

## **GLI 3 : trois phénotypes pour un gène**

Les « Hedgehogopathies » [1] réunissent aujourd'hui un ensemble de syndromes malformatifs héréditaires se caractérisant par une altération de la voie de transmission du signal relayée par Hedgehog chez les vertébrés. De nombreux acteurs de cette voie de transmission ont été identifiés par des études génétiques chez la drosophile (voir l'article de P. Théron *et al.*, p. 603 de ce numéro) ; leurs analogues chez l'homme sont autant de gènes candidats impliqués dans des syndromes malformatifs (*m/s* n° 5, vol. 13, p. 725 ; n° 5, vol. 14, p. 664) (figure 1) [1].

Chez l'homme, *SONIC HEDGEHOG* (*SHH*) est muté dans l'holoprosencéphalie [1], *PATCHED* dans le syndrome de Gorlin (*m/s* n° 8-9, vol. 13, p. 1078) [2], et *GLI-3*, analogue du gène *Cubitus interruptus* (*Ci*) de drosophile est à l'origine du syndrome de Greig [3]. Son co-activateur, le facteur de transcription CBP est muté dans le syndrome de Rubinstein-Taybi (*m/s* n° 6-7, vol. 13, p. 916) [4]. Aujourd'hui *GLI-3* est impliqué dans deux autres syndromes malformatifs supplémentaires, élargissant ainsi le cadre des maladies du signal Hedgehog.

### **GLI-3 et les syndromes malformatifs**

- *Syndrome de Greig (ou céphalopolysyndactylie, GCPS; MIM 175700)*

Il s'agit d'une maladie héréditaire autosomique dominante affectant le développement craniofacial et celui des membres, décrite pour la première fois en 1928 [3, 5]. Ce syndrome se caractérise par une polydactylie généralement postaxiale au niveau des mains, une polysyndactylie plutôt préaxiale au niveau des pieds, associées à une macrocéphalie et à un

hypertélorisme (figure 2). Le syndrome de Greig se rapproche parfois d'un autre syndrome héréditaire, le syndrome acrocallosal (MIM 200990) qui comporte un retard mental et une agénésie du corps calleux. L'étude de translocation équilibrée ou de délétions dans différentes familles a permis de localiser cette maladie sur le chromosome 7p13. En 1991, Vortkamp *et al.* mirent en évidence chez 2 patients une translocation dont le point de cassure interrompait le gène *GLI-3* dans le premier tiers de sa partie codante [6].

- *Syndrome de Pallister-Hall (PHS, MIM 146510)*

Décrit pour la première fois en 1980, ce syndrome malformatif se caractérise par sa pléiotropie. Il associe principalement une polydactylie centrale ou post-axiale, des syndactylies, et un hamartome hypothalamique, avec un risque d'hypopituitarisme. Des malformations viscérales sont fréquentes : anus imperforé, malformation cardiaque, dysplasie pulmonaire ou rénale... [7]. Le tableau clinique peut se rapprocher du syndrome de Smith-Lemli-Opitz mais aucune perturbation de la synthèse du cholestérol n'a été mise en évidence (*m/s* n° 3, vol. 11, p. 470). Une analyse de liaison génétique a permis de localiser le locus de cette maladie sur le chromosome 7p13 et, par chance, de le lier physiquement au gène *GLI-3* à l'aide d'un microsatellite polymorphe [8].

- *Polydactylie postaxiale de type A (PAP-A, MIM 174200)*

Cette malformation des extrémités transmise sur le mode autosomique dominant fut décrite pour la première fois en 1756 par Maupertuis dans une

famille de chirurgiens berlinois. Cette forme de polydactylie héritée sur le mode dominant avec une forte pénétrance se caractérise par un doigt surnuméraire bien formé au niveau du rayon cubital, articulé avec l'auriculaire ou associé à un métacarpien surnuméraire. Elle s'oppose au type B où le doigt surnuméraire est mal développé, se limitant parfois à la présence d'une pièce osseuse ectopique sous-cutanée. La distinction génétique de ces deux entités cliniques reste à définir. L'étude d'une famille indienne dans laquelle cette malformation est transmise sur 5 générations a permis de localiser le locus sur le chromosome 7 et de proposer *GLI-3* comme gène candidat [9].

### **Les gènes GLI**

En fait, il y a près de 10 ans, le groupe de Vogelstein (Baltimore, MD, USA) isola un gène amplifié dans les glioblastomes, *GLI*, supposé être un oncogène ; il codait pour un facteur de transcription long de 1106 acides aminés et contenant 5 doigts de zinc [10]. *GLI-3* fut isolé secondairement sur la base de son analogie avec *GLI*, définissant une nouvelle famille de facteurs de transcription contenant au moins 6 membres [11]. Trois éléments de fixation à l'ADN ayant en commun une séquence consensus de 9 paires de bases furent identifiés ; la cristallographie a mis en évidence le contact des 4 derniers doigts de zinc avec l'ADN et le rôle important des numéros 4 et 5 dans la reconnaissance de la séquence consensus d'ADN [12].

La description récente de mutations dans différentes régions du gène *GLI-3* à l'origine de chacun des syn-

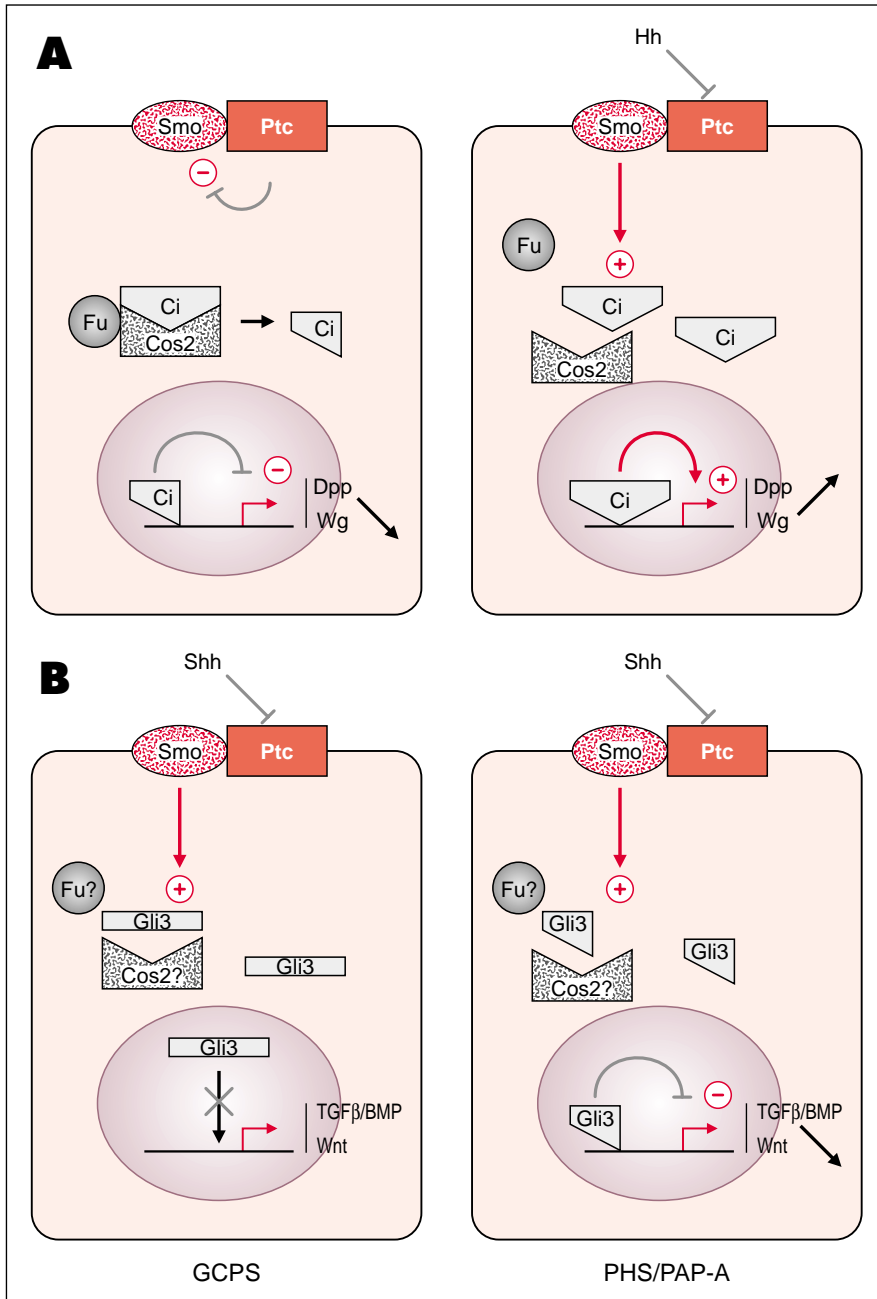


Figure 1. **Schéma de la voie de signalisation Hedgehog.** **A.** Chez la drosophile, en l'absence de Hedgehog (Hh), le récepteur Patched (Ptc) inhibe le récepteur Smoothened (Smo). La protéine Cubitus interruptus (Ci) forme un complexe avec Costal2 (Cos2) et Fused (Fu). Ce complexe libère, après clivage protéolytique, une protéine Ci déletée de sa partie carboxy-terminale transactivatrice. Ci ayant conservé son domaine de fixation à l'ADN exerce alors une répression de la transcription des gènes cibles comme Decapentaplegic (Dpp) ou Wingless (Wg). En présence de Hh, Smo n'est plus inhibé par Ptc. Le complexe Cos2/Fu relâche alors Ci qui ne subit pas de clivage protéolytique. Ci est transporté au noyau où il peut exercer une activité transcriptionnelle positive. **B.** Chez les patients ayant un syndrome de Greig (GCPS), GLI-3 serait incapable de former un quelconque complexe ou d'exercer une activité transcriptionnelle positive ou négative. Chez les patients ayant un syndrome de Pallister-Hall (PHS) ou une polydactylie postaxiale de type A (PAP-A), seul un équivalent d'une forme clivée de GLI-3 serait produit, exerçant en permanence une activité répressive sur la transcription des gènes cibles (TGFβ/BMP, Wnt) de la voie de signalisation Hedgehog.

dromes héréditaires précédemment décrits a permis de souligner les différents domaines fonctionnels de ce facteur de transcription, corroborant des travaux récents menés sur l'analogue de *GLI* chez la drosophile, *Cubitus interruptus*.

Le syndrome de Greig se caractérise par des mutations affectant le domaine à doigts de zinc, conduisant à la synthèse d'une protéine tronquée, dépourvue *a priori* de toute activité transcriptionnelle [13]. Les

mutations rencontrées dans le syndrome de Pallister-Hall apparaissent entre le domaine à doigts de zinc et le site de clivage protéolytique; elles produisent une protéine clivée identique à la forme amino-terminale de *Ci* produite par clivage chez la drosophile [14]. Enfin la polydactylie postaxiale-A accompagne des mutations qui conservent le domaine de fixation à l'ADN, le site de clivage protéolytique mais pas le site de fixation au microtubules [15] (figure 3).

Chez la drosophile, le mutant *Cubitus interruptus* peut être associé à des malformations mineures des veines de l'aile de la mouche ou à une létalité larvaire précoce [16]. Il semble que le facteur de transcription *Ci* soit ciblé vers le cytoplasme où il est piégé au niveau des microtubules en s'associant aux protéines Fused et Costal2. Le clivage de *Ci* sous l'influence du signal Hedgehog est suivi du transport nucléaire de la partie amino-terminale contenant le

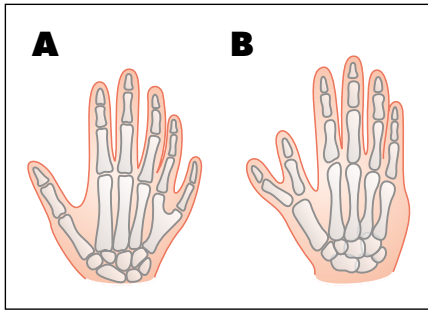


Figure 2. **Polydactylyes.** **A.** Polydactylye préaxiale. Elle se caractérise par un doigt surnuméraire bien formé, articulé avec un métacarpien bifide. **B.** Polydactylye postaxiale. Elle se caractérise par une duplication des phalanges du pouce dans le type I ou un nombre de phalanges augmenté dans le type II (non représenté).

domaine à doigts de zinc qui réprime alors la transcription de gènes cibles comme *wingless (Wg)*, *patched (PTC)* ou *decapentaplegic (Dpp)* [17] (figure 1). Ainsi Hedgehog semble régler l'activité des gènes cibles *Dpp* et *Wg* en modulant l'équilibre entre forme transactivatrice et forme répressive de *Ci*.

Toutefois, si *Ci* est réglé par *Hh* de façon post-transcriptionnelle chez la drosophile, les gènes *GLI* semblent être directement réglés au niveau transcriptionnel chez les vertébrés. En effet la manipulation de l'expression de *Shh* au cours du développement du membre chez le poulet se caractérise par une surexpression de *Gli* dans le mésenchyme antérieur et une baisse de l'expression de *Gli-3* dans le mésenchyme postérieur [18].

Un autre modèle peut être proposé : trois analogues de *Ci* ont été isolés chez les mammifères, *GLI*, *GLI-2* et *GLI-3* [19]. La protéine GLI posséderait une activité transcriptionnelle,

*GLI-3*, une activité répressive et *GLI-2* assurerait l'équilibre entre les deux autres facteurs. Il existe chez la souris une mutation spontanée, *extratoes (Xt)* liée à une délétion de l'extrémité 5' du gène murin *GLI-3* [20]. L'inactivation génique de *GLI-2* chez la souris et le croisement de ces souris mutantes avec les mutants *Xt* a permis d'explorer l'étendue de la redondance fonctionnelle entre les deux gènes mais aussi leur spécificité [21] ; il existe probablement chez l'homme des mutations du gène *GLI-2* responsables de tableaux cliniques proches des syndromes GCPS, PHS et PAP-A avec, peut-être, des malformations des membres moins prononcées du fait de l'expression prédominante de *GLI-3* par rapport à *GLI-2* au cours de l'embryogenèse [18-20]. Dans tous les cas, on remarque l'identité de ces malformations squelettiques avec celles observées dans le syndrome de Gorlin (*m/s n° 7, vol. 8, p. 731*), soulignant ainsi le rôle de la voie de signa-

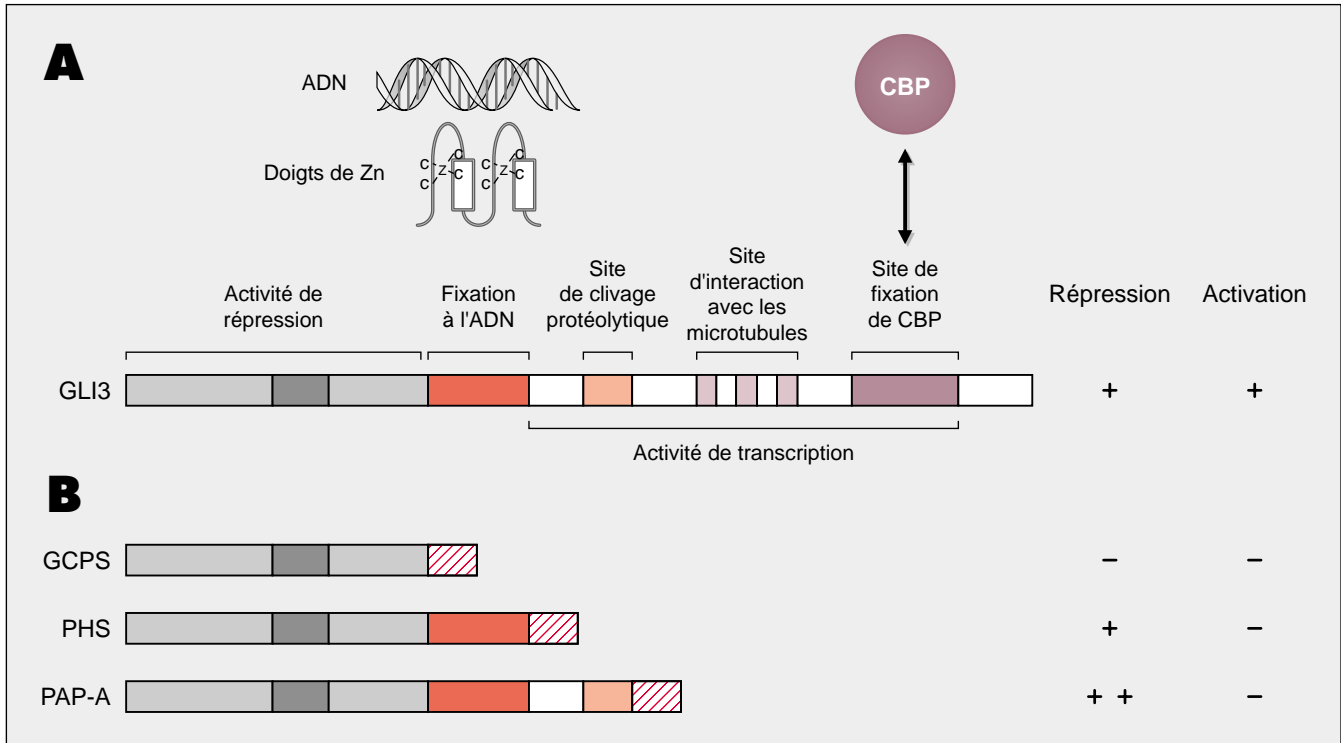


Figure 3. **GLI-3 et protéines mutantes.** **A.** La protéine *GLI-3* est constituée, de l'extrémité amino-terminale à l'extrémité carboxy-terminale, d'un domaine inhibiteur de la transcription caractérisé par une séquence conservée au cours de l'évolution, d'un domaine de fixation à l'ADN avec 54 doigts de zinc, d'un site de clivage protéolytique, d'un site d'interaction avec les microtubules et d'un site d'interaction avec le co-facteur transcriptionnel CBP. **B.** Protéines résultant potentiellement des différentes mutations non-sens rencontrées dans les différents syndromes. La zone hachurée représente la séquence d'acides aminés non conservés du fait de décalage du cadre de lecture. La conservation ou non de leur activité transcriptionnelle est indiquée.

lisation *Hh* dans le développement des éléments osseux.

### Conclusion

Une nouvelle fois la génétique humaine vient à la rencontre de la génétique du développement, éclairant sous un nouvel angle l'importance mais aussi la complexité d'une voie fondamentale de signalisation cellulaire. En pathologie humaine, d'autres acteurs de la voie de signalisation Hedgehog, entre autres les analogues des gènes *Smoothened*, *Fused*, ou *Costal-2*, devraient être retrouvés impliqués dans des syndromes malformatifs comportant des anomalies des extrémités. Une connaissance complète de ces différents acteurs nous permettra alors d'établir une nouvelle classification nosologique de l'ensemble de ces syndromes dysmorphiques enfin fondée sur les mécanismes physiopathogéniques ■

### Philippe Gorry

Laboratoire de Biologie Cellulaire, Université Victor-Ségalen, 33076 Bordeaux Cedex, France.

### Didier Lacombe

Service de Pédiatrie et Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin-Enfants, Université Victor-Ségalen, 33076 Bordeaux Cedex, France.

### RÉFÉRENCES

1. Concordet JP, Kahn A. « Hedgehogopathies » : perturbations de la voie de signalisation Sonic Hedgehog et maladies humaines. *Med Sci* 1997 ; 13 : 402-3.
2. Gorry P, Lacombe D, Concordet JP. Naevomatose baso-cellulaire et gène *PATCHED* : un nouveau lien entre cancer et gènes du développement. *Med Sci* 1996 ; 12 : 1105-8.
3. Lacombe D. Dymorphies et gènes du développement. *Med Sci* 1996 ; 12 : 825-30.
4. Arveiler B, Lacombe D. CBP, cancer et dysmorphologie. *Med Sci* 1997 ; 13 : 587-90.
5. Greig DM. Oxycephaly. *Edinburgh Med J* 1928 ; 33 : 189-218.
6. Vortkamp A, Gessler M, Grzeschik KH. *GLI3* zinc-finger gene interrupted by translocations in Greig syndrome families. *Nature* 1991 ; 352 : 539-40.
7. Hall JG, Pallister PD, Clarren SK, Beckwith JB, Wiglesworth FW, Fraser FC, Cho S, Benke PJ, Reed SD. Congenital hypothalamic hamartoblastoma hypopituitarism, imperforate anus, and postaxial polydactyly: a new syndrome? Part I: clinical, causal, and pathogenic considerations. *Am J Med Genet* 1980 ; 7 : 47-74.
8. Kang S, Allen J, Graham J, Grebe T, Clericuzio C, et al. Linkage mapping and phenotypic analysis of autosomal dominant Pallister-Hall syndrome. *J Med Genet* 1997 ; 34 : 441-6.
9. Radhakrishna U, Blouin JL, Mehenni H, Patel UC, Patel MN, Solanki JV, Antonorakis SE. Mapping of one form of autosomal dominant postaxial polydactyly type A to chromosome 7p15-q11.23 by linkage analysis. *Am J Hum Genet* 1997 ; 60 : 597-604.
10. Kinzler KW, Ruppert JM, Bigner SH, Vogelstein B. The *GLI* gene is a member of the Kruppel family of zinc finger proteins. *Nature* 1988 ; 332 : 371-5.
11. Ruppert JM, Kinzler KW, Wong AJ, Bigner SH, Kao FT, Law ML, Seauanez HN, O'Brien SJ, Vogelstein B. The *GLI*-Kruppel family of human genes. *Mol Cell Biol* 1988 ; 8 : 3104-13.
12. Pavletich NP, Pabo CO. Crystal structure of a five-finger *GLI*-DNA complex: new perspectives on Zn fingers. *Science* ; 1993 : 261 : 1701-7.
13. Wild A, Kalff-Suske M, Vortkamp A, Bornholdt D, König R, Grzeschik KH. Point mutations in human *GLI3* cause Greig syndrome. *Hum Mol Genet* 1997 ; 6 : 1979-84.
14. Kang S, Graham J, Olney AH, Biesecker LG. *GLI3* frameshift mutations cause autosomal dominant Pallister-Hall syndrome. *Nat Genet* 1997 ; 15 : 266-8.
15. Radhakrishna U, Wild A, Grzeschik K-H, Antonorakis SE. Mutation in *GLI3* in postaxial polydactyly type A. *Nat Genet* 1997 ; 17 : 269-71.
16. Orenic TV, Slusarski DC, Kroll KL, Holmgren RA. Cloning and characterization of the segment polarity gene *cubitus interruptus* Dominant of *Drosophila*. *Genes Dev* 1990 ; 4 : 1053-67.
17. Sisson JC, Ho KS, Suyama K, Scott MP. Costal2, a novel kinesin-related protein in the Hedgehog signalling pathway. *Cell* 1997 ; 90 : 125-45.
18. Marigo V, Johnson RL, Vortkamp A, Tabin CJ. Sonic hedgehog differentially regulates expression of *GLI* and *GLI3* during limb development. *Dev Biol* 1996 ; 180 : 273-83.
19. Hui CC, Slusarski D, Platt KA, Homgren R, Joyner AL. Expression of three mouse homologs of the *Drosophila* segment polarity gene *cubitus interruptus*, *GLI*, *GLI-2*, and *GLI-3*, in ectoderm- and mesoderm-derived tissues suggests multiple roles during postimplantation development. *Dev Biol* 1994 ; 162 : 402-13.
20. Hui CC, Joyner AL. A mouse model of Greig cephalopolysyndactyly syndrome: the *extra-toes* mutation contains an intragenic deletion of the *GLI3* gene. *Nat Genet* 1993 ; 3 : 241-6.
21. Mo R, Freer AM, Zinyk DL, Crackower MA, Richaud J, et al. Specific and redundant functions of *GLI2* and *GLI3* zinc finger genes in skeletal patterning and development. *Development* 1997 ; 124 : 113-23.

### TIRÉS À PART

P. Gorry.

## CONFÉRENCES JACQUES MONOD 1998 PLASTICITÉ ET ADAPTATION DE LA MOTRICITÉ : Ontogénèse, apprentissage moteur et restauration fonctionnelle

AUSSOIS (France) - 21-25 septembre 1998

**Président :** MASSION Jean. C.N.R.S., Laboratoire de Neurobiologie et Mouvements, 31, chemin Joseph-Aiguier, F-13402 Marseille Cedex 20, France. Phone - Téléphone : +33 4 91 16 41 50 - Fax - Télécopie : +33 4 91 77 50 84. E-mail - Courrier électronique : massion@inf.cnrs-mrs.fr

**Conférenciers :** Armand J., Assaïante C., Berthoz A., Champagnat J., Clarac F., Dietz V., Forssberg H., Freund H.J., Gauthier G., Gauthier P., Glover J., Gramsberger A., Graybiel A., Hallett M., Hultborn H., Ioffe M., Jeannerod M., Kawato M., Latash M., Massion J., Nieoullon A., Nudo R., Pettersson L.-G., Rispal-Padel L., Rossignol S., Sillar K., Simmers J., Thelen E., Wiesendanger M.