

> **La possibilité d'induire** un programme pluripotent (iPS, *induced pluripotent stem cells*) dans des cel-

lules somatiques différenciées par la seule transduction de 4 ADNc a déclenché une véritable course à la reprogrammation. Gardons la tête froide ! Tout n'est pas gagné : les vecteurs utilisés sont des virus intégratifs, l'une des 4 protéines inductrices est un oncogène, et contrairement à la souris, chez l'homme, cet exploit se limite aux fibroblastes et aux cellules mésenchymateuses et son efficacité reste extrêmement faible ce qui exige des quantités de cellules importantes. Or, l'équipe de Trond Aasen démontre dans *Nature Biotechnology* qu'il suffit d'un seul cheveu [1] ! Les auteurs mettent en évidence que la reprogrammation de cellules épithéliales (kératinocytes) humaines est 100 fois plus efficace et 2 fois plus rapide que celle des fibroblastes du derme utilisés en parallèle. Il n'y a aucune nouveauté dans le protocole, consistant en la transduction de OCT4, SOX2, c-MYC et KLF4 dans des kératinocytes provenant de biopsies de peau humaine jeune (2-16 ans) ou des cellules de la gaine folliculaire externe de cheveux humains de cinq personnes de 28 à 30 ans. Mais l'efficacité d'induction de ces KiPS (*keratinocyte iPS*) est record (1 %, dépassant largement les 0,01 % obtenus avec les fibroblastes provenant du même prélèvement) et la cinétique d'induction est beaucoup plus rapide (10 jours au lieu de 21 à 25 jours) alors même que le nombre d'intégrations virales est plus faible. Ces KiPS ont toutes les propriétés phénotypiques et fonctionnelles de

Des iPS à faire dresser les cheveux sur la tête

1. Aasen T, et al. *Nat Biotechnol* 2008 ; 26 : 1276-84.
2. Aoi T, et al. *Science* 2008 ; 321 : 699-702.

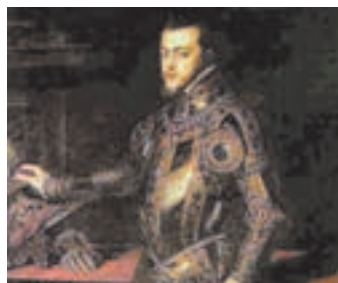
cellules souches embryonnaires pluripotentes humaines : formation de corps embryoides *in vitro* et de tératomes *in vivo*, extinction épigénétique des transgènes et activation des gènes endogènes correspondants. L'équipe du maintenant célèbre S. Yamanaka [2] avait déjà souligné l'efficacité de reprogrammation de cellules épithéliales murines (gastriques et hépatocytes) ; y aurait-il alors des facteurs intrinsèques aux kératinocytes facilitant leur reprogrammation ? curieusement, les kératinocytes expriment spontanément un taux très élevé de c-MYC et KLF4, contrairement aux fibroblastes, et leur profil transcriptionnel, du moins pour l'expression de gènes caractéristiques de l'état « souche », est plus proche de celui des KiPS et des cellules souches embryonnaires que ne l'est le profil de fibroblastes. Autre hypothèse, la proportion de cellules souches, plus sensibles au processus de reprogrammation, serait plus élevée dans les populations épithéliales de la peau. À suivre... En attendant, il ne tient qu'à un cheveu qu'on ne vous pique vos iPS... ♦

Sophia Häfner

Médecine/Sciences
et École Normale Supérieure
Sophia.Hafner@inserm.fr

La goutte, surcharge alimentaire et/ou maladie génétique

> **La goutte est connue depuis très longtemps. Maladie des rois, elle a été celle** de Philippe II d'Espagne et de Louis XIV vieillissant ; maladie des riches, on la savait associée à des excès alimentaires de viandes et de vins ; Zola l'a bien décrite dans « *La joie de vivre* ». Si les grands syndromes déformants sont devenus plus rares, la goutte reste une cause fréquente d'arthrites douloureuses (des millions de cas aux États-Unis). L'acide urique est le produit final du métabolisme des purines et le dépôt d'urate dans les articulations, spécifique de la goutte, est dû à un défaut d'élimination rénale de l'acide urique. L'existence de formes familiales, la mise en évidence du caractère héréditaire de la concentration en acide urique [1], ont suggéré l'existence d'un, ou plusieurs, déterminant(s) génétique(s). Cette recherche a été menée aux Pays-Bas et aux États-Unis sur des cohortes très importantes (n = 4148 + 7699), et les résultats vérifiés dans des populations blanches (n = 11024) et noires (n = 3843) [2]. L'étude a comporté une recherche sur la totalité du génome des SNP (*single nucleotide polymorphism*) dont l'association avec le taux d'acide urique était significative, et comparé les résultats à l'existence de la maladie. Dans toutes les cohortes, l'association maximale a été trouvée au niveau du



Philippe II d'Espagne
(Le Titien, musée du Prado, Madrid)

gène *SLC2A9* (V2531) (*solute carrier family 2 [facilitated glucose transporter], member 9*), association déjà décrite par 2 équipes,

1. Yang Q, et al. *Metabolism* 2005 ; 54 : 1425-41.
2. Dehghan A, et al. *Lancet* 2008 ; 372 : 1953-61.
3. Döring A, et al. *Nat Genet* 2008 ; 40 : 430-6.
4. Vitart V, et al. *Nat Genet* 2008 ; 40 : 437-42.

allemande [3] et écossaise [4], et publiée dans *Nature Genetics*. Le dernier travail comporte l'identification de 2 autres sites polymorphes au niveau des gènes *ABCG2* (Q141K) (*ATP-binding cassette sub-family G [WHITE] member 2*) et *SLC17A3* (*solute carrier family 17 [sodium phosphate], member 3*), l'association étant supérieure chez les femmes. Les auteurs ont constaté l'augmentation linéaire du taux d'acide urique selon le nombre d'allèles à risque, donc un gradient d'effets additifs. *ABCG2* code un transporteur d'ATP dans les cellules du tubule rénal proximal ; une relation causale avec la concentration d'acide urique est donc probable. Il n'y a pas d'argument de ce type concernant *SCL2A9* qui est pourtant le gène dont l'association est la plus forte. *SLC17A3*, par ailleurs, code un transporteur de phosphate de sodium NPT4. Son homologue chez le rat est bien localisé dans le tubule rénal proximal et les auteurs montrent qu'une protéine NPT1 est codée par un gène *SIC17A1* situé juste en aval de *SIC17A3*. Si son association à la goutte est faible, elle pourrait constituer un facteur additif. Le rôle de chacun de ces facteurs reste modeste, leur combinaison pourrait-elle amplifier (x 40) le risque de développer une goutte ? En existe-t-il d'autres ? Quelle en est la valeur clinique ? ♦

Dominique Labie

Institut Cochin
labie@cochin.inserm.fr

1. Amos CI, et al. *Nat Genet* 2008 ; 40 : 616-22.
2. Hung RJ, et al. *Nature* 2008 ; 452 : 537-8.
3. Wang Y, et al. *Nat Genet* 2008 ; 40 : 1407-9.
4. McKay JD, et al. *Nat Genet* 2008 ; 40 : 1404-6.

> **Les cancers du poumon** sont largement attribuables au tabac, mais des

cas multiples décrits dans de grandes familles ont suscité la recherche d'un déséquilibre de liaison (LD) avec un(des) marqueur(s) génétique(s). Des études récentes sur de grandes séries avaient été menées à Houston (Texas, États-Unis) (n = 1154) [1], et à Lyon (France) (n = 1989) [2], orientant toutes deux vers un locus en 15q25 et évoquant le rôle du récepteur nicotinique de l'acétylcholine, sans que la preuve ni la localisation exacte n'aient été établies. Deux articles des mêmes équipes publiés dans *Nature Genetics* exposent les résultats de la recherche sur l'ensemble du génome et arrivent à des conclusions comparables. L'équipe de Houston confirme ses résultats en définissant de plus 2 autres locus en 5p13.33 et 6p21.33 [3]. Cette extension a nécessité l'élargissement à d'autres séries de patients. Deux SNP (*single nucleotide polymorphism*) ont été identifiés en 6p21.33, situés dans le premier intron du gène *BAT3* (*HLA-B associated transcript 3*) et le 10^e intron de *MSHS* (*Mut S homolog gene*), gènes en déséquilibre de liaison, pouvant se présenter tous deux comme candidats : *BAT3* est impliqué dans les processus d'apoptose et l'acétylation de p53 en réponse à une lésion de l'ADN, *MSHS* a un rôle dans la réparation des misappariements de l'ADN. Un locus de susceptibilité en 6p22.1 pourrait, lui, n'être dû qu'au déséquilibre de liaison avec le précédent. En 5p13.33 un site a été localisé dans le 13^e intron de *CLPTMIL* (*clef lip and palate transmembrane 1 like*), qui code une protéine fréquemment amplifiée au stade précoce des NSCLC (*non small cell lung cancer*) et dont l'allèle (A versus G) est associé à une moindre susceptibilité au cancer. Les Lyonnais de leur côté poursuivent aussi leur



Cancer du poumon : tabac et facteurs génétiques de susceptibilité ?

recherche par des procédés analogues d'élargissement des séries [4]. Parmi 8 SNP très significatifs, certains étaient localisés en 15q25.1, mais aussi en 5p15.33 où 4 SNP étaient localisés dont 3 seulement en strict déséquilibre de liaison, indépendamment de l'existence chez le patient d'un tabagisme. Ces associations se présentent comme indépendantes par tous les contrôles, et les risques qu'elles confèrent comme potentiellement additifs. Ce locus 5p15.33 comporte 2 gènes, *TERT* (*human telomerase reverse transcriptase*) et *CLPTMIL* signalé plus haut. Il n'est pas évident que les SNP soient eux-mêmes le facteur causal, mais l'implication du promoteur de *TERT* semble vraisemblable, car une dérégulation du contrôle des télomères est une étape vitale pour la majorité des formes d'oncogenèse. Ce que l'on sait de *CLPTMIL* dans des formes résistantes de tumeur de l'ovaire suggérerait l'induction d'un phénomène d'apoptose sous l'effet génotoxique du tabac. Des facteurs de susceptibilité sont donc cernés, il faudra les identifier et préciser leur mécanisme d'action. ♦

Dominique Labie
Institut Cochin

labie@cochin.inserm.fr

Immunité de l'enfant contre la grippe par vaccination de la mère

1. Zaman K, et al. *N Engl J Med* 2008 ; 359 : 1555-64.

> **On sait la gravité particulière de la**

grippe chez la femme enceinte et chez le petit enfant, en raison des surinfections respiratoires, surtout par le pneumocoque. La vaccination des femmes enceintes est conseillée et son innocuité a été prouvée, mais le vaccin n'est pas autorisé avant l'âge de 6 mois. Un essai a été mené au Bangladesh avec la collaboration d'équipes américaines pour tester l'efficacité sur la mère et sur l'enfant d'une vaccination systématique anti-grippe des femmes enceintes [1]. À la différence de nos pays où l'épidémie de grippe est saisonnière, elle est permanente dans le climat tropical du Bangladesh. L'étude prospective a été menée chez 340 mères dont 50 % ont reçu le vaccin anti-grippal inactivé, et les autres le vaccin anti-pneumococcique à 23 valences. Chaque groupe d'enfants a été lui-même subdivisé en deux sous-groupes, l'un recevant un vaccin anti-pneumococcique conjugué, et l'autre étant vacciné contre l'*Haemophilus influenzae* type b. La surveillance clinique s'est exercée pendant les heures suivant la vaccination, puis de semaine en semaine jusqu'à la fin de la grossesse et pendant 14 semaines du *post-partum* (24 semaines pour la sérologie). Cette surveillance comportait la recherche des anticorps contre le virus grippal par frottis de la gorge, et un interrogatoire clinique à la recherche de tout épisode fébrile respiratoire. Les auteurs ont constaté un nombre inférieur de gripes biologiquement prouvées chez les enfants de mères vaccinées (6 versus 16 sur 157, efficacité vaccinale de 63 %), ainsi qu'une réduction du tiers du nombre d'épis-



Haemophilus influenzae type b

des respiratoires fébriles ; aucune différence n'a été observée selon le vaccin reçu par les enfants. Dans un pays où l'endémie grippale est observée à longueur d'année, on a constaté dans le groupe témoin 10 % de gripes vérifiées chez les nourrissons au cours des 6 premiers mois de la vie. L'ensemble des données suggère donc que la vaccination maternelle protège aussi l'enfant jusqu'à 5-6 mois. Dans le contexte d'une étude épidémiologique de masse, le test rapide employé pour diagnostiquer une grippe a été la détection des neuraminidases A et B dont la spécificité n'est que 80-90 % et la sensibilité de 70-72 % ; il se peut donc qu'environ 25 % des cas de grippe n'aient pas été identifiés, mais les séries ont toutes été étudiées de la même façon, et les vaccins reçus par les enfants n'ont pas apporté de modification. La sous-estimation possible tient aussi à ce qu'il n'y a pas eu de série témoin traitée par placebo et que les typages des souches virales n'ont pas été étudiés, ce que reconnaissent les auteurs, confrontés à des problèmes de coût de l'étude. Si ces résultats n'ont pas encore de valeur statistique, ils ont cependant une valeur clinique importante et incitent à une stratégie systématique de vaccination maternelle dans les pays où l'endémie grippale est permanente. ♦

Dominique Labie
Institut Cochin

labie@cochin.inserm.fr



Créer une prostate à partir d'une seule cellule souche

1. Leong KG, et al. *Nature* 2008 ; 456 : 804-8.
2. Tsujimura A, et al. *J Cell Biol* 2002 ; 157 : 1257-65.

observée après carence en androgènes suivie d'un apport compensateur. Elles sont également soupçonnées être à l'origine du développement de tumeurs malignes. Le but du travail de Long et al. [1] fut d'identifier leurs marqueurs spécifiques, de les localiser, d'étudier leur réponse aux androgènes et, enfin, d'essayer de reconstituer une prostate entière à partir d'une seule d'entre elles. Considérant à partir de travaux antérieurs [2] que la zone proximale des canaux prostatiques était la niche la plus probable de ces cellules, ils vérifièrent cette hypothèse en montrant par RT-PCR (amplification en chaîne après transcription inverse) que l'expression de marqueurs reconnus des cellules souches, membranaires (Sca-1, CD44, CD133) ou intracellulaires (Bcl2, p63 et transcriptase inverse de la télomérase), était maximum dans la partie proximale de la glande, plus particulièrement dans les cellules basales par rapport aux cellules luminales. Cependant, des cellules prostatiques n'ayant pas les caractères de cellules souches expriment également ces marqueurs, ce qui conduisit les auteurs à rechercher d'autres marqueurs plus spécifiques. Leur choix se porta sur CD117 (c-kit, récepteur du *stem cell factor*) parce que c'était celui dont l'expression dans la zone proximale par rapport aux autres régions était la plus grande. Pour confirmer leur hypothèse, ils montrèrent que l'abondance des cellules CD117⁺ augmentait après castration (associée à un enrichissement en cellules souches) et diminuait après administration d'androgènes (associée à l'expansion de cellules différenciées). D'autres marqueurs (CK14 et CD44) suivirent une évolution identique. L'étape suivante fut de séparer des cellules CD117⁺ et

> **Les cellules souches** de la prostate interviennent dans la régénération de la prostate normale

CD117⁻ et de montrer qu'*in vitro* seules les premières donnaient naissance à des colonies organisées en canaux. L'expérience fut répétée *in vivo* en greffant sous la capsule rénale de souris dépourvues de thymus (*nude*) les 2 types cellulaires associés à des cellules mésenchymateuses d'embryons de rat. Seules les greffes de cellules CD117⁺ se développèrent en structures comportant des canaux à paroi épithéliale. Le rôle des cellules CD117⁺ dans le développement de la prostate fut confirmé en montrant que le traitement par un anticorps anti-CD117 de cellules de tissu prostatique normal en culture inhibait la multiplication cellulaire et la formation de canaux. Afin d'enrichir en cellules souches la population CD117⁺, les auteurs isolèrent par tri cellulaire une population exprimant également d'autres marqueurs de surface tels que Sca-1, CD133 et CD44 et dépourvue des antigènes de différenciation (appelés collectivement *Lin*, pour *lineage*). Des cellules uniques de cette population Lin-Sca-1⁺ CD133⁺ CD44⁺ CD117⁺ furent greffées sous la capsule rénale de souris *nude* associées à des cellules mésenchymateuses d'embryon de rat. Sur 97 greffes, 7 aboutirent à la formation d'une prostate complète avec ses canaux et ses différents types cellulaires. Une telle démonstration fait espérer des progrès en médecine régénérative et dans l'identification des cellules à l'origine des tumeurs monoclonales. ♦

Raymond Ardaillou

raymond.ardailou@academie-medecine.fr

> On sait la pression sanguine contrôlée par les récepteurs adrénergiques α et β , et

l'on a montré l'influence de l'huile d'olive sur cette voie qui règle la signalisation par les protéines G et module la structure des membranes [1]. D'autres huiles, apparemment similaires, n'ont pas cette propriété. Un autre fait est la moindre incidence de maladies cardio-vasculaires dans les pays méditerranéens, liée au régime alimentaire riche en acides gras mono-insaturés présents dans l'huile d'olive [2]. Cet effet a été attribué à des constituants mineurs, α -tocophérol, polyphénols ; un travail coordonné par des auteurs de Palma de Majorque démontre que l'acide oléique lui-même (OA), acide *cis*-monoinsaturé, en est la cause [3]. OA sous toutes ses formes, contrairement aux acides élaïdique ou stéarique, *trans*-mono-insaturés, permet, en effet, la fixation dans la membrane de nombreuses protéines G qui contrôlent la pression artérielle. Des essais menés chez le rat ont montré une action sur cette pression et sur le profil lipoprotéique (HDL/LDL, rapport *high density/low density lipoproteins*) du plasma ; l'action rapide en 3-4 jours est donc adaptative et non métabolique. L'étude chez l'homme a montré l'effet immédiat mais transitoire sur la pression sanguine d'une dose unique d'huile d'olive vierge, et un effet stable en environ 2 semaines après un traitement de 3 à 4 jours, effet qui n'est pas retrouvé avec l'huile de soja. Cela témoigne d'un passage rapide de l'intestin vers la circulation de l'acide oléique,



1. Yang G, et al. *Mol Pharmacol* 2005 ; 68 : 310-7.
2. Psaltopoulou T, et al. *Am J Clin Med* 2004 ; 80 : 1512-8.
3. Terès S, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 13811-6.

Des bienfaits de l'huile d'olive

et de son incorporation dans les triglycérides ; sous l'action de lipases, ce sont les acides gras libérés que reçoivent les cellules. Chez le rat, l'action sur la pression sanguine est fonction de la dose administrée et n'est pas obtenue pour les isomères en *trans*, mais elle l'est pour un isomère en *cis*, l'acide 2-hydroxyoléique, démontrant une spécificité structurale stricte. Au niveau moléculaire, l'incorporation dans les membranes des acides *cis*-mono-insaturés modifie leur profil lipidique avec diminution en surface des phospholipides, tendance à former des microdomaines de lipides non lamellaires ; il y a stockage de protéines G dont le signal est impliqué dans le contrôle de la pression par régulation de l'adényl-cyclase et de la phospholipase C. Ce processus moléculaire, réversible si l'on bloque le circuit, avait été précédemment établi sur des cellules 3T3 [1] ; il se vérifie *in vivo* chez le rat. L'ensemble des données montre une régulation moléculaire liée de façon très spécifique à la structure lipidique des membranes, concentrant des molécules dont l'activité aboutira, *via* l'intervention des récepteurs adrénergiques, à une régulation cardio-vasculaire. Vive l'huile d'olive, l'acide oléique et le régime méditerranéen ! ♦

Dominique Labie

Institut Cochin

labie@cochin.inserm.fr

> Grâce aux NSG (séquenceurs de nouvelle génération),

l'exploration du génome des cellules leucémiques devient accessible. Elle permet d'espérer une meilleure compréhension du processus leucémique au cours des différents stades évolutifs et de découvrir des mutations somatiques en rapport avec cette évolution. Une équipe de Saint Louis (Missouri, États-Unis) vient de présenter les résultats du séquençage sur génome entier d'un clone de cellules de leucémie aiguë myéloblastique (LAM) par comparaison avec le génome constitutionnel (obtenu à partir de culture de peau) de la malade [1]. Il s'agit d'une femme d'une cinquantaine d'années qui avait, au diagnostic, 100 % de myéloblastes de type M1 dans sa moelle osseuse. L'étude cytogénétique ne montrait aucun remaniement, une caractéristique de ce sous-type. Onze mois après l'induction d'une rémission complète sous traitement, une rechute est survenue avec l'émergence d'un nouveau clone porteur d'une translocation (10;12)(p12;p13). La recherche des mutations somatiques a été faite à partir de l'analyse des séquences obtenues sur séquenceur Illumina-Solexa, à l'aide d'analyseurs (Maq, mapping quality score) [2] et en utilisant les règles du decision tree C4.5 [3] pour éliminer les faux positifs. Deux Snip ont été observés dans BRCA2 et TP53 avec la même fréquence (respectivement 50 % et 100 %) dans les cellules issues de la culture de peau et dans les cellules leucémiques. Dix mutations somatiques dans les séquences codantes ont été retenues. Parmi

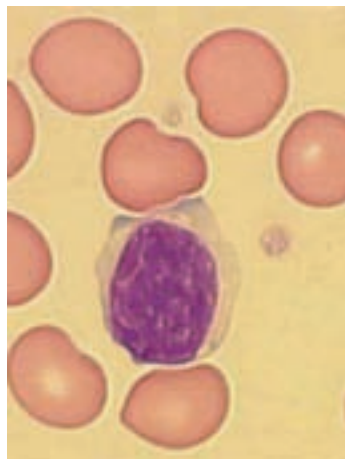
celles-ci, deux sont déjà connues dans les LAM : insertions somatiques dans NPM1 (nucleophosmin/nucleoplasmin family, member 1) (4pb) et FLT3 (fms-related tyrosine kinase 3) (30 pb). Les huit autres sont des

1. Ley TJ, et al. Nature 2008 ; 456 : 66-72.
2. Li H, et al. Genome Res 2008 ; 18 : 1851-8.
3. Quinlan JR. C4.5 : program for machine learning. San Francisco : Morgan Kaufmann Publishers, 1993 : 302 p.

variants alléliques de gènes qui n'ont jamais été impliqués dans des leucémies

Séquençage du génome de cellules leucémiques : une « première »

ou des cancers jusqu'à présent mais dont certains appartiennent à des familles de gènes associés à la pathogénie cancéreuse comme PTPRT (protein-tyrosine phosphatase, receptor-type), SLC15A1 (solute carrier family 15 member 1). Les autres interviennent dans des voies métaboliques qui pourraient être impliquées dans les cancers : GPR123 (G protein-coupled receptor 123), EBI2 (Eps-tein-Barr virus-induced gene 2) et GRIN1B (glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate-like 1B). Ces variants sont présents dans les cellules leucémiques au diagnostic (fréquence d'environ 50 %), et lors de la rechute (fréquence d'environ 40 %). Ils sont aussi retrouvés avec une fréquence faible (5 %-13 %) dans la peau, ce qui pourrait s'expliquer par une contamination par des blastes sanguins (présence de 85 % de blastes dans le sang). Ces recherches démontrent la puissance des appareils NSG, identifiant des mutations alors que l'analyse cytogénétique est normale. Mais le travail sera sans doute aussi laborieux que la mise en évidence des anomalies chromosomiques dans les leucémies il y a



© Claude Linassier (Oncologie médicale, CHU de Tours)

quelques décennies. En effet, aucune de ces mutations somatiques n'a été retrouvée lors du séquençage du génome de 187 LAM, ce qui laisse présumer de l'énorme diversité génétique des processus leucémiques. ♦

Simone Gilgenkrantz
médecine/sciences

sgilgenkrantz@medecinesciences.org



ISBN : 978-2-8425-4116-3 174 pages

Bon de commande

À retourner à EDK, 2, rue Troyon - 92316 Sèvres Cedex
Tél. : 01 55 64 13 93 - Fax : 01 55 64 13 94 - E-mail : edk@edk.fr

NOM : Prénom :
 Adresse :
 Code postal : Ville :
 Pays :
 Fonction :

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Alcool et familles** : 15 € + 3 € de port = **18 € TTC**

en exemplaire, soit un total de €

Par chèque, à l'ordre de **EDK**
 Par carte bancaire : Visa Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | |