

## De la souris à l'homme : la périaxine responsable d'une forme autosomique récessive de la maladie de Charcot-Marie-Tooth

La maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) est la plus fréquente des neuropathies périphériques héréditaires avec une prévalence d'environ 1/2 500 [1]. Cette maladie, qui affecte le système nerveux périphérique, se caractérise par un déficit moteur, une amyotrophie distale des membres inférieurs et/ou des membres supérieurs ainsi que des troubles sensitifs des extrémités. Le diagnostic de la maladie est établi, en moyenne, vers l'âge de 20 ans et l'évolution est chronique et lentement progressive. Certaines formes sont très handicapantes, mais ne mettent pas en jeu le pronostic vital. De nombreuses formes de CMT ont été décrites à ce jour et la classification actuelle repose sur trois paramètres: les données électrophysiologiques, en particulier la vitesse de conduction motrice (VCM), le mode de transmission de la maladie et les locus ou gènes responsables. La mesure des VCM permet de distinguer deux grands groupes au sein des CMT : le CMT1, correspondant aux formes « démyélinisantes » avec des VCM inférieures à 35 m/s et les CMT2, qui correspondent aux formes dites « axonales » pour lesquelles les VCM sont proches de la normale (supérieures à 40 m/s). Au sein de ces deux groupes, on rencontre pratiquement tous les modes de transmission: autosomiques ou liés à l'X, dominants ou récessifs. Enfin, l'intégration des données de génétique moléculaire obtenues ces dix dernières années permet de préciser davantage la classification : à ce jour, 18 entités génétiques sont reconnues et 8 gènes sont identifiés [2-6].

Très récemment, nous avons identifié le gène responsable d'une forme autosomique récessive de CMT du

groupe 1 démyélinisante dans une famille consanguine d'origine libanaise [7, 8]. Cette neuropathie se caractérise par un début précoce avec un retard à la marche, une amyotrophie des membres inférieurs puis supérieurs au cours de l'adolescence associée à des pieds creux, une scoliose et une ataxie sensitive. L'effondrement des VCM, qui sont souvent non mesurables chez ces patients, témoigne du caractère démyélinisant de la neuropathie confirmé par des études histopathologiques.

C'est la confrontation de ces éléments avec la description d'un nouveau modèle animal qui a permis d'élucider les bases moléculaires de

cette forme de CMT. En effet, une démyélinisation sévère du système nerveux périphérique avait été décrite chez une souris dont les deux copies du gène codant pour une nouvelle protéine de la cellule de Schwann, la périaxine, avaient été invalidées [9]. La périaxine (Prx) est une protéine fortement et spécifiquement exprimée par la cellule de Schwann tout de suite après la naissance, puis son expression décroît brutalement après les premières phases de la myélinisation. De plus, cette protéine est redistribuée au cours du développement: localisée dans l'anneau périaxonal de la cellule de Schwann chez l'animal jeune (figure 1), elle est préférentiellement

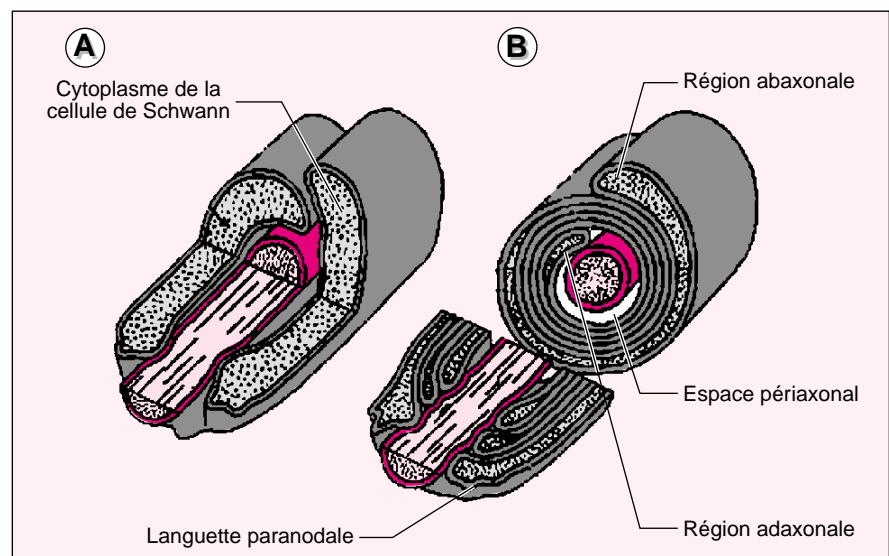


Figure 1. Myélinisation d'un axone par une cellule de Schwann. A. L'axone est initialement entouré par une cellule de Schwann. B. La membrane plasmique de la cellule de Schwann s'enroule en spirale autour de l'axone. La structure multi-lamellaire de la gaine de myéline est observée après extrusion du cytoplasme. Certaines régions comme les languettes paranodales, les régions ad- et abaxonales renferment encore du cytoplasme.

localisée au pôle abaxonal de la cellule de Schwann (région opposée à l'axone) dans le nerf adulte [10]. Le phénotype particulier de la souris *Prx*<sup>-/-</sup> nous fait émettre l'hypothèse selon laquelle l'absence de périaxine chez l'homme pourrait également conduire à une anomalie de myélinisation et donc être à l'origine d'une forme démyélinisante de CMT.

La caractérisation du gène humain codant pour la Prx a permis de montrer qu'il est composé de 7 exons, dont 4 seulement sont codants, et s'étend sur une région d'ADN génomique de 19,6 kb (figure 2). Par épissage alternatif de l'intron 6, le gène code pour 2 protéines : l'une de 1 461 acides aminés, dite forme longue de la Périaxine (L-Prx) et la seconde de 147 acides aminés nommée S-Prx. Ces 2 isoformes, co-exprimées dans la cellule de Schwann, sont cytoplasmiques et possèdent un domaine PDZ en commun : il s'agit

d'un motif d'environ 90 acides aminés retrouvé dans de nombreuses protéines participant aux fonctions de signalisation et d'organisation aux sites de contact cellulaires. Nous avons ensuite localisé ce gène en 19q13 dans la région candidate pour une forme autosomique récessive de CMT de type démyélinisant identifiée dans une famille libanaise [7]. Le séquençage du gène de la Prx chez les patients libanais a mis en évidence une transition C → T à l'état homozygote dans l'exon 7 produisant un codon stop au niveau du résidu Arginine en position 196 (R196X) [8]. Ce changement ségrège avec la maladie et n'a, de plus, pas été retrouvé chez une population témoin. Le gène muté entraîne la synthèse de l'isoforme L-Prx tronquée de 1 250 acides aminés alors que la S-Prx est toujours fonctionnelle. L'utilisation d'un anticorps spécifiquement dirigé contre la L-Prx

a montré l'absence totale de cette protéine sur des biopsies de nerf sciatique de patient. Enfin, il apparaît que la souris *Prx*<sup>-/-</sup> est un bon modèle animal pour cette forme de CMT puisque les changements morphologiques du système nerveux périphérique observés chez les patients comme la démyélinisation, l'hypermyélinisation associée à une compression axonale et l'alternance de régions hypermyélinisées avec des zones dépourvues de myéline sont similaires à ceux décrits chez la souris. Bien que tous les regards et les espoirs soient actuellement tournés vers le déchiffrement du génome humain, notre expérience montre que les modèles animaux sont encore très utiles pour les généticiens. La caractérisation du gène chez l'homme, séquence et structure, a tout de même été grandement facilitée par les données de séquençage. Parallèlement, une équipe américaine a caractérisé d'autres mutations de la Prx responsables de formes précoces de CMT [11]. Ils ont identifié, chez trois patients indépendants, des mutations entraînant l'apparition prématurée d'un codon Stop dans l'exon 7 : un patient homozygote pour une délétion (2787ΔC), et 2 patients hétérozygotes composites (2787ΔC + 2857C → T) et (2289ΔT + 1102C → T). L'ensemble de ces mutations conduit à une perte de fonction de la L-Prx. Cliniquement, la symptomatologie est identique, avec un âge de début dans la toute petite enfance, un mode de transmission apparemment autosomique récessif, des vitesses de conduction motrice très effondrées et une démyélinisation sévère du SNP.

Ces découvertes ouvrent de nouvelles perspectives dans la compréhension des mécanismes clés de la myélinisation du SNP : contrairement à la S-Prx, la L-Prx semble indispensable au bon enroulement des axones par les cellules de Schwann. Plusieurs hypothèses ont été proposées quant à la fonction de la L-Prx, qui est le plus souvent associée aux membranes : protéine impliquée dans la transduction d'un signal extracellulaire, protéine d'échafaudage assurant le couplage des protéines périaxonales avec des éléments du cytosquelette de la

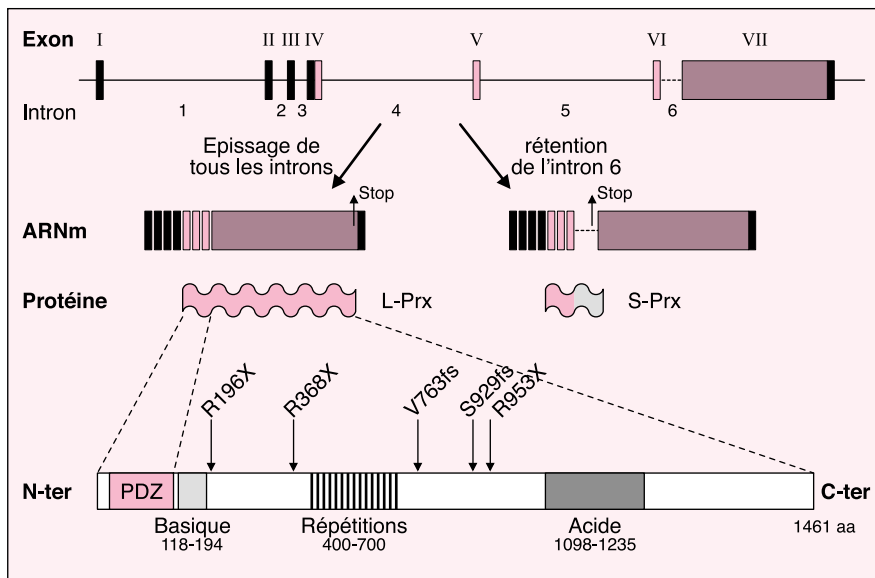


Figure 2. Le gène de la périaxine (*Prx*) code, par épissage alternatif, pour 2 protéines à domaine PDZ. Le codon d'initiation est localisé dans l'exon 4 et le codon stop dans l'exon 7 ou l'intron 6. Une forme longue de la protéine (L-Prx) est obtenue par épissage de tous les introns alors que la rétention de l'intron 6 (partie indiquée en gris dans la protéine) conduit à la synthèse d'une protéine beaucoup plus courte (S-Prx). Les mutations décrites et associées à des formes récessives de CMT sont toutes localisées dans l'exon 7 et entraînent systématiquement la synthèse d'une forme tronquée de la L-Prx, soit par la création d'un codon stop (que symbolise X), soit par décalage du cadre de lecture (frameshift, fs) et apparition prématurée d'un codon stop. En dehors du domaine PDZ, la forme longue de la Prx contient un domaine basique et un domaine acide séparés par une série de répétition d'un motif de 5 acides aminés (aa).

cellule de Schwann ou protéine jouant le rôle « d'espaceur » pour empêcher la compaction des membranes dans la gaine de myéline mature. De nombreuses questions restent en suspens : quels sont les partenaires protéiques de la Prx, comment la Prx interagit-elle avec des protéines bien caractérisées de la myéline périphérique et impliquées dans des neuropathies périphériques comme P0, PMP22 ou la Connexine 32... ? La souris *Prx<sup>-/-</sup>* n'a probablement pas dit son dernier mot...

1. Skre H. Genetic and clinical aspects of Charcot-Marie-Tooth's disease. *Clin Genet* 1974; 6 : 98-118.
2. Dubourg O, LeGuern E. Génétique des maladies du système nerveux périphérique. *Encyclopédie médico-chirurgicale* 17-084-E10.
3. Pham-Dinh D, Blanquet-Grossard F, Ressot C, Bruzzone R, Dautigny A. Trois gènes et quatre neuropathies périphériques myéliniques : premières corrélations génotype/phénotype. *Med Sci* 1997; 13 : 113-22.

4. Bolino A, Muglia M, Conforti FL, et al. Charcot-Marie-Tooth type 4B is caused by mutations in the gene encoding myotubularin-related protein-2. *Nat Genet* 2000; 25 : 17-9.
5. Kalaydjieva L, Gresham D, Gooding R, et al. N-myc downstream-regulated gene 1 is mutated in hereditary motor and sensory neuropathy-Lom. *Am J Hum Genet* 2000; 67 : 47-58.
6. Mersiyanova IV, Perepelov AV, Polyakov AV, et al. A new variant of Charcot-Marie-Tooth disease type 2 is probably the result of a mutation in the neurofilament-light gene. *Am J Hum Genet* 2000; 67 : 37-46.
7. Delague V, Bareil C, Tuffery S, et al. Mapping of a new locus for autosomal recessive demyelinating Charcot-Marie-Tooth disease to 19q13.1-13.3 in a large consanguineous Lebanese family: exclusion of MAG as a candidate gene. *Hum Genet* 2000; 67 : 236-43.
8. Guilbot A, Williams A, Ravise N, et al. A mutation in periaxin is responsible for CMT4F, an autosomal recessive form of Charcot-Marie-Tooth disease. *Hum Mol Genet* 2001; 10 : 415-21.
9. Gillespie CS, Sherman DL, Fleetwood-Walker SM, et al. Peripheral demyelination and neuropathic pain behavior in periaxin-deficient mice. *Neuron* 2000; 26 : 523-31.
10. Scherer SS, Xu YT, Bannerman PG, Sherman DL, Brophy PJ. Periaxin expression in myelinating Schwann cells: modulation by axon-glial

interactions and polarized localization during development. *Development* 1995; 121 : 4265-73.

11. Boerkoel CF, Takashima H, Stankiewicz P, et al. Periaxin mutations cause recessive Dejerine-Sottas neuropathy. *Am J Hum Genet* 2001; 68 : 325-33.

#### Angèle Guilbot

Inserm U. 289, Hôpital de la Salpêtrière, 47, bd de l'Hôpital, 75013 Paris, France.

#### Valérie Delague

Unité de génétique médicale, Université Saint-Joseph, Faculté de médecine, Beyrouth, Liban et Laboratoire de génétique moléculaire, Institut universitaire de recherche clinique, 641, avenue du Doyen-Gaston-Giraud, 34295 Montpellier Cedex 5, France.

## ■■■ BRÈVES ■■■

■■■ **Complices... ou victimes de la huntingtine ?** La huntingtine mutée provoque la mort des neurones du striatum chez les patients atteints de la maladie de Huntington. La recherche des circonstances dans lesquelles ce crime s'effectue, et les raisons de sa localisation restreinte alors que la protéine est elle-même ubiquiste, a stimulé depuis des années la recherche de partenaires formant, avec la forme mutée, une association de malfaiteurs efficace (voir *m/s* 1996, n°6, p. 852 et 1997, n° 8-9, p. 1038). Christopher Ross (Johns Hopkins University, Baltimore, USA), auquel on doit déjà la mise en cause de plusieurs autres protéines, suggère aujourd'hui une relation mortifère entre la huntingtine mutée et, cette fois, une victime, la protéine CBP (*CREB binding protein*), co-activateur de la transcription médiée par CREB et, à ce titre, essentielle pour la survie neuronale [1]. CBP avait attiré l'attention de ces chercheurs parce qu'elle

possède une chaîne de polyglutamine, comme la huntingtine, et que l'on sait que ces chaînes peuvent être des zones d'interaction entre protéines. CBP est effectivement retrouvée dans les agrégats intranucléaires que forme la huntingtine mutée (la huntingtine sauvage reste cytoplasmique). En poussant plus avant, les auteurs ont observé que cette agrégation est une véritable séquestration, et que CBP est de fait déplétée dans le cytosol. L'absence de CBP dans le cytosol interfère fortement avec la transcription liée à CREB et provoque la mort de certaines cellules. Ce résultat, qui rejoint celui obtenu sur une autre maladie génétique due à une répétition de triplets, la SBMA [2], suggère un mécanisme de mort très indirect puisque la mutation de la huntingtine agirait ainsi non pas en activant les voies de mort, comme l'explorent de nombreuses équipes [3], mais... en interférant avec les voies de vie !

- [1. Nucifora FC, et al. *Science* 2001; 291 : 2423-6.]
- [2. McCampbell, et al. *Hum Mol Genet* 2000; 9 : 2197-202.]
- [3. Brouillet E, et al. *Med Sci* 2000; 16 : 57-63.]

■■■ **Problèmes olfactifs dans la maladie de Parkinson, une atteinte purement motrice ?** Les malades parkinsoniens présentent des altérations de la reconnaissance et de la perception des odeurs. Les mécanismes de cette atteinte étaient restés inconnus jusqu'alors, en l'absence d'une démonstration claire d'un déficit neurochimique dans les systèmes olfactifs. Hélène Wills (University of California Berkeley, USA) et son équipe ont apparemment eu du nez en regardant ce qui, apparemment, semblait crever