

## Système allotypique des glycoprotéines de la membrane plaquettaire

Les intégrines (*m/s* n° 6, vol. 7, p. 540 et [1]) sont des récepteurs de surface cellulaire dont la fonction commune est d'intervenir dans les actions intercellulaires ou des cellules avec la matrice. Beaucoup ont été identifiées par leur capacité de se lier aux glycoprotéines de la matrice extracellulaire en des sites incluant la séquence RGD (Arg-Gly-Asp) (*m/s* n° 6, vol. 2, p. 337). Elles forment des hétérodimères comprenant deux types de sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$ . Parmi ces intégrines figure un complexe dit GP IIb-IIIa, présent dans plusieurs tissus mais bien individualisé dans les plaquettes sanguines où il intervient dans l'agrégation plaquettaire nécessaire à l'hémostase. Il sert de récepteur pour le fibrinogène, la fibronectine, la vitronectine et le facteur von Willebrand. Ce complexe diminue ou disparaît dans la thrombasthénie de Glanzmann, dans laquelle les plaquettes ne se lient plus à leurs ligands normaux [2].

Le complexe GP IIb-IIIa est également porteur de plusieurs systèmes d'antigènes, dont trois ont été analysés : les antigènes  $PI^A$ , Pen et Bak. Ces antigènes sont capables de provoquer des allo-immunisations et sont à l'origine de deux syndromes : un purpura post-transfusionnel, cutanéomuqueux, survenant une semaine après une transfusion contenant des plaquettes, plus fréquent chez les femmes, et guérissant le plus souvent ; et surtout la thrombopénie néonatale allo-immune, survenant dans un cas sur 300 ; elle est due au passage transplacentaire d'allo-anticorps, lorsque la mère est porteuse d'anticorps anti  $PI^A$ , et que père et enfant sont  $PI^A+$ . Contrairement à d'autres immunisations maternelles, celle-ci peut se produire dès la première grossesse, et dans ce cas la prévention n'en est pas possible.

Les gènes des GP IIb et IIIa sont distincts et leurs messagers sont séparés,

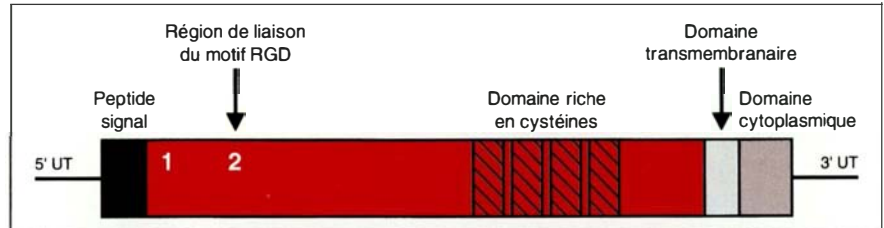


Figure 1. **Carte schématique de la protéine GPIIIa comprenant les différents domaines fonctionnels.** En chiffre gras les positions de polymorphisme responsables des alloantigènes :  $PI^A$  en position 33, marqué 1 Pen en position 143, marqué 2. (Modifié d'après [4]).

mais ils sont très voisins, dans une région de 260 kb située sur le chromosome 17 en 17q21-22 [3]. Leur régulation identique (on les trouve sur les plaquettes en quantités équimoléculaires) est peut-être fondée sur leur proximité physique. En 1987 Fitzgerald *et al.* (San Francisco, CA, USA) ont isolé de cellules endothéliales un ADNc de GP IIIa [4].

### GP IIIa

Le gène de la GP IIIa occupe environ 46 kb et est divisé en 14 exons. Il code pour une protéine de 87 kDa, comptant 783 acides aminés et divisée en plusieurs domaines (*figure 1*) [5]. L'équipe dirigée par P.J. Newman (Milwaukee, WI et Albuquerque, NM, USA) a mis à profit la possibilité qu'offre l'amplification génique pour analyser la séquence de la GP IIIa à partir d'individus d'un type sérologique connu [6]. Une seule différence entre les types 1 et 2 de  $PI^A$  a été trouvée ; elle résulte d'un polymorphisme au nucléotide 196, T  $\rightarrow$  C, traduit au codon 33 par une Leu pour  $PI^A$ , une Pro pour  $PI^A2$ . Pour démontrer que cette différence d'un seul acide aminé est bien la cause de la spécificité immunologique, les deux

formes ont été insérées dans un vecteur d'expression, et transfectées dans des cellules COS. L'immunoprécipitation des lysats des COS par des allo-antisérums spécifiques montra que la forme Leu 33 était reconnue seulement par l'antisérum anti  $PI^A$ , la forme Pro 33 par l'antisérum anti  $PI^A2$ . La même équipe a entrepris [7] d'appliquer cette observation au diagnostic prénatal de la thrombocytopenie néonatale dans des familles à risque. On a employé pour cela ; soit des antisérums spécifiques réagissant avec les plaquettes, soit des oligonucléotides ne différant que par la seule base spécifique. Les tests furent appliqués à l'ADN de leucocytes du fœtus (il faut environ 1 ml de sang), ou à des cellules amniotiques. Seize familles furent examinées, huit à risque et huit témoins. Dans tous les cas, les résultats sérologiques et ceux des oligonucléotides furent concordants. On confirme ainsi que la spécificité sérologique provient bien de la différence de l'acide aminé 33. Sur le plan pratique, cette détection permet de traiter les mères en prénatal [8] ou, au contraire, de leur éviter des interventions prénatales lourdes et coûteuses.

Récemment la même équipe de New-

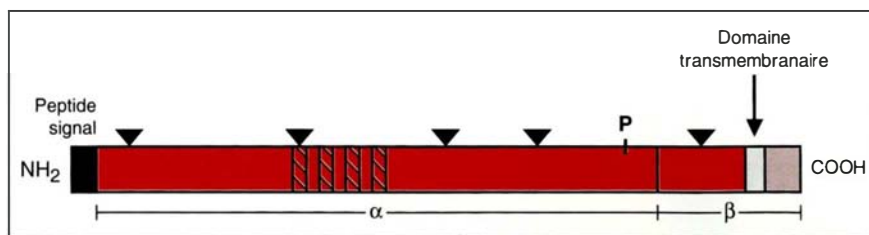


Figure 2. **Carte schématique du précurseur de la protéine GPIIb.** En noir : peptide signal. Hachuré oblique : région homologue à calmoduline et troponine C. En pointillé gris : portion transmembranaire. En hachuré horizontal : partie COOH terminale. Triangles inversés : points potentiels de glycosylation. P en gras : position 843 du polymorphisme Bak. (Modifié d'après [10]).

man [9] a centré ses recherches sur un autre polymorphisme responsable d'allo-immunisations, donnant les mêmes tableaux de purpura post-transfusionnel et de thrombocytopenie néonatale, le système Pen<sup>a</sup>/Pen<sup>b</sup>, également décrit au Japon sous le nom de Yuk [10]. Le type Pen<sup>b</sup>, rare en Europe et aux États-Unis, est beaucoup plus fréquent en Asie et notamment au Japon. L'analyse de la séquence de l'ADNc de la GP IIIa a révélé que ce polymorphisme consistait en un équilibre G → A au nucléotide 526, avec un changement Arg → Glu au codon 143. On construit des vecteurs ne différant que par la nature de l'acide aminé 143 qui, après transfection, ne réagissaient qu'avec un des antisérums anti Pen<sup>a</sup> ou Pen<sup>b</sup>. Ce polymorphisme siège dans la région (acides aminés 109-171) que l'on pense responsable de la liaison avec les sites RGD des ligands.

### GP IIb

La GP IIb des plaquettes est constituée de deux sous-unités unies par un pont disulfure, qui proviennent d'une scission protéolytique. L'ADNc code en effet [11] pour un précurseur de 1039 acides aminés, dont 31 pour le peptide signal, 871 pour la sous-unité la plus grande, 137 pour la plus petite (figure 2). La molécule comprend des régions homologues aux sites fixateurs de calcium de la calmoduline et de la troponine ; la petite sous-unité contient une zone transmembranaire de 26 résidus et une extrémité carboxylique cytoplasmique. L'épitope allo-antigénique Bak, responsable lui aussi de purpuras post-transfusionnels ou néonatales,

est porté par la GP IIb [6]. Il est dû à un polymorphisme unique T → G au nucléotide 2622, entraînant un polymorphisme Ile → Ser au codon 843. Le rôle de cette unique différence d'acides aminés a été démontré ici aussi par la transfection de vecteurs appropriés dans des cellules COS.

On est donc conduit à la conclusion que le changement d'un seul acide aminé peut provoquer un changement d'antigénicité. On a tenté de comprendre le mécanisme d'une telle réactivité. A cet égard il faut distinguer entre le système Bak et les autres. Dans le cas de P1<sup>A</sup>, il est clair que la différence de structure primaire suffit. Deux éléments peuvent être mis en avant : d'une part, une Pro supplémentaire peut modifier la structure secondaire de la molécule ; d'autre part, la zone qui entoure le polymorphisme est très riche en Cys, et des liaisons disulfures pourraient être modifiées. Enfin, d'autres facteurs interviennent probablement pour que l'apparition des allo-anticorps devienne effective : on a noté par exemple une forte association entre le développement d'anticorps anti-P1<sup>A</sup> et la présence de l'allotype HLA de classe II DRw52a [12]. Les résultats sont moins simples avec le système Bak du fait que GPIIb est une protéine qui subit une maturation. Les allo-anticorps anti-Bak<sup>a</sup> reconnaissent mal le précurseur, et beaucoup plus efficacement la protéine finale, protéolysée et glycosylée. Il semble enfin que, du fait de la complexité immunologique de ce système, il soit difficile ou impossible d'utiliser des peptides courts de synthèse pour bloquer des allo-anticorps maternels contre les plaquettes fœtales ■

### RÉFÉRENCES

1. Hynes RO. Integrins : a family of cell surface receptors. *Cell* 1987 ; 48 : 549-54.
2. Bellucci S, Caen J. Les thrombopathies constitutionnelles. *médecine/sciences* 1985 ; 1 : 404-11.
3. Bray PF, Barsh G, Rosa JP, et al. Physical linkage of the genes for platelet membrane glycoproteins IIb and IIIa. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 8683-7.
4. Fitzgerald LA, Steiner B, Rall Jr SC, Lo SS, Phillips DR. Protein sequence of endothelial glycoprotein IIIa derived from a cDNA clone. *J Biol Chem* 1987 ; 262 : 3936-9.
5. Zimrin AB, Gidwitz S, Schwartz E, et al. The genomic organization of platelet glycoprotein IIIa. *J Biol Chem* 1990 ; 265 : 8590-5.
6. Goldberger A, Kolodziej M, Poncz M, Bennett JS, Newman PJ. Effect of single amino acid substitutions on the formation of the P1<sup>A</sup> and Bak alloantigenic epitopes. *Blood* 1991 ; 78 : 681-7.
7. McFarland JC, Aster RH, Bussel JB, Giannopoulos JG, Derbes RS, Newman PJ. Prenatal diagnosis of neonatal alloimmune thrombocytopenia using allele-specific oligonucleotide probes. *Blood* 1991 ; 78 : 2276-82.
8. Daffos F, Forestier F, Muller JY, Reznikoff-Etievant MF, Kaplan C. *In utero* platelet transfusion in alloimmune thrombocytopenia. *Lancet* 1984 ; ii : 1103.
9. Wang R, Furihata K, McFarland JG, Friedman K, Aster RH, Newman PJ. An amino acid polymorphism within the RGD binding domain of platelet membrane glycoprotein IIIa is responsible for the formation of the Pen<sup>a</sup>/Pen<sup>b</sup> alloantigen system. *J Clin Invest* 1992 ; 90 : 2038-43.
10. Wang L, Juji T, Shibata Y, Kuwata S, Tokunaga K. Sequence variation of human platelet membrane glycoprotein IIIa associated with the Yuk<sup>a</sup>/Yuk<sup>b</sup> alloantigen system. *Proc Jpn Acad* 1991 ; 67 : 102.
11. Poncz M, Eisman R, Heidenreich R, et al. Structure of the platelet membrane glycoprotein IIb. *J Biol Chem* 1987 ; 262 : 8476-82.
12. Valentin M, Vergracht A, Bignon JD et al. HLA DRw52a is involved in alloimmunization against P1<sup>A</sup> antigen. *Hum Immunol* 1990 ; 27 : 73.

### Jean-Claude Dreyfus

professeur honoraire au CHU Cochin-Port-Royal. Institut Cochin de Génétique Moléculaire, Inserm U. 129, CHU Cochin, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

### TIRÉS A PART

J.-C. Dreyfus.