

Un nouveau membre de la famille des récepteurs de l'IL1 impliqué dans une forme de retard mental non spécifique lié au chromosome X

Le retard mental (QI < 70) est un problème de santé publique majeur (incidence de 7 à 25/1 000 naissances selon les séries) qui reste encore méconnu, sous-estimé et peu étudié. En effet, parmi les retards mentaux (RM) de l'enfant, de 25 % à 50 % restent inexpliqués après une enquête étiologique exhaustive. Devant ces retards mentaux isolés, inexpliqués, l'absence de point d'appel clinique, radiologique ou biologique spécifique, ne permet actuellement aucun diagnostic précis et, de ce fait, le pronostic cognitif, le projet médico-éducatif et le risque de récurrence restent très incertains.

Il est actuellement admis que 25 % à 50 % des retards mentaux inexpliqués impliqueraient des gènes localisés sur le chromosome X (RMLX, retards mentaux liés à l'X). Grâce à des efforts concertés entre cliniciens, généticiens et biologistes moléculaires, les mystères concernant les bases génétiques et moléculaires des RMLX commencent à être élucidés. Cela est particulièrement notable dans le cadre des RM non-spécifiques (RMX), formes dans lesquelles le retard mental est isolé. En effet, durant les deux dernières années, trois nouveaux gènes de RMX (*oligophrénine-1*, *PAK3* et *GDI1*) ont été identifiés [1]. Les données actuelles suggèrent que les protéines codées par ces gènes semblent intervenir dans la régulation de voies de transduction contrôlant la morphogenèse neuronale, la croissance des neurites ou la plasticité synaptique [1].

Récemment, nous avons identifié un nouveau gène de RMX correspondant au locus situé en Xp22.1-21.3 distal au gène *DMD* (*Duchenne muscular dystrophy*) [2]. Ce gène nommé *IL1RAPL* (*IL1 receptor accessory protein like*) code pour une protéine de 696 acides aminés qui présente une

homologie pour une protéine accessoire du récepteur de l'interleukine-1 (*IL1RAP*) [3]. L'identification de ce gène, outre son utilité dans la prise en charge clinique du RM, apporte la confirmation de l'importance des voies de transduction induites par les cytokines dans le développement des fonctions cognitives [4].

Ce travail de clonage positionnel a été rendu possible par la réduction de l'intervalle critique (environ 500 kb) de ce locus, réduction secondaire à la description de deux micro-délétions familiales de cette région associées à un retard mental non spécifique [5, 6]. Le clonage de la région génomique critique nous a permis d'entreprendre différentes approches à la recherche de séquences exprimées dans ce locus. La sélection d'ADNc ainsi que l'*exon trapping* à partir des PAC (*phage artificial chromosome*) couvrant cet intervalle se sont avérés infructueux. C'est en fait l'étude bioinformatique de la totalité de la séquence génomique (*Sanger Centre*, Cambridge, GB) correspondant à la région critique qui a constitué le point de départ du clonage d'un gène candidat dans ce locus. En effet, parmi la centaine d'exons potentiels prédits (logiciels FEXH et HEXON) à partir de la séquence du PAC 127f18, trois avaient une homologie significative avec ceux codant pour une protéine accessoire du récepteur de l'IL1 (*IL1RAP*) [3]. La confirmation de la réalité biologique de ces trois exons ainsi que leur disposition ordonnée au sein d'un même gène ont été obtenues par des expériences de RT-PCR à partir d'ARN de cerveau fœtal. L'hybridation sur *Northern blot* du fragment de RT-PCR correspondant à ces trois exons nous a permis de mettre en évidence l'existence de deux transcrits de 9,5 et 6,5 kb principalement exprimés dans le cerveau adulte et fœtal humain. Grâce à la combinaison de

différentes approches (criblages de banques d'ADNc, RACE-PCR 5' et 3', RT-PCR et hybridations sur *Northern blot*), nous avons identifié et caractérisé ces deux transcrits qui présentent respectivement des ORF (*open reading frame*) de 2088 et 783 nucléotides. La comparaison des séquences de ces ADNc avec les banques de données, combinée à des hybridations sur *Southern blot* de YAC (*yeast artificial chromosome*) et PAC de la région, nous a permis de déterminer la structure exon-intron des deux isoformes. Nous avons pu ainsi définir que ce nouveau gène, appelé *IL1RAPL*, était constitué de 11 exons (10 codants) s'étendant sur une région génomique supérieure à 1,5 Mb.

Afin de démontrer l'implication du gène *IL1RAPL* dans le retard mental, nous avons recherché les arguments permettant d'établir le lien irréfutable entre l'existence d'anomalies de ce gène et le retard mental au niveau de ce locus. Ainsi, dans un premier temps, nous avons reconstitué la carte des délétions de la région, qu'elles soient associées ou non à un retard mental [2, 5, 6]. De cette analyse, nous avons conclu qu'il existe une corrélation parfaite entre l'existence d'un retard mental et la délétion de tout ou partie du territoire génomique occupé par ce gène. Dans un deuxième temps, nous avons entrepris la recherche de mutations ponctuelles de ce gène chez des sujets présentant un retard mental non spécifique. Au cours de ce criblage, nous avons identifié une mutation non sens, Y(459)X, chez un garçon appartenant à une famille de petite taille pour laquelle l'étude de liaison n'avait pas été réalisée. L'étude de l'ensemble de la famille a permis de montrer que cette mutation co-ségrégait parfaitement avec le retard mental [2].

Du fait d'un épissage alternatif du transcrit plein longueur, le gène *IL1RAPL* code pour deux protéines de 696 et 261 acides aminés. Chacune présente une homologie de séquence (52 %), mais aussi de structure, avec les deux isoformes connues de la protéine accessoire du récepteur de l'IL1 [3]. Ainsi, la protéine de 696 acides aminés (80 kDa) possède la même organisation que son homologue IL1RAP avec une portion extracellulaire comportant trois domaines de type immunoglobuline, un segment transmembranaire et un domaine de type Toll [7], caractéristique de la famille des récepteurs de l'IL1, dans la partie intracellulaire. De plus, cette isoforme possède un segment carboxy-

terminal de 150 acides aminés ne présentant aucune homologie dans les banques de données. La protéine de 261 acides aminés (30 kDa) est, quant à elle, dépourvue de segment transmembranaire et pourrait correspondre à une forme soluble, comme cela a aussi été décrit pour l'IL1RAP. L'ensemble de ces données suggère donc que l'IL1RAPL fait partie de la famille des protéines accessoires du récepteur de l'IL1. D'un point de vue biologique, l'étude de ces protéines a permis de leur assigner une fonction d'adaptateur entre le récepteur de l'IL1, dont elles augmentent par ailleurs l'affinité pour l'IL1, et l'IRAK-1 [8] (kinase associée au récepteur de l'IL1) qui constitue le point de départ intracellulaire de la

cascade de transduction du signal dépendant de cette cytokine et aboutissant à l'activation des facteurs de transcription AP1 et NF- κ B [9]. Il est intéressant de noter qu'en marge des propriétés pro-inflammatoires de l'IL1 [10], il a aussi été suggéré que cette interleukine puisse être impliquée dans la régulation des processus d'apprentissage et de mémorisation en modulant l'activité neuronale au niveau de l'hippocampe [4, 11, 12]. Ces données sur le rôle potentiel de l'IL1 dans la physiologie du système nerveux central sont particulièrement intéressantes au vu des résultats que nous avons obtenus lors de l'étude, chez la souris, de l'expression cérébrale de l'homologue murin de l'*IL1RAPL* (figure 1). En effet, le

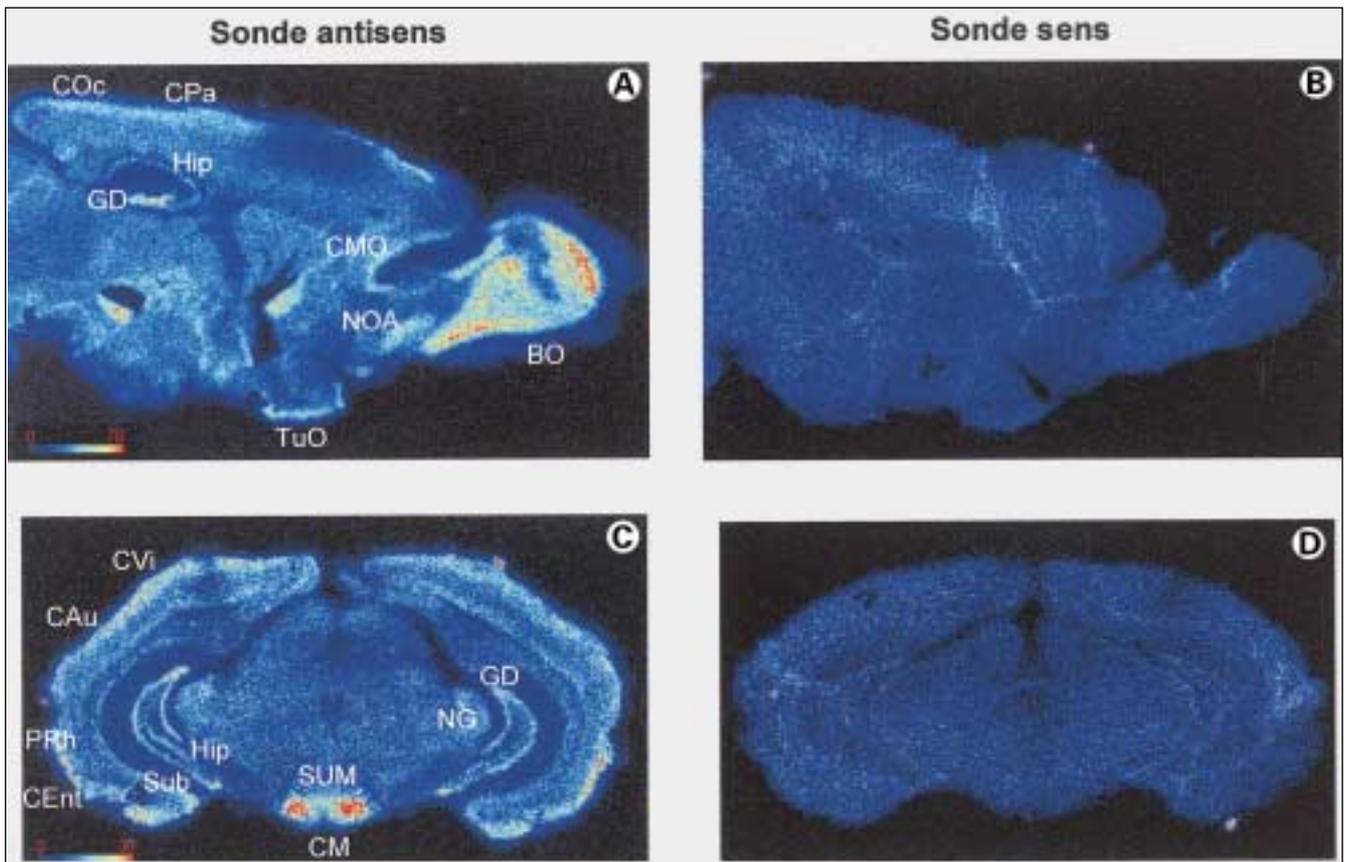


Figure 1. **Étude de l'expression d'IL1RAPL par hybridation in situ.** Après clonage de l'homologue murin d'IL1RAPL, nous avons étudié le profil d'expression cérébral du transcrit de ce gène sur des coupes de cerveau de souris adultes, sagittales (A-B) et frontales (C-D). Les images présentées dans cette figure correspondent à des autoradiogrammes digitalisés [17] obtenus après hybridations de ribo-sondes sens et antisens d'IL1RAPLm marquées au 35 S. BO: bulbe olfactif; NOA: noyaux olfactifs antérieurs; TuO: tubercule olfactif; CMO: cortex médial-orbital; Hip: hippocampe; GD: gyrus denté; Cpa: cortex pariétal; Coc: cortex occipital; Cvi: cortex visuel; Cau: cortex auditif; PRh: cortex périorhinal; Cent: cortex entorhinal; Sub: subicullus; CM: corps mammillaires; SUM: noyaux supra-mammillaires; NG: noyaux géniculés.

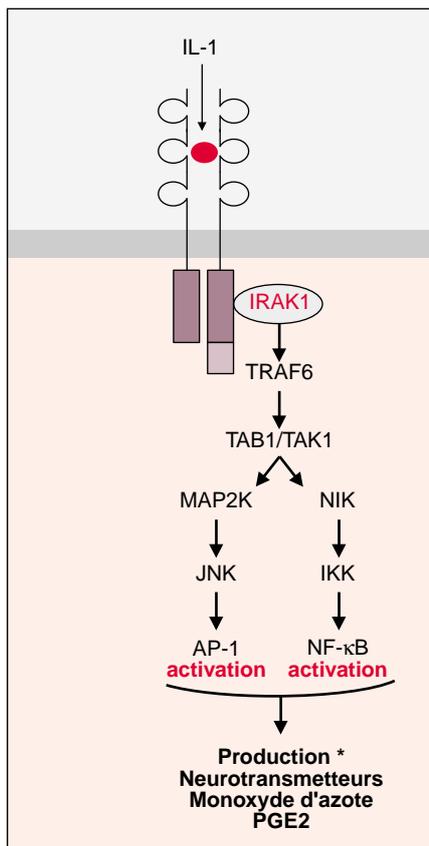


Figure 2. **Rôle potentiel de l'IL1RAPL dans la physiologie du système nerveux central.** Le schéma que nous proposons s'inspire de l'état actuel des connaissances sur la cascade de transduction du signal dépendant de l'IL1 [8, 9]. Les deux hypothèses (*) que nous émettons sont, d'une part, que l'IL1RAPL puisse effectivement jouer le rôle de protéine accessoire du récepteur de type I de l'IL1 (IL1RI) et que, d'autre part, cette voie de signalisation soit impliquée dans la régulation de la sécrétion d'effecteurs biologiques au niveau du système nerveux central.

maximum d'expression du transcrite de ce gène a été retrouvé au niveau de structures correspondant à la formation hippocampique (hippocampe et gyrus denté, cortex entorhinal, cortex périrhinal et subicullus) impliquée dans les processus de mémorisation [13] ainsi que dans les corps mammillaires et les noyaux supra-mammillaires eux-mêmes connectés par des voies ascendantes et descendantes avec la formation hippocampique [14]. Par ailleurs, l'IL1RAPL est fortement exprimé au niveau du

bulbe olfactif, ce qui pourrait être en rapport avec le rôle prépondérant des perceptions olfactives dans le développement comportemental des mammifères inférieurs.

Même s'il est trop tôt pour connaître la fonction précise de l'IL1RAPL, nos résultats, combinés aux données de la littérature, semblent conférer à ce gène un rôle dans les processus de mémorisation *via* la voie de signalisation de l'IL1. A partir de cette hypothèse, il est possible d'imaginer un mécanisme physiopathologique permettant d'expliquer l'apparition du déficit cognitif en cas d'anomalie de ce gène (figure 2). Ainsi, une perte de fonction de l'IL1RAPL pourrait entraîner des perturbations de la cascade de transduction activant le facteur NF- κ B [9]. Cette voie est connue pour être impliquée dans la régulation de la sécrétion du monoxyde d'azote [15], qui est considéré comme un messager secondaire pouvant avoir un rôle dans la plasticité synaptique et la formation du LTP (*long term potentiation*) [16]. Or, il apparaît que ces phénomènes semblent constituer le support physiologique de la mémoire au niveau des structures de la formation hippocampique [13, 16]. L'étude du lien entre LTP et processus d'apprentissage et de mémorisation est une des grandes perspectives de la recherche en neurobiologie. Ainsi, outre les retombées médico-sociales pour les patients présentant un retard mental (amélioration du diagnostic et conseil génétique), l'identification du gène IL1RAPL représente une nouvelle avancée qui devrait contribuer au décryptage des bases moléculaires du déficit cognitif.

1. Chelly J. Breakthroughs in molecular and cellular mechanisms underlying X-linked mental retardation. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 1833-8.
2. Carrié A, Jun L, Bienvenu T, *et al.* A new member of the IL-1 receptor family highly expressed in the hippocampus and involved in X-linked mental retardation. *Nat Genet* 1999; 23: 25-31.
3. Greenfeder SA, Nunes P, Kwee L, Labow M, Chizzonite RA, Ju G. Molecular cloning and characterization of a second subunit of the interleukin 1 receptor complex. *J Biol Chem* 1995; 270: 13757-65.
4. Bianchi M, Sacerdote P, Panerai AE. Cytokines and cognitive functions in mice. *Biol Signals Recept* 1998; 7: 45-54.
5. Raeymakers P, Lin J, Gu XX, *et al.* A form of non-specific mental retardation is probably caused by a microdeletion in a Belgian family. *Am J Med Genet* 1996; 64: 16.

6. Billuart P, Vinet MC, des Portes V, *et al.* Identification by STS PCR screening of a microdeletion in Xp21.3-22.1 associated with non-specific mental retardation. *Hum Mol Genet* 1996; 7: 977-9.
7. Kopp EB, Medzhitov R. The toll-receptor family and control of innate immunity. *Curr Opin Immunol* 1999; 11: 13-8.
8. Huang I, Gao X, Li S, Cao Z. Recruitment of IRAK to the interleukin 1 receptor complex requires interleukin 1 receptor accessory protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 12829-32.
9. Ninomiya-Tsuji J, Kishimoto K, Hiyama A, Inoue J, Cao Z, Matsumoto K. The kinase TAK1 can activate the NIK-I κ B as well as the MAP kinase cascade in the IL-1 signalling pathway. *Nature* 1999; 398: 252-6.
10. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 1996; 87: 2095-147.
11. Katsuki H, Nakai S, Hiray Y, Akaji K, Kiso Y, Satoh M. Interleukin-1 inhibits long-term potentiation in CA3 region of mouse hippocampal slices. *Eur J Pharmacol* 1990; 181: 323-6.
12. Rada P, Mark JP, Vitek MP, *et al.* Interleukin-1B decreases acetylcholine measured by microdialysis in the hippocampus of freely moving rats. *Brain Res* 1991; 550: 287-90.
13. Milner B, Squire LR, Kandel ER. Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron* 1998; 20: 445-68.
14. Kocsis B, Vertes RP. Characterization of neurons of the supramammillary nucleus and mammillary body that discharge rhythmically with the hippocampal θ rhythm in the rat. *J Neurosci* 1994; 14: 7040-52.
15. Da Silva J, Pierrat B, Mary JL, Lesslauer W. Blockade of p38 Mitogen-activated protein kinase pathway inhibits inducible nitric-oxide synthase expression in mouse astrocytes. *J Biol Chem* 1997; 272: 28373-280.
16. Bliss TVP, Collingridge LG. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 1993; 361: 31-9.
17. Crumeyrolle-Arias M, Jafarian-Tehrani M, Cardona A, *et al.* Radioimagers as an alternative to film autoradiography for *in situ* quantitative analysis of 125I-ligand receptor binding and pharmacological studies. *Histochem J* 1996; 28: 801-9.

**Alain Carrié
Jamel Chelly**

Inserm U.129, ICGM, CHU Cochin-Port-Royal, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

Remerciements

Nous remercions les patients ainsi que leurs familles pour leur participation à cette étude; les membres de notre équipe qui ont contribué à ce travail, Chérif Beldjord, Thierry Bienvenu, Pierre Billuart, Philippe Couvert, Fabien Fauchereau, Fiona Francis, Gaëlle Friocourt, Nathalie McDonnell, Vincent des Portes, Marie-Claude Vinet et Ramzi Zemni ainsi que Ana Cardona du Laboratoire de technologies cellulaires de l'Institut Pasteur de Paris. Ce travail a été réalisé grâce aux fonds de l'Inserm, de l'Association française contre les myopathies et de la Fondation Jérôme-Lejeune.