

■■■■ **L'utrophine est capable de corriger le phénotype mutant *mdx*.**

L'utrophine, encore appelée *dystrophin related protein* est une protéine ubiquitaire abondamment exprimée au cours du développement fœtal. Au cours de l'ontogénie musculaire, elle est localisée au niveau du sarcolemme et, par la suite, est restreinte à la jonction neuromusculaire. La fonction de cette protéine n'est pas connue. Elle présente une forte analogie de structure avec la dystrophine dont elle partage notamment les liaisons directes avec la syntrophine ou la  $\beta$ -dystroglycane (*m/s n° 2*, vol. 9, p. 228). L'hypothèse d'une homologie fonctionnelle entre utrophine et dystrophine a amené l'équipe de K. Davies (UK) à proposer la réexpression sarcolemmique de l'utrophine dans les fibres dépourvues de dystrophine comme une alternative aux approches de thérapie génique de la dystrophie musculaire de Duchenne. Une approche élégante a alors été utilisée pour démontrer le bien fondé de cette hypothèse : des lignées transgéniques de souris surexprimant l'utrophine au niveau du sarcolemme à l'âge adulte ont été créées afin d'étudier l'effet de cette expression chez la souris *mdx*, mutée sur le gène de la dystrophine ; des souris *mdx* possédant le transgène codant pour une version raccourcie mais fonctionnelle de l'utrophine ont été obtenues par simple croisement [1]. Le résultat est tout à fait probant : les souris *mdx* synthétisant une « mini-utrophine » homologue de la minidystrrophine déjà utilisée (*m/s n° 3*, vol. 6, p. 308) sous le contrôle du promoteur de l'actine squelettique humaine, ont un taux de créatine phospho-kinases musculaires diminué de 75 % par rapport à celui des souris *mdx* non transgéniques de la même fratrie, ce qui témoigne d'une diminution significative de la nécrose musculaire. Cette augmentation de l'utrophine est corrélée à la possibilité de détecter à nouveau tous les membres des protéines associées à la dystrophine (*m/s n° 10*,

vol. 7, p. 1090) qui sont effondrées chez la souris *mdx* comme chez l'enfant myopathe. Enfin, le diaphragme, seul muscle reproduisant fidèlement le processus myopathique de l'enfant avec nécrose associée à une fibrose et calibre très irrégulier des fibres, recouvre un profil histologique à peu près normal. Ce résultat constitue donc un prérequis pour toute étude qui consisterait à réactiver, par voie chimique par exemple, l'expression de l'utrophine, à l'instar de ce qui a été proposé chez les drépanocytaires par réactivation de l'hémoglobine fœtale. Cependant, il serait nécessaire de démontrer également qu'une surexpression ubiquitaire de l'utrophine n'est pas délétère, élément qui n'a pu être étudié ici puisque le promoteur utilisé est spécifique du muscle.

[1. Tinsley JM, et al. *Nature* 1996 ; 384 : 349-53.]

■■■■ **Origine paternelle et glissement progressif vers les cellules normales dans l'incontinentia pigmenti.**

L'*incontinentia pigmenti* (IP2) est une neurogénéodermatose dominante liée à l'X, létale chez le garçon en période prénatale. Le gène, encore inconnu, fut localisé en Xq28 par l'équipe de Marie-Claude Hors-Cayla (Paris, France) [1]. Chez les filles, l'atteinte cutanée se manifeste dès la naissance sous la forme d'une éruption vésiculeuse qui laisse, à l'âge adulte, des stries pigmentées distribuées selon les lignes de Blaschko\*. Très tôt, on s'interrogea sur la possibilité d'un avantage sélectif des cellules dont l'X actif serait l'X normal. Dès qu'il fut possible, par des études de méthylation (l'X inactif étant méthylé sur presque toute sa longueur), de distinguer l'X actif de l'X inactif, on put effectivement constater que l'X porteur d'un gène *IP2* muté était

\* Médecin allemand qui décrit vers 1900 la distribution corporelle de ces stries pigmentées.

beaucoup plus fréquemment inactif, non seulement dans les fibroblastes mais aussi dans les leucocytes du sang circulant des malades. Une équipe américaine vient de montrer, sur quinze grandes familles avec transmission sur plusieurs générations, que cette inactivation préférentielle de l'X porteur de l'*IP2* muté est retrouvée dans la totalité ou la majorité des leucocytes de 98 % des malades (plus de 95 % des cellules à X normal actif) [2]. A quel moment, dans quels tissus cet avantage sélectif se produit-il ? Comme les biopsies effectuées en peau hyperpigmentée et en peau normale ont la même déviation de l'inactivation, l'X normal étant toujours préférentiellement actif, certains auteurs supposèrent que la colonisation des régions anormales se produisait au cours de la période éruptive, entre le stade inflammatoire et le stade verruqueux [3]. Il n'est pas encore possible d'en être certain mais une biopsie cutanée effectuée aussitôt après la naissance chez une fille IP2 vient de montrer une inactivation au hasard des deux X dans la zone érythémateuse [2]. La pression de sélection ne doit donc pas s'exercer pendant la période embryonnaire. Puisque cette inactivation préférentielle semble la règle, elle peut être utilisée pour rechercher l'origine parentale de la mutation dans les cas isolés où les parents sont indemnes. On constate alors que la néomutation est deux fois plus fréquente dans les méioses masculines que dans les méioses féminines. Ce phénomène a déjà été observé dans les hémophilies A et B et dans la maladie de Lesch-Nyhan (mutations dans le gène de l'hypoxanthine-phospho-ribosyltransférase) [4-6]. Ce biais sexuel dans l'origine des mutations pourrait bien être un phénomène général pour toutes les maladies dominantes liées à l'X. Cette hypothèse, de plus en plus probable, mérite qu'on s'y arrête. Car, si les mutations se produisent dans l'X paternel, les enfants engendrés sont forcément des filles. De

telle sorte que la plus grande fréquence de filles que de garçons dans ces maladies s'expliquerait sans qu'il soit nécessaire de recourir à l'hypothèse de la létalité chez le mâle. En outre, si certaines mutations ne se produisaient que dans les méiose masculines, on pourrait observer des maladies exclusivement féminines, ce qui est justement le cas du syndrome de Rett (*m/s n° 11, vol. 12, p. 1280*) [7]. Hypothèse séduisante, mais impossible à démontrer en l'absence d'un locus sur l'X, ce qui est malheureusement le cas pour le syndrome de Rett.

- [1. Sefiani A, *et al. Genomics* 1989; 4: 427-9.]
- [2. Parrish JE, *et al. Hum Mol Genet* 1996; 5: 1777-83.]
- [3. Wieacker P, *et al. Clin Genet* 1985; 28: 238-42.]
- [4. Rossiter JP, *et al. Hum Mol Genet* 1994; 3: 1035-9.]
- [5. Ketterling RP, *et al. Am J Hum Genet* 1993; 52: 152-66.]
- [6. Francke U, *et al. J Hum Genet* 1976; 28: 123-37.]
- [7. Thomas GH. *Am J Hum Genet* 1996; 58: 1364-8.]

■■■■ **TN-X, un grand gène qui dissimule ses extrémités.** Sur le bras court du chromosome 6, en 6p21.3, se trouve sans doute la région la plus complexe du génome humain, celle où les gènes sont les plus intriqués. Treize unités transcriptionnelles s'y côtoient parmi lesquelles celles qui codent pour la stéroïde 21 hydroxylase (P450c21) et pour la fraction 4 du complément (C4). Dans les deux unités dupliquées A et B s'étendant sur 35 kb environ, une partie d'un gène codant pour la ténascine X fut identifié [1]. Les ténascines (TN) sont des protéines de la matrice extracellulaire: TN-C ou cytotatine, TN-R ou restrictine, la troisième étant TN-X. Elles ont une structure modulaire analogue, avec un domaine amino-terminal fait de répétitions d'heptades qui permet

aux chaînes de se di- ou trimériser, puis une série de séquences fibronectine type III, avant un domaine de type fibrinogène à l'extrémité carboxy-terminale [2]. Elles ont, à l'inverse de la fibronectine, un effet anti-adhésif [3]. Bien que TN-X soit abondamment exprimée dans la surrénale, le testicule, le muscle fœtal ainsi que dans le tissu conjonctif où elle doit participer à la migration cellulaire et inhiber la chondrogenèse, elle était jusqu'à présent, quoique fort intéressante, assez mal connue. Car bien qu'on ait la notion d'un gène s'étendant sur 65 kb, avec un cadre de lecture ouvert de 12 kb et 39 exons [4], aucun promoteur n'avait été caractérisé. Une équipe de San Francisco (CA, USA) vient d'en découvrir trois [5]. Le principal, en 5' d'un exon non traduit, se situe à 10 kb en amont de l'exon contenant le signal de début de traduction et dirige l'expression des transcrits dans le muscle fœtal et la surrénale fœtale. Les deux autres promoteurs entrent en jeu notamment dans la lignée de carcinome surrénalien NCI-H295. L'un d'entre eux est en réalité le promoteur du gène voisin *CREB-RP* (*CREB regulated protein*) qui code pour une protéine de la superfamille CREB à glissière de leucine (*cAMP responsive element binding protein*) récemment identifiée [6]. Mais, dans ce type cellulaire, il donne lieu à des transcrits épissés différemment de *CREB-RP* et qui semblent, de plus, séquestrés dans le noyau de ces cellules. Le second est situé dans la région 3' de ce même gène *CREB-RP*. Le promoteur majoritaire dans la surrénale fœtale semble avoir une activité moindre dans les cellules NCI-H295. Vérification fut faite que ce ne sont pas des mutations survenues dans ces cellules tumorales NCI-H295 qui seraient la cause de la sélection d'un de ces promoteurs secondaires ou de l'épissage de l'ARN de TN-X. Contrairement à ce qui se produit avec TN-C et TN-R, aucun épissage alternatif n'a lieu dans le domaine fibronectine de TN-X dans les tissus humains, comme si ce dernier était

nécessaire à l'action de la protéine. Quel est le rôle de cette ténascine, en particulier comment agit-elle dans les tumeurs surrénaliennes? On aimerait le savoir car dans les tissus surrénaliens normaux et néoplasiques, on trouve les trois transcrits. Quoi qu'il en soit, on en conviendra, ce locus *C4/P450c21/TN-X/CREB-RP*, dont l'organisation semble conservée chez les rongeurs [7], est probablement l'un des plus complexes du génome humain.

- [1. Morel Y, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 6582-6.]
- [2. Giry-Lozinguéz C, *et al. Med Sci* 1994; 10: 1234-43.]
- [3. Sage EH, Bornstein P. *J Biol Chem* 1991; 266: 14831-4.]
- [4. Bristow J, *et al. J Cell Biol* 1993; 122: 265-78.]
- [5. Speek M, *et al. Hum Mol Genet* 1996; 5: 1749-58.]
- [6. Min J, *et al. Genomics* 1995; 30: 149-56.]
- [7. Burch GH, *et al. Dev Dynamics* 1995; 203: 491-504.]

■■■■ **Le gène de l'insulin-like growth factor I joue un rôle important dans le développement intra-utérin et la croissance postnatale chez l'homme.** L'insulin-like growth factor I (IGF-I) exerce une double action sur la prolifération et la différenciation cellulaire de nombreux tissus. Il relaie, d'une part, de nombreux effets de l'hormone de croissance (GH) sur le développement postnatal humain [1] et joue, d'autre part, un rôle majeur sur la croissance et le développement intra-utérins, contrairement à la GH [2]. Les souris transgéniques dont le gène de l'IGF-I a été invalidé ont un poids de naissance très faible et un retard de croissance postnatal. Ces souris présentent, en outre, une surmortalité périnatale, un retard d'ossification et des anomalies du développement neurologique [3-5]. Katie Woods *et al.* (Londres, GB) font la première description d'un patient présentant une délétion du gène de l'IGF-I [6].

Il s'agit d'un garçon né de parents consanguins. Le patient est homozygote pour une délétion des exons 4 et 5 du gène de l'IGF-I, alors que les parents et sa sœur sont hétérozygotes pour la même anomalie. L'ARNm de l'IGF-I, étudié sur les fibroblastes du patient, est plus court de 181 nucléotides que l'ARNm normal. Cette délétion doit entraîner la synthèse d'un peptide IGF-I tronqué de 70 à 25 acides aminés. Ce patient a présenté un retard de croissance intra-utérin sévère ayant motivé un accouchement par césarienne à 37 semaines. Le poids de naissance était de 1,4 kg (-3,9 déviations standard, DS) et la taille de 37,8 cm (-5,4 DS). La croissance postnatale fut, elle aussi, très ralentie puisqu'à près de 16 ans sa taille n'était que de 119 cm (-6,9 DS). Les explorations hormonales ont permis d'exclure un déficit en GH; en revanche, le taux d'IGF-I bas pouvait évoquer un syndrome de Laron (*m/s n° 7, vol. 7, p. 745*). A l'appui des mêmes hypothèses, un traitement par GH conduit à l'âge de 11 ans n'avait eu aucun effet sur sa croissance. Une légère dysmorphie avec microcéphalie, une surdité diagnostiquée dans la petite enfance et un retard psychomoteur ont accompagné ce retard de croissance. L'imagerie cérébrale par résonance magnétique n'a pas mis en évidence d'anomalie de la myélinisation (à l'inverse des observations faites chez la souris). Il existe une ostéopénie avec un léger retard de l'âge osseux. Cette observation ajoute désormais une nouvelle anomalie moléculaire à celles qui peuvent, chez l'homme, toucher l'axe somatotrope et entraîner un retard de croissance. Cependant, à la différence des mutations des gènes de la GH, du récepteur de la GHRH (*m/s n° 4, vol. 12, p. 507*), du facteur de transcription Pit-1 (*m/s n° 6, vol. 8, p. 610*) et du récepteur de la GH, la mutation du gène de l'IGF-I entraîne un retard de croissance prénatal. La petite taille des parents hétérozygotes pour la mutation (mère: -1,4 DS, père: -1,8 DS,

sœur: -1 DS) dont le taux plasmatique d'IGF-I est à la limite de la normale, conduit à postuler que ce génotype pourrait être présent chez des patients considérés jusqu'alors comme ayant une petite taille constitutionnelle. Enfin, les anomalies neurologiques de ce patient sont en faveur d'un rôle de l'IGF-I dans le développement du système nerveux central humain.

- [1. Le Cam A, Lebraverend C. *Med Sci* 1993; 9: 1352-61.]
- [2. Brauner R, Dezegher F. *Med Sci* 1993; 9: 271-6.]
- [3. Liu JP, et al. *Cell* 1993; 75: 59-72.]
- [4. Baker J, et al. *Cell* 1993; 75: 73-82.]
- [5. Joshi R, Jami J. *Med Sci* 1996; 12: 620-3.]
- [6. Woods KA, et al. *N Engl J Med* 1996; 335: 1363-7.]

■■■■ **Du nouveau dans les problèmes de transport intracellulaire.** Le syndrome d'Hermansky-Pudlak est une maladie récessive autosomique qui se manifeste cliniquement par un albinisme oculocutané avec présence de tyrosinase, une fibrose pulmonaire, une colite granulomateuse, une insuffisance rénale et une cardiomyopathie entraînant la mort vers la quatrième ou cinquième décennie. Elle est peu fréquente sauf dans deux populations isolées: à Porto-Rico où l'incidence est de 1/1800 et en Suisse dans une vallée du Valais. Vers 1980, l'équipe de Carl Witkop, en étudiant les familles porto-ricaines avait conclu à une maladie monogénique due à un gène à effet pléiotrope en raison des atteintes de plusieurs organites cytoplasmiques: mélanosomes, corps denses des plaquettes et lysosomes [1]. En 1995, deux équipes réussissaient à localiser le gène en 10p23 [2,3]. L'une d'elle vient de l'isoler [4] par une approche de clonage positionnel très méticuleuse. Grâce au déséquilibre de liaison probablement dû à

un effet fondateur dans les deux populations de Porto-Rico et du Valais, elle a d'abord délimité la région candidate, puis l'a réduite en utilisant le plus possibles de marqueurs polymorphes pour analyser les haplotypes. Le gène comporte 20 exons qui s'étendent sur plus de 30 kb. Les malades porto-ricains ont tous, à l'état homozygote, une même duplication dans l'exon 15. Les malades suisses ont une mutation ponctuelle au codon 324 (addition d'une cytosine). Cette même mutation fut aussi retrouvée chez un malade irlandais, mais dans un contexte haplotypique différent, ce qui fait penser qu'elle est peut-être récurrente. Enfin, une dernière mutation qui, comme toutes les précédentes, provoque une rupture du cadre de lecture, fut observée chez un malade japonais. Ces premiers résultats semblent montrer que la gravité des manifestations cliniques dépendent des mutations observées, et cela laisse entrevoir plusieurs fonctions à la protéine codée par ce gène, composante certainement importante des organites intracytoplasmiques. La séquence polypeptidique déduite ne correspond à aucune protéine déjà connue, mais elle contient deux domaines transmembranaires, un signal de localisation des mélanosomes. Elle partage avec la protéine anormale dans la maladie de Chediak-Higashi (déduite d'après le gène qui vient d'être isolé) une petite région d'analogie dont la localisation (ou la fonction) intracellulaire doit être commune, ce qui n'est pas étonnant puisque ces deux maladies multisystémiques ont de nombreuses similitudes cliniques et biologiques.

- [1. Witkop CJ, et al. *The metabolic basis of inherited disease*. In: Scriver CR et al., eds. New York: McGraw Hill, 1989: 2905-47.]
- [2. Fukai K, et al. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 1665-9.]
- [3. Wildenberg SC, et al. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 755-65.]
- [4. Oh J, et al. *Nature Genet* 1996; 14: 300-6.]