

Le gène de l'ataxie de Friedreich : des applications diagnostiques et une controverse sans fondement

Nous avons récemment rapporté dans ces colonnes l'identification du gène de l'ataxie de Friedreich et la mise en évidence d'une mutation très largement prédominante, une expansion intronique instable d'une répétition du trinucéotide GAA [1, 2]. Le gène code pour une petite protéine de fonction inconnue, que nous avons appelée frataxine. Une partie de sa séquence est très bien conservée dans deux protéines prédites par le séquençage systématique de la levure et du nématode *C. elegans*. Dans le cadre d'une collaboration entre notre équipe et celle d'A. Dürr, A. Brice *et al.* (Inserm U. 289, Paris), nous avons analysé systématiquement l'expansion dans une grande série de patients avec forme typique ou atypique de la maladie [3]. Une étude similaire a été publiée par l'équipe de A. Filla [4]. Ces deux études montrent une corrélation inverse très significative entre la taille de l'expansion et l'âge de début de la maladie (figure 1), comme dans les observations réalisées pour la maladie de Steinert, la maladie de Huntington ou les autres maladies neurodégénératives à expansion de CAG/polyglutamines (*m/s* n° 12, vol. 12, p. 1463 et [5]). Toutefois, il s'agit ici d'une maladie récessive, et 95 % des patients présentent une expansion sur les deux allèles. La corrélation avec l'âge de début est surtout évidente lorsque l'on considère, pour chaque patient, la plus petite de ces deux expansions. Cela s'explique facilement si l'on admet que la perte de fonction de la frataxine dépend de la taille de l'expansion, et le niveau de fonction résiduelle chez un patient sera principalement dicté par la taille de sa

plus petite expansion. L'analyse de l'expansion élargit en fait le spectre clinique de la maladie. En effet les critères cliniques de Harding, généralement utilisés, spécifiaient un âge de début avant 25 ans et une perte des réflexes ostéo-tendineux. En fait, on trouve des patients avec expansion courte présentant un début tardif de la maladie (jusqu'à 50 ans), et/ou une conservation des réflexes. La présence de certaines manifestations cliniques importantes (cardiomyopathie, scoliose) dépend également, en partie, de la taille de l'expansion. Toutefois, comme pour

les autres maladies à expansions de trinucéotides, ces corrélations statistiquement très significatives à l'échelle d'une population de patients, ne permettent en général pas un pronostic individuel, en raison de la grande dispersion des points. Les deux études publiées sont en excellent accord général, la seule discordance notable, l'existence ou non d'une corrélation entre taille de l'expansion et risque de diabète, pouvant probablement s'expliquer par la taille plus réduite de la population présentant un diabète.

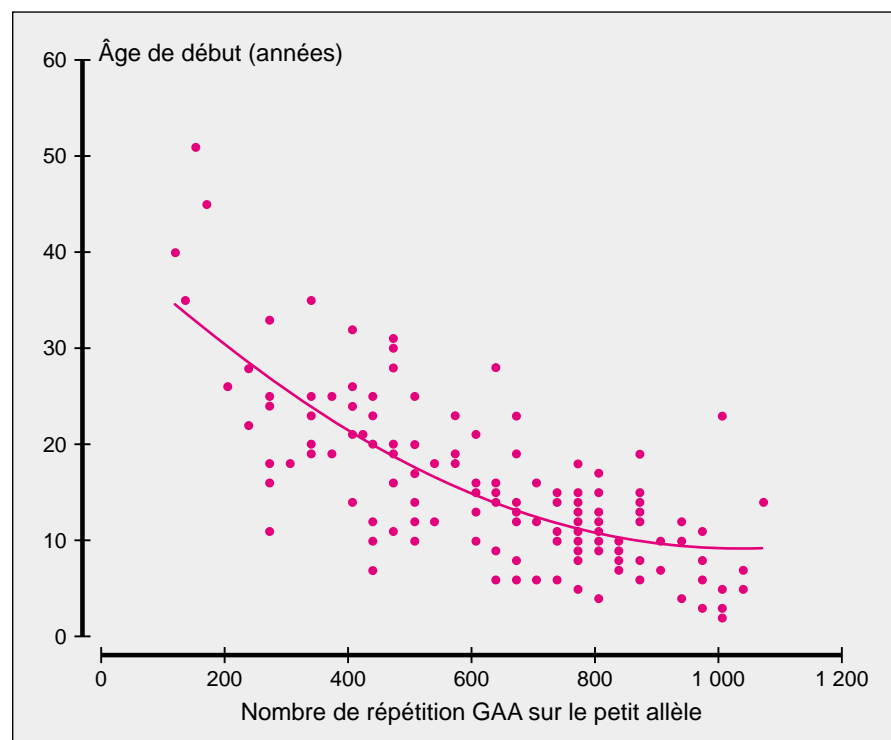


Figure 1. **Corrélation entre l'âge de début et la taille de la répétition GAA du plus petit allèle des deux chromosomes, chez 140 patients analysés (reproduit à partir de [3]).**

Dans le numéro d'octobre 1996 de *Nature Genetics*, l'équipe anglaise de S. Chamberlain [6] annonce que «le gène de l'ataxie de Friedreich code pour une nouvelle phosphatidylinositol kinase» et que le gène de la frataxine correspond, en fait, à des exons alternatifs d'un gène candidat adjacent (appelé *STM7*), que cette équipe avait précédemment étudié [7], et qui paraissait confortablement exclu sur la base de la cartographie génétique [8], et par l'absence de mutations, après analyse de la région codante répartie sur 13 exons. Carjaval *et al.* [6] ont réalisé des expériences de RT-PCR emboîtée (*nested PCR*) en utilisant des amorces correspondant d'un côté à des exons du gène *frataxine* et de l'autre à des exons de *STM7*. Ils ont ainsi identifié des transcrits alternatifs contenant des exons des deux gènes. Il faut noter que l'exon 1 contenant le codon de début de transcription du gène *frataxine* ne paraît présent que dans une minorité (non quantifiée) de tels transcrits. Les auteurs concluent que le gène *frataxine* n'est qu'une partie du gène *STM7*, dont il constituerait les exons 18 à 24. Ils montrent, par ailleurs, que la protéine codée par les exons 4 à 16 de *STM7* (et donc sans les séquences correspondant au gène *frataxine*) possède une activité phosphatidylinositol kinase. Ils discutent enfin l'analogie entre la fonction du gène *ATM* (ataxie télangiectasie) et celle de *STM7*, et suggèrent, sur la base d'observations publiées en 1981 et 1982 et jamais poursuivies, que l'ataxie de Friedreich pourrait correspondre à une anomalie d'une réponse cellulaire à des lésions de l'ADN. Enfin, les auteurs affirment que «la confirmation que *STM7* est le gène de l'ataxie de Friedreich ouvre un nouveau champ d'investigation», phrase étonnante, car aucun élément antérieur n'avait suggéré que *STM7* soit muté dans la maladie. Pour notre part, nous maintenons très fermement l'identité du gène *frataxine* tel que défini par Campuzano *et al.* [1], et le considérons comme le seul responsable de l'ataxie de Friedreich. Nos arguments sont les suivants: la stratégie de PCR emboîtée utilisée par Carja-

val *et al.* (avec 70 cycles d'amplification) est celle utilisée pour détecter des transcrits dits «illégitimes» [9], et les auteurs ont d'ailleurs dû cloner les produits d'amplification pour les séquencer, ce qui indique bien qu'ils correspondent à des transcrits extrêmement minoritaires. Le *Northern blot* présenté par Carjaval *et al.* à l'appui de leurs conclusions est surtout frappant par son bruit de fond important (*figure 3a* dans leur article). En revanche, la structure du gène *frataxine* telle que nous l'avons décrite est confirmée par toute une série d'observations: la présence d'un îlot CpG comprenant l'exon 1 et suggérant très fortement qu'il s'agit du début d'un gène; les structures de l'ADNc de souris et de pseudogènes rétrotranscrits présents dans le génome murin (Koutnikova *et al.* en préparation) correspondent à l'ADNc *frataxine* humain (confirmé pour ce dernier par les séquences d'EST [*expressed sequence tags*] humaines présentes dans les bases de données). Enfin, ce qui devrait éliminer tout doute, nous avons identifié chez des patients hétérozygotes pour l'expansion des mutations ponctuelles sur l'autre allèle ([1] et Cossée, observations non publiées), affectant les exons codants du gène *frataxine*. Notamment, dans deux familles, nous avons trouvé une mutation touchant le codon de début de transcription du gène *frataxine* localisé dans l'exon 1 (Cossée *et al.*, non publié), exon qui est absent de 3 sur 4 des transcrits détectés par Carjaval *et al.* ! L'équivalence fonctionnelle de telles mutations et de la mutation intronique par expansion exclut un éventuel effet de cette dernière sur le gène adjacent, tel que cela est proposé pour la maladie de Steinert [10]. En revanche, aucune mutation n'a été rapportée dans aucun des 16 exons codants du gène *STM7*, tel qu'il avait été précédemment décrit [7]. Nous tenons donc à rassurer les lecteurs de *m/s*. Le gène de l'ataxie de Friedreich est bien le gène *frataxine*. Des comparaisons de séquences homologues, et la présence d'un possible signal de localisation mitochondriale, suggèrent une fonction mitochondriale pour la frataxine ([11], Koutnikova et Campuzano, observations non

publiées). La protéine *STM7* correspond peut-être à une phosphatidylinositol kinase d'un très grand intérêt, mais n'a rien à voir avec la maladie qui nous occupe.

J.L.M.
M.C.
V.C.
H.K.
M.K.

1. Campuzano V, Montermini L, Moltó MD, Pianese L, Cossée M, Cavalcanti F, Monros E, Rodius F, Duclos F, Monticelli A, Zara F, Cañizares J, Koutnikova H, Bidichandani S, Gellera C, Brice A, Trouillas P, De Michele G, Filla A, de Frutos R, Palau F, Patel PI, Di Donato S, Mandel JL, Coccoza S, Koenig M, Pandolfo M. Friedreich ataxia: autosomal recessive disease caused by an intronic GAA triplet repeat expansion. *Science* 1996; 271: 1423-7.
2. Koenig M, Campuzano V, Cossée M, Mandel J. Ataxie de Friedreich: les expansions de triplets frappent encore. *Med Sci* 1996; 12: 431-5.
3. Dürr A, Cossée M, Agid Y, Campuzano V, Mignard C, Penet C, Mandel JL, Brice A, Koenig M. Clinical and genetic abnormalities in patients with Friedreich's ataxia. *N Engl J Med* 1996; 335: 1169-75.
4. Filla A, De Michele G, Cavalcanti F, Pianese L, Monticelli A, Campanella G, Coccoza S. The relationship between trinucleotide (GAA) repeat length and clinical features in Friedreich ataxia. *Am J Hum Genet* 1996; 59: 554-60.
5. Paulson HL, Fischbeck KH. Trinucleotide repeats in neurogenetic disorders. *Annu Rev Neurosci* 1996; 19: 79-107.
6. Carvajal J, Pook MA, dos Santos M, Doudney K, Hillermann R, Minogue S, Williamson R, Hsuan JJ, Chamberlain S. The Friedreich's ataxia gene encodes a novel phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase. *Nature Genet* 1996; 14: 157-62.
7. Carvajal J, Pook MA, Doudney K, Hillermann R, Wilkes D, Al-Mahdawi S, Williamson R, Chamberlain S. Friedreich ataxia: a defect in signal transduction? *Hum Mol Genet* 1995; 4: 1411-9.
8. Montermini L, Rodius F, Pianese L, Moltó MD, Cossée M, Campuzano V, Cavalcanti F, Monticelli A, Palau F, Gyapay G, Wenhert M, Zara F, Patel PI, Coccoza S, Koenig M, Pandolfo M. The Friedreich ataxia critical region spans a 150-kb interval on chromosome 9q13. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 1061-7.
9. Chelly J, Concordet J, Kaplan JC, Kahn A. Illegitimate transcription: transcription of any gene in any cell type. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 2617-21.
10. Boucher CA, King SK, Carey N, Krahe R, Winchester CL, Rahman S, Creavin T, Meghji P, Bailey MES, Chartier FL, Brown SD, Siciliano MJ, Johnson KJ. A novel homeodomain-encoding gene is associated with a large CpG island interrupted by the myotonic dystrophy unstable (CTG)_n repeat. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 1919-25.
11. Gibson TJ, Koonin EV, Musco G, Pastore A, Bork P. Friedreich's ataxia protein: phylogenetic evidence for mitochondrial dysfunction. *Trends Neurosci* 1996; 19: 465-8.