

Du rôle du cholestérol dans le syndrome de Smith-Lemli-Opitz et l'holoprosencéphalie

Le syndrome de Smith-Lemli-Opitz, caractérisé cliniquement par une microcéphalie associée à un retard mental, et à de nombreuses dysmorphies, est une maladie à transmission autosomique récessive relativement fréquente (1 pour 20 000 naissances). Ce syndrome a été attribué à un déficit majeur en cholestérol endogène du fait de l'absence d'activité de la 7-déhydrocholestérol- Δ 7-réductase (*m/s* 1995, n° 3, p. 470) indispensable à sa synthèse. L'enzyme humaine, dont l'ADNc vient d'être cloné [1], est une protéine liée à la membrane, d'une masse moléculaire de 55 kDa, possédant 9 domaines transmembranaires [2]. Bien qu'elle soit ubiquitaire, elle se trouve de façon particulièrement abondante dans les glandes surrénales, le foie, les testicules et le cerveau. Le gène *DHCR7* codant pour cette enzyme est localisé sur le chromosome 11q12-13 [2].

Des études de mutations ont été systématiquement effectuées chez des malades présentant cliniquement et biologiquement le syndrome de Smith-Lemli-Opitz [2, 3]. La recherche des mutations a été focalisée dans les régions codantes des exons 3 à 9 et les jonctions des exons 3 à 8. Parmi les 13 malades de la série allemande [2] ne présentant pas de consanguinité, on a trouvé 13 mutations différentes : 10 mutations faux-sens, une mutation non-sens (aboutissant à la formation d'un codon d'arrêt de la traduction) et une mutation sur un accepteur d'épissage ainsi qu'une délétion de 16 paires de bases. Plusieurs de ces mutations faux-sens réduisaient l'expression hétérologue de la protéine de plus de 90 %. La deuxième étude, portant sur les lignées cellulaires issues de 3 malades, mettaient en évidence des

insertions et délétions dans les cinquième et sixième exons. Toutes ces mutations sont uniques et n'ont pas été retrouvées sur les allèles témoins, suggérant donc que des mutations dans le gène *DHCR7* sont bien la cause du syndrome de Smith-Lemli-Opitz [3]. La forme majeure de la maladie se traduit par une holoprosencéphalie, résultat d'une segmentation incomplète du prosencéphale ainsi que d'une déviation de la position axiale des membres et d'un défaut de développement des somites ventraux. Ces défauts entraînent souvent une cyclopie avec une absence de structures de la base du cerveau antérieur, comme les bandelettes optiques, le chiasma optique et l'hypophyse. En 1996, deux équipes montraient que les différents symptômes de l'holoprosencéphalie pouvaient être provoqués par des mutations du gène codant pour le facteur sécrété Sonic hedgehog essentiel au développement du système nerveux central [4, 5]. Les deux voies génétiques conduisant à l'holoprosencéphalie et au syndrome de Smith-Lemli-Opitz se rejoignirent lorsqu'il apparut que la maturation post-traductionnelle de Sonic hedgehog fait intervenir le cholestérol (*m/s* 1997, n° 2, p. 229) [5]. Une interruption dans la synthèse du cholestérol ou dans son transport de la paroi cellulaire au réticulum endoplasmique pouvait donc influencer les voies de transmission intracellulaire du signal responsable du développement embryonnaire du système nerveux.

Effets tératogènes des inhibiteurs de la synthèse du cholestérol

L'utilisation de substances tératogènes capables de provoquer des

holoprosencéphalies a permis de mieux comprendre les mécanismes d'apparition des symptômes. Ainsi, les agneaux de brebis gestantes ayant brouté la plante *Veratrum californicum*, une plante poussant dans les prairies californiennes et renfermant les alcaloïdes cyclopamine et jervine, présentent fréquemment des cyclopies [6]. Ces deux derniers composés ressemblent par leurs structures au cholestérol et la jervine agit comme un inhibiteur distal de la biosynthèse du cholestérol. Cette observation est à rapprocher de l'effet tératogène chez le rat des inhibiteurs distaux de la biosynthèse du cholestérol, triparanol, AY944 ou BM15.766. De même, les embryons de souris déficients en mégaline, un membre de la famille des récepteurs des LDL (*low density lipoprotein*) ont des signes d'holoprosencéphalie [7].

Où les expériences *in vitro* révèlent un autre mode de régulation de la voie Sonic hedgehog

L'effet de ces substances (AY9444, le triparanol, et la cyclopamine) a été étudié *in vitro*, sur un explant de la plaque neurale médiane prélevé juste antérieurement au nœud de Hensen, à l'endroit où la notochorde exprime le signal Sonic hedgehog [6]. L'explant et sa culture sont pratiqués au moment où ne sont pas encore exprimés les marqueurs ventraux HNF3 β (*hepatic nuclear factor-3*, marqueur du plancher) et Isl1 (marqueur des motoneurons). L'induction de ces marqueurs survient normalement après 40 h d'incubation en présence du facteur Sonic hedgehog. Cette induction est inhibée par l'ajout dans le milieu des inhibiteurs de :

jervine, AY9444, triparanol ou cyclo-pamine. Les effets potentiels de ces substances tératogènes sur le mécanisme de synthèse de la protéine Sonic hedgehog ont alors été testés dans des cellules en culture: la protéine Sonic hedgehog est normalement synthétisée même en présence de jervine, de cyclo-pamine, d'AY9444 ou de triparanol. Ces substances ne diminuaient pas la production de Shh-Np, le produit terminal de la synthèse de Sonic hedgehog, comportant un stérol adduit de type cholestérol. Contre toute attente, ces substances ne semblent affecter en rien la maturation post-traductionnelle de la protéine Sonic hedgehog; le peptide amino-terminal Shh-Np est produit en quantité normale et présente un profil de mobilité électrophorétique correspondant à la présence d'un adduit stérolique, et cela même à des doses de substances tératogènes 6 à 50 fois plus élevées que celles nécessaires pour bloquer la voie de signalisation Sonic hedgehog dans les tests biologiques! Il a alors été démontré que les stérols accumulés dans la voie de synthèse du cholestérol en présence des inhibiteurs étaient capables de participer à la maturation de la protéine Sonic hedgehog. Il fallait donc émettre une autre hypothèse concernant le mécanisme du blocage de la réponse tissulaire à Sonic hedgehog par ces molécules qui induisent l'holoprosencéphalie.

La protéine Patched (Ptc), récepteur de Sonic hedgehog qui contrôle la réponse à la voie de signalisation *Shh* dans les tissus, possède un domaine senseur des stérols, dénommé de ce fait DSS [6]. Deux autres protéines possèdent un tel domaine, l'hydroxyméthylglutaryl coenzyme A (HMG-coA) réductase et la SCAP (protéine d'activation du clivage de SREBP) [8]. Ce domaine confère à cette dernière des réponses différentielles à des hautes et basses concentrations de stérols intracellulaires. Il aurait donc une fonction de senseur de concentrations du cholestérol. Une troisième protéine à DSS, la protéine C1 de Niemann-Pick (NPC1) est active dans le transport intracellulaire des stérols [9]. En fait, les substances tératogènes qui inhibent la synthèse

du cholestérol sont aussi responsables d'anomalies du transport intracellulaire des stérols. Elles pourraient donc inhiber la voie de signalisation de Sonic hedgehog par une action sur le domaine DSS de Patched.

Ce que l'on sait aujourd'hui, c'est que le cholestérol ne joue pas simplement un rôle métabolique, notamment dans la synthèse des hormones stéroïdes et des sels biliaires, mais qu'il intervient dans la morphogénèse par ses actions dans la voie de signalisation Hedgehog-Patched. La question se pose donc de savoir si un régime riche en cholestérol chez des femmes risquant d'avoir des enfants atteints d'holoprosencéphalie pourrait être efficace contre l'apparition de ce syndrome. Dans un cas de syndrome de Smith-Lemli-Opitz typique, chez une mère hypercholestérolémique et ayant spontanément donné à sa fille un régime riche en cholestérol, il semble qu'il y ait eu un effet bienfaisant de ce régime essentiellement sur le retard staturo-pondéral, ayant permis à l'enfant une survie plus longue. Un effet bénéfique, mais moins prononcé, était observé également sur le retard psychomoteur [10]. Les blocages de la voie de Hedgehog sont-ils le fait de dérivés stéroliques précis? Peuvent-ils être levés par un traitement médicamenteux?

J.F.R.

1. Moebius FF, Fitzky BU, Lee JN, Paik YK, Glossmann H. Molecular cloning and expression of the human $\Delta 7$ -sterol reductase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 1899-902.
2. Fitzky BU, Witsch-Baumgartner M, Erdel M, Nolee J, Paik YK, Glossmann H, Utermann G, Moebius F. Mutations in the $\Delta 7$ -sterol reductase gene in patients with the Smith-Lemli-Opitz Syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 8181-6.
3. Wassif CA, Maslen C, Kachilele-Linjewile S, Linck LM, Connor WE, Steiner RD, Porter FD. Mutations in the sterol $\Delta 7$ -reductase gene at 11q12-13 cause Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 55-62.
4. Roessler E, Belloni E, Daudenz K, Jay P, Berta P, Scherer SW, Tsui LC, Muencke M. Mutations in the human Sonic hedgehog gene cause holoprosencephaly. *Nat Genet* 1996; 14: 357-60.
5. Chiang C, Litingtung Y, Lee E, Young KE, Gorden JL, Westphal H, Beachy PA. Cyclopia and defective axial patterning in mice lacking Sonic hedgehog gene function. *Nature* 1996; 383: 407-13.
6. Cooper MK, Porter JA, Young KE, Beachy PA. Teratogen-mediated inhibition of target tissue response to *Shh* signaling. *Science* 1998; 280: 1603-7.

7. Willnow TE, Hilpert J, Armstrong SA, Rohmann A, Hammer RE, Burns DK, Herz J. Defective forebrain development in mice lacking gp330/megalin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 8460-4.

8. Kahn A. Régulation transcriptionnelle par le cholestérol: découverte de la protéine sensible, SCAP. *Med Sci* 1997; 13: 374-6.

9. Carstea ED, Morris JA, Coleman KG, et al. Niemann-Pick C1 disease gene: homology to mediators of cholesterol homeostasis. *Science* 1997; 277: 228-31.

10. Strauss E. One-eyed animals implicate cholesterol in development. *Science* 1998; 280: 1528-9.

**41^{es} Journées
de Biologie Clinique
Necker - Institut Pasteur**

**Paris
18-20 janvier 1999**

**COMITÉ
D'ORGANISATION**

Président

Professeur P. KAMOUN
Biochimie, CHU Necker

Secrétaire Général

Docteur J.F. PAYS
Pathologie Parasitaire et Exotique
CHU Necker

Renseignements et inscriptions

Isabelle Van Laethem
Darbon Van Laethem
101, rue Mademoiselle – 75015 Paris, France
Tél. : 01 45 66 53 42 – Fax : 01 47 83 44 88
E-mail: biodvl@wanadoo.fr