

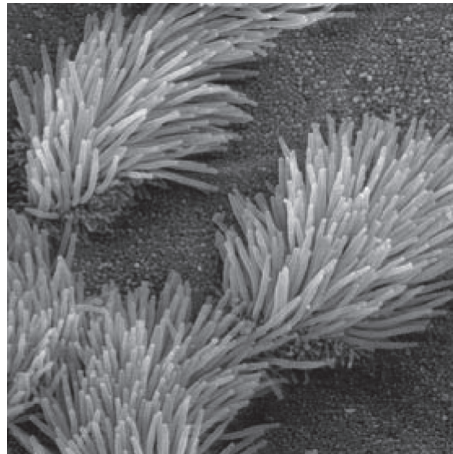
SOMMAIRE DES BRÈVES

- 36 • La courbure du cil, un senseur de la taille des cellules épithéliales du rein
- 37 • Comment agit le parvovirus humain B19V
- 37 • Fourmis et épigénétique
- 38 • Effets vasculaires de l'aldostérone : le coupable est identifié
- 38 • Une Id essentielle pour la régénération du foie !
- 39 • Persistance du *Plasmodium* dans la peau de l'hôte
- 39 • Riz hybrides, causes moléculaires de certaines stérilités de la plante
- 40 • Néoangiogenèse tumorale... On n'est jamais si bien servi que par soi-même
- 40 • Pharmacogénomique de la prévention de la thrombose sur stent

La courbure du cil, un senseur de la taille des cellules épithéliales du rein

1. Boehlke C, et al. *Nat Cell Biol* 2010 ; 11 : 1115-22.

> En biologie cellulaire, le cil pourrait être comparé au roseau de la fable de La Fontaine : certes « le moindre vent l'oblige à baisser la tête » mais « il plie et ne rompt pas ». En effet, comme le roseau sous l'effet du vent, le cil des cellules épithéliales rénales se courbe sous l'effet du flux urinaire. Une équipe allemande vient de montrer que cette courbure du cil était essentielle au contrôle même de la taille de la cellule dont il est la sentinelle [1] ! Les cils sont des organites qui fonctionnent comme des mécanosenseurs générant des courants calciques. Les mutations des protéines du cil sont responsables d'affections aussi diverses que le *situs inversus*, la dégénérescence rétinienne ou la polykystose rénale (PKD). Au cours de la PKD, il a été suggéré qu'un défaut du cil, et donc un mauvais contrôle du flux urinaire, induisait la formation des kystes. Or, les cellules épithéliales qui bordent ces kystes ont une taille anormalement élevée ainsi qu'une activité accrue de la voie de signalisation mTOR (*target of rapamycin*), voie connue justement pour jouer un rôle essentiel dans le contrôle de la taille cellulaire. Comment s'articule le lien entre cil, mTOR et taille cellulaire ? Pour appréhender cette question, les auteurs ont utilisé une souris dont la mutation du gène *kif3a*, qui code pour une kinésine, entraîne la disparition post-natale des cils des canaux collecteurs rénaux [1]. Ces animaux présentent alors des kystes dont les cellules épithéliales sont élargies. Or, ce phénotype n'est pas retrouvé lorsqu'on inhibe Kif3a en culture cellulaire, faisant suggérer aux auteurs que la courbure du cil était peut-être requise pour l'homéostasie de la taille cellulaire. De fait, lorsque les cellules ciliées sont placées dans des



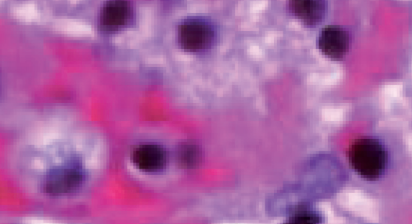
conditions de flux qui miment le mouvement de l'urine dans les tubules, celles-ci diminuent leur taille. En revanche, les cellules mutées pour *kif3a* ne présentent aucune modification. Quelle influence ce mouvement du cil a-t-il sur la voie mTOR ? Lorsque les cellules ciliées sont placées dans des conditions de flux, le niveau d'activation de la voie mTOR est moindre, ce qui n'est pas le cas lorsque la protéine Kif3a est déplétée. L'inhibition de mTOR par différentes approches dans les cellules déplétées en Kif3a aboutit en effet à une restauration d'une plus petite taille cellulaire en conditions de flux. A *contrario*, l'induction artificielle de la voie mTOR augmente la taille cellulaire. Ainsi, la taille de la cellule serait contrôlée par la répression de la voie mTOR induite par le flux dans les cellules ciliées. Ce contrôle de la taille cellulaire est en revanche indépendant des courants calciques et de l'activation de la protéine Akt. Quel est alors le lien moléculaire entre cil et mTOR ? Le suspect se nomme Lkb1, un facteur suppresseur de tumeur

qui est aussi un régulateur négatif de mTOR et dont la localisation subcellulaire est dans le corps basal et dans... le cil bien sûr ! Ainsi, la courbure du cil induite par le flux urinaire active Lkb1 dans le cil, induisant l'inhibition de la voie mTORC1 et par conséquent le contrôle d'une petite taille cellulaire. Il reste à déterminer l'influence de la modulation de la taille cellulaire sur la formation des kystes rénaux. ♦

Hélène Gilgenkrantz

Institut Cochin, Paris, France

helene.gilgenkrantz@inserm.fr



> **Le parvovirus B19V est un virus de la famille** des parvoviridés, à tropisme érythroïde. Il est responsable chez l'homme d'une variété

de pathologies dont les érythèmes infectieux, l'anasarque fœto-placentaire de la femme enceinte, les crises aplastiques chez les sujets immunodéprimés ou atteints d'anémies hémolytiques. L'étude en a été rendue difficile par l'absence de modèle animal et, jusqu'à présent, de lignée cellulaire permissive. B19V est un petit virus à ADN simple brin non enveloppé (22 nm) qui code pour une protéine non structurale NS1, 2 protéines de capsid VP1 et VP2 ne différant qu'à leur extrémité amino-terminale où VP1 possède un motif phospholipase PLA₂ qui pourrait avoir un rôle, 2 protéines plus petites (7,5 kDa et 11 kDa). NS1 est une protéine cytotoxique multifonctionnelle qui intervient dans le cycle cellulaire érythroïde et induit l'apoptose. La famille de facteurs de transcription E2F, centrale dans la régulation du cycle cellulaire, comporte 8 membres répartis en 3 sous-groupes : E2F1, E2F2 et E2F3a sont des activateurs, E2F4 et E2F5 seraient des répresseurs, E2F6, E2F7 et E2F8 auraient une action répressive indépendante. Des interactions complexes avec divers virus ont été décrites. Grâce à un système de culture de cellules érythroïdes primaires permettant de simuler une infection virale, une équipe du NIH, Bethesda, Md, a pu identifier les interactions entre NS1 et les facteurs E2F [1]. Les auteurs montrent que B19V entraîne l'arrêt du cycle cellulaire via la dérégulation de la famille E2F : E2F1 et E2F3a sont déréprimés et activent E2F4-E2F8, normalement répressifs. NS1 s'avère un facteur-clé responsable de ces changements d'expression. L'association de NS1 avec E2F4/E2F5 stimule l'importation dans le noyau de ces facteurs

1. Wan Z, et al. *J Clin Invest* 2010; 120 : 3530-44.

Comment agit le parvovirus humain B19V

répressifs et provoque un arrêt stable en phase G2 du cycle cellulaire, avec réplication accrue de B19V, alors que les protéines de 11 kDa et 7,5 kDa, en revanche, n'ont pas d'action sur le cycle cellulaire. Le rôle dans l'apoptose de la translocation nucléaire de E2F4 et E2F5, coincées dans le noyau sous forme hétérodimérique et protégées de la dégradation par leur interaction avec NS1, a été démontré par l'arrêt du processus après invalidation (*knockdown*) de ces gènes ; l'arrêt en G2 favorise par ailleurs la réplication virale. Cette signalisation est indépendante de p53, alors que E2F4/E2F5, normalement impliquées dans la transition G2>M et la différenciation érythroïde, sont bien les cibles du virus. L'ensemble de ces résultats permet de proposer un modèle expliquant l'arrêt du cycle cellulaire via la translocation nucléaire de membres répresseurs de la famille E2F sous l'effet de la protéine virale NS1, auquel s'ajoute la stimulation de la réplication virale. ♦

Dominique Labie

Institut Cochin, Paris, France

dominique.labie@inserm.fr

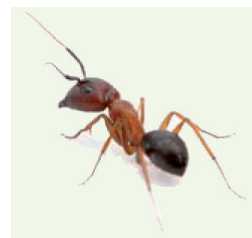
Fourmis et épigénétique

1. The honeybee genome sequencing consortium. *Nature* 2006 ; 443 : 931-49.
2. Gilgenkrantz S. *Med Sci (Paris)* 2006 ; 22 : 1043.
3. Bonasio R, et al. *Science* 2010 ; 329 : 1068-71.

qué. Ainsi, en 2006, le séquençage du génome d'*Apis mellifera* montrait que comportement et longévité chez les reines et les ouvrières (qui ont évidemment le même génome) dépendaient des promoteurs des gènes contrôlant la régulation métabolique et de celui codant pour la télomérase [1, 2]. Autres insectes sociaux, les fourmis offrent un champ d'études considérable du fait que, dans la famille des Formicidés, sous-familles, tribus et genres sont innombrables et diffèrent considérablement entre eux. C'est pourquoi un groupe international vient de réaliser le séquençage de deux espèces de fourmis appartenant à deux genres éloignés et ayant des comportements très différents : *Camponotus* et *Harpegnathos* [3]. *Campognotus floridanus*, qui, comme son nom l'indique vit en Floride, est un véritable fléau pour les charpentes qu'elle creuse jour et nuit (sans s'en nourrir à la différence des termites). Cette grosse fourmi vit en larges colonies, avec une seule reine, indispensable, puisque la colonie disparaît à sa mort. En revanche, *Harpegnathos saltator* est une petite fourmi sauteuse, vivant en Inde en colonies réduites d'environ 50 à 100 individus. Le polymorphisme entre reine et ouvrière est peu marqué ; à la mort de la reine, une ouvrière accède à la fonction de reproduction en devenant *gamergate*. Après avoir séquencé plus de 90 % des génomes des deux espèces, une comparaison a tout d'abord été faite avec les génomes de *Drosophila melanogaster*, d'*Apis mellifera* et de *Nasonia vitripennis* (la guêpe bijou). Les protéomes prédits des deux espèces de fourmis contiennent la plupart des familles de protéines trouvées chez *A. mellifera* et *N. vitripennis*

> **Chez les insectes vivant** en société organisée, le devenir des individus ne dépend pas du génome mais d'un déterminisme épigénétique bien mar-

mais en revanche, on trouve aussi près de 700 familles de protéines spécifiques des fourmis sans homologie chez *A. mellifera* ni chez *N. vitripennis*. *C. floridanus* possède 17 064 gènes et *H. saltator* 18 564. Les récepteurs olfactifs, qui jouent un rôle important dans les répon-



ses comportementales et la communication chimique, sont au nombre de 139 chez *C. floridanus* et 105 chez *H. saltator*. La télomérase (TERT) et les gènes *SIRT* (*silent information regulator*) 1 et 6 (sirtuines) - impliqués dans la sénescence répllicative - sont surexprimés chez les *gamergates* *H. saltator* qui vivent plus longtemps que les ouvrières. Les auteurs définissent comme épigénétique l'ensemble des voies moléculaires qui sélectionnent les régions génomiques devant être activées ou réprimées, sélection devant se transmettre au cours des divisions cellulaires et se stabiliser dans les cellules différenciées. Du fait de la flexibilité sociale existant chez *H. saltator*, toute modification entre ouvrière et *gamergate* devient éclairante sur l'épigénétique et les moyens de modifier les comportements ou d'augmenter la longévité. Difficile d'extrapoler à l'homme, autre animal social dont l'espérance de vie varie pourtant selon le statut social... ♦

Simone Gilgenkrantz

médecine/sciences

sgilgenkrantz@medecinesciences.org





> **L'aldostérone est une** hormone de la famille des stéroïdes qui augmente la

réabsorption rénale du sodium et la pression artérielle en stimulant l'expression du gène codant pour le canal à sodium après s'être fixé au récepteur des minéralocorticoïdes (MR). Ce récepteur, initialement décrit dans les cellules principales du tube collecteur, est aussi présent dans les myocytes du cœur et les cellules musculaires lisses et endothéliales des vaisseaux. Les antagonistes des MR atténuent le remodelage vasculaire et l'athérosclérose indépendamment de leurs propriétés antihypertensives, ce qui suggère un effet direct de l'hormone sur les vaisseaux. Jaffe *et al.* [1] ont étudié le mécanisme de cet effet et ont montré que l'aldostérone stimulait l'expression du gène codant pour le facteur de croissance placentaire (PGF). Cette protéine appartient à la famille des facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) [2]. La première étape du travail fut de montrer que l'aldostérone à concentrations élevées accentue, chez la souris, les lésions de l'endothélium et le remodelage de la carotide que crée l'introduction dans cette artère d'un fil métallique. En utilisant la RT-PCR, les auteurs ont démontré que l'aldostérone stimulait localement l'expression du gène codant pour le PGF (x 29) dans les vaisseaux lésés, ce qui n'était pas le cas dans une carotide saine (x 3). Le complexe aldostérone-MR agit sur un élément répondeur en amont du gène. Dans les vaisseaux blessés, l'aldostérone stimule l'expression de la protéine PGF, mais aussi de son récepteur Flt1, ce qui n'est pas le cas dans la carotide saine. En revanche, l'hormone n'influence pas l'expression des autres membres de la famille des

Effets vasculaires de l'aldostérone : le coupable est identifié

1. Jaffe IZ, *et al.* *J Clin Invest* 2010 ; 120 : 3891-900.
2. Galaup A, Germain S. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 459-62.

pression du PGF et de son récepteur Flt1 dans le tissu malade après traitement *in vitro* par l'aldostérone. Un antagoniste du MR, la spironolactone, supprimait cet effet. Une confirmation fut obtenue chez la souris invalidée pour le gène codant pour le PGF (souris *Pgfr^{-/-}*) : dans ce modèle, l'aldostérone n'accroît pas le remodelage vasculaire dans la carotide lésée. En conclusion, ce travail prouve clairement que *Pgfr* est un gène régulé par l'aldostérone *via* le MR et joue un rôle important dans le développement des lésions vasculaires qu'induit cette hormone. Cela peut expliquer les effets protecteurs des antagonistes du MR et suggère l'intérêt de cibler le PGF et ses voies d'action cellulaires dans le traitement des maladies cardiovasculaires associées à l'athérosclérose comme on cible maintenant avec succès le VEGF dans la dégénérescence maculaire liée à l'âge. ♦

Raymond Ardaillou

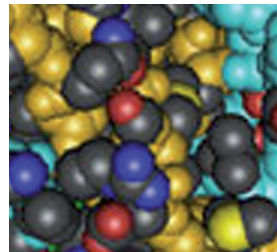
raymond.ardaillou@academie-medecine.fr

Une Id essentielle pour la régénération du foie !

la régénération hépatique. Encore fallait-il le démontrer. Une fois de plus, les modèles murins d'invalidation génique ont apporté quelques-unes des pièces manquantes du puzzle [1]. L'endothélium hépatique représente un réseau abondant et spécifique dans cet organe, le pôle vasculaire de chaque hépatocyte étant en contact étroit avec une cellule endothéliale sinusoidale (LSEC). Une équipe new-yorkaise a tout d'abord défini la signature phénotypique des cellules endothéliales sinusoidales du foie adulte : elles expriment les récepteurs VEGFR3 et VEGFR2 du *vascular endothelial growth factor*, la VE-cadhérine, mais ni CD34 ni CD45. Elle a ensuite tenté de définir le rôle de ces cellules au cours de la régénération hépatique qui suit une hépatectomie des deux tiers. Deux jours après l'intervention chirurgicale, les hépatocytes entrent en division, puis les cellules biliaires, les macrophages et enfin des cellules endothéliales, qui ne débutent leur prolifération qu'au quatrième jour. Les auteurs ont donc supposé qu'avant leur propre division, les LSEC sécrétaient des facteurs angiocrines stimulant la prolifération hépatocytaire. L'invalidation conditionnelle dans l'endothélium adulte hépatique du récepteur VEGFR2 inhibe la régénération du foie. *A contrario*, l'administration de VEGF-A accélère la régénération hépatique. Les auteurs ont alors identifié, parmi les gènes spécifiques de l'endothélium induits 48 heures après hépatectomie partielle chez les animaux sauvages et non chez les animaux dépourvus de VEGFR2, le gène codant le facteur de transcription Id1 (*inhibitor of DNA binding*). Les animaux dépourvus d'Id1 présentent le même défaut de régénération du foie que les animaux *VEGFR2^{-/-}*, défaut qui n'est pas corrigé par l'addition de VEGF-A. De plus, *in vitro*, la coculture d'hépatocytes isolés avec des LSEC augmente

> **On le supposait** depuis longtemps, sans endothélium, point de salut pour

de neuf fois la prolifération hépatocytaire, ce qui n'est pas le cas lorsque les hépatocytes sont au contact de LSEC n'exprimant pas Id1. Enfin, la transplantation de LSEC *Id1^{+/-}* dans le foie d'animaux *Id1^{-/-}* soumis à une hépatectomie partielle restaure la régénération. Ainsi, l'activation de la voie du récepteur 2 au VEGF, *via* l'induction du facteur Id1, est un élément-clé de la régénération du foie. Deux facteurs, Wnt2 et HGF (*hepatocyte growth factor*), exprimés par les LSEC sauvages et non par les LSEC déficientes en Id1, ont par la suite été identifiés pour leur capacité à restaurer le phénotype de prolifération hépatocytaire des souris *Id1^{-/-}*. L'effet paracrine de l'endothélium est démontré par l'observation d'une prolifération sélective des hépatocytes situés à proximité des cellules LSEC *Id1^{+/-}* transplantées chez la souris *Id1^{-/-}*. L'histoire ne s'arrêtera pas là car d'autres facteurs, comme des molécules d'adhésion ou des composants de la matrice extracellulaire sécrétés par les cellules endothéliales et non encore identifiés, participent probablement à la modulation de la régénération du foie. En attendant, cette élégante démonstration suggère déjà qu'il faudra désormais compter avec les cellules endothéliales dans les approches de thérapie cellulaire... ♦



1. Ding BS, *et al.* *Nature* 2010 ; 468 : 310-5.

Hélène Gilgenkrantz

Institut Cochin, Paris, France

helene.gilgenkrantz@inserm.fr



> Il est classiquement admis que le *Plasmodium* (P) introduit chez un hôte par la piqûre de l'anophèle sous forme de

sporozoïtes envahit le foie, s'y développe, puis est libéré dans la circulation sous forme de milliers de mérozoïtes, libération à l'origine des accès palustres. Des formes dormantes (hypnozoïtes) de *P. vivax* ont été décrites dans les hépatocytes, dont le réveil explique les rechutes. Des chercheurs français de l'INRA ont étudié ce stade pré-érythrocytique du *Plasmodium* dans un modèle murin et mis en évidence la persistance dans la peau d'une proportion non négligeable de sporozoïtes [1]. Les auteurs ont utilisé *Anopheles stephensi* pour inoculer à des souris *P. berghei* marqué par la GFP (*green fluorescent protein*). Le devenir des parasites injectés a été suivi par bioluminescence. Le développement hépatique est connu : les hépatocytes contiennent dans une vacuole parasitaire des milliers de mérozoïtes qui se reproduisent et sont libérés dans la circulation via les sinusoides hépatiques. Dans la peau, le processus de schizogonie (processus de division au cours duquel les noyaux parasitaires se multiplient dans un même cytoplasme) est analogue : des mérozoïtes se forment dans une vacuole parasitaire. Les auteurs ont prélevé des cellules 24 heures après l'infestation, les ont cultivées pendant 3 jours, puis en ont isolé les mérozoïtes et vérifié qu'ils étaient aptes à infecter des souris. Les cellules infestées, de forme sphérique, sont localisées dans le derme, mais aussi dans l'épiderme, et, plus surprenant, sont associées aux follicules pileux où elles persistent pendant des semaines à proximité des glandes sébacées. L'exploration par luminescence a montré que, comme dans le foie, la croissance des parasites se poursuit jusqu'au quatrième jour : on voit en microscopie confocale des mérozoïtes quitter les cellules infestées et se disperser dans la peau. Les mérozoïtes produits dans la peau peuvent envahir des

1. Gueirard P, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010 ; 107 : 18540-5.
2. Luke TG, Hoffman SL. *J Exp Biol* 2003 ; 206 : 3803-8.
3. Mikolajczak S, et al. *Curr Opin Infect Dis* 2007 ; 20 : 461-6.

Persistance du *Plasmodium* dans la peau de l'hôte

érythrocytes *in vivo*, ce qui a été démontré par la transplantation de fragments de peaux infestées (deux à trois jours après l'inoculation) à des souris naïves. Cependant, la primaquine, efficace sur le développement hépatique, doit être administrée à une dose supérieure pour être efficace sur le développement cutané. Ces résultats ont été reproduits avec une autre souche de *Plasmodium*, *P. yoelii*. L'ensemble des résultats démontre donc l'existence d'un réservoir cutané d'infestation qui reste, dans des conditions normales, minoritaires (environ 2%).

La persistance au niveau des follicules pileux pose cependant un problème immunologique, car ce sont des sites caractérisés par la quasi-absence d'expression des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité. Un environnement immunosuppresseur pourrait-il intervenir dans l'efficacité de vaccins pré-érythrocytiques à base de parasites inactivés [2, 3] ? La souris n'est pas l'homme : les observations faites dans ce modèle murin devront être vérifiées en pathologie humaine. ♦

Dominique Labie

Institut Cochin, Paris, France

dominique.labie@inserm.fr

Riz hybrides, causes moléculaires de certaines stérilités de la plante

1. Labie D. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 1040.
2. Harushima Y, et al. *Genetics* 2001 ; 159 : 883-92.
3. Mizuta Y, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010 ; 107 : 20417-22.

> Le riz est l'une des céréales les plus consommées dans le monde [1]. Sa diversité génétique est considérable et provient de croisements naturels d'*Oryza sativa* avec des formes sauvages d'*O. rufipogon* ou de croisements intra-*sativa*, combinés à une sélection humaine entreprise dès sa domestication. Dans les années 1970, les sélectionneurs ont développé la création de riz hybrides et l'hétérosis le plus élevé a été obtenu dans les combinaisons *indica* x *japonica*. Le séquençage du génome d'*Oryza sativa*, réalisé en 2006, a permis de connaître les séquences des deux sous-espèces *indica* et *japonica*. Toutefois, l'obtention d'hybrides se heurte à des barrières reproductives à divers stades, en particulier au stade post-zygotique, soit en raison de la stérilité des hybrides de première génération, soit en F2 après reproduction entre l'hybride de première génération avec un individu appartenant à l'une ou l'autre espèce parentale. Les causes moléculaires de ces troubles en F1 ou en F2 sont encore mal connues. Une équipe japonaise, qui a mis au point une méthode d'analyse des barrières reproductives [2] vient d'isoler deux gènes responsables d'une incompatibilité génétique entre hybrides interspécifiques *O. indica* et *O. japonica* [3]. Il s'agit de gènes *DPL*, *DPL1* et *DPL2* (*doppelganger*). Très conservés dans l'évolution, ils codent pour des petites protéines dont l'expression est très importante dans les anthères¹ matures. Il semble que ces gènes soient

essentiels pour la germination du pollen. Les gènes *DPL1* et *DPL2* sont localisés respectivement sur les chromosomes 1 et 6. Ils présentent une très grande ressemblance et proviennent d'une duplication d'un gène initial (*doppelganger* signifiant sosie ou double). Les échanges entre ces gènes homologues entraînent chez certains allèles une perte de fonction, avec pour conséquence une absence de germination. Bien que le génome du riz ait subi des duplications très anciennes au cours de l'évolution, la duplication des gènes *DPL* est récente, survenue après la séparation *Oryza-Brachypodium* (*Brachypodium* étant un genre contenant quelques familles de graminées). Des analyses comparatives montrent que les allèles avec perte de fonction de *DPL1* sont apparus de multiples fois chez *O. indica* et chez son ancêtre sauvage *O. rufipogon* alors que les allèles défectueux de *DPL2* sont spécifiques des cultivars *japonica*. Bien que le travail soit long et délicat, ces études génétiques sont des outils précieux pour les sélectionneurs. D'autant plus précieux qu'en matière de génome, celui du riz est la pierre de Rosette de toutes les céréales. ♦



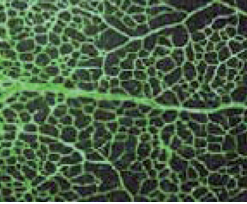
Simone Gilgenkrantz

médecine/sciences

sgilgenkrantz@medecinesciences.org

¹ Partie terminale des étamines.





> **Les glioblastomes sont des tumeurs** désespérantes par leur pronostic toujours fatal à court terme.

Une néoangiogenèse florissante et anormale les caractérise, stimulée par le VEGF (*vascular endothelial growth factor*) et le SDF1/CXCL12 (*stromal-derived factor*) sécrétés localement, mais l'origine cellulaire de ces néovaisseaux n'est pas complètement élucidée : bourgeonnement de vaisseaux existants, processus de « mimétisme vasculaire » résultant de la formation de pseudovaisseaux par les cellules tumorales, ou appartenance de certaines cellules endothéliales (CE) à la population tumorale dont elles partagent l'aneuploidie, par exemple dans le neuroblastome ou certains lymphomes. L'équipe de F. Gage avait décrit en 2004 la possible différenciation de cellules issues de neurosphères non tumorales de souris en cellules endothéliales [1], et aujourd'hui, deux équipes confirment dans *Nature* que la néoangiogenèse dans les glioblastomes humains provient de la différenciation des cellules souches tumorales elles-mêmes [2, 3]. Les arguments paraissent solides : les anomalies génétiques décelées dans les cellules tumorales sont aussi présentes (FISH, CGH array) dans une fraction importante des CE intratumorales (reconnues par leur expression de marqueurs validés : CD31, CD144 [VE-cadhérine], CD105, eNOS [*nitric oxide synthase*], facteur von Willebrand, VEGFR2, et incorporation de LDL acétylées). Un second est la coexpression par certaines de ces CE de marqueurs de cellules neurales, dont la GFAP (*glial fibrillary acidic protein*). Des preuves plus directes de cette filiation sont apportées *in vitro* et *in vivo*. *In vitro*, des cellules souches tumorales, triées à partir de glioblastomes primaires sur l'expression du CD133, et seulement elles, produisent des progéniteurs endothéliaux (CD133⁺CD144⁺) mûrissant en CE matures (CD133⁻) capables de s'organiser en structures tubulaires caractéristiques [3]. L'analyse de cellules individuelles CD133⁺CD144⁻ confirme cette « bipotence » : les cellules peuvent produire à la fois des cellules neurales tumorales et des CE et toutes expriment le remaniement chromosomique détecté dans la tumeur pri-

Néoangiogenèse tumorale... On n'est jamais si bien servi que par soi-même

1. Wurmser AE, et al. *Nature* 2004 ; 430 : 350-6.
2. Ricci-Vitiani L, et al. *Nature* 2010 ; 468 : 824-8.
3. Wang R, et al. *Nature* 2010 ; 468 : 829-33.

maire. La greffe *in vivo* (sous-cutanée ou intracrâniale) de neurosphères tumorales, agrégats cellulaires issus de la prolifération des CS tumorales, à des souris immu-

nodéficientes produit des tumeurs vascularisées dont la majorité des cellules CD31⁺ intratumorales sont d'origine humaine. Des résultats similaires sont obtenus après greffe de cellules souches tumorales CD133⁺ dans le striatum des receveurs. Plusieurs stratégies expérimentales astucieuses ont été utilisées pour exclure un artefact ou une fusion cellulaire. Citons la transduction dans les cellules de neurosphères avant leur greffe d'un gène suicide sous le contrôle d'un promoteur endothélial (Tie2) permettant d'éliminer sélectivement les CE issues de la tumeur. Les auteurs d'un des articles [2] discutent au vu de ces données l'effet du bévécizumab (un anticorps monoclonal anti-VEGFA testé dans le glioblastome avec des résultats mitigés) : s'il est inefficace sur la production par les CS tumorales CD133⁺ de progéniteurs endothéliaux, en revanche il bloque la maturation endothéliale en aval. Mais ce « déséquilibre » pourrait être néfaste, ne stoppant pas la progression tumorale observée chez les patients sous bévécizumab. Le dogme de la normalité de l'environnement tumoral a décidément beaucoup de plomb dans l'aile, mais peut-être est-ce de son analyse que viendront les prochains espoirs thérapeutiques. ♦

Laure Coulombel

médecine/sciences

laure.coulombel@inserm.fr

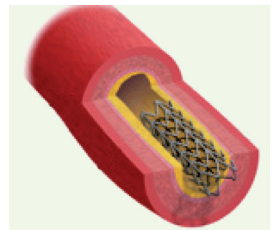
Pharmacogénomique de la prévention de la thrombose sur stent

1. Collet JP, et al. *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 291-7.
2. Bouman HJ, et al. *Nat Med* 2010 (sous presse).

> **Pour prévenir la thrombose après la pose d'un stent**, l'antiagrégant plaquettaire clopidogrel est administré par voie orale, en association ou non avec l'aspirine.

Néanmoins, cet antiagrégant se révèle inefficace chez un quart des patients environ, ce que l'on a attribué à une ou des anomalies génétiques. Le clopidogrel est une thiényridine qui doit être métabolisée pour bloquer l'activation plaquettaire par un mécanisme d'inhibition spécifique des récepteurs P1Y12 de l'ADP [1]. Il est d'abord oxydé en 2-oxo-clopidogrel, réaction qui est catalysée par au moins 7 isoenzymes cytochrome P450 oxydoréductases (CYP), puis est hydrolysé en un métabolite actif, à groupement thiol, dans une réaction catalysée par les estérases paraoxonases, PON1 et PON3. Un consortium d'équipes hollandaises et allemandes [2] vient de contredire de précédentes études en montrant qu'il n'y a pas d'association entre les variants génotypiques de quatre gènes CYP et la réponse au clopidogrel. Par contre, un seul polymorphisme (A576G) du gène *PON1* déterminant un changement de séquence de l'enzyme (Gln192Arg) paraît jouer un rôle majeur dans l'efficacité du clopidogrel. En effet, les deux tiers des patients ayant développé une thrombose sur stent (n = 41) présentent le génotype AA (et expriment l'alloenzyme Gln192), un tiers sont hétérozygotes, et seuls 2,4 % présentent le génotype GG (codant l'enzyme Arg192). Ainsi les patients qui expriment l'enzyme Arg192 sont de bons répondeurs au clopidogrel. De fait, *in vitro*, PON1Arg192 est respectivement 4 ou 8 fois plus efficace pour hydrolyser ses substrats, le 2-oxo-clopidogrel ou le paraoxon, que

PON1Gln192. Comme l'acide aminé 192 est positionné à l'intérieur du domaine catalytique actif à histidines, la substitution d'Arg en Gln joue donc un rôle vis-à-vis de l'affinité aux substrats. Après traitement au clopidogrel (une dose de 600 mg), l'activité PON1 plasmatique,



la concentration maximale en métabolite actif, et le pourcentage d'inhibition de l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP, étaient pour les sujets de génotype GG, porteurs de l'enzyme Arg192, 5 fois supérieurs à ceux déterminés pour les homozygotes AA (qui expriment l'enzyme Gln192). Ainsi le génotypage de *PON1* et la mesure de l'activité de l'enzyme plasmatique devraient permettre de prédire l'efficacité de la réponse au traitement par le clopidogrel pour éviter la thrombose de stent. Néanmoins, si le risque de ne pas répondre au clopidogrel est largement augmenté pour les génotypes AA, la valeur pronostique de ce génotype n'est pas absolue. En effet, parmi les 71 patients traités n'ayant pas fait de thrombose après stent, les génotypes AA, AG, et GG sont retrouvés pour 35,2 %, 46,5 % et 13,3 % d'entre eux respectivement, indiquant qu'il existe aussi de bons répondeurs parmi les patients porteurs du génotype A qui expriment l'enzyme PON1Gln192. ♦

Danièle Kerbiriou-Nabias

médecine/sciences

daniele.kerbiriou-nabias@inserm.fr