

## **Identification de deux loci associés à la régulation de la pression artérielle chez le rat génétiquement hypertendu**

Chez l'homme, une part du niveau de la pression artérielle est génétiquement transmise. Cette héritabilité génétique, de l'ordre de 30 %, a été bien précisée par les études biométriques de la pression artérielle qui ont porté, en particulier, sur des familles, des jumeaux et des enfants adoptés. L'élévation pathologique de la pression artérielle (PA), présente dans environ un quart de la population des pays développés, ne résulte pas uniquement de facteurs héréditaires mais également de facteurs culturels et liés à l'environnement, tels que l'alimentation. Il est également probable que, dans certaines familles, une anomalie génétique est, à elle seule, responsable d'une forte élévation de la PA. Si la connaissance de la prédisposition héréditaire est déjà utile pour la prévention, il serait beaucoup plus intéressant de connaître les gènes en cause, et les variants responsables d'une élévation pathologique de la PA. Cela permettrait de recenser chez un individu hypertendu les différents allèles délétères et de préciser son risque d'origine génétique. Par ailleurs, la compréhension des mécanismes génétiques impliqués dans l'hypertension essentielle permettrait d'adapter le traitement à sa cause. Plusieurs lignées de rats ont été établies, où un niveau élevé de PA est génétiquement transmis, grâce à une sélection des individus les plus hypertendus d'un élevage. Ces lignées ont vraisemblablement concentré les allèles responsables d'une élévation de la PA sur bon nombre de loci impliqués. Ces rats constituent donc un modèle de transmission génétique d'un niveau élevé de PA, comparable à la prédisposition héréditaire humaine à l'hypertension artérielle. Jusqu'à présent, les travaux ont porté sur les analyses phénotypiques de tels ani-

maux. L'énorme somme de travaux réalisés sur ces modèles depuis les années 1970 n'a apporté aucun résultat convaincant sur le mécanisme de l'hypertension, principalement à cause de la difficulté de faire la différence entre ce qui est dû à l'élévation tensionnelle et ce qui est à son origine.

Dans le travail de Hilbert *et al.* [1] réalisé dans le groupe de Mark Lathrop, une étape a été franchie vers l'identification des gènes impliqués dans la régulation de la pression artérielle et son élévation chez les rats hypertendus. Un travail similaire a été ensuite réalisé par le groupe d'Eric Lander à Boston [2]. Les rats étudiés dans ce travail, appelés SHR/SP (*spontaneously hypertensive rats/stroke prone*), sont des animaux très hypertendus chez qui des hémorragies cérébrales surviennent de façon précoce et fréquente. Un croisement a été réalisé entre des animaux de cette lignée et de la lignée témoin normotendue WKY (Wistar-Kyoto). La PA des rats de la deuxième génération issue de ce croisement (F2) a été soigneusement étudiée par mesure intrartérielle, à l'état basal et sous charge en sel. En utilisant ces caractères phénotypiques quantitatifs, une analyse de variance et une étude de liaison ont été réalisées avec des critères de signification très sévères. Les marqueurs qui ont été utilisés sont des VNTR (*variable number of tandem repeats*) et des microsatellites (*m/s*, n° 7, vol. 6, p. 690 et n° 6, vol. 6, p. 576), répartis sur le génome du rat et polymorphes dans les deux lignées de départ WKY et SHR/SP.

Une liaison génétique a été mise en évidence avec deux loci, l'un autosomique, l'autre sur le chromosome X.

La liaison autosomique est située sur

le chromosome 10 du rat. Ce locus, appelé BP/SP1, explique 12 % et 17 % de la variance de la PA systolique et diastolique de base, respectivement, et a un effet dominant sur la PA. Plusieurs gènes sont localisés dans l'intervalle de confiance délimité par les probabilités de liaison avec le marqueur, et forment un groupe de liaison conservé chez l'homme, au sein de la région 17q23. Parmi les gènes de cette région figure celui de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I, enzyme qui transforme l'angiotensine I en angiotensine II, un peptide vaso-constricteur qui favorise la rétention sodée, par le biais de l'aldostérone. Ce gène devient donc un super-candidat pour l'hypertension du rat, mais les résultats ne permettent pas de le désigner avec certitude au sein d'une région de 15 centimorgans (ce qui pourrait correspondre à 15 millions de paires de base). Une autre liaison a été identifiée avec des marqueurs du chromosome X, sur un locus appelé BP/SP2. L'effet de ce locus sur la variance de la PA est encore plus net sur la variance de la PA systolique de base chez les femelles. L'effet de ce locus n'est discernable chez les mâles qu'après charge en sel et seulement dans les croisements entre un mâle SHR/SP et une femelle WKY. Les marqueurs utilisés sont à distance du locus responsable. Pour ce marqueur, il est surprenant de constater que c'est l'allèle provenant des rats WKY qui est responsable de l'élévation tensionnelle. Cela montre que les rats hypertendus ne concentrent pas la totalité des allèles délétères pour la PA, ce qui permet probablement la viabilité de ces lignées.

Ce travail indique que la PA, malgré la complexité de sa régulation et sa variabilité, est un phénotype qui

peut être étudié avec les méthodes robustes de génétique quantitative et permet la détection d'une liaison génétique par la méthode de *lod score*. L'approche utilisée ici est bien différente des travaux précédents effectués chez le rat Dahl sensible au sel, chez qui le gène *renine* avait été impliqué. Les critères de signification statistique fixés dans le travail présenté ici sont beaucoup plus exigeants et évitent de faux résultats positifs dus à la multiplicité des observations. De plus, l'étude de marqueurs génétiquement localisés permet de comparer les résultats obtenus entre marqueurs proches et de raffiner une localisation. L'approche du gène candidat a le mérite de renseigner directement sur la fonction du gène impliquée, mais elle doit prendre en compte la localisation du gène et la possibilité d'une liaison avec un gène voisin.

De multiples questions se trouvent posées, auxquelles les travaux des prochaines années tenteront de répondre. Les études de liaison avec la PA seront-elles capables de mener jusqu'au gène ? Cette phase finale nécessitera de toute façon une puissante logistique à cause du grand nombre d'animaux qu'il faudra étudier. Les gènes impliqués chez le rat SHR/SP seront-ils également impliqués dans l'HTA d'autres souches de rats hypertendus et surtout chez l'homme ? En effet, il ne suffit pas que le gène soit impliqué dans la régulation de la PA, mais il faut aussi que des variants à effet phénotypique fort soient présents dans l'espèce. Seul le recensement et l'étude de familles d'hypertendus pourra donner une réponse. Ce type d'étude permettra-t-il de décrire une nouvelle physiologie de la PA, grâce à l'iden-

tification de nouveaux gènes ? C'est dans cet esprit que le physiologiste peut se réjouir du développement du projet génome.

F. S.  
M. L.

1. Hilbert P, Lindpaintner K, Beckmann J, et al. Chromosomal mapping of two genetic loci associated with blood pressure regulation in hereditary hypertensive rats. *Nature* 1991 ; 353 : 521-6.
2. Jacob HJ, Lindpaintner K, Lincoln SE, et al. Genetic mapping of a gene causing hypertension in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Cell* 1991 ; 67 : 213-4.

## ■■■ BRÈVES ■■■

■■■ **Néphropathie associée à l'expression de gènes du virus HIV-1 chez des souris transgéniques.** La néphropathie associée au SIDA ou HAN pour *HIV-associated nephropathy*, caractérisée par une glomérulosclérose focale (FSGS : *focal segmental glomerulo-sclerose*), est relativement fréquente puisqu'elle affecte 10 % des patients, les complications rénales dans leur ensemble survenant chez 40 % des malades. De nombreux facteurs, incluant un effet direct du virus HIV-1 ou d'autres virus, la toxicité de certains traitements, l'usage de drogues... peuvent être à l'origine de l'atteinte rénale. Afin de tester le rôle direct de certaines protéines du virus HIV-1 sur l'apparition de la glomérulosclérose, P. Dickie et al. (NIH, Bethesda, MA, USA) [1] ont introduit chez la souris un transgène correspondant à un provirus HIV-1 délété d'une partie des gènes *gag* et *pol*. Ce transgène peut coder pour les glycoprotéines d'enveloppe, et les protéines régulatrices Tat, Nef, Rev, Vpu, Vpr, Vif. Les souris transgéniques obtenues expriment le transgène à des niveaux variables dans divers tissus, dont la peau, le muscle squelettique, le cer-

veau, les yeux, la rate, le thymus et les reins. L'expression élevée dans les reins est corrélée à l'apparition précoce d'une protéinurie accompagnée d'une glomérulosclérose diffuse, d'une dilatation des tubules avec dégénérescence des cellules épithéliales et d'une discrète néphrite interstitielle. Chez les animaux dont l'atteinte rénale n'entraîne pas la mort trop précocement, on observe par ailleurs, de façon sporadique, une dégénérescence musculaire, squelettique et myocardique, des artériopathies multiples, une atrophie thymique et des lésions papillomateuses de la peau. Certaines de ces lésions, et en particulier l'atteinte musculaire, pourraient participer, *via* l'accumulation de protéines cellulaires et/ou virales dans les glomérules, à la néphropathie dont le caractère sporadique ne permet pas d'affirmer qu'elle soit directement liée à l'expression de gènes viraux dans le rein. Cependant, un certain nombre d'arguments rendent cette hypothèse hautement probable : (1) les lignées de souris exprimant le transgène dans divers tissus à l'exception du rein ne sont pas atteintes de néphropathie ; (2) la protéinurie et la glomérulosclérose n'apparaissent qu'à

partir du moment où le transgène s'exprime dans le rein. Il faut par ailleurs rappeler que, chez l'homme, les cellules glomérulaires portent le récepteur CD4 [2], qui joue un rôle primordial dans le tropisme du virus HIV-1, et que de l'ADN viral a été détecté à ce niveau chez des patients atteints de néphropathie liée au SIDA [3]. Par conséquent, l'apparition, chez la souris transgénique « HIV », d'une néphropathie très similaire à celle observée chez l'homme infecté par le virus HIV-1, suggère fortement que l'expression des protéines virales joue un rôle direct dans l'apparition de la symptomatologie rénale.

1. Dickie P. et al. *Virology* 1991 ; 185 : 109-19.]
2. Parra AK, et al. *N Engl J Med* 1989 ; 320 : 741.]
3. Cohen AH, et al. *Mod Pathol* 1989 ; 2 : 125-8.]



■■■ L'expression de molécules de classe I dans les oligodendrocytes de souris transgéniques provoque une dysmyélinisation. Les molécules de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) ne sont normalement pas exprimées dans le cerveau. Des expressions aberrantes sont cependant observées dans la sclérose en plaques sans que pour autant une relation claire ait pu être démontrée entre la destruction de la myéline et des oligodendrocytes qui caractérise cette maladie, et l'expression des molécules du CMH. Des chercheurs australiens (Victoria) et japonais (Osaka) ont ciblé l'expression de molécules de classe I (H-2K<sup>b</sup>) dans les oligodendrocytes, en introduisant chez l'embryon de souris un transgène comportant les séquences codantes des molécules H-2K<sup>b</sup> placées sous le contrôle des séquences régulatrices du gène codant pour la protéine basique de la myéline. Les souris transgéniques homozygotes ont un phénotype « tremblant » (*shiverer*) et meurent entre 15 et 22 jours. Aucun infiltrat lymphocytaire n'est observé chez ces animaux. En revanche, il existe une hypomyélinisation majeure sans diminution du nombre des oligodendrocytes. La dysmyélinisation pourrait être liée à un dysfonctionnement cellulaire provoqué par l'accumulation des protéines de classe I dans les oligodendrocytes. Une telle perturbation du fonctionnement cellulaire a été observée dans divers modèles de transgénèse : anomalie de la sécrétion d'insuline chez des souris exprimant une molécule du CMH dans les îlots bêta du pancréas, cytotoxicité hépatocytaire induite par l'accumulation de protéine pré-S du virus HBV, etc. On ne peut cependant formellement éliminer l'hypothèse selon laquelle un phénomène aléatoire de mutagenèse insertionnelle est ici en cause. Si, néanmoins, l'explication proposée par les auteurs est juste, de telles anomalies de la myélinisation provoquées par la synthèse des molécules de classe I dans les oligodendrocytes des souris transgéniques permettraient de mieux comprendre pourquoi l'apparition de scléroses en plaques chez

l'homme n'est pas associée à la présence d'un virus particulier ou à l'expression d'auto-antigènes spécifiques. Il suffirait, en effet, qu'une surexpression des molécules de classe I se trouve induite par un mécanisme quelconque (infection, cytokines...) pour que l'effet cytopathogène survienne. Un tel mécanisme pourrait aussi expliquer l'exacerbation des symptômes observée après administration d'interféron gamma à des malades atteints de scléroses multiples.

[1. Turnley AM, *et al. Nature* 1991 ; 353 : 566-9.]

■■■ Diversité de l'ADN mitochondrial (ADNmt) dans une tribu amérindienne. Illustrant la *nouvelle* sur la diversité du génome humain (*m/s n° 9, vol. 7, p.975*) Ward *et al.* (Salt Lake City, UT, et Munich, Allemagne) ont étudié la séquence de la région contrôle de l'ADNmt dans une tribu amérindienne. Les Nun-Chah-Nulth vivent dans l'ouest de l'île de Vancouver ; ils se divisent en 15 sous-groupes. Il semble y avoir une continuité culturelle dans cette région depuis au moins 4 000 ans, et le taux de mélange avec des Blancs ne dépasse pas 5 %. Une séquence de 360 nucléotides (positions 16024 à 16383) a été analysée chez 63 sujets non apparentés par leur mère, et provenant de 13 sous-groupes. Les auteurs ont trouvé 28 lignages différents, définis par 26 positions variables. Cette proportion semble élevée pour une population locale, puisqu'elle représente plus de 60 % de la diversité observée dans des ethnies importantes, comme les Japonais et les Africains subsahariens. Elle fait penser que cette variabilité remonte à une date antérieure à celle de l'arrivée des hommes en Amérique. Une telle constatation n'est pas en faveur de l'hypothèse d'un « effet fondateur » d'un très petit groupe à l'origine du peuplement de l'Amérique, ni de celle d'un « goulet d'étranglement » lors de la formation des groupes ethniques contemporains.

[1. Ward RH, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 8720-4.]

■■■ Le chromosome 2 humain provient d'une fusion télomérique ancestrale. Dans une nouvelle de 1989, nous décrivions l'existence de télomères interstitiels et émettions l'hypothèse que le chromosome 2 humain, qui dérive de la fusion de deux acrocentriques présents chez les grands singes, pouvait en représenter un exemple (*m/s n° 10, vol. 5, p. 784*). Ce n'était cependant pas la seule possibilité, car cette fusion, dans la région 2q1, pourrait être centromérique. Une équipe de New Haven, (CT, USA) [1] vient de trancher en faveur de l'origine télomérique. Elle a identifié deux cosmides génomiques alléliques, contenant deux rangées de répétitions de type télomérique en situation tête à tête, 5' (TTAGGG)-(CCCTAA) 3'. De plus, les séquences qui flanquent ces répétitions sont caractéristiques des zones prétélomériques humaines. Ces séquences ainsi que les répétitions s'hybrident à la bande 2q13 ; on peut ainsi conclure que le *locus* cloné dans les deux cosmides est le reliquat d'une fusion ancienne entre les télomères de deux chromosomes et indique le point de fusion. L'union de deux chromosomes a dû entraîner l'inactivation de l'un des centromères, et, de fait, des études d'hybridation suggèrent l'existence d'un résidu de centromère ancestral en 2q21. Ces observations conduisent à soulever plusieurs problèmes : (a) la fusion télomérique entraîne-t-elle une fragilité du site ? On connaît un site fragile dans cette région 2q13, sensible aux folates, dit FRA2B, beaucoup moins fréquent cependant que celui que porte le chromosome X. Une telle fragilité existe aussi dans le seul cas connu chez l'homme d'une fusion télomère-télomère, entre les chromosomes 6 et 19 (*m/s cité ci-dessus* et [2]) ; (b) la fusion télomérique est cependant un phénomène rare, sauf dans certaines cellules tumorales, bien qu'elle puisse être à l'origine de translocations robertsoniennes, chez les rongeurs, en particulier. Mais, contrairement à la date récente de l'apparition du chromosome 2 (quelques millions d'années), les traces

---

## ■■■ BRÈVES ■■■

d'autres fusions, plus anciennes, ont pu être masquées par des remaniements intercurrents.

[1. Ijdo JW, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 9051-5.]

[2. Hastie ND, Allshire KC. *Trends Genet* 1989 ; 5 : 326-31.]

■■■ Dans le cerveau comme dans le système lymphocytaire, des recombinaisons de l'ADN peuvent survenir au cours du développement. Sakano *et al.* (Berkeley, CA, USA) ont introduit dans l'œuf fécondé de souris un transgène comportant le gène rapporteur codant pour la  $\beta$ -galactosidase bactérienne (*lacZ*), bordé de deux séquences de recombinaison des segments de gènes des immunoglobulines et placé en orientation inverse par rapport aux séquences régulatrices du gène de la  $\beta$ -actine [1]. Un tel transgène ne peut en principe être actif que dans des cellules où une activité recombinase peut permettre la restauration, par recombinaison, d'une séquence comportant le gène *lacZ* correctement orienté par rapport au promoteur utilisé. De ce fait, le transgène devient une sonde de détection d'une activité recombinase. Les auteurs rapportent qu'une telle activité n'est pas uniquement présente dans le système lymphoïde, mais aussi dans de nombreux secteurs du cerveau. La localisation de ces secteurs varie au cours du développement, ce qui suggère que des processus de recombinaison somatiques pourraient être impliqués dans les processus de développement du cerveau, voire dans la plasticité. L'activité recombinase est particulièrement importante dans les zones sensibles, par exemple au niveau des voies auditives et visuelles. En outre, ce sont les voies non primitives, c'est-à-dire celles qui reçoivent des *stimuli* variés à partir de vastes champs récepteurs, qui présentent les plus forts niveaux d'activité recombinase. [1. Matsuoka M, *et al. Science* 1991 ; 254 : 81-6.]