

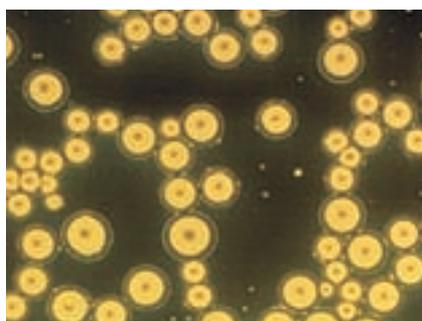


SOMMAIRE DES BRÈVES

- 33 • CD36, un senseur gustatif qui oriente notre alimentation
- 34 • Coordination dans les rythmes circadiens : la remise à l'heure est quotidienne
- 34 • D'où sort l'axone ?
- 34 • Analyse structurale d'un virus géant
- 35 • *NRAMP1*, facteur de risque de la tuberculose chez l'enfant
- 35 • La télomérase urinaire : nouveau marqueur du cancer de la vessie
- 36 • Une adresse sulfureuse pour lymphocytes !
- 36 • Les étonnants effets de la reconstitution de la voie de signalisation Sonic Hedgehog dans le cœur
- 37 • Hélios : comme le soleil point trop n'en faut !
- 37 • Identification d'un gène de la peur innée et acquise : la stathmine
- 38 • Obestatine et ghréline, les frères ennemis de l'appétit
- 38 • Un gène *Iroquois*, ordonnateur de la repolarisation cardiaque
- 39 • Vous peser est bien, mesurer votre tour de taille est mieux

CD36, un senseur gustatif qui oriente notre alimentation

► De nombreux travaux ont été consacrés ces dernières années au rôle de l'alimentation dans la fréquence de problèmes souvent graves tels que l'obésité, le diabète de type 2, les maladies cardiovasculaires, ainsi qu'à la part qu'une prédisposition génétique et/ou un mode de vie peuvent jouer dans leur apparition. Des différences interindividuelles sont évidentes, mais le choix de notre alimentation retentit aussi sur notre poids. Quel est l'impact de la sensation buccale ? Pourquoi aimons-nous les corps gras ? Un article récent, qui cible la protéine CD36 comme récepteur du goût, est publié par une équipe de Dijon (France), ville de gastronomie [1]. On connaissait la sensation de satiété que provoque l'ingestion de matières grasses, et on a évoqué, à ce propos, la notion d'un 6^e sens gustatif. Les mécanismes de signal évoqués incluaient l'élévation d'opiates endogènes, l'inhibition d'un canal K⁺ normalement rectificateur. L'expression de CD36 au pôle apical des cellules gustatives a été notée dès 1997 [2]. Plus récemment, on a montré que le stimulus buccal s'exerce sur les acides gras à longue chaîne (LCFA), et mis en évidence le rôle de la lipase linguale, exprimée dans les papilles à proximité de CD36, dans la transformation des triglycérides en LCFA [3]. Le travail actuel a précisé, chez des souris, le rôle de CD36 dans le choix de l'alimentation, et le déclenchement d'un signal améliorant la digestion : (1) la localisation de CD36 au pôle apical des cellules gustatives est spécifique et strictement restrictive ; (2) l'invalidation du gène abolit la préférence spontanée pour les LCFA (comparaison de souris sauvages et de souris *LCFA*^{-/-} en présence de solutions d'acide linoléique ou de gomme xantha). Cette préférence ne joue que sur les lipides ; (3) l'absorption orale d'acides gras déclenche une modification des sécrétions hépatobiliaires chez des animaux œsophagectomisés. CD36 se présente donc comme un



senneur buccal. Cette propriété semble en accord avec la structure de la protéine qui comporte une boucle hydrophobe extracellulaire, deux domaines transmembranaires et deux extrémités cytoplasmiques. Cette structure, facilitant la capture d'acides gras et la transduction d'un signal, est comparable à celle de la protéine SR-B1, capteur

1. Laugerette F, et al. *J Clin Invest* 2005 ; 115 : 3177-84.
2. Fukuwatari T, et al. *FEBS Lett* 1997 ; 414 : 461-4.
3. Kawi T, Fushiki T. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003 ; 285 : R447-54.
4. Abumrad NA. *J Clin Invest* 2005 ; 115 : 2965-7.
5. Ma X, et al. *Hum Mol Genet* 2004 ; 13 : 2197-205.

spécifique du cholestérol. On a constaté aussi que les animaux *CD36*^{-/-} utilisent uniquement le glucose pour leurs besoins métaboliques. D'autres questions restent encore en suspens [4]. Il y aurait, en cas de besoin énergétique, relocalisation de CD36 des lysosomes vers la membrane. Divers mécanismes ont été proposés pour la transduction du signal : association avec des *Src-like* tyrosine-kinases, activation de la NO

synthase, rôle des intégrines membranaires, inhibition d'un canal K⁺. Il semble en tout cas intéressant de noter que des polymorphismes ont été observés au niveau du locus CD36, et qu'un certain haplotype serait associé à un risque accru de maladies cardiovasculaires [5]. L'importance physiologique est évidente. Y aurait-il une implication clinique, en particulier dans le traitement de certaines obésités ? Le rapport avec des changements environnementaux mérite aussi d'être exploré. ♦



Coordination dans les rythmes circadiens : la remise à l'heure est quotidienne

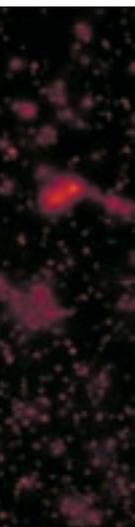
> **Tous les organismes, du plus élémentaire jusqu'à l'homme, fonctionnent, on le sait, selon un rythme d'environ 24 heures, maintenu dans l'obscurité (DD), atténué seulement de façon progressive par la rotation de la terre. Ce rythme est retrouvé en culture de cellules. Une nouvelle de médecine/sciences a présenté récemment les travaux menés chez la drosophile simultanément par deux équipes de recherche (→).**

Ces travaux montraient que la distribution de l'activité, matin et soir, est sous le contrôle de deux oscillateurs, localisés eux-mêmes dans deux groupes de neurones, l'un latéro-ventral, l'autre dorsal. L'oscillateur du matin exprimerait un neuropeptide PDF (*pigment-dispersing factor*), alors que l'oscillateur du soir serait PDF négatif. Le travail poursuivi par une des deux équipes donne lieu à une nouvelle publication concernant le mode de synchronisation des deux signaux [1]. La question abordée concerne la nature de la relation existant entre eux : échangent-ils une influence reçue de l'environnement, ou l'un

(→) m/s 2005, n° 10, p. 808

d'eux est-il sous le contrôle de l'autre ? Les auteurs ont pour cela créé des animaux transgéniques, chez lesquels l'oscillateur du matin (M), et l'oscillateur du soir (E), ont des périodes intrinsèques qui diffèrent entre elles de 3 à 4 heures. En conditions d'obscurité DD, c'est le rythme M qui est maintenu, c'est donc lui qui est le « maître ». Le mode de ce contrôle a ensuite été exploré au niveau cellulaire : contrôle permanent, ou remise à l'heure périodique ? C'est cette deuxième hypothèse qui s'est avérée bonne ; on observe, en effet, quotidiennement une avance du pic du soir E, la périodicité sur 24 heures étant chaque jour rétablie par l'oscillateur du matin M. Une étape de plus a été envisagée, l'implication du neuropeptide PDF, présent ou absent dans les neurones impliqués. La mise en évidence de l'expression de PDF, au moins dans certaines cellules responsables du signal E, remet peut-être en question cette dernière étape [2]. La recherche va se poursuivre, il reste à l'étendre aux mammifères, puis à l'homme. ♦

1. Stoleru D, et al. *Nature* 2005 ; 438 : 238-42.
2. Nitabach MN, *Nature* 2005 ; 438 : 173.



La polarité est une question fondamentale de la biologie. Sans polarité, point d'avant et d'arrière, de tête ni de queue (voir Dossiers thématiques m/s, Polarité cellulaire [1]). La polarité neuronale est à la base de la communication entre les neurones du cerveau, l'axone libérant les messagers chimiques

1. <http://ist.inserm.fr/basimedsci/msu.htm>
2. Calderon de Anda F, et al. *Nature* 2005 ; 436 : 704-8.

reçus par les récepteurs des corps cellulaires et dendrites. La fonction de l'axone diffère de celle de l'arborisation somatodendritique et sa composition biochimique aussi. La polarité axone/dendrite s'établit rapidement au cours de la différenciation du neurone, peu de temps après la dernière mitose. Comment une telle forme de cellule s'engendre-t-elle ? Quels facteurs déterminent la polarité neuronale ? Quelles sont les parts respectives du programme intrinsèque du neurone et des influences provenant de l'environnement cellulaire ? Le groupe de Carlos Dotti (Université de Turin, Italie) montre que les centrosomes, l'appareil de Golgi et des vésicules endosomiales pas très bien définies, s'assemblent près de l'endroit d'où sortira le futur premier neurite qui

deviendra l'axone [2]. Cette zone est opposée

D'où sort l'axone ?

au plan de la dernière mitose. La polarisation neuronale dépend de la dynamique asymétrique des centrosomes, des microtubules et des membranes car des traitements pharmacologiques et l'inactivation par photo-ablation assistée par chromophore (*chromophore-assisted laser inactivation*, CALI) des centrosomes contenant la GFP-centrosomine dans des neurones de drosophile affectent la formation de l'axone. Les auteurs suggèrent que la polarité neuronale serait ainsi définie avant même que le neurone ne soit fait. On peut aussi se demander si l'environnement ne joue pas un rôle dans la détermination de l'axe de la dernière mitose, contrôlant ainsi l'endroit d'où sort l'axone. ♦



1. La Scola B, et al. *Science* 2003 ; 299 : 2033.
2. La Scola B. *Emerg Infect Dis* 2005 ; 11 : 449-52.
3. Xiao C, et al. *J Mol Biol* 2005 ; 353 : 493-6.

> **Le mimivirus a été isolé** d'une amibe se développant dans un château d'eau en Angleterre au cours d'une épidémie de pneumopathies [1]. L'ADN du mimivirus et des anticorps dirigés contre le mimivirus ont été retrouvés chez des patients présentant des pneumopathies communautaires ou nosocomiales [2]. Le diamètre et le génome des mimivirus sont trois fois plus grands que les plus grands virus étudiés par microscopie cryo-électronique et plus grands que ceux de certaines bactéries. Le mimivirus est l'unique membre d'une nouvelle famille de virus : la famille des *Mimiviridae*. Le grand génome du mimivirus permet de remplir la plupart des fonctions des cellules vivantes. L'étude du mimivirus par microscopie cryo-

Analyse structurale d'un virus géant

électronique a montré des particules virales icosaédriques, une capsid de 50 000 Å recouverte de fibres de 1250 Å de long, probablement liées par du collagène glycosylé [3]. La capsid semble avoir trois couches correspondant à deux membranes lipidiques épaisses de 40 Å à l'intérieur d'une capsid protéique. Un compartiment contenant le génome est inséré dans les trois couches denses du mimivirus et un vertex unique est observé, probablement voué à l'infection de l'hôte. ♦



> **L'infection par la bactérie *Mycobacterium tuberculosis*** est à l'heure actuelle une cause majeure de morbidité (plus de 8 millions de cas annuels) et de mortalité (~ 2 millions de décès par an). Il est notoire, cependant, que 90 % des sujets infectés ne développent pas la maladie. Parmi les malades, une classification déjà ancienne a distingué ceux chez qui l'évolution est rapide (< 2 ans) de ceux chez qui la maladie se présente comme une réactivation tardive. La forme dite primaire est particulièrement fréquente chez l'enfant.

1. Malik S, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102 : 12183-8.
2. Hoal EG, et al. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004 ; 8 : 1464-71.
3. Bellamy R, et al. *N Engl J Med* 1998 ; 338 : 640-4.
4. Ryu S, et al. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000 ; 4 : 577-80.

à la tuberculose. Paradoxalement, la plupart des études ont été menées sur des populations adultes, quoique la moitié des cas de tuberculose environ soient des formes primaires. Une étude pédiatrique, menée à Houston (Texas, États-Unis), en collaboration avec une équipe de l'Université McGill (Montréal, Canada), démontre le rôle de certains allèles du gène *NRAMP1* comme facteur de risque [1]. Ce travail, voulu pluri-ethnique, est cependant à large prédominance hispanique (136/184 familles). L'étude a comporté, dans des familles nucléaires, 234 malades dont 206 enfants. Les polymorphismes du gène *NRAMP1* (ou *SLC1A1*) ont déjà été décrits, associés au développement de la tuberculose chez l'adulte à Houston, mais aussi en Afrique du Sud et de l'Ouest, et en Corée entre autres [2-4]. Son

NRAMP1, facteur de risque de la tuberculose chez l'enfant

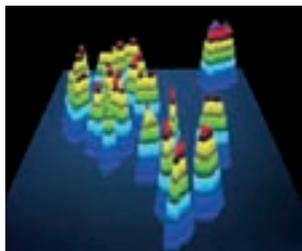
De nombreux arguments, expérimentaux, ethniques, familiaux, suggèrent que le contexte génétique de l'hôte joue un rôle important dans la susceptibilité

exploration se justifie par une homologie avec *Nramp1* chez la souris. Ce dernier gène est, en effet, impliqué dans le trafic intracellulaire membranaire dans le macrophage. Un polymorphisme avec absence de maturation de la protéine cause une susceptibilité accrue à divers pathogènes intracellulaires dont *Mycobacterium bovis*. Plusieurs polymorphismes de *NRAMP1* ont été explorés de façon systématique dans le présent travail, sur toute la longueur du gène. Une association significative a été observée avec un polymorphisme intragénique, 274C/T ($p < 0,01$), et, à un degré moindre, avec un polymorphisme du promoteur, (GT)_n, ainsi qu'au codon 469. Curieusement, cependant, c'est l'allèle commun, 274C, qui est un facteur de risque pour la tuberculose chez l'enfant, à l'inverse de ce qui a été constaté pour la tuberculose de réactivation de l'adulte. Puisque tous les sujets porteurs de cet allèle n'évoluent pas vers la maladie, d'autres facteurs de risque sont vraisemblables. On observerait une prédominance chez les garçons, mais aussi dans les familles où il n'y aurait pas eu d'exposition préalable à *M. tuberculosis* et où le cas est unique. D'autres facteurs restent peut-être à identifier. Mais il apparaît clairement que l'allèle 274C est sûrement un élément important de la rapidité de progression vers la maladie chez l'enfant primo-infecté. ♦

La télomérase urinaire : nouveau marqueur du cancer de la vessie

répétées. Ils ont un rôle protecteur et leur raccourcissement progressif accompagne le vieillissement. Les télomères sont le substrat de la télomérase qui est une ADN polymérase dont l'activation aboutit à l'allongement des télomères. Cette enzyme est surexprimée dans de nombreux cancers, ce qui contribuerait à assurer la prolifération et l'immortalisation des cellules cancéreuses. Sanchini et al. [1] proposent d'utiliser l'activité de la télomérase dans les cellules du culot urinaire comme marqueur du cancer de la vessie, cancer au 4^e rang, par sa fréquence, dans le sexe masculin et dont l'incidence est en augmentation dans les sociétés industrialisées. Pour cela, ils ont utilisé la technique d'amplification des répétitions nucléotidiques des télomères (TRAP, *telomeric repeat amplification protocol*). Il s'agit d'une technique d'amplification en chaîne (PCR) semi-quantitative incluant un standard interne de télomérase. L'activité est exprimée en unités enzymatiques arbitraires (AEU). L'étude a été menée chez 218 hommes, dont 84 en bonne santé, et 134 atteints de cancer de la vessie dans la même tranche d'âge (médianes de 62,4 et 69,8 ans, respectivement).

> **Les télomères** situés aux extrémités des chromosomes sont constitués de séquences nucléotidiques



Le diagnostic de cancer fut établi par cystoscopie et examen histologique après exérèse, et la valeur diagnostique de l'activité de la télomérase fut comparée à celle de la cytologie urinaire. On observa une activité médiane de 27 AEU (de 0 à 88) chez les témoins et de 112 AEU (de 30 à 382) chez les malades. Sur ces bases, les auteurs ont choisi une valeur seuil de 50 AEU au-dessus de laquelle le cancer doit être suspecté. Une telle valeur est associée à une spécificité de 88 % (pourcentage de sujets sains en dessous de la valeur seuil) et à une sensibilité de 90 % (pourcentage de sujets atteints au-dessus de la valeur seuil). La spécificité passe à 94 % chez les sujets âgés de 75 ans ou moins. La même puissance prédictive de l'activité de la télomérase a été observée chez les patients atteints d'un cancer débutant ou dont la cytologie urinaire était négative. Ce nouveau marqueur de dosage facile et peu coûteux doit être conseillé comme test de dépistage dans les populations à risque (fumeurs et travailleurs exposés), même si la cystoscopie reste l'examen de choix devant tout symptôme d'alerte comme une hématurie. ♦

1. Sanchini MA, et al. *JAMA* 2005 ; 294 : 2052-6.



> **Les lymphocytes sanguins migrent vers les organes lymphoïdes secondaires** (ganglions lymphatiques, plaques de Peyer...) où ils peuvent rencontrer leur antigène, et rejoignent la circulation sanguine *via* le réseau lymphatique. Cette migration ou *homing* vers les organes lymphoïdes secondaires se fait par diapédèse à travers la paroi de capillaires spécialisés, les HEV (*high endothelial venules*). Ces HEV expriment des molécules d'adhérence qui constituent un véritable adressage pour les lymphocytes. Ceux-ci longent la paroi des veinules et y roulent (*rolling*) grâce à l'interaction d'une intégrine, la L-sélectine avec ses ligands, les groupes mucines des glycoprotéines d'adressage de l'endothélium telles que GlyCAM, MadCAM-1, CD34, endomucine... [1]. Ce *rolling* est une étape essentielle dans la cascade d'événements conduisant à la transmigration des lymphocytes vers les ganglions lymphatiques, qui dépend de l'interaction entre la L-sélectine et ses ligands O-glycosidiques. Un anticorps monoclonal, MECA-79, a la capacité de bloquer le *homing* des lymphocytes vers les ganglions *in vivo*, chez la souris, et inhibe le *rolling* des lymphocytes sur les HEV *in vitro*. L'épitope reconnu par MECA-79 recouvre un groupement clé de reconnaissance des

1. Rosen SD. *Annu Rev Immunol* 2004 ; 22 : 129-56.
2. Kawashima H, et al. *Nat Immunol* 2005 ; 6 : 1096-104.
3. Uchimura K, et al. *Nat Immunol* 2005 ; 6 : 1105-13.

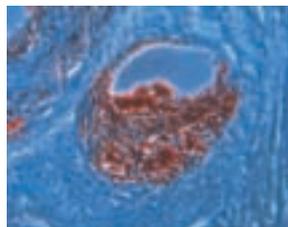
glycoprotéines d'adressage par la L-sélectine. Ce groupement, appelé sialyl-6-sulfo-Lewis X, constitue l'extrémité de l'arborescence des sucres O-liés de ces glycoprotéines. En fait, si le groupe sialyl et le fucose du Lewis X sont importants pour le *homing*, c'est la présence du groupement sulfate qui est requise pour la fixation de MECA-79. Le rôle essentiel de la sulfatation des groupes sialyl-Lewis X

Une adresse sulfureuse pour lymphocytes !

vient d'être démontré *in vivo* par deux équipes à travers l'action coopérative de deux sulfotransférases [2, 3]. Parmi les quatre N-acétylglucosamine-6-O-sulfotransférases (GlcNAcST) qui ont été identifiées chez la souris, ce sont les GlcNAcST-1 et 2, bien qu'exprimées dans divers tissus, qui participent à la biosynthèse des ligands de la L-sélectine dans les HEV. Les auteurs ont produit des souris où ces deux gènes sont invalidés (souris KO, *knock-out*). Ils démontrent que si les souris GlcNAcST-2 KO montrent la plus forte réduction de sulfatation des ligands de L-sélectine et de migration des lymphocytes dans les ganglions (40 % d'inhibition), c'est chez les souris double-KO (déficiences pour les deux enzymes) que la perte de la capacité de *homing* est la plus importante (75 % d'inhibition). Comme cela était attendu, la perte de la capacité de *homing* dans les ganglions lymphatiques périphériques s'accompagne d'une altération de la réponse immunitaire, sous la forme d'une diminution de la réponse d'hypersensibilité de contact, chez les souris double-KO. Ces études démontrent donc que la modification structurale des glycanes exprimés au niveau des HEV est essentielle à l'adressage des lymphocytes vers les organes lymphoïdes secondaires. ♦

Les étonnants effets de la reconstitution de la voie de signalisation Sonic Hedgehog dans le cœur

> **Il existe toujours une très grande effervescence autour** des questions de la régénération et de la réparation du cœur avec, notamment, la place des thérapies cellulaires et géniques, le rôle de la mobilisation des cellules souches endogènes... L'article de Kusano et al. [1] apporte des éléments de réponse à plusieurs de ces questions et souligne le rôle du morphogène *Sonic Hedgehog*, initialement découvert chez la drosophile et dont les mutations, désorganisant les denticules de l'épiderme larvaire, lui ont valu le nom de hérisson (*hedgehog* en anglais) [2]. Les auteurs montrent en effet que ce morphogène (*shh*) qui contrôle la destinée des cellules au cours de l'embryogenèse est toujours actif dans le cœur adulte et pourrait y jouer un rôle thérapeutique majeur. Tout d'abord, la voie de signalisation hedgehog s'allume quelques jours après la constitution d'un infarctus myocardique chez la souris (augmentation des transcrits *shh* et du récepteur du ligand hedgehog,



Ptc1). L'injection à l'aide d'un adénovirus du gène *shh* augmente l'activité de cette voie, et notamment stimule la production de nombreuses cytokines par les fibroblastes. Cela s'accompagne, dans un modèle d'infarctus chez le rat, d'une diminution de la taille de la cicatrice fibreuse, d'une augmentation de la densité capillaire et d'une amélioration des performances cardiaques. Chez le

porc, la surexpression de *shh* permet la réduction de la zone de myocarde ischémié dans le territoire d'une sténose coronarienne, en augmentant la vascularisation collatérale. Dans les fibroblastes cardiaques, *shh* stimule le gène *SDF-1α*, un facteur chimiotactique pour les cellules souches hématopoïétiques. Cet effet est probablement à l'origine, chez la souris, de la colonisation prolongée du myocarde ischémié surexprimant *shh* par des cellules souches de la moelle osseuse marquées par la protéine LacZ. Le schéma pourrait

1. Kusano KF, et al. *Nat Med* 2005 ; 11 : 1197-204.
2. Concordet JP. *Med Sci (Paris)* 1994 ; 10 : 570-3.

être le suivant : la surexpression myocardique de *shh* stimule la voie de signalisation *shh-Ptc1-Gli* (un facteur de transcription) des fibroblastes qui, à leur tour, sécrètent de nombreuses cytokines qui vont agir sur l'angiogenèse, la survie des myocytes et le recrutement de cellules souches. Les fibroblastes, les cellules les plus abondantes du myocarde, apparaissent de plus en plus comme des acteurs majeurs de la réparation myocardique. ♦



► Le développement des cellules lymphoïdes

T et B à partir des cellules souches hématopoïétiques nécessite l'action de facteurs de transcription qui président à l'engagement vers les voies T ou B, par l'induction d'un programme génétique spécifique. Ainsi, l'engagement vers le lignage T induit par Notch1 bloque le développement B alors que l'engagement vers la voie B est provoqué par les facteurs EBF1 et Pax5 qui bloquent le développement vers la voie lymphoïde T. Ikaros est le représentant d'une famille de régulateurs transcriptionnels dont la liaison à l'ADN est essentielle à un développement lymphoïde normal. Parmi les cinq membres que comprend cette famille : *Ikaros*, *Aiolos*, *Hélios*, *Éos* et *Pegasus*,

1. Schmitt C, et al. *Apoptosis* 2002 ; 7 : 277-84.
2. Geogopoulos K, et al. *Cell* 1994 ; 79 : 143-56.
3. Wang JH, et al. *Immunity* 1998 ; 9 : 543-53.
4. Dovat S, et al. *J Immunol* 2005 ; 175 : 3508-15.

seuls les trois premiers sont principalement exprimés dans les cellules hématopoïétiques. Ces protéines possèdent deux domaines à doigts de zinc, l'un amino-terminal effectue la liaison à l'ADN et l'autre en carboxy-terminal sert à l'homo- ou à l'hétérodimérisation de ces molécules [1]. La présence de nombreuses isoformes des protéines Ikaros, engendrées par épissage alternatif, augmente encore l'hétérogénéité des complexes moléculaires exprimés. Des expériences d'inactivation des gènes *Ikaros* et *Aiolos* ont montré leur rôle essentiel dans le développement lymphoïde qui, selon les mutations, va de l'absence totale de lymphocytes T, B et NK, à leur présence quantitativement normale, mais associée à des anomalies fonctionnelles. Celles-ci comprennent principalement une réponse exacerbée à la stimulation (diminution du seuil d'activation via le récepteur de l'antigène) et le développement de lymphomes [2, 3]. Le cas d'*Hélios* vient d'être examiné dans un article récent du groupe de Smale, l'un des découvreurs d'*Ikaros* [4]. Alors qu'*Ikaros* et *Aiolos* sont exprimés dans l'ensemble des cellules hématopoïétiques, *Hélios* est principalement observé dans les progéniteurs lymphoïdes

Hélios : comme le soleil point trop n'en faut !

et dans les cellules du lignage T mais est absent des cellules lymphoïdes B. Bien que 5 à 10 fois moins exprimées qu'*Ikaros*, les protéines *Hélios* sont

surtout associées à *Ikaros*. L'expression d'*Hélios*, restreinte aux cellules T, laissait entrevoir un rôle de ce facteur dans l'engagement T, tout en bloquant l'engagement vers la voie B. Pour valider cette hypothèse, des souris transgéniques, exprimant *Hélios* dans les cellules B (sous le contrôle d'*Igu*), ont été produites. Leur étude montre qu'*Hélios* n'empêche pas le développement des progéniteurs lymphoïdes vers la voie B, les cellules B étant présentes en nombre normal. Cependant, ces cellules B transgéniques manifestent des caractéristiques fonctionnelles qui rappellent celles des souris *Aiolos*^{-/-}, à savoir : (1) une réponse proliférative B exacerbée ; (2) une diminution du seuil de réponse à l'antigène ; (3) une survie prolongée des cellules B ; (4) et le développement de lymphomes B chez les animaux de plus d'un an. Il faut noter qu'*Hélios*, chez des animaux transgéniques, est exprimé à un niveau près de 10 fois inférieur à *Ikaros* dans les cellules B, et donc proche du niveau physiologique d'expression d'*Hélios* dans les thymocytes. Il est également intéressant de remarquer qu'une expression d'*Hélios* a été observée dans un nombre significatif de cas de leucémies aiguës lymphoblastiques B chez l'homme. En résumé, l'expression ectopique d'*Hélios* dans les lymphocytes B conduit à un phénotype similaire à celui de la suppression de l'expression d'*Aiolos* dans ces cellules. *Hélios* représente donc un élément régulateur de la fonction des protéines *Ikaros* et sa répression dans les lymphocytes B est indispensable à leur fonction normale. ♦

Identification d'un gène de la peur innée et acquise : la stathmine

présentent un spectre de comportements innés et acquis. Le noyau latéral de l'amygdale (LA) est une aire d'information de la peur et le lieu de convergence de son apprentissage. Une équipe américaine vient de démontrer que l'expression de la stathmine est hautement enrichie dans ce noyau et restreinte aux régions du cerveau connues pour relayer les informations provoquées par la peur induite (stimulus conditionné et non conditionné) [1]. La stathmine, ou oncoprotéine 18, est une phosphoprotéine cytosolique qui interagit avec des hétérodimères de tubuline, les empêchant de former des microtubules. Les animaux invalidés pour ce gène présentent une augmentation de leurs microtubules dans le LA, suggérant une stabilisation de ces derniers et une diminution de leur dynamique. Néanmoins, cette anomalie n'affecte ni la morphologie des neurones pyramidaux, ni la transmission synaptique des neurones afférents qui transmettent les signaux auditifs essentiels pour la peur acquise. En revanche, les cellules de l'amygdale des animaux mutants ont un déficit en LTP (*long term potentia-*

► **Qui gouverne nos peurs ? Les réactions liées à la peur repré-**

tion). Les auteurs ont alors étudié la réponse compor-

1. Shumyatsky G, et al. *Cell* 2005 ; 123 : 697-709.

tementale des animaux mutants à des situations de peur conditionnée. Ceux-ci ont un déficit de mémorisation de la peur acquise. De même, lorsque les mutants sont placés dans des champs ouverts, ils n'évitent pas la zone centrale comme le font leurs congénères sauvages, suggérant une altération des comportements de peur innée. En revanche, les tests comportementaux permettant de tester la mémorisation spatiale dépendant de l'hippocampe sont tout à fait normaux. Pour la première fois, un gène est associé à des réactions comportementales de peur innée et acquise, ouvrant des perspectives thérapeutiques pour les troubles anxieux, certaines phobies ou des syndromes post-traumatiques. Cependant, certains contrôles ne sont pas mentionnés dans l'article. Par exemple, le fonds génétique potentiellement hétérogène des animaux pourrait jouer un rôle dans les différences physiologiques et comportementales... Vues la qualité et l'expérience des auteurs, on peut cependant conclure que tel le chevalier Bayard les souris sans stathmine sont sans peur et sans reproche. ♦



> À peine deux mois après avoir lu « L'histoire fascinante de la ghréline et ses implications physiopathologiques potentielles en endocrinologie et en médecine interne sont encore en devenir » [1], voilà que ce curieux

Obestatine et ghréline, les frères ennemis de l'appétit

peptide, ou plutôt son précurseur, fait encore des siennes ! À partir d'une recherche bio-informatique fondée sur l'identification de signatures protéiques uniques, une équipe de Stanford (CA, États-Unis) a analysé environ 200 séquences de préprohormones en déterminant les sites de clivages mono- et dibasiques [2]. Les régions candidates furent ensuite évaluées pour la conservation des séquences maturées à travers 11 espèces de mammifères. Sur la séquence de la proghréline, un deuxième peptide, flanqué de deux résidus arginine en amino- et carboxy-terminal, est particulièrement conservé. Ce peptide se terminant par une glycine, cela suggérait une amidation post-traductionnelle. Les auteurs ont donc synthétisé les deux peptides, amidé et non amidé, et observé que le peptide amidé inhibait la prise alimentaire de base ainsi que celle stimulée par la ghréline. Non content d'antagoniser l'effet de son peptide jumeau sur cette fonction, l'obestatine, puisque c'est son nom, antagonise également l'effet de la ghréline sur la prise de poids et sur la contractilité musculaire intestinale. Les auteurs ne se sont pas arrêtés en si bon chemin. Ils ont développé un dosage radio-immunologique de l'obestatine et vérifié, en HPLC (*high performance liquid chromatography*) et même en spectroscopie de masse, sa présence dans l'estomac, site majeur de production de la ghréline. Le peptide est également présent dans le sérum. Curieusement, alors que la ghréline circulante est nettement

augmentée par le jeûne et revient au niveau de base après un repas, les concentrations d'obestatine ne varient pas en

fonction de l'état nutritionnel des rats. Continuant sur leur lancée, les auteurs ont alors recherché le récepteur de l'obestatine. Raisonnant toujours par homologie, ils ont exploré les récepteurs orphelins de la famille motiline, à laquelle appartient le récepteur de la ghréline. Leur pari s'est avéré payant

1. Bluet MT, et al. *Med Sci (Paris)* 2005 ; 21 : 715-21.
2. Zhang JV, et al. *Science* 2005 ; 310 : 996-9.

puisqu'il reconnaît l'obestatine iodée de manière spécifique et l'obestatine stimule, entre autres, la production d'AMP cyclique. Enfin, la liaison d'obestatine iodée suit relativement bien

l'expression du GPR39 évaluée en RT-PCR en temps réel sur une vingtaine de tissus, en étant la plus forte dans le jéjunum et l'hypophyse antérieure et la plus faible dans le côlon. Donc, à l'inverse de la ghréline qui augmente la prise alimentaire et diminue la dépense énergétique, rendant les rats hyperphages et obèses, l'obestatine est une hormone anorexigène qui diminue la vidange gastrique, la motricité jejunaire et, conséquemment, le poids corporel. Outre le fait d'expliquer pourquoi les souris invalidées pour le gène de la ghréline ne présentent pas vraiment de phénotype en ce qui concerne la prise alimentaire ou l'équilibre énergétique, la découverte de l'obestatine constitue l'exemple ultime de la complexité de la maturation post-traductionnelle des peptides neuroendocriniens. Jusqu'à présent, la pro-opiomélanocortine paraissait la plus compliquée, donnant naissance - selon le type cellulaire et les clivages - à l'ACTH, aux endorphines ou aux mélanocortines. Cependant, ces peptides n'agissaient pas de manière antagoniste sur des récepteurs apparentés ! Il faudra désormais compter avec la proghréline-obestatine, à moins qu'il ne s'agisse de la pro-obestatine-ghréline... ♦

Un gène Iroquois, ordonnateur de la repolarisation cardiaque

se fait selon une séquence précise de sa base à l'apex et des couches épicaudiques du myocarde à l'endocarde. Ce processus, qui joue un rôle majeur dans la fonction de pompe du cœur, le protège aussi contre la survenue d'arythmie par ré-excitation d'une partie du myocarde qui serait sortie prématurément de sa période réfractaire. Cet asynchronisme physiologique de la repolarisation est connu depuis longtemps des électrophysiologistes. Il est dû à une durée plus longue du potentiel d'action des myocytes des couches endocardiques par rapport aux cellules de l'épicarde, et cela à cause d'un gradient de concentration des canaux potassiques repolarisant de type *Shal*, Kv4.2

1. Costantini DL, et al. *Cell* 2005 ; 123 : 347-58.
2. Leyns L, et al. *Mech Dev* 1996 ; 59 : 63-72.

La repolarisation du cœur (l'événement initiateur de la relaxation diastolique)

(petits mammifères) et Kv4.3 (gros mammifères). Quel est l'organisateur de cet asynchronisme ? L'étude de Costantini et al. [1] s'est intéressée aux gènes *Iroquois homeobox (Irx)*. Découverts chez la drosophile en 1996 [2], ils ont été appelés ainsi car, chez les mutants, il ne subsiste plus qu'une bande de poils médiane évoquant la coiffure des Iroquois (ou Mohicans) qui se rasaient les cheveux en ne les laissant pousser que sur le milieu du crâne. Cette famille de gènes code des facteurs de transcription qui participent à la spécification territoriale de plusieurs organes. Seul *Irx4* était connu à ce jour pour avoir un rôle dans le cœur. Dans cette étude, les souris invalidées pour le gène *Irx5* ont un examen cardiaque normal, si ce n'est une diminution de l'amplitude de l'onde T de repolarisation sur l'électrocardiogramme et une vulnérabilité anormale aux déclenchements d'arythmie lors de l'électrostimulation endocavitaires. À l'échelon cellulaire, elles n'ont plus de gradient endocarde/épicarde de repolarisation, notamment la concentration du canal Kv4.2 est égale dans les différentes couches de myocarde. La co-transfection des myocytes cardiaques avec *Irx5* et une construction contenant la région promotrice du gène codant le Kv4.2 et le gène de la luciférase a permis de démontrer que le facteur de transcription agit directement sur l'expression du canal. Restaurer le gradient de concentration des canaux potassiques du myocarde au cours des cardiopathies pourrait être une cible majeure pour traiter les arythmies cardiaques. ♦



► **Prévenir l'obésité** et le risque d'accidents cardio-vasculaires auquel elle expose nécessite de définir

quel est le meilleur test de dépistage et de le vérifier, non pas seulement dans les populations des pays à revenu élevé, mais aussi dans celles des pays en voie de développement qui sont maintenant les plus touchées. C'est ce qui a été fait par un groupe de chercheurs de divers pays dans le cadre du groupe d'étude INTERHEART [1]. Ce travail cas-témoin, publié dans le *Lancet* regroupe 12 461 patients ayant eu un infarctus du myocarde pour la 1^{re} fois et 14 637 témoins ajustés pour l'âge et le sexe. L'étude a été réalisée dans 10 zones géographiques situées dans tous les continents et permettant ainsi de prendre en compte la diversité des modes de vie. Tous les sujets ont répondu à un questionnaire incluant les facteurs de risque connus, les antécédents personnels et familiaux et la situation sociale. On a mesuré leur poids, leur taille, leur tour de hanches et leur tour de taille (périmètre abdominal). En admettant des valeurs d'indice de masse corporelle de 30 kg/m² ou plus pour définir l'obésité et de 25 à 30 kg/m² pour définir le surpoids, et en considérant des valeurs de rapport tour de taille/tour de hanches supérieures à 1 chez les hommes ou à 0,95 chez les femmes comme élevées et de 0,95 à 1 chez les hommes ou

Vous peser est bien, mesurer votre tour de taille est mieux



Le risque d'infarctus du myocarde croît avec l'indice de masse corporelle. En effet, le risque estimé relatif (*odds ratio*) est de 1,44 lorsqu'on compare les sujets situés dans le quintile le plus élevé

(>28,6 chez les hommes et >28,2 chez

1. Yusuf S, et al. *Lancet* 2005 ; 366 : 1640-9.

les femmes) à ceux ou celles situés dans le quintile le plus bas (<22,5 chez les hommes et <22,7 chez les femmes). Mais ce risque diminue considérablement après ajustement pour le rapport tour de taille/tour de hanches et disparaît lorsqu'on tient compte des autres facteurs de risque. Le risque devient beaucoup plus élevé lorsqu'on remplace l'indice de masse corporelle par le rapport tour de taille/tour de hanches : 2,52 après ajustement pour l'âge, le sexe, la zone géographique et la consommation de tabac. Le tour de taille considéré séparément constitue également un facteur de risque probant (1,77) après ajustement sur l'indice de masse corporelle. Si on examine les 2 quintiles les plus élevés, le risque d'infarctus est de 24,3 % en tenant compte du rapport tour de taille/tour de hanches et de seulement 7,7 % en considérant

l'indice de masse corporelle. Cette étude démontre que le rapport tour de taille/tour de hanches est le meilleur test prédictif d'infarctus du myocarde, et cela dans la plupart des zones géographiques. Si l'on en croit les auteurs, acheter un mètre de couturière plutôt qu'une balance fait faire des économies et est un meilleur moyen de surveillance. Un argument de plus pour les « régimes minceur » qui fleurissent dans les magazines. ♦

Quand la science rejoint l'art
Collection photographique de l'Inserm
(© Photothèque Inserm, Michel Depardieu)

Page 33 : Adipocytes en culture (photo Michel Depardieu)

Page 34 : Neurones de l'encéphale (photo Jean-Patrick Guéritaud)

Page 34 : Neurones du tronc cérébral (photo Alain Sans)

Page 34 : Shigella (photo Philippe Sansonetti)

Page 35 : Cils recouvrant l'épithélium respiratoire (photo Edith Puchelle)

Page 35 : Chromosomes marqués par un colorant fluorescent (photo Philippe Metzzeau)

Page 36 : Monocyte (photo Dimitri Dantchev)

Page 36 : Lésion d'athérome au niveau de la racine de l'aorte (photo Giuseppina Caligiuri)

Page 37 : Ovocyte humain mûr (photo Jacques Testart)

Page 37 : Mise en évidence *in vitro* des différents stades de développement de cellules nerveuses (photo Corinne Demerens)

Page 38 : Neurones de l'hippocampe (photo Alphonso Represa-Bermejo)

Page 38 : Protéine du sarcomère (photo Lucie Carrier)

Les brèves de ce numéro ont été préparées par :

Jean-Claude Ameisen EMI-U.9922, Hôpital Bichat, Inserm-Université Paris VII, 46, rue Henri Huchard, 75877 Paris Cedex 18, France. **Raymond Ardaillou** Inserm U.489, Hôpital Tenon, 4, rue de la Chine, 75970 Paris Cedex 20, France. **Armand Bensussan, Christian Schmitt** Inserm U.448, Faculté de Médecine, 8, rue du Général Sarrail, 94010 Créteil, France. **Pascale Borensztein** GIS-Institut des Maladies rares, Hôpital Broussais, 102, rue Didot, 75014 Paris, France. **Hervé Chneiweiss** Inserm U.114, Collège de France, 11, place Marcellin Berthelot, 75231 Paris Cedex 05, France. **Alain Ehrenberg** Cesames (Centre de recherche psychotropes, santé mentale, société), FRÉ 2321, Cnrs-Université René Descartes Paris V, Iresco, 59-61, rue Pouchet, 75849 Paris Cedex 17, France. **Jacques Epelbaum** IFR Broca-Sainte-Anne sur les affections du système nerveux central, Inserm U.549, 2^{ter}, rue d'Alésia, 75014 Paris, France. **Évelyne Ferrary** Inserm EMI-U.0112, Faculté Xavier Bichat, 16, rue Henri Huchard, 75870 Paris Cedex 18, France. **Pascal Ferré** Inserm U.465, Institut Biomédical des Cordeliers, 15, rue de l'École de Médecine, 75006 Paris, France. **François Flori** médecine/sciences, Éditions EDK, 10, villa d'Orléans, 75014 Paris, France. **Gérard Friedlander** Faculté de médecine Necker, 156, rue de Vaugirard, 75730 Paris Cedex 15, France. **Thierry Galli** Inserm U.536, Centre de recherche Inserm, 17, rue du Fer à Moulin, 75005 Paris, France. **Hélène Gilgenkrantz** Institut Cochin, Département de génétique, développement et pathologie moléculaires, Inserm U.567 - UMR 8104 Cnrs, 24, rue du Faubourg -Saint-Jacques, 75014 Paris, France. **Simone Gilgenkrantz** 9, rue Basse, 54330 Clerey-sur-Brenon, France. **Richard Hamelin** CÉPH-Inserm U.434, 27, rue Juliette Dodu, 75010 Paris, France. **Stéphane Hatem** Inserm U.621, Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, 91, boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France. **Dominique Labie** Institut Cochin, Département de génétique, développement et pathologie moléculaires, Inserm U.567, 24, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France. **Fanny Lantermier, Olivier Lortholary** Service des maladies infectieuses, CHU Necker, 149, rue de Sèvres, 75015 Paris, France. **Anne-Marie Moulin** IRD, Département société et santé, 213, rue Lafayette, 75010 Paris, France.

Ateliers de formation 2006

Renseignements et inscriptions :
Ateliers de formation Inserm
101, rue de Tolbiac
75654 Paris Cedex 13
Tél. : 33 (0)1 44 23 62 03 - Fax : 33 (0)1 44 23 62 93
ateliers@tolbiac.inserm.fr

Inserm



Institut national
de la santé et de la recherche médicale

■ Atelier de formation n° 167

Physique des moteurs moléculaires - Mesures à l'échelle de la molécule unique

Organisateurs : Patricia Bassereau (UMR 168, Institut Curie, Paris), Ulrich Bockelmann (Ecole Supérieure de Physique et Chimie Industrielle, Paris)

Phase I • Le point sur...

15-16 juin 2006 • La Londe-les-Maures (Toulon)

Objectifs • Récemment, un nouveau type de techniques expérimentales s'est développé en biologie : les mesures de micromécaniques à l'échelle de la molécule unique. L'étude des moteurs moléculaires est un domaine en plein essor. Il utilise et contribue au développement de techniques à l'interface entre les bio- et les nanotechnologies. Il attire physiciens et biologistes, expérimentateurs et théoriciens. L'objectif de cet Atelier est de présenter les principales techniques utilisées dans l'étude des molécules biologiques à l'échelle de la molécule unique, et conjointement, l'état actuel des connaissances sur les moteurs moléculaires. Les études biophysiques *in vitro* à l'échelle de la molécule unique représenteront le thème principal de cet Atelier, mais des comportements collectifs et le fonctionnement de ces moteurs dans des systèmes cellulaires intégrés seront également abordés. Les modèles théoriques récents décrivant les propriétés des moteurs seront présentés de façon pédagogique.

Public • Chercheurs en physique ou biologie (biologie cellulaire, biologie moléculaire), doctorants, post-docs.
Les conférences seront en anglais.

Nombre maximum de participants : 50

Programme • Les présentations de cet Atelier couvriront les différentes techniques de molécule unique où des contraintes mécaniques (force ou couple) sont appliquées à une molécule par des pinces optiques ou magnétiques, ainsi que les techniques les plus récentes de fluorescence. On abordera également l'utilisation de la microfabrication et de la microfluidique pour l'étude de l'ADN, des protéines et de l'organisation du cytosquelette. Les exposés seront centrés sur les applications de ces techniques aux différentes classes de moteurs moléculaires : les polymérases qui interagissent avec les acides nucléiques et sont responsables de la réplication ou de la transcription ; le ribosome qui permet la synthèse des protéines ; les moteurs du cytosquelette impliqués dans le transport intracellulaire ; et les moteurs rotatifs qui produisent l'ATP dans les mitochondries ou qui sont impliqués dans la rotation des flagelles. Ces différents aspects seront complétés par des présentations sur la physique théorique des moteurs moléculaires couvrant à la fois les approches analytiques et numériques. Finalement, on abordera les conséquences du comportement collectif des moteurs à la fois *in vivo* et *in vitro*.

Avec la participation de • Jean-François Allemand (Paris, France), Carlos Bustamante (Berkeley, États-Unis), Marileen Dogterom (Amsterdam, Pays-Bas), Jean-François Joanny (Paris, France), Stephen Kowalczykowski (Davis, États-Unis), François Nédélec (Heidelberg, Allemagne), Knud Nierhaus (Berlin, Allemagne), Erwin Peterman (Amsterdam, Pays-Bas), TERENCE Strick (Paris, France), Thomas Surrey (Heidelberg, Allemagne), Claudia Veigel (Londres, Grande-Bretagne), Jean-Louis Viovy (Paris, France).

Phase II • Maîtrise technique

19-20 juin 2006 • Paris

Programme • 1. Mesure de la dynamique d'attachement de kinésines par TIRF. 2. Pinces magnétiques. 3. Piège optique.

Sélection • 4 participants par thème (total 12) seront choisis parmi les participants de la phase I.

Date limite d'inscription : 14 avril 2006