

■■■ **Pré-sélection des peptides présentés au système immunitaire par leurs transporteurs TAP.** Les molécules de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH-I) transportent à la surface des cellules des peptides provenant de la dégradation des protéines cellulaires ou virales. Ceux-ci sont reconnus par les lymphocytes T CD8 cytotoxiques et, pour prévenir la destruction de ses propres tissus, l'organisme se débarrasse des lymphocytes T autoréactifs, soit par délétion, soit par inactivation. Plus le nombre de peptides du SoI présentés est grand, plus l'élimination des lymphocytes T est large et plus le répertoire T fonctionnel est limité. La mise en place d'un répertoire T suffisamment étendu pour permettre une lutte efficace contre les agressions est donc liée à la diversité des peptides du SoI. Un juste équilibre est naturellement atteint car tous les peptides ne sont pas présentables au système immunitaire. En effet, les caractéristiques des interactions CMH-I-peptides favorisent énormément la présentation de peptides de taille et de charge définies. La genèse et la translocation des peptides peuvent aussi être des étapes limitantes de leur diversité (*m/s n° 11, vol. 9, p. 1179 et 1284*). Il est clair maintenant que la séquence des transporteurs contribue au transport préférentiel de certains peptides. En outre, pour un couple de transporteurs donné, l'efficacité de transport est largement influencée par la nature de l'acide aminé N-terminal et de deux acides aminés de l'extrémité C-terminale [1]. Plus généralement, il apparaît que les transporteurs humains et certains allèles du rat transportent des peptides ayant une extrémité carboxylique hydrophobe ou basique alors que seuls les peptides ayant un acide aminé hydrophobe en position C-terminale sont « transloqués » efficacement par les transporteurs de souris et d'autres allèles de rat. Ces mêmes caractéristiques se retrou-

vent au niveau des associations peptide-CMH-I et suggèrent une évolution commune des différents intervenants du transport peptidique, aboutissant à la présentation performante d'un spectre large, mais limité, de peptides au système immunitaire.
[1. Momburg F *et al. Nature* 1994; 367: 648-51.]

■■■ **Transmission du signal: structure tridimensionnelle de la MAP-kinase ERK2.** C'est la troisième protéine kinase dont la structure tridimensionnelle soit résolue, après la protéine kinase dépendante de l'AMPc, cAPK, et la kinase dépendante des cyclines, CDK2 [1]. L'organisation générale des trois kinases est la même, avec une structure bilobée dans le creux de laquelle l'ATP vient se loger, et un domaine carboxyterminal qui lie le substrat. Mais les nouveaux éléments de structure de la MAP kinase permettent d'aborder les déterminants de la spécificité du substrat et le mécanisme de régulation de la MAP kinase par la phosphorylation. Les MAP kinases sont impliquées dans la transmission du signal en aval de Ras [2]; elles sont cytoplasmiques, et leur activité est stimulée par les facteurs de croissance. Elles ont pour particularité d'être phosphorylées par la MAP kinase kinase (MEK chez les mammifères) sur des résidus thréonine et tyrosine formant un motif thr-glu-tyr. Comment cette double phosphorylation active-t-elle l'activité catalytique? Les deux sites de phosphorylation sont situés sur la boucle L12 qui joint les deux domaines VII et VIII de la protéine kinase, essentiels à l'activité catalytique de toutes les protéine kinases. Cette boucle, plus longue dans ERK2 que dans CDK2 ou cAPK, forme une sorte de lèvre: Thr183 est exposée à la surface, alors que Tyr185 est enfouie dans une poche hydrophobe: pour

phosphoryler Tyr185, MEK doit modifier la conformation de la lèvre qui ferme l'entrée du site de liaison dans la forme inactive de la protéine kinase. La structure de cette lèvre semble être l'élément majeur, qui règle à la fois la spécificité et le mécanisme de la régulation de la phosphorylation. Pour aller plus loin dans la compréhension de ces mécanismes, il faut attendre la résolution de la forme active de cette kinase.

[1. Zhang F *et al. Nature* 1994; 367: 704-11.]
[2. Kahn A. *médecine/sciences* 1992; 8: 1097-9.]

■■■ **L'hypermutableté du locus FRAXAC2 dans le syndrome de l'X fragile reste à démontrer.** Dans le numéro de janvier 1994, *m/s* rapportait dans une brève (*m/s n° 1, vol. 10, p. 107*) la publication d'un article de *Nature Genetics* [1] qui décrivait la présence d'une deuxième séquence instable dans le gène X fragile. Selon ses auteurs, le locus FRAXAC2 présenterait une mutabilité extraordinaire (3,3 %) dans les méioses impliquant des chromosomes porteurs de la mutation X fragile. Cependant, une relecture minutieuse de cet article fait apparaître un certain nombre de problèmes et d'erreurs qui remettent en cause la validité des résultats. Le test χ^2 concernant la différence de fréquence de mutation entre les femmes conductrices et les contrôles est faux ($p < 0,05$ au lieu de $p < 0,001$ publié). De plus, trois des quatre cas d'instabilité présentés dans cet article ont été trouvés dans une seule famille, ce qui évoque un problème d'instabilité intra-familiale et ne permet pas d'établir une fréquence d'instabilité dans la population. Par ailleurs, un taux d'instabilité de 3,3 % devrait nécessairement annuler tout déséquilibre de liaison avec ce marqueur en un temps très court (quelques

génération), ce qui est contradictoire avec l'observation par plusieurs équipes [2-5] d'un fort déséquilibre de liaison entre FRAXAC2 et des marqueurs génétiques voisins. Il faut enfin remarquer que les données indépendantes de plusieurs auteurs [2-4, 6] ne montrent pas de différence significative entre la variance de la distribution du nombre de répétitions au *locus* FRAXAC2 sur les chromosomes porteurs de l'X fragile et la variance de la distribution du nombre de répétitions sur les chromosomes normaux, ce qui est contradictoire avec l'idée d'une mutabilité plus grande des chromosomes porteurs de la mutation X fragile. Finalement, il n'y a rien dans cet article qui permette d'affirmer qu'il existe une quelconque hypermutabilité du *locus* FRAXAC2 [6].

[1. Zhong C *et al.* *Nature Genet* 1993 ; 5 : 248-53.]
 [2. Oudet C *et al.* *Am J Hum Genet* 1993 ; 52 : 297-304.]
 [3. Richards RI *et al.* *Nature Genet* 1992 ; 1 : 257-60.]
 [4. Oudet C *et al.* *Eur J Hum Genet* 1993 ; 1 : 181-9.]
 [5. Arinami T *et al.* *Hum Genet* 1993 ; 92 : 431-6.]
 [6. Mornet E *et al.* *Nature Genet* 1994 ; sous presse.]

■■■ **Structure oligomérique des canaux chlorure musculaires, défectueux dans la myotonie congénitale.** Nous avons tenu nos lecteurs au courant de la découverte du gène du canal chlorure musculaire dépendant du voltage dont des mutations sont responsables de myotonie congénitale, chez la souris (*m/s* n° 2, *vol. 8, p. 173*), et chez l'homme (*m/s* n° 8, *vol. 8, p. 872*). Un des grands intérêts de l'étude de ces myotonies a été de montrer que les formes récessives et dominantes étaient dues à des mutations du même gène, « mettant ainsi en cause les fondements des classifications génétiques » (*m/s*

n° 8, *vol. 8, p. 872*). Les formes récessives pouvaient être expliquées par l'absence totale de synthèse sous la direction du gène muté, le gène allélique produisant suffisamment de protéine normale pour assurer la fonction. A l'inverse, en ce qui concerne les formes dominantes, l'hypothèse formulée était qu'une interaction délétère avait lieu entre monomères mutants et monomères normaux, ce qui pouvait s'expliquer au mieux par une structure oligomérique du canal chlorure. Aujourd'hui, la même équipe allemande (dirigée par Jentsch à Hambourg), qui avait cloné le gène du canal chlorure *ClC-1*, rapporte les mutations de ce gène dans deux familles atteintes de myotonie dominante, dont celle de Thomsen qui, le premier, décrit la maladie [1]. Mais, surtout, elle rapporte des études fonctionnelles qui permettent d'approcher la structure oligomérique du canal. Ils ont fait coexprimer dans des ovocytes de xénope des quantités constantes de gène normal et des quantités croissantes de gène muté. La réduction de conductance dépend du nombre de sous-unités mutantes (et inactivantes) incorporées dans un complexe oligomérique. Dans le modèle le plus simple, admettant qu'une sous-unité mutante inactive complètement le complexe, un canal dimérique aurait une conductance diminuée des trois quarts chez les hétérozygotes, alors qu'elle ne serait plus que d'un seizième de la normale si le canal est tétramérique. Les deux mutations étudiées ont un effet négatif dominant sur la conductance du chlorure mais le degré d'inhibition procuré par la mutation Thomsen (P480L) est très supérieur à celui procuré par la mutation G230E. Un modèle dimérique rend compte de l'inhibition de conductance dans la mutation G230E, alors qu'un modèle tétramérique explique beaucoup mieux les effets de la mutation P480L. Cette apparente contradiction est, en fait, résolue si

on reconnaît que ces expériences ne donnent que la limite minimale de sous-unités formant le canal : selon la mutation, une seule ou plusieurs sous-unités inactivantes dans un complexe seront nécessaires pour le rendre non fonctionnel. Avec la mutation G230E, il faut deux (ou plus) sous-unités pour inactiver un tétramère alors qu'une seule suffit qui porte la mutation P480L. On peut donc conclure que ces canaux chlorure sont, au moins, tétramériques.

[1. Steinmeyer K *et al.* *EMBO J* 1994 ; 13 : 737-43.]

■■■ **Des superantigènes bactériens peuvent activer les lymphocytes T de la muqueuse intestinale humaine.** L'implication de superantigènes d'origine bactérienne dans la physiopathologie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin humain (maladie de Crohn, rectocolite hémorragique, colites non classées) a été évoquée, comme dans celle de diverses maladies auto-immunes extradiigestives telles que la maladie de Kawasaki, la sarcoïdose ou la polyarthrite rhumatoïde. Aisenberg *et al.* (Division de Gastroentérologie et d'Immunologie clinique, Centre Médical Mount Sinai, New York, USA) ont cultivé des cellules épithéliales (entérocytes), des lymphocytes intra-épithéliaux et des lymphocytes de la *lamina propria* de l'intestin humain - isolées à partir de prélèvements chirurgicaux de grêle et de côlon - en présence ou non de superantigènes d'origine bactérienne (entérotoxines B et E de *Staphylococcus aureus*, et toxine I du syndrome de choc toxique). Ils ont constaté, dans un premier temps, que les entérocytes n'expriment pas de superantigènes endogènes, qu'ils soient issues de l'intestin d'individus normaux, ou de celui de sujets atteints de maladie de Crohn ou de rectocolite hémorragique. En revanche, la moitié des

entérocytes testés s'est comportée comme des cellules présentatrices de superantigènes exogènes aux lymphocytes T. En effet, ceux-ci expriment une réponse proliférative typique à ces superantigènes, réponse similaire à celle des cellules T du sang périphérique (expression augmentée des récepteurs HLA-DR, de l'IL2 et de la transferrine). Ces faits, montrés pour la première fois dans l'intestin humain, trouveront certainement des développements ultérieurs, aussi bien dans l'étude physiopathologique des syndromes de toxi-infection digestive, que dans celle des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. La négativité de la recherche de superantigènes endogènes n'autorise pas de conclusion définitive, en l'état des techniques utilisées.

[Aisenberg] *et al. Gastroenterology* 1993; 105: 1421-30.]

■■■ **Transcription spécifique du gène du facteur Willebrand dans les cellules endothéliales.** Du fait de sa liaison à des récepteurs spécifiques, le facteur Willebrand (vWF) est le médiateur de l'adhérence des plaquettes au sous-endothélium et contribue à leur agrégation. Le vWF est exclusivement synthétisé dans les mégacaryocytes et les cellules endothéliales dont il est le marqueur spécifique. Deux équipes, une française (Inserm U.143, hôpital de Bicêtre) et une américaine, viennent d'étudier, indépendamment, le rôle de différents fragments de la région 5' du gène du vWF humain sur la transcription de gènes tests (souvent appelés gènes rapporteurs), par transfection transitoire de cellules endothéliales bovines et de cellules de diverses origines n'exprimant pas la protéine [1, 2]. Comme on pouvait s'y attendre, l'expression du gène est

soumise à un mécanisme complexe de régulation positive et négative. Un domaine de régulation négative est responsable de l'extinction de la transcription dans les différentes cellules étudiées (cellules endothéliales, HeLa, COS, HepG2). La transcription du gène dans les cellules endothéliales implique un élément capable de lever la répression. S'agit-il d'un élément localisé en amont du domaine de régulation négative, dans une séquence répétitive Alu [1], ou d'un site de liaison pour la protéine GATA2? Le facteur GATA2, bien que présent dans de nombreuses lignées cellulaires, telles que les cellules HeLa, joue un rôle clé dans la transcription des gènes codant pour des protéines endothéliales; il est vraisemblablement impliqué dans la transcription du gène du vWF mais ne peut être le seul responsable de sa spécificité d'expression [2]. Enfin, rien ne dit que les mécanismes responsables de la transcription des gènes vWF dans les cellules endothéliales soient identiques à ceux impliqués dans l'expression de ce gène dans les mégacaryocytes.

[1. Ferreira V *et al. Biochem J* 1993; 293: 641-8.]

[2. Jahroudi N, Lynch D. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 999-1008.]

■■■ **Pas de sélection positive des thymocytes sans CD8 β .** Les molécules accessoires CD4 et CD8 sont les corécepteurs du récepteur de l'antigène exprimé par les thymocytes et les lymphocytes T mûrs. CD8 se fixe à une région non polymorphe des molécules de classe I (CMH-I) tandis que le récepteur de l'antigène reconnaît les peptides associés aux régions polymorphes. CD8 peut être un homodimère $\alpha\alpha$ ou un hétérodimère $\alpha\beta$ mais l'expression de sur-

face de la chaîne β dépend de la synthèse de la chaîne α . Bien que la majorité des lymphocytes T périphériques expriment exclusivement CD8 $\alpha\beta$, les études fonctionnelles ont principalement porté sur la forme CD8 $\alpha\alpha$, et les données sur le rôle de la chaîne β sont rares. Cette lacune tend à disparaître, en particulier grâce à la création de lignées de souris déficientes en CD8 β . Les cellules T des souris CD8 $\beta^{-/-}$ se développent normalement jusqu'au stade CD4 $^{+}$ CD8 $^{+}$ mais leur différenciation vers les stades ultérieurs est inefficace, ce qui se traduit par une réduction du nombre de cellules CD4 $^{+}$ CD8 $^{+}$ dans le sang périphérique. Les auteurs valident leur observation en montrant que l'anomalie disparaît lorsque le gène *CD8 β* est transféré dans les lignées CD8 $\beta^{-/-}$. L'ensemble des expériences suggère que l'homodimère CD8 $\alpha\alpha$ ne permet pas la différenciation des thymocytes CD4 $^{+}$ CD8 $^{+}$ vers le stade CD4 $^{+}$ CD8 $^{+}$ et que la présence, en quantité suffisante, de la chaîne CD8 β est absolument nécessaire à la sélection positive des thymocytes dans le thymus. On admet généralement que les thymocytes exprimant un récepteur de forte affinité pour les complexes CMH-peptide du Soi sont délétés dans le thymus (sélection négative), et que seuls ceux qui ont un récepteur de faible affinité suivent un processus de différenciation (sélection positive). Si l'on tient compte des résultats obtenus à partir d'autres lignées de souris transgéniques (CD8 α , CD8 $\alpha\beta$), il n'est pas impossible que la sélection positive n'ait lieu que lorsque le dimère CD8 $\alpha\beta$ s'engage dans les interactions entre le récepteur de l'antigène et le CMH. Les variations d'affinité entre récepteur de l'antigène et le CMH, primordiales pour le développement des thymocytes, pourraient dépendre du niveau d'expression de la chaîne CD8 β .

[Nakayama K *et al. Science* 1994; 263: 1131-3.]

ERRATUM

m/s n° 3, vol. 10, mars 1994. Dans l'article de Claude Hélène et Ester Saison-Behmoaras, *La stratégie antisens : nouvelles approches thérapeutiques* (pages 253-273), des erreurs figuraient dans l'intitulé du titre des deux auteurs ainsi que dans la figure 3 et sa légende. Nous republions ici l'ensemble de ces éléments.

ADRESSE

C. Hélène : *professeur au Muséum National d'Histoire Naturelle, directeur scientifique du groupe Rhône-Poulenc.* E. Saison-Behmoaras : *professeur au Muséum National d'Histoire Naturelle. Laboratoire de biophysique, Inserm U.201 - Cnrs URA 481, Muséum national d'histoire naturelle, 43, rue Cuvier, 75231 Paris Cedex 05, France.*

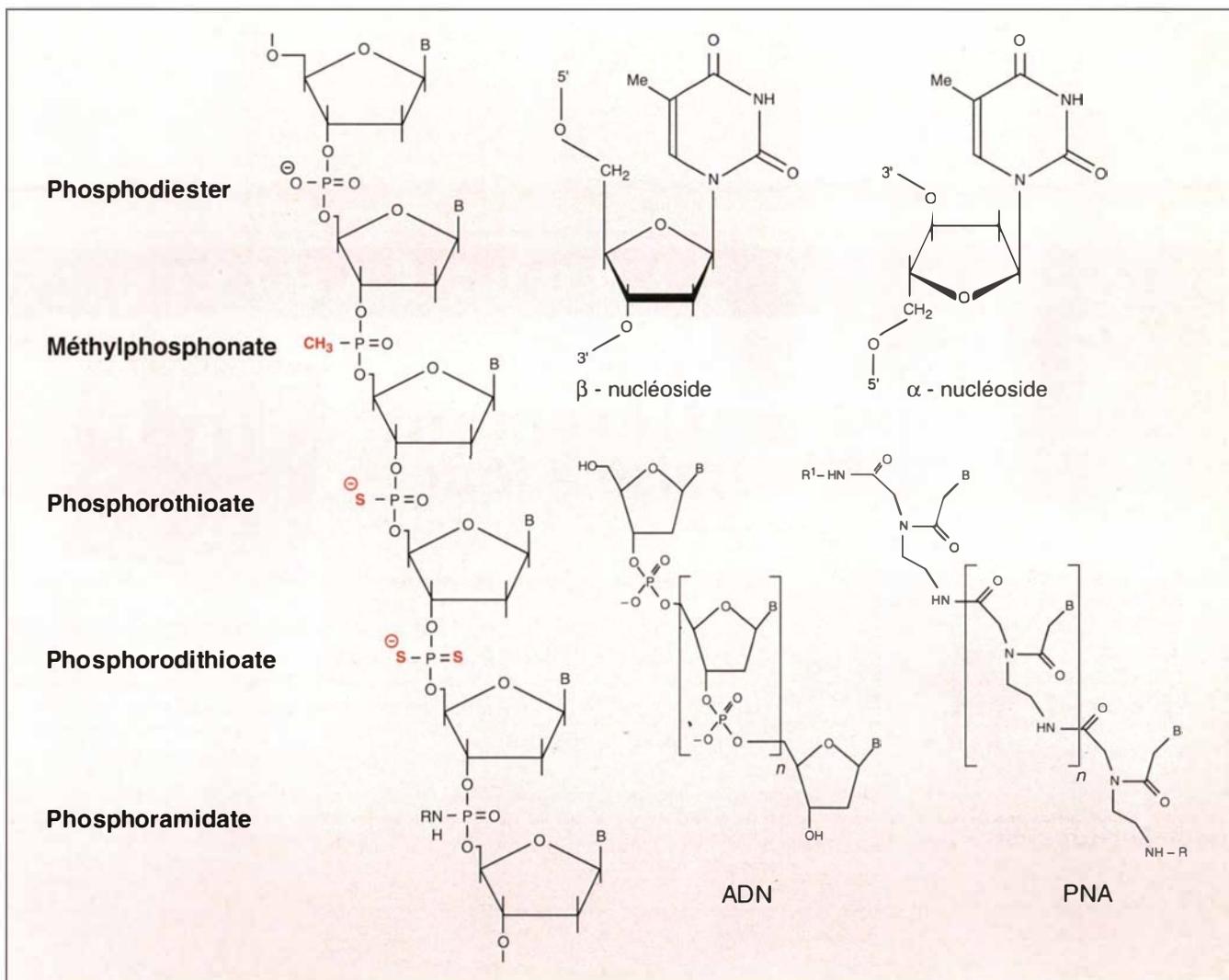


Figure 3. **Oligonucléotides disponibles pour utilisation dans la stratégie antisens.** Pour protéger complètement l'oligonucléotide contre les endonucléases, il est nécessaire de modifier l'enchaînement phosphodiester. Les phosphorothioates sont actuellement les plus utilisés car leur synthèse est facile. La substitution du sucre en position 2' (2'-O-alkyl, 2'-fluoro...) confère également une résistance vis-à-vis des nucléases. Il en est de même des oligométhylphosphonates qui possèdent un squelette non chargé, des oligo- α -désoxynucléotides dans lesquels l'anomère β naturel des nucléotides est remplacé par l'anomère α , des PNA dans lesquels le squelette phosphodiester est remplacé par un enchaînement polyamide.

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ Valeur heuristique de la modélisation en biologie.

Les relations de la biologie et de la modélisation restent bien souvent encore assez problématiques. Sauf en biologie structurale, la modélisation reste singulièrement absente de la recherche en biologie moléculaire. Contrairement aux objets d'étude de la physique, ceux de la biologie semblent caricaturés par toute tentative de modélisation. En outre, sur des objets aussi complexes, la valeur prédictive de la modélisation reste très limitée. Il en découle que l'expérimentation est généralement ressentie comme l'unique voie de recherche possi-

ble. Le travail de modélisation est parfois repoussé à un hypothétique moment où tous les détails de l'objet étudié seraient enfin décrits. Il arrive aussi que l'objet biologique soit considéré comme trop complexe pour qu'aucun effort de modélisation ne puisse être pertinent. Les objets d'étude des sciences de la terre ne sont pas plus simples que ceux de la biologie et leurs possibilités d'expérimentation beaucoup plus limitées. Leur modélisation est une voie privilégiée, presque exclusive d'étude, sur la base de laquelle des décisions politiques, aux conséquences économiques parfois importantes, sont

prises. La discussion de la valeur opérationnelle de ces modèles ainsi que de leur sens est donc de la première importance. Leur validation, leur calibration, leur vérification ou leur confirmation sont autant d'opérations dont la signification exacte et la portée doivent être bien comprises. Un article récent fait un point sur cette question [1]. Moyennant un effort d'extrapolation minimale, il dresse le cadre dans lequel toute tentative de modélisation complémentaire de l'expérimentation biologique doit être placée.

[1. Oreskes N *et al.* *Science* 1994 ; 263 : 641-6.]

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ *Homo sapiens* à la recherche de ses origines.

Notre ancêtre, *Homo erectus*, est apparu en Afrique il y a 2 millions d'années. Un million d'années plus tard, armé de haches et d'outils « perfectionnés » (outillage acheuléen), il s'est aventuré au-delà des limites de ce continent pour conquérir l'Asie et le sud de l'Europe. Sur l'un de ces continents, *Homo erectus* a donné naissance à *Homo sapiens*. Ce chapitre de préhistoire, auquel nous étions habitués, vient d'être réécrit par des géochronologistes de renom de l'Institut des origines de l'homme (CA, USA). Par dosage des isotopes de l'argon, ils ont pu redater deux sites de l'île de Java, où des squelettes d'*Homo erectus* ont été découverts [1]. Ceux-ci se trouvent vieillis de quelque 800 000 ans, ce qui signifie que *Homo erectus* aurait migré vers l'Asie beaucoup plus tôt qu'on ne le pensait, avant l'émergence de l'industrie acheuléenne des haches et pierres taillées sur les deux faces. Cela explique pourquoi ces outils ne sont pas retrouvés sur les sites asiatiques, mais cela ruine du même coup la théorie de certains anthropologues selon laquelle l'évolution technologique a précédé les mouvements migratoires. Avec deux populations d'*Homo erectus* de même âge mais sur des continents différents, il n'est pas possible de

savoir laquelle est à l'origine de l'homme moderne, ni même si ces deux groupes appartiennent à la même espèce. Il faut noter, cependant, qu'on n'a pas retrouvé de fossile d'ancêtres d'*Homo erectus* en dehors de l'Afrique. En outre, un mouvement de population à la vitesse de 10 km par génération aurait permis à *Homo erectus* de passer d'Afrique à Java en 25 000 ans, un espace de temps faible en regard de l'erreur expérimentale des techniques actuelles de datation [2]. Au cas où cela ne serait pas suffisant pour jeter le trouble dans nos esprits, des chercheurs chinois nous révèlent en même temps que *Homo erectus* et *Homo sapiens* auraient cohabité dans cette région du globe [3]. Quelles certitudes nous reste-t-il de nos origines ?

[1. Swisher III CC *et al.* *Science* 1994; 263: 1118-21.]

[2. Lewin R. *New Scientist* 1994; 1915: 14.]

[3. Tiemei C *et al.* *Nature* 1994; 368: 55-6.]

■■■ **L'anticorps dirigé contre ICAM-1 protège le rein de l'ischémie.** La physiopathologie de l'insuffisance rénale aiguë d'origine ischémique est mal comprise. Les observations de Kelly *et al.* (Har-

vard Medical School, Boston, MS, USA) ouvrent de nouvelles perspectives. Ces auteurs ont fait l'hypothèse que l'ischémie augmentait les taux tissulaires de médiateurs pro-inflammatoires qui, à leur tour, accroîtraient l'expression des molécules d'adhérence sur les leucocytes (parmi lesquelles LFA1) et sur les cellules endothéliales (parmi lesquelles ICAM1, ligand de LFA1 et de Mac1) [2]. L'adhérence accrue des leucocytes à l'endothélium vasculaire pourrait contribuer aux lésions tissulaires créées par l'ischémie. Ainsi, un anticorps anti-ICAM1 pourrait protéger des conséquences de l'ischémie. L'ischémie a été induite chez le rat par le clampage de l'artère et de la veine rénales pendant trente à quarante minutes. Il en résulte une insuffisance rénale aiguë marquée par une élévation de la concentration de créatinine plasmatique. L'administration d'anti-ICAM1 au début du clampage, mais aussi trente ou cent vingt minutes après l'ischémie, évite presque totalement l'élévation de la créatinine plasmatique et diminue la mortalité des animaux. Cet effet s'efface au fur et à mesure que sont utilisées des dilutions croissantes de l'anticorps. Un anticorps anti-LFA1 seul protège peu les rats de l'ischémie rénale ; en revanche, il prévient l'insuffi-

S

E

V

E

R

B

sance rénale quand il est associé à une dose non protectrice d'anti-ICAM1. En microscopie optique et en immunocytochimie, la nécrose tubulaire qui touche la région médullaire externe est presque totalement prévenue par anti-ICAM1 (qui se fixe sur les *vasa recta* de cette zone). L'activité myéloperoxydase rénale est augmentée par l'ischémie; ce phénomène est supprimé par anti-ICAM1. Ces résultats suggèrent que les leucocytes et les molécules d'adhérence à l'endothélium jouent un rôle dans la physiopathologie de l'insuffisance rénale aiguë ischémique. L'anticorps anti-ICAM1 se montre efficace même lorsqu'il est administré après l'ischémie, s'opposant aux phénomènes qui accompagnent la reperfusion tissulaire.

[1. Kelly Kl *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 812-6.]

[2. Scoazec J, Lesèche G. *médecine/science* 1993; 9: 1094-101.]

■■■ **Les 2,8 millions de paires de bases du chromosome III de *Caenorhabditis elegans*.** Une équipe internationale, dans laquelle dominent les chercheurs de Saint Louis (MO, USA) et de Cambridge (GB), vient de publier la plus longue séquence nucléotidique réalisée à ce jour, une séquence partielle de 2181032 pb du chromosome III du nématode *Caenorhabditis elegans*. Le précédent record appartenait au consortium européen qui, en 1992, avait déterminé la séquence complète du chromosome III de *Saccharomyces cerevisiae* (315 316 pb). La méthode utilisée fut celle qui valut le prix Nobel à Fred Sanger, le fondateur du laboratoire de Cambridge coopérant aux travaux sur *Caenorhabditis elegans*: méthode enzymatique avec arrêt au hasard de l'élongation de chaînes d'ADN par l'ADN polymérase lorsque sont intégrés des di-désoxynucléotides. Contrairement aux travaux de séquence massifs

précédemment publiés, cependant, des appareils de séquençage automatique furent ici exclusivement utilisés. La fréquence des gènes sur le chromosome étudié du nématode est de un toutes les 5 000 bases, ce qui laisse présager environ 16 000 gènes pour les 100 millions de paires de bases du génome entier. Environ un tiers des gènes repérés sont probablement des homologues de gènes déjà identifiés dans diverses espèces, les deux tiers restants ne ressemblant à rien de connu. Au-delà de l'isolement de tels gènes de fonction énigmatique, le grand défi de la biologie pour les décennies qui viennent sera de comprendre la signification biologique de ces éléments de programme génétique que sont les gènes. La vitesse à laquelle vont être accumulées les séquences de gènes de fonction inconnue rend urgente l'amélioration des outils et des stratégies destinés à parvenir à la compréhension du rôle qu'ils jouent dans l'économie d'un être vivant. Certaines de ces approches feront surtout appel aux moyens informatiques de comparaison des séquences et des structures supposées, d'autres consisteront à tester directement, dans des organismes modèles, les conséquences de l'expression inappropriée ou de l'inactivation de tels gènes. Seuls un perfectionnement et des efforts de rationalisation de ces méthodes permettront de faire face à l'afflux prévisible de données qui resteront longtemps, sans cela, parfaitement inutilisables pour améliorer la connaissance des mécanismes de la vie.

[1. Wilson R *et al. Nature* 1994; 368: 32-8.]

[2. Oliver SG *et al. Nature* 1992; 357: 38-46.]

■■■ **L'autoantigène peut tuer les lymphocytes T autoréactifs : traitons le mal par le mal.** Lorsque le récepteur de l'antigène reconnaît son ligand, il transmet des signaux

d'activation qui conduisent à la prolifération, l'anergie ou la mort du lymphocyte T qui l'exprime. Paradoxalement peut-être, les lymphocytes T, qui prolifèrent sous l'action de l'interleukine 2, meurent au contact de fortes doses d'antigène. *In vivo*, ce mécanisme de délétion des lymphocytes T en division, pourrait être utilisé pour atténuer spécifiquement une réponse immunitaire indésirable. C'est ce qui vient d'être réalisé pour traiter l'encéphalomyélite auto-immune de la souris, un modèle de la sclérose en plaques humaine. Des lymphocytes T de ganglions de souris immunisées avec la MBP (protéine basique de la myéline), ou des clones encéphalitogènes, activés *in vitro* puis réinjectés aux souris, provoquent une paralysie importante et évolutive. Si ces animaux reçoivent régulièrement, par voie intraveineuse, de fortes doses de MBP, ou d'un peptide de MBP, la maladie apparaît rarement et au moins 80 % des cellules encéphalitogènes disparaissent en quelques jours. Chez ces animaux, les réactions inflammatoires ne sont pas évidentes et les gaines de myéline sont presque intactes. Il est donc possible, chez la souris, d'éliminer des cellules T autoréactives par injection intraveineuse de l'antigène. Cette observation a des conséquences thérapeutiques importantes car, dans le cas d'une maladie auto-immune humaine comme la myasthénie, pour laquelle l'antigène est identifié, l'autoantigène pourrait être utilisé pour éliminer spécifiquement les cellules T autoréactives.

[1. Critchfield JM *et al. Science* 1994; 263: 1139-43.]

■■■ **Monoxyde d'azote nasopharyngé et rapport ventilation/perfusion.** NO, médiateur aux multiples fonctions, et, notamment, puissant vasodilatateur, est synthétisé en abondance par le nasopharynx de sujets sains adultes et

■■■ BRÈVES ■■■

de patients intubés. C'est ce que vient de démontrer une équipe allemande dans une lettre au *Lancet* [1]. Chez le sujet sain non fumeur, la quantité de NO produite par minute par le nasopharynx est d'en moyenne 20,3 nmol, et environ 50 % à 70 % du NO inspiré est résorbé au niveau des voies aériennes inférieures. Chez le sujet sain fumeur, les quantités produites par le nasopharynx sont moindres, soit parce que le NO inhalé avec la fumée de cigarette exerce un effet de rétrocontrôle négatif sur la synthèse endopharyngée, soit parce que l'une des composantes inhalées a un effet toxique sur la synthèse locale de NO. Le lieu de synthèse exact du NO nasopharyngé est inconnu, mais la présence de bactéries est nécessaire à cette synthèse, suggérant que les organes lymphoïdes sont l'un de ces lieux privilégiés et que la présence d'une concentration locale élevée de NO contribue à limiter la prolifération bactérienne. Le NO produit au niveau du nasopharynx n'a-t-il qu'une fonction locale antibactérienne? L'efficacité de l'enrichissement en monoxyde d'azote des gaz inspirés administrés dans certaines situations pathologiques (hypertension artérielle pulmonaire, persistance d'une hypertension artérielle pulmonaire après la naissance) est

maintenant démontrée. Par analogie, le monoxyde d'azote nasopharyngé a peut-être un autre rôle important: la perfusion des territoires pulmonaires, qui dépend du degré de vasodilatation locale, serait modulée par l'importance de la ventilation locale, puisque le vasodilatateur gazeux est incorporé dans les voies respiratoires supérieures à ce qui va constituer les gaz alvéolaires. Le NO nasopharyngé serait ainsi un puissant facteur d'homogénéisation de la perfusion par rapport à la ventilation. Il sera de la plus grande importance de rapidement confirmer cette hypothèse dans la mesure où, actuellement, les gaz administrés aux patients en ventilation artificielle court-circuitent le nasopharynx par la sonde d'intubation endotrachéale, et qu'il pourrait ainsi être induit une augmentation non souhaitée et iatrogène du rapport global ventilation/perfusion.

[1. Gerlach *et al. Lancet* 1994; 343: 518-9.]

■■■ **La prévalence des gènes α -thalassémiques pourrait être à l'origine des résistances médicamenteuses dans le paludisme à *P. falciparum*.** La coïncidence entre la prévalence des gènes responsables d' α -

thalassémie et le caractère endémique du paludisme à *Plasmodium falciparum* a été particulièrement bien étudiée dans les îles du Pacifique et le Sud-Est asiatique. C'est également dans cette partie du monde qu'a commencé à se développer une résistance à la chloroquine et à d'autres antipaludéens. Ce problème majeur de santé publique rend impératif le développement de nouveaux antipaludéens. C'est pourquoi a été entreprise en Thaïlande, sous l'égide de l'OMS et avec la participation de l'INSERM, une recherche sur l'action des dérivés de l'artémisinine (qinghaosu), efficace antipaludéen proposé par les Chinois. Or il s'est avéré que des sujets α -thalassémiques, porteurs d'une hémoglobine H ou d'une forme associée à l'hémoglobine Constant Spring, avaient tendance à développer une résistance à ce médicament aussi. Des études *in vitro* ont montré que l'IC₅₀ de l'artémisinine contre le *Plasmodium falciparum* est plus que quadruplée dans les globules rouges thalassémiques par rapport aux globules rouges normaux. Cette résistance semble principalement due au fait que les érythrocytes thalassémiques non infectés accumulent une forte quantité d'artémisinine (à la différence des globules rouges normaux qui n'en accumulent quasiment

pas), entrant ainsi en compétition pour le médicament avec les érythrocytes infectés. Il faut donc une plus grande quantité d'artémisinine pour atteindre la concentration efficace dans les globules rouges thalassémiques parasités et la dose qui permettrait d'obtenir une concentration létale pour le parasite est toxique. Par ailleurs, l'accumulation d'artémisinine par le parasite lui-même est diminuée dans les érythrocytes anormaux, et pourrait aussi, quoique à un degré moindre, en limiter l'effet. Les implications cliniques sont importantes : si les différences de sensibilité au médicament sont extrapolables *in vivo*, une résistance pourrait être induite lorsque des érythrocytes thalassémiques infestés se trouvent ainsi exposés chroniquement à des doses suboptimales de médicament. [1. Kamchonwongpaisan S *et al.* *J Clin Invest* 1994 ; 93 : 467-73.]

■■■ **Contrôle de la synthèse des cytokines de type Th1 et Th2.**

Lorsque les lymphocytes T auxiliaires (Th) reconnaissent un antigène, ils s'activent et synthétisent des cytokines dans le milieu environnant. Les Th sont regroupés en deux catégories selon le type et la fonction des cytokines qu'ils sécrètent. Ainsi, sous l'action des Th1, l'immunité non spécifique et la présentation antigénique par les cellules spécialisées sont exacerbées. Les Th1 sont aussi responsables de phénomènes inflammatoires et, en particulier, de l'hypersensibilité retardée. En revanche, les réponses de type Th2 sont très souvent associées aux infections parasitaires et aux allergies. Elles se caractérisent par la synthèse de cytokines qui stimulent la production d'IgE ainsi que la dégranulation des mastocytes et des éosinophiles. L'efficacité d'une réponse immune est déterminée par l'équilibre fonctionnel Th1/Th2 dont la rupture, provoquée ou naturelle,

peut avoir des conséquences dramatiques (SIDA, allergies...). La spécificité d'expression des gènes de cytokines par les Th1 ou les Th2 n'a pas été élucidée mais pourrait être due, en partie, à l'action de facteurs agissant en *trans* sur les éléments régulateurs de ces gènes. Cela vient d'être suggéré à nouveau par une équipe américaine qui étudie l'expression du gène de l'IL4 par des clones Th2 murins. Dans les clones Th1, par exemple, le facteur nucléaire NF-AT (*nuclear factor-activated T cells*) est induit par la stimulation du récepteur de l'antigène et indispensable à l'expression du gène de l'IL2. NF-AT est un complexe constitué de l'association de deux éléments. NF-ATp, qui est une phosphoprotéine du cytosol dont la translocation suit l'augmentation du calcium intracellulaire, et un composant nucléaire, AP1, composé des protéines Jun et Fos, dont l'induction dépend de l'activation de la protéine kinase C (PKC). Dans les clones Th2, l'expression du gène de l'IL4 est aussi sous le contrôle du complexe NF-AT mais celui-ci ne contient pas AP-1, et est uniquement constitué de NF-ATp. NF-ATp est donc un facteur commun de la régulation des gènes de cytokines. Dans ce cas, au moins, c'est à la suite de l'activation de la PKC que d'autres facteurs, tel AP-1, orienteraient les cellules T vers un phénotype de type Th1 ou Th2.

[Rooney JW *et al.* *EMBO J* 1994 ; 13 : 625-33.]

■■■ **Allongement de la durée de vie chez la drosophile par hyperexpression de la superoxyde dismutase et de la catalase.** La théorie des radicaux libres comme cause du vieillissement est défendue depuis des décennies, notamment par Harman [1]. Les radicaux libres d'oxygène et les hydroperoxydes déborderaient progressive-

ment les défenses anti-oxydantes. Depuis longtemps cette théorie apparaît séduisante, mais on n'a jamais réalisé d'expérience probante à son appui. Les enzymes en cause, superoxyde dismutase (SOD), catalase et glutathion peroxydase, ont été dosées de multiples reprises chez des animaux sénescents sans résultats probants. Orr et Sohal (Dallas, TX, USA) ont entrepris de démontrer que le renforcement des activités de ces enzymes pourrait, en réduisant le stress oxydatif, ralentir la sénescence et prolonger la durée de vie [2]. Travaillant sur la drosophile, ils ont éliminé la GSH peroxydase, absente chez les insectes. Leurs expériences ont toutes été effectuées en milieu isogénique. Dans une première série, ils avaient mis au point des lignées transgéniques surexprimant SOD ou catalase, sans effets notables sur la durée de vie. A partir de ces lignées, ils ont engendré des souches doublement transgéniques, hétéro- puis homozygotes. Sur quinze lignées initialement obtenues, huit avaient un effet positif sur la survie, et c'est à partir de trois d'entre elles que les travaux ont été menés, en comparaison avec une souche témoin ne portant que les vecteurs utilisés dans la construction des transgènes. On a utilisé des lots de cent mouches. Les résultats doivent prendre en compte, d'une part l'activité des enzymes, d'autre part la longévité des insectes traités. L'augmentation d'activité de la catalase était d'au moins 50 % dans les groupes transgéniques ; celle de la SOD était moindre, de 25 % à 30 %. La mortalité, tant médiane qu'à 90 % et à 100 %, était retardée. La médiane de la vie était prolongée, de 54,5 j chez les témoins, à 58,63 et 72,5 j selon les souches, donc de 10 % à 30 %. D'autres paramètres ont été mesurés : le contenu en groupes carbonyle des mouches, mesure de l'oxydation des protéines, est plus faible chez les transgéniques ; le taux de consumma-

■■■ BRÈVES ■■■

tion d'oxygène, non modifié durant le premier mois, se maintient plus élevé que chez les témoins à partir de quarante jours. L'ensemble de ces résultats est en faveur d'un ralentissement de la sénescence chez ces animaux doubles transgéniques; cette action réclame un équilibre entre les deux enzymes, SOD et catalase, puisque l'hyperexpression isolée de l'une des deux n'est pas efficace. Ces travaux apportent des arguments à la théorie des radicaux libres; effectués sur des souches sélectionnées, ils doivent être interprétés avec prudence et réclament confirmation.

[1. Harman D. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 7124-8.]

[2. Orr WC, Sohal RS. *Science* 1994; 263: 1128-30.]

■■■ **Un œuf d'«oiseau-éléphant».** Un œuf de l'oiseau coureur *Aepyornis*, espèce éteinte de Madagascar, devait être vendu à Londres le 8 avril, et on en attendait plus de 30 000 livres. Les œufs d'*Aepyornis* sont les plus gros qui soient connus, atteignant 33 centimètres. On y logerait le contenu de sept œufs d'autruche, et cent quatre-vingts œufs de poule. Ces «oiseaux-éléphants» ressemblaient à des autruches géantes, avec leur taille de 3 mètres et leur poids de près de 500 kg. On ne les a trouvés qu'à Madagascar, et le dernier spécimen vivant a été noté en 1658. On n'en connaît qu'une trentaine d'œufs intacts, la plupart dans des collections publiques.

[1. «News». *Nature* 1994; 368: 87.]

■■■ **Le dynamisme de la tolérance périphérique.** La recherche sur le cancer, l'auto-immunité, la transplantation et l'immunosuppression a apporté quelques éclaircissements sur ce qui reste un grand problème d'immunologie: l'induction et le maintien de la

tolérance. Celle-ci résulte de deux phénomènes séparés dans le temps. La tolérance centrale (thymique) s'établit, dans le thymus, au cours du développement des thymocytes et s'effectue par délétion des cellules qui reconnaissent les déterminants du Soi présents dans cet environnement. En complément, la mise en place de la tolérance périphérique permet aux lymphocytes T de ne pas s'activer au contact des antigènes du Soi qui n'ont pas été rencontrés dans le thymus. Ce type de tolérance est induit, par exemple, lorsque les lymphocytes T reconnaissent les antigènes du Soi à la surface des cellules dépourvues de molécules de costimulation sans lesquelles la prolifération lymphocytaire ne peut avoir lieu. La manipulation du système immunitaire en vue d'établir la reconnaissance ou l'immunosuppression spécifique de certains antigènes passe d'abord par le recensement de tous les paramètres qui contrôlent la tolérance périphérique. Les modèles expérimentaux permettant d'identifier ces paramètres s'accumulent mais, même si les grandes lignes commencent à se dessiner, chaque cas peut être considéré comme particulier. Le dernier en date fait état de l'adaptation du système immunitaire aux variations quantitatives de l'antigène. Grâce à l'apport des souris transgéniques, les auteurs de ce travail montrent que la présence, à peine détectable, d'un antigène sur les hépatocytes provoque la diminution de l'expression du récepteur de cet antigène à la surface des lymphocytes T CD8 autoréactifs. L'induction brutale d'une forte quantité de l'antigène se traduit par la disparition presque complète de ce même récepteur. La tolérance périphérique n'est donc pas un état définitivement figé et son maintien dépend du dynamisme avec lequel le système immunitaire s'adapte aux modifications de son environnement.

[Ferber I *et al.* *Science* 1994; 263: 674-6.]