

## Le gène de l'adrénoleucodystrophie pourrait coder pour un transporteur « ABC »

L'adrénoleucodystrophie liée à l'X (ALD) (1/15 000 garçons) est une maladie péroxysomiale de la  $\beta$ -oxydation des acides gras à très longue chaîne (AGTLC) qui s'accumulent dans la substance blanche du système nerveux central et d'autres tissus, dont la surrénale. Différentes formes cliniques peuvent être observées au sein d'une même famille. Dans les formes cérébrales (50 %) qui atteignent les garçons entre 5-12 ans, les lésions cérébrales (démyélinisation) évoluent rapidement (2-4 ans) vers un état végétatif ou la mort. Dans les formes adultes (adrénomyélonéuropathie), les lésions de démyélinisation touchent surtout la moelle épinière et les nerfs périphériques. La maladie est plus progressive mais sévèrement invalidante après 40 ans. L'expression de l'ALD peut se limiter à une insuffisance surrénale ou même rester totalement asymptomatique. Enfin, 60 % des femmes conductrices présentent des symptômes neurologiques. L'accumulation d'AGTLC observée dans l'ALD résulte d'un déficit de leur  $\beta$ -oxydation dans le péroxysome. Plusieurs études ont démontré que le déficit se situait probablement au niveau d'une acyl-CoA synthétase spécifique des AGTLC qui active ces acides gras en leurs dérivés CoA à la face lumineuse du péroxysome. Le gène codant pour cette enzyme (AGTLC-CoA synthétase) était donc considéré comme un gène candidat de l'ALD. Les études de liaison génétique avaient montré que le gène de l'ALD était localisé dans la bande q28 du chromosome X [1, 2].

Nous avons rapporté en 1989 dans *médecine/sciences* [3] que le gène de l'ALD était probablement proche des gènes des pigments visuels vert et rouge (daltonisme) (*figure 1A*). En effet, une étude initiale [4] avait permis d'établir que 40 % des patients ALD avaient des anomalies de vision des couleurs (contre 12 % dans la population normale). La fréquence de ces anomalies suggérait qu'une même délétion

puisse intéresser chez certains patients ALD le gène de cette maladie et celui des pigments visuels rouge et vert, également localisés en Xq28. Des études initiales avaient été en faveur de cette hypothèse [5]. Cependant, et après avoir cloné toute la région couvrant les gènes de ces pigments visuels [6], nous n'avons identifié qu'un seul patient ALD sur 85 présentant une délétion dans cette région. Ce patient présentait une délétion d'un gène vert et rouge (expliquant qu'il ait une vision bleu-monochrome) qui s'étendait en 5' du gène du pigment visuel rouge [7]. Nous avons démontré ensuite que ce patient présentait en fait un réarrangement complexe comprenant une délétion de 90 kb, suivie d'une inversion d'un fragment d'au moins 140 kb, et enfin une deuxième délétion de 20 kb [8] (*figure 1B*). Aucun gène autre que ceux des pigments visuels et aucune délétion n'ont été détectés chez les autres patients ALD, ce qui paraissait exclure qu'elle contienne le gène

de l'ALD. Le segment inversé (par effet de position) ou la deuxième délétion restaient en revanche des régions candidates. Nous avons récemment mis en évidence que le gène de l'ALD se trouve en fait au voisinage de cette deuxième délétion à environ 250 kb des gènes des pigments visuels (l'anomalie de vision des couleurs observée dans l'ALD n'est ainsi qu'une phénotypie\*) [9]. Utilisant des sondes d'ADN conservées entre les espèces et dérivées de cette région, nous avons mis en évidence de petites délétions chez 6/85 patients ALD. Ces résultats indiquaient que la région comprenait

\* Phénotypie : copie phénotypique (clinique, biochimique ou histologique) d'un génotype particulier, provoquée par un autre mécanisme. Ici, dans l'ALD, on peut imaginer que les AGTLC aient un rôle « toxique » dans la transduction (cônes-cellules ganglionnaires) ou le décodage (ganglion géniculé latéral ou « centre » occipital V4) intervenant dans le décodage des informations visuelles sous-tendues par la couleur. De fait, les anomalies de vision des couleurs observées dans l'ALD sont différentes de celles engendrées par délétion d'un ou de deux des gènes de la vision des couleurs.

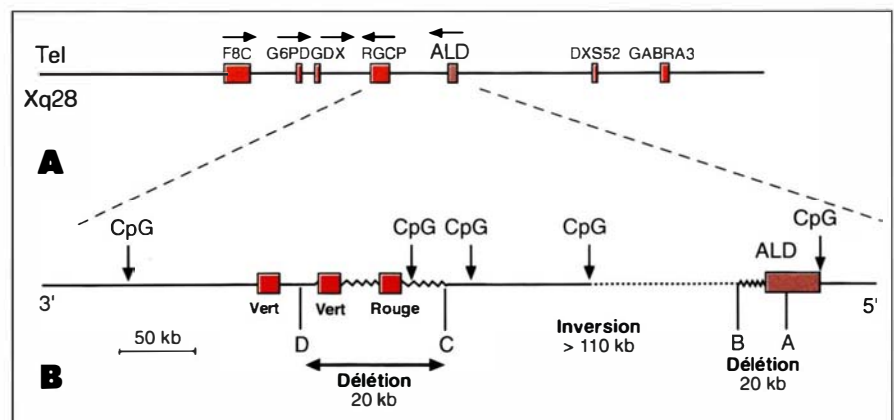


Figure 1. (A) Organisation de la région Xq28. (B) Réarrangement chez le patient porteur de délétions et d'une inversion et position du gène de l'ALD par rapport au gène des pigments visuels. F8C : fraction coagulante du facteur VIII ; G6PD : glucose 6 phosphate déshydrogénase ; GDX : ce gène n'a aucune fonction identifiée et est appelée GDX tel quel (comme DXS) ; RGCP : Red Green Color Pigment gènes. ; GABRA3 : sous unité  $\alpha$  3 du récepteur A du GABA ; DXS52 : marqueur polymorphique ; CpG : îlots HTF riches en dinucléotides CG.

tout ou partie du gène de l'ALD. Après avoir criblé sans succès plusieurs bibliothèques d'ADNc avec ces sondes conservées, nous avons eu recours à la technique dite de connexion d'exons. Nous avons d'abord systématiquement séquencé ces sondes conservées et recherché des régions pouvant coder pour une protéine (en utilisant le puissant programme informatique GRAIL). La surprise est venue de ce que les séquences les plus probablement codantes étaient identiques ou très homologues à celles d'un gène codant pour une protéine membranaire du peroxyssome. Utilisant des amorces correspondant à ces séquences codantes, nous avons obtenus des ADNc en amplifiant par PCR des ARN totaux après reverse transcription. Ces ADNc obtenus par connexion d'exons nous ont ensuite permis d'obtenir d'autres ADNc par criblage classique de bibliothèques. L'ADNc du gène de l'ALD détecte des séquences génomiques qui s'étendent sur 50 kb et code pour une protéine de 745 acides aminés [9]. La protéine (ALDP) codée par le gène de l'ALD présente ainsi une forte homologie (79 %) avec une protéine membranaire peroxyssomiale de 70 kDa (PMP 70) dont l'ADNc avait déjà été cloné chez l'homme. L'ALDP et la PMP 70 possèdent six segments transmembranaires et deux sites présomptifs de liaison à l'ATP. Elles appartiennent toutes les deux à la famille des transporteurs « ABC » (pour *ATP-binding-cassette*) impliqués dans le transport de protéines, d'acides aminés, d'ions inorganiques et de peptides chez les procaryotes et les eucaryotes. Chez l'homme, cette famille encore réduite comprend les produits des gènes MDR I (*multidrug resistance*) [10] et MRP (*multiple resistance protein*) (*m/s n° 1, vol. 9, p. 99*) qui pompent hors des cellules les drogues anti-cancéreuses, la protéine CFTR codée par le gène de la mucoviscidose, PSF1 et PSF2 qui transportent du cytosol vers le réticulum endoplasmique de petits peptides avant leur présentation aux molécules HLA de classe I. Des mutations ponctuelles de la protéine PMP 70 ont été récemment mis en évidence chez trois patients atteints d'une autre maladie peroxyssomiale beaucoup plus rare, le syndrome cérébro-hépaté-rénal de Zellweger. Cette maladie se caractérise par

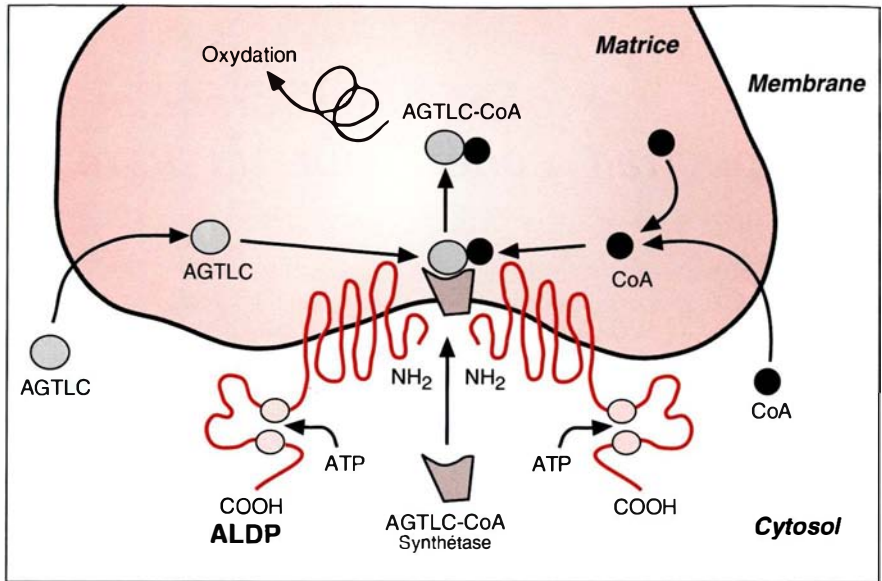


Figure 2. **Modèle hypothétique du rôle de l'ALDP dans le métabolisme des AGTLC.** Dans l'ALD, le transport des AGTLC dans le peroxyssome se fait normalement et l'oxydation des dérivés CoA de ces acides gras est normale. Il existe en revanche un déficit au niveau de l'activation des AGTLC en leur dérivé CoA. L'ALDP jouerait le rôle d'un transporteur (sous forme homodimérique ou hétérodimérique) permettant l'import de l'AGTLC-CoA synthétase dans la membrane peroxyssomiale. ALDP : protéine ALD ; AGTLC : acide gras à très longue chaîne ; CoA : coenzyme A.

un déficit généralisé des enzymes peroxyssomiales dû à un défaut d'importation de ces protéines dans le peroxyssome. L'ALDP ne présente aucune homologie avec l'acyl-CoA synthétase spécifique des acides gras à longue chaîne (son gène avait été cloné chez le rat et aucune séquence homologue n'avait été détectée sur le chromosome X humain). Le gène de l'ALD ne code donc pas pour une AGTLC-CoA synthétase. L'ALDP est cependant probablement impliquée dans le transport de cette enzyme à travers la membrane du peroxyssome ; alternativement, elle pourrait jouer un rôle de protéine d'ancrage permettant à cette enzyme d'être catalytiquement active (figure 2). Des délétions identiques du gène de l'ALD ont été observées chez des patients présentant, soit une forme cérébrale grave, soit une forme adulte moins sévère. La variabilité phénotypique de l'ALD n'est donc pas due à l'effet de mutations instables mais est probablement sous l'influence de facteurs immunologiques secondaires, voire d'un gène modificateur non encore identifié. Deux perspectives s'ouvrent. L'une consistera à

créer un modèle animal de cette maladie par recombinaison homologue. Un tel modèle fait aujourd'hui gravement défaut et devrait permettre une meilleure compréhension physiopathologique de la maladie. L'autre consiste en une possible approche de thérapie génique. La greffe de moelle osseuse peut corriger ou stabiliser l'évolution de la maladie chez les enfants atteints de forme cérébrale d'ALD. L'utilisation de greffe autologue après transfert du gène normal de l'ALD aurait l'avantage de circonvenir la nécessité d'avoir un donneur HLA identique et de réduire considérablement les risques de la greffe elle-même ■

Jean Mosser  
Claude-Olivier Sarde  
Jean-Louis Mandel  
Inserm U. 184 et LGME, 11, rue  
Humann, 67085 Strasbourg, France.

Anne-Marie Douar  
Patrick Aubourg  
Inserm U. 342, hôpital Saint-Vincent-de-  
Paul, 82, avenue Denfert-Rochereau, 75014  
Paris, France.

---

## RÉFÉRENCES

---

1. Boué J, Obclé I, Heilig R, Mandel JL, Moser A, Moser H, Larsen JW, Dumey Y, Boué A. First trimester prenatal diagnosis of adrenoleukodystrophy by determination of very long chain fatty acid levels and by linkage to a DNA probe. *Hum Genet* 1985 ; 69 : 272-4.
2. Aubourg P, Sack GH, Meyers DA, Lease JJ, Moser HW. Linkage of adrenoleukodystrophy to a polymorphic DNA probe. *Ann Neurol* 1987 ; 21 : 349-52.
3. Aubourg P. Adrénoleucodystrophie : progrès récents et perspectives thérapeutiques *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 225-33.
4. Sack GH, Raven B, Moser HW. Color vision defects in adrenomyeloneuropathy. *Am J Hum Genet* 1989 ; 44 : 794-8.
5. Aubourg P, Sack GH, HW. Frequent alterations of visual pigment genes in adrenoleukodystrophy. *Am J Hum Genet* 1988 ; 42 : 408-13.
6. Feil R, Aubourg P, Heilig R, Mandel JL. A 195 kb cosmid walk encompassing the human Xq28 color vision pigment genes. *Genomics* 1990 ; 6 : 367-73.
7. Aubourg P, Feil R, Guidoux S, Kaplan JC, Moser H, Kahn A, Mandel JL. The red-green visual pigment gene region in adrenoleukodystrophy. *Am J Hum Genet* 1990 ; 46 : 459-69.
8. Feil R, Aubourg P, Mosser J, Douar AM, Le Paslier D, Philippe C, Mandel JL. Adrenoleukodystrophy : a complex chromosomal rearrangement in the Xq28 red/green-color pigment gene region indicates two possible gene localizations. *Am J Hum Genet* 1991 ; 49 : 1361-71.
9. Mosser J, Douar AM, Sarde CO, Kioschis P, Feil R, Moser H, Poustka AM, Mandel JL, Aubourg P. Putative X-linked adrenoleukodystrophy gene shares unexpected homology with ABC transporters. *Nature* 1993 ; 361 : 726-30.
10. Maric JP. Le phénomène de résistance multiple aux anticancéreux : les gènes *MDR* et la P-gp. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 443-8.

---

## TIRÉS A PART

---

P. Aubourg.

*m/s* n° 3 vol. 9, mars 93