RÉFÉRENCES

1. Wendling F, Debili N, Methia N, Titeux M, Vainchenker W. Le gène codant pour la thrombopoïétine est cloné. *Med Sci* 1994; 10: 874-6.

2. O'Malley CJ, Rasko JEJ, Basser RL, McGrath KM, Cebon J, Grigg AP, Hopkins W, Cohen B, O'Byrne J, Green MD, Fox RM, Berndt MC, Begley CG. Administration of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor to humans stimulates the production of functional platelets that show no evidence of *in vivo* activation. *Blood* 1996; 88: 3288-98.

3. Ulich TR, del Castillo J, Senaldi G, Kinsler O, Yin S, Kaufman S, Tarpley J, Choi E, Kirlet T, Hunt P, Sheridan WP. Systemic hematological effects of PEG-rHuMGDF-induced megakaryocyte hyperplasia in mice. *Blood* 1996; 87: 5006-15.

4. Yan XQ, Lacey D, Fletcher F, Hartley C, McElroy P, Sun Y, Xia M, Mu S, Seris C, Hill D, Hawley RG, McNiece IK. Chronic exposure to retroviral vector encoded MGDF (mpl-ligand) induces lineage-specific growth and differentiation of megakaryocytes in mice. *Blood* 1995; 86: 4025-33.

5. Yan XQ, Lacey D, Hill D, Chen Y, Flecther F, Hawley RG, McNiece IK. A model of myelofibrosis and osteosclerosis in mice induced by overexpressing thrombopoietin (mpl ligand): reversal of disease by bone marrow transplantation. *Blood* 1996; 88: 402-9.

6. Villeval JL, Cohen-Solal K, Tulliez M, Giraudier S, Guichard J, Burstein SA, Cramer E, Vainchenker W, Wendling F. High thrombopoietin production by hemopoietic cells induces a fatal myeloproliferative syndrome in mice. *Blood* 1997 (sous presse).

7. Ohwada A, Rafii S, Moore MAS, Crystal RG. *In vivo* adenovirus vector-mediated transfer of the human thrombopoietin cDNA maintains platelet levels during radiation – and chemotherapy induced bone marrow suppression. *Blood* 1996; 88: 778-84.

8. Abina MA, Tulliez M, Debili N, Lacout C, Villeval JL, Pflumio F, Wendling F, Vainchenker W, Haddada H. Hematologic effects of a single injection of a recombinant adenovirus encoding human thrombopoietin in immunodeficient mice, and immunocompetent mice treated by a myeloablative regimen. *Blood* 1997 (sous presse).

9. Tripathy SK, Black HG, Goldwasser E, Leiden JM. Immune responses to transgene-encoded proteins limit the stability of gene expression after injection of replication-defective adenovirus vectors. *Nature Med* 1996; 2: 545-50.

10. Kahn A. Thérapie génique: le temps d'un premier bilan. *Med Sci* 1996; 1: 9-12.

11. Zhou W, Toombs CF, Zou T, Guo J, Robinson MO. Transgenic mice overexpressing human c-mpl ligand exhibit chronic thrombocytosis and display enhanced recovery from 5-fluorouracil or antiplatelet serum treatment. *Blood* 1997; 89: 1551-9.

BRÈVES

La kinase Abl est une cible de la protéine ATM déficiente chez les malades atteints d'ataxie télangiectasie. L'ataxie télangiectasie est une maladie caractérisée, comme son nom l'indique, par une ataxie, des télangiectasies, une dégénérescence neuronale, un désordre immunitaire et une incidence très augmentée de cancers. L'affection est récessive, mais les sujets hétérozygotes, qui peuvent représenter jusqu'à 1 % de la population, pourraient être à risque de développer des cancers *(m/s n° 8, vol. 11, p. 1189)*. Le gène *ATM* (muté dans l'ataxie télangiectasie) code pour une protéine appartenant à la famille des phosphatidylinositol-3-kinase, capable de phosphoryler des lipides et, peut-être, des protéines. Les cellules de sujets atteints d'ataxie télangiectasie ou de souris $Atm^{-/-}$ sont hypersensibles aux radiations ionisantes, ce qui témoigne de ce que l'ataxie télangiectasie peut être rangée dans le groupe des réparatoses, ensemble de maladies héréditaires ayant comme point commun une fragilité du matériel génétique [1]. Par ailleurs, la kinase c-Abl, produit du proto-oncogène Abelson, avait été elle aussi localisée dans la voie de la transmission du signal induit par les dommages de l'ADN tels qu'ils sont provoqués par les radiations ionisantes *(m/s n° 11, vol. 11, p. 1617)*. Baskaran *et al.* (La Jolla, CA; Baltimore, MD; Cambridge, MA et Bethesda, MD, USA) démontrent dans un récent article de *Nature* que l'activation de la kinase c-Abl induite par l'irradiation est perturbée dans des cellules déficientes en ATM mais peut être rétablie en transfectant les cellules avec un vecteur d'expression pour la partie carboxy-terminale d'ATM, qui contient le domaine kinase [2]. L'activation de c-Abl par le domaine kinase d'ATM exige la phosphorylation de la sérine 465 de c-Abl. Par ailleurs, Shafman *et al.* (Boston, MA; Philadelphie, PA, USA; Queesland, Australie et Tel Aviv, Israël) rapportent qu'il existe une interaction physique entre le domaine SH3 de c-Abl et le motif kinasique d'ATM [3]. Ces deux articles suggèrent que l'altération de l'ADN aboutit, par un mécanisme inconnu, à l'activation en cascade d'ATM qui provoque la phosphorylation de c-Abl, stimulant ainsi son activité kinasique. Les étapes situées plus en aval dans la voie de transmission du signal qui aboutit au blocage des cellules en phase G1 du cycle et à la réparation de l'ADN ne sont pas connues. On sait que l'induction de p53 est une autre conséquence des altérations de l'ADN qui conduit au blocage en phase G1 et, dans certains cas, à l'apoptose *(m/s n° 1, vol. 9, p. 100)*. Cependant, c-Abl ne semble pas être indispensable à cette accumulation de la protéine p53 provoquée par les radiations ionisantes, si bien que p53 et c-Abl pourraient être deux cibles distinctes de la protéine ATM.

[1. Aurias A. *Med Sci* 1994; 10: 957-61.]

[2. Baskaran R, *et al. Nature* 1997; 387: 516-20.]

[3. Shafman T, *et al. Nature* 1997; 387: 520-3.]

Le mythe de Prométhée revisité. Pour avoir volé le feu sacré des Dieux de l'Olympe, Prométhée fut condamné à un terrible supplice : enchaîné à un roc, il devait en effet voir chaque soir un aigle noir venir lui dévorer un lobe de son foie qui, régénérant sans fin, le condamnait au châtiment éternel. Ainsi, il y a des milliers d'années déjà, décrivait-on les premiers résultats « expérimentaux » de régénération hépatique, un processus complexe et finement réglé qui permet aux souris, aux rats ou aux hommes de reconstituer rapidement (5 à 15 jours selon les espèces) *ad integrum* la masse hépatique après une résection de près des deux tiers du foie. Des cytokines et des facteurs de croissance, principalement HGF *(hepatocyte growth factor)*, EGF *(epidermal growth factor)*, TGFα *(transforming growth factor α)*, sont impliqués au cours de la régénération, et font l'objet d'une revue générale dans *Science* [1]. Le TNFα *(tumor necrosis factor α)* et l'IL-6 (interleukine-6) viennent compléter le scénario. On savait qu'après une hépatectomie des deux tiers, on observe une production importante de TNFα par les cellules de Kupffer du foie restant, et qu'en bloquant les effets du TNFα, on inhibe le processus régénératif. En hépatectomisant des souris invalidées pour le gène du récepteur de type I du TNFα, Fausto et son équipe observent un sévère retard à la régénération, accompagné d'une augmentation de la mortalité (50 %, normalement de l'ordre de 10 %), et l'absence d'activation de facteurs de transcription clés comme NF-κB *(m/s n° 4, vol. 12, p. 541)*, AP1 et STAT3 *(m/s n° 2, vol. 10, p. 202)* [2]. La correction du phénotype par l'administration d'IL-6 recombinante, ainsi que l'effet inducteur antérieurement connu du TNFα sur la libération d'IL-6, suggèrent le rôle-clé de cette cytokine [2]. Des résultats similaires ont été obtenus par Taub *et al.* [4] qui ont pratiqué ces mêmes hépatectomies chez des souris déficientes en IL-6 et observé une absence complète de régénération hépatique et une insuffisance hépato-cellulaire rapidement mortelle. Ici encore, le phénotype est entièrement corrigé par l'administration d'IL-6 recombinante [3]. Administrés à des animaux non hépatectomisés, TNFα, IL-6 ou HGF ne sont pas des agents mitogènes. En revanche, au cours de la régénération aiguë qui suit l'hépatectomie des deux tiers, TNFα et IL-6 pourraient déclencher le passage rapide des hépatocytes de la phase G0 à G1 ; l'activation massive du recepteur c-Met de l'HGF entraînerait ultérieurement le passage de G1 en G1/S. Le rôle-clé du TNFα et de l'IL-6 dans l'initiation du processus régénératif devrait maintenant être étudié au cours de la chirurgie hépatique (résections hépatiques étendues, transplantation de foies réduits) ou de l'insuffisance hépatique aiguë, particulièrement dans des perspectives thérapeutiques.

[1. Michaloupoulos GK, DeFrances MC. *Science* 1997 ; 276 : 60-6.]
[2. Yamada Y, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 : 1441-6.]
[3. Cressman DE, *et al. Science* 1996 ; 274 : 1379-83.]

Des souris déficientes en α-galactosidase A : un modèle de la maladie de Fabry. La maladie de Fabry est une maladie héréditaire liée à l'X, caractérisée par un déficit en α-galactosidase A (α-Gal A) qui conduit à l'accumulation tissulaire de glycosphingolipides conservant un résidu α-galactose terminal, dont le céramide-trihexoside (CTH) [1]. Jusqu'à présent, il n'y avait pas de modèle chez l'animal de la maladie de Fabry. Ohshima *et al.* (NIH, Bethesda, MD, USA et Tokyo, Japon) ont invalidé, par recombinaison homologue, le gène *α-Gal A* chez la souris (gène très similaire au gène humain correspondant) [2]. La construction utilisée comporte un délétion de 1 kb touchant en partie l'exon III et l'intron III du gène. A l'âge 10-14 semaines, les souris ainsi obtenues n'ont pas de manifestations anormales, mais elles ont un déficit presque complet de l'α-Gal A dans le foie et les fibroblastes ; des inclusions intralysosomales caractéristiques de la maladie de Fabry sont mises en évidence en microscopie électronique dans les tubes rénaux ; la surcharge est bien due à l'accumulation de résidus α-D-galactose (auxquels se lie spécifiquement une lectine) ; enfin le CTH s'accumule dans le foie et les reins. Les auteurs ont pu transfecter les fibroblastes de souris déficientes en α-Gal A en utilisant des rétrovirus portant l'ADNc α-Gal A et l'ADNc MDR1 humains (MDR : *multidrug resistance*), ce dernier utilisé comme marqueur de sélection [3]. Cette transduction entraîne une correction significative du déficit enzymatique et la clairance du matériel accumulé. Ces souris représentent un modèle pour tester la correction *in vivo* de ce déficit ; il reste à savoir à quel rythme les souris déficientes vont développer les conséquences de la surcharge viscérale.

[1. Poenaru L. *Med Sci* 1996 ; 12 : 35-46.]
[2. Ohshima T, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 : 2540-4.]
[3. Lepage P, Gros P. *Med Sci* 1995 ; 11 : 357-66.]

AAV, thérapie génique des hémoglobinopathies et rôle des éléments d'attachement à la matrice. Le transfert d'un gène globine fonctionnel dans les cellules-souches hématopoïétiques est depuis longtemps envisagée comme thérapeutique des hémoglobinopathies majeures, thalassémies ou drépanocytose [1]. Les difficultés s'avèrent cependant nombreuses, liées tant à l'inefficacité des vecteurs qu'à l'instabilité génomique des segments intégrés qui, pour être exprimés à un niveau suffisant, doivent inclure les éléments régulateurs du LCR *(locus control region)*. Parmi les vecteurs utilisés, les AAV *(adeno-associated virus)* présentent deux types d'inconvénients : un virus AAV

recombinant peut être exprimé de façon épisomique pendant plusieurs jours, ou même semaines, dans une cellule sans y être intégré, et y être donc sans valeur thérapeutique; de plus, l'intégration dans le génome est habituellement repérée par un marqueur tel que la néomycine, qui peut ne pas être sans inconvénient, et qui, par ailleurs, est positive même à un niveau d'intégration insuffisant pour une efficacité thérapeutique. Un travail récent du groupe de Nienhuis (Memphis, TN, USA) semble présenter une avancée dans ce domaine [2]. Le gène transféré est le gène codant pour la γ-globine, dont l'efficacité dans les thalassémies et la drépanocytose a été largement établie. L'utilisation d'un marqueur étranger a été remplacée par l'utilisation d'un gène « marqué » par une microdélétion de 6 pb dans la région promotrice, laquelle permet par *Southern blot* de le différencier du gène endogène. Le travail a été effectué sur lignée érythroleucémique immortalisée K562. Enfin, deux constructions ont été comparées, le fragment intégré comprenant le gène γ-globine et trois des séquences activatrices du LCR, HS2, HS3 et HS4 dans un cas, alors que dans l'autre la séquence HS4 avait été remplacée par la séquence de 750 pb, élément régulateur situé en 3' du gène γ et considérée comme élément de fixation à la matrice nucléaire (MAR). Dans ces conditions, les auteurs ont constaté une expression épisomique pouvant durer jusqu'à sept semaines, suivie, dans des délais variables d'une intégration génomique, décelable par cartographie de restriction. Cette intégration était inconstante, et le niveau d'expression environ la moitié de celui du gène endogène quand la construction ne comportait que le gène γ-globine et les éléments du LCR. Par l'addition d'une MAR, en revanche, on obtenait une intégration dans tous les clones et un niveau d'expression en moyenne six fois supérieur (× 3 à 14) à celui du gène endogène. Cette intégration se fait en concatamère, tête à queue, et nécessite une multiplicité d'infection supérieure à ce qu'on emploie habituellement (> 5 × 10^7). On peut penser que cette multiplicité d'infection requise serait nécessaire dans des cellules quiescentes qui ont peu de récepteurs, et qu'elle faciliterait la conversion du AAV en double brin et son intégration ultérieure. Ces résultats, obtenus en lignées cellulaires, demandent à être vérifiés sur modèle animal, mais ouvriraient peut-être une perspective pour une transduction *ex vivo* des cellules souches de la moelle.

[1. Kahn A. *Med Sci* 1988 ; 4 : 252-4.]
[2. Hargrove PW, *et al. Blood* 1997 ; 89 : 2167-75.]

Coqueluche : un vaccin recombinant, construit de façon rationnelle. Une protection maximale et une toxicité réduite au minimum sont évidemment le but de toute vaccination. Les produits vaccinaux employés jusqu'à présent contre le *Bordella pertussis*, le germe de la coqueluche, étaient des dérivés de sa toxine (PT) détoxifiée par traitement chimique. Ce procédé, largement employé pour d'autres vaccinations, diphtérie ou tétanos, pourrait avoir un double inconvénient : il est potentiellement toxique, il modifie aussi la conformation de l'antigène. L'originalité du vaccin proposé par le laboratoire « Chiron vaccines » (Sienne, Italie) est la modification de la toxine par deux mutations ponctuelles, qui rendent le site catalytique inactif [1]. Le vaccin, dont les épitopes ont gardé leur conformation d'origine, peut donc être utilisé sans inactivation ultérieure, et à de faibles doses d'antigène. Les premiers essais cliniques en phase I démontrent son immunogénicité et son efficacité, avec une réponse nettement plus forte et plus rapide que les vaccins traditionnels.

[1. Rappuoli R. *Nature Med* 1997 ; 3 : 374-5.]

Insecte, parasite pathogène, bactérie symbiotique : un ménage à trois dont on pourrait tirer profit ! Certaines maladies sont transmises aux plantes, aux animaux ou aux hommes par des insectes qui véhiculent des micro-organismes pathogènes. Question : tout en préservant l'insecte vecteur, important pour l'écosystème, comment inactiver spécifiquement l'agent pathogène ? Réponse : utiliser une bactérie symbiotique de l'insecte et, par transgenèse, rendre cette bactérie destructrice de l'agent pathogène. Le comportement coprophage de l'insecte permet alors une dissémination de la bactérie transgénique. Telle est la stratégie envisagée aujourd'hui pour prévenir une maladie fréquente en Amérique du Sud et centrale, la maladie de Chagas [1]. Celle-ci est causée par un parasite, le trypanosome *Trypanosoma cruzi* véhiculé par l'insecte *Rhodnius prolixux*. La bactérie *Rhodococcus rhodnii*, qui colonise l'intestin de l'insecte, a été rendue « parasiticide » par l'introduction d'un gène codant pour une substance toxique pour le trypanosome, un peptide amidé de 37 acides aminés appelé cecropin A. Alors que dans ce modèle, l'insecte et la bactérie sont insensibles à la cecropin A, le peptide est fortement toxique pour le trypanosome *T. cruzi*. Lorsque la bactérie *R. rhodnii* contient le transgène *cecropin*, les premiers résultats montrent que la cecropin A est retrouvée spécifiquement dans l'intestin des insectes portant la bactérie génétiquement transformée. Des préparations d'intestins d'insectes colonisés par des bactéries recombinantes ont un effet lytique sur le trypanosome *T. cruzi*. Dans une étude *in vivo* portant sur des insectes parasités par le trypanosome, l'effet antiparasitaire du transgène peut être total (70 % des cas) ou partiel (réduction de 10 à 100 fois de la concentration parasitaire intestinale). Enfin, une dispersion efficace de la bactérie transgénique dans la population des insectes a pu être réalisée à l'aide de

préparations artificielles de fèces imprégnées de bactéries recombinantes. L'ensemble de ces résultats démontre clairement la faisabilité d'une démarche tout à fait originale pour limiter voire prévenir de nombreuses maladies touchant aussi bien les végétaux que des populations humaines ou animales.

[1. Durvasula RV, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 : 3274-8.]

Association Française de Lutte contre LA MUCOVISCIDOSE

L'Association Française de Lutte contre la Mucoviscidose lance un Appel d'Offres à 2 volets pour 1997

1. APPEL D'OFFRES « PROGRAMMES »
Regroupement, autour d'une hypothèse de travail, de plusieurs équipes complémentaires françaises ou étrangères qui travailleront de manière coordonnée pendant plusieurs années à sa réalisation.
Ces programmes doivent concerner l'une des thématiques suivantes :
- Thérapie génique pour la mucoviscidose,
- Physiopathologie de CFTR et stratégies de restauration,
- Infection/Inflammation : prévention de la destruction pulmonaire.

2. APPEL D'OFFRES « PROJETS »
Des projets innovants concernant toutes les thématiques de recherche sur la mucoviscidose, pour des équipes isolées ou en réseau, peuvent être proposés.
Pour ces 2 volets de l'appel d'offres :
- l'objectif principal doit être la recherche d'un traitement de la mucoviscidose,
- les demandes de bourses doctorales ou postdoctorales doivent être intégrées à ces programmes, projets ou réseaux,
- *les renseignements et formulaires sont à demander à :*

AFLM, 76, rue Bobillot, 75013 Paris
Fax : 01 45 80 86 44 ou - E-mail : aflm@casynet.fr

Date limite de dépôt des dossiers : 30 septembre 1997

SOCIÉTÉ DE BIOLOGIE

Collège de France, Paris, France

Journée Claude-Bernard
19 novembre 1997

Amphithéâtre de Stomatologie
Hôpital Pitié-Salpêtrière,
50/52, boulevard Vincent-Auriol,
75013 Paris, France

INVASION MÉTASTATIQUE TUMORALE

8 h 30 Accueil des participants - Introduction de Jacques PICARD
8 h 45 Claude GRISCELLI (Directeur général de l'Inserm) Introduction
9 h 00 Dominique STEHELIN (Cnrs, Institut Pasteur - Lille) Similitudes entre les mécanismes de néoangiogenèse et d'invasion tumorales
9 h 30 Jean-Paul THIERY (Cnrs, Institut Curie - Paris) Rôle des facteurs de croissance dans la dissémination métastatique
10 h 00 Jean-Marie BLANCHARD (Cnrs, IGM - Montpellier) Contrôle du cycle cellulaire et progression tumorale
10 h 30 ***Pause-café***
11 h 00 Marc MAREEL (Hôpital Université - Gand) E-cadhérine et α-caténine dans l'invasion cancéreuse
11 h 30 Daniel LOUVARD (Cnrs, Institut Curie - Paris) Rôle de l'ezrine dans la motilité des cellules épithéliales normales et tumorales
12 h 00 Jean FEUNTEUN (Cnrs, Institut Gustave-Roussy - Villejuif) Prédisposition génétique au cancer du sein et de l'ovaire
12 h 30 ***Déjeuner***
14 h 30 Henri ROCHEFORT (Inserm, Montpellier) Influence des œstrogènes et de la cathepsine D dans l'invasion métastatique des cancers du sein
15 h 00 Paul BASSET (Cnrs, IGBMC - Strasbourg) Les protéases extracellulaires d'origine stromale : contribution à la progression cancéreuse et perspectives thérapeutiques
15 h 30 Marie-France POUPON (Cnrs, Institut Curie - Paris) Effet de mutations de la protéine p53 sur la stabilité génomique et le potentiel métastatique dans une lignée humaine de cancer du côlon
16 h 00 ***Pause-café***
16 h 15 Jean BÉNARD (Institut Gustave-Roussy - Paris) Les facteurs oncogéniques de la dissémination métastatique du neuroblastome
16 h 35 Hugues de THÉ (Cnrs, Institut Hôpital Saint-Louis - Paris) La leucémie promyélocytaire, un modèle thérapeutique ciblé sur l'oncogène
17 h 00 Patricia PATERLINI (Inserm - Paris) Implications cliniques de la dissémination spontanée et iatrogène de cellules tumorales chez les patients avec cancer primitif du foie
17 h 30 ***Table ronde***

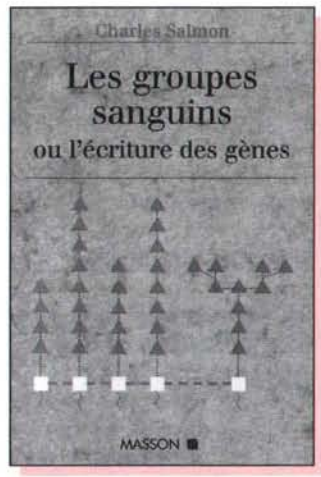
Inscription pour les communications et le lunch : Avant le 15-10-97 auprès du Secrétariat de la Société de Biologie, Collège de France, 3, rue d'Ulm - 75231 Paris Cedex 05, France
Tél. : 01 44 27 13 40

BIBLIOTHÈQUE

LES GROUPES SANGUINS
L'écriture des gènes

C. Salmon

Les groupes sanguins ne sont généralement connus du public que par leur aspect immunologique et leur application principale, la transfusion. Cet ouvrage prend le parti de présenter les groupes sanguins à partir des disciplines scientifiques qui en permettent l'approche, mettant l'accent sur la génétique et incluant les groupes sanguins dans les "empreintes génétiques" dont ils font partie. L'auteur explique comment les groupes sanguins relèvent aussi de la biochimie, de la biologie moléculaire moderne et de l'embryologie. Il décrit les applications des groupes sanguins en immunologie (transfusion, grossesses, greffes d'organes), en pathologie (autoimmunité) et en génétique aussi bien celle des individus (identité et paternité) que celle des populations humaines.



Éd. Masson, 1997, 208 pages, 250 F