

■■■ **Les récepteurs couplés aux protéines G peuvent avoir, eux aussi, un silencer dans leur gène: exemple du récepteur cholinergique muscarinique m4.**

Si les récepteurs couplés aux protéines G ont été identifiés par centaines, on ignore, aujourd'hui encore, les mécanismes impliqués dans la régulation de leur expression et, en particulier, dans la spécificité d'expression tissulaire. Un laboratoire de l'*University College* à Londres a entrepris la difficile mission de répondre à cette interrogation en « disséquant » le gène du récepteur muscarinique m4, récepteur exprimé essentiellement au niveau des régions télencéphaliques et des ganglions nerveux [1]. Chez le rat, le gène *m4* est constitué par un exon non codant de 493 pb, un intron de 4,8 kb et un exon codant de 2,6 kb [2]. *In vitro*, alors que le fragment génomique (-1 440/+80) de 1 440 pb de séquence 5' et 80 pb du premier exon, ou même une séquence plus courte (-677/+80) dirige l'expression d'un gène rapporteur uniquement dans des cellules nerveuses, la délétion de la région -677/-271 entraîne l'expression constitutive du gène dans des cellules non nerveuses, comme les cellules CHO et 3T3. Ce résultat indique qu'un élément jouant le rôle de silencer est présent dans la région délétée, région contenant, en outre, une séquence de 28 pb, homologue de l'élément répresseur *RE1/NRSE* impliqué dans la répression de multiples gènes spécifiques du système nerveux. Des expériences de retard sur gel suggèrent que cette séquence « répressive » est capable d'interagir spécifiquement avec une protéine présente dans les cellules n'exprimant pas *m4*, mais non retrouvée dans les extraits protéiques de cellules nerveuses. Au niveau du promoteur proximal du gène *m4* (-149/+80), outre l'existence de plusieurs sites de liaison en tandem pour la protéine ubiquitaire Sp-1, a été identifié un site reconnaissant une protéine encore inconnue, présente dans des extraits de cortex et de striatum et absente du

cervelet, du foie ou du poumon, observations tout à fait en faveur de l'existence d'un activateur transcriptionnel dans les tissus exprimant *m4*. Si l'ensemble de cette étude réalisée *in vitro* renseigne, pour la première fois, sur les mécanismes impliqués dans la spécificité tissulaire d'expression d'un gène codant pour un récepteur couplé à une protéine G, ce n'est qu'à partir d'expériences *in vivo* en transgénèse que des conclusions définitives pourront être apportées.

[1. Wood IC, *et al. J Biol Chem* 1996; 271: 14221-5.]

[2. Wood IC, *et al. J Biol Chem* 1995; 270: 30933-40.]

■■■ **Un nouveau sous-type de récepteur Y serait responsable de l'effet orexigène du NPY.**

L'une des fonctions bien caractérisée du neuropeptide-Y (NPY) est sa puissante action orexigène. C'est le seul peptide connu dont l'injection intracérébroventriculaire à long terme conduit à une obésité par hyperphagie chez le rat [1]. Les effets biologiques du NPY passent par sa liaison à des récepteurs transmembranaires dits « Y », couplés aux protéines G et comprenant plusieurs sous-types dont les ADNc codant pour trois d'entre eux étaient clonés jusqu'à présent (Y1, Y2 et Y4). Gerald *et al.* [2] viennent de cloner l'ADNc de Y5 à partir d'ADNc d'hypothalamus de rat. Y5 ne possède qu'une faible identité avec les autres sous-types (32% à 34%), ce qui est commun dans cette famille de récepteurs. Les auteurs rapportent également le clonage d'un homologue humain très conservé. Chez le rat, l'ARNm de Y5 est abondant dans les régions du cerveau impliquées dans la régulation de la prise alimentaire, en particulier les noyaux paraventriculaires et l'hypothalamus latéral, également riches en neurones contenant du NPY. Par ailleurs, une étude systématique démontre que les peptides analogues au NPY qui

activent Y5 *in vitro* sont, sans exception, ceux qui stimulent la prise alimentaire (et inversement), ce qui n'est le cas pour aucun des autres sous-types. Y5 pourrait donc être le médiateur de l'effet orexigène du NPY. Il faut noter que les souris déficientes en NPY, obtenues récemment par invalidation du gène, ont une prise alimentaire et un poids normaux [3], ce qui pourrait être expliqué par une activation de Y5 par d'autres peptides compensant l'absence de NPY. Les travaux apportent un degré supplémentaire de compréhension des mécanismes complexes qui règlent la prise alimentaire. De plus, ils soulèvent de nouvelles potentialités thérapeutiques anti-obésité. Gageons que des antagonistes sélectifs de Y5 sont activement recherchés!

[1. Gerald C, *et al. Nature* 1996; 382: 168-71.]

[2. Stephens TW. *Nature* 1996; 381: 377-8.]

[3. Erickson JC, *et al. Nature* 1996; 381: 415-8.]

■■■ **Invalidation du gène du récepteur  $\beta$ 1-adrénérique: panne de développement et peines de cœur!**

Si la pharmacologie a créé des outils puissants (agonistes et antagonistes sélectifs) pour identifier différents sous-types d'un récepteur, l'invalidation du gène d'un de ces sous-types est, aujourd'hui, une stratégie efficace et performante pour valider sa fonction physiologique. C'est ainsi que le récepteur  $\beta$ 1-adrénérique voit sa spécificité fonctionnelle reconnue, grâce à l'équipe américaine de B. Kobilka (Stanford, USA) qui, par recombinaison homologue, a créé des souris transgéniques n'exprimant plus le sous-type  $\beta$ 1 [1]. Alors que les souris  $\beta$ 1-AR<sup>-/-</sup>, au stade embryonnaire de 10,5 jours, ne présentent aucune anomalie apparente, la mutation a des effets dramatiques au niveau de l'embryon de 18,5 jours, la mortalité *in utero* étant évaluée à plus de 70%. Chez

## ■■■ BRÈVES ■■■

des souris mutées survivantes de 8 à 16 semaines, une étude fonctionnelle au niveau cardiaque (tissu qui exprime les récepteurs  $\beta 1$ - et  $\beta 2$ -adrénergiques) révèle la disparition totale du sous-type  $\beta 1$  (qui constituaient environ 70 % des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques), accompagnée d'une faible diminution des récepteurs  $\beta 2$ . Dans le ventricule des souris mutées, l'isoprotérénol, agoniste non spécifique des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques, exerce un effet stimulant sur l'adénylyl cyclase, mais beaucoup moins élevé que chez les animaux témoins. Enfin, *in vivo*, l'isoprotérénol n'induit plus d'augmentation du rythme et de la contractilité cardiaques (effets relayés généralement par les récepteurs  $\beta 1$  et  $\beta 2$ ), la réponse hypotensive relayée par les récepteurs  $\beta 2$ -adrénergiques restant toujours fonctionnelle. Ces résultats surprenants qui semblent indiquer, dans certains cas, une perte de l'activité des récepteurs  $\beta 2$  chez les souris  $\beta 1$ -AR<sup>-/-</sup>, peuvent s'expliquer par un rétrocontrôle ou une désensibilisation des récepteurs  $\beta 2$ , voire une absence de rôle physiologique de ce sous-type de récepteurs cardiaques. En revanche, le rôle physiologique du sous-type  $\beta 1$ -adrénergique est devenu plus clair aujourd'hui, et l'importance de ce récepteur dans le développement et les fonctions cardiovasculaires n'est plus à mettre en doute.

[1. Rohrer DK, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 7375-80.]

■■■ **Létalité d'un déficit hétérozygote en facteur de croissance des cellules endothéliales VEGF.** Le VEGF (*vascular endothelial growth factor*) est un facteur de croissance nécessaire à l'angiogenèse. Il se fixe à deux types de récepteurs, Flt-1 et Flk-1. Le déficit homozygote en l'un et l'autre de ces récepteurs, obtenu par recombinaison homologue, est létal durant la vie embryonnaire.

Cependant, ces résultats ne permettent pas d'apprécier sans ambiguïté le rôle de VEGF puisque d'autres ligands peuvent également se fixer aux récepteurs Flt-1 et Flk-1. Aussi, deux équipes internationales, l'une à dominante européenne et canadienne [1] et l'autre américaine [2] ont-elles invalidé les allèles du gène *Vegf* chez la souris. Le résultat le plus surprenant de ces études est que les embryons hétérozygotes pour cette invalidation ont un développement anormal de leur vascularisation et meurent entre les jours 11 et 12 *post-coïtum*. Le défaut de développement vasculaire est encore plus important, bien entendu, chez les homozygotes qui meurent entre les jours 8,5 et 9,5. Ces résultats indiquent que le VEGF produit par l'embryon est un facteur limitant de la vasculogenèse (différenciation *in situ* des îlots sanguins et ébauche des vaisseaux) et de l'angiogenèse (formation de néovaisseaux à partir de vaisseaux préexistants), un déficit de 50 % suffisant à les perturber gravement. Le premier article comporte, par rapport au second, une originalité due à l'application d'une méthode précédemment décrite par Andras Nagy (Toronto, Ontario) : l'agrégation entre des cellules embryonnaires tétraploïdes non déficientes, contribuant uniquement au développement des annexes, et des cellules ES dans lesquelles un ou deux allèles du gène *Vegf* a été invalidé [1]. Une telle approche permet de différencier les conséquences de la recombinaison homologue sur les annexes (trophoblastes, sac amniotique) et sur l'embryon. Cette méthode peut être particulièrement précieuse pour apprécier les conséquences embryonnaires d'un déficit perturbant gravement les annexes, et donc aboutissant à l'élimination prématurée d'un embryon encore viable.

[1. Carmeliet T, *et al. Nature* 1996; 380 : 435-9.]

[2. Ferrara N, *et al. Nature* 1996; 380 : 439-42.]

INSTITUT



## CONFÉRENCES LILLY 1996 MÉDECINE PRÉDICTIVE

le 15 octobre 1996  
au Palais des Congrès,  
Porte Maillot

*Les Conférences Lilly 1996, organisées par l'Institut Lilly et placées sous le haut patronage de Monsieur le Ministre de l'Éducation nationale, de l'Enseignement supérieur et de la Recherche et en présence de Monsieur Hervé Gaymard, Secrétaire d'État à la Santé et à la Sécurité sociale, ont pour thème « Médecine Prédictive ».*

La Médecine Prédictive illustre la volonté de mieux reconnaître les individus qui ont une susceptibilité particulière à une maladie (cancer colorectal, cancer du sein, hypertension artérielle, cardiopathies athérogènes, sclérose latérale amyotrophique, maladie d'Alzheimer, diabète...) et d'éviter ou de limiter au maximum les conséquences de ces affections.

Le thème de cette journée est traité par les spécialistes des meilleures équipes internationales. La matinée est consacrée à la découverte des outils de la médecine prédictive (modérateur : Pr J. Dausset de Paris), et à la définition des pathologies concernées (modérateurs : Pr P. Corvol de Paris, Pr M.H. Skolnick et Pr R. White de Salt Lake City). L'après-midi traite des implications économiques, psychologiques, sociales et éthiques de la médecine prédictive (modérateur : Pr J.P. Changeux de Paris).

**Vous pouvez encore vous inscrire à ces Conférences**, en nous contactant le plus rapidement possible soit par téléphone au (1) 49 11 34 39, soit par fax au 49 11 33 08, Institut Lilly, 327, Bureaux de la Colline, 92213 Saint-Cloud, France.

327, Bureaux de la Colline, 92213 Saint-Cloud  
Tél. : (1) 49 11 34 26 - Téléc 633 523

Fax : (1) 49 11 33 08

ASSOCIATION DÉCLARÉE, RÉGIE  
PAR LA LOI DU 1<sup>er</sup> JUILLET 1901