

Identification du gène de l'ataxie par déficit isolé en vitamine E

Un nouveau gène impliqué dans une maladie héréditaire neurodégénérative, l'ataxie avec déficit isolé en vitamine E (AVED), vient d'être identifié [1]. Il s'agit du gène codant pour une protéine hépatique, l' α -tocopherol transfer protein (α -TTP). Le travail résulte d'une collaboration entre notre équipe, qui avait localisé le gène de l'AVED sur le chromosome 8 par cartographie génétique dans des familles de patients (*m/s* n° 12, vol. 9, p. 1417) [2], et l'équipe japonaise de Keizo Inoue, spécialiste du métabolisme de la vitamine E, qui avait purifié l' α -TTP de foie de rat [3], et a, très récemment, cloné le gène chez le rat [4] et l'homme [5]. On savait depuis longtemps qu'un déficit en vitamine E secondaire à une abétalipoprotéïnémie ou à une cholestase hépatique pouvait entraîner une ataxie spinocérébelleuse avec neuropathie sensorielle [6]. En 1981, était décrite pour la première fois une ataxie spinocérébelleuse avec déficit isolé (sans anomalie d'absorption des graisses) en vitamine E [7]. Onze cas avaient été rapportés dans la littérature jusqu'en 1993, tous sporadiques à l'exception d'une fratrie de trois patients avec atteinte neurologique moins marquée, suggérant une transmission autosomique récessive [8]. Il semblait donc s'agir d'une maladie extrêmement rare, mais sévère, car conduisant à une incapacité de la marche vers l'âge de 20 à 30 ans. L'analyse du métabolisme de la vitamine E chez les patients avait montré que l'absorption intestinale et l'incorporation dans les chylomicrons étaient normales, mais que l'incorporation de l' α -tocophérol (forme active de la vitamine E) dans les VLDL sécrétées par le foie était déficiente [9]. Cette incorporation, attribuée à l'action de l' α -TTP, permet un recyclage de la vitamine E [10].

Depuis plusieurs années, nous avons entrepris le clonage positionnel du gène de l'ataxie de Friedreich (*locus* FRDA sur le chromosome 9, *m/s* n° 8,

vol. 4, p. 528), qui impliquait sa localisation génétique précise par l'analyse de nombreuses familles [11]. Dans le cadre d'une collaboration avec l'Institut de Neurologie du Pr M. Ben Hamida (Tunis) et l'Institut de Neurologie et Génétique du Dr L. Middleton (Nicosia), nous avons étudié plusieurs grandes familles consanguines tunisiennes, et avons eu la surprise de constater que la liaison génétique avec le *locus* FRDA était exclue pour deux d'entre elles. Une analyse plus poussée montrait que les patients de ces familles, tout en ayant un phénotype ataxie de Friedreich, présentaient un déficit isolé en vitamine E [12], et deux autres familles similaires étaient alors identifiées. Nous avons décidé de localiser le gène de l'AVED en utilisant une stratégie proposée par Lander en 1986 pour les maladies autosomiques récessives [13], mais jamais appliquée jusque-là, dite de cartographie par homozygotie. On sait que le risque d'être atteint de telles maladies est plus élevé dans les familles consanguines, surtout dans le cas de maladies rares. Les patients dans de telles familles sont en général homozygotes pour une mutation héritée d'un des ancêtres communs du père et de la mère. Ils seront également homozygotes pour les marqueurs génétiques proches du gène de la maladie. La cartographie par homozygotie consiste donc à rechercher une région du génome (définie par des marqueurs génétiques polymorphes) pour laquelle tous les patients issus de couples consanguins seront homozygotes. Si cette stratégie est conceptuellement simple, elle n'est puissante que si l'on peut disposer de marqueurs multialléliques, répartis sur l'ensemble du génome, pour lesquels la probabilité *a priori* d'être homozygote est faible. Cela est le cas des marqueurs microsatellites et, notamment, de ceux constituant la carte génétique développée par l'équipe de Jean Weissenbach au Généthon

[14]. C'est en utilisant de tels marqueurs que C. Ben Hamida et N. Doerflinger, dans notre laboratoire, ont localisé le gène responsable de l'AVED sur le bras long du chromosome 8 [2]. Trois marqueurs de cette région, caractérisés au Généthon, étaient retrouvés homozygotes chez les dix-huit malades des quatre familles tunisiennes, ainsi que chez cinq malades provenant de deux familles (une italienne et une albanaise) avec un diagnostic initial d'ataxie de Friedreich, mais montrant des «recombinaisons» avec le *locus* FRDA. Cette localisation était déjà assez précise (dans un intervalle de 5 centiMorgans), et fut restreinte à un intervalle de 1 centiMorgan par l'analyse de nouvelles familles et de marqueurs additionnels provenant du Généthon ou isolés à partir de la carte physique de YAC (*yeast artificial chromosome*) établie dans notre laboratoire [15]. En parallèle, nous apprenions le clonage du gène de l' α -TTP [5], excellent gène candidat, et entreprenions une collaboration avec l'équipe d'Inoue, montrant que ce gène était effectivement localisé dans le même intervalle que le gène AVED. Nous disposions alors d'ADN de patients provenant de dix-sept familles (dont onze d'origine tunisienne, marocaine ou d'Italie du Sud). Une recherche de mutations dans trois des exons du gène α -TTP (par la technique de *single strand conformation polymorphism*, SSCP [16]) se révélait positive, et nous avons identifié trois petites insertions ou délétions entraînant un déphasage du cadre de lecture [1]. L'une d'entre elles a été retrouvée à l'état homozygote chez tous les patients d'origine nord-africaine et d'Italie du Sud, et rend compte de la particulière fréquence de la maladie dans ces populations. En effet, les données recueillies en Tunisie suggèrent que l'AVED y serait aussi fréquente que l'ataxie de Friedreich (F. Hentati et M. Ben Hamida, communication personnelle),

alors qu'elle paraît très rare dans la population française « métropolitaine » ou en Europe du Nord. Il faut souligner qu'il est important de faire le diagnostic très précoce de cette maladie très peu connue jusqu'ici, car un apport oral supplémentaire de vitamine E peut empêcher la progression des troubles neurodégénératifs, et peut-être même les prévenir, si le traitement est commencé avant leur apparition (par diagnostic pré-symptomatique dans la fratrie d'un patient cliniquement atteint).

Il reste à comprendre pourquoi le déficit en vitamine E est responsable de troubles neurodégénératifs assez spécifiques. La vitamine E est un antioxydant qui pourrait avoir un effet protecteur contre les lésions dues à des radicaux libres, et moduler l'excitotoxicité du glutamate [17]. La sensibilité des neurones aux oxydants est attestée par la découverte récente de mutations de la superoxyde dismutase, responsables de formes familiales de sclérose latérale amyotrophique (affectant les motoneurones) (*m/s n° 4, vol. 9, p. 1417, n° 8-9, vol. 10, p. 914*) [18]. Enfin, l'AVED est un exemple d'une affection héréditaire dont les manifestations sont purement neurologiques, mais qui est causée par une déficience en une protéine hépatique. Dans une stratégie de clonage positionnel pur, une recherche de gène exprimé dans le tissu cible des lésions aurait été vouée à l'échec.

M.K.
K.O.
J.L.M.

- Ouahchi K, Arita M, Kayden HJ, Hentati F, Ben Hamida M, Sokol R, Arai H, Inoue K, Mandel JL, Koenig M. Ataxia with isolated vitamin E deficiency is caused by mutations in the α -tocopherol transfer protein. *Nature Genet* 1995; 9: 141-5.
- Ben Hamida C, Doerflinger N, Belal S, Linder C, Reutenauer L, Dib C, Gyapay G, Vignal A, Le Paslier D, Cohen D, Pandolfo M, Mokini V, Novelli G, Hentati F, Ben Hamida M, Mandel JL, Koenig M. Localization of Friedreich ataxia phenotype with selective vitamin E deficiency to chromosome 9q by homozygosity mapping. *Nature Genet* 1993; 5: 195-200.
- Sato Y, Hagiwara K, Arai H, Inoue K. Purification and characterization of the alpha-tocopherol transfer protein from rat liver. *FEBS Lett* 1991; 288: 41-5.
- Sato Y, Arai H, Miyata A, Tokita S, Yamamoto K, Tanabe T, Inoue K. Primary structure of alpha-

tocopherol transfer protein from rat liver. *J Biol Chem* 1993; 268: 17705-10.

- Arita M, Sato Y, Miyata A, Tanabe T, Takahashi E, Kayden HJ, Arai H, Inoue K. Human α -tocopherol transfer protein cDNA cloning, expression and chromosomal localisation. *Biochemical J* 1995 (sous presse).
- Muller DP, Lloyd JK, Wolff OH. Vitamin E and neurological function. *Lancet* 1983; 1: 225-8.
- Burck U, Goebel HH, Kuhlendahl HD, Meier C, Goebel KM. Neuromyopathy and vitamin E deficiency in man. *Neuropediatrics* 1981; 12: 267-78.
- Sokol RJ, Kayden HJ, Bettis DB, Traber MG, Neville H, Ringel S, Wilson WB, Stumpf DA. Isolated vitamin E deficiency in the absence of fat malabsorption - familial and sporadic cases: characterization and investigation of causes. *J Lab Clin Med* 1988; 111: 548-59.
- Traber MG, Sokol RJ, Burton GW, Ingold KU, Papas AM, Huffaker JE, Kayden HJ. Impaired ability of patients with familial isolated vitamin E deficiency to incorporate alpha-tocopherol into lipoproteins secreted by the liver. *J Clin Invest* 1990; 85: 397-407.
- Traber MG, Ramakrishnan R, Kayden HJ. Human plasma vitamin E kinetics demonstrate rapid recycling of plasma RRR- α -tocopherol. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 10005-8.
- Rodius F, Duclos F, Wrogemann K, Le Paslier D, Ougen P, Billault A, Belal S, Musenger C, Brice A, Dürr A, Mignard C, Sirugo G, Weissenbach J, Cohen D, Hentati F, Ben Hamida M, Mandel JL, Koenig M. Recombinations in individuals homozygous by descent localize the Friedreich Ataxia locus in a cloned 450-kb interval. *Am J Hum Genet* 1994; 54: 1050-9.
- Ben Hamida M, Belal S, Sirugo G, Ben Hamida C, Panayides C, Ioannou P, Beckmann J, Mandel JL, Hentati F, Koenig M, Middleton L. Friedreich's ataxia phenotype not linked to chromosome 9 and associated with selective autosomal recessive vitamin E deficiency in two inbred Tunisian families. *Neurology* 1993; 43: 2179-83.
- Lander ES, Botstein D. Homozygosity mapping: a way to map human recessive traits with the DNA of inbred children. *Science* 1987; 236: 1567-70.
- Weissenbach J, Gyapay G, Dib C, Vignal A, Morissette J, Millasseau P, Vayssex G, Lathrop M. A second-generation linkage map of the human genome. *Nature* 1992; 359: 794-801.
- Doerflinger N, Linder C, Ouahchi K, Gyapay G, Weissenbach J, Le Paslier D, Rigault P, Belal S, Ben Hamida C, Hentati F, Ben Hamida M, Pandolfo M, di Donato S, Sokol R, Kayden HJ, Landrieu P, Dürr A, Brice A, Goutières F, Kohischütter A, Sabouraud P, Benomar A, Yahyaoui M, Mandel JM, Koenig M. Ataxia with vitamin E deficiency: refinement of genetic localisation and analysis of linkage disequilibrium using new markers in 14 families. *Am J Hum Genet* 1995 (sous presse).
- Dreyfus JC, Akli S, Poenaru L. Maladies de Tay-Sachs et de Sandhoff. Les déficits en β -hexosaminidases, modèles des maladies des lysosomes. *médecine/sciences* 1992; 8: 797-803.
- Schubert D, Kimura H, Maher P. Growth factors and vitamin E modify neuronal glutamate toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 8264-7.
- Rosen DR, Siddique T, Patterson D, Figlewicz DA, Sapp P, Hentati A, Donaldson D, Goto J, O'Reagan JP, Deng HX, et al. (34 auteurs). Mutation in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993; 362: 59-62.

■■■ BRÈVE ■■■

■■■ Une corrélation inverse entre le TGF- β et les lésions d'athérosclérose. Une équipe anglo-américaine (Grainger *et al.*, Cambridge, GB ; Stanford, USA) [1] vient d'établir qu'il existait un déficit en TGF- β (*transforming growth factor- β*) chez les malades atteints d'une athérosclérose sévère. Comparés à un groupe témoin similaire, des sujets porteurs d'une athérosclérose évolutive ont en moyenne une activité TGF- β sérique abaissée de cinq fois. Le TGF- β inhibe la prolifération des cellules musculaires lisses de la *media* et leur migration dans l'*intima* et pourrait protéger les cellules endothéliales. Le mécanisme de ce déficit en TGF- β pourrait être l'augmentation de la concentration en la lipoprotéine athérogène Lp(a). L'apolipoprotéine(a) (apo(a)) possède un domaine qui présente 80 % d'analogies avec le domaine correspondant du plasminogène. Probablement par ce mécanisme, apo(a) inhibe l'action de l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA) sur l'activation du plasminogène en plasmine, enzyme protéolytique active dans les phénomènes de fibrinolyse. La plasmine activée transforme également le TGF- β inactif en sa forme active. Ces mécanismes sont confirmés par l'observation d'une inhibition de l'activation du TGF- β chez les souris transgéniques exprimant l'apo(a) [2]. Un traitement à doses filées d'aspirine, dont on connaît l'efficacité dans la prévention de l'athérosclérose, aboutit à une augmentation de l'activité du TGF- β . On peut également noter que le tamoxifène, actuellement à l'essai pour la prévention du cancer du sein (*m/s n° 12, vol. 9, p. 1386*), aurait un effet cardioprotecteur qui pourrait être lié à son pouvoir activateur sur l'expression du gène TGF- β .

[1. Grainger DJ, *et al.* *Nature Med* 1995; 1: 74-9.]

[2. Grainger DJ, *et al.* *Nature* 1994; 370: 460-2.]