrôle pondéral. Des souris déficientes en ce récepteur sont obèses. La mutation *agouti* de la souris se caractérise par une augmentation de la fonction de cette protéine, aboutissant donc à une inhibition des signaux passant par les récepteurs de la mélanocortine de type 1 et de type 4, expliquant le phénotype : altération de la pigmentation et obésité (*m/s n° 5, vol. 13, p. 737*) [1]. Les chercheurs de la firme géante de biotechnologie Amgen qui se sont lancés à corps perdu dans cette recherche sur les systèmes de contrôle du poids corporel viennent d'identifier un transcrit ART (*agouti-related transcript*) qui a le potentiel de coder pour une protéine sécrétée de 132 acides aminés chez l'homme et de 131 acides aminés chez la souris. Les similitudes entre les protéines *Agouti* et *ART* sont maximales dans la région carboxyterminale. Les messagers *ART* sont détectés dans les cortico-surrénales, le noyau hypothalamique et l'hypothalamus. Dans l'hypothalamus, l'abondance des messagers *ART* est augmentée de 10 fois chez les souris génétiquement obèses *ob/ob* et *db/db* [1]. Quoique la preuve formelle que la protéine *ART* est un ligand des récepteurs de la mélanocortine, et agit donc de manière similaire à la protéine *Agouti*, n'ait pas encore été apportée, l'hyperexpression du gène *ART* chez les souris génétiquement obèses suggère qu'il pourrait être normalement contrôlé positivement par le signal issu de la leptine et de son récepteur (*m/s n° 3, vol. 12, p. 386 ; n° 1, vol. 13, p. 99*), dont l'un des modes d'action sur le contrôle de la satiété pourrait donc passer par la répression de ce gène. Si cette hypothèse se confirmait, le signal leptine pourrait ainsi agir en inhibant la synthèse de plusieurs

types de neuro-médiateurs, des ligands antagonistes des récepteurs de la mélanocortine et le peptide *NPY* (*m/s n° 1, vol. 12, p. 117 ; n° 3, vol. 12, p. 392*).

[1. Guerre-Millo M, *et al. Med Sci* 1996; 12: 383-5.]

[2. Shutter JR. *Genes Dev* 1997; 11: 593-602.]

■■■■ **Les protéines à sécrétion réglée avaient une « adresse »..., on connaît maintenant le « facteur » : la carboxypeptidase E.** Une caractéristique des cellules neuroendocrines est de posséder une voie de sécrétion dite réglée pour laquelle la libération des hormones ou neuropeptides est contrôlée par des modulateurs spécifiques. Au niveau de la portion *trans* de l'appareil de Golgi, les protéines destinées à emprunter cette voie sont sélectivement triées, grâce à un motif présent dans leur structure secondaire : l'« adresse ». Les autres s'orientent par défaut vers la voie constitutive. Dans les vésicules de la voie réglée, les protéines subissent un processus de maturation protéolytique souvent nécessaire à leur activité biologique. Le tri des protéines vers la voie réglée fait intervenir un mécanisme spécifique et saturable pour lequel le rôle d'un « récepteur » localisé dans les membranes du Golgi avait depuis longtemps été postulé. Un tel récepteur vient d'être identifié [1] : il s'agit de la carboxypeptidase E (CPE). Cette enzyme était connue jusqu'à présent pour exciser, après l'action d'une endoprotéase ou « convertase », les deux résidus basiques ayant servi de site de reconnaissance pour le clivage de la protéine. Les premières données de ce travail impliquant la CPE, biochimiques, ont été obtenues en étudiant la liaison de la proopiomélanocortine (POMC), précurseur de l'ACTH et de l' α MSH, à des membranes golgiennes de cellules mélanotropes bovines. La partie amino-terminale

de la POMC possédant le motif permettant son ciblage vers la voie réglée, se fixe spécifiquement à une protéine ayant toutes les caractéristiques d'un récepteur ancré sur la face interne de ces membranes. La liaison est déplacée par la POMC, la pro-insuline, la pro-énképhaline, mais pas par des molécules ayant une sécrétion constitutive. Des expériences de pontage suivi de microséquençage ou *western blot*, ont permis d'identifier ce récepteur comme la CPE. Son importance fonctionnelle a été ensuite démontrée sur deux types de modèles: la lignée neuroendocrine murine Neuro-2a-CPE^{AS}, transfectée avec l'ADNc de la POMC dans laquelle la synthèse de la CPE est inhibée par des ARN anti-sens, et les cellules mélanotropes du lobe intermédiaire de l'hypophyse de souris *fat/fat*, génétiquement déficientes en CPE (*m/s n° 8, vol. 11, p. 1171*) [2]. En l'absence de CPE, la POMC n'est pas dirigée vers la voie réglée. Sa sécrétion est constitutive et sa maturation très imparfaite conduisant pour l'essentiel au relargage de précurseurs. Le produit biologiquement actif, l' α MSH, est virtuellement absent. En effet, la maturation de l' α MSH nécessite l'action des prohormones convertases PC1 puis PC2, cette dernière étant active uniquement dans les vésicules de sécrétion de la voie réglée. Ce travail confirme donc le mécanisme de type « ligand-récepteur » dans le tri des protéines vers la voie réglée. Il clarifie les anomalies hormonales constatées chez les souris *fat/fat*, notamment les concentrations élevées de pro-insuline circulante. Il permet de rapprocher ce modèle du seul cas humain décrit de déficit congénital en prohormone convertase: une patiente qui présentait (comme ces souris), une obésité, une infertilité, un trouble de la glycorégulation, et un défaut de maturation des précurseurs hormonaux [3]. Même si le mécanisme de l'obésité est probablement complexe et multifactoriel, on ne peut s'empêcher de rapprocher ces faits d'un

autre article paru dans le même numéro de *Cell*, rapportant aussi une obésité chez des souris dépourvues de récepteur mélanocortine de type 4, dont un des seuls ligands connus est... l' α MSH (*m/s n° 5, vol. 13, p. 737*) [4].

[1. Cool D, *et al. Cell* 1997; 88: 73-83.]

[2. Naggert J, *et al. Nature Genet* 1995; 10: 135-42.]

[3. O'Railly, *et al. N Engl J Med* 1995; 333: 1386-90.]

[4. Huszar D, *et al. Cell* 1997; 88: 131-41.]

■■■■ **Les bases d'une action concertée de DAX-1 et de SF-1.** La protéine SF-1 (*steroidogenic factor*) est un membre de la superfamille des récepteurs nucléaires, dits orphelins en ce qu'on ne lui connaît aucun ligand. Le gène *SF-1* est actif dans l'hypothalamus, l'hypophyse, les glandes surrénales et les gonades. L'inactivation des deux allèles de *Sf-1* chez la souris entraîne une absence de développement des gonades et des cortico-surrénales avec inversion sexuelle des mâles, secondaire au déficit en hormone anti-Müllérienne et en testostérone [1]. La protéine SF-1 est par ailleurs un activateur transcriptionnel de différents gènes exprimés dans les cellules gonadotropes de l'hypophyse, et pourrait contrôler l'expression du gène *AMH* (*m/s n° 10, vol. 10, p. 1055*) [1]. La protéine DAX-1 (*dosage-sensitive sex reversal-adrenal hypoplasia congenital critical region on the X-chromosome, gene 1*) est elle aussi un récepteur nucléaire orphelin qui est synthétisé à peu près dans les mêmes cellules que SF-1. La structure de ce récepteur est cependant très singulière: il comporte bien une partie carboxy-terminale analogue aux régions de fixation d'un ligand, mais la région de liaison à l'ADN est remplacée par 3,5 répétitions d'un motif de 65 à 67 acides aminés (*m/s n° 4, vol. 11, p. 634*). Des délétions ou des muta-

tions de ce gène s'accompagnent de l'hypoplasie congénitale des surrénales liée à l'X et on a décrit une inversion sexuelle des mâles en cas de duplication du locus *DSS* (*dosage sensitive sex reversal*) en Xp21 (*m/s n° 11, vol. 10, p. 1170*). La similitude des organes cibles des anomalies associées à des altérations des gènes *SF-1* et *DAX-1* et de leur site d'expression suggérait que leur fonction était concertée. Ito *et al.* (Chicago, IL, USA) montrent que la région carboxy-terminale de DAX-1 se comporte comme un inhibiteur spécifique du pouvoir transactivateur de SF-1, et est en effet capable de former un complexe avec ce facteur [2]. L'interaction n'inhibe pas la fixation de SF-1 à ses sites de reconnaissance mais, plus probablement, l'empêche d'activer la transcription de ses gènes cibles. Ce résultat est un peu singulier puisque, à première vue, les mutations avec perte de fonction de *SF-1* et de *DAX-1* semblent s'accompagner de désordres similaires (notamment, hypoplasie surrénalienne). En réalité, les lésions précises sont très différentes et l'on peut imaginer que la formation des cortico-surrénales puisse être perturbée à des stades différents de développement, soit par un déficit en SF-1, soit par une perte d'un contrôle négatif de sa fonction.

[1. Saez J, Durand P. *Med Sci* 1994; 10: 1315-7.]

[2. Ito M, *et al. Mol Cell Biol* 1997; 17: 1476-83.]

■■■■ **Intervention de la TRH et de la TSH dans les communications lympho-épithéliales au niveau de la muqueuse intestinale.** La muqueuse intestinale doit être considérée comme un véritable organe lymphoïde dont le développement et les fonctions exigent toute une série d'interactions entre les entérocytes, c'est-à-dire les cellules épithéliales intestinales, et les lymphocytes intra-épithéliaux de l'intestin IEL (*intra-*

epithelial lymphocytes). Parmi les messagers de ces interactions, Wang *et al.* (Tulsa, OK, USA) insistent sur le rôle de la TRH (*thyrotropin-releasing hormone*) et de la TSH (*thyrotropin-stimulating hormone*). Les entérocytes ont à leur membrane un récepteur de la TRH. Son occupation par cette hormone hypothalamique entraîne la production entérocytaire de TSH qui reconnaît son récepteur sur certains lymphocytes intra-épithéliaux dont elle module ainsi l'activité [1]. Les souris *hyt/hyt*, dont le récepteur de la TSH est muté, ont un répertoire des cellules IEL anormal et, à l'inverse, l'administration de TRH ou de TSH à une souris athymique provoque un développement des lymphocytes intra-épithéliaux thymo-dépendants [2]. En revanche, l'hormone thyroïdienne a un effet fortement inhibiteur sur ce développement. Ces relations témoignent, une fois de plus, de la communauté des mécanismes impliqués dans les régulations neuro-endocriniennes et du système immunitaire.

- [1. Wang J, *et al. Science*. 1997; 275: 1937-9.]
 [2. Wang J, Klein JR. *Science*. 1994; 265: 1860-3.]

■■■■ **Le langage du signal calcium.**

Une des énigmes les plus étranges en biologie est la multiplicité des phénomènes de régulation cellulaire qui empreint la voie commune d'un petit nombre de seconds messagers. C'est ainsi que de très nombreux récepteurs membranaires aboutissent à une augmentation de la concentration intracytosolique du calcium. Il existe aujourd'hui des indications précises selon lesquelles le calcium peut entraîner des modifications intracellulaires différentes en fonction de la fréquence des oscillations calciques (modulation de fréquence) ou de leur amplitude (modulation d'amplitude). Par exemple, il a été démontré depuis longtemps qu'un

phénomène de modulation de fréquence est impliqué dans le contrôle de la sécrétion par les glandes salivaires [1]. Maintenant, c'est la modulation d'amplitude qui est mise en cause dans la réponse différentielle de lymphocytes B à des stimulus qui vont, soit augmenter, soit diminuer l'activité lymphocytaire. Dolmetsch *et al.* (Stanford, CA, USA) montrent en effet qu'un pic important de concentration calcique induit le système NF- κ B et la kinase *JNK* (*c-Jun N-terminal kinase*) alors qu'une augmentation modérée mais prolongée induit la translocation intranucléaire du facteur de transcription NF-AT [2]. Ces modifications de la concentration de calcium intra-cytosolique sont observées dans différentes situations. L'activation d'un lymphocyte B naïf par l'antigène entraîne les deux types de modifications, ce qui aboutit à l'activation lymphocytaire et à la sécrétion d'anticorps. En revanche, la stimulation de lymphocytes B tolérants par ce même antigène n'entraîne qu'une faible augmentation du calcium cytosolique, en un plateau prolongé. Cette modification aboutit à une translocation du facteur de transcription NF-AT, mais n'est pas associée à l'activation de NF- κ B et de la kinase *JNK*: ce qui induit plutôt une anergie. Il est possible que l'activation isolée du premier type de phénomène (pic calcique élevé et transitoire) aboutisse également à une anergie, telle qu'elle peut être observée lorsque des lymphocytes B fixent des complexes immuns sur leurs récepteurs Fc. Il est évident que la reconnaissance par les systèmes effecteurs intracellulaires d'un code basé sur une modulation de l'amplitude et (ou) de la fréquence de signaux augmenterait considérablement la puissance de ceux-ci pour intervenir dans une grande diversité de phénomènes de régulations. Il est par conséquent très probable que des systèmes de ce type ne se limitent pas à la réponse au calcium, mais soient également valables pour la réponse à de nom-

breux autres seconds messagers: AMP cyclique, médiateurs lipidiques intracellulaires, etc...

- [1. Rapp PE, Berridge MJ. *J Exp Biol* 1981; 93: 119-32.]
 [2. Dolmetsch RE, *et al. Nature* 1997; 386: 855-8.]

**SYMPOSIUM
INTERNATIONAL
D'IMMUNITÉ NÉONATALE
ANNECY-FRANCE
17-19 NOVEMBRE 1997**

Contact : Betty Dodet,
 Fondation Marcel-Mérieux
 17, rue Bourgelat, BP 2021,
 69227 Lyon Cedex 02, France.
 Fax : (33) 72 73 79 93

E-mail: 100765.1401@Compuserve.Com

m/s