

Organes atteints par la mucoviscidose

L'anomalie génétique à l'origine de la mucoviscidose perturbe le fonctionnement de plusieurs organes, car différents conduits finissent par être obstrués par un mucus, ou autres sécrétions, épais et visqueux.

LES VOIES RESPIRATOIRES

L'encombrement et l'infection des bronches gêne la respiration. Les infections détruisent progressivement les poumons. L'atteinte pulmonaire est responsable de la plupart des décès des patients atteints de mucoviscidose.

LE FOIE

Chez cinq pour cent environ des patients, l'obstruction des petits canaux biliaires perturbe le fonctionnement du foie et la digestion.

LE PANCRÉAS

Chez 85 pour cent des malades, l'obstruction des canaux empêche le pancréas de déverser dans l'intestin les enzymes digestives indispensables. Un diabète peut apparaître.

L'INTESTIN GRÊLE

Chez dix pour cent environ des nouveau-nés atteints, un bouchon épais obstrue l'intestin et nécessite une intervention chirurgicale.

L'APPAREIL REPRODUCTEUR

L'absence des petits conduits, tels les canaux déférents, rend stériles 95 pour cent des hommes atteints. Les femmes sont parfois stériles également, car un épais bouchon de mucus empêche la pénétration des spermatozoïdes dans l'utérus.



GLANDE
SUDORIPARE

LA PEAU

En raison d'un mauvais fonctionnement des glandes sudoripares, la transpiration contient un excès de sel (chlorure de sodium). On diagnostique la maladie en mesurant la concentration en ions chlorure dans la sueur.

sueur se forme à la base des glandes sudoripares, puis s'échappe vers la surface de la peau par un étroit canal. Au début, c'est une solution riche en ions sodium et en ions chlorure, mais, à mesure que le liquide parcourt le canal, des ions repassent dans l'épithélium, et seule reste l'eau : la sueur qui perle pour rafraîchir la surface de la peau est peu salée. Au contraire, chez les patients atteints de mucoviscidose, le tissu épithélial n'absorbe pas les ions chlorure – ni les ions sodium –, de sorte que la concentration en sel de la sueur augmente anormalement.

En outre, Michael Knowles et Richard Boucher, de l'Université de Chapel Hill, examinèrent des poumons et observèrent que l'épithélium piège un excès d'ions chlorure : le flux de ces ions de l'épithélium vers la lumière (le centre) des voies respiratoires est faible, et l'absorption d'ions sodium par l'épithélium est excessive. De même, le transport des ions chlorure est anormal dans l'épithélium des canaux pancréatiques de souris malades, tout comme dans l'intestin humain.

La découverte du gène

Alors que plusieurs équipes de biochimistes étudiaient le transport des ions chlorure, des biologistes moléculaires cherchaient le gène responsable de la mucoviscidose. En 1989, Lap-Chee Tsui, John Riordan et leurs collègues de l'Hôpital des enfants malades de Toronto, en collaboration avec Francis Collins, à l'Université du Michigan, ont isolé ce gène. Comme la protéine produite par ce gène agit directement ou indirectement sur le mouvement des ions chlorure, ils l'ont nommée CFTR, pour *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*, c'est-à-dire «régulateur de la conductance transmembranaire dans la mucoviscidose». Au cours de la recherche du gène, l'équipe décéléla une anomalie de l'ADN présente dans près de 70 pour cent des cas de mucoviscidose. Cette mutation, nommée $\Delta F508$, est une délétion de trois nucléotides (les briques constitutives de l'ADN) de ce gène ; elle provoque, dans la protéine codée par ce gène amputé, la disparition d'un acide aminé : une phénylalanine en position 508.

Comment prouver que ce gène était bien responsable de la mucoviscidose ? On aurait pu insérer un exemplaire normal du gène dans des cellules d'un

patient atteint de mucoviscidose et vérifier que, de cette façon, on corrigeait bien le transport des ions chlorure, mais les généticiens eurent des difficultés à construire ne serait-ce qu'une version simplifiée du gène. Le problème fut résolu au cours de l'été 1990, par Richard Gregory, de la Société Genzyme Corporation.

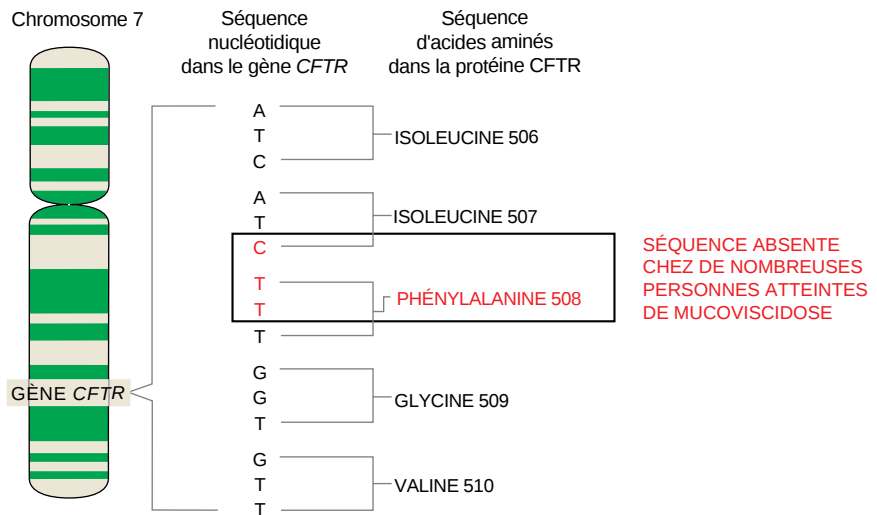
Nous avons alors introduit le gène normal dans des cellules épithéliales prélevées dans les voies respiratoires supérieures de patients atteints de mucoviscidose. Puis nous avons exposé ces cellules à de l'AMP cyclique, une molécule qui, normalement, stimule le transport des ions chlorure dans l'épithélium des voies respiratoires, mais qui est sans effet sur du tissu prélevé chez ces patients. Nous avons alors constaté que l'AMP cyclique déclenchait un flux d'ions chlorure hors des cellules traitées : le gène semblait normaliser ces cellules. Nous n'étions pas les seuls à nous réjouir : par des méthodes différentes, d'autres équipes avaient obtenu des résultats similaires sur des cellules de l'épithélium pancréatique.

Puisque l'on réussissait à normaliser des cellules en culture, pourrait-on, un jour lointain, administrer le gène *CFTR* normal aux patients et corriger ainsi l'anomalie biochimique incriminée ? Nous savions déjà que cette voie serait semée d'embûches. La suite des études l'a confirmé.

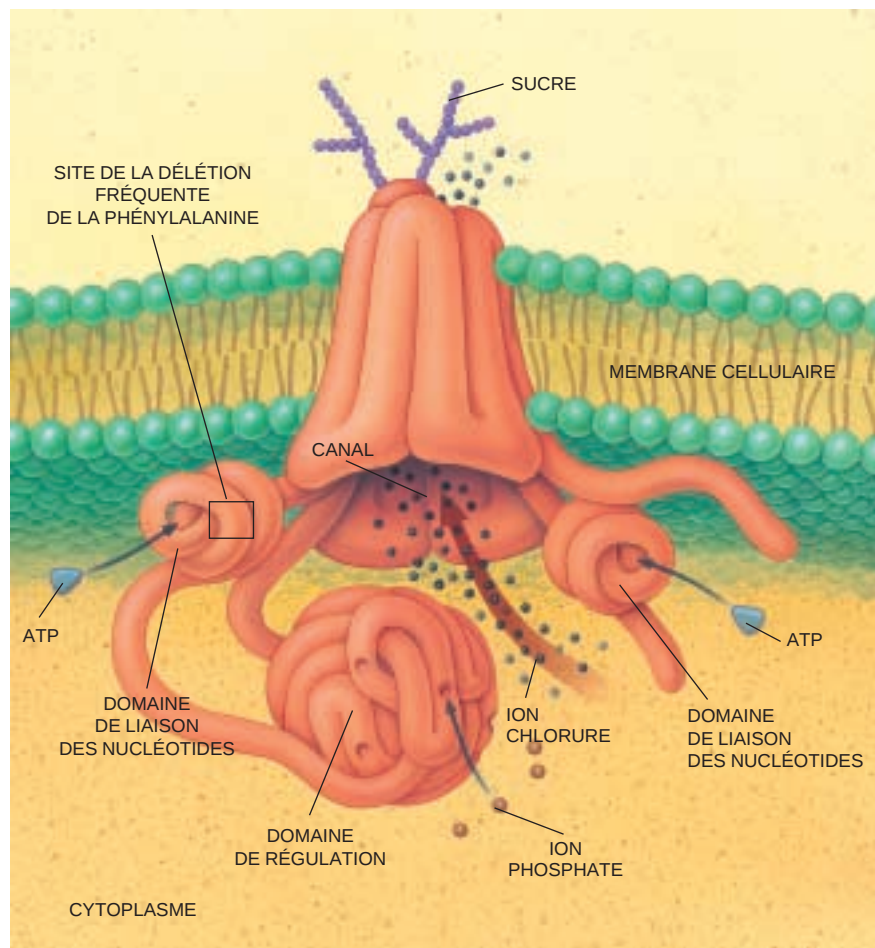
Le rôle de la protéine CFTR

À ce moment apparut un autre résultat important sur le rôle de la protéine CFTR dans le transport des ions chlorure. La séquence en acides aminés de la protéine, déduite de celle du gène, donnait quelques indices sur sa fonction. Elle ressemblait beaucoup à celle des protéines nommées transporteurs ATPases ou transporteurs ABC. Cette similitude indique que le comportement et la structure tridimensionnelle de la protéine CFTR sont semblables à ceux des protéines de cette famille.

Les bactéries pompent les substances nutritives de leur milieu à l'aide de protéines de la famille des transporteurs ATPases. La protéine de résistance multidrogue, qui rejette malheureusement les substances chimiothérapeutiques hors des cellules cancéreuses, fait également partie de cette famille. Lorsqu'elles sont repliées, ces ATPases présentent généralement quatre domaines : deux traversent la membrane



2. LE GÈNE RESPONSABLE DE LA MUCOVISCIDOSE se trouve sur le chromosome 7 (à gauche) et produit une protéine nommée CFTR. L'anomalie le plus souvent responsable de cette maladie est une délétion de trois nucléotides du gène (les lettres rouges, au centre) ; le gène qui contient cette mutation $\Delta F508$ code une protéine CFTR tronquée, à qui il manque un acide aminé, la phénylalanine en position 508 (à droite). La machinerie cellulaire qui exprime le gène voit, en position 507, la séquence ATT au lieu de la séquence ATC TTT, de sorte qu'elle fabrique une isoleucine au lieu d'une phénylalanine, normalement suivie par une glycine.



3. LA PROTÉINE CFTR NORMALE forme un canal perméable aux ions chlorure, inséré dans la membrane externe de nombreuses cellules. La structure de cette protéine n'est pas encore totalement élucidée, mais on sait que trois domaines cytoplasmiques commandent les mouvements des ions chlorure dans le canal. Le passage a seulement lieu lorsque les deux domaines de liaison des nucléotides fixent l'adénosine triphosphate (ATP) et la dégradent, et quand le domaine régulateur capte des groupes phosphate.