

## Syndromes de délétion en 22q11 : fin d'enquête en vue ?

On l'a vu ici-même il y a peu (*m/s* 1999, n° 1, p. 129), la question lancinante du ou des gènes responsables des manifestations cliniques associées à des délétions hétérozygotes du bras long du chromosome 22 n'est pas résolue. Une publication récente [1] projette cependant un éclairage tout à fait nouveau sur le paysage. Rappelons que le syndrome de DiGeorge et d'autres maladies par haplo-insuffisance qui en sont cliniquement proches, tel le syndrome vélo-cardio-facial (*m/s* 1999, n° 1, p. 129), associent des malformations d'organes et de tissus – cœur et gros vaisseaux, thymus, glandes thyroïde et parathyroïdes, face et voile du palais – qui, embryologiquement, sont issus de cellules de la crête neurale dans la région rhombencéphalique postérieure [2]. Ces syndromes s'observent le plus souvent de façon sporadique, mais aussi dans de petites familles où la transmission s'effectue sur le mode autosomique dominant et s'accompagne d'une expressivité variable.

Plus de 80 % des malades, et environ un nouveau-né sur 4000, présentent une délétion interstitielle d'environ 3 millions de paires de bases dans la région chromosomique 22q11.2. Cette région communément délétée a été l'objet de recherches acharnées qui ont permis d'isoler différents gènes par clonage positionnel. Puis, sa séquence nucléotidique ayant été entièrement déterminée, plusieurs nouveaux gènes ont été identifiés par analyse de la séquence génomique. C'est un catalogue de plus de vingt-cinq gènes, réduits à une seule dose chez la grande majorité des malades, qui fournit la liste des principaux « suspects ». L'approche classique pour les « interroger » consiste à examiner pour chacun de ces candidats

son profil d'expression au cours du développement embryonnaire et sa fonction présomptive. Selon le résultat de ces investigations, une invalidation de l'homologue murin est tentée dans l'espoir d'obtenir – et de préférence à l'état hétérozygote – un phénotype proche des syndromes décrits chez l'homme. Cette démarche, lourde, n'est pas sans déception : ainsi, le gène *GSCL* (*goosecoid-like*), qui apparaissait comme un candidat très sérieux du fait de son profil d'expression chez l'embryon de souris et de sa ressemblance avec un gène important dans le développement de l'embryon de xénope, semble maintenant hors de cause puisque son invalidation, même homozygote, s'est avérée sans conséquence sur le déroulement de l'embryogenèse [3, 4].

Au sein des cardiopathies congénitales – une des causes majeures de mortalité fœtale et néonatale – les malformations dites cono-troncales résultent de défauts affectant les cellules de la crête neurale « cardiaque », c'est-à-dire celles qui vont contribuer au développement du cœur et des gros vaisseaux de la base du cœur. Qu'elles soient observées isolément ou dans le cadre d'un syndrome de délétion en 22q11, ces malformations congénitales pourraient résulter de mécanismes moléculaires communs [5] qui impliqueraient divers facteurs de transcription (*figure 1*). Le gène *HOXA3* qui appartient à la famille HOX, une famille de gènes essentiels pour l'embryogenèse [6], code pour une protéine à homéodomaine qui est exprimée dans les cellules originaires de la crête neurale dans la région des troisième et quatrième arcs branchiaux. L'invalidation homozygote du gène *HOXA3* – l'une des premières à avoir été pratiquées – avait produit des

souriceaux qui mouraient peu après la naissance avec un syndrome tout à fait comparable au syndrome de DiGeorge [7], mais le gène homologue humain, localisé sur le chromosome 7, ne semble impliqué dans aucune maladie. Le gène *PAX3* code pour un autre facteur de transcription à homéodomaine ; il est impliqué dans des malformations dues à des défauts des dérivés de la crête neurale. Une haplo-insuffisance de *PAX3* est associée aux types I et III du syndrome de Waardenburg (*m/s* 1995, n° 1, p. 133) chez l'homme et le gène murin est délété dans les souches murines mutantes naturelles *plotch* ; chez ce rongeur, la délétion homozygote est létale au jour embryonnaire 13,5, les embryons montrant une forte diminution du nombre de cellules de la crête neurale cardiaque [8]. D'autres invalidations homozygotes (*figure 1B*) produisent des effets semblables. Des souris qui n'expriment pas un petit peptide sécrété, l'endothéline-1 (ET-1) – que l'invalidation porte sur le gène codant pour son précurseur [9], ou celui codant pour la protéase de maturation [10] – montrent des interruptions de la crosse aortique, des anomalies des artères sous-clavières et d'autres anomalies de la région cono-troncale (*m/s* 1995, n° 8, p. 1172). L'invalidation du gène *ETA* qui code pour le récepteur heptamembranaire d'ET-1 reproduit le même type de malformations cardiovasculaires [11]. A l'opposé des souris *PAX3*<sup>-/-</sup>, les souris dont le système endothéline-1 a été inactivé ne montrent pas de défaut de migration des cellules de la crête neurale cardiaque, ce qui place la voie de signalisation ET-1/ET<sub>A</sub> à une étape postérieure dans la cascade moléculaire de l'organogenèse cardiaque (*figure 1B*).

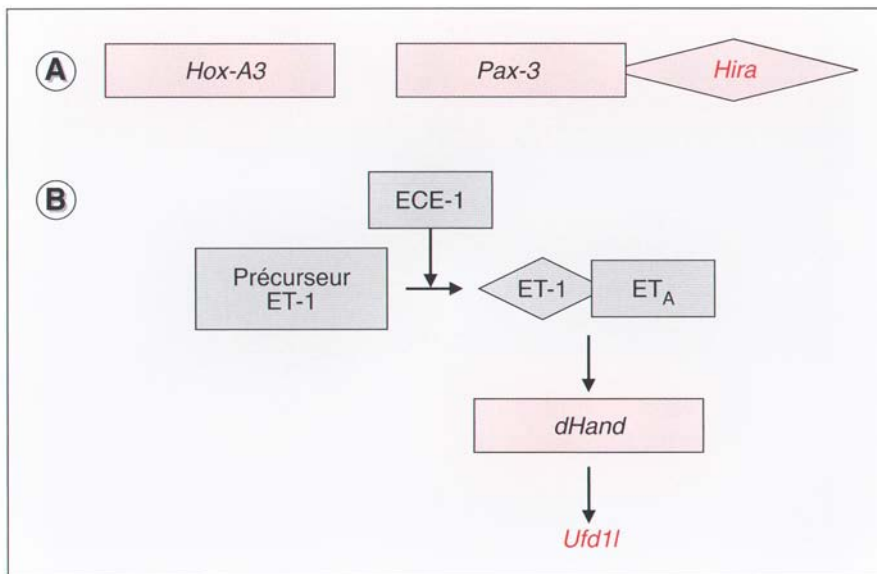


Figure 1. **Quelques molécules intervenant dans le devenir de la crête neurale rhombencéphalique.** Les protéines indiquées en noir ont été impliquées dans la migration ou la différenciation des cellules de la crête neurale ; celles indiquées en rouge, sont produites à partir de la région en 22q11.2 communément délétée dans le syndrome de DiGeorge et le syndrome vélo-cardio-facial. Les rectangles signalent que la délétion homozygote des gènes indiqués entraîne des malformations dans les dérivés de la crête neurale, comparables à celles des syndromes de délétion en 22q11.2, les losanges qu'une interaction protéique directe a été démontrée. Les régulateurs transcriptionnels sont sur fond rose. **A.** L'homogène *Hox-A3* est exprimé dans la région des troisième et quatrième arcs branchiaux. *Pax-3*, un autre facteur de transcription à homéodomaine, intervient dans la phase de migration des cellules de crête neurale ; il interagit directement avec *Hira* [30], une protéine susceptible comme ses homologues de levure de régler la transcription via un impact sur la chromatine [32]. **B.** Dans la phase postmigratoire, l'interaction *ET-1/ET<sub>A</sub>* induit l'expression du gène *dHAND* (et de *eHAND* qui n'est pas représenté ici). L'expression du gène *UFD1L* dépend à son tour de l'activité du facteur de transcription *dHand* [1].

Ce sont des recherches fondamentales menées à l'Université du Texas (Dallas, TX, USA) qui débouchent aujourd'hui sur un épisode supplémentaire, mais peut-être capital, de ce long feuilleton. En tentant de cloner de façon systématique de nouveaux facteurs de transcription de type basique-hélice-boucle-hélice, Olson, Srivastava et leurs collègues avaient isolé les gènes *dHAND* et *eHAND* qui jouent tous deux un rôle critique dans la morphogénèse cardiaque (*m/s* 1998, n° 6/7, p. 802). Le gène *dHAND* est normalement exprimé à proximité immédiate des sites d'expression de l'endothéline-1 dans les arcs branchiaux et son expression est diminuée chez les souris ne produisant pas d'endothéline-1

[12], ce qui place *dHAND* en aval du système *ET-1* (figure 1B). Chez les souris recombinantes *dHAND*<sup>-/-</sup>, des anomalies des cellules de la crête neurale cardiaque produisent une insuffisance cardiaque létale à 10,5 jours de vie embryonnaire avec des malformations cardiovasculaires proches de celles observées dans le syndrome de DiGeorge [13]. Cette découverte a poussé Srivastava et ses collègues à rechercher des cibles potentielles de la protéine *dHand*. Pour ce faire, ils ont appliqué une technique d'hybridation soustractive qui leur a permis de cloner des ADNc représentatifs de gènes exprimés chez les souris sauvages à 9,5 jours de vie embryonnaire mais pas chez les souris *dHAND*<sup>-/-</sup> du même âge [1]. Parmi les cibles qu'ils

ont identifiées figure *UFDIL* dont le profil d'expression recoupe celui de *dHAND*, en particulier dans la région des arcs branchiaux et des artères des arcs aortiques [1, 14]. Or, *UFDIL* est l'un des gènes systématiquement réduits à l'hémizygotie chez les malades porteurs de la délétion commune en 22q11, ce qui le mettait immédiatement sous le feu de la rampe. Un indice supplémentaire renforce les soupçons qui pèsent désormais sur *UFDIL*: en effet, analysant la structure du gène chez des malades syndromiques sans délétion apparente, Srivastava et ses collègues ont identifié une délétion de 20 kb qui avait emporté les trois premiers des douze exons du gène *UFDIL* chez un nouveau-né présentant un syndrome de DiGeorge typique [1]. Quelle est la fonction du produit de ce gène ? Chez *Saccharomyces cerevisiae*, la protéine homologue *Ufd1p* (elle présente 33 % de résidus identiques avec la protéine humaine) est nécessaire à la viabilité de la levure et elle est impliquée dans la voie de dégradation des protéines ubiquitiny-lées. Il faut maintenant patienter pour savoir si, chez les mammifères, la fonction primordiale de la protéine *Ufd1l* réside également dans la dégradation des protéines via le protéasome et surtout si un défaut de production de cette protéine – déficit pour lequel on pourrait imaginer un effet extrêmement pléiotropique – peut réellement rendre compte de l'apparition d'anomalies dans un territoire embryologique relativement restreint. Nul doute que l'invalidation du gène murin est déjà en cours de réalisation et que l'état des embryons hétérozygotes *UFDIL*<sup>+/-</sup> sera examiné avec une attention extrême.

Un gène du syndrome de DiGeorge a-t-il enfin été identifié ? Dans l'éditorial de *Science* qui accompagne cette publication [15], comme dans le commentaire publié dans *Nature Genetics* [16], les exclamations restent modérées. Certes, une cascade moléculaire comprenant l'endothéline-1, son récepteur membranaire *ET<sub>A</sub>* et l'activation du gène *UFDIL* semble établie (figure 1B). Mais est-ce bien là toute la réponse ? La recherche de mutations du gène chez d'autres

malades sans délétions bat son plein, sans succès jusqu'à présent. Une certaine prudence reste donc de mise ; d'autant que, chez cette malade unique, la délétion a également emporté la partie 5' du gène adjacent, le gène *CDC45L* (figure 2). *CDC45L* est l'homologue chez l'homme d'un gène essentiel pour le démarrage de la réplication de l'ADN dans la levure *S. cerevisiae* [16]. Il faut aussi rappeler que la délétion affectant *UFD1L* n'est pas le premier exemple de réarrangement chromosomique observé dans la région 22q11 en association avec un phénotype DiGeorge, puisqu'ont précédemment été clonés les points de cassure de deux translocations équilibrées impliquant cette région chez des malades présentant un phénotype DiGeorge au moins partiel et en l'absence de microdélétion. Les résultats de ces clonages n'ont en définitive apporté de données convaincantes ni dans le premier cas (translocation transmise dans la famille ADU) où aucune protéine anormale ne semble avoir résulté de la translocation [18-20], ni dans le second cas malgré l'identification, au point de cassure sur le chromosome 22, du gène *CLTD* qui code pour une protéine semblable à la chaîne lourde de la clathrine [21]. Par ailleurs, le phénotype DiGeorge pourrait également s'observer en association avec une microdélétion intéressant un fragment différent de la région 22q11, situé en position plus télomérique et sans aucun che-

vauchement avec la délétion habituelle [22].

Si les syndromes de délétion en 22q11 sont réellement des syndromes de gènes contigus [23], l'examen des gènes situés en position immédiatement centromérique – à moins de 50 kb – par rapport à *UFD1L/CDC45L* (figure 2) pourrait apporter d'autres informations. Le gène *HIRA* que nous avons caractérisé [24, 25] et le gène *NLVCF* [26] voient leur transcription débutée à moins d'un kilobase l'un de l'autre. Ils partagent entre eux, et avec *UFD1L*, un profil d'expression assez semblable au cours de l'embryogenèse. *HIRA*, en outre, est exprimé dans les cellules de la crête neurale cardiaque [27, 28]. Il apparaît donc que plusieurs gènes situés dans un fragment de plusieurs centaines de kilobases de cette région du chromosome 22q pourraient être soumis à une régulation transcriptionnelle commune au cours de l'embryogenèse [29], peut-être du fait d'une structure particulière de la chromatine dans cette région. Par ailleurs – est-ce une coïncidence ? – la protéine Hira forme un complexe avec le facteur de transcription Pax3 (figure 1A) et on peut les co-immunoprécipiter à partir d'explants de crête neurale [30]. Chez l'embryon de poulet, une technique classique d'exploration de la crête neurale consiste à procéder à des ablations expérimentales. Une telle expérience, appliquée à la crête neurale rhombencéphalique, reproduit les anomalies du syndrome de

DiGeorge. Si on procède maintenant à des expériences d'atténuation d'expression du gène *HIRA* en manipulant des cellules de crête neurale d'embryons de poulet *ex ovo* avant de les réimplanter dans l'animal non traité, on obtient un taux élevé de persistance de tronc artériel commun [31], l'une des principales malformations cardiaques dans les syndromes de délétion en 22q11. L'invalidation en cours du gène *HIRA*, dont les résultats ne sont pas encore disponibles, sera évidemment intéressante à examiner dans le détail.

Ainsi, il se pourrait bien que le gène *UFD1L* ne soit qu'un des coupables dans une association de gènes malfaitteurs localisés à proximité l'un de l'autre sur le chromosome 22 et dont chacun porterait un degré de responsabilité dans la genèse du syndrome de DiGeorge et des autres syndromes de délétion en 22q11. Cependant, à la différence d'autres syndromes de gènes contigus comme le syndrome de Williams ou le syndrome de Langer-Giedion, dans lesquels il est clairement possible de relier les différentes anomalies observées à la perte de tel ou tel gène [23], la situation reste ici encore confuse et un complément d'enquête s'impose ■

#### Remerciements

Notre travail bénéficie du soutien de l'organisation *Human Frontiers Science Program* et de l'Association pour la Recherche sur le Cancer. Merci également à Joëlle Wiels pour ses commentaires sur ce manuscrit.

#### RÉFÉRENCES

1. Yamagishi H, Garg V, Matsuoka R, Thomas T, Srivastava D. A molecular pathway revealing a genetic basis for human cardiac and craniofacial defects. *Science* 1999 ; 283 : 1158-61.
2. Couly G, Coltey P, Chéron G, Abadie V, Martelli H, Le Douarin N. Rhombomères, code Hox, crête neurale et malformations de la face. *Med Sci* 1994 ; 10 : 151-62.
3. Wakamiya M, Lindsay EA, Rivera-Pérez JA, Baldini A, Behringer RR. Functional analysis of *Gscl* in the pathogenesis of the DiGeorge and velocardiofacial syndromes. *Hum Mol Genet* 1998 ; 7 : 1835-40.

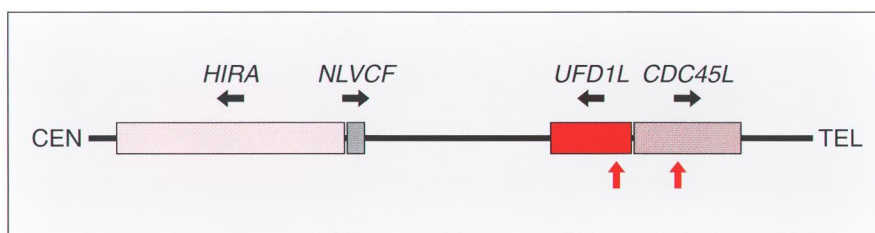


Figure 2. **Partie de la région communément réduite à l'hémizygotie dans les syndromes de délétion en 22q11.2.** Ce fragment génomique d'environ 250 kilobases contient les gènes *HIRA*, *NLVCF*, *UFD1L* et *CDC45L* dont les trois premiers ont une expression, réglée au cours de l'embryogenèse, évocatrice des anomalies observées chez les malades syndromiques. La taille des rectangles reflète celle des gènes. Les quatre gènes sont transcrits (flèches noires) de façon divergente, deux à deux, à partir de courtes régions 5' communes. Les flèches rouges indiquent la position approximative des extrémités de la délétion de 20 kb observée dans un cas unique de syndrome de DiGeorge [1].

## RÉFÉRENCES

4. Saint-Jore B, Puech A, Heyer J, *et al.* *Goo-seoid-like (Gscl)*, a candidate gene for velo-cardiofacial syndrome, is not essential for normal mouse development. *Hum Mol Genet* 1998 ; 7 : 1841-9.
5. Bonnet D, Rauzier JM, Bouvagnet P, Sidi D. Génétique des cardiopathies congénitales et des cardiopathies héréditaires non myocardiques. *Med Sci* 1998 ; 14 : 1045-53.
6. Benucci A, Urier G, Gérard M, Duboule D. Contrôle des gènes Hox au cours du développement des vertébrés : apport de la transgénèse. *Med Sci* 1993 ; 9 : 157-64.
7. Chisaka C, Capecchi MR. Regionally restricted developmental defects resulting from targeted disruption of the mouse homeobox gene *hox-1.5*. *Nature* 1991 ; 350 : 473-9.
8. Conway SJ, Henderson DJ, Copp AJ. *Pax3* is required for cardiac neural crest migration in the mouse : evidence from the *spotch (Sp<sup>2H</sup>)* mutant. *Development* 1997 ; 124 : 505-14.
9. Kurihara Y, Kurihara H, Oda H, *et al.* Aortic arch malformations and ventricular septal defect in mice deficient in endothelin-1. *J Clin Invest* 1995 ; 96 : 113-27.
10. Yanagisawa H, Yanagisawa M, Kapur RP, *et al.* Dual genetic pathways of endothelin-mediated intercellular signaling revealed by targeted disruption of endothelin converting enzyme-1 gene. *Development* 1998 ; 125 : 825-36.
11. Clouthier DE, Hosoda K, Richardson JA, *et al.* Cranial and cardiac neural crest defects in endothelin-A receptor-deficient mice. *Development* 1998 ; 125 : 813-24.
12. Thomas F, Kurihara H, Yamagishi H, *et al.* A signalling cascade involving endothelin-1, dHAND and Msx1 regulates development of neural crest-derived branchial arch and mesenchyme. *Development* 1998 ; 125 : 3005-14.
13. Srivastava D, Thomas T, Lin Q, Kirby ML, Brown D, Olson EN. Regulation of cardiac mesodermal and neural crest development by the bHLH transcription factor, dHAND. *Nat Genet* 1997 ; 16 : 154-60.
14. Srivastava D, Cserjesi P, Olson EN. A subclass of bHLH proteins required for cardiac morphogenesis. *Science* 1995 ; 270 : 1995-9.
15. Hagmann M. A gene that scrambles your heart. *Science* 1999 ; 283 : 1091-2.
16. Baldini A. Is the genetic basis of DiGeorge syndrome in HAND? *Nat Genet* 1999 ; 21 : 246-7.
17. Saha P, Thome KC, Yamaguchi R, Hou Z, Weremowicz S, Dutta A. The human homolog of *Saccharomyces cerevisiae* CDC45. *J Biol Chem* 1998 ; 273 : 18205-9.
18. Demczuk S, Aledo R, Zucman J, *et al.* Cloning of a balanced translocation breakpoint in the DiGeorge syndrome critical region and isolation of a novel potential adhesion receptor gene in its vicinity. *Hum Mol Genet* 1995 ; 4 : 551-8.
19. Wadley R, Daw S, Taylor C, *et al.* Isolation of a gene encoding an integral membrane protein from the vicinity of a balanced translocation breakpoint associated with DiGeorge syndrome. *Hum Mol Genet* 1995 ; 4 : 1027-33.
20. Budarf ML, Collins J, Gong W, *et al.* Cloning a balanced translocation associated with DiGeorge syndrome and identification of a disrupted candidate gene. *Nat Genet* 1995 ; 10 : 269-78.
21. Holmes SE, Riaz MA, Gong W, *et al.* Disruption of the clathrin heavy chain-like gene (CLTCL) associated with features of DGS/VCFs : a balanced (21:22)(p12;q11) translocation. *Hum Mol Genet* 1997 ; 6 : 357-67.
22. Kurahashi H, Tsuda E, Kohama R, *et al.* Another critical region for deletion of 22q11 : a study of 100 patients. *Am J Med Genet* 1997 ; 72 : 180-5.
23. Budarf ML, Emanuel BS. Progress in the autosomal segmental aneusomy syndromes (SASs) : single or multi-locus disorders? *Hum Mol Genet* 1997 ; 6 : 1657-65.
24. Lamour V, Lécluse Y, Desmaze C, *et al.* A human homolog of the *S. cerevisiae* HIR1 and HIR2 transcriptional repressors cloned from the DiGeorge syndrome critical region. *Hum Mol Genet* 1995 ; 4 : 791-9.
25. Lorain S, Demczuk S, Lamour V, *et al.* Structural organization of the WD repeat protein-encoding gene HIRA in the DiGeorge syndrome critical region of human chromosome 22. *Genome Res* 1996 ; 6 : 43-50.
26. Funke B, Puech A, Saint-Jore B, Pandita R, Skoultchi AI, Morrow B. Isolation and characterization of a human gene containing a nuclear localization signal from the critical region for velo-cardio-facial syndrome on 22q11. *Genomics* 1998 ; 53 : 146-54.
27. Wilming LG, Snoeren CAS, Van Rijswijk A, Grosveld F, Meijers C. The murine homologue of HIRA, a DiGeorge syndrome candidate gene, is expressed in embryonic structures affected in human CATCH22 patients. *Hum Mol Genet* 1997 ; 6 : 247-59.
28. Roberts C, Daw S, Halford S, Scambler PJ. Cloning and developmental expression analysis of chick Hira (Chira), a candidate gene for DiGeorge syndrome. *Hum Mol Genet* 1997 ; 6 : 237-46.
29. Dallapiccola B, Pizzuti A, Novelli G. How many breaks do we need to CATCH on 22q11? *Am J Hum Genet* 1996 ; 59 : 7-11.
30. Magnaghi P, Roberts C, Lorain S, Lipinski M, Scambler PJ. HIRA, a mammalian homologue of *Saccharomyces cerevisiae* transcriptional co-repressors, interacts with Pax3. *Nat Genet* 1998 ; 20 : 74-7.
31. Farrell MJ, Stadt H, Wallis KT, *et al.* HIRA, a DiGeorge syndrome candidate gene, is required for cardiac outflow tract septation. *Circ Res* 1999 ; 84 : 127-35.
32. Lorain S, Quivy JP, Monier-Gavelle F, *et al.* Core histones and HIRIP3, a novel histone-binding protein, directly interact with WD repeat protein HIRA. *Mol Cell Biol* 1998 ; 18 : 5546-56.

### Marc Lipinski

Directeur de recherche au Cnrs.  
Cnrs UMR 1598, Institut Gustave-Roussy, 39, rue Camille-Desmoulins, 94805 Villejuif Cedex, France.

### TIRÉS À PART

M. Lipinski.