

Médecine expérimentale

M. Jean DAUSSET, membre de l'Institut
(Académie des Sciences), professeur

Le système HLA (Human Leukocyte, A, pour premier système) est le système humain le plus polymorphique. Il est gouverné par une série de gènes se trouvant sur le bras court du 6^e chromosome. Les produits de ces gènes se trouvent à la surface des cellules de l'organisme et constituent les meilleurs marqueurs de l'individualité. En effet, le système HLA ou complexe majeur d'histocompatibilité est composé de nombreux gènes (ou loci) eux-mêmes extrêmement polymorphes. On distingue les gènes de classe I composés au moins de trois loci distincts (HLA-A, B et C) dont les produits sont ubiquitaires, présents à la surface de la quasi totalité des membranes cellulaires. Le locus A présente 18 variétés ou allèles, le locus B se compose de 38 allèles et enfin le locus C de 8 allèles. Encore s'agit-il d'une simplification car on sait maintenant que selon les différentes ethnies d'autres variantes peuvent être décrites. De plus, à côté des déterminants sérologiquement décelés par allo-anticorps ou par anticorps monoclonaux, il existe d'autres déterminants qui ne sont mis en évidence que par des techniques d'immunologie cellulaire comme les cellules clonées cytotoxiques. C'est dire l'infinie diversité de ces molécules.

Les gènes de classe II sont aussi très complexes. On en connaît, maintenant, trois séries distinctes — la série DP avec 6 allèles n'est définie que par des réactions de proliférations cellulaires déclenchées par des cellules incompatibles préalablement sensibilisées — la série DQ dont on ne connaît à l'heure actuelle que trois allèles mais dont on soupçonne une très grande diversité non reconnue sérologiquement mais seulement biochimiquement — la série DR décrite depuis déjà 7 ans, elle-même très polymorphique, comportant au moins 10 allèles. Les produits des gènes de classe II ne se trouvent que sur des cellules différenciées, les lymphocytes et les monocytes mais également sur les cellules épithéliales et aussi sur bien d'autres cellules après activation comme les lymphocytes T.

Les molécules de classe II se composent de chaînes α et β . Chacune d'elles pouvant être polymorphique, comme par exemple la chaîne β DQ.

Aussi bien les molécules de classe I que de classe II jouent un rôle essentiel dans la défense de l'organisme car elles ont pour fonction principale, sinon unique, de « présenter » les antigènes aux lymphocytes T chargés de les reconnaître comme étrangers et ainsi de les éliminer.

Chaque individu possède sur la 6^e paire de chromosome un jeu complet de gènes de classe I et II. Ce jeu, dénommé haplotype, composé de 3 gènes de classe I et trois gènes de classe II peut coder pour une quasi infinité de combinaisons de produits du fait de la combinaison entre tous les allèles possibles de chacun des loci.

A cet extrême polymorphisme dû seulement aux allèles HLA, encore faut-il ajouter celui des gènes de classe III, c'est-à-dire des gènes qui codent pour les composants C2, BF et C4 du complément eux-mêmes présentant (surtout C4 avec ses deux loci) une très grande variabilité.

On doit, cependant, apporter un léger correctif. Les combinaisons haplotypiques ne semblent pas se faire strictement au hasard. Certaines combinaisons, dans une population donnée, se rencontreront plus fréquemment que ne le voudrait le simple hasard. Il y a donc des combinaisons dites préférentielles. On dit qu'il existe un « déséquilibre de liaison » entre certains allèles de deux loci adjacents. Parfois, ce déséquilibre s'étend à plus de deux loci, ou même à l'ensemble de l'haplotype.

L'extrême polymorphisme de l'ensemble des loci du complexe majeur d'histocompatibilité de l'homme, ainsi que ce phénomène très particulier du déséquilibre de liaison en font un outil remarquable de précision pour l'étude de la génétique des populations. Les cours et les séminaires de cette année ont donc porté sur « système HLA et anthropologie ».

Après un exposé sur les plus récentes acquisitions concernant le complexe HLA, les cours ont envisagé successivement :

— les *principes* et les *méthodes* d'étude des populations à l'aide de marqueurs polymorphes. L'établissement des fréquences antigéniques et géniques, des compositions haplotypiques ; les calculs des déséquilibres de liaisons entre deux ou plusieurs loci, les diverses méthodes pour apprécier la distance génétique entre deux populations, la construction des arbres décrivant les distances géniques, tous ces outils classiques de la génétique des populations ont été appliqués à de nombreuses populations étudiées à l'aide du système HLA ;

— les *résultats* obtenus dans les trois grands groupes ethniques : caucasoïdes, mongoloïdes et négroïdes, en s'appliquant à les comparer entre eux, puis, en s'appuyant sur des études plus ponctuelles dans chacun de ces grands groupes. C'est ainsi que des échantillon de population très divers, qu'il s'agisse de groupes assez hétérogènes (comme les mexicains ou les indous), ou de groupes relativement homogènes formant de quasi-isolats

(comme les habitants de l'île de Pâques ou des indiens Warao du Venezuela) ont été successivement passés en revue ;

— enfin, la *signification* et les enseignements de ces résultats ont été abordés. Parmi les nombreuses questions qui ont été envisagées nous citerons :

L'étude des migrations humaines entraînant tantôt une fission en deux ou plusieurs nouveaux groupes humains, tantôt la fusion de deux groupes distincts, donnant naissance à une nouvelle ethnie. C'est ainsi que l'étude attentive des haplotypes que l'on rencontre en Europe permet de reconstituer partiellement l'histoire des migrations et des mélanges de populations qui ont eu lieu au cours des quelques derniers millénaires. Il faut, en effet, parfois plusieurs millénaires pour dissocier une combinaison haplotypique qui s'est formée à la suite de la fusion d'un peuple avec un autre dont la fréquence de certains antigènes HLA différait grandement. On peut ainsi suivre la progression d'Est en Ouest dans l'Europe d'un certain haplotype A1, B8 qui trouve sa plus haute fréquence à l'extrémité Ouest, en Ecosse. Il est peut-être le témoin des invasions indo-européennes apportant les deux allèles A1 et B8, apparemment absent dans les populations envahies. Présente par hasard sur un même chromosome des envahisseurs, cette combinaison haplotypique s'est transmise inchangée jusqu'à nos jours. D'autres haplotypes sont peut-être les témoins des migrations des populations scandinaves vers l'Europe occidentale.

Ces exemples illustrent bien la puissance de cet outil pour l'étude des mouvements de populations, mais il ne faut pas en exagérer la portée car il y a, sans doute, d'autres facteurs capables d'entretenir pendant de longues années un déséquilibre de liaison.

Parmi ces causes, il faut souligner celle de la *sélection* positive qui peut favoriser une combinaison haplotypique par rapport à d'autres. Nous avons dit plus haut le rôle capital que jouent les molécules HLA dans la défense de l'organisme. Il est donc logique de penser que certaines combinaisons permettent une meilleure adaptation d'une population à un environnement particulier. La preuve formelle d'un tel mécanisme n'a pas encore été fournie mais il est extrêmement probable. Les antigènes HLA avec leur polymorphisme ne sont pas neutres. Ils sont sélectionnés en fonction de l'efficacité avec laquelle ils présentent les antigènes aux cellules chargées de la réponse immunitaire. De sa présentation dépendra la force de la réponse immunitaire. Le raisonnement peut être étendu à une combinaison antigénique : selon la présence simultanée de diverses molécules la réponse immunitaire sera plus ou moins efficace et donc permettra une meilleure survie, une reproduction plus abondante. Certaines combinaisons peuvent aussi entraîner à la fois une meilleure réponse et une certaine tendance à l'auto-immunité. Un équilibre entre ces deux effets semble s'être établi : l'effet favorable compensant, sans doute, largement l'effet défavorable.

Enfin, une troisième cause de variation peut être trouvée dans *l'effet fondateur*, c'est-à-dire l'existence parmi les fondateurs d'une population de certains antigènes, au détriment d'autres antigènes absents. Cet effet peut expliquer la pauvreté du nombre des allèles observés dans certaines populations. Lorsque l'échantillon d'une population est faible certains antigènes peuvent encore être perdus par hasard, c'est ce que l'on nomme la *dérive génétique*. L'étude des isolats peut être particulièrement intéressante : ainsi celui constitué par une tribu Touaregs, au Sahara, dans laquelle on a observé l'absence d'homozygotes HLA malgré le faible nombre de combinaisons haplotypiques dans un groupe humain très consanguin. Le phénomène a été attribué à l'existence d'un gène (ou d'une série de gènes) analogue au complexe T de la souris, dont l'action entraîne la léthalité chez les homozygotes.

Ainsi le système de groupes tissulaires HLA permet une précision qu'aucun autre système n'atteint en anthropologie. Grâce à son polymorphisme très extensif et à l'existence d'associations alléliques privilégiées il donne au généticien et à l'anthropologue un nouveau et puissant moyen d'étude des divergences entre les populations du globe, leurs migrations, fissions et fusions et permet de reconstituer, en partie, l'histoire récente de l'humanité.

J. D.

ACTIVITÉS DU LABORATOIRE

*I. - L'Unité de Recherches
sur l'Immuno-génétique de la transplantation humaine
Unité I.N.S.E.R.M. U 93 (professeur Jean DAUSSET, Directeur)
Hôpital Saint-Louis, Paris.*

Le travail de l'année a été presque exclusivement associé à la préparation de la IX^e Conférence et Atelier d'Histocompatibilité, au cours de laquelle des centaines de sérums contenant des alloanticorps ont été échangés. De plus, des anticorps monoclonaux ont également été préparés et échangés en immunologie cellulaire. De même des réactifs cellulaires contre les déterminants des antigènes d'histocompatibilité ont été préparés et testés sur le plan international. Enfin, certaines maladies associées au complexe majeur d'histocompatibilité de l'homme ont fait l'objet d'une étude collaborative. Les résultats de cette ample coopération mondiale ont été extrêmement fructueux : de nouveaux antigènes HLA ont été décrits ou officialisés et deux nouvelles séries alléliques de la région D, les séries DP et DQ ont été reconnues officiellement. Il y a donc désormais six séries alléliques dans le complexe majeur d'histocompatibilité, trois de classe I et trois de classe II.

Le pas le plus important a été, sans conteste, la compréhension de la biochimie des produits de la région D (Classe II) et de leurs fonctions. Le laboratoire a contribué pour sa part à cet effort et à ces résultats.

Par ailleurs, en dehors de l'Atelier, le complexe HLA est maintenant étudié au niveau des gènes et le laboratoire a été dans ce domaine un pionnier. En effet, c'est lui qui a apporté la première corrélation entre un fragment d'ADN mis en évidence par la méthode de Southern et un antigène HLA (HLA-B8). Cette étude a été étendue à un grand nombre d'autres fragments d'ADN obtenus avec cinq enzymes de restriction. Ceci a permis de comprendre l'organisation de la région du complexe HLA qui code pour les antigènes de classe I. Il peut exister sur un haplotype un nombre variable de gènes en tandem : peut-être un seul pour la région HLA-A9 et au moins trois dans d'autres haplotypes.

Ainsi, le polymorphisme, déjà très grand, des molécules HLA est considérablement étendu lorsque l'on s'adresse aux gènes correspondants et à leurs régions non traduites (introns) ou à une région latérale. Une corrélation entre de nombreux fragments et des allèles sérologiquement reconnus a été trouvée plus fréquemment avec les allèles du locus A, que des loci B et C.

La même étude a été faite pour les gènes de classe II, α et β DQ, α et β DR. Ici encore de nombreuses corrélations ont été trouvées entre certains fragments et les épitopes sérologiquement définis, qu'il s'agisse des antigènes DR ou des antigènes DQ. Le polymorphisme est plus grand sur les gènes β que sur les gènes α . Le gène α DR est peut-être non polymorphe.

L'importance de ce travail réside dans l'utilité de ces marqueurs, pour l'étude des gènes HLA liés ou associés à des maladies. Certains de ces fragments sont rencontrés plus fréquemment, ou, au contraire moins fréquemment chez les malades comparés aux individus normaux possédant les mêmes antigènes DR. C'est ainsi que le laboratoire a abordé dans ce sens l'étude des trois affections : la spondylarthrite ankylosante, la sclérose en plaques et le diabète insulino-dépendant. C'est dans cette dernière affection que les résultats les plus clairs ont été obtenus. Certains fragments sont absents, d'autres sont, au contraire, présents plus fréquemment que chez les contrôles. L'étude des « formules » de fragments a été particulièrement fructueuse. C'est ainsi que chez les malades portant les antigènes HLA-DR3 et DR4, une certaine formule de fragments (présence et absence) apparaît presque pathognomonique. Cette constatation devrait conduire à comprendre la génétique de cette affection si répandue et plus tard à isoler les gènes responsables, en connaître la séquence et enfin la fonction. De là à corriger le trouble il y a encore, sans doute, une longue étape mais qui, s'appuyant sur des données très précises, pourra vraisemblablement être franchie.

SÉMINAIRES

Le cours a été complété par une série de séminaires ayant pour thème la génétique des populations étudiées à l'aide du système HLA.

M. Roy WALFORD, professeur de Pathologie, University of California, Los Angeles, Calif. U.S.A., a insisté sur le super-gène HLA et la conservation des déséquilibres de liaison au cours de l'évolution.

M^{me} Aline MARCELLI-BARGE, chef de travaux d'Immunologie à la Faculté de Médecine Lariboisière-Saint-Louis a présenté une étude sur des répartitions des gènes HLA dans les diverses régions de France.

M. Jean-Marc LALOUEL, professeur d'Anthropologie Biologique, Université Paris VII, a discuté le rôle du système HLA dans la dynamique évolutive des populations humaines.

M^{me} Anja TIILKAINEN, docteur dans le Département de Microbiology Medical, University of Oulu (Finlande) s'est intéressée aux rapports entre les variations anthropologiques des antigènes HLA et certaines maladies associées à HLA, dont le diabète insulino-dépendant.

M. Licinio CONTU, professeur, Hôpital de Cagliari, Italie, a présenté une étude génétique, anthropologique et culturelle de la population sarde et en particulier les associations du sarcome de Kaposi avec le système HLA.

M. Claude MAWAS, maître de recherche, Centre d'Immunologie Marseille-Lumigny, s'est interrogé sur les relations entre le complexe majeur d'histocompatibilité et les cellules lymphoïdes T.

M. Fritz BACH, professeur de Génétique, University of Minnesota, Minneapolis, U.S.A., a montré l'intérêt de l'immunologie cellulaire dans la définition de nouveaux déterminants de la région HLA-D.

M^{me} Zulay LAYRISSE, chef de laboratoire à l'Institut V.I.C. de Caracas, a fait le point de nos connaissances sur le système HLA des indiens d'Amérique au Venezuela.

M. Bernard AMOS, professeur d'Immunologie et Microbiologie, Duke University Medical Center, Durham, U.S.A., a retracé par l'étude du système HLA des polynésiens les migrations à travers l'Océan Pacifique.

Enfin dans le cadre de la Chaire :

M. Milan HASEK, professeur à l'Université Charles de Prague, a donné une série de leçons sur le phénomène et les mécanismes de la tolérance immunitaire ;

M. Fritz H. BACH, professeur à l'Université du Minnesota, a traité des rapports entre les récepteurs des lymphocytes T et des antigènes du système HLA.

DISTINCTION

Le professeur J. DAUSSET a été reçu Professeur Honoris Causa à la Faculté de Médecine de Liège.

Il a été élevé au grade de Commandeur de la Légion d'Honneur.

STAGIAIRES ÉTRANGERS

Maria Alvarez LOPEZ, Espagne, stagiaire du gouvernement espagnol.

Zahida BUKARI, Pakistan, étudiante en D.E.A. de Génétique.

Fu Quing WANG, Chine Populaire, stagiaire du gouvernement français.

Masamichi AMANO, Japon, stagiaire du gouvernement français.

Tiziana IRTI, Italie, stagiaire de l'Association pour le développement de la Recherche sur le Cancer.

Elizabeth ROBBINS, U.S.A., stagiaire de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale.

Karim OSAMA, Egypte, stagiaire du gouvernement français.

PUBLICATIONS

C. RABIAN-HERZOG, J.J. BALLEET, J. DROUET, M. LATHROP, J.M. LALOUEL, J. DAUSSET, *Influence génétique sur les réponses immunes spécifiques de l'anatoxine tétanique chez l'homme. (C.R. Acad. Sci., Paris, 296, 541-544, 1983).*

J.J. BALLEET, C. RABIAN-HERZOG, M. LATHROP, J.F. BOURGES, M., AGRAPART, J. DROUET, J.M. LALOUEL, J. DAUSSET, *Specific immune response after booster immunization with tetanus toxoid in man : study of kinetics, family segregation and linkage to HLA of in vitro lymphocyte proliferative responses and serum-antibody responses. (Immunogenetics, 18, 343-358, 1983).*

D. KLATZMANN, A. BENSUSSAN, J.C. GLUCKMAN, C. FOUCAULT, J. DAUSSET, M. SASPORTES, *Blood transfusion suppress lymphocyte reactivity in uremic patients. II. Evidence for soluble suppressor factors. (Transplantation, 36, 3, 337-340, 1983).*

J. HORS, J. DAUSSET, *HLA and susceptibility to Hodgkin's disease. (Immunological Rev., 70, 167-192, 1983).*

H.M. CANN, L. ASCANIO, P. PAUL, A. MARCADET, J. DAUSSET, D. COHEN, *Polymorphic restriction endonuclease fragment segregate and correlate with the gene for HLA-B8 (PNAS, 80, 1665-1668, 1983).*

F.T. RAPAPORT, J. DAUSSET, *The possible role of leukocyte components in the production of the beneficial effects of blood transfusion in human transplantation (Transpl. Proceed., 15, 952-955, 1983).*

D. COHEN, P. PAUL, M.P. FONT, O. COHEN, B. SAYAGH, A. MARCADET, M. BUSSON, G. MAHOY, H.M. CANN, J. DAUSSET, *Analysis of HLA class I genes with restriction endonuclease fragments : Implications for polymorphism of the human major histocompatibility complex (P.N.A.S., 80, 6289-6292, 1983).*

L. LEGRAND, G.M. LATHROP, A. MARCELLI-BARGE, A. DRYLL, T. BARDIN, N. DEBEYRE, J.C. POIRIER, M. SCHMID, A. RYCKEWAERT, J. DAUSSET, *HLA-DR genotype risks in sero-positive rheumatoid arthritis (Am. J. Hum. Genet, 36, 1984).*

J.G. HENROTTE, J. COLOMBANI, M. PINEAU, J. DAUSSET, *Role of H-2 and non H-2 genes in the control of blood magnesium levels (Immunogenetics, 19, 435-448, 1984).*

D. COHEN, O. COHEN, C. MASSART, M. LATHROP, I. DESCAMPS, J. HORS, E. SCHULLER, J. DAUSSET, *HLA class II DC DNA restriction fragments differentiate among HLA-DR2 individuals in insulin-dependent diabetes and multiple sclerosis (P.N.A.S., 81, 1774-1778, 1984).*

D. COHEN, E. ROBBINS, J. DAUSSET, *Recombinant DNA technology : Its use in the study of HLA (Histocompatibility Testing, 1984, in press).*

MISSIONS ET CONFÉRENCES

— VII^e Congrès National d'Hématologie (Limoges), 17 juin 1983 (conférencier invité).

— Cours d'Immunologie organisé par l'I.U.I.S. (International Union of Immunology Societies) à Pékin (Chine) du 15 au 19 août 1983 (conférencier invité).

— V^e Congrès International d'Immunologie, Kyoto, 22 au 27 août 1983 (conférencier invité).

- Journées d'Hématologie, Paris, 1^{er} octobre 1983 (conférencier invité).
- XV^e Cours de Médecine et Morale sur le thème : « La transplantation du cerveau, Rome, 11 au 13 octobre 1983 (conférencier invité).
- Peter Görer Symposium, Londres, 10 novembre 1983 (conférencier invité).
- Colloque sur le Vieillessement organisé par le Mouvement Universel de la Responsabilité Scientifique, Tunis, 8 décembre 1983 (Président).
- Mission en Egypte à l'Université du Caire et à l'Université de Mansourah (4 conférences), 19 au 23 décembre 1983.
- Leçon sur « Le Polymorphisme des gènes HLA » prononcée le 1^{er} février 1984 à l'Université d'Aix-Marseille II.
- Comité scientifique du « Max-Planck Institut für Biologie », à Tübingen les 15 et 16 mars 1984.
- Présidence de la Rencontre « H-2 and HLA Cloning » qui s'est tenue à Strasbourg du 2 au 4 mai 1984.
- 9th Histocompatibility Workshop, Munich, 7 au 11 mai 1984 (Membre du Conseil).
- Conférence Internationale d'Histocompatibilité, Vienne, 13 au 16 mai 1984 (conférencier invité).
- Colloque sur le diagnostic prénatal organisé par le Centre d'Etude du Polymorphisme humain, Paris, 19 mai 1984 (Président).
- Séance commune de l'Académie des Sciences et de l'Académie des Sciences morales et politiques, organisée en collaboration avec le Mouvement de la Responsabilité scientifique les 22 et 29 mai 1984 sur « La Responsabilité scientifique ».

*II. - Laboratoire de Médecine Expérimentale, Collège de France
Unité I.N.S.E.R.M. U 112 (D^r Françoise HAGUENAU, directeur)*

Alors que le fait était démontré depuis longtemps pour les animaux, c'est depuis l'année 1980 seulement qu'il est clairement établi que des virus oncogènes à RNA (retrovirus) peuvent être responsables de certaines formes de cancer et de leucémie *chez l'Homme*.

Les recherches de notre laboratoire ont été orientées sur le problème depuis de nombreuses années ; et nous cherchons à comprendre quels sont

les mécanismes d'ordre génétique qui contrôlent la susceptibilité ou la résistance de la cellule humaine vis-à-vis de la cancérisation par un retrovirus. Il s'agit de donner toute leur signification, par rapport au problème de la transformation maligne, à des faits qui ont été mis en évidence dans notre laboratoire où le D^r RABOTTI a montré qu'un virus de *poule* : le virus du *Sarcome de Rous* (RSV) était capable non seulement de cancériser des cellules humaines, mais que ce virus aviaire pouvait se reproduire dans ces cellules et à son tour devenir infectieux pour d'autres lignées cellulaires de l'Homme. La question était alors posée : s'agit-il du virus de Rous ayant conservé son caractère « poulet », ou s'agit-il d'un virus ayant acquis des caractères différents, voire humains ? D'une façon plus générale on peut se demander quelle est la relation entre les virus animaux et les virus humains ; sont-ils entièrement ou partiellement distincts ? et quel est le potentiel des virus cancérigènes animaux vis-à-vis de l'Homme ?

Parmi les facteurs qui dans ces cellules humaines entraînent leur susceptibilité à la transformation maligne nous avons choisi, étant donné son importance et étant donné la collaboration exceptionnelle qui nous était offerte par le P^r DAUSSET, d'étudier la relation transformation maligne induite par les retrovirus et complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).

Cet aspect sous-tend tout notre programme qui comporte :

I. - Des études sur la cellule humaine normale et transformée par le virus du Sarcome de Rous (RSV), celles-ci sont réalisées sur des fibroblastes typés pour le système d'histocompatibilité humain (HLA).

II. - Des études parallèles et comparatives sur des cellules de poulet normales et transformées par ce même virus (provenant de lignées de poules congéniques pour le CMH du poulet (H-B), le RSV étant le modèle de référence dans le domaine : c'est le premier virus oncogène découvert, c'est le plus étudié et celui qui a donné lieu à toutes les découvertes de base (reverse transcriptase, gène transformant, etc.).

III. - Etude de la possibilité d'une relation entre CMH et protéines induites par le RSV.

I. - Les travaux correspondant à l'étude de *l'oncogénicité des retrovirus sarcomatogènes aviaires pour des fibroblastes humains* concernent la susceptibilité au RSV qui a pu être étudiée sur un nombre exceptionnel de cultures de fibroblastes diploïdes provenant de 130 donneurs différents et sur des cultures provenant de 6 sarcomes humains.

Ces travaux ont permis de montrer la rareté de l'événement transformant. N'ont été susceptibles à l'infection par le RSV, que deux lignées fibroblastiques diploïdes humaines normales (sur les 130 testées) et qu'une lignée de cellules sarcomateuses (sur les 6).

De même il a été montré que toutes les souches du même virus n'ont pas le même potentiel infectant. Sur 4 sous-groupes testés, l'un d'eux seulement (Sr-RSV-B) s'est révélé cancérigène. Fait remarquable qui a été mis en évidence pour la première fois, c'est que ce virus aviaire pouvait se multiplier dans les cellules humaines qui deviennent *productrices*. Des tests sont en cours pour étudier la susceptibilité des lignées fibroblastiques humaines vis-à-vis de ce nouveau virus (H-RSV).

Les *caractéristiques de ce nouveau virus* (H-RSV) ont été systématiquement étudiées et montrent des différences nettes avec le virus d'origine : l'ultra-structure qui rapproche ce virus d'un virus de mammifères, la densité spécifique qui est plus élevée, le comportement de la reverse transcriptase qui exige l'intervention d'ions Mn^{++} plutôt que d'ions Mg^{++} , la présence (jusqu'à maintenant) d'un antigène spécifique de groupe seulement, d'ailleurs commun avec l'un des quatre qui peuvent être détectés chez le poulet.

II. - En parallèle avec ces études sur les cellules humaines, des expériences ont été menées sur *fibroblastes de poulets* qui comme nous avons dit représentent le modèle de référence.

Le D^r GOGUSEV est le principal responsable de ce secteur et a joué un rôle important pour réunir les éléments qui ont permis de développer un élevage d'animaux consanguins et congéniques ce qui n'existait absolument pas en France dans le domaine aviaire. Cette étape était en effet tout à fait indispensable pour entreprendre un travail sur l'implication du complexe majeur d'histocompatibilité dans la cancérisation par un virus oncogène chez son hôte naturel. Ainsi ont été installées des lignées consanguines d'haplotypes différents pour le CMH de la poule (H-B) au Collège de France, au Magnéraud et à Jouy-en-Josas (I.N.R.A., D^r PERRAMON). Les conditions requises pour l'étude du CMH chez le poulet étant réalisées, il fallait encore, pour un programme concernant un virus comme le RSV dont la cellule cible est le *fibroblaste*, s'assurer que les antigènes du CMH s'expriment bien à la surface de cette variété cellulaire (la plupart, si ce n'est tous les travaux concernent le lymphocyte). Le D^r GOGUSEV s'est employé à faire cette démonstration d'abord par des méthodes biochimiques (SDS-PAGE).

Il a ainsi pu montrer à l'aide d'anticorps spécifiques contre les antigènes codés par les trois régions du CMH (H-B), B-F, B-G, et B-L, que ces antigènes s'expriment à la surface des fibroblastes d'embryon de poulets normaux.

Trois molécules différentes ont été détectées ayant respectivement un poids moléculaire de 43 000 daltons (chaîne lourde des antigènes de classe I), 31 000 daltons et 12 000 (β_2m). Actuellement sont analysées les bandes de poids moléculaire 31 000 daltons qui correspondraient aux antigènes de classe II. Ceci demande à être confirmé.

III. - Etude de la possibilité d'une relation entre CMH et protéines induites par le RSV :

Si l'on considère le problème d'une relation possible entre susceptibilité de cellules aviaires ou humaines aux virus oncogènes et CMH, on peut dire, à la suite de nos expériences, qu'un tel lien n'a pas pu être établi pour l'instant.

Par contre nous avons pu mettre en évidence des éléments qui sont en faveur d'une relation entre le produit du gène Sarc (*) viral et les antigènes codés pour le CMH tant dans les fibroblastes de poulets que dans des fibroblastes humains. Pour établir cette relation notre premier objectif a été de montrer, pour des fibroblastes humains :

1) que des antigènes du CMH s'expriment effectivement à la surface des fibroblastes ce qui a été réalisé par immunoprécipitation et électrophorèse sur gel de polyacrylamide en utilisant des anticorps monoclonaux contre les antigènes HLA (classe I et II) ainsi qu'avec des anticorps monoclonaux contre la β 2-microglobuline (Immunotech). Ainsi ont pu être détectés des antigènes de classe I ainsi que la β 2 microglobuline à la surface des fibroblastes normaux et transformés par le RSV (souche Schmidt-Ruppini et souche RSV-Prague).

Les premiers résultats suggèrent qu'au cours de la transformation de fibroblastes humains il n'y a ni perte des antigènes HLA de classe I, ni perte de la β 2-microglobuline.

2) Le deuxième point était d'établir que le gène Sarc s'exprimait effectivement dans la cellule transformée et nous avons pu montrer qu'il y avait bien une activité tyrosine-phosphokinase dans les cellules humaines transformées par le RSV, que celui-ci soit d'origine aviaire ou produit par la cellule humaine (RABOTTI et SEMMEL pers. comm.).

Sur le plan morphologique également, tant en microscopie conventionnelle par immunofluorescence que par immunocytochimie ultrastructurale, la présence des antigènes d'histocompatibilité et la présence de la protéine du gène Sarc a pu être détectée. Le D^r SUSKIND a mis au point à l'aide d'anticorps spécifiques anti-Sarc d'une part, et d'anticorps monoclonaux anti-HLA d'autre part, les techniques qui lui ont permis de visualiser immédiatement au-dessous de la membrane plasmique dans des fibroblastes humains transformés par le RSV, des antigènes HLA d'une part, la protéine p60 d'autre part.

Ces conditions expérimentales étant réalisées, le problème de l'association physique possible entre antigènes HLA et protéine transformante induite par le gène Sarc a pu être abordé. Le D^r GOGUSEV utilisant les méthodes SDS-

(*) On sait que l'abréviation Sarc (pour sarcome) désigne la portion du génome viral (Sarc v) qui, dans une cellule infectée par le RSV, code pour l'expression d'une protéine de poids moléculaire 60 000 daltons (p 60) qui est une enzyme tyrosine-phosphorylante à action transformante c'est-à-dire capable de cancériser la cellule.

PAGE et des anticorps anti-HLA monoclonaux a montré, pour des cellules humaines transformées par le RSV, qu'il y avait co-précipitation de la protéine p60 et inversement, en utilisant des anticorps monoclonaux anti p60, qu'il y avait coprécipitation de la protéine 44 000 du HLA ce qui suggère une association des deux molécules. Le même sujet (SUSKIND, HAGUENAU et MONGIAT) est abordé à l'heure actuelle par Immunocytochimie au microscope électronique. D'autre part, utilisant des anticorps monoclonaux et polyclonaux anti-peptide V-Sarc, le D^r SUSKIND a montré qu'il existait une réaction croisée (ELISA test) avec la β 2-microglobuline humaine purifiée et en même temps que les anticorps monoclonaux anti β 2-microglobuline ont une réaction croisée avec l'Hexapeptide de la protéine p60 V-Sarc.

Des expériences sont menées également pour tenter de démontrer une association produits du CMH/produits du gène Sarc dans le système poulet où le D^r GOGUSEV a obtenu une indication d'association possible en constatant que les antigènes anti-H-B classe I précipitaient une molécule protéique de poids moléculaire 60 000 daltons à partir de lysats cellulaires de fibroblastes transformés par le RSV-Schmidt-Ruppin. Cette molécule migre parallèlement à la protéine p60 immuno-précipitée avec un anticorps monoclonal anti-p60.

Du point de vue morphologique la localisation des antigènes H-B en immunofluorescence système Biotine-Avidine adapté à notre système par le D^r GILMOUR et par immunocytochimie ultrastructurale est effectuée en utilisant des anticorps marqués à la ferritine et à la peroxydase.

Dans l'ensemble les résultats de tout un faisceau d'observations semblent concourir et l'on peut espérer que dès l'an prochain nous aurons d'abord confirmation d'une relation CMH/protéine transformante et que nous aurons réussi à caractériser le H-RSV produit par les cellules humaines de manière à pouvoir entreprendre l'analyse des séquences qui le constituent.

PUBLICATIONS DU LABORATOIRE DE MÉDECINE EXPÉRIMENTALE
DU COLLÈGE DE FRANCE

G.F. RABOTTI, B. TEUTSCH, J. AUGER, F. MONGIAT et M. MARILLER, *Avian Sarcoma Virus (ASV) and Koch's postulates in human viral oncology*. In *The Role of Viruses in Human Cancer II*, G. GIRALDO and E. BETH (Ed. Elsevier Sc. Publishers, Amsterdam, N.Y., Oxford, 293-309, 1984).

G.F. RABOTTI, M. MARILLER, B. TEUTSCH, F. MONGIAT, *Transformation of human fibroblasts by RSV and production of virus by these transformed cells* (Présentation à l'International Symposium on Oncovirology, Bratislava, 23-27 mai 1983).

D. DROZ, P. LANDAIS, J. GOGUSEV, G. ALBOUZE, J.P. GRUNFELD, *Le cholangiocarcinome (CK) complication possible de la polycystose hepatorenale (PKRH) de l'adulte (Bull. du Cancer, 70, 205, 1983).* (Abstract Forum de Cancérologie).

J. GOGUSEV, *Role of the cellular oncogenes in malignant neoplasia (Note) (J. of Maced. Med. Association, XXXVII, n° 4-5, 148-152, 1984).*

L. STANISLAWSKI, *Localization with the electron microscope of p27 Rous Sarcoma virus internal protein in chicken embryo fibroblasts. A time study at different stages after infection (Intervirology, 20, 8-18, 1983).*

L. STANISLAWSKI, F. MONGIAT et V. MOURA-NETO, *Actin in avian myeloblastosis virus. Présentation au Congrès de Biologie cellulaire, Paris, 1983 (Biology of the Cell, 49, n° 1, 1983).*

L. STANISLAWSKI, F. MONGIAT et V. MOURA-NETO, *Presence of Actin in Oncornaviruses (Biochem. and Biophys. Res. Com. 118 n° 2, 580-586, 1984).*

E. SCHULLER et A. GOVAERTS, *First results of Immunotherapy with immunoglobulin in multiple sclerosis patients (Eur. Neurol., 22, 205-212, 1983).*

A. GOVAERTS, *Immunogénétique de la sclérose en plaque. Communication à la Journée « Incitation à la Neuropathologie/Dynamique du Neurone » (Salpêtrière, Paris le 24 juin 1984).*

CHERCHEURS ET PROFESSEURS ÉTRANGERS

Professeur Douglas GILMOUR, New York University Medical Center (U.S.A.).

Professeur André GOVAERTS du Centre de Transfusion Sanguine de Bruxelles (Belgique), professeur à la Fondation de France.

Professeur Gerald SUSKIND du National Cancer Institute de Bethesda (U.S.A.).

MISSIONS ET CONFÉRENCES

M^{me} F. MONGIAT a suivi, du 5 au 25 juin 1983, à l'Institut Pasteur, une formation sur les techniques d'Immunofluorescence et les réactions enzymatiques.

Le professeur A. GOVAERTS a prononcé le 24 juin 1983 une conférence « Immunogénétique et sclérose en plaques » lors d'une Table Ronde organisée avec le ministère de la Recherche à l'Hôpital de la Salpêtrière.

Le docteur RABOTTI a fait une communication au Second International Congress on the Role of Viruses in Human Cancer qui s'est tenu à Naples du 19 au 24 septembre 1983.

M^{me} STANISLAWSKI a présenté, du 20 au 23 septembre 1983, un panneau au 7^e Colloque annuel du Cercle Français de Biologie cellulaire.

M^{lle} HAGUENAU s'est rendue à Seillac pour le Colloque « Virus et cancer humain » du 3 au 6 octobre 1983.

Le docteur RABOTTI a fait une conférence le 3 février 1984 sur « Transformation maligne des cellules humaines par le RSV avec production virale » à l'Unité de recherches de l'I.N.S.E.R.M. sur la Virologie des leucémies.

M. DECASTER s'est rendu à Montpellier du 20 au 25 mai 1984 pour assister au 24^e Colloque de la Société française de Microscopie électronique.

M. MASQUELIER a participé à la VII^e Rencontre de la Société française d'Iconographie médicale et scientifique qui s'est tenue à Ramatuelle du 23 au 26 mai 1984.