

■■■ **Un défaut de protéines nucléaires à l'origine du diabète!** La mutation du gène codant pour le récepteur de l'insuline (*m/s n° 5, vol. 3, p. 305*) est une des multiples causes de la résistance des tissus à l'insuline, situation conduisant le plus souvent, à l'état hétérozygote, au diabète sucré non dépendant de l'insuline (DNID). Un défaut dans la régulation du gène normal est une autre cause probable, mais le mécanisme moléculaire impliqué dans ce phénomène reste encore difficile à identifier. Aujourd'hui, une équipe italienne vient de démontrer que la résistance à l'insuline pouvait être la conséquence directe d'une diminution de l'expression du gène codant pour le récepteur et proposent que la cause pourrait en être une importante diminution, voire l'absence de deux protéines nucléaires impliquées dans la transcription du gène [1]. Au niveau du promoteur de ce gène, deux régions d'ADN spécifiques (C2 et E3) liant des protéines nucléaires (encore inconnues) ont été identifiées; l'occupation de ces sites constituerait une étape essentielle pour l'activation de la transcription et l'expression tissulaire du récepteur de l'insuline. Une diminution importante de l'activité de liaison aux sites reconnus par ces protéines a été observée chez deux patients DNID, qui, bien que porteurs d'un gène normal, présentaient une forte résistance à l'insuline liée à une baisse de la capacité des cellules (lymphoblastes transformés *in vitro*) de lier l'insuline. Ce déficit était tout à fait corrélé à une diminution parallèle des ARNm du récepteur de l'insuline dans les cellules des patients [1]. En revanche, la concentration d'autres facteurs de transcription ubiquitaires, comme Oct-1 ou NFκB, était identique chez tous les sujets étudiés (témoins et diabétiques). Ces données rapportent pour la première fois un défaut apparent de facteurs de transcription impliqués dans le contrôle spécifique de l'expression du gène du récepteur de l'insuline. Si elles illustrent parfaitement l'étroite corrélation entre des facteurs de transcription spécifiques,

le niveau d'expression du récepteur de l'insuline et la résistance à l'insuline dans le DNID, elles pourraient ouvrir aussi un champ d'investigation encore totalement vierge dans le domaine du diabète. Cependant, les résultats rapportés restent préliminaires et demandent à être confirmés. En l'absence de toute information sur la nature des facteurs de transcription dont la fixation au promoteur du gène du récepteur de l'insuline apparaît diminuée, on ne sait en effet s'ils sont réellement en concentration abaissée (par un mécanisme qui pourrait être primaire ou secondaire), ou si une de leurs sous-unités, commune aux deux facteurs, est le siège d'une altération biochimique, éventuellement d'une mutation, inhibant la liaison à l'ADN. [1. Brunetti A, *et al. J Clin Invest* 1996 ; 97 : 258-62.]

■■■ **Mutation du récepteur de la GHRH (growth hormone-releasing hormone) et retard de croissance : après les souris, les hommes.** Il y a trois ans, le clonage de l'ADNc codant pour le récepteur de la GHRH (GHRH-R) avait rapidement été suivi de la mise en évidence d'une mutation inactivatrice du gène *GHRH-R* chez la souris naine *little* (*lit*) [1, 2]. Le GHRH-R fait partie de la famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G. Le gène humain codant pour le GHRH-R est localisé sur le chromosome 7p15 [3] et celui de la souris sur le chromosome 6. La souris *little* présente un déficit en hormone de croissance (GH) lié à une hypoplasie hypophysaire secondaire à l'atteinte au cours du développement embryonnaire des cellules somatotropes (exprimant le gène *GH*). Ce phénotype résulte d'une mutation ponctuelle transmise sur un mode autosomique récessif et modifiant l'acide aminé 60 (Asp⁶⁰ → Gly) situé dans la portion extracellulaire du GHRH-R (*m/s n°10, vol. 9, p. 1128*). L'activation du GHRH-R stimule l'adénylyl cyclase et cette propriété est perdue par le récepteur mutant de la souris *little*. Le modèle de la souris *little* est donc considéré comme un

exemple du rôle positif majeur joué par l'AMP cyclique dans la prolifération des cellules somatotropes ainsi que dans la synthèse et la sécrétion de la GH. MP Wajnrach, *et al.* [4], ont étudié le gène du GHRH-R chez deux cousins, issus d'une famille consanguine, atteints d'un retard de croissance sévère (-4,2 et -7,4 déviation standard). Ces deux patients présentent un déficit somatotrope complet avec une absence totale de réponse de la GH à différents tests de stimulation, dont l'injection unique ou répétée de GHRH. Leurs fonctions hypophysaires thyrotrope et lactotrope sont normales (à la différence des patients présentant une mutation du facteur de transcription hypophysaire Pit-1 qui présentent habituellement, associé au déficit en GH, un déficit de ces deux autres fonctions anté-hypophysaires). Comme il est observé chez les patients présentant un déficit sévère en GH, le traitement par cette hormone a permis d'obtenir, chez les deux cousins, une accélération importante de la vitesse de croissance. Une mutation du gène de la GH a d'abord été écartée chez ces deux patients. Les auteurs amplifièrent ensuite par PCR la portion d'ADN génomique codant pour la partie extra cellulaire du récepteur de la GHRH. Cette portion contient un intron de 126 pb. Une mutation (G → T) en position 265 est présente à l'état homozygote chez les deux patients, et conduit à la formation d'un codon stop en position 72 (Glu72Stop). Le produit de ce gène serait une protéine tronquée ne contenant aucun des domaines transmembranaires du récepteur. Cette mutation crée un site pour l'enzyme de restriction BfaI, ce qui a permis de détecter aisément cette mutation par digestion à l'aide de cette enzyme. Cette étude a confirmé que les parents, au phénotype sain, étaient hétérozygotes pour la mutation. Il sera intéressant d'avoir une appréciation en imagerie par résonance magnétique (IRM) du volume hypophysaire de ces patients, pour préciser le rôle du GHRH et de l'AMPc dans le développement hypophysaire global chez l'homme. Les tumeurs à GHRH

entraînant à l'inverse une hypersécrétion de GH responsable d'une acromégalie avec hyperplasie hypophysaire, il est tentant d'imaginer aussi que des mutations activatrices du GHRH-R pourraient être en cause dans des observations d'acromégalie. Cela allongerait la liste, de plus en plus fournie, des mutations activatrices des récepteurs à sept domaines transmembranaires impliquées dans des maladies endocriniennes.

[1. Lin SC. *Nature* 1993 ; 364 : 208-13.]

[2. Godfrey P, et al. *Nature Genet* 1993 ; 4 : 227-32.]

[3. Wajnrach MP, et al. *Mamm Gen* 1994 ; 5 : 595.]

[4. Wajnrach MP, et al. *Nature Genet* 1996 ; 12 : 88-90.]

■■■■ **Le TNF- α , un médiateur de la résistance à l'insuline chez les obèses.**

TNF- α est produit par les adipocytes et, par conséquent, sa sécrétion est plus abondante chez les obèses que chez les sujets maigres. Or, TNF- α est susceptible de jouer un rôle majeur dans la résistance à l'insuline, une caractéristique du diabète s'associant à la longue aux obésités importantes. Le traitement des cellules d'une lignée adipocytaire par le TNF- α aboutit à une diminution de l'autophosphorylation du récepteur de l'insuline stimulé par l'hormone et, également, à une augmentation de la phosphorylation de la protéine IRS-1 (*insulin receptor substrate*), une protéine relayant l'effet de l'insuline. Après traitement par l'insuline, IRS-1 est phosphorylé sur des résidus tyrosines alors que, après traitement par le TNF- α , il est phosphorylé sur des résidus sérines. L'autophosphorylation du récepteur de l'insuline et la phosphorylation d'IRS-1 sur des tyrosines sont diminuées après traitement des cellules adipocytaires par le TNF- α . Dans un système *in vitro*, la protéine IRS-1 isolée de cellules adipocytaires traitées par le TNF- α est capable de diminuer l'autophosphorylation du récepteur en présence d'insuline. Cet effet inhibiteur d'IRS-1 est supprimé lorsque cette protéine est préalablement déphosphorylée à l'aide de phosphatase alcaline. Afin de

démontrer que ces réactions surviennent également *in vivo* chez les obèses, Hotamisligil et al. du laboratoire de Bruce M. Spiegelman (Boston, MA, USA) ont isolé la protéine IRS-1 à partir d'adipocytes, de cellules musculaires, hépatiques et spléniques, de rongeurs génétiquement obèses (souris *db/db*, rat *fa/fa*) et ont testé son pouvoir inhibiteur sur l'autophosphorylation du récepteur de l'insuline en présence de l'hormone [1]. L'autophosphorylation du récepteur est diminuée de près de 50 % par l'IRS-1 extrait d'adipocytes et de tissus musculaires d'animaux obèses, mais pas par l'IRS-1 de foie et de rate ; ces résultats coïncident avec l'insulino-résistance observée au niveau du muscle et du tissu adipeux. L'effet inhibiteur de l'IRS-1 d'animaux obèses est supprimé par un traitement préalable à l'aide d'une phosphatase. L'insuline étant une hormone lipogénique, la sécrétion de TNF- α pourrait, physiologiquement, jouer un rôle de rétrocontrôle de la stimulation insulinique et, en cas d'obésité de différentes origines, être l'un des principaux responsables de l'insulino-résistance au niveau du muscle et du tissu adipeux, et ainsi de l'apparition du diabète et des complications dégénératives associées. Ces résultats suggèrent que IRS-1, phosphorylé sous l'influence du TNF- α par des protéines kinases spécifiques des résidus sérines et thréonines, interagit, directement ou indirectement, avec le récepteur de l'insuline dont il bloque l'autophosphorylation et la phosphorylation d'IRS-1 sur des tyrosines.

[1. Hotamisligil GS, et al. *Science*, 1996 ; 271 : 665-8.]

■■■■ **Le transporteur de l'iode enfin identifié.**

Les cellules des follicules thyroïdiens possèdent la capacité d'accumuler l'iode plasmatique grâce à un système de transport actif. L'iode ainsi capté se fixe sur les résidus tyrosine de la thyroglobuline, précurseur des hormones thyroïdiennes. La défaillance du système de capture de l'iode est à la base de l'une des maladies génétiques conduisant à une hypothyroïdie. Tragiquement, le système de capture est aussi impliqué dans

l'accumulation de l'iode radioactif au niveau de la thyroïde, comme on l'a vu à la suite des accidents des centrales nucléaires. Toutefois, la « pompe » responsable du transport membranaire de l'iode n'avait pas encore été caractérisée. Une équipe américaine vient d'identifier ce maillon qui faisait défaut pour la compréhension de la physiopathologie thyroïdienne [1]. En utilisant une technique de criblage fonctionnel (injection d'ARNc dans des ovocytes de xénope suivie de la mesure de l'incorporation d'iode), ces chercheurs ont cloné l'ADNc codant pour le transporteur à partir d'une lignée de cellules thyroïdiennes de rat. La protéine correspondante est constituée de 618 acides aminés et semble former 12 segments transmembranaires. Comme le précurseur ne possède pas de peptide signal, il est probable que les segments amino- et carboxy-terminaux de la protéine soient orientés vers le cytoplasme. A l'appui de cette hypothèse, la sixième et dernière boucle extracellulaire présente deux sites potentiels de glycosylation et le segment aminoterminal possède une séquence Lys-Arg-Ser-Ser susceptible d'être phosphorylée par une protéine kinase. Trois acides aminés chargés localisés au niveau des premier, deuxième et sixième domaines transmembranaires pourraient être impliqués dans le système de symport Na⁺/I⁻. Quatre résidus leucine forment un motif de glissière de leucines (*leucine-zipper*) qui pourrait permettre l'assemblage de sous-unités au sein de la membrane. Les comparaisons de séquence montrent que le transporteur de l'iode présente une certaine similitude avec le co-transporteur du glucose. Enfin, une analyse par *Northern blot* a confirmé que le gène codant pour le transporteur de l'iode est exprimé sélectivement dans la thyroïde. La caractérisation du transporteur de l'iode constitue une avancée importante pour la compréhension du fonctionnement de la cellule du follicule thyroïdien et ouvre de nouvelles perspectives sur le plan de l'endocrinologie clinique.

[1. Dai G, et al. *Nature* 1996 ; 379 : 458-60.]