

■■■■ **L'odorat trouve sa place sur les chromosomes.**

Les anosmies spécifiques ont une base génétique. Chez l'homme, plusieurs anosmies spécifiques ont été décrites, l'analyse de l'une d'elles (l'anosmie pour le pentadécalactone) ayant montré qu'il s'agissait d'un caractère génétique récessif. Ces observations associées à l'étude du comportement olfactif de jumeaux monozygotes sont en faveur de l'existence de gènes de l'anosmie spécifique. Par une approche génétique originale, l'anosmie spécifique à l'acide isovalérique a pu être mise en relation directe avec l'existence de deux *loci* présents sur les chromosomes 4 et 6 chez la souris [1]. Cette stratégie a consisté à croiser entre elles, pendant au moins 20 générations, deux lignées de souris, l'une sensible (lignée DBA/2J) et l'autre insensible (lignée C57BL/6J) à l'acide isovalérique. Les souris mâles et femelles issues du premier croisement sont toutes capables de détecter cet odorant, montrant ainsi que l'anosmie à l'acide isovalérique est un caractère récessif et non lié au sexe. Après entrecroisements successifs des souris sur 20 générations, des lignées de souris homozygotes à plus de 98 % pour les *loci* qui distinguent les deux fondateurs sont testées pour leur capacité de détecter l'acide isovalérique. Sur 13 lignées étudiées, 10 lignées ont le phénotype osmique dominant (DBA/2J) et 3 lignées sont anosmiques comme le fondateur C57BL/6J. Une étude informatisée permettant de comparer le profil de transmission de ces phénotypes avec une information génotypique préalablement établie et portant sur 900 *loci* permet d'identifier deux *loci* (sur les chromosomes 4 et 6) responsables du comportement osmique des souris. Il a pu être établi que les deux *loci* jouent un rôle dans la détermination du phénotype osmique, l'héritage de l'un des deux au moins étant nécessaire pour le comportement osmique. Cette approche génétique qui repose sur une différence phénotypique entre deux

lignées de souris constitue une méthode tout à fait puissante pour identifier des produits de gènes jouant un rôle dans la détection olfactive. L'isolement des séquences génomiques de ces 2 *loci* facilitera la recherche de gènes de récepteurs olfactifs dont la plupart sont orphelins [2] et l'analyse des différences entre les multiples récepteurs olfactifs de ces deux lignées C57BL/6J et DBA/2J. Elle pourra sans aucun doute s'appliquer à l'étude d'autres comportements sensoriels.

[1. Griff IC, *et al. Cell* 1995; 83: 407-14.]

[2. Parmentier M, *et al. médecine/sciences* 1994; 10: 1083-90.]

■■■■ **Quelques mesures de la leptine chez l'homme: est-elle en cause dans les variations de poids ?**

La découverte de la leptine par l'équipe de Friedman (New York, USA) [1], dont la mutation est responsable de l'obésité génétique des souris *ob/ob*, a créé un espoir, relayé par la grande presse, de tenir là le produit miracle nous permettant de ne pas devenir obèses (*m/s n° 12, vol. 10, p. 1337*). L'injection de leptine aux souris leur permet de retrouver un poids normal par deux mécanismes: une diminution de la prise de nutriments associée à une augmentation de l'activité physique [2]. L'équipe de Friedman publie les premiers résultats d'une étude de la protéine Ob chez l'homme [3]. La leptine plasmatique a été mesurée chez 87 sujets, minces ou obèses, 59 Américains de toutes ethnies et 28 Indiens Pima, groupe ethnique chez lequel la prévalence de l'obésité est élevée. Il existe une relation linéaire significative entre la masse corporelle et le logarithme de la concentration de leptine ($r = 0,7, p < 0,001$), encore plus étroite si la concentration de leptine est rapportée à la masse grasseuse. Les concentrations de leptine sont cependant très variables d'un

sujet à l'autre (facteur 10), des sujets obèses pouvant avoir une concentration de leptine basse. La réduction de poids à la suite d'un régime alimentaire s'accompagne toujours d'une diminution de la leptine, d'autant plus marquée que la concentration initiale était élevée. Lorsque ces obèses regagnent du poids, leur concentration plasmatique de leptine s'élève à nouveau. Que nous apprend cette étude sur la place de la leptine dans la régulation du poids chez l'homme ? Elle est certainement un marqueur de la masse de tissu grasseux, mais n'est-elle que cela ? Les concentrations élevées de leptine chez les obèses sont-elles un signe de résistance à ses effets, partielle ou totale ? De plus, la diminution de la leptine après régime amaigrissant est-elle une des raisons du nombre extrêmement élevé de rechutes après amaigrissement ? Si cela était le cas, l'administration de fortes doses de leptine à ces sujets pourrait peut-être permettre un maintien de la perte de poids en supprimant la sensation de faim et en augmentant la dépense énergétique. Il est trop tôt pour conclure, d'autant que l'obésité est de toute évidence multifactorielle [4]. Ce sujet n'a pas fini de nous passionner.

[1. Hallas JL, *et al. Science* 1995; 269: 543-6.]

[2. Kahn A. *médecine/sciences* 1995; 11: 1463-4.]

[3. Maffei M, *et al. Nature Genet* 1995; 1: 1155-61.]

[4. Strosberg AD, Manning BStJ. *médecine/sciences* 1995; 11: 1460-2.]

■■■■ **Cheveux roux et peau sensible aux UV sont génétiquement déterminés.**

Parmi les phénotypes transmis dans une descendance, les cheveux roux ont toujours intrigué les chercheurs et fait l'objet de multiples hypothèses dont aucune n'a pu être confirmée. Le sujet n'est pas sans importance puisque les che-

veux roux sont habituellement associés à une peau claire, pauvre en eumélanine et particulièrement sensible aux rayons UV. Un groupe de chercheurs britanniques (Newcastle upon Tyne et Edinburgh, UK) vient d'apporter la preuve d'une association entre le phénotype cheveux roux/peau claire et une variation génétique identifiée [1, 2]. Chez un certain nombre de mammifères, la proportion relative de phaeomélanine et d'eumélanine est contrôlée par l'hormone de stimulation des mélanocytes (MSH) et son récepteur (MC1R). Chez des sujets sélectionnés par leur phénotype, les auteurs ont exploré le gène *MC1R*. Ils ont trouvé 80 % de variants chez les roux contre seulement 20 % chez les témoins et 4 % chez les sujets répondant aux UV par une pigmentation. Il est peu probable que tous les variants identifiés aient une valeur fonctionnelle; mais le plus fréquemment retrouvé, Asp²⁹⁴ → His, modifie un Asp conservé au cours de l'évolution et introduit un résidu basique dans le septième domaine transmembranaire du récepteur d'une protéine G. Deux autres mutations troublent la structure alpha-hélicoïdale d'un autre domaine transmembranaire. L'exploration, à partir des premières données, d'une série plus longue, a confirmé les résultats. Deux points restent à éclaircir. S'agit-il d'un trait dominant ou récessif? Les données sont discordantes, et des études familiales s'imposent. La fréquence de plusieurs variants dans le même allèle est fréquente, et demande aussi des explications.

[1. Valverde P, *et al. Nature Genet* 1995; 11: 328-30.]

[2. Spritz RA. *Nature Genet* 1995; 11: 225-6.]

■■■■ **Un modèle transgénique de neurodégénérescence causé par l'expansion de trinuécléotides CAG.** Il existe aujourd'hui cinq maladies neurologiques dont le mécanisme est l'augmentation du nombre de trinuécléotides CAG dans la séquen-

ce codante de gènes différents: l'atrophie musculaire spino-bulbaire (*m/s n° 7, vol. 7, p. 752*), la maladie de Huntington (*m/s n° 4, vol. 9, p. 488*), l'ataxie spino-cérébelleuse de type 1 (*m/s n° 8-9, vol. 9, p. 1003*), l'atrophie dentatorubrale-pallidoluysienne (*m/s n° 4, vol. 10, p. 472*) et l'ataxie spino-cérébelleuse de type 3 ou maladie de Machado-Joseph [1]. Dans tous les cas, l'allèle muté peut coder pour une protéine possédant une longue répétition de glutamines. Beaucoup d'arguments plaident en faveur d'un mécanisme pathogénique par gain de fonction plutôt que par perte de fonction. En effet, l'atrophie musculaire spino-bulbaire est liée à une mutation du récepteur des androgènes. L'absence de ce récepteur crée le syndrome du testicule féminisant et non pas la maladie neurologique. Des souris transgéniques dont les deux allèles du gène de la huntingtine, en cause dans la chorée de Huntington, ont été invalidés par recombinaison homologue, ont une symptomatologie neurologique très différente de celle de cette maladie. La nature de ce gain de fonction associée à la présence d'une répétition de glutamines accrue n'est pas connue, encore que de nombreux arguments théoriques et expérimentaux suggèrent qu'une interaction anormale entre des protéines cellulaires et la répétition de glutamines pourrait être en cause (*m/s n° 4 vol. 10, p. 472*) [2, 3]. Malheureusement, on n'était pas parvenu jusqu'à présent à reproduire chez l'animal la symptomatologie des affections concernées par transfert des allèles humains liés à ces maladies, c'est-à-dire contenant une expansion de leur répétition de trinuécléotides. C'est dire l'intérêt des résultats de Burchette *et al.* (Minneapolis MN et Houston TX, USA) qui rapportent que des souris transgéniques exprimant à un fort niveau un allèle morbide *SCA1* (en cause dans l'atrophie spino-cérébelleuse de type 1) avec une répétition de 82 trinuécléotides CAG développent un syndrome neurologique de

type ataxique, avec dégénérescence des cellules de Purkinje [4]. Le fort niveau d'expression dans ces cellules du transgène morbide est assuré par l'utilisation de régions régulatrices d'un gène normalement fortement exprimé dans le cervelet, le gène *Pcp2*. La symptomatologie observée est bien due à l'expression de l'allèle morbide car des souris transgéniques exprimant un allèle humain normal à un niveau comparable n'ont aucune symptomatologie neurologique anormale. Cependant, cette expérience apporte peu de renseignements sur le mécanisme pathogénique car la protéine mutée est pratiquement indétectable dans les tissus cibles du processus dégénératif. Cela pourrait indiquer qu'elle est spécifiquement dégradée. Peut-on supposer qu'elle entraîne dans cette dégradation un partenaire cellulaire avec lequel elle interagirait spécifiquement?

[1. Mota Vieira L. *médecine/sciences* 1995; 11: 109-11.]

[2. Li XJ, *et al. Nature* 1995; 378: 398-402.]

[3. Trotter Y, *et al. Nature* 1995; 378: 403-6.]

[4. Burchette N, *et al. Cell* 1995; 82: 937-48.]

■■■■ **Il existe bien plusieurs gènes responsables de l'anémie de Fanconi.** L'anémie de Fanconi est une maladie autosomique récessive caractérisée au niveau cellulaire par des cassures chromosomiques et une sensibilité particulière aux agents pontants, diepoxybutane et mitomycine C [1]. Des études de fusion cellulaire ont dissocié l'anémie de Fanconi en au moins cinq groupes de complémentation (FA-A à FA-E), dont FA-A est le plus fréquent (50 % des cas environ). Cette hétérogénéité, jointe à la relative rareté de la maladie, a rendu jusqu'à présent difficile le clonage positionnel des gènes responsables. Seul le gène *FAC*, responsable d'environ 15 % des cas d'anémie de Fanconi, avait été cloné et localisé en 9q22.3 [2]. Récemment, deux

équipes ont, par des approches différentes, localisé deux autres gènes et confirmé de ce fait l'hétérogénéité génétique de la maladie. En ce qui concerne le groupe de complémentation A, le point de départ a été l'étude de plusieurs familles d'Afrique du Sud dans lesquelles étaient retrouvés des mariages consanguins [3]. L'approche méthodologique a été une étude de liaison du gène *FAA* avec des microsatellites polymorphes. Les auteurs ont, dans un premier temps, éliminé ainsi une hypothèse de liaison au chromosome 20. Ils ont ensuite étendu leur investigation à la totalité du génome; des éliminations successives leur ont permis de mettre en évidence une liaison majoritaire au marqueur *D16S520* et de localiser ainsi le gène responsable en 16q24.3. Aucun gène susceptible d'expliquer les lésions chromosomiques n'est actuellement connu dans cette zone, et une cartographie plus résolutive ainsi que l'étude de nouvelles familles s'avère nécessaire. L'existence du même déséquilibre de liaison strict dans toutes les familles Afrikanders connues évoque très fortement la notion d'un effet fondateur. La localisation du gène impliqué dans le groupe de complémentation D repose sur une autre approche [4]. Il s'agit, en effet, d'une forme plus rare, ce qui rendait difficile une étude de familles. La méthodologie utilisée a été le transfert de chromosomes humains individuels dans une lignée immortalisée de fibroblastes d'un malade. Seul le chromosome 3 conférerait à cette lignée une résistance aux agents pontants. Une localisation plus précise est partie du fait que plusieurs des chromosomes 3 transférés présentaient des délétions ou réarrangements: certaines portions du chromosome n'étaient donc pas responsables de la complémentation. Après étude de liaison avec des marqueurs, la zone incluant le gène *FAD* a pu être limitée entre 3p22 et 3p26 sur le bras court du chromosome. Deux gènes impliqués dans la

réparation de l'ADN, *HHRAD23B* et *XP-C* (impliqué dans le xeroderma pigmentosum groupe C), seraient des candidats potentiels. Le travail, là aussi, n'en est qu'à une étape préliminaire.

[1. Moustacchi E. *médecine/sciences* 1994; 10: 979-85.]

[2. Strathdee CA, *et al. Nature Genet* 1992; 1: 196-8.]

[3. Pronk JC, *et al. Nature Genet* 1995; 11: 338-40.]

[4. Whitney M, *et al. Nature Genet* 1995; 11: 341-3.]

■■■■ Une composante génétique de l'asthme commence à se préciser.

L'asthme est une maladie complexe qui associe, entre autres, hyperréactivité bronchique à divers *stimuli*, réactions inflammatoires et élévation des IgE sériques. Les études familiales ont démontré l'existence d'une composante génétique sans doute multifactorielle, d'identification difficile. Plusieurs abords récents valent d'être signalés. Un travail dont les auteurs sont hollandais (Groningen, Pays-Bas) et américains (Baltimore, MD, USA) permet une première approche [1]. Les auteurs sont partis du fait que l'hyperréactivité bronchique est constamment associée à l'atopie, même si l'inverse n'est pas toujours vrai, et qu'ils avaient identifié un *locus* majeur de contrôle des IgE sur le chromosome 5. Dans des fratries bien définies, ils ont procédé à une analyse de liaison entre l'hyperréactivité bronchique à l'histamine et les marqueurs du chromosome 5q et ont pu montrer l'existence d'une liaison statistiquement significative à plusieurs marqueurs de la région 5q31-q33. Cette région est riche en gènes candidats du fait de l'implication de leurs produits dans les phénomènes inflammatoires (cytokines, facteurs de croissance et leurs récepteurs), et il est encore trop tôt pour savoir si un ou plusieurs de ces gènes sont en cause dans l'asthme. Un autre travail a été effectué par une équipe australienne (Melbour-

ne) [2]. L'étude a porté, là aussi, sur un certain nombre de fratries, entre les membres desquelles était partagé un phénotype: asthme, hyperréactivité bronchique testée à l'aide d'une variante d'agent cholinergique, le chlorure de métacholine, avec ou sans atopie, atopie isolée. Le marqueur exploré a été ici un microsatellite extrêmement polymorphe situé dans l'intron 5 du récepteur des IgE (Fcε RIβ) sur le chromosome 11q13. Les auteurs ont mis en évidence une liaison très significative entre ce marqueur et l'asthme et/ou l'hyperréactivité bronchique, avec ou sans atopie, liaison qui n'est pas retrouvée avec une atopie isolée. Le rôle du gène lui-même n'est cependant pas démontré et il pourrait n'intervenir que comme marqueur. Il faut rapprocher de ces travaux médicaux une recherche expérimentale coopérative coordonnée par JM Drazen (Boston, MA, USA) [3]. L'hyperréactivité bronchique a été étudiée en réaction à la métacholine, dans différentes souches de souris, A/J qui présentent un phénotype asthmatiforme, et C57BL/6J à titre de témoins, ainsi qu'aux animaux de croisement de première et deuxième génération. Pour réduire les causes de variabilité, seuls les mâles de 8 semaines ont été étudiés. Les résultats, chez les animaux hétérozygotes, suggèrent une transmission autosomique dominante; la dispersion des résultats est en faveur d'un trait polygénique. Chez ces souris aussi ont été pratiquées des études de liaison avec des marqueurs chromosomiques. Trois *loci*, *Bhr1*, *Bhr2* et *Bhr3*, respectivement situés sur les chromosomes 2, 15 et 17 sont responsables d'environ 26% de la variabilité observée, une place importante devant être laissée à des facteurs d'environnement. Il semble aussi que l'action des différents *loci* ne soit pas additive mais intriquée dans des interactions épistatiques. Bien qu'encore très incomplètes ces recherches commencent à cerner une pathologie polygénique, de

plus très modulée par les conditions d'environnement.

[1. Postma DS, *et al. N Engl J Med* 1995; 333: 894-900.]

[2. Van Herwerden, *et al. Lancet* 1995; 346: 1262-5.]

[3. De Sanctis GT, *et al. Nature Genet* 1995; 11: 150-4.]

■■■■ **Les registres paroissiaux suédois à l'aide de la localisation d'un des gènes du syndrome de Larsen.**

Le syndrome de Larsen se transmet sur le mode dominant ou récessif. Cette dysplasie squelettique caractérisée essentiellement par des dislocations multiples des grosses articulations est donc certainement hétérogène [1]. Aucun *locus* n'a été proposé jusqu'à présent. Une équipe française [2] a pu exclure toute liaison avec les principaux gènes du collagène. Une équipe belge [3] a rapporté les cas de deux enfants, non apparentés, atteints d'un syndrome de Larsen, et qui présentaient le même remaniement chromosomique déséquilibré impliquant les chromosomes 1 et 6. Aucune conclusion n'a pu être tirée de l'analyse de ces régions candidates. C'est donc pour la première fois qu'une localisation vient d'être trouvée. Une équipe suédoise [4] a observé deux enfants, atteints de syndrome de Larsen. On ne leur connaissait pas d'apparentement, mais leurs grands-parents étaient originaires d'un même village de l'ouest de la Suède. En recherchant dans les registres paroissiaux du comté, il fut possible de retrouver le couple d'ancêtres commun à ces deux enfants, remontant à sept générations et vivant dans les années 1750. Après avoir établi l'arbre généalogique rassemblant les deux branches de cette grande famille et recueilli le maximum de prélèvements, une étude multipoint fut réalisée à l'aide de marqueurs de Généthron sur l'ADN de 48 personnes (dont 26 sujets atteints). L'exploration de l'ensemble du génome permit de trouver une localisation sur le bras

court du chromosome 3 en p21-p14 et de montrer que le *locus LARI* se situe dans une région de 14 cM entre le marqueur *D3S1581* et *D3S1600*. Un gène du collagène de type 7, *COL7A1*, étant situé à proximité [5], il était légitime de le retenir comme candidat, sans en être vraiment convaincu puisqu'il s'exprime surtout dans l'épithélium stratifié de la peau et des muqueuses et que ses mutations sont responsables d'une maladie cutanée sévère, à savoir une forme dystrophique d'épidermolyse bulleuse [6]. De fait, des recombinaisons furent observées chez deux des malades de cette grande famille, excluant donc sa responsabilité dans le syndrome de Larsen. Mais cette étude suédoise a encore un autre intérêt car elle souligne l'habituelle méconnaissance du syndrome de Larsen : les deux cas index mis à part, le diagnostic n'avait été porté pour aucun des nombreux sujets atteints de la famille, bien qu'ils aient présenté des atteintes articulaires typiques et que certains d'entre eux aient subi de multiples interventions chirurgicales correctrices. Il reste maintenant à voir si cette localisation en 3p21 est retrouvée dans d'autres familles non suédoises. Il sera très facile de le vérifier rapidement dans la forme autosomique dominante fréquente dans la population de l'île de la Réunion, puisque l'incidence de la maladie de Larsen est de 1/1 500 naissances.

[1. Maroteaux P. *Arch Pediatr* 1975; 32: 597-600.]

[2. Bonaventure J, *et al. J Med Genet* 1992; 29: 465-70.]

[3. Pierquin G, *et al. Hum Genet* 1991; 87: 587-91.]

[4. Vijic M, *et al. Am J Hum Genet* 1995; 57: 1104-13.]

[5. Christiano AM, *et al. Genomics* 1992; 14: 827-8.]

[6. Christiano AM, *et al. J Biol Chem* 1994; 269: 20256-62.]

■■■ **L'ARN polymérase attelée.**

L'ARN polymérase parcourt le gène pour en recopier l'un des brins en ARN. Parfois, cette polymérase a à faire face à des contraintes mécaniques qu'il lui faut surmonter pour poursuivre sa tâche : chromatine compacte, complexes de protéines régulatrices fixées à l'intérieur des gènes, conformation particulière de certaines régions d'ADN, contrainte topologique, etc. Nous avons vu il y a quelques mois que certaines protéines auxiliaires, appelées facteurs d'élongation, assistaient l'ARN polymérase dans cette tâche. L'importance d'une régulation fine de l'élongation est particulièrement bien illustrée chez les mammifères par la découverte du gène de la maladie de von Hippel Lindau. Le produit de ce dernier, la protéine VHL, est en effet un régulateur négatif de l'élongation dont le déficit est associé à une particulière susceptibilité au développement de tumeurs (*m/s n° 11, vol. 11, p. 1603*). Afin de préciser la force qu'était capable de développer une molécule d'ARN polymérase en action, quatre équipes associées de biophysiciens américains viennent de mettre au point un système d'une remarquable ingéniosité [1]. Le principe de cette technique consiste à fixer une molécule d'ARN polymérase d'*Escherichia coli* sur une lame de verre, et de la mettre en contact d'un gène à transcrire à l'extrémité duquel est fixée une minuscule bille de polystyrène emprisonnée dans un dispositif de faisceaux laser jouant le rôle d'une pince optique. Ce dispositif définit un champ de potentiel minimum au centre et de valeur croissante en allant vers la périphérie. Au départ, la bille de polystyrène est normalement localisée dans la zone de potentiel minimum. Lorsqu'un mélange réactif complet, comportant les nucléotides, est ajouté, l'ARN polymérase entre en action. Puisqu'elle ne peut pas elle-même bouger, fixée qu'elle est à son support, c'est la molécule d'ADN qui la parcourt progressivement. Cela

entraîne un déplacement de la bille de polystyrène qui s'arrête lorsque celle-ci rencontre un champ équilibrant exactement la force mécanique développée par l'ARN polymérase. Cette force mécanique peut donc être rapidement calculée d'après l'importance du déplacement de la bille. Cette force est évaluée à 14 piconewtons, ce qui est tout à fait considérable si on la compare aux valeurs généralement trouvées pour les moteurs moléculaires décrits jusqu'à présent, de type kinésine ou myosine [2]; dans ces cas, en effet, la force ne dépasse guère 6 piconewtons. On ne connaît pas du tout le mécanisme du développement par l'ARN polymérase d'une telle force mécanique. L'énergie semble provenir de l'utilisation du pyrophosphate libéré lors de l'intégration des nucléotides monophosphates dans l'ARN. Une amélioration du dispositif optique décrit par les auteurs permettra probablement, dans le futur, d'étudier non seulement la force développée par une polymérase arrêtée, mais également les modifications de la force d'une polymérase en action, et l'influence sur celle-ci de divers modulateurs.

[1. Yin H, *et al. Science* 1995; 270: 1653-7.]

[2. Eldin P, *et al. médecine/sciences* 1995; 11: 1005-16.]

■■■ **CD40 et son ligand: quel est le récepteur, quel est le ligand?**

Le cartésianisme des lecteurs de *médecine/sciences* aussi bien que la tradition établissent que, par définition, un ligand est la molécule qui, par son contact avec un récepteur, adresse un signal à la cellule synthétisant ce dernier. En réalité, les exemples sont maintenant nombreux où le récepteur et le ligand sont tous deux des protéines transmembranaires pouvant être à l'origine de la transmission intracellulaire d'un signal, si bien qu'il devient prati-

quement impossible de s'en tenir à cette définition classique et de bon sens. En fait, le récepteur est souvent la première molécule caractérisée, son partenaire présenté par une autre cellule étant alors *ipso facto* appelé ligand. C'est ainsi que le récepteur CD40 a d'abord été caractérisé comme une molécule présente à la surface des lymphocytes B et indispensable à leur stimulation et à leur prolifération. Le ligand de CD40, présent à la surface des lymphocytes T auxiliaires CD4⁺, a ensuite été identifié par sa capacité de stimuler les lymphocytes B par l'intermédiaire de CD40[1]. Les souris déficientes en CD40 ou en ligand de CD40 ont un phénotype extrêmement proche: elles sont incapables de répondre à une stimulation antigénique par la synthèse d'anticorps d'isotypes IgG, IgA ou IgE, ainsi que de former des centres germinatifs, qui sont les sites de formation des cellules B à mémoire. La première interprétation de ces résultats était évidemment que l'absence du récepteur ou du ligand empêchait la transmission aux cellules B du signal nécessaire à leur différenciation. En réalité, la molécule CD40-ligand peut être également considérée comme un récepteur de CD40, responsable de la transmission d'un signal aux cellules T auxiliaires. En effet, une équipe anglo-japonaise (Londres et Osaka) vient de démontrer que l'injection à des souris CD40^{-/-} d'une forme soluble de CD40 restaurait l'aptitude à la formation de centres germinatifs. D'autre part, les cellules T de ces animaux CD40^{-/-} stimulés par un antigène donné sont incapables de coopérer avec des cellules B normales pour la formation de centres germinatifs et pour la commutation des classes isotypiques d'immunoglobulines. Par conséquent, CD40 stimule les lymphocytes T auxiliaires par l'intermédiaire de la molécule CD40-ligand, permettant alors à ces derniers de coopérer, notamment par l'intermédiaire de CD40, avec les lymphocytes B pour la formation des

centres germinatifs et pour la comutation des classes isotypiques d'immunoglobulines.

[1. Hérold C, *et al. médecine/sciences* 1995; 11: 669-80.]

[2. Van Essen D, *et al. Nature* 1995; 378: 620-3.]

■■■■ **Importance vitale du changement post-transcriptionnel Gln → Arg dans la sous-unité β du récepteur AMPA du glutamate.** *médecine/sciences* a déjà présenté à ses lecteurs le phénomène remarquable de modification post-translationnelle de la séquence du messager codant pour l'une des sous-unités du récepteur du glutamate sensible à l'AMPA (*m/s* n° 10, vol 7, p. 1098). Ce récepteur-canal est un hétéropolymère composé de quatre sous-unités (GluR-A, GluR-B, GluR-C, GluR-D); son imperméabilité au calcium est due à la présence de la sous-unité GluR-B dont le messager est le siège d'un étrange phénomène d'*editing* (dans le sens de « correction des épreuves ») changeant le codon glutamine 586 en un codon arginine. La séquence CAA subit en effet une désamination enzymatique en CIG (I = inosine), reconnaissant un ARN de transfert arginine. Afin de tester l'importance physiologique de ce phénomène d'*editing* (connu sous le nom de Q/R site editing), R. Brusa *et al.* [1] (Heidelberg, Allemagne) ont utilisé la technique de la recombinaison homologue conditionnelle pour transformer l'un des allèles codant pour GluR-B en une forme ne pouvant pas subir le phénomène d'*editing*. Cet *editing* dépend d'un élément ECS (*editing site complementary sequence*) situé dans l'intron 11. Ce site a été remplacé par un élément *loxP*, site de reconnaissance de la recombinaison Cre. Rappelons que la technique de recombinaison homologue associée au système *loxP*/Cre permet, après obtention des cellules ES ou des souris porteuses de l'événement de recombinaison homologue, de modifier la construction

génétique introduite en excisant, sous l'action de la recombinaison Cre, les séquences comprises entre deux éléments *loxP* [2]. Dans le cas présent, cela permet aux auteurs d'obtenir un allèle muté fonctionnel, dont ont été éliminées les séquences codant pour les gènes de sélection indispensables à l'isolement des cellules correctement modifiées. La modification de l'allèle par élimination de la séquence intronique ECS aboutit à une diminution de son expression globale de telle sorte que, chez les souris hétérozygotes, 25 % seulement du messager de la sous-unité GluR-B ne peuvent être « édités », alors que les 75 % restant, provenant de l'allèle non modifié, subissent presque totalement l'« édition » du codon 586. Malgré cela, les animaux hétérozygotes développent un syndrome convulsif de type épileptique débutant au treizième jour après la naissance et d'évolution extrêmement sévère puisque tous les animaux meurent avant le vingtième jour. Ces résultats démontrent le caractère tout à fait essentiel de l'imperméabilité des récepteurs AMPA au calcium, conséquence de l'*editing* faisant apparaître une arginine à la position 586 du messager codant pour la sous-unité GluR-B, alors que le codon présent sur le gène code pour une glutamine.

[1. Brusa R, *et al. Science* 1995; 270: 1677-80.]

[2. Viville S. *médecine/sciences* 1995; 11: 735-46.]

■■■■ **De l'influence de la bactérie *Campylobacter jejuni* sur le syndrome de Guillain-Barré: le poids des chiffres!** On a noté que le syndrome de Guillain-Barré, caractérisé par une paralysie neuromusculaire aiguë, survient très souvent à la suite d'une infection bactérienne par la bactérie Gram-négative *Campylobacter jejuni*, responsable de gastroentérite [1]. Pour la première fois, une équipe britannique a mené une

étude prospective, clinique et épidémiologique, sur la fréquence et les conséquences cliniques de l'infection *C. jejuni* chez une centaine de patients, de milieux hospitaliers différents, ayant développé un syndrome de Guillain-Barré [2]. Pour chaque patient étudié, un témoin vivant sous le même toit et un témoin d'âge proche, soigné dans le même hôpital mais n'ayant pas de neuropathie aiguë ni de diarrhées, ont été pris en compte. On a recherché chez tous les individus (âge moyen de 50 ans) les signes bactériologiques et sérologiques d'une infection par *C. jejuni*. Alors que 26 % des patients Guillain-Barré (rapport homme/femme de 3,5:1) ont eu une infection antérieure par la bactérie, moins de 2 % des témoins ont été infectés. Parmi les patients *C. jejuni*-positifs, 70 % ont eu des diarrhées (généralement aqueuses et précédant en moyenne de 9 jours la maladie neurologique), contre 7 % pour les patients *C. jejuni*-négatifs. L'analyse des symptômes neurologiques indique que la proportion de patients souffrant de déficits sensoriels, de douleurs ou de symptômes divers, est identique dans les deux groupes, comme le sont les degrés de faiblesse et d'incapacité motrice, au pic de la maladie. En revanche, 67 % des patients *C. jejuni*-positifs présentent une faiblesse comme premier signe, contre 36 % des patients *C. jejuni*-négatifs. Les patients *C. jejuni*-positifs retrouvent une marche autonome après environ 89 jours, contre 45 jours pour l'autre groupe. Après un an de suivi, une plus grande incapacité motrice résiduelle est observée chez les patients *C. jejuni*-positifs. Une étude électrophysiologique montre qu'une neuropathie axonale motrice aiguë ou une neuropathie axonale sensorielle et motrice est plus fréquente chez ces individus. Lorsqu'une polyradiculoneuropathie inflammatoire démyélinisante est associée, la dégénérescence axonale est deux fois plus fréquente que chez les individus *C. jejuni*-négatifs. Enfin, une analyse à variables multiples montre les effets

négatifs de l'augmentation de l'âge, de l'infection par *C. jejuni*, du besoin d'assistance respiratoire et de l'immobilisation sur le pronostic de la maladie. Ainsi, le double test mis en œuvre (bactériologique et sérologique) pour le diagnostic de l'infection bactérienne antérieure par *C. jejuni*, l'étude d'un échantillonnage élargi de patients et la prise en compte de deux témoins différents par patient, permettent de conclure à l'existence d'une relation étroite entre l'infection par *C. jejuni* et le syndrome de Guillain-Barré. En outre, le délai moyen de 9 jours entre l'infection bactérienne et la maladie neurologique suggère que celle-ci serait la conséquence de la réponse immunitaire à *C. jejuni* plutôt qu'un effet direct de la bactérie ou de ses toxines. L'infection antérieure par *C. jejuni* semble donc se traduire par une forme plus sévère de la maladie de Guillain-Barré.

[1. Fauchère J, Rosenau A. *médecine/sciences* 1991; 7: 138-52.]

[2. Rees JH, et al. *N Engl J Med* 1995; 333: 1374-9.]

■■■■ Vivre sans cyclo-oxygénases.

Les cyclo-oxygénases, dont il existe deux isoformes (COX-1 et COX-2) sont les cibles des anti-inflammatoires non stéroïdiens et de l'aspirine. COX-1 est d'expression ubiquiste et constitutive alors que COX-2 est avant tout synthétisée par les cellules inflammatoires et est inducible par les mitogènes et les médiateurs de l'inflammation (*m/s n° 4, vol. 10, p. 468*). Le traitement chronique par les anti-inflammatoires non stéroïdiens a deux effets secondaires prédominants: une toxicité gastrique, à type de susceptibilité au développement d'ulcères; et, en cas de traitement particulièrement prolongé, une toxicité rénale pouvant aboutir à l'insuffisance rénale terminale. Le laboratoire d'Oliver Smithies (Chapel Hill, MC, USA) vient d'obtenir par recombinaison homologue des lignées de souris déficientes en l'une ou l'autre de ces

cyclo-oxygénases. Les animaux déficients en COX-1 sont tout à fait normaux. Notamment, ils ne présentent aucune susceptibilité particulière au développement d'ulcères. Mieux, même, ils sont plutôt plus résistants au pouvoir ulcérogène de l'indométacine que les animaux normaux. Cette résistance de la muqueuse gastrique à l'indométhacine n'est pas due à une synthèse compensatoire de COX-2 chez ces animaux et suggère plutôt que le pouvoir ulcérogène des anti-inflammatoires non stéroïdiens n'est pas la conséquence directe de l'inhibition des cyclo-oxygénases. Les souris *cox-1^{-/-}* ont, comme on peut s'y attendre, une réponse inflammatoire à l'acide arachidonique diminuée [1]. Les souris déficientes en COX-2 ne présentent, elles non plus, aucune tendance au développement d'ulcères gastriques. Cependant, ces animaux développent au bout de quelques semaines de vie une néphropathie sévère avec sclérose des glomérules et néphropathie tubulo-interstitielle. Par ailleurs, les souris déficientes en *Cox-2* semblent être d'une particulière susceptibilité au développement de péritonites sévères [2]. Contrairement aux souris *cox-1^{-/-}*, les souris *cox-2^{-/-}* ne sont pas protégées de la réaction inflammatoire à l'administration d'acide arachidonique. Ces résultats sont tous étonnants, à l'exception de la symptomatologie rénale qui pouvait être prévue d'après l'observation des malades traités très longtemps par de fortes quantités d'anti-inflammatoires non stéroïdiens. Notamment, l'absence de susceptibilité des souris déficientes à ces produits, voire même peut-être la protection contre leurs effets délétères, doit amener à reconsidérer les mécanismes de leur toxicité gastrique.

[1. Langendach R, et al. *Cell* 1995; 83: 483-92.]

[2. Morhan SJ, et al. *Cell* 1995; 83: 473-82.]

■■■■ Mutation du récepteur c-Kit dans les mastocytoses avec désordres hématologiques.

La mastocytose est caractérisée par l'hyperplasie des mastocytes dans la moelle osseuse et divers organes. Il en existe au moins trois tableaux cliniques: une forme bénigne de mastocytose isolée, la mastocytose associée à des désordres hématologiques et des formes agressives, parfois leucémiques. La forme isolée comporte, avant tout, des manifestations cutanées et gastro-intestinales et des signes généraux dus à la libération des médiateurs actifs contenus dans les mastocytes (notamment l'histamine). La forme associée à des troubles hématologiques comporte, en outre, des manifestations myélodysplasiques ou myéloprolifératives. La forme agressive, d'évolution rapide, comporte un envahissement évolutif de la moelle et de différents organes par une population mastocytaire proliférant activement. Par ailleurs, on sait qu'une différenciation mastocytaire peut être obtenue à partir de précurseurs hématopoïétiques CD34⁺ [1] traités par le SCF (*stem cell factor*). Le SCF est le ligand du récepteur à activité tyrosine kinase c-Kit (*m/s n° 10, vol. 6, p. 1016; n° 12, vol. 11, p. 1759*). Ce récepteur c-Kit est synthétisé dans des cellules hématopoïétiques, les mastocytes, les mélanocytes et les cellules germinales. La protéine c-Kit était donc *a priori* un candidat crédible pour être le siège de mutations actives de la prolifération mastocytaire. De fait, Magata et al. du NIH (Bethesda, MD, USA) ont détecté une mutation Asp-816 → Val chez chacun de quatre malades atteints de mastocytose avec signes hématologiques associés, alors que les malades souffrant des autres formes de la maladie ne comportaient pas cette mutation. La mutation du codon 816 siège dans le domaine cytoplasmique et entraîne une autophosphorylation du récepteur indépendante de la présence du ligand [2]. Ces résultats confirment ce qui a été publié en 1993 par une autre équipe travaillant sur une lignée cellu-

laire établie à partir d'une leucémie à mastocytes [3]. Par conséquent, la mutation du codon 816 de c-Kit doit non seulement avoir une valeur diagnostique, mais aussi permettre de distinguer les différentes formes de mastocytoses.

[1. Hatzfeld J, *et al. médecine/sciences* 1993; 9: 1110-2.]

[2. Magata H, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 10560-4.]

[3. Furitsu H, *et al. J Clin Invest* 1993; 92: 1736-44.]

■■■■ **La double vie de l'angiotensine II!** Si le récepteur AT₁ de l'angiotensine II, une hormone peptidique aux multiples effets, est bien caractérisé, il n'en est pas de même pour l'autre récepteur, AT₂, dont l'expression est abondante dans les tissus fœtaux mais faible, voire inexistante chez l'adulte. En outre, bien que ses fonctions biologiques soient très mal connues, le fait que ce récepteur AT₂ réapparaisse dans des situations pathologiques, telles que la réparation tissulaire, l'hypertrophie cardiaque et l'altération vasculaire, suggère qu'il est impliqué dans la croissance et/ou la différenciation tissulaire. Cette hypothèse a été testée en utilisant une approche de « gain de fonction » par transfert de gène dans des muscles lisses vasculaires *in vivo* et en culture [1]. Dans une étude *in vivo* utilisant le modèle de l'artère carotide de rat ayant subi le *balloon injury*, il a été montré que les modifications attendues, c'est-à-dire le développement de la néo-intima par réplication et migration des cellules musculaires lisses dans l'intima, sont inhibées par la surexpression du récepteur AT₂. Cet effet inhibiteur du récepteur AT₂ sur la croissance cellulaire a été confirmé à l'aide d'un antagoniste spécifique des récepteurs AT₂, le PD123319, et lors d'une étude *ex vivo* réalisée sur des cellules musculaires lisses de rat adulte. Dans une lignée qui n'exprime que le récep-

teur AT₁, la surexpression du récepteur AT₂ commandée par transfert d'un vecteur d'expression, se traduit par une abolition de l'effet proliférant de l'angiotensine II (*via* AT₁). En outre, cet effet inhibiteur, bloqué en présence de PD123319, est relayé par une diminution de l'activation des MAP (*mitogen-activated protein*) kinases induite par le récepteur AT₁. Enfin, l'étude d'un troisième modèle, *in utero*, apporte une nouvelle pierre à ce concept de « double jeu » de l'angiotensine II sur la croissance cellulaire. En étudiant le développement de l'aorte d'un fœtus de rat de 16 à 21 jours (période au cours de laquelle les récepteurs AT₂ sont les plus nombreux et la croissance des cellules de l'aorte, donc la synthèse d'ADN est minimale), il a été observé que la molécule PD123319 administrée pendant trois jours est capable d'atténuer très fortement cette réduction de synthèse d'ADN au niveau de l'aorte, démontrant ainsi l'effet antiprolifératif majeur du récepteur AT₂ dans ce tissu. Ces résultats particulièrement étonnants démontrent que, au moins en ce qui concerne le développement du muscle lisse vasculaire, un même peptide peut avoir des effets antagonistes sur un même tissu, en relation directe avec le sous-type de récepteur activé. Cette situation, tout à fait exceptionnelle pour un peptide régulateur, nécessite des exigences inattendues pour le développement de futurs médicaments en pathologie humaine vasculaire.

[1. Nakajima M, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 10663-7.]

■■■■ **Inactivation du gène codant pour le récepteur guanylyl-cyclase A (GC-A) chez la souris.** Lopez *et al.* (Dallas, TX, USA) [1] ont effectué une inactivation du gène *GC-A* chez la souris par insertion du gène de résistance à la néomycine dans l'exon 4 qui correspond en partie au domaine de liaison extracellulaire du ligand; les cellules embryonnaires transfectées ont été injectées dans les blastocytes qui ont été im-

plantés chez des souris femelles pseudo-gestantes pour obtenir des mâles chimériques. Enfin, des hétérozygotes et des homozygotes ont été engendrés. La pression artérielle systolique des souris homozygotes s'élève de 27,4 mmHg, celle des hétérozygotes de 10,5 mmHg. Fait remarquable, la pression artérielle est indépendante des apports alimentaires en NaCl, restant inchangée chez les souris normales, hétérozygotes et homozygotes. Les concentrations de peptide atrial natriurétique (ANP) et d'aldostérone ne sont pas affectées par le génotype. L'examen histologique des reins, cœur et vaisseaux des homozygotes est normal. On considère que l'ANP libéré par le cœur exerce ses effets natriurétiques et vasorelaxants par l'intermédiaire du récepteur GC-A. Les résultats rapportés par Lopez *et al.* peuvent paraître surprenants: les effets de l'ANP sur le rein pourraient passer par d'autres récepteurs; la voie du GC-A prédomine dans l'action vasorelaxante et pourrait exercer cette fonction indépendamment de l'ANP. Ces résultats doivent être confrontés à ceux obtenus par inactivation du gène codant pour le pro-ANP [2]. Les souris homozygotes n'ont pas d'ANP détectable dans le plasma ni dans le cœur. L'hématocrite de ces animaux est un peu plus bas que celui d'animaux témoins, ce qui pourrait suggérer une augmentation du volume plasmatique. La pression artérielle basale est un peu plus élevée que chez les témoins et cette différence s'accroît quand le régime alimentaire est enrichi en NaCl. À l'inverse, comme l'avaient montré Steinhilper *et al.* [3], l'hyperexpression du gène codant pour l'ANP chez des souris transgéniques augmente l'ANP plasmatique et abaisse la pression artérielle sans induire de natriurèse (*m/s n° 4, vol. 7, p. 393*). [1. Lopez MJ, *et al. Nature* 1995; 378: 65-8.] [2. John SWM, *et al. Science* 1995; 267: 679-81.] [3. Steinhilper ME, *et al. Hypertension* 1990; 16: 301-7.]

■■■■ **Déficit immunitaire humain et murin entraîné par un déficit en kinase Jak3.** Le signal passant par l'activation des récepteurs de cytokines est relayé par le système des Janus tyrosine kinases (Jak) et les facteurs de transcription de type Stat (*m/s* n° 6, vol. 11, p. 916; n° 10, vol. 10, p. 1052) [1]. La kinase Jak3, spécifique du tissu hématopoïétique semble ainsi interagir avec la sous-unité γ_c , commune aux récepteurs des interleukines 2, 4, 7, 9 et 15 et seul partenaire connu de cette kinase. Des mutations de la sous-unité γ_c sont la cause du déficit immunitaire sévère combiné lié à l'X chez l'homme [2]. On pouvait donc supposer que cette kinase Jak3 jouait un rôle essentiel dans la transmission du signal des récepteurs de cytokine comportant la sous-unité γ_c . Deux équipes américaines de Memphis (TN, USA) et Cambridge (MA, USA) viennent d'obtenir des souris déficientes en la kinase Jak3 par invalidation des deux allèles grâce à la recombinaison homologue [3, 4]. Les souris présentent un déficit immunitaire marqué, avec lymphopénie. Le blocage du développement des lymphocytes B semble en fait plus important que celui des lymphocytes T. Cependant, les lymphocytes T périphériques ont une réponse proliférative diminuée avec production faible d'interleukine 2.

L'interaction fonctionnelle entre la sous-unité γ_c des récepteurs de cytokines et Jak3 laissaient penser qu'un déficit de cette tyrosine kinase devait avoir une symptomatologie proche de celle du déficit immunitaire combiné sévère lié à l'X. Russell *et al.* (Bethesda, MD, USA) ont donc sélectionné une femme ayant un tableau de déficit immunitaire tout à fait indistinguable de la forme liée à l'X, qui ne frappe évidemment que les hommes [5]. De fait, cette malade était porteuse d'une mutation différente sur chacun de ses allèles *JAK3*: une insertion d'un nucléotide avec décalage de phase conduisant à l'apparition d'un codon stop prématuré sur l'un des allèles, une mutation non sens sur l'autre. La Janus tyrosine kinase (Jak3) est donc bien spécialisée dans la transmission aux lymphocytes B et T des signaux véhiculés par des cytokines indispensables à la différenciation lymphocytaire.

[1. Kahn A. *médecine/sciences* 1994; 10: 202-5.]

[2. Hivroz C, *et al. médecine/sciences* 1995; 11: 268-72.]

[3. Nosaka T, *et al. Science* 1995; 270: 800-2.]

[4. Thomis DC, *et al. Science* 1995; 270: 794-7.]

[5. Russell SM, *et al. Science* 1995; 270: 797-800.]