

## Maladies neurodégénératives par expansion de polyglutamines : le sixième gène cloné (SCA2)

Des mutations par expansion de répétitions trinuécléotides CAG codant pour des segments de polyglutamine ont été retrouvées, depuis 1991, dans cinq maladies neurodégénératives, dont la maladie de Huntington (HD) [1, 2]\*. Les allèles normaux très polymorphes correspondent à des segments de 10 à 30-40 glutamines (Gln). Le seuil pathologique est de 36 à 40 Gln pour les gènes HD, SBMA et SCA1, de 49 Gln pour DRPLA et de 61 Gln pour SCA3. Ces maladies présentent une corrélation inverse entre l'âge de début des manifestations cliniques et le nombre de répétitions dans l'allèle pathologique. Elles partagent une tendance plus ou moins marquée à l'anticipation au cours des générations successives, liée à la tendance à l'allongement des allèles pathologiques, notamment par transmission paternelle. D'autres maladies neurologiques ou neuropsychiatriques semblant présenter un tel phénomène d'anticipation, étaient candidates pour un mécanisme similaire de mutation. Cela a entraîné une activité intense de recherche et caractérisation de gènes contenant des répétitions CAG [2-4].

\* Les autres maladies à expansion de polyglutamine (entre parenthèses, nom de la protéine correspondante et seuil pathologique). HD : maladie de Huntington (huntingtine, 36 Gln); SBMA : amyotrophie spinobulbaire ou maladie de Kennedy (récepteur nucléaire des androgènes, 40 Gln); SCA1 : ataxie spinocérébelleuse liée au chromosome 6 (ataxine 1, 40 Gln); SCA3/MJD : maladie de Machado-Joseph ou ataxie spinocérébelleuse liée au chromosome 14 (ataxine 3, 61 Gln); DRPLA : atrophie dentatorubro-pallidolysienne (atrophine, 49 Gln); SCA7 : ataxie spinocérébelleuse dominante de type II, avec dégénérescence maculaire (chromosome 3, non cloné).

L'an dernier, nous avons montré qu'un anticorps monoclonal dirigé contre le facteur de transcription TBP humain (*TATA binding protein*, dont la forme allélique la plus fréquente chez l'homme contient un segment de 38 glutamines), est capable de reconnaître spécifiquement, sur *Western blot*, les protéines mutées dans la maladie de Huntington et les ataxies spinocérébelleuses de type 1 et 3 [5]. L'analyse de familles avec d'autres formes d'ataxies cérébelleuses autosomiques dominantes (ADCA) montrait que des protéines anormales étaient également détectées par cet anticorps dans les lymphoblastes de patients avec la forme SCA2 liée au chromosome 12 (une protéine cytoplasmique d'environ 150 kDa) ou avec une forme associée à une dégénérescence rétinienne (ADCA type II, locus SCA7 lié au chromosome 3, une protéine nucléaire de 130 kDa environ). Cela établissait l'implication d'expansions de polyglutamines dans ces deux maladies, dont les gènes avaient été localisés, mais non identifiés. Afin de cloner ces gènes, nous avons construit deux banques d'ADNc à partir de lignées lymphoblastoïdes de patients SCA2 et SCA7, en utilisant un vecteur d'expression (bactériophage  $\lambda$  screen). Ces banques ont été criblées par l'anticorps 1C2. Des clones nettement positifs ont été détectés et purifiés. De manière surprenante, ces clones codaient pour des segments contenant de 11 à 26 Gln, *a priori* non pathologiques. Toutefois, cinq de ces clones correspondaient à de nouveaux gènes à répétition CAG codante. La mesure par RT-PCR de la longueur de ces répétitions chez des patients SCA2 et

SCA7 a montré qu'un des clones d'ADNc correspondait à l'allèle normal au locus SCA2 [6]. Une équipe japonaise et une équipe américaine ont également cloné ce gène, en utilisant des approches différentes [7, 8].

Le gène SCA2, d'expression ubiquitaire, code pour une protéine de fonction inconnue, ne montrant pas d'analogie avec les protéines impliquées dans les autres maladies à expansion de polyglutamine. La répétition est beaucoup moins polymorphe, dans la population normale, que pour les autres locus (un allèle à 22 Gln est très largement majoritaire). Cela est très probablement lié au fait que la répétition CAG est impure dans les allèles normaux, interrompue par un ou deux codons CAA (codant également pour la glutamine). Or, on sait que les répétitions impures de di- ou trinuécléotides sont plus stables (moins polymorphes) que les répétitions pures [9, 10]. En revanche, les allèles pathologiques étudiés jusqu'à présent correspondent à des répétitions CAG non interrompues. On retrouve donc un cas similaire à celui du locus SCA1, dans lequel les allèles normaux sont interrompus par au moins un codon CAT [11].

Une propriété intéressante du gène SCA2 est sa très grande sensibilité au nombre de glutamines. Le seuil pathologique est de 35 Gln, plus petit d'une unité que le seuil pathologique dans la maladie de Huntington. Mais, surtout, la pente de la corrélation entre âge de début et taille des allèles pathologiques est très forte, et les formes juvéniles (avant 20 ans) sont retrouvées à partir d'un

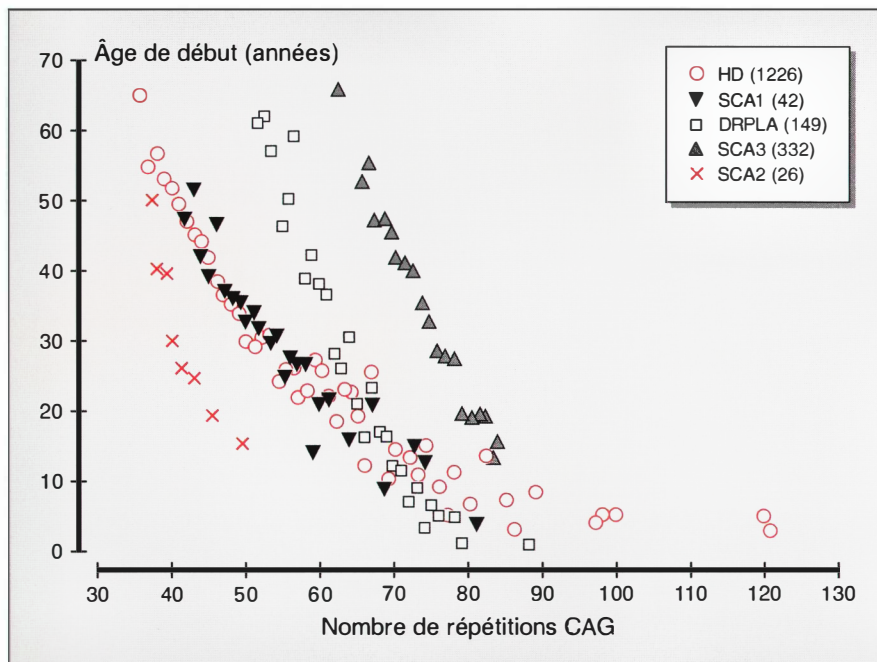


Figure 1. **Corrélations entre âge de début et longueur de la répétition polyglutamine, pour cinq maladies neurodégénératives.** Chaque point représente l'âge moyen de début, en fonction du nombre de CAG/glutamines. Le nombre de patients est indiqué entre parenthèses, pour chaque maladie. Figure modifiée d'après Gusella et al. [17]. Les données concernant SCA2 sont tirées de Imbert et al. [6].

seuil d'environ 45 Gln, alors que ce dernier n'est que de 60 environ pour la maladie de Huntington ou pour SCA1 (figure 1). Il sera très intéressant de savoir si cette sensibilité particulière à la longueur des polyglutamines est un effet intrinsèque dépendant de la structure de l'ataxine-2, ou reflète une sensibilité particulière de populations neuronales préférentiellement atteintes dans cette forme d'ataxie cérébelleuse. L'influence de la nature du contexte protéique sur la toxicité des polyglutamines est suggérée par des expériences récentes concernant les formes mutées d'ataxine-3. En effet, Ikeda *et al.* [12] ont montré qu'une ataxine-3 comportant 79 Gln, dont le gène est exprimé dans des souris transgéniques sous le contrôle d'un promoteur fort spécifique des cellules de Purkinje, n'engendre pas d'effet pathologique détectable, alors qu'une dégénérescence importante est observée pour des formes tronquées d'ataxine-3, ou pour la forme complète d'ataxine-1, avec une lon-

gueur de l'expansion de polyglutamine équivalente [12, 13]. Or, c'est l'ataxine-3 qui montre le seuil pathologique de loin le plus élevé, parmi les six maladies à expansion de polyglutamine. S'il est clair que l'expansion de polyglutamine sous-tend le gain de « fonction » responsable de la dégénérescence neuronale, l'expression ubiquitaire des gènes impliqués dans ces maladies ne permet pas d'expliquer l'atteinte sélective du système nerveux propre à chacune d'elles.

Le locus SCA2 montre également une plus grande instabilité des mutations que dans les autres expansions de polyglutamine, pour des répétitions de longueur comparables. L'instabilité est forte (avec une tendance à l'expansion), pour les transmissions paternelles et maternelles. Or les observations sur HD, SBMA, SCA1 et DRPLA montraient une instabilité forte surtout pour les transmissions paternelles (l'instabilité et l'effet du sexe du parent transmetteur paraissant moins marqués

pour SCA3). Cela indique que l'instabilité préférentielle dans la lignée germinale masculine n'est pas une propriété intrinsèque des répétitions CAG chez l'homme, mais dépend probablement du contexte chromosomique (peut-être de la position par rapport aux origines de réplication les plus proches [14]).

Le clonage du locus SCA2 permettra d'effectuer le diagnostic de cette forme, avec les mêmes problèmes concernant les applications au diagnostic présymptomatique que pour la maladie de Huntington [15]. Une étude récente (utilisant l'anticorps 1C2) de familles françaises avec ataxie spinocérébelleuse dominante (ADCA de type I), a retrouvé le locus SCA2 impliqué dans 24 % des familles, contre 28 % pour le locus SCA3/MJD, et 13 % pour le locus SCA1 [16]. Il faudra tenir compte, pour le conseil génétique des familles avec mutation au locus SCA2, de la fréquence des formes juvéniles et de l'effet d'anticipation particulièrement important et non limité aux transmissions paternelles (environ 15 ans d'anticipation par génération) [16].

**Georges Imbert  
Frédéric Saudou  
Gael Yvert  
Jean-Louis Mandel**

IGBMC, BP 163, 1, rue Laurent-Fries,  
67404 Illkirch Cedex, France.

**Géraldine Cancel  
Alexis Brice**

Inserm U. 289, CHU Pitié-Salpêtrière, 47,  
boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris  
Cedex, France.

1. Paulson HL, Fischbeck KH. Trinucleotide repeats in neurogenetic disorders. *Annu Rev Neurosci* 1996; 19: 79-107.

2. Néri C, Cann HM, Dausset J. Triplets répétés, maladies neurodégénératives et psychiatriques: mécanismes et gènes candidats. *médecine/sciences* 1996; 12: 1361-9.

3. Gastier JM, Brody T, Pulido JC, Businga T, Sundén S, Hu X, Maitra S, Buetow KH, Murray JC, Sheffield VC, Boguski M, Duyk GM, Hudson TJ. Development of a screening set for new (CAG/CTG)n dynamic mutations. *Genomics* 1996; 32: 75-85.



4. Neri C, Albanese V, Lebre AS, Holbert S, Saada C, Bougueleret L, Meier-Ewert S, LeGall I, Millasseau P, Bui H, Giudicelli C, Massart C, Guillou S. Survey of CAG/CTG repeats in human cDNAs representing new genes: candidates for inherited neurological disorders. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 1001-9.

5. Trottier Y, Lutz Y, Stevanin G, Imbert G, Devys D, Cancel G, Saudou F, Weber C, David G, Tora L, Agid Y, Brice A, Mandel J-L. Polyglutamine expansion as a pathological epitope in Huntington's disease and four dominant cerebellar ataxias. *Nature* 1995; 378: 403-6.

6. Imbert G, Saudou F, Yvert G, Devys D, Trottier Y, Garnier JM, Weber C, Mandel J-L (group 1). Cancel G, Abbas N, Dürr A, Didierjean O, Stevanin G, Agid Y, Brice A (group 2). Cloning of the gene for spinocerebellar ataxia 2 reveals a locus with high sensitivity to expanded CAG/glutamine repeats. *Nature Genet* 1996; 13: 285-91.

7. Sanpei K, Takano H, Igarashi S, Sato T, Oyake M, Sasaki H, Wakisaka A, Tashiro K, Ishida Y, Ikeuchi T, Koide R, Saito M, Sato A, Tanaka T, Hanyu S, Takiyama Y, Nishizawa M, Shimizu N, Nomura Y, Segawa M, Iwabuchi K, Eguchi I, Tanaka H, Takahashi H, Tsuji S. Identification

of the spinocerebellar ataxia type 2 gene using a direct identification of repeat expansion and cloning technique, DIRECT. *Nature Genet* 1996; 13: 277-84.

8. Pulst SM, Nechiporuk A, Nechiporuk T, Gispert S, Chen XN, Lopes-Cendes I, Pearlman S, Starkman S, Orozco-Diaz G, Lunke A, DeJong P, Rouleau GA, Auburger G, Korenberg JR, Figueroa C, Sahba S. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nature Genet* 1996; 13: 269-76.

9. Weber JL. Informativeness of human (dC-dA)<sub>n</sub>(dG-dT)<sub>n</sub> polymorphisms. *Genomics* 1990; 7: 524-30.

10. Eichler EE, Holden JJ, Popovich BW, Reiss AL, Snow K, Thibodeau SN, Richards CS, Ward PA, Nelson DL. Length of uninterrupted CGG repeats determines instability in the FMR1 gene. *Nature Genet* 1994; 8: 88-94.

11. Chung MY, Ranum LP, Duvick LA, Servadio A, Zoghbi HY, Orr HT. Evidence for a mechanism predisposing to intergenerational CAG repeat instability in spinocerebellar ataxia type 1. *Nature Genet* 1993; 5: 254-8.

12. Ikeda H, Yamaguchi M, Sugai S, Aze Y, Narumiya S, Kakizuka A. Expanded polyglutamine in the Machado-Joseph disease protein induces cell death

*in vitro* and *in vivo*. *Nature Genet* 1996; 13: 196-202.

13. Burright EN, Clark HB, Servadio A, Matilla T, Feddersen RM, Yunis WS, Duvick LA, Zoghbi HY, Orr HT. SCA1 transgenic mice: a model for neurodegeneration caused by an expanded CAG trinucleotide repeat. *Cell* 1995; 82: 937-48.

14. Kang S, Jaworski A, Ohshima K, Wells R. Expansion and deletion of CTG repeats from human disease genes are determined by the direction of replication in *E. Coli*. *Nature Genet* 1995; 10: 213-8.

15. International Huntington Association (IHA) and the World Federation of Neurology (WFN). Research Group on Huntington's Chorea. Guidelines for the molecular genetics predictive test in Huntington's disease. *Neurology* 1994; 44: 1533-6.

16. Stevanin G, Trottier Y, Cancel G, Dürr A, David G, Didierjean O, Bürk K, Imbert G, Saudou F, Abada M, Gourfinkel-An I, Benomar A, Abbas N, Klockgether T, Grid D, Agid Y, Mandel JL, Brice A. Screening for proteins with polyglutamine expansions in autosomal dominant cerebellar ataxias. *Hum Mol Genet* 1996 (sous presse).

17. Gusella JF, McNeil S, Persichetti F, Srinidhi J, Novelletto A, Bird E, Faber P, Vonsattel JP, Myers RHM MacDonald ME. Huntington's disease. In: *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 1996 (sous presse).

## FLASH

### Les formes 1 et 3 du diabète de la maturité MODY sont liées à des déficits hétérozygotes en facteurs de transcription HNF4 et HNF1

Le MODY (maturity-onset diabetes of the young) est une forme de diabète monogénique autosomique dominant lié à trois locus sur les chromosomes 7 (MODY2), 12 (MODY3) et 20 (MODY1). Le MODY2 est dû à des mutations du gène de la glucokinase, l'élément déterminant du système sensible au glucose des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans (m/s n° 3, vol. 8, p. 297) [1]. Une grande équipe internationale de 29 chercheurs américains, anglais, français (équipe de Philippe Froguel, Institut Pasteur de Lille) et japonais a décrit, dans le *Nature* du 5 décembre 1996, que le MODY3 est lié à des mutations du gène HNF1 $\alpha$  [2]. Ce gène code pour un facteur de transcription synthétisé dans le pancréas, le foie, le rein et l'intestin. Le déficit homozygote en HNF1 $\alpha$  obtenu par recombinaison homologique chez la souris entraîne une phénylcétonurie et un syndrome de De Toni-Debré-Fanconi, avec glycosurie massive (m/s n° 3, vol. 12, p. 405) [3]. Aucun trouble n'avait été observé chez les hétérozygotes, mais leur glyco-

régulation doit certainement être réétudiée de plus près à la lumière de ces derniers résultats. Un total de sept mutations a été rapporté [2], et neuf autres auraient été trouvées (Philippe Froguel, communication personnelle). Elles aboutissent toutes à la synthèse de protéines anormales, incapables de se lier à l'ADN ou d'activer la transcription. L'hypothèse la plus vraisemblable est que le déficit partiel en activité HNF1 $\alpha$  dans le pancréas perturbe la réponse des cellules  $\beta$  au glucose et l'insulino-sécrétion. Cependant, les gènes cibles de ce facteur dans le pancréas endocrine sont mal connus; il a été rapporté que HNF1 $\alpha$  pouvait se fixer au promoteur du gène de l'insuline, mais l'importance fonctionnelle de cette fixation reste incertaine.

Dans le même numéro de *Nature*, les chercheurs américains auteurs du premier travail suggèrent que le MODY1 est lié à des mutations du gène HNF4 qui code, lui aussi, pour un facteur de transcription abondant dans le foie, l'intestin et le rein [4]. HNF4 est aussi synthétisé, quoiqu'à un très faible niveau, dans le pancréas endocrine. D'une certaine manière, la découverte d'une mutation non-sens du gène HNF4 dans une famille de MODY est de nature à renforcer l'hypothèse selon laquelle HNF1 $\alpha$  est impliqué dans la régulation glycémique, puisque

la transcription du gène HNF1 $\alpha$  est contrôlée par HNF4. Cependant, les auteurs n'ont pour l'instant identifié la mutation HNF4 que dans une seule famille, et sa pénétrance ne semble pas complète, si bien que le résultat devra être confirmé.

Quoiqu'il en soit, ces nouvelles données complètent l'image d'un type de diabète monogénique, le MODY, en rapport avec des mutations affectant des gènes exprimés dans les cellules sécrétrices d'insuline codant, soit pour une enzyme, soit pour des facteurs de transcription qui peuvent perturber, à plusieurs niveaux, le fonctionnement de ces cellules et la réponse au glucose, dans leur métabolisme et (ou) leur capacité de synthèse de l'insuline.

Axel Kahn

1. Froguel P, Vaxillaire M, Sun F, Velho G, Zouali H, Butler MO, Lesage S, Vionnet N, Clement K, Fougereuse F, et al. Close linkage of glucokinase locus on chromosome 7p to early-onset non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature* 1992; 356: 162-4.

2. Yamagata K, Oda N, Kaisaki PJ, Menzel S, Furuta H, Vaxillaire M, Southam L, Cox RD, Lathrop M, Boriraj VV et al. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1  $\alpha$  gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY3). *Nature* 1996; 384: (sous presse).

3. Pontingio M, Barra J, Hadchouel M, Doyen A, Kress C, Bach JP, Babinet C, Yaniv M. Hepatocyte nuclear factor 1 inactivation results in hepatic dysfunction, phenylketonuria, and renal Fanconi syndrome. *Cell* 1996; 84: 575-85.

4. Yamagata K, Furuta H, Oda N, Kaisaki PJ, Menzel S, Cox NJ, Fajans SS, Signorini S, Stoffel M, Bell GI. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-4  $\alpha$  gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY1). *Nature* 1996; 384: (sous presse).