



des inhibiteurs de la phospho-inositide 3-kinase ou de l'Akt/PKB, enzymes connues comme impliquées dans le mode d'action de l'EGF.

Le phénomène de transactivation par des peptides vasoactifs ou, plus généralement des ligands de récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G, n'est pas limité à l'EGF. Il a été aussi décrit pour les récepteurs du facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF, *platelet-derived growth factor*) et du facteur de croissance apparenté à l'insuline-1 (IGF-1, *insulin-like growth factor-1*). Pour en rester au premier de ces facteurs, D.J. Kelly *et al.* [8] ont montré que l'imatinib, un inhibiteur du récepteur du PDGF (PDGF-R), atténuait les effets de l'Ang II administrée au rat sur la pression artérielle et l'expansion de la matrice extracellulaire.

Perspectives

Cet ensemble de résultats pourrait avoir des conséquences thérapeutiques. La transactivation de l'EGF-R, étant en aval de l'activation des récepteurs de l'Ang II et de l'ET, il paraîtrait logique d'agir à cette étape pour annuler simultanément les effets des deux peptides. Les inhibiteurs d'EGF-R connus comme molécules anticancéreuses pourraient se révéler utiles dans le traitement de la fibrose.

L'utilisation de ces substances dans cette indication risque malgré tout d'être rendue difficile par l'importance de leurs effets secondaires, en rapport avec le caractère ubiquitaire de EGF-R. La connaissance du mécanisme de la transactivation pour un tissu donné et dans une situation pathologique donnée pourrait s'avérer utile pour cibler l'inhibition pharmacologique. En effet, la transactivation par les peptides vasoactifs dépend d'au moins trois paramètres: la nature du récepteur transactivé, celle des ligands exprimés par le tissu et la nature de la métalloprotéase impliquée dans le clivage. Il n'y a donc pas un mécanisme de la transactivation, mais des mécanismes dont on pourrait imaginer que le nombre soit le résultat de la combinaison des trois paramètres cités plus haut. L'intervention pharmacologique sur les voies de transactivation en amont d'EGF-R permettrait de limiter considérablement les effets secondaires prévus avec l'inhibition directe d'EGF-R. Le travail de M. Asakura *et al.* [9] est particulièrement intéressant à cet égard parce qu'il montre que l'hypertrophie cardiaque chez la souris est partiellement prévenue par l'inhibition d'ADAM12, métalloprotéase impliquée spécifiquement dans le clivage de l'HB-EGF dans le cœur. ♦

Renal vascular and glomerular fibrosis and epidermal growth factor receptor transactivation

RÉFÉRENCES

1. Flamant M, Tharaux PL, Placier S, *et al.* Epidermal growth factor receptor transactivation mediates the tonic and fibrogenic effects of endothelin in the aortic wall of transgenic mice. *FASEB J* 2003; 17: 327-9.
2. Kawanabe Y, Masaki T, Hashimoto N. Ca²⁺ channels activated by endothelin-1 in CHO cells expressing endothelin-A or endothelin-B receptors. *J Neurosurg* 2004; 100: 1066-71.
3. Che Q, Carmine PK. Angiotensin II triggers EGFR tyrosine-kinase-dependent Ca²⁺ influx in afferent arterioles. *Hypertension* 2002; 40: 700-6.
4. Kagiya S, Eguchi S, Frank GD, *et al.* Angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and hypertension are attenuated by epidermal growth factor receptor antisense. *Circulation* 2002; 106: 909-12.
5. François H, Placier S, Flamant M, *et al.* Prevention of renal vascular and glomerular fibrosis by epidermal growth factor receptor inhibition. *FASEB J* 2004; 18: 926-8.
6. Shah B, Catt KJ. Matrix metalloproteinase-dependent EGF receptor activation in hypertension and left ventricular hypertrophy. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15: 241-3.
7. Shi-Wen X, Yunliang C, Denton CP, *et al.* Endothelin-1 promotes myofibroblast induction through the ETA receptor via a rac/phosphoinositide 3-kinase/Akt-dependent pathway and is essential for the enhanced contractile phenotype of fibrotic fibroblasts. *Mol Biol Cell* 2004; 15: 2707-19.
8. Kelly DJ, Cox AJ, Gow RM, *et al.* Platelet-derived growth factor receptor transactivation mediates the trophic effects of angiotensin II *in vivo*. *Hypertension* 2004; 44: 1-8.
9. Asakura M, Kitakaze M, Node K, *et al.* Cardiac hypertrophy is inhibited by antagonism of ADAM12 processing of HB-EGF: metalloproteinase inhibitors as a new therapy. *Nature* 2002; 8: 35-40.

NOUVELLE

Résistance du *Plasmodium* à la chloroquine : vers un ciblage de l'attaque ?

Dominique Labie

Inserm U.567, Institut Cochin, 24, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France.
labie@cochin.inserm.fr

de *Plasmodium falciparum*.

L'introduction de la chloroquine dans le traitement du paludisme, il y a maintenant plus de 50

> Un article de T.R. Wellems [1] attire l'attention sur un travail récent qui semble avoir identifié la base moléculaire de la résistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine [2]. On ne

saurait trop insister sur l'importance d'une telle mise au point, et le mot « catastrophe » employé par l'auteur est pleinement justifié en parlant de la résistance à la chloroquine

majeur. Le médicament était efficace et le nombre de décès a rapidement diminué de moitié. De plus, il était disponible, d'indication facile car de coût

faible, et peu toxique. Cependant, il n'a fallu attendre que quelques années pour voir se développer une résistance, apparue entre 1957 et 1970 en Asie du Sud-Est et en Amérique latine, avant de diffuser vers l'Afrique (où sévissent actuellement le plus grand nombre de formes létales) et être aujourd'hui presque universellement répandue. Aucun des produits employés en substitution ne présente, en effet, les mêmes facilités. Il était donc primordial de comprendre le mécanisme de cette résistance.

La chloroquine agit sur le parasite à son stade intra-érythrocytaire, période au cours de laquelle s'exprime la maladie. Dans le globule rouge, le *Plasmodium* digère l'hémoglobine en libérant la molécule d'hème, hautement toxique. Pour éviter cette toxicité, le parasite provoque la polymérisation de l'hème en cristaux inertes d'hémozoïne. Dans cette vacuole digestive créée par le *Plasmodium* à l'intérieur du globule rouge, la chloroquine s'oppose à la cristallisation et forme avec l'hème un complexe toxique qui détruit le parasite. La résistance du parasite repose sur l'expulsion de la chloroquine hors de la vacuole digestive par une molécule de la membrane de cette vacuole, la PfCRT (*Plasmodium falciparum* chloroquine resistance transporter). Le transport requiert de l'énergie et est spécifiquement bloqué par le vérapamil [3]. Le déterminant de la résistance à la chloroquine est localisé dans un segment de 36 kb du chromosome 7 de *P. falciparum* et, à l'intérieur de ce segment, le gène *pfcr*t codant pour la protéine PfCRT a un rôle déterminant pour l'expulsion de la chloroquine hors de la vacuole. Cette protéine comporte 13 exons et 10 segments transmembranaires; elle appartient à la superfamille des transporteurs métaboliques [4]. Un certain nombre de polymorphismes a été mis en évidence. Les différents haplotypes trouvés attestaient d'une origine multiple et indépendante de la résistance à la chloroquine. Deux mutations sont cependant retrouvées dans toutes les souches résistantes,

dont la mutation K76T (Lys → Thr) dans le premier segment transmembranaire, qui s'accompagne d'une acidification de la vacuole digestive. Cette mutation K76T a pu être considérée, en épidémiologie, comme un marqueur de résistance. La transformation d'une souche sensible en souche résistante a été reproduite *in vitro* par transfection d'un plasmide muté, ces mutations étant responsables soit d'une modification de l'efflux de chloroquine, soit d'une réduction (liée à la diminution du pH) de la liaison de la chloroquine à l'hématine [5].

Le rôle précis qu'aurait PfCRT dans l'apparition de la résistance à la chloroquine a fait l'objet d'un travail plus récent [2] rapporté dans le commentaire de T.R. Wellems. Les auteurs sont partis du fait que la mutation K76T, en supprimant une charge positive, pouvait modifier le potentiel électrostatique qui inhibe l'efflux de chloroquine. Le vérapamil, chargé positivement, pouvait donc se fixer au mutant PfCRT, bloquer ainsi l'efflux de chloroquine et restaurer la sensibilité au médicament. Pour vérifier cette hypo-

thèse, les auteurs ont, par des études de résistance croisée, étudié deux molécules: l'halofantrine (retirée de l'usage médical car à l'origine de troubles cardiaques) et l'amantadine, bloqueur de canal H⁺ (utilisée dans le traitement de maladies virales, dont la concentration requise pour une action contre le *Plasmodium* est incompatible avec une utilisation clinique). Ils ont constaté que des souches résistantes à la chloroquine sont relativement sensibles à ces deux produits. Mais des cultures en présence de l'une ou l'autre molécule font apparaître une résistance en même temps qu'elles aboutissent à la sélection de nouvelles mutations, en particulier une nouvelle charge positive S163R (Ser → Arg) dans le quatrième segment transmembranaire. Simultanément, un retour à la sensibilité à la chloroquine qui, dans ces souches sélectionnées, se liait à l'hématine, est noté. Des enquêtes épidémiologiques devaient-elles tenir compte d'autres mutations de *pfcr*t? Des recherches sur le terrain ont permis aux auteurs d'identifier un isolat en Asie

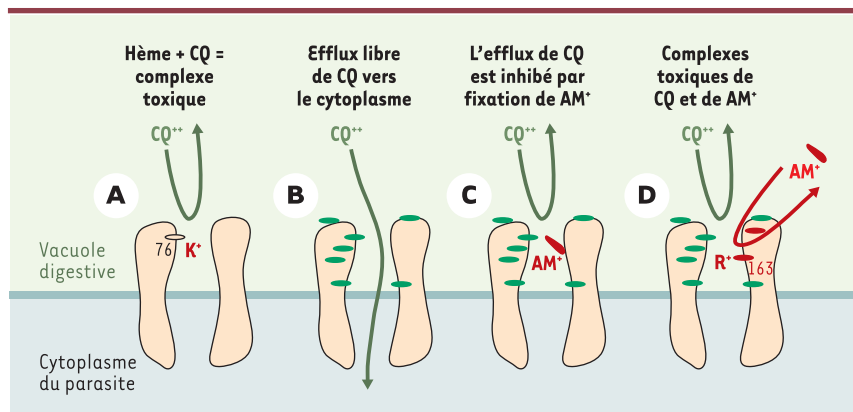


Figure 1. Résistance à la chloroquine et rôle possible des mutations ponctuelles du canal PfCRT.

A. Si, dans le premier segment transmembranaire, il existe une lysine en position 76, la charge positive empêche l'expulsion de la chloroquine (CQ), et celle-ci forme, avec l'hème, un complexe toxique pour le parasite. **B.** Différentes mutations peuvent se développer selon les souches. La sélection de la mutation lysine → thréonine en position 76 entraîne, dans tous les cas, une acidification de la vacuole digestive et un efflux de la chloroquine vers le cytoplasme. **C.** L'amantadine (AM) est une molécule chargée positivement; en se fixant sur le canal PfCRT, elle s'oppose à l'efflux de la chloroquine et entraîne une inversion de la résistance. **D.** D'autres mutations, dont l'apparition d'une charge positive sérine → arginine en position 163 du 4^e segment transmembranaire pourrait s'opposer à l'effet toxique de l'amantadine dans le cytoplasme, en même temps que serait restaurée la sensibilité à la chloroquine.



du Sud-Est porteur de la mutation S163R, qui serait peut-être apparue par sélection au traitement par la méfloquine, produit voisin de l'halofantrine, et qui semblerait sensible à la chloroquine. Le rôle de l'amantadine, en revanche, n'a pu être étudié qu'*in vitro* et s'est avéré variable vis-à-vis de différentes souches. Comme la chloroquine, cette molécule - avec un pK de 9,0 - serait expulsée de la vacuole digestive acide et concentrée dans le cytoplasme, se liant à une cible différente de celle de la chloroquine, non identifiée à l'heure actuelle. La mutation compensatrice S163R, en rendant l'efflux plus difficile, expliquerait l'apparition de la résistance. Si les faits présentés sont convaincants, ils laissent cependant des inconnues concernant leur interprétation et T.R. Welles présente une autre explication (Figure 1) [1]. Le rôle de l'amantadine s'expliquerait par sa fonction d'inhibiteur de canal H⁺. Sensible aux mutations, elle se lierait à un acide aminé du pore PfCRT d'un parasite résistant à la

chloroquine. Le profil exact des mutations a certainement son importance, expliquant pourquoi le produit agit mieux sur une souche que sur une autre. La mutation S163R aurait un double effet: s'opposer à la liaison de l'amantadine et, par une charge positive, empêcher l'efflux de chloroquine et restaurer la sensibilité. Le mode d'action de l'halofantrine est sans doute différent de celui de l'amantadine, mal explicité actuellement. On peut cependant remarquer que si la mutation S163R se retrouve dans l'évolution de l'une et l'autre résistance, elle s'accompagne de mutations différentes dans les deux cas, mutations qui semblent nécessaires à l'efficacité des molécules. Ces haplotypes divers pourraient refléter des modes d'interaction distincts avec PfCRT.

Y a-t-il, comme le suggèrent D.J. Johnson *et al.* [2], une compétition entre la chloroquine et l'amantadine pour un efflux de molécule chargée? S'agit-il d'une toxicité directe de l'amantadine et de l'halofantrine? Les travaux ultérieurs

nous le diront sans doute. Une perspective plus appliquée est celle de la recherche de molécules ciblant PfCRT comme l'amantadine, et pouvant être employées conjointement à la chloroquine pour traiter les sujets infestés tant par des souches résistantes que par des souches sensibles. ♦

Plasmodium chloroquine resistance: towards a specific attack?

RÉFÉRENCES

1. Welles TE. Transporter of a malaria catastrophe. *Nat Med* 2004; 10: 1169-71.
2. Johnson DJ, Fidock DA, Mungthin M, *et al.* Evidence for a central role for PfCRT in conferring *Plasmodium falciparum* resistance to diverse antimalarial agents. *Mol Cell* 2004; 15: 867-77.
3. Fidock DA, Nomura T, Tailey AK, *et al.* Mutations in the *P. falciparum* digestive vacuole transmembrane protein PfCRT and evidence for their role in chloroquine resistance. *Mol Cell* 2000; 6: 861-71.
4. Tran CV, Sailer MH. The principal chloroquine resistance protein of *Plasmodium falciparum* is a member of the drug/metabolite transporter family. *Microbiology* 2004; 150: 1-3.
5. Sidhu ABS, Verdier-Pinard D, Fidock DA. Chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum* malaria parasites conferred by *pfcr*t mutations. *Science* 2002; 298: 210-3.

A. Cumano : Unité de Développement des lymphocytes, Inserm U.668, Institut Pasteur, 25, rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.
I. Godin : Inserm U.362, Institut Gustave Roussy, 39, rue Camille Desmoulins, 94805 Villejuif, France.
cumano@pasteur.fr

NOUVELLE

Un nouveau modèle de production des cellules souches hématopoïétiques intra-embryonnaires

Ana Cumano, Isabelle Godin

Développement du système hématopoïétique

Chez l'adulte, l'ensemble des cellules sanguines est constamment renouvelé à partir d'une population de cellules souches hématopoïétiques (CSH) faiblement représentées dans la moelle osseuse. Les CSH adultes sont supposées dériver d'une population produite pendant le développement embryonnaire, suivant des modalités encore mal connues.

Un ensemble de travaux menés depuis une dizaine d'années dans de nombreux modèles animaux a permis d'établir qu'il existe deux générations indépendantes de précurseurs hématopoïétiques au cours de l'ontogenèse. La première, qui a lieu au niveau du sac vitellin, extra-embryonnaire, fournit rapidement des globules rouges, des macrophages et des mégacaryocytes, mais ces précurseurs ont un potentiel de différenciation limité et sont incapables de maintenir, à long terme, la

production de cellules sanguines. Les précurseurs formés un peu plus tardivement dans le compartiment intra-embryonnaire (dans une région qui comprend l'aorte, les gonades et le mésonephros, appelée AGM) possèdent, quant à eux, les caractéristiques de multipotentialité et d'auto-renouvellement à long terme qui caractérisent les CSH [1].

Bien que les données cytologiques et fonctionnelles obtenues *in vitro* et *in vivo* s'accordent pour désigner l'aorte et