

La maladie de Toulouse-Lautrec a enfin trouvé son gène : il code pour la cathepsine K

Malgré une récente polémique dont *médecine/sciences* s'est fait l'écho (*m/s* n° 9, vol. 11, p. 1360), Toulouse Lautrec était, selon toute probabilité, atteint de pycnodysostose. Dans cette dysplasie squelettique individualisée en 1962 par Pierre Maroteaux et Maurice Lamy [1], on observe une ostéolyse et, bien que les ostéoclastes, responsables de cette résorption osseuse anormale ne soient pas augmentés en nombre, la présence dans leur cytoplasme de grandes vacuoles contenant des fibrilles de collagène laissait supposer une dégradation anormale de la matrice organique de l'os. L'équipe de Robert Desnick (New York, USA) avait pu localiser une région candidate pour le gène de la pycnodysostose en 1p21 par analyse de ségrégation dans une grande famille consanguine ne comportant pas moins de 16 sujets atteints [2]. Après avoir exclu le gène du récepteur de l'interleukine 6 et le *MCL1*, gène homologue de *Bcl2*, pouvant intervenir dans la différenciation macrophages/monocytes, il leur restait à analyser le gène codant pour la cathepsine S, localisé lui aussi en 1p21 grâce à la technique d'hybridation *in situ* en fluorescence [3]. Vérification fut faite que le gène se trouvait effectivement dans la région critique. Mais, après avoir obtenu une STS (*sequence tagged site*) de la cathepsine S à partir de la séquence de la région 5' flanquante [4], après l'avoir amplifiée et séquencée et avoir trouvé une transversion C→T dans un îlot CpG en position 343 dans deux familles arabes palestiniennes, l'analyse de sujets témoins du même groupe ethnique montra qu'un tiers de la population palestinienne normale était porteuse de cette même transversion. L'hypothèse d'un simple polymorphisme fut confortée par la présence d'une quantité normale de cathepsine S

dans les lymphocytes de deux malades porteurs de la transversion. Il fallait donc poursuivre en étudiant les autres gènes codant pour des cathepsines, de localisation encore inconnue. Le gène codant pour la cathepsine K représentait un candidat particulièrement intéressant puisque cette protéase lysosomale est produite en grande quantité dans les ostéoclastes. Son analogie de séquence avec la cathepsine S laisse supposer, du reste, une duplication en tandem d'une protéase ancestrale. Une séquence STS, obtenue à partir de la région 3' non traduite, publiée dans la littérature [5] fut amplifiée à partir de deux YAC (*yeast artificial chromosomes*) contenant la région critique. L'amplification par RT-PCR et le séquençage du transcrite de la cathepsine K à partir d'ARN total de lymphocytes de deux malades révéla une transition A→G en position 1095 qui laissait prévoir une substitution dans le codon de terminaison par un résidu tryptophane (X330W) et l'allongement de la terminaison acide par 19 acides aminés supplémentaires. Cette mutation ségrégeait avec la maladie et ne fut trouvée chez aucun des 86 témoins [6]. Des familles d'origine différente (marocaine, hispano-américaine) furent étudiées et d'autres mutations ponctuelles (faux-sens et non-sens) furent observées. Afin de mesurer les conséquences de la mutation X330W sur l'activité enzymatique, celle-ci fut introduite dans un ADNc par mutagenèse dirigée. Aucune protéine ne fut décelée par immunotransfert dans les lysats de cellules normalement dépourvues de cathepsine K et transfectées par l'ADNc porteur de X330W, alors qu'elle était présente dans les lysats de cellules transfectées avec l'allèle normal. La pycnodysostose peut donc être désormais classée parmi les

maladies lysosomales. Mais il est intéressant de voir que, contrairement à beaucoup d'autres où l'accumulation de substrats non dégradés se retrouve dans de nombreux tissus et dans des types cellulaires variés, le trouble est ici strictement localisé aux ostéoclastes. Cette spécificité cellulaire de la cathepsine K semble unique parmi les enzymes lysosomales. Le rôle capital dévolu par la cathepsine K dans la résorption et le remodelage des os ouvre de nombreuses perspectives thérapeutiques, non seulement pour la pycnodysostose, mais aussi pour les ostéoporoses ainsi que pour certaines formes d'arthrites où l'augmentation de la cathepsine libérée par les ostéoclastes risque fort d'être la cause des lésions. Dans ces arthrites, on pourrait envisager une diminution de l'expression du gène, par stratégie ARN-antisens par exemple ou par administration d'un inhibiteur spécifique de la cathepsine K qui jugulerait la résorption osseuse anormale. Dans la pycnodysostose, la découverte du mécanisme pathogénique laisse entrevoir de nouveaux espoirs thérapeutiques : apport d'ostéoclastes normaux par transplantation médullaire, ou par transfert de gène.

S.G.

1. Maroteaux P, Lamy M. La pycnodysostose. *Presse Med* 1962; 70: 999-1002.
2. Gelb BD, Edelson JG, Desnick RJ. Linkage of pycnodystosis to chromosome 1q21 by homozygosity mapping. *Nature Genet* 1995; 10: 235-7.
3. Shi GP, Webb AC, Foster KE, Knoll JH, Lemere CA, Munger JS, Chapman HA. Human cathepsin S: chromosomal localization, gene structure, and tissue distribution. *J Biol Chem* 1994; 269: 11530-6.
4. Jordan B. Le festival des ADNc. *médecine/sciences* 1993; 9: 211-6.
5. Shi GP, Chapman HA, Bhairi SM, De Leeuw C, Reddy VY, Weiss SJ. Molecular cloning of human cathepsin O, a novel endoprotease and homologue of rabbit OC2. *FEBS Lett* 1995; 357: 129-34.
6. Gelb BD, Shi GP, Chapman HA, Desnick RJ. Pycnodysostosis, a lysosomal disease caused by cathepsin K deficiency. *Science* 1996; 273: 1236-8.