

■■■■ **Confirmation du rôle de SHOX dans la petite taille du syndrome de Turner.**

En 1997, le gène *SHOX* (*short stature homeobox containing gene*) était découvert dans la région pseudo-autosomique commune aux gonosomes X et Y (*m/s* 1997, n° 4, p. 576-80). Il venait à point pour expliquer la petite taille, signe majeur du syndrome de Turner dans lequel la perte du deuxième gonosome entraîne une haploinsuffisance de tous les gènes liés à l'X échappant à l'inactivation. L'haploinsuffisance du gène *SHOX* pouvait également expliquer la présence des autres anomalies osseuses observées avec une fréquence variable dans le syndrome de Turner: *cubitus valgus*, *genu valgum*, raccourcissement des 4^e et 5^e métacarpiens, ainsi que la déformation de Madelung (incurvation des os des avant-bras). En effet, des mutations de ce gène *SHOX* avaient été observées à l'état hétérozygote dans une dyschondroostéose, le syndrome de Leri-Weill [1, 2], qui comporte des symptômes analogues: une petite taille de type mésomélique dans laquelle le raccourcissement porte plus sur les parties distales que sur les parties proximales des membres. De plus, la présence de mutations de *SHOX* à l'état homozygote dans un nanisme mésomélique de type Langer [2] renforçait l'hypothèse de la responsabilité de *SHOX* dans les anomalies osseuses du syndrome de Turner. Encore fallait-il en apporter la preuve. Pour y parvenir, le recours au modèle murin ne semblait pas la méthode de choix: les souris XO sont fertiles, elles n'ont pas de phénotype turnérien, et surtout, elles ne possèdent pas d'orthologue de *SHOX*. Pourtant, l'étude des *zoo blots* vient de montrer que le gène *SHOX* est présent dans presque toutes les espèces de vertébrés, même les plus rudimentaires, et que son évidente conservation au cours de l'évolution atteste de son importance dans la croissance des vertébrés [3]. Chez la souris, le gène *Og12x* est l'orthologue d'un gène de la même famille, porté chez l'homme par le chromosome 3: *SHOX2* (anciennement *SHOT*) [4]. Au cours du développement, *Og12x*

s'exprime chez les embryons de souris dans les bourgeons des membres dès le début de leur formation (à 9,25 jours embryonnaires). Son expression s'étend ensuite à l'ensemble du membre puis, à partir de E 12,5, elle se réduit à la région proximale où elle reste très élevée. L'étude de certains mutants montre qu'elle est indépendante de la voie de signalisation Shh. Chez l'embryon humain, l'étude comparative de *SHOX2* et de *SHOX* montre qu'ils interviennent tous deux dans le développement des membres. Il est important de noter que *SHOX* s'exprime aussi dans les deux premiers arcs branchiaux, ce qui pourrait expliquer certaines anomalies que l'on observe parfois dans le syndrome de Turner: le cou palmé, la micrognathie, le palais ogival, ainsi que les malformations osseuses de l'oreille externe qui seraient à l'origine des otites à répétition survenant chez les filles turnériennes. Il est probable qu'au cours de l'évolution, les gènes *SHOX* et *SHOX2* ont évolué de concert et il serait intéressant de chercher à savoir s'il existe une redondance fonctionnelle entre ces deux gènes.

- [1. Belin V, et al. *Nat Genet* 1998; 19: 67-9.]
- [2. Shears DJ, et al. *Nat Genet* 1998; 19: 70-3.]
- [3. Clement-Jones M, et al. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 695-702.]
- [4. Blaschke RJ, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 2406-11.]

■■■■ **Le syndrome de Char.** Le syndrome de Char fait partie de ces syndromes malformatifs associant une cardiopathie congénitale à une anomalie des mains. Il associe à la persistance d'un canal artériel une hypoplasie de l'auriculaire et une dysmorphie faciale plus ou moins typique. L'existence de ces divers syndromes cœur-main laissait supposer que des gènes intervenaient très tôt au cours de la vie embryonnaire dans la cardiogenèse et la formation des extrémités. Et de fait, plusieurs facteurs de transcription ont été

impliqués dans des syndromes cœur-main. Dans le syndrome de Char, c'est un nouveau facteur de transcription, cette fois de la famille TFAP2, qui vient d'être mis en cause [1]. Les protéines de cette famille existent sous forme d'homodimères et d'hétérodimères formés par association avec d'autres membres de la famille TFAP2. Après avoir situé le locus de ce syndrome en 16p12-p21, des mutations faux-sens du gène *TFAP2B* localisé dans cette région ont été mises en évidence dans deux familles atteintes. Le gène orthologue de la souris *TfpAP2β* avait fait l'objet d'une étude comparative avec *TFAP2α* [2]. Au cours de l'embryogenèse, *TfpAP2β* est exprimé très tôt dans certaines cellules de la crête neurale, mais la symptomatologie murine est différente: les souris hétérozygotes *TfpA2b^{+/-}* sont normales tandis que les souris homozygotes *TfpA2b^{-/-}* meurent en période néonatale d'une atteinte rénale polykystique résultant de l'apoptose massive des cellules de l'épithélium des tubes collecteurs et des tubules distaux. Quelles sont les raisons de cette disparité? Indépendamment des différences homme-souris, la nature des mutations n'est pas la même. Chez l'homme, les mutations faux-sens observées ont un effet dominant négatif. En effet, les deux protéines mutées sont capables de dimérisation mais sont incapables de se lier à la séquence cible d'ADN. La dimérisation de l'une ou l'autre des protéines mutées avec une protéine normale TFAP2B entraîne une diminution de la transactivation. Ainsi, la persistance d'un canal artériel peut s'expliquer par une anomalie moléculaire. TFAP2B interviendrait spécifiquement sur la migration ou la différenciation de cellules de la crête neurale destinées au sixième arc aortique gauche d'où dérive le canal artériel. Ainsi, avec les gènes *Hand1* et *2* (*heart autonomous nervous system neural crest*), essentiels pour l'évolution du tube cardiaque primitif (*m/s* 1998, n° 6-7, p. 802), le gène *Pax3*, impliqué dans le phénotype *Spotch* qui comporte des anomalies

conotroncales chez la souris et *Gjal* (codant pour la connexine 43) dont les mutations – à effet dominant négatif – sont responsables de malformations cardiaques, nous commençons à rassembler les éléments moléculaires qui régissent la très complexe morphogenèse du cœur.

[1. Satoda M, *et al. Nat Genet* 2000 ; 25 : 42-6.]

[2. Moser M, *et al. Dev Dyn* 1997 ; 208 : 115-24.]

■■■■ **Les mutations du gène HOXA13 dans le syndrome main-pied-utérus.** Le groupe international qui avait découvert le rôle de *HOXA13* dans le syndrome HFG (*hand-foot-genital syndrome*), à partir d'une seule famille, vient d'analyser les mutations retrouvées dans cinq autres familles [1]. Elles se classent en trois groupes : (1) le premier (délétion, substitution d'une base) a pour conséquence une protéine tronquée ; (2) le second entraîne l'expansion d'une répétition de résidus polyalanine ; (3) le dernier enfin altère l'homéodomaine (remplacement d'un résidu asparagine par une histidine dans une hélice) et empêche très probablement la reconnaissance de la région cible de l'ADN. Dans le premier groupe, les protéines tronquées doivent avoir perdu l'homéodomaine et la conséquence moléculaire est probablement une haploinsuffisance. Toutefois, on explique mal pourquoi l'invalidation de *Hoxa13* chez la souris hétérozygote a peu de conséquences phénotypiques, comparativement à l'homme. Chez les souris mutantes atteintes d'hypodactylie (chez lesquelles une délétion de *Hoxa13* a été mise en évidence), il a été démontré récemment que la protéine mutante est surexprimée et que cette surexpression est la cause du trouble du développement des extrémités [2]. Le mécanisme d'action des protéines tronquées chez l'homme, qui aboutissent à des phénotypes voisins, devra donc être élucidé. Bien que les répétitions de

résidu polyalanine soient fréquentes dans les homéodomaines et dans d'autres facteurs de transcription, les conséquences de leur expansion sur le phénotype n'ont pas encore été bien comprises. Pour *HOXD13*, il a été démontré que l'expansion n'altère pas la stabilité de la protéine, mais que la sévérité du phénotype augmente avec l'allongement de l'extension, laissant supposer un gain progressif de fonction de la protéine mutante qui aurait un effet dominant négatif (*m/s* 1999, n° 1, p. 112). Pour *HOXA13*, il est difficile de conclure, la seule famille porteuse d'une expansion ayant un phénotype analogue à celui des familles avec mutations tronquantes ou délétions. Enfin, dans le troisième groupe, l'atteinte de l'homéodomaine entraîne un syndrome très sévère (hypoplasie importante des pouces et absence de gros orteils), ce qui laisse supposer un blocage de la transcription. Même s'il s'agit d'un syndrome rarissime, cette étude des diverses mutations du gène *HOXA13* dans le syndrome HFG est éclairante.

[1. Goodman FR, *et al. Am J Hum Genet* 2000 ; 67 : 197-202.]

[2. Post LC, *et al. Dev Biol* 2000 ; 217 : 290-300.]

■■■■ **Un visage creusé par l'apoptose : le syndrome de Treacher Collins.** La dysostose mandibulo-faciale décrite par Treacher Collins et par Jules Franceschetti, ou TCOF1, est provoquée par diverses mutations, mais toujours avec perte de fonction du gène *TCOF1*. Les lecteurs de *m/s* n'ont pas manqué d'être informés (*m/s* 1996, n° 4, p. 542) que ce gène codait pour une phosphoprotéine nucléolaire baptisée *treacle*. Son expression est particulièrement importante dans les crêtes neurales au cours de l'embryogenèse. Le trouble de la morphogenèse de la face (obliquité antimongoloïde des fentes palpébrales, colobome des paupières inférieures, hypoplasie de l'arcade zygomatique et du maxillaire

inférieur) confère aux visages des malades un aspect émacié très caractéristique [1]. Bien que connaissant le gène, on ignorait jusqu'à présent par quel mécanisme la perte de fonction à l'état hétérozygote du gène *TCOF1* provoquait cette dysmorphie très inesthétique. Grâce à une invalidation par mutagenèse dirigée, le groupe ayant isolé le gène homologue chez la souris [2] a pu obtenir des embryons de souris hétérozygotes *Tcof1^{+/-}* [3]. Ceux-ci décèdent *in utero* avant le terme et le retard du développement apparaît très tôt, vers E8 (E: jours embryonnaires). L'incurvation du pôle céphalique ne se produit pas. L'absence de fermeture du neuropore antérieur entraîne une exencéphalie chez la plupart des embryons *Tcof1^{+/-}*, tandis que l'absence de formation de la vésicule optique a pour conséquence une anophtalmie. Le trouble du développement cranio-facial est considérable, avec hypoplasie fronto-nasale sévère. Le marquage des noyaux apoptotiques montre que ceux-ci sont très nombreux dès E 8,5 au sein des replis du tube neural dans la région céphalique ainsi que dans le mésenchyme du premier arc. La diminution de *treacle* a donc pour conséquence l'apoptose de certaines cellules de la crête neurale qui interviennent dans le développement craniofacial. La protéine doit être produite en quantité suffisante pour la biogenèse des ribosomes dans les cellules en voie de prolifération rapide. Bien que les conséquences de la perte de fonction du gène *Tcof1* à l'état hétérozygote soient beaucoup plus graves chez la souris que chez l'homme (effet léthal, hypotrophie généralisée) et puissent être rapprochées des conséquences des mutations du gène *minifly* qui code, chez la drosophile, pour une phosphoprotéine ubiquitaire, elles expliquent la dysmorphie faciale et des recherches sur l'ARN ribosomique aboutiront sans doute à la compréhension complète du mécanisme intracellulaire.

[1. Lacombe D. *Med Sci* 1996 ; 12 : 825-30.]

[2. Dixon J, *et al. Hum Mol Genet* 1997; 6: 727-37.]

[3. Dixon J, *et al. Hum Mol Genet* 2000; 9: 1473-80.]

■■■■ **Hémochromatose: la liste des gènes s'allonge...** L'hémochromatose dite primitive (HFE) rejoint définitivement le groupe des maladies héréditaires dans lesquelles une même expression clinico-biologique peut relever d'anomalies de plusieurs gènes différents. En 1996, un premier gène *HFE1* était cloné [1]: situé sur le bras court du chromosome 6, à proximité (4,5 Mb) des gènes HLA-A, il code pour une protéine apparentée aux protéines HLA de classe I et est atteint dans la grande majorité des cas d'hémochromatose. En effet, 94 % à 95 % des patients d'Europe du Nord sont homozygotes pour une même mutation (C282Y), la proportion étant plus faible en Europe du Sud. En 1999, des auteurs italiens ont démontré dans quelques familles que

le tableau d'hémochromatose juvénile, forme d'apparition précoce de la maladie, relevait d'un gène *HFE2* qui n'était pas localisé sur le chromosome 6, mais sur le bras long du chromosome 1, dans une zone d'environ 4cM [2]. Plus récemment, ces mêmes auteurs ont étudié 6 patients appartenant à deux familles siciliennes dont la surcharge martiale, en l'absence de la mutation C282Y (*HFE 1*), ne ségrégeait pas avec le chromosome 1 (*HFE 2*); une stratégie de *genome scanning* et de recherche d'homozygotie les ont conduits à repérer une région d'environ 1cM en 7q22. C'est dans cette région que venait d'être localisé le gène codant un deuxième récepteur de la transferrine (TfR2) récemment identifié [3]. Le séquençage de ce gène mettait en évidence une mutation faux-sens à l'état homozygote chez ces patients, montrant ainsi que TfR2 correspond au troisième gène *HFE* [4]. Mais *HFE 1*, 2 et 3 ne sont certainement pas les seuls gènes responsables de surcharges martiales primitives comme l'indiquent l'exis-

tence d'une composante génétique dans les surcharges ferriques observées en Afrique Sub-Saharienne et l'observation de cas d'hémochromatose non explicables par des anomalies de *HFE 1* dans les populations caucasiennes (*m/s 1999, n° 11, p. 1317*). A quand l'identification des gènes *HFE 4, 5, 6...*? On assiste à un démembrement nosologique des surcharges martiales primitives qui apparaissent monolithiques il y a encore peu d'années. La conséquence en sera certainement une augmentation de la complexité des stratégies de diagnostic génotypique, le même phénotype pouvant être dû aussi bien à deux mutations dans un même gène qu'à une double hétérozygotie.

[1. Feder JN, *et al. Nat Genet* 1996; 13: 399-408.]

[2. Roetto A, *et al. Am J Hum Genet* 1999; 64: 1388-93.]

[3. Kawabata H, *et al. J Biol Chem* 1999; 274: 20826-32.]

[4. Camaschella C, *et al. Nat Genet* 2000; 25: 14-5.]

Conférenciers invités