

## Hétérogénéité des mutations du récepteur LDL dans l'hypercholestérolémie familiale

L'hypercholestérolémie familiale est une maladie autosomique dominante monogénique en rapport avec des anomalies du récepteur des lipoprotéines de faible densité (LDL). Plus de 50 mutations sont connues, dont plus des deux tiers sont des délétions ou, plus rarement, des insertions. Les délétions semblent être la conséquence de recombinaisons inégales au niveau de nombreuses séquences répétées Alu présentes dans le gène. Selon l'importance et la localisation des délétions et les exons où siègent les mutations ponctuelles faux-sens, les conséquences fonctionnelles peuvent être une absence du récepteur, son inaptitude à subir une maturation lui permettant d'être positionné à la membrane plasmique, la non-reconnaissance des LDL ou, plus rarement, l'absence d'internalisation induite par leur fixation. Selon les populations, certaines de ces mutations sont une cause accessoire (par exemple en France) ou prédominante (par exemple au Canada français et chez les Afrikaners d'Afrique du Sud) des hypercholestérolémies rangées dans la classe IIa de Fredrickson. D'autres anomalies génétiques — telles les mutations de l'apolipoprotéine B, le ligand naturel du récepteur des LDL — ont un phénotype et une fréquence très proches de ceux de l'hypercholestérolémie familiale par anomalies du récepteur.

---

Pascale Benlian  
Nathalie Loux

---

### ADRESSES

P. Benlian : *chef de clinique-assistant*. Unité de génétique des dyslipoprotéinémies, service d'endocrinologie, hôpital Pitié-Salpêtrière, 83, boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris Cedex 13, France. N. Loux : *boursière MRT*. Inserm U.73, château de Longchamp, bois de Boulogne, 75016 Paris, France.

L'hypercholestérolémie familiale est une affection à transmission autosomique dominante. Touchant un sujet sur 500, elle représente l'une des maladies monogéniques les plus fréquentes des pays développés [1]. La forme hétérozygote se caractérise par l'élévation isolée des concentrations sériques du cholestérol transporté par les LDL

(*low density lipoproteins*), se compliquant d'une atteinte coronarienne précoce, parfois révélatrice. La forme homozygote est rare (un sujet sur un million) ; l'hypercholestérolémie majeure est décelable dès la naissance, associée ensuite aux dépôts extravasculaires de LDL cholestérol que sont les xanthomes. Les complications coronariennes sévères vont déterminer le pronostic vital avec une

espérance de vie inférieure à 30 ans. Les travaux du groupe de Brown et Goldstein [2] ont élucidé la relation entre l'hypercholestérolémie familiale et le récepteur LDL, et apporté de nouveaux concepts dans la pathogénie des dyslipoprotéïnémies.

### Le récepteur des LDL et son gène : structure et contrôle

- Cinq domaines confèrent au récepteur des LDL ses fonctions régulatrices. Le récepteur des LDL est une protéine membranaire, ubiquitaire. Il assure l'internalisation des LDL par un phénomène d'interaction spécifique du ligand, entraînant une cascade de régulations sur le métabolisme du cholestérol. C'est une glycoprotéine monocaténaire (164 kDa) comportant cinq domaines fonctionnels (figure 1). Le premier domaine en NH<sub>2</sub>-terminal, est le site de liaison aux lipoprotéines ; le deuxième domaine, homologue à l'EGF (*epidermal growth factor*), assure le recyclage rapide du récepteur vers la surface membranaire. Le troisième domaine est le site de fixation des chaînes sucrées favorisant l'ancrage du récepteur à la membrane cellulaire. Le quatrième domaine, hydrophobe, est transmembranaire et le dernier domaine en COOH-terminal est le domaine d'internalisation.

- Le gène du récepteur des LDL est apparenté à ceux d'autres protéines. C'est un gène unique de 45 kb (kilobases) [3], situé sur le bras court du chromosome 19 (19 p 13.2), qui comporte 18 exons codant pour 839 aa (acides aminés) (figure 2, p. 1054). Le premier exon code pour la séquence signal, nécessaire à la maturation du récepteur dans le réticulum endoplasmique. Les exons 2 à 6 codent pour le domaine de liaison aux LDL. Il est composé de 7 séquences répétées de 40 aa (répétitions de I à VII) riches en cystéines, se liant aux lipoprotéines. Les exons 7 à 14 codent pour le domaine d'homologie à l'EGF — où existent également trois motifs répétés (A, B, C) — nécessaire au recyclage rapide du récepteur vers la membrane après internalisation. Les différents motifs répétés des deux premiers domaines

*m/s n° 10, vol. 7, décembre 91*

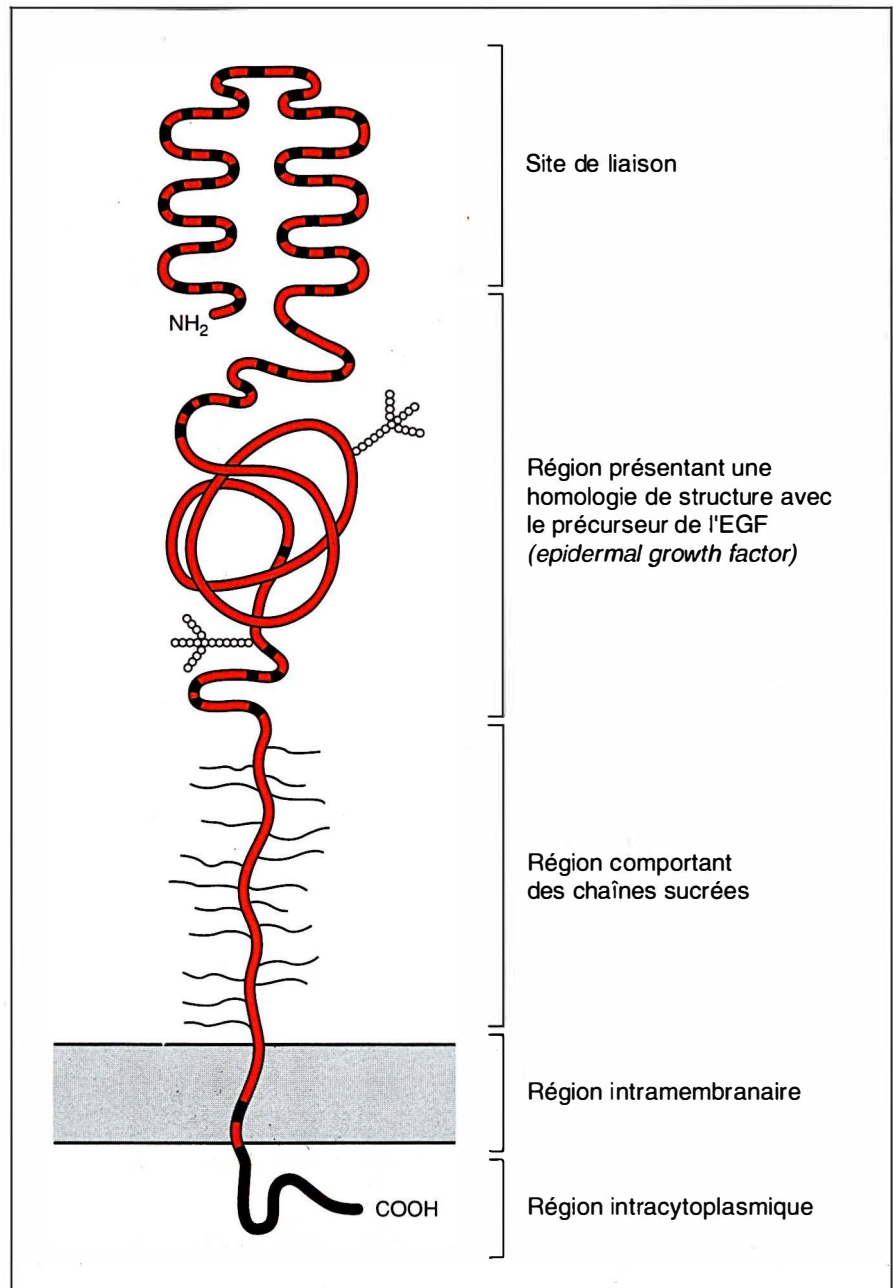


Figure 1. Le récepteur des LDL a une structure en cinq domaines fonctionnels.

sont codés par des exons individuels dont la séquence est présente dans d'autres protéines (facteurs de croissance, facteurs de la coagulation, composants du complément, récepteurs), ce qui apparente le récepteur LDL à une famille de gènes comportant des combinaisons variées de tels motifs. L'exon 15 code pour le troisième domaine ; les exons 16 et 17 codent pour le domaine transmembranaire ; la partie 3' de l'exon 17 et

les premiers nucléotides de l'exon 18, pour le domaine d'internalisation. Il existe de nombreuses séquences répétées *Alu* dans les régions non codantes du gène (figure 4). Il n'existe qu'un seul transcrit de 5,3 kb, dont 2,5 kb en 3' sont non codants. Seule exception, lors de la grossesse, un transcrit de 3,7 kb correspondant à la région 5' du gène, est produit par le placenta, témoignant de besoins métaboliques accrus [4].

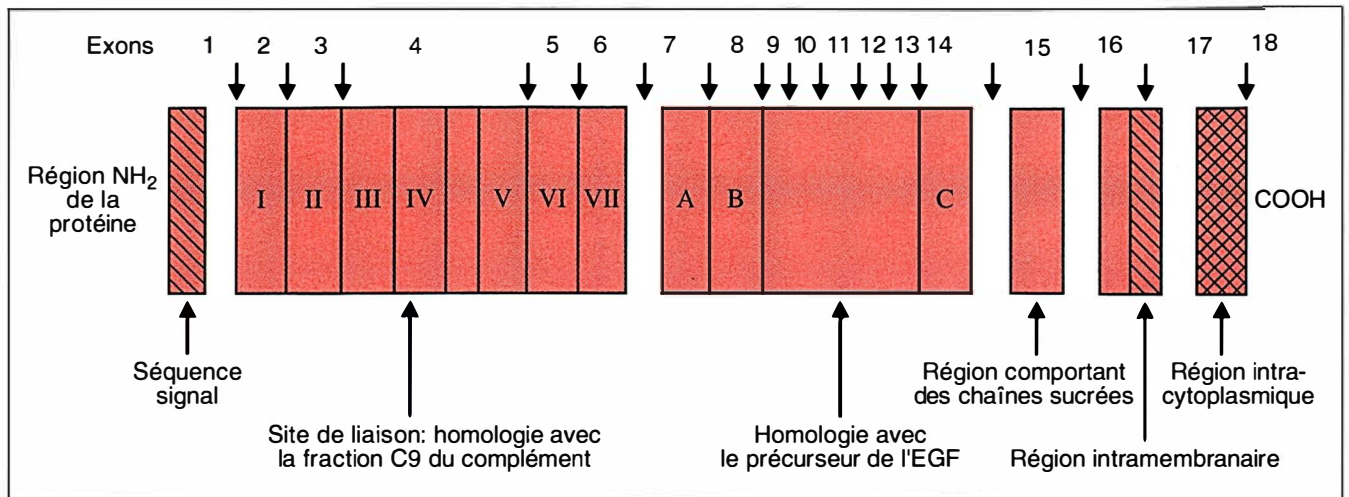


Figure 2. **Structure du gène du récepteur des LDL et correspondance entre les limites des exons et les domaines fonctionnels.** (Voir figure 5, dans Les récepteurs des lipoprotéines plasmatiques et leur régulation, J.-C. Fruchart, médecine/sciences, décembre 1988, numéro spécial.)

- **La régulation concertée des gènes clés du métabolisme du cholestérol.** La régulation de l'expression du gène du récepteur des LDL est contrôlée par un promoteur situé 100 bp en amont du codon d'initiation. Ce promoteur comprend un site d'inhibition de la transcription sensible aux stéroïdes qui est également présent dans les promoteurs de l'HMGC<sub>o</sub>A réductase et de l'HMGC<sub>o</sub>A synthase [5]. Ainsi, par action d'un facteur nucléaire sensible aux stéroïdes, trois gènes sont contrôlés simultanément, l'un réglant l'apport extracellulaire du cholestérol, et les deux autres la synthèse intracellulaire du cholestérol *de novo*.

### Les mutations du gène du récepteur des LDL et leurs conséquences

- **Les défauts du récepteur des LDL sont cause d'hypercholestérolémie familiale.** Les premières études du récepteur des LDL chez des patients atteints d'hypercholestérolémie familiale ont rattaché les deux formes cliniques à un effet de dose des mutations du récepteur des LDL. La forme hétérozygote est l'expression d'anomalies présentes sur un allèle, et la forme homozygote, celle d'anomalies présentes sur les deux allèles du gène du récepteur des LDL. Il existe quatre classes de défauts protéiques, décrits pour la

plupart chez les homozygotes (figure 3) : classe 1, la plus fréquente, absence de récepteur détectable sur les fibroblastes en culture ; classe 2, défaut de transport des récepteurs vers la surface ; classe 3, défaut de liaison aux lipoprotéines, et classe 4, la plus rare, défaut d'internalisation des LDL dans la cellule.

- **Les défauts fonctionnels résultent de mutations génétiques.** Cinquante-quatre mutations responsables d'hypercholestérolémie familiale ont été décrites à ce jour sur le gène du récepteur des LDL. On dénombre 38 remaniements géniques (numérotés 1 à 38 dans le Tableau I, p. 1055) et 16 mutations ponctuelles désignées

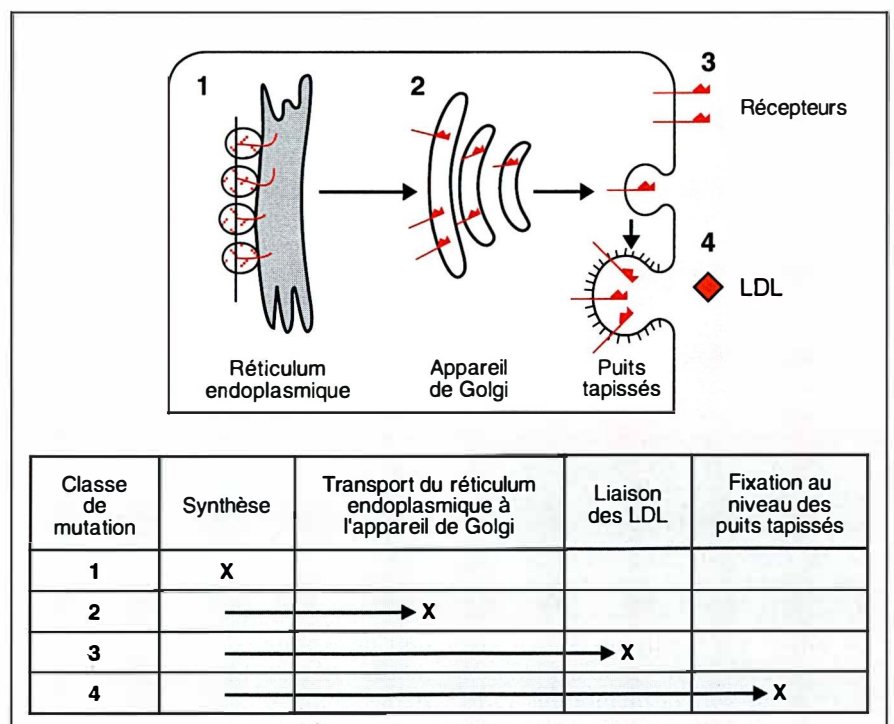


Figure 3. **Les quatre classes de défauts fonctionnels du récepteur des LDL.**

**Tableau I**  
**REMANIEMENTS DU GÈNE DU RÉCEPTEUR DES LDL**

Type de mutation	Taille	Localisation	Domaine affecté	Classe de défaut	Origine	Réf.
1 délétion	10 kb	promoteur - exon 1	promoteur et séquence signal	I	Canada français, France	6
2 délétion	6 kb	promoteur - exon 1	promoteur et séquence signal	I	États-Unis	6
3 délétion	25 kb	promoteur - exon 6	promoteur, séquence signal, liaison	I	Italie	7
4 délétion	—	exons 1 à 18	toute la séquence codante	I	États-Unis, origine italienne	6
5 délétion	4 kb	exons 13 et 14	EGF, répétition C	I	Grande-Bretagne	6
6 délétion	4 kb	exons 13 et 14	EGF, répétition C	I	Italie	6, 7
7 délétion	5 kb	exons 13 à 15	EGF, STOP prématuré	I	États-Unis, origine italienne	6
8 délétion	12 kb	exons 7 à 14	EGF	II et III	Japon	24
9 insertion	14 kb	exons 2 à 8	liaison + EGF, répétition A	III	États-Unis	6
10 délétion	5 kb	exons 2 et 3	liaison, répétitions I et II	III	Canada français	11
11 délétion	7 kb	exons 2 et 3	liaison, répétitions I et II	III	Japon	12
12 délétion	10 kb	exons 2 et 3	liaison, répétitions I et II	III	Japon	13
13 délétion	0,8 kb	exon 5	liaison, répétition VI	III	France	6
14 délétion	1 kb	exon 5	liaison, répétition VI	III	Grande-Bretagne	14
15 insertion	2 kb	exon 2	liaison, répétition I	NT	États-Unis	15
16 délétion	12 kb	exons 2 à 4	liaison, répétition I	NT	Japon	16
17 délétion	9,5 kb	exons 2 à 6	liaison, répétitions I à VI	NT	Canada anglais	22
18 délétion	10 kb	exons 2 à 6	liaison, répétitions I à VI	NT	Canada anglais	22
19 délétion	—	exons 2 à 12	liaison, EGF	NT	Italie	18
20 délétion	11 kb	exons 3 à 8	liaison et EGF, répétitions II à B	NT	Canada anglais	22
21 délétion	5 kb	exons 4 à 6	liaison, répétitions VI et VII	NT	Canada anglais	22
22 délétion	1 kb	exon 7	EGF, répétition A	NT	Grande-Bretagne	14
23 délétion	4 kb	exons 7 et 8	EGF, répétitions A et B	III	Pays-Bas	6
24 délétion	2,5 kb	exons 7 et 8	EGF, répétitions A et B	NT	Afrique du Sud (Indonésie, Cap)	29
25 délétion	13 kb	exons 7 à 14	EGF, répétition C	NT	Japon	16
26 délétion	2 kb	exons 9 et 10	EGF	NT	Islande	28
27 insertion	9,5 kb	exons 10 à 14	EGF, répétition C	NT	Italie	17
28 délétion	4,5 kb	exons 13 et 14	EGF, répétition C	NT	Canada anglais	22
29 insertion	7 kb	exons 13 à 15	EGF, O-Glycosylation	NT	Italie	17
30 délétion	6 kb	exon 15	O-Glycosylation	NT	Japon	19
31 délétion	6 kb	exons 15 et 16	O-Glycosylation + transmembranaire	NT	Japon	12
32 délétion	9,5 kb	exons 16 à 18	transmembranaire + cytoplasmique	III-IV	Finlande	23
33 délétion	7,8 kb	exons 16 à 18	transmembranaire + cytoplasmique	IV	Japon	6
34 délétion	5,5 kb	exons 16 à 18	transmembranaire + cytoplasmique	IV	États-Unis	6
35 délétion	4 kb	exons 16 et 17	transmembranaire + cytoplasmique	IV	Japon	12
36 insertion	5,5 kb	exons 16 et 17	transmembranaire + cytoplasmique	IV	Italie	7
37 délétion	1,4 kb	exon 17	transmembranaire + cytoplasmique	IV	Canada anglais	22
38 délétion	2 kb	exons 16 et 17	transmembranaire + cytoplasmique	NT	France	NP

Les numéros des mutations correspondent à ceux de la figure 4 (kb : kilobase ; NT : non testé ; Réf. : référence ; NP : non paru).

## RÉFÉRENCES

1. Goldstein JL, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. In: Stanbury JB, Wyngaarden JB, Fredrickson DS, Goldstein JL, Brown MS. *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. 5th ed. Highstown (New Jersey): McGraw Hill, 1983: 672-712.
  2. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; 232: 34-47.
  3. Südhof TC, Goldstein JL, Brown MS, Russell DW. The LDL receptor gene: a mosaic of exons shared with different proteins. *Science* 1985; 228: 815-22.
  4. Furuhashi M, Seo H, Mizutani S, Narita O, Tomoda Y, Matsui N. Expression of the low density receptor gene in human placenta during pregnancy. *Mol Endo* 1989; 3: 1252-6.
  5. Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature* 1990; 343: 425-30.
  6. Russell DW, Esser V, Hobbs HH. Molecular basis of familial hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis* 1989; 9 suppl. I: 8-13.
  7. Lelli N, Ghisellini M, Gualdi R, et al. Characterization of three mutations of the low density receptor gene in Italian patients with familial hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1991; 11: 234-43.
  8. Leitersdorf E, Hobbs HH, Fourie AM, Jacobs M, Van der Westhuyzen DR, Coetzee GA. Deletion in the first cysteine-rich repeat of low density lipoprotein receptor impairs its transport but not lipoprotein binding in fibroblasts from a subject with familial hypercholesterolemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 7912-6.
  9. Leitersdorf E, Van der Westhuyzen DR, Coetzee GA, Hobbs HH. Two common low density lipoprotein receptor gene mutations cause familial hypercholesterolemia in Afrikaners. *J Clin Invest* 1989; 84: 954-61.
  10. Leitersdorf E, Tobin EJ, Davignon J, Hobbs HH. Common low density lipoprotein receptor mutations in the French Canadian population. *J Clin Invest* 1990; 85: 1014-23.
  11. Ma H, Betard C, Roy M, Davignon J, Kessling AM. Identification of a second « French Canadian » LDL receptor gene deletion and development of a rapid method to detect both deletions. *Clin Genet* 1989; 36: 219-28.
  12. Yamakawa K, Takada K, Yanagi H, et al. Three novel partial deletions of the low-density lipoprotein (LDL) receptor gene in familial hypercholesterolemia. *Hum Genet* 1989; 82: 317-21.
  13. Kajinami K, Fujita H, Koizumi J, Mabuchi H, Takeda R, Ohta M. Genetically-determined mild type of familial hypercholesterolemia including normal hypercholesterolemic patients: FH-Tonami 2. *Circulation* 1989; 80 suppl. II: 278.
  14. Horsthemke B, Dunning A, Humphries S. Identification of deletions in the human low density lipoprotein receptor gene. *J Med Genet* 1987; 24: 144-7.
- a à p dans le *Tableau II (figure 4 et Tableaux I et II)*. Celles qui ont été caractérisées chez des sujets homozygotes ont fait l'objet d'une étude parallèle du défaut protéique qui en résulte. Ainsi les défauts de classe 1 semblent liés à des perturbations importantes du gène du récepteur LDL. Elles n'ont été décrites que dans le cas de délétions étendues du gène, soit le privant de séquences initiatrices (1, 2), soit le tronquant d'une grande partie de sa séquence (3, 4), soit induisant un changement conformationnel tel que le produit est dégradé avant même d'être maturé dans le cytoplasme (5-7). Les défauts de classe 2 semblent affecter la séquence des deux premiers domaines; diverses mutations ponctuelles faux sens sont présentes dans les exons 2, 3, et nombreuses dans l'exon 4 qui code pour trois répétitions du domaine de liaison. Les mutations des exons 9, 11 et 14 (domaine EGF) ralentissent aussi la maturation de la protéine (a, e-k). Le lapin Watanabe, modèle animal d'hypercholestérolémie familiale, est porteur d'une délétion de 12 nucléotides de l'exon 4 en position 115, responsable d'une mutation de classe 2 (c). Les mutations de classe 3 peuvent également siéger dans les deux premiers domaines du récepteur; une large insertion de 14 kb (9), divers remaniements (10-14, 23), dont une délétion de l'exon 5 décrite chez un sujet français (13), sont responsables d'un défaut de liaison aux LDL. Une mutation délétère a été décrite emportant le seul troisième domaine (30). Ici, les données cliniques divergent de celles de la mutagenèse dirigée qui n'avait pas détecté d'anomalie du récepteur sur fibroblastes en culture [20]. Les mutations de classe 4 n'affectent que les deux derniers domaines. Les remaniements (32-38) ont souvent un point de cassure situé dans le long intron 15, riche en séquences *Alu*. Quatre mutations ponctuelles (m-p) — dont deux décrites chez des sujets français — sont responsables d'un défaut d'internalisation.
- **Les défauts fonctionnels sont parfois complexes.** La délétion Helsinki (32) est responsable d'un défaut combiné de liaison et d'internalisation. Le produit de cette mutation est un récepteur tronqué, qui modifie son ancrage à la membrane et le rend impropre à la liaison aux LDL. Une délétion décrite chez un sujet japonais (8) cause un défaut combiné de liaison et de recyclage du récepteur vers la surface. Deux mutations ponctuelles faux sens, SER<sup>156</sup>(d) et PRO<sup>664</sup>(l), sont responsables à la fois de défauts de classe 2 et 3. Dans ces cas, le changement conformationnel ralentit la maturation et diminue les capacités de liaison de la protéine. Par contraste, une mutation située 12 nucléotides en avant (k) de la substitution en position 664 n'est responsable que d'un défaut de classe 2. Cette observation rapportée à la haute conservation dans les espèces, des motifs répétés des deux premiers domaines souligne l'intégrité de structure que doivent avoir ces séquences pour assurer la liaison aux apolipoprotéines, une maturation et un transport cytoplasmique efficaces [15]. Il existe également un haut degré de conservation en C-terminal. Ainsi, par mutagenèse dirigée [27] et identification d'une mutation naturelle (p), il a été démontré qu'un acide aminé aromatique en position 807 est nécessaire à la liaison aux sites riches en clathrine et à l'internalisation.
  - **Fréquence des mutations génétiques dans les populations.** Les mutations du gène du récepteur des LDL sont très différentes d'un individu à l'autre et d'une population à l'autre. Les remaniements du gène du récepteur des LDL sont cause de moins de 10 % des hypercholestérolémies de type IIa de la classification de Fredrickson, pour des populations comme celles du Canada anglais [22], de la Grande-Bretagne [14], du Japon [16] ou de la France. Nous avons constaté une fréquence similaire sur un groupe de trente sujets originaires du Midi-Pyrénées. La fréquence des mutations ponctuelles n'a pas encore été évaluée dans ces populations. A l'inverse, dans les isolats, certaines mutations génétiques du récepteur des LDL sont remarquablement fréquentes. Le cas le plus célèbre est celui du Canada français, où deux délétions (1, 10) et trois mutations ponctuelles du gène (b, f, j) expliquent à elles seules 76 % des cas d'hypercholestérolémie familiale.

Tableau II								
MUTATIONS PONCTUELLES DE GÈNE DU RÉCEPTEUR DES LDL								
Type de mutation	Localisation	Position	Mutation	Classe de défaut	Origine	Réf.		
a délétion	6 nt	exon 2	ASP <sup>26</sup> , GLY <sup>27</sup>	répétition I	faux sens	II	Afrique du Sud (Noir Xhosa)	8
b substitution	T → G	exon 3	TRP <sup>66</sup> → GLY	répétition II	faux sens	NT	Canada français	10
c délétion	12 nt	exon 4	ASP <sup>115</sup> → ASP <sup>118</sup>	répétition III	faux sens	II	Lapin Watanabe	6
d substitution	C → T	exon 4	SER <sup>156</sup> → LEU	répétition IV	faux sens	II et III	Porto-Rico	25
e substitution	G → C	exon 4	ASP <sup>206</sup> → GLU	répétition V	faux sens	II	Afrique du Sud (Afrikaners)	9
f substitution	C → T	exon 4	GLU <sup>207</sup> → LYS	répétition V	faux sens	II	Canada français	10
g délétion	21 nt	exon 4		répétition V	faux sens	II	États-Unis	6
h substitution	C → T	exon 9	VAL <sup>408</sup> → MET	EGF	faux sens	II	Afrique du Sud (Afrikaners)	9
i substitution	G → T	exon 11	GLY <sup>544</sup> → VAL	EGF	faux sens	II	Italie	6
j substitution	G → A	exon 14	CYS <sup>646</sup> → TYR	répétition C	faux sens	II	Canada français	10
k substitution	C → A	exon 14	CYS <sup>660</sup> → STOP	répétition C	non sens	II	Liban, Syrie	6
l substitution	C → T	exon 14	PRO <sup>664</sup> → LEU	répétition C	faux sens	II-III	Zambie (Indo-asiatique)	26
m substitution	G → A	exon 17	TRP <sup>792</sup> → STOP	internalisation	non sens	IV	Arabie Saoudite	6
n substitution	G → A	exon 17	TRP <sup>792</sup> → STOP	internalisation	non sens	IV	France	21
o insertion	4 nt	exon 17	TRP <sup>796</sup> → STOP <sup>804</sup>	internalisation	non sens	IV	France	6
p substitution	A → G	exon 17	TYR <sup>807</sup> → CYS	internalisation	faux sens	IV	États-Unis	6

Les numéros correspondent à ceux de la figure 4 (nt : nucléotide ; NT : non testé).

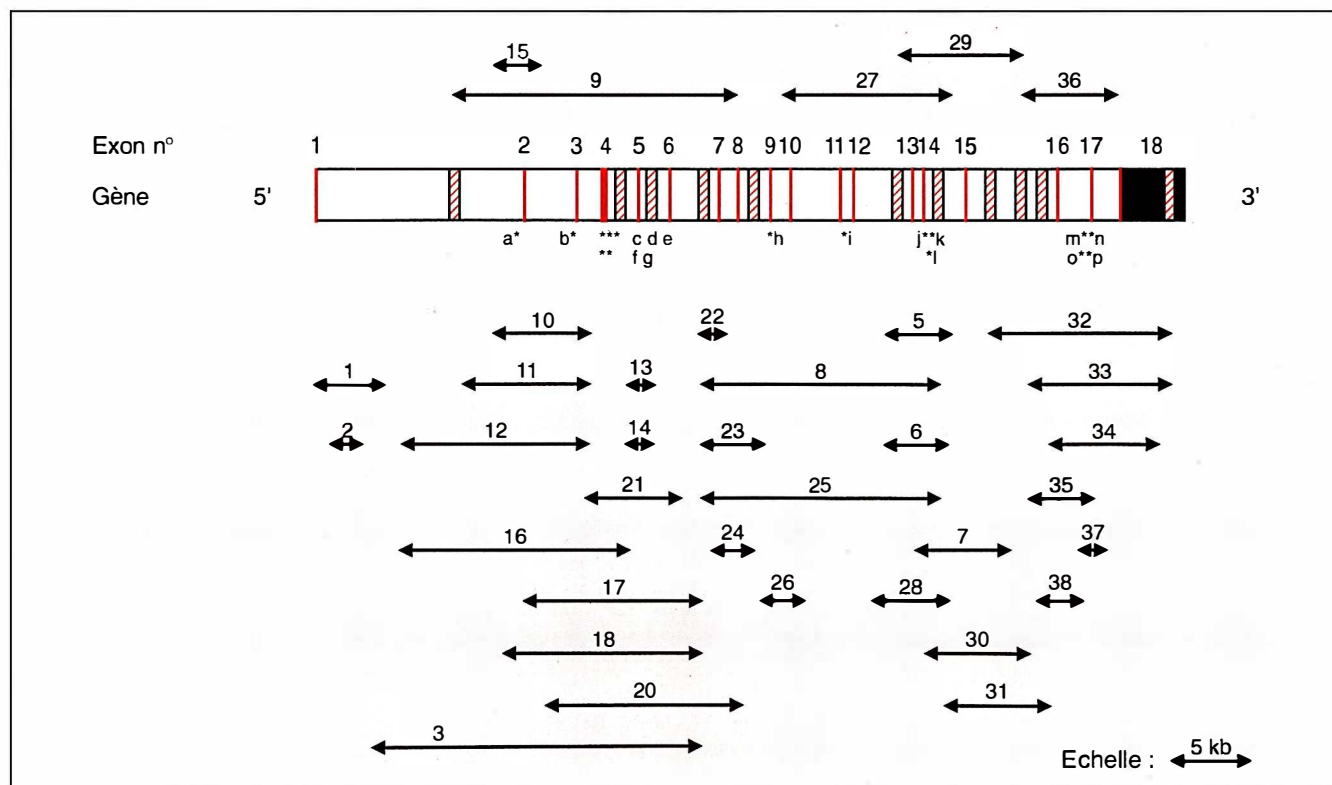


Figure 4. **Mutations du gène du récepteur des LDL.** Les exons sont figurés par des barres pleines, rouge pour les parties codantes et noire pour l'extrémité 3' non codante, les introns par des barres vides, et les séquences Alu par des barres hachurées. Les insertions sont figurées par des flèches au-dessus du gène et les délétions au-dessous. Les mutations ponctuelles sont représentées par des étoiles. Les numéros et lettres correspondent à ceux des mutations décrites dans les Tableaux I et II.

## RÉFÉRENCES

15. Russell DW, Lehrman MA, Sudhof TC, *et al.* The LDL receptor in familial hypercholesterolemia : use of human mutations to dissect a membrane protein. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 1986 ; LI : 811-9.
16. Kajinami K, Mabuchi A, Inazu A, *et al.* Novel gene mutations at the low density lipoprotein receptor locus : FH-Kanzawa and FH-Okayama. *J Int Med* 1990 ; 227 : 247-51.
17. Coviello DA, Ghisellini M, Masturzo P, Bertolini S, Calandra S. Duplication of exons 10-14 and 13-15 of LDL receptor gene in two patients with familial hypercholesterolemia (FH). *Arteriosclerosis* 1990 ; 10 : 800a.
18. Lelli N, Ghisellini M, Coviello DA, Masturzo P, Bertolini S, Calandra S. A large deletion of LDL-receptor gene in three unrelated Italian patients with familial hypercholesterolemia (FH). *Arteriosclerosis* 1990 ; 10 : 800a.
19. Kajinami K, Mabuchi H, Itoh H, *et al.* New variant of low density lipoprotein receptor gene FH-Tonami. *Arteriosclerosis* 1988 ; 8 : 187-92.
20. Davis CG, Elhammer A, Russell DW, *et al.* Deletion of clustered O-linked carbohydrates does not impair function of low density lipoprotein receptor in transfected fibroblasts. *J Biol Chem* 1986 ; 261 : 2828-38.
21. Loux N, Benlian P, Pastier D, *et al.* Recurrent mutation at AA 792 in the LDL receptor gene in a French patient. *Hum Genet* 1991 ; 87 : 373-5.
22. Langlois S, Kastelein JP, Hayden MR. Characterization of six partial deletions in the low-density-lipoprotein (LDL) receptor gene causing familial hypercholesterolemia (FH). *Am J Hum Genet* 1988 ; 43 : 60-8.
23. Aalto-Setälä K, Helve E, Kovanen PT, Kontula K. Finnish type of low density lipoprotein receptor gene mutation (FH-Helsinki) deletes exons encoding the carboxy-terminal part of the receptor and creates an internalization-defective phenotype. *J Clin Invest* 1989 ; 84 : 499-505.
24. Miyake Y, Tajima S, Funahashi T, Yamamoto A. Analysis of a recycling impaired mutant of low density lipoprotein receptor in familial hypercholesterolemia. *J Biol Chem* 1989 ; 264 : 16584-90.
25. Hobbs HH, Leitersdorf E, Leffert CC, Cryer DR, Brown MS, Goldstein JL. Evidence for a dominant gene that suppresses hypercholesterolemia in a family with defective low density lipoprotein receptors. *J Clin Invest* 1989 ; 84 : 656-64.
26. Soutar AK, Knight BL, Patel DD. Identification of a point mutation in growth factor repeat C of the low density lipoprotein-receptor gene in a patient with homozygous familial hypercholesterolemia that affects ligand binding and intracellular movement of receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 4166-70.
27. Davis CG, van Driel IR, Russell DW, Brown MS, Goldstein JL. The low density lipoprotein receptor. Identification of amino acids in cytoplasmic domain required for rapid endocytosis. *J Biol Chem* 1987 ; 262 : 4075-82.
28. Taylor R, Bryant J, Gudnason V, Sigurdsson G, Humphries S. A study of familial hypercholesterolemia in Iceland using RFLPs. *J Med Genet* 1989 ; 26 : 494-8.
29. Henderson HE, Kotze MJ, Berger GMB. Multiple mutations underlying familial hypercholesterolemia in the South African population. *Hum Genet* 1989 ; 83 : 67-70.
30. Henderson HE, Berger GMB, Marais AD. A new LDL receptor gene deletion mutation in the South African population. *Hum Genet* 1988 ; 80 : 371-4.
31. Korenberg J, Rikowski M. Human genome organization : Alu, Lines and the molecular structure of metaphase chromosome bands. *Cell* 1988 ; 53 : 391-400.
32. Stoppa-Lyonnet D, Carter PE, Meo T, Tosi M. Clusters of intragenic Alu repeats predispose the human C1 inhibitor locus to deleterious rearrangements. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 1551-5.
33. Lejeune P, Danchin A. Mutations in the BGLY gene increase the frequency of spontaneous deletions in *Escherichia coli* K-12. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 360-3.
34. Cooper DN, Youssoufian H. The CpG dinucleotide and human genetic disease. *Hum Genet* 1988 ; 78 : 151-5.
35. Top B, Uitterlinden AG, Van der Zee A, Havekes L, Frants RR. Mutation analysis of the LDL receptor gene promoter by denaturing gel electrophoresis. *Arteriosclerosis* 1990 ; 10 : 813a.
36. Kaplan JC, Delpech M. *Biologie moléculaire et médecine*. Paris : Flammarion, 1989.
37. Gillard EF, Chamberlain JS, Murphy EG, *et al.* Molecular and phenotypic analysis of patients with deletions in the deletion region of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) gene. *Am J Hum Genet* 1989 ; 45 : 507-20.
38. Ludwig EH, McCarthy BJ. Haplotype analysis of human apolipoprotein B mutation associated with familial defective apolipoprotein B-100. *Am J Hum Genet* 1990 ; 47 : 712-20.
39. Benlian P, Bonaiti C, Douste-Blazy P, Junien C. Candidate gene approach to type IIa hypercholesterolemia. *The Lancet* 1989 ; 8648 : 1201-2.

Actuellement, une de ces délétions a été retrouvée en France (1), où ont été également décrits deux remaniements (13, 38) et deux mutations ponctuelles (n, o) distincts des mutations canadiennes. En Afrique du Sud, deux substitutions, l'une en position 206, l'autre en 408 (e, h), sont responsables d'environ 95 % des cas d'hypercholestérolémie familiale chez les Blancs Afrikaners. En Finlande, la délétion Helsinki (32) est cause d'environ 50 % des cas. La mutation libanaise, en position 660, responsable d'un défaut de classe 2 (k), est décrite chez de nombreux sujets homozygotes. Sa fréquence n'est pas chiffrée au Liban. Au Japon, deux délétions (12, 30) sont fréquentes, également par effet fondateur. Dans ces populations, la recherche systématique de mutations, à l'aide de techniques simples, fondées sur la PCR et le *Southern blot*, permet un diagnostic prédictif d'hypercholestérolémie par anomalie du récepteur. Cela n'est cependant pas la règle : une délétion et quatre mutations ponctuelles différentes sont présentes dans un petit pays comme l'Islande [28]. De même en Afrique du Sud, si les Afrikaners sont tous porteurs des mêmes mutations, il en existe au moins cinq autres dans la population [29, 30]. La grande hétérogénéité des mutations du récepteur des LDL pourrait-elle expliquer la fréquence de l'hypercholestérolémie familiale comme une des maladies monogéniques les plus fréquentes dans les populations caucasiennes ? Est-elle le résultat de mécanismes de mutagenèse connus ?

### Mécanismes des anomalies du gène du récepteur des LDL

• Séquences *Alu* et remaniements géniques. Il existe 300 000 à 900 000 copies des séquences *Alu* dispersées dans les régions non codantes du génome humain [31], d'où le nom de séquences répétées entremêlées (*interspersed*). Elles sont particulièrement représentées dans les régions des chromosomes riches en gènes, les bandes R. Leur rôle n'est pas connu, mais, au cours de la méiose, ces séquences peuvent s'apparier et favoriser les échanges interchromatidiens.

Lorsque l'on examine plus attentivement les points de cassure des remaniements au sein du gène du récepteur LDL, on note qu'ils coïncident le plus souvent avec la position des séquences répétées *Alu* (figure 4). Des mécanismes de recombinaison inégale se produisent par défaut d'alignement de ces séquences, conduisant à l'apparition de délétions ou de duplications. Il y a environ 15 séquences répétées *Alu* décrites au long du gène du récepteur des LDL. Cette richesse en séquences *Alu* pourrait rendre compte de l'hétérogénéité des remaniements et de la structure du gène en blocs homologues. Des cas similaires de mutagenèse ont été rapportés [32] et seraient témoins d'un rôle possible des séquences *Alu* dans la recombinaison méiotique. Ce mécanisme a été démontré pour 6 délétions (5, 7, 8, 33-35) et pour l'insertion de 14 kb (9). Il peut n'être pas seul en cause, la mutation Helsinki [23] ne résulte pas d'une telle recombinaison. Le mécanisme de la plupart des remaniements géniques décrits à l'état hétérozygote n'est pas connu. Par ailleurs, chez les procarotes, des anomalies de gènes dits « mutateurs » et « antimutateurs » provoquent un taux élevé de mutations [33]. Les défauts du gène *BglY* chez *E. Coli* semblent prédisposer à l'apparition des remaniements par mésappariement de courtes séquences répétées, résultant de la déstabilisation des structures tertiaires de l'ADN. Ces facteurs n'ont pas été décrits chez l'homme, mais si de tels mécanismes étaient impliqués, il serait intéressant de voir s'ils jouent un rôle dans la mutagenèse du récepteur des LDL.

• **Les mutations ponctuelles résultent d'erreurs de réplication.** Trois microdélétions (*a*, *c*, *g*) perturbent les motifs répétés riches en cystéine des deux premiers domaines. L'insertion en position 796 est une duplication de 4 paires de bases (*o*) responsable d'un décalage du cadre de lecture et de l'apparition d'un récepteur tronqué. Leur mécanisme n'est pas connu. Sept substitutions nucléotidiques sont présentes au niveau de doublets GC (*d*, *f*, *h*, *j*, *l-n*). Leur mécanisme, une désamination oxydative, aboutit à une transition C → T au sein d'un doublet GC ; il serait en jeu dans

35 % des mutations ponctuelles du génome [34]. En position 792, une même substitution a été décrite chez deux sujets [21], l'un originaire d'Arabie Saoudite et l'autre, français, originaire du Languedoc. Les haplotypes construits avec les marqueurs polymorphes du gène du récepteur des LDL sont différents, témoignant d'environnements géniques distincts pour ces deux mutations. Il s'agit du seul cas d'une mutation récurrente du récepteur LDL, rapportée chez deux individus d'origine génétique différente.

### Hétérogénéité clinique et hétérogénéité génétique

• **L'expression des mutations est modulée.** A côté des formes classiques d'hypercholestérolémie familiale, des formes modérées ont été rapportées à des mutations génétiques du récepteur des LDL. La délétion qui prive le récepteur des exons 2 et 3 (12) se traduit par une élévation modérée des concentrations sériques de LDL-cholestérol, y compris chez les homozygotes. Un criblage effectué sur 350 sujets ayant une hypercholestérolémie familiale n'a pas révélé de mutations ponctuelles du promoteur [35]. Il n'a pas été décrit de mutations des introns, ni des sites d'épissage, ni dans la région non codante en 3', dont il a été démontré pour d'autres gènes qu'elles peuvent avoir une expression atténuée [36]. On ne sait pas si le phénotype qui leur correspondrait est celui des formes classiques ou celui de formes modérées. Par ailleurs, une mutation faux sens de l'exon 4 (*d*) a été décrite dans une famille originaire de Porto-Rico, dont certains membres présentaient une hypercholestérolémie modérée. Mais dans ce cas, l'effet délétère de la mutation était compensé par l'action d'un autre gène à effet dominant. Ainsi certains sujets dont les concentrations sériques du cholestérol sont normales ou modérément élevées seraient des porteurs sains, relativisant la pénétrance et l'incidence de la maladie du récepteur des LDL.

• **Nouvelles données génétiques de l'hypercholestérolémie familiale.** La fréquence de la maladie avait été évaluée à 0,2 % dans la population géné-

rale, en se fondant sur la fréquence des formes cliniques « homozygotes ». En étudiant ces sujets, le groupe de Brown et Goldstein a montré que nombre d'entre eux étaient en fait des doubles hétérozygotes génétiques pour des mutations dont l'expression peut être complexe [6]. La fréquence des mutations responsables de formes létales, de formes modérées et celles des néomutations n'est pas connue. Un répertoire des mutations du récepteur des LDL permettrait d'évaluer l'impact sur les troubles du métabolisme du cholestérol en France. Ainsi la fréquence des remaniements géniques du récepteur des LDL causés d'hypercholestérolémie est faible (< 10 %) comparativement à celle des délétions du gène de la dystrophine (50 à 70 %) dans les myopathies de Duchenne et de Becker [37]. Elle renvoie à l'hétérogénéité des hypercholestérolémies. Une mutation de l'ApoB, ligand naturel du récepteur des LDL, est responsable d'un phénotype proche de celui de l'hypercholestérolémie familiale hétérozygote, avec une incidence similaire [38]. Ainsi, un même phénotype peut résulter de défauts individuels de gènes différents (récepteur, ApoB) ou de la combinaison des effets de plusieurs gènes. A l'heure actuelle, les moyens qui distinguent ces diverses formes d'hypercholestérolémie relèvent de laboratoires spécialisés. Par l'approche indirecte du gène candidat [39], il est possible d'indiquer le ou les gènes impliqués dans un phénotype et, partant de là, rechercher l'anomalie moléculaire sous-jacente.

• **Vers un diagnostic moléculaire de maladie du récepteur des LDL ?** Un diagnostic prédictif de maladie du récepteur des LDL dans les familles à risque ou certaines populations permet d'ores et déjà la mise en œuvre précoce de thérapeutiques préventives ciblées. La fréquence de cette maladie monogénique est-elle le résultat d'une mutagenèse accrue ou d'un avantage sélectif des hétérozygotes, mieux aptes à surmonter les périodes de sous-alimentation des siècles passés ? Les données de futures études apporteront peut-être les clés d'un diagnostic précis de risque des dyslipoprotéinémies et une meilleure connaissance des mécanismes plus généraux qui les sous-tendent ■



## Summary

### LDL receptor gene mutations heterogeneity in familial hypercholesterolemia

Familial hypercholesterolemia is a monogenic disorder caused by various defects of the LDL receptor. The molecular genetic approach of this disease began a few years ago. Nowadays 54 natural mutations have been identified at the molecular level. These comprise 38 gross gene rearrangements and 16 point mutations. Their study has revealed various structure-function relationships in the LDL receptor. They have been described in many countries showing great heterogeneity between individuals and between populations, although a founder effect has been noticed in selected populations. In most cases, gross gene defects and point mutations result from mechanisms such as unequal cross-overs between *Alu* repeats or nucleotide substitutions on GC pairs. These data show that identification of gene mutations is possible in families or populations. However the heterogeneity of hypercholesterolemia and genetic mutations does not allow a generalized predictive diagnosis on the basis of mutation screening. The identification of these mutations, nevertheless represents an obligate step of molecular genetic studies on polygenic diseases such as cholesterol transport disorders.

## Remerciements

Cette recherche a bénéficié du soutien de la Cnamts, de la Fondation de cardiologie, et de la Fondation pour la recherche clinique. Les auteurs remercient Claudine Junien et Catherine Boileau pour la lecture de ce manuscrit.

## TIRÉS A PART

P. Benlian.