

morphismes de longueur de la partie 3' non codante des exons. Dans les deux espèces, chez le fœtus comme chez l'adulte, les deux allèles sont coexprimés à des taux de même ordre. Il est donc clair que l'idée d'une empreinte génomique, telle qu'on la conçoit actuellement, n'est pas applicable, et qu'une autre explication reste à trouver, puis à démontrer. Nous aimerions soulever une hypothèse fondée sur les travaux de Kitzberg *et al.* (voir *m/s* n° 10, vol. 9, p. 1140). Ces auteurs ont montré que, dans les régions chromosomiques contenant des zones imprimées, la réplication de l'ADN sur les chromosomes homologues est asynchrone, et que c'est toujours l'allèle paternel qui se réplique le premier. Il ne s'ensuit pas nécessairement que tous les gènes inclus soient soumis à impression. Mais il serait possible que certains gènes, répliqués plus tôt ou plus tard, aient acquis des propriétés particulières, même si leur expression globale n'est pas modifiée en apparence. Ainsi, la réplication précoce de l'allèle paternel le protégerait relativement de la suramplification de triplets à laquelle serait exposé l'allèle maternel. Peut-être est-il intéressant d'étudier la réplication du chromosome 7 de la souris (il est même possible que cela ait déjà été fait), et de la zone intéressante du 19 humain. Cela serait pratiqué d'abord en culture de cellules ; et, puisqu'il s'agit de réplication de l'ADN, c'est seulement dans le muscle fœtal que de telles recherches pourraient être envisagées *in vivo*.

J.C.D.

1. Fu YH, Friedman DL, Richards S, *et al.* Decreased expression of myotonin-protein kinase messenger RNA and protein in adult form of myotonic dystrophy. *Science* 1993 ; 260 : 235-8.

2. Hofmann-Radvanyi H, Lavedan C, Rabes JP, Savoy D, Duros C, Johnson K, Junien C. Myotonic dystrophy : absence of CTG enlarged transcript in congenital forms, and low expression of the normal allele. *Hum Mol Genet* 1993 ; 2 : 1263-6.

3. Jansen G, Bartholomei M, Kalscheuer V, *et al.* No imprinting involved in the expression of DM-kinase mRNAs in mouse and human tissues. *Hum Mol Genet* 1993 ; 2 : 1221-7.

■■■ Le diabète insipide néphrogénique héréditaire lié à l'X « revisité » plus de 200 ans après le débarquement du navire Hopewell. Le diabète néphrogénique héréditaire lié au chromosome X (NDI) est une maladie rare dont le signe principal est une polyurie, faute de réponse rénale à l'hormone antidiurétique, l'arginine-vasopressine (AVP). La maladie est due à des mutations qui affectent le gène codant pour le récepteur V<sub>2</sub> de l'AVP (voir *m/s* n° 9, vol. 8, p. 1004). En Amérique du Nord, la « généalogie » de la maladie a pu être établie et il avait été suggéré que la plupart des cas remontaient à un groupe d'immigrants qui étaient arrivés en Nouvelle-Écosse en 1771 sur le navire Hopewell. Dans cette région, la prévalence du NDI est de 24/1 000 hommes dans certains groupes alors qu'elle n'est que de 4/1 000 000 hommes dans la province du Québec. Bichet *et al.* (hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, Québec, Canada et *Baylor College of Medicine*, Houston, TX, USA) ont étudié 17 hommes atteints provenant de la famille Hopewell, ainsi que quatre familles supplémentaires de Nouvelle-Écosse et du Nouveau-Brunswick [1]. Chez tous, ils ont mis en évidence la mutation « Hopewell » W71X, c'est-à-dire la substitution d'une seule base (G-A) qui change le codon 71 de TGG (tryptophane) en TGA (stop). En revanche, dans d'autres familles, de l'Utah et du Québec, d'autres mutations ont été trouvées, touchant respectivement les codons 312, 113 et 137. Quelle que soit la mutation en cause, l'expression phénotypique de la maladie est identique.

[1. Bichet DG, *et al.* *J Clin Invest* 1993 (sous presse).]

■■■ La forme fonctionnelle du récepteur de l'érythropoïétine est une protéine glycosylée de 78 kDa. L'ADNc du récepteur de l'érythropoïétine (EPOR) code pour une protéine de 55 kDa dont la structure est

caractéristique de la famille des récepteurs des cytokines. Des EPOR de 62-66 kDa ont été isolés il y a quelques années. La forme fonctionnelle du récepteur vient d'être mise en évidence sur des cellules érythroleucémiques murines dépendantes de l'érythropoïétine (EPO) HC-D57 par Sawyer et Hankins de Nashville (TN, USA) et Baltimore (MD, USA) [1]. Ces cellules, cultivées quelques heures en l'absence d'EPO, multiplient par 10 le nombre de sites de liaison de l'EPO. L'immunoprécipitation de l'EPOR a révélé la présence d'une espèce moléculaire encore non décrite, de 78 kDa, dont la quantité correspondait au nombre de sites de liaison de l'EPO. Cette forme très glycosylée du récepteur semble en être la forme active. En effet, elle disparaît avec l'endocytose et la dégradation de l'EPO, son débit de renouvellement est multiplié par 12 en présence d'EPO, alors que la demi-vie des récepteurs reconnus jusqu'à présent (62-66 kDa) n'est pas affectée par l'EPO ; elle est phosphorylée sur des résidus tyrosine par la liaison à l'EPO, et son abondance est corrélée à la phosphorylation d'une protéine de 97 kDa dépendante de l'EPO. La plupart de ces caractéristiques manquaient aux récepteurs de l'EPO présentés à ce jour, produits moins glycosylés du gène de l'EPOR dont l'altération des modifications post-traductionnelles ne permettait pas le maintien fonctionnel. L'EPO n'entraîne la phosphorylation que du récepteur 78 kDa et de la protéine 97 kDa, ce qui suggère l'existence d'un mécanisme très spécifique. Cette phosphorylation est de courte durée (< 1 heure). La corrélation entre l'endocytose de <sup>125</sup>I-EPO et la destruction de l'EPOR, l'importante diminution de la durée de vie de l'EPOR en présence d'EPO indiquent que l'EPOR n'est pas recyclé après endocytose mais dégradé, vraisemblablement en même temps que l'EPO.

[1. Sawyer ST, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 6849-53.]

S  
E  
T  
E  
N  
O  
M

■■■ **SNAP-25 se partage entre transmission synaptique et croissance cellulaire.** SNAP-25 (*synaptosomal associated protein 25kD*) est une protéine du système nerveux impliquée dans la fusion des vésicules synaptiques avec la membrane plasmique. Elle existe sous deux formes, a et b, engendrées par l'épissage alterné de deux exons homologues. Alors que SNAP-25a est exprimé très tôt, SNAP-25b apparaît au moment de la synaptogenèse et devient l'isoforme dominante chez l'adulte. SNAP-25 se comporte comme une protéine membranaire qui se concentre au niveau des terminaisons nerveuses peut-être par suite de la palmitoylation de ses cystéines. La localisation intracellulaire particulière de cette protéine et son association au complexe protéique cytoplasmique 20S, un des éléments clés de la fusion des membranes, indique qu'elle joue un rôle déterminant dans l'exocytose des vésicules synaptiques ([1] et *m/s* n° 6-7, vol. 9, p. 802). Les homologies de séquences de SNAP-25 avec SEC9, une protéine de levure indispensable à la fusion des vésicules de sécrétion avec la membrane plasmique, renforce cette idée. Il semble de plus en plus évident que les mécanismes de fusion membranaire et les protéines qui y participent sont très conservés au cours de l'évolution et tout au long des voies d'exocytose réglée et constitutive. Ainsi des protéines qui participent à la transmission synaptique, telles que SNAP-25, pourraient avoir une fonction plus générale s'appliquant aussi bien à l'exocytose des vésicules synaptiques qu'à l'exocytose constitutive. Du fait de son expression restreinte aux neurones, SNAP-25 pourrait, par exemple, permettre la croissance axonale en favorisant l'exportation de constituants membranaires nouveaux. Cette hypothèse a maintenant été testée en bloquant la synthèse de SNAP-25 à l'aide d'oligonucléotides antisens modifiés complémentaires des régions codantes communes aux deux isoformes [2, 3]. Sur des cultures primaires de neurones corticaux de rat, les

antisens suppriment presque totalement la présence de SNAP-25 dans les cônes de croissance et les zones distales des neurites. L'expression de la synaptophysine, un marqueur de différenciation des synapses, est aussi fortement réduite, indiquant que la formation des synapses est directement liée à la croissance axonale. La quantification de la croissance axonale est plus fiable à partir de cellules PC12 car l'élongation des neurites peut être induite par le NGF (*nerve growth factor*). Sur ces cellules, la réduction de l'expression de SNAP-25 par les oligonucléotides antisens est supérieure à 75 % et bloque l'effet du NGF sur l'élongation des neurites sans pour autant modifier leur nombre. Les oligonucléotides antisens sont fréquemment employés *in vitro* pour supprimer transitoirement et spécifiquement l'expression d'une protéine mais leur utilisation *in vivo* reste très limitée. Ici, l'effet *in vivo* d'un oligonucléotide antisens, complémentaire d'une région identique chez le rat et le poulet, a pu être étudié sur l'embryon de poulet par injection intraoculaire. Les sections transversales de la rétine montrent une réduction importante de l'expression de SNAP-25 dans la couche plexiforme interne et les corps cellulaires de certaines cellules amacrines. Une diminution de l'épaisseur de la couche plexiforme interne, proportionnelle à la réduction d'expression de SNAP-25, est également observée. Le nombre et la distribution des cellules amacrines identifiées ne sont pas modifiés mais la longueur de leur projection est réduite de moitié. Comme pour les cultures primaires de neurones corticaux, une réduction de l'expression de la synaptophysine est associée à celle de SNAP-25. Ces observations anatomiques montrent clairement que l'inhibition de l'expression de SNAP-25 dans la rétine réduit la croissance axonale. L'intervention de SNAP-25 dans la transmission synaptique et la croissance axonale confirme que la fusion des différents types de vésicules peut s'effectuer selon des mécanismes très

similaires. Cette double implication de SNAP-25 pourrait correspondre à des différences fonctionnelles des deux isoformes, SNAP-25a serait impliquée dans la croissance axonale et SNAP-25b dans l'exocytose des vésicules synaptiques. Il n'est pas impossible que SNAP-25 soit le premier représentant d'une famille multigénique dont les produits participeraient à la croissance cellulaire, la sécrétion et le recyclage des vésicules.

[1. Söllner T, et al. *Nature* 1993 ; 362 : 318-24.]

[2. Osen-Sand A, et al. *Nature* 1993 ; 364 : 445-8.]

[3. De Camilli P. *Nature* 1993 ; 364 : 387-8.]

■■■ **Des fonctions immunitaires inhibées par un neuropeptide.** S'il est clair que le système nerveux exerce une influence parfois importante sur le système immunitaire, les bases de cette relation ne sont pas encore connues. La peau est le premier rempart de défense contre les agressions des micro-organismes et des produits chimiques toxiques. Les cellules de Langerhans (CL) y effectuent un travail considérable de surveillance immunologique et constituent un des pivots de notre système immunitaire. Le CGRP (*calcitonin gene related peptide*) est un neuropeptide vasodilatateur dont l'expression dépend de l'épissage du gène de la calcitonine (*m/s* n° 4, vol. 8, p. 384). Sur des coupes de peau humaine, la microscopie (confocale et électronique) révèle des associations étroites, dans l'épiderme, entre CL et des axones contenant le CGRP [1]. Le contact a lieu au niveau du corps cellulaire des CL et certains des axones concernés proviennent du derme. La prolifération des lymphocytes T allogéniques, normalement induite par les cellules épidermiques murines, est inhibée par le CGRP. La présentation de l'antigène, sous sa forme native ou peptidique, par les cellules épidermiques est également inhibée par le CGRP. Ces cellules épidermiques cultivées en présence de TAA

(*tumor associated antigens*) déclenchent une réaction d'hypersensibilité retardée lorsqu'elles sont injectées à des souris immunisées contre les cellules tumorales. A nouveau cet effet est bloqué par l'incubation préalable des cellules épidermiques avec le CGRP ou par l'élimination des cellules exprimant les antigènes de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (dont les CL font partie). L'ensemble de ces expériences indique que le système nerveux, par l'intermédiaire du CGRP, peut affaiblir les défenses immunitaires en agissant sur les CL. Cela n'est peut-être pas étranger au fait que le déclenchement et le développement de certaines maladies de peau et allergies cutanées soient associés au stress et à l'anxiété.

[1. Hosoi J, *et al. Nature* 1993 ; 363 : 159-63.]

■■■ Récepteurs, activateur et inhibiteur de l'interleukine 1.

L'interleukine 1 (IL1) peut se fixer à au moins deux types de récepteurs, IL1R I et IL1R II. En culture, IL1 se fixant à IL1R I prolonge la survie de cellules myélomonocytaires. Colotta *et al.*, de Milan (Italie) et Seattle (WA, USA), montrent maintenant que IL1R II se comporte comme un leurre distrayant IL1 de son rôle activateur par l'intermédiaire du récepteur de type I. L'interleukine 4 et les glucocorticoïdes sont des antagonistes de l'action de l'IL1 (une cytokine de l'inflammation) et agissent en induisant la synthèse et la libération d'IL1R II [1]. Cette coexistence de récepteurs activateurs et inhibiteurs est en réalité déjà connue : l'IGF-II (*insulin growth factor II*), un facteur de croissance essentiel au cours du développement embryonnaire, agit principalement par l'intermédiaire du récepteur de l'IGF-1, alors que le récepteur spécifique de l'IGF-II jouerait, comme IL1R II, un rôle inhibiteur.

[1. Colotta F, *et al. Science* 1993 ; 261 : 472-5.]

■■■ Rôle d'un trouble génétique de l'insulinosécrétion dans la genèse du diabète de type 1. L'étude de l'insulinosécrétion en réponse au glucose intraveineux dans les fratries d'enfants atteints de diabète de type 1 vient de révéler un fait inattendu. Une équipe française dirigée par P. Bougnères (hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Paris) vient de montrer que, en l'absence de tous les critères d'auto-immunité qui marquent, et précèdent la destruction des cellules  $\beta$ , les frères et sœurs des patients ont une insulinosécrétion en moyenne diminuée de 20 % à 30 %, et environ un quart d'entre eux une atteinte profonde [1]. La diminution de l'insulinosécrétion n'est observée qu'aux âges de la pré-adolescence ou de l'adolescence, un moment où se produit, chez les enfants normaux conjointement étudiés, une augmentation physiologique de la réponse insulinique au glucose. Cette observation suggère l'existence d'un défaut génétique impliqué dans la maturation fonctionnelle ou dans la croissance de la masse des îlots de Langerhans. L'insuffisance de l'insulinosécrétion apparaît peu ou pas évolutive, et ne mène à une carence insulinique totale avec insulinodépendance que si une immunisation anti-îlots vient s'y surajouter. A côté des facteurs immunopathologiques impliqués dans le diabète de type 1, la nature et la place réelle du défaut de l'insulinosécrétion mis en évidence dans les fratries, ainsi que son déterminisme génétique propre, restent à élucider. [1. Carel JC, *et al. J Clin Invest* 1993 ; 92 : 509-13.]

■■■ Le gène de détermination du sexe *SRY* est peu conservé entre les espèces. La détermination sexuelle est un phénomène ancestral s'il en est et le gène de détermination du sexe situé sur le chromosome Y, *SRY*, est commun à tous les mammifères. Malgré cette conservation fonctionnelle, l'équipe de P. Goodfellow

(Londres, GB) [1] montre maintenant que les protéines *SRY* sont extrêmement variables entre différentes espèces de primates, à l'exception du domaine de liaison à l'ADN de type HMG (*high mobility group proteins*). Par exemple, l'identité de séquence entre *SRY* d'homme et de marmouset n'est que de 62 % dans la région aminoterminal et 59 % dans la région carboxyterminale ; en revanche, elle est de 95 % au niveau de la boîte HMG [1]. La même constatation a été faite par B.K. Ducker et P.L. Lundrigan de Ann Harbor (MI, USA) sur les souris et les rats du Vieux Monde [2]. Cette non-conservation peut signifier que seule la région de liaison à l'ADN est importante, ou bien, au contraire, que les régions bordantes jouent un rôle fonctionnel essentiel, spécifique de chaque espèce et qu'elles ont ainsi été soumises à une forme de pression évolutive.

[1. Whitfield LS, *et al. Nature* 1993 ; 364 : 713-5]

[2. Ducker BK, Lundrigan PL. *Nature* 1993 ; 364 : 715-7.]

■■■ Transmission du signal par la cytokine IL6.

IL6 appartient à une famille de facteurs qui comprend aussi le facteur neurotrophique CNTF et les cytokines LIF (*leukemia inhibitory factor*) et oncostatine (*m/s n° 5, vol. 8, p. 490*). Les récepteurs de ces cytokines et facteurs de croissance sont des complexes polymériques comportant des chaînes spécifiques de chaque cytokine et partageant une chaîne de transduction du signal, la gp130. Murakami *et al.* (Osaka et Kanagawa, Japon) [1] démontrent maintenant que la fixation d'IL6 sur son récepteur spécifique entraîne une homodimérisation de la gp130 avec formation de ponts disulfures. Cette modification permet l'association avec une tyrosine kinase qui est activée, véhiculant probablement le signal plus en aval par une voie empruntant les protéines Ras. [1. Murakami M, *et al. Science* 1993 ; 260 : 1808-10.]

(*tumor associated antigens*) déclenchent une réaction d'hypersensibilité retardée lorsqu'elles sont injectées à des souris immunisées contre les cellules tumorales. A nouveau cet effet est bloqué par l'incubation préalable des cellules épidermiques avec le CGRP ou par l'élimination des cellules exprimant les antigènes de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (dont les CL font partie). L'ensemble de ces expériences indique que le système nerveux, par l'intermédiaire du CGRP, peut affaiblir les défenses immunitaires en agissant sur les CL. Cela n'est peut-être pas étranger au fait que le déclenchement et le développement de certaines maladies de peau et allergies cutanées soient associés au stress et à l'anxiété.

[1. Hosoi J, *et al. Nature* 1993 ; 363 : 159-63.]

■■■ Récepteurs, activateur et inhibiteur de l'interleukine 1.

L'interleukine 1 (IL1) peut se fixer à au moins deux types de récepteurs, IL1R I et IL1R II. En culture, IL1 se fixant à IL1R I prolonge la survie de cellules myélomonocytaires. Colotta *et al.*, de Milan (Italie) et Seattle (WA, USA), montrent maintenant que IL1R II se comporte comme un leurre distrayant IL1 de son rôle activateur par l'intermédiaire du récepteur de type I. L'interleukine 4 et les glucocorticoïdes sont des antagonistes de l'action de l'IL1 (une cytokine de l'inflammation) et agissent en induisant la synthèse et la libération d'IL1R II [1]. Cette coexistence de récepteurs activateurs et inhibiteurs est en réalité déjà connue : l'IGF-II (*insulin growth factor II*), un facteur de croissance essentiel au cours du développement embryonnaire, agit principalement par l'intermédiaire du récepteur de l'IGF-1, alors que le récepteur spécifique de l'IGF-II jouerait, comme IL1R II, un rôle inhibiteur.

[1. Colotta F, *et al. Science* 1993 ; 261 : 472-5.]

■■■ Rôle d'un trouble génétique de l'insulinosécrétion dans la genèse du diabète de type 1. L'étude de l'insulinosécrétion en réponse au glucose intraveineux dans les fratries d'enfants atteints de diabète de type 1 vient de révéler un fait inattendu. Une équipe française dirigée par P. Bougnères (hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Paris) vient de montrer que, en l'absence de tous les critères d'auto-immunité qui marquent, et précèdent la destruction des cellules  $\beta$ , les frères et sœurs des patients ont une insulinosécrétion en moyenne diminuée de 20 % à 30 %, et environ un quart d'entre eux une atteinte profonde [1]. La diminution de l'insulinosécrétion n'est observée qu'aux âges de la pré-adolescence ou de l'adolescence, un moment où se produit, chez les enfants normaux conjointement étudiés, une augmentation physiologique de la réponse insulinique au glucose. Cette observation suggère l'existence d'un défaut génétique impliqué dans la maturation fonctionnelle ou dans la croissance de la masse des îlots de Langerhans. L'insuffisance de l'insulinosécrétion apparaît peu ou pas évolutive, et ne mène à une carence insulinique totale avec insulinodépendance que si une immunisation anti-îlots vient s'y surajouter. A côté des facteurs immunopathologiques impliqués dans le diabète de type 1, la nature et la place réelle du défaut de l'insulinosécrétion mis en évidence dans les fratries, ainsi que son déterminisme génétique propre, restent à élucider. [1. Carel JC, *et al. J Clin Invest* 1993 ; 92 : 509-13.]

■■■ Le gène de détermination du sexe *SRY* est peu conservé entre les espèces. La détermination sexuelle est un phénomène ancestral s'il en est et le gène de détermination du sexe situé sur le chromosome Y, *SRY*, est commun à tous les mammifères. Malgré cette conservation fonctionnelle, l'équipe de P. Goodfellow

(Londres, GB) [1] montre maintenant que les protéines *SRY* sont extrêmement variables entre différentes espèces de primates, à l'exception du domaine de liaison à l'ADN de type HMG (*high mobility group proteins*). Par exemple, l'identité de séquence entre *SRY* d'homme et de marmouset n'est que de 62 % dans la région aminoterminal et 59 % dans la région carboxyterminale ; en revanche, elle est de 95 % au niveau de la boîte HMG [1]. La même constatation a été faite par B.K. Ducker et P.L. Lundrigan de Ann Harbor (MI, USA) sur les souris et les rats du Vieux Monde [2]. Cette non-conservation peut signifier que seule la région de liaison à l'ADN est importante, ou bien, au contraire, que les régions bordantes jouent un rôle fonctionnel essentiel, spécifique de chaque espèce et qu'elles ont ainsi été soumises à une forme de pression évolutive.

[1. Whitfield LS, *et al. Nature* 1993 ; 364 : 713-5]

[2. Ducker BK, Lundrigan PL. *Nature* 1993 ; 364 : 715-7.]

■■■ Transmission du signal par la cytokine IL6.

IL6 appartient à une famille de facteurs qui comprend aussi le facteur neurotrophique CNTF et les cytokines LIF (*leukemia inhibitory factor*) et oncostatine (*m/s n° 5, vol. 8, p. 490*). Les récepteurs de ces cytokines et facteurs de croissance sont des complexes polymériques comportant des chaînes spécifiques de chaque cytokine et partageant une chaîne de transduction du signal, la gp130. Murakami *et al.* (Osaka et Kanagawa, Japon) [1] démontrent maintenant que la fixation d'IL6 sur son récepteur spécifique entraîne une homodimérisation de la gp130 avec formation de ponts disulfures. Cette modification permet l'association avec une tyrosine kinase qui est activée, véhiculant probablement le signal plus en aval par une voie empruntant les protéines Ras. [1. Murakami M, *et al. Science* 1993 ; 260 : 1808-10.]

■■■ Une forme de néphrolithiase récessive liée au sexe a eu sa localisation génétique précisée grâce à une famille de New York comptant 102 membres dont 10 hommes atteints, sur cinq générations. Le locus a été fixé en Xp11.22, plus proche du centromère que celui de la dystrophie. Ce travail servira de point de départ pour l'identification du gène, qui se distingue de ceux des deux autres gènes portés par l'X et responsables de troubles rénaux : le syndrome de Lowe, qui comporte en outre des symptômes oculaires et cérébraux, dont le gène est en Xq25-q26, et le syndrome d'Alport, qui comporte en plus une surdité, et dont le gène est en Xq22. [Scheinman SJ, *et al. J Clin Invest* 1993 ; 91 : 2351-7.]

■■■ Un diabète insipide familial est dû à des anomalies du gène précurseur du nonapeptide AVP (arginine vasopressine). *m/s* a relaté la découverte de deux mutations capables de provoquer l'apparition de cette affection (*n° 3, vol. 8, p. 291*). Un groupe japonais [1] vient de décrire une famille dont cinq membres sont atteints, sous la forme habituelle autosomique dominante. La lésion siège sur l'exon 1 ; la mutation Ala → Thr est située en position dite -1, précédant la coupure à l'extrémité COOH du peptide signal du prépropeptide. Des expériences de traduction *in vitro* ont montré que la scission du peptide signal ne s'effectue qu'à un taux très inférieur à la normale. Il est probable que le produit non coupé est incapable de sécréter une AVP qui, en elle-même, devrait être normale. D'après les auteurs, il s'agit du troisième exemple de mutation dans un peptide signal responsable d'une maladie humaine. Le premier [2] concerne une forme d'hypoparathyroïdie familiale, par mutation dans la région hydrophobe du peptide signal de précurseur préparathyroïdien ; le deuxième [3] a trait à un syndrome

hémorragique sévère par mutation en position -3 du peptide signal du facteur X Santo Domingo. [1. Ito M, *et al. J Clin Invest* 1993 ; 91 : 2565-71.] [2. Arnold A, *et al. J Clin Invest* 1990 ; 86 : 1084-7.] [3. Racchi M, *et al. J Biol Chem* 1993 ; 268 : 5735-46.]

■■■ Un nouveau vibron cholérique, non O1, est apparu en 1992 : la huitième pandémie de choléra a-t-elle débuté ? Un nouveau type sérologique de vibron cholérique fait des ravages en Asie depuis quelques mois. Les vibrions sont caractérisés par leur agglutination par les antisérum dirigés contre l'antigène somatique O. Jusqu'à présent seuls les types sérologiques O1 produisaient la toxine cholérique et ils ont été seuls responsables d'épidémies. Les vibrions non O1, dont on connaît 138 souches, n'ont été mis en cause que dans des cas de diarrhée bénins et sporadiques. Apparu pour la première fois à Madras, le vibron O139 [1], appelé récemment Bengal [2], est responsable d'une infection indiscernable de celle causée par les vibrions O1 : potentiel épidémique élevé, diarrhée profuse, vomissements incoercibles entraînant rapidement une intense déshydratation. De plus, toutes les souches O139 examinées produisent la toxine cholérique. Les traitements anticholériques habituels sont efficaces, à l'exception de deux antibiotiques fréquemment utilisés, le co-trimoxazole et la furazodilone. La morbidité et la mortalité dues au choléra avaient fortement diminué ces dernières années, sans doute parce que, la présence de vibron étant devenue endémique, une immunité s'était largement répandue ; les adultes étaient protégés et les cas graves ne survenaient que chez les jeunes enfants. L'épidémie actuelle, malheureusement, touche toute la population ; en effet, ni l'immunité acquise contre les vibrions O1, ni les vaccins, tous dirigés contre les vibrions O1, ne

protègent contre le nouveau sérotype. L'épidémie a débuté à Madras en octobre 1992 et s'est rapidement répandue dans de nombreuses régions de l'Inde [3] ; arrivée au Bangladesh en décembre 1992, elle a déjà envahi le quart du pays, touchant en quatre mois plus de 100 000 personnes et faisant au moins 1 500 morts [4] ; les premiers cas viennent d'être reconnus à Bangkok [15]. La rapidité de la dissémination fait craindre aujourd'hui une nouvelle pandémie. Un vaccin, entièrement nouveau, pourra-t-il être prêt à temps ? [1. Shimada T, *et al. Jpn J Med Sci Biol* 1973 ; 26 : 155-60.] [2. Shimada T, *et al. Lancet* 1993 ; 341 : 1346-7.] [3. Ramamurthy T, *et al. Lancet* 1993 ; 341 : 703-4.] [4. Cholera working group, international centre for diarrheal diseases research, Bangladesh. *Lancet* 1993 ; 342 : 387-90.] [5. Chongsa-nguan M, *et al. Lancet* 1993 ; 342 : 430-1.]

■■■ L'ADP-ribose cyclique, un second messager régulateur du canal calcique du réticulum sarcoplasmique. Le système contrôlant la libération du calcium des zones de stockage dans les muscles cardiaque et squelettique, c'est-à-dire du réticulum sarcoplasmique, est aussi appelé récepteur de la ryanodine. Cette molécule est l'équivalent dans les tissus musculaires du récepteur de l'inositol 3 phosphate (IP3) dans les autres tissus. Des chercheurs associés d'Augusta, en Géorgie, et de Houston, au Texas (USA) [1] viennent maintenant de montrer que le récepteur de la ryanodine cardiaque était stimulé par l'ADP-ribose cyclique, une molécule synthétisée dans de nombreux tissus, notamment les muscles et le cerveau. Il avait été démontré précédemment que l'ADP-ribose cyclique joue le même rôle au niveau des œufs d'oursin. L'ADP-ribose cyclique est synthétisé dans de nombreuses cellules et tissus, à une con-

centration compatible avec son rôle physiologique. Les mécanismes modulant la concentration ou l'effet de l'ADP-ribose cyclique ne sont pas encore connus.

[1. Mészáros LG, *et al. Nature* 1993 ; 364 : 76-9.]

■■■ **Les effets de l'absence complète du récepteur de l'insuline.** Le léprechaunisme est un tableau clinique impressionnant dominé par un hirsutisme sur fond de retard de croissance. Chez huit malades ont été caractérisées [1] des mutations du gène de structure du récepteur de l'insuline. Toutes ces mutations sont des faux-sens, à l'état homozygote ou hétérozygote composite, et l'on admettait qu'une activité résiduelle devait subsister, et qu'une absence complète du récepteur serait létale. Des auteurs britanniques (Cambridge et Harrow) ont observé un nouveau-né atteint de léprechaunisme, décédé à 16 semaines [2]. Son taux d'insulinémie était de 400 fois la normale. L'analyse de l'ADN du gène du récepteur de l'insuline fut faite d'abord chez les parents, consanguins, d'origine pakistanaise, puis confirmée sur la tache de sang prélevée sur l'enfant à la naissance. Une mutation homozygote fut trouvée au codon 121, qui de AAG (Lys) devenait TAG (codon stop). La synthèse était donc interrompue très tôt et il ne devait y avoir aucun récepteur fonctionnel. Il s'agit là du premier cas décrit d'absence totale du récepteur, si on néglige la possibilité, rare mais récemment décrite (*voir m/s n° 3, vol. 9, p. 329*) d'une récupération partielle de la synthèse par élimination d'un exon. La naissance d'un enfant vivant, même s'il n'a survécu que quelques mois, montre qu'un développement des principaux organes et du système nerveux peut avoir lieu en l'absence du récepteur de l'insuline. Il se peut que l'action d'un récepteur proche, tel celui du facteur de croissance IGF-1 (*insulin*

*growth factor 1*), compense durant la vie fœtale l'absence de récepteur de l'insuline.

[1. Taylor SI, *et al. Endocrinol Rev* 1992 ; 13 : 566-95.]

[2. Krook A, *et al. Lancet* 1993 ; 342 : 277-8.]

■■■ **La protéine kinase C (PKC) contrôlerait la quantité de CFTR dans les cellules épithéliales.** Parmi les mutations du gène codant pour le CFTR (*cystic fibrosis transmembrane regulator*) responsables de la mucoviscidose, la plus fréquente,  $\Delta$ Phe-508, entraîne un défaut d'apparition de la protéine sur la membrane plasmique des cellules épithéliales. Cette anomalie semble liée à des modifications post-traductionnelles qui empêchent sa maturation et sa translocation intracellulaires. L'incubation de cellules HT-29 en présence d'acétate de phorbol-myristate (PMA) pendant 4 heures diminue de 60 % à 80 % la quantité de CFTR cellulaire. Il avait été montré précédemment que le PMA diminuait de façon parallèle les niveaux d'ARNm et de protéine [1]. L'interprétation en était que le PMA supprimerait la transcription du gène. Breuer *et al.* de Jérusalem (Israël) et Toronto (Canada) montrent aujourd'hui que la suppression de la synthèse des ARNm par l'actinomycine D n'affecte que peu la concentration de la protéine car la demi-vie du CFTR est longue (7 à 12 heures). Ils ont étudié plus en détail l'effet du PMA et observé que celui-ci est inversé en partie par l'inhibiteur spécifique de la PKC, GF109203X [2]. Ils avancent l'hypothèse que le PMA, inhibiteur direct de la transcription du gène agirait aussi en activant la PKC. Le mécanisme par lequel la PKC entraînerait la dégradation du CFTR n'est pas clair. La PKC phosphoryle le CFTR sur des sites spécifiques [3], activant dans un premier temps la conductance du chlorure. La dégradation du CFTR lors de l'activation prolongée de la PKC permet-

trait de mettre fin aux mouvements de Cl<sup>-</sup> et de mucines, conférant à la PKC un rôle régulateur de la fonction du CFTR.

[1. Breuer W, *et al. J Biol Chem* 1992 ; 267 : 10465-9.]

[2. Breuer W, *et al. J Biol Chem* 1993 ; 268 : 13935-9.]

[3. Picciotto M, *et al. J Biol Chem* 1992 ; 267 : 17742-52.]

■■■ **Une mutation faux-sens de la dystrophine dans une myopathie de Duchenne.** Dans la myopathie de Duchenne, on trouve des délétions du gène de la dystrophine dans les deux tiers des cas ; on décrit également des duplications. Parmi les 30 % de cas dont il reste à rendre compte, on a détecté des microdélétions, et récemment des mutations ponctuelles (*m/s n° 5, vol. 8, p. 493*) ; celles-ci aboutissaient toujours à des anomalies d'épissage ou des codons de terminaison. On n'avait encore jamais découvert de mutations faux-sens. Au cours de l'examen systématique de 105 malades sans délétion, une équipe de Columbus (OH, USA) [1] a mis en évidence la première mutation faux-sens connue. Il s'agit d'une transversion T → G au nucléotide 368, dans l'exon 3, conduisant au remplacement d'une Leu par une Arg au codon 54. Cette leucine, située dans le domaine amino-terminal de liaison à l'actine de la dystrophine (souris, poulet), et d'autres protéines capables de se lier à l'actine, est conservée au cours de l'évolution. La mère et une sœur du malade portent la même mutation à l'état hétérozygote, alors que la grand-mère maternelle, dont l'allèle dérive, ne la portait pas. Une dystrophine de taille normale était présente chez le malade mais en faible quantité (20 % de la normale), et apparemment avec une localisation cellulaire normale. Malgré ce taux résiduel relativement élevé, le tableau clinique, à 8 ans, était celui d'une

S  
E  
V  
E  
R  
B

maladie de Duchenne grave. Il est probable que la mutation, siégeant dans le domaine de liaison à l'actine, provoque à la fois une instabilité de la molécule et un défaut fonctionnel. [1. Prior TW, *et al. Nature Genet* 1993, 4 : 357-60.]

■■■ La transmission de certains caractères acquis chez des rongeurs.

Depuis une dizaine d'années un groupe de Hamilton (Ontario, Canada) [1] travaille sur l'hérédité de la gerbille mongolienne (*Meriones unguiculatus*, un rongeur dont les pattes postérieures sont plus longues que les antérieures). Son sujet est l'effet de la position relative des fœtus *in utero* sur le développement. Il a trouvé par exemple que les fœtus femelles qui sont situés entre deux fœtus mâles, plus exposés aux androgènes (femelles 2 M), atteignent la puberté plus tard que leurs sœurs placées entre deux femelles (2 F) et ont une durée de fécondité plus brève. Dans l'expérience cruciale, 25 femelles 2 M et 25 2 F ont été délivrées par césarienne le dernier jour de la gestation, puis nourries par des nourrices qui avaient mis bas le même jour. Chacune a été accouplée à l'âge de 67 jours. A la mise bas, on nota le sexe des souriceaux. On a trouvé un pourcentage plus élevé de mâles dans les portées nées de femelles 2 M ( $57,1 \pm 3$ ), que dans celles nées de 2 F ( $43,7 \pm 4,8$  %) ( $p < 0,01$ ). A partir de ces données et de quelques autres, comme le nombre de fœtus porté par chaque corne utérine (la répartition des sexes n'est pas la même des deux côtés), Clark *et al.* ont pu déduire que la probabilité pour qu'une fille d'une mère 2 M soit elle-même 2 M est 1,73 fois celle d'être 2 F. Réciproquement la probabilité qu'une fille d'une mère 2 F soit elle-même 2 M n'est que 0,60 d'être 2 F. Sans aller, comme un commentateur de *Nature* [2] jusqu'à dire, sur le mode biblique, « et l'oncle engen-

dra le neveu », ces résultats montrent une influence de l'environnement hormonal sur le sexe des futurs descendants.

[1. Clark MM, *et al. Nature* 1993, 364 : 712.]

[2. Vandenberg JG. *Nature* 1993, 364 : 671-2.]

■■■ Les gènes soumis à l'empreinte génomique ont une réplication asynchrone sur les chromosomes homologues. L'empreinte génomique parentale a pour effet que certains gènes sont exprimés différemment par les chromosomes d'origine paternelle et maternelle. Chez la souris on en a isolé plusieurs : facteur de croissance II de l'insuline (IGFII) et son récepteur (IGFIIr), H19 et Snrpn (*m/s* n° 3, vol. 7, p. 392 ; n° 7, vol. 7, p. 746 ; n° 1, vol. 6, p. 51). Chez l'homme les gènes correspondants le sont aussi, comme on vient de le montrer pour IGFII sur le chromosome 11 [1, 2]. On connaît mal les mécanismes de ces différences, et pourquoi elles sont réservées à un nombre peu élevé de gènes. Une équipe comprenant des chercheurs de Jérusalem (Israël) et Gainesville (FL, USA) [3] a émis l'hypothèse que les régions chromosomiques incluant des gènes imprimés pourraient se répliquer de façon asynchrone sur les deux chromosomes parentaux. La méthode employée est l'hybridation *in situ* sur les noyaux à l'interphase : avant réplication on voit deux taches simples, qui se dédoublent après réplication. Ainsi, dans une population de cellules en phase S, plus il y a de doublets, plus le gène est répliqué précocement. Pour environ 90 % des gènes la réplication est synchrone sur les deux chromosomes. Au contraire, dans la région des gènes imprimés, 25 à 35 % des noyaux se marquent de façon asynchrone. Il en va de même dans des cellules humaines pour IGFII et IGFIIr, ainsi que pour la région homologue du Snrpn,

qui correspond à la zone du chromosome 15 en cause dans le syndrome de Prader-Willi. Lorsque des différences morphologiques ou moléculaires permettent de distinguer les deux allèles, on constate que c'est toujours l'allèle paternel qui se réplique le premier. La démonstration de la précésion de l'allèle paternel dans les gènes imprimés représente un progrès considérable. Elle est loin de fournir la clef de tous les problèmes. Le génome paraît organisé en bandes de réplication de 1 à 2 Mb, probablement contrôlées par des séquences agissant *in cis*. Certaines de ces bandes se répliquent de façon asynchrone, et tous les gènes qui en font partie suivent le même modèle, comme on peut le voir aussi bien dans les cellules murines pour les régions IGFII et IGFIIr que dans les cellules humaines de la région Prader-Willi. Toutefois, dans ces régions, il n'y a pas de corrélation simple entre temps de réplication et intensité d'expression. On peut en donner deux types d'exemples : IGFII et H19, qui sont voisins, sont répliqués de façon coordonnée, mais imprimés en sens opposés, IGFII n'exprimant que l'allèle paternel et H19 le maternel ; de plus, des gènes qui sont probablement inclus dans des régions imprimées, comme ceux de l'insuline II et de la tyrosine hydroxylase, très près d'IGFII, ont leurs deux allèles également transcrits. On trouve aussi des gènes non imprimés dans la zone Prader-Willi. En définitive, bien qu'une corrélation claire soit établie entre empreinte génomique de gènes individuels et leur situation dans des régions à réplication asynchrone, la relation fonctionnelle entre ces paramètres reste encore à préciser.

[1. Ohlsson R, *et al. Nature Genet* 1993 ; 4 : 94-7.]

[2. Giannoukakis N, *et al. Nature Genet* 1993 ; 4 : 98-101.]

[3. Kitsberg D, *et al. Nature* 1993 ; 364 : 459-63.]