

## **Dystrophie myotonique de Steinert : un triplet qui n'a toujours pas livré son secret**

**Geneviève Gourdon  
Anne-Sophie Lia  
Chantal Duros  
Claudine Junien**

Les cinq dernières années ont été marquées par la découverte d'un mécanisme moléculaire de maladies génétiques, encore inédit, celui des triplets répétés instables. Cette anomalie moléculaire qui montre une forte propension à l'expansion d'une génération à l'autre a permis d'expliquer au niveau moléculaire le phénomène d'anticipation. La dystrophie myotonique de Steinert, maladie musculaire la plus fréquente de l'adulte, appartient à cette famille, mais elle est la seule à être associée à l'expansion d'un triplet CTG, située dans la région 3' non traduite (3'UTR) du gène *DMPK* sur le chromosome 19. Par-delà une corrélation entre la taille du triplet et la gravité de la maladie, on distingue de multiples formes cliniques. L'abolition de l'expression de l'allèle *DMPK*, porteur d'une amplification supérieure à 700 CTG, ne semble pas capable à elle seule d'expliquer l'augmentation de la gravité au-delà de ce seuil. L'expansion de la répétition CTG pourrait perturber également l'expression de gènes contigus, ou bien, la région 3'UTR acquérant de nouvelles propriétés, un gain de fonction pourrait dérégler l'expression d'autres gènes.

### ADRESSES

G. Gourdon : *chercheur post-doctorant*. A.S. Lia : *étudiante en thèse*. C. Duros : *ingénieur d'études Inserm*. Inserm U. 383, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université René-Descartes, Paris V, 149-161, rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, France. C. Junien : *professeur des universités-praticien hospitalier*. Inserm U. 383, hôpital Necker-Enfants Malades, Université René-Descartes, Paris V, 149-161, rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, France et Laboratoire central de biochimie et de génétique moléculaire, hôpital Ambroise-Paré, 9, avenue Charles-de-Gaulle, 92104 Boulogne Cedex, France.

**L**a dystrophie myotonique de Steinert fait partie du groupe des douze maladies génétiques et/ou sites fragiles associés à des triplets répétés instables [1]. Le défaut moléculaire de la dystrophie myotonique correspond à l'amplification d'un trinucléotide CTG répété (>50 copies) situé dans la région 3' transcrite non traduite d'un gène codant pour un polypeptide (*myotonin protein kinase*, *DMPK*) apparenté à la famille des sérine-thréonine protéine kinases.

Les mécanismes moléculaires et génétiques à l'origine des maladies à triplets répétés dépendent non seulement de la nature du triplet répété, mais aussi de sa position dans le gène impliqué (séquences codantes ou non) et du mode de transmission. Alors que le mystère s'estompait progressivement pour les maladies neurodégénératives à triplets CAG, et les maladies comme le retard mental lié à l'X fragile à triplets CGG, le mode d'action du triplet CTG reste toujours aussi énigmatique. Depuis

l'identification du gène *DMPK*, plusieurs groupes ont tenté d'élucider le mécanisme physiopathogénique de la dystrophie myotonique en analysant l'expression du gène *DMPK* dans les tissus de sujets normaux et atteints. Des résultats contradictoires ont été obtenus. Pour les uns, l'ARNm et la protéine seraient diminués, et pour les autres l'ARNm serait augmenté, sans qu'il soit possible de trancher définitivement du fait des différences de méthodes et de tissus (témoins) utilisés. De plus, si les souris invalidées (*knock-out*) pour le gène *Dmpk*, récemment établies par deux groupes différents, montrent effectivement une détérioration musculaire progressive, elles ne présentent ni cataracte, ni myotonie, ni forme néonatale alors qu'elles sont totalement dépourvues de protéine *Dmpk* puisqu'elles sont homozygotes. Bien que la prudence s'impose lorsqu'un modèle animal diffère du modèle humain, ces résultats pourraient indiquer qu'un simple effet de dosage de la *DMPK* ne peut rendre compte de la totalité des manifestations pathologiques de la dystrophie myotonique. Quoi qu'il en soit, dans le muscle *DM* adulte à partir d'une expansion de 700 CTG, l'absence de messenger provenant de l'allèle muté s'accompagne bien d'une diminution de 50 % de la protéine, mais il n'est toujours pas possible d'expliquer : (1) le caractère dominant de la mutation par un simple effet de dose ; (2) l'augmentation de la gravité au-delà de ce seuil, alors que l'allèle normal est toujours présent ; (3) la différence des symptômes entre la forme néonatale et la forme adulte ; (4) la transmission presque exclusivement maternelle de la forme néonatale. On pense de plus en plus volontiers que l'expression de gènes voisins, comme le gène *DMR-N9* et le gène *DMAHP*, serait altérée, ou bien que les ARN messagers *DMPK* néosynthétisés porteurs d'une expansion CTG acquerraient une nouvelle fonction et régleraient l'expression d'autres gènes.

Le phénomène d'anticipation, qui traduit, à l'aide d'un terme psychiatrique du XIX<sup>e</sup> siècle une aggravation et une survenue de plus en plus précoce de la maladie au fil des générations a enfin trouvé ici une explication moléculaire. Pour toutes les affec-

tions associées à une répétition de triplets instable, la corrélation entre la taille de l'amplification et la précocité et/ou la gravité de l'atteinte, d'une part, et l'amplification progressive d'une génération à l'autre de la taille de la répétition, d'autre part, ont réhabilité ce terme d'anticipation, si longtemps controversé [2]. Cependant, la nature de(s) mécanisme(s) ainsi que le(s) stade(s) de l'amplification (gamétogenèse, embryogenèse ou somatique) restent à déterminer.

### Une surprenante hétérogénéité clinique

La dystrophie myotonique de Steinert, est une affection multisystémique caractérisée par une myotonie et une détérioration progressive des fonctions neuromusculaires. Touchant un individu sur 8000, elle est la maladie neuromusculaire la plus fréquente de l'adulte, caractérisée par une extrême variabilité de l'expressivité. Elle est transmise selon un mode autosomique dominant et présente un phénomène d'anticipation (figure 1). On distingue trois formes principales, une forme bénigne tardive pratiquement asymptotique ou marquée par une simple cataracte, une forme adulte classique, observée chez des sujets d'âge moyen, et une forme gravisime, à révélation néonatale.

Dans la forme classique de l'adulte, l'atteinte de l'appareil musculaire se traduit principalement par une myotonie qui prédomine au niveau des mains. On note également des signes de dystrophie musculaire qui se manifestent en particulier dans les muscles de la face et du cou, les releveurs des pieds, les muscles des avant-bras. Les troubles du rythme et de la conduction cardiaques touchent 90 % des malades. Le risque de mort subite est estimé à 10 % justifiant à lui seul un diagnostic présymptomatique moléculaire chez les sujets à risque. Les infections broncho-pulmonaires à répétition sont les manifestations les plus fréquentes de l'atteinte respiratoire. L'atteinte oculaire se traduit principalement par une cataracte présente chez près de 100 % des patients et qui peut être l'unique expression de la maladie. Sur le plan neurologique on note des troubles du sommeil, des fonctions cognitives, de l'humeur et du comportement. Les troubles digestifs sont fréquents, le plus souvent banaux mais gênants. L'atteinte endocrinienne se résume essentiellement à une atrophie testiculaire. Une calvitie existe chez environ 80 % des patients masculins.

Les symptômes caractéristiques de la forme néonatale que sont l'hypotonie majeure, une détresse respiratoire, des troubles de la succion et de la déglutition, des pieds bots, et un

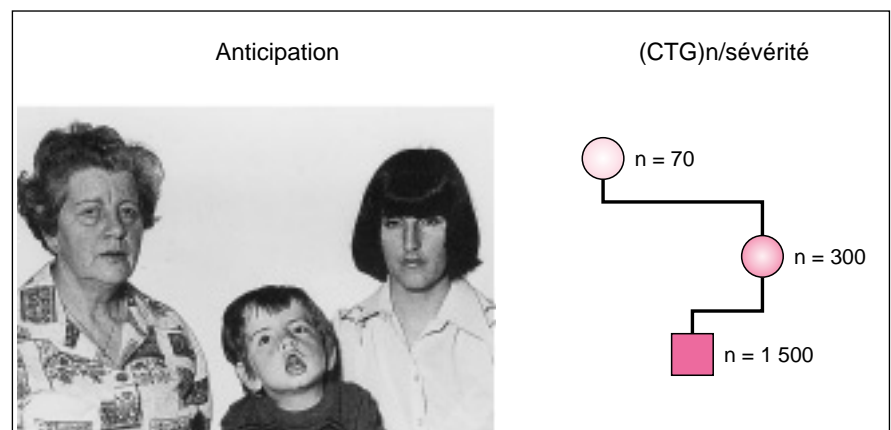


Figure 1. **Phénomène d'anticipation.** Les trois générations de la famille DM montrent une apparition plus précoce et une aggravation des symptômes au cours des générations successives. La grand-mère a développé une cataracte à l'âge de 64 ans, la fille présente la forme adulte classique avec myotonie et son enfant est atteint de la forme la plus grave, la forme néonatale de dystrophie myotonique (photographie reproduite avec l'accord de l'auteur de la référence 2).

retard du développement psychomoteur, en font une entité totalement différente de la forme adulte. La mortalité néonatale s'élève à 16 %. Au cours de la grossesse, on retrouve souvent une diminution des mouvements actifs fœtaux, un hydramnios et une présentation du siège. Un retard mental se développe chez les enfants qui survivent avec passage à la forme classique au moment de l'adolescence. Cette forme ne survient, en général, que si l'affection est transmise par la mère, mais deux cas de formes néonatales transmises par des pères ont récemment été rapportés [3, 4]. La forme néonatale n'est observée que chez les enfants de 10 % des mères transmettrices, indépendamment du degré de l'atteinte. Lorsqu'une femme transmet la mutation associée à une forme néonatale, ses autres enfants porteurs de la mutation développent également la même forme, plutôt qu'une forme classique de l'adulte, suggérant une prédisposition individuelle. Il n'existe à l'heure actuelle aucun traitement pour les différentes formes de cette affection.

### Une expansion hors normes

Le clonage et la cartographie complète du génome autour de la région *DM* (19q13.3) ont permis d'identifier début 1992, dans plus de 98 % des familles, un fragment d'ADN instable correspondant à l'expansion d'un trinucéotide CTG répété situé dans la région 3' transcrite non traduite d'un gène codant pour un polypeptide (*myotonin protein kinase*, *DMPK*) apparenté à la famille des sérine-thréonine protéine kinases ([5], pour revue). La taille des répétitions dans la population normale est variable (5 à 35) et se transmet de façon stable. En revanche, chez les patients atteints de dystrophie myotonique, le nombre de répétitions est supérieur à 50. Cette expansion est instable d'une génération à l'autre et, corrélée au degré de l'atteinte clinique, elle peut atteindre une taille énorme, de plus de 3000 répétitions dans les formes néonatales. L'existence d'un type unique de mutation *DM* et d'un très fort déséquilibre de liaison entre cette mutation et les haplotypes de la région, dans diffé-

rentes populations, suggère une mutation ou un petit nombre de mutations ancestrales. Des travaux du groupe de J.L. Mandel (Strasbourg, France) montrent que les mutations *DM* dériveraient d'un *pool* d'allèles ayant 19-30 répétitions CTG, eux-mêmes dérivés d'un allèle ou d'un petit nombre d'allèles à 5 répétitions [6]. Le *pool* d'allèles (CTG)<sub>19-30</sub>, pourrait ainsi constituer le « réservoir » qui compenserait la disparition des allèles de grande taille due à l'infertilité accompagnant les formes les plus graves. Ces données suggèrent donc un modèle à multiples étapes dans l'apparition et/ou la dynamique de l'instabilité. De plus, un phénomène de dérive méiotique a été mis en évidence chez des sujets normaux avec une transmission préférentielle des allèles > 19 répétitions, contribuant à l'alimentation du réservoir d'allèles prédisposants. La mutation *DM* a été trouvée en complet déséquilibre de liaison avec une insertion de 1 kb contenant des motifs Alu, dans toutes les populations, à l'exception des populations d'origine africaine qui ne présentent pas ce type d'amplification. Une seule famille *DM* nigérienne a été décrite et, dans ce cas unique, la mutation instable n'est pas associée à l'insertion de 1 kb, suggérant un événement mutationnel indépendant [7].

Cette situation d'expansion d'un trinucéotide répété est similaire à celle rapportée dans un certain nombre de maladies génétiques et/ou de sites fragiles ([8], pour revue), bien que l'expansion de CTG atteigne des proportions inégales par les autres triplets. Les maladies neurodégénératives – l'amyotrophie spinobulbaire (SBMA), la maladie de Huntington (HD), l'ataxie spinocérébelleuse de type 1 (SCA 1), l'atrophie dentatorubro-pallidoluisienne (DRPLA/syndromé Haw river), la maladie de Machado-Joseph (MJD) – sont dues à une amplification modérée ( $n < 120$  répétitions) d'un triplet CAG traduite en un polymère de glutamine, qui acquiert une nouvelle fonction. Les sites fragiles (FRAXA, FRAXE, FRAXF, FRA16A, FRA11B), associés ou non à un phénotype, sont liés à une expansion massive de trinucéotides répétés CCG ( $n > 200$ ), méthylables ([9], pour revue). Plus récemment, ce mécanisme d'expansion

trinucéotidique a été mis en évidence dans le cas d'une maladie neurologique autosomique récessive, l'ataxie de Friedreich (FRDA) [10, 11]. Dans cette maladie, l'expansion d'un nouveau type de trinucéotide, GAA, a été identifiée dans le premier intron du gène *X25*, dont il perturbe la transcription (*m/s n° 2, vol. 13, p. 253*).

### Instabilité : une histoire de sexes

Pour un nombre de répétitions CTG chez le parent transmetteur < 100, l'amplification à la génération suivante est plus importante lorsque la transmission de la mutation est d'origine paternelle. Ces données sont en accord avec les observations de différents groupes d'un excès significatif d'hommes transmetteurs dans la dernière génération asymptotique (*figure 2*, [12]). En revanche, pour des tailles de séquences répétées plus importantes chez le parent transmetteur ( $n > 500$ ), alors qu'il ne semble pas y avoir de limite à l'amplification à travers la transmission maternelle, on observe une tendance à la « compression » dans les couples père-enfant [13]. De plus, des sujets mâles avec un nombre de répétitions supérieur à 1000 CTG dans les leucocytes montrent, dans le sperme, des répétitions de taille analogue ou inférieure mais jamais supérieure [14]. Cette limitation à l'expansion lors des transmissions paternelles a été proposée comme une explication possible à la quasi-absence de transmission des formes néonatales par les pères.

### Instabilité mitotique et/ou méiotique

Le ou les stades au cours desquels se produit l'amplification (gamétogénèse, embryogénèse), d'une génération à l'autre, n'ont pas encore été déterminés de façon précise. La probabilité de l'expansion d'une génération à l'autre au-delà de 40 CTG a été estimée à environ 0,93-0,94, les allèles inférieurs à 80 CTG étant néanmoins plus stables [15]. Une diminution du nombre de répétitions ou une absence de variation est observée dans 6 % à 7 % des cas. De plus, une instabilité somatique est généralement observée même pour un petit

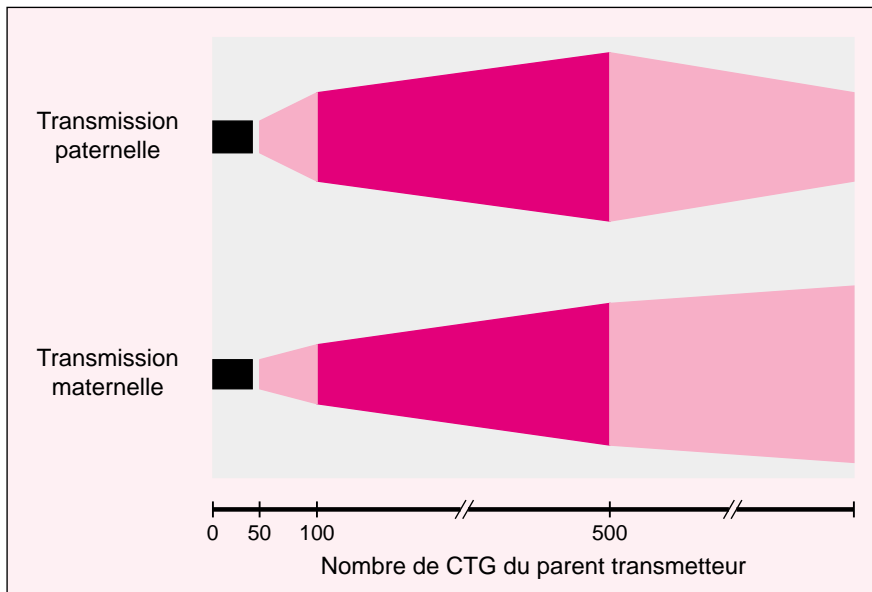


Figure 2. **Expansion de l'amplification selon le sexe du parent atteint de dystrophie myotonique.** La taille des répétitions CTG lors des transmissions paternelle et maternelle varie selon la taille de la répétition et selon le sexe du parent transmetteur. Au-delà de 500 CTG, on observe une inversion de l'influence du sexe du parent tendant vers une diminution de la taille des CTG lors des transmissions paternelles et une augmentation lors des transmissions maternelles.

nombre de répétitions (100 CTG). Cette mosaïque a été retrouvée dans tous les tissus [12] dont la lignée germinale (*m/s n° 5, vol. 11, p. 787*) [14]. Elle se traduit par un signal diffus de l'hybridation (*smear*), après électrophorèse. La période d'instabilité se situerait à un stade postzygotique très précoce au cours du développement embryonnaire, l'amplification pouvant se poursuivre, à un faible degré, dans les tissus à grande vitesse de prolifération (*m/s n° 12, vol. 11, p. 1754*). L'existence d'une instabilité méiotique n'est cependant pas exclue.

### Les mécanismes d'instabilité : hasard ou déterminisme ?

Le mécanisme moléculaire de l'expansion des trinuécléotides répétés n'est pas élucidé ([16], pour revue). Comme pour l'instabilité des microsatellites, l'altération du processus de réplication et/ou de réparation pourrait influencer l'expansion des triplets répétés. Les amplifications ne semblent apparaître qu'au-delà d'un seuil de longueur situé entre 35 et 40 répétitions CTG, dans le cas de la dystrophie myotonique. La richesse en C et

G des trinuécléotides de type CXG pourrait alors favoriser une conformation particulière de l'ADN (épingle à cheveux) perturbant ainsi la réplication (pause ou dérapage de l'ADN polymérase) ou bien les processus de réparation des mésappariements de l'ADN. Cette hypothèse est cependant remise en cause par la découverte, dans l'ataxie de Friedreich, de triplets GAA instables décrits par ailleurs comme étant incapables de former de telles structures. S'il est clair que la longueur et la pureté de la répétition jouent un rôle dans l'expansion, il n'existe, à ce jour, aucune donnée sur la contribution des séquences flanquant le triplet répété au mécanisme de l'instabilité [16]. De façon remarquable, dans 11 maladies génétiques et/ou sites fragiles sur 12, un îlot CpG peut être observé autour ou à proximité (à moins de 600 pb) de la répétition [17]. Ces régions riches en C + G et en CpG, au voisinage des répétitions en tandem, pourraient jouer un rôle dans l'instabilité de ces séquences répétées, en favorisant une conformation particulière de l'ADN ou de la chromatine, propice au dérapage et/ou au défaut de réparation lors de la réplication.

### Le suspect n'agirait pas seul

La répétition de triplets CTG impliquée dans la dystrophie myotonique est localisée dans la séquence 3'UTR du gène *DMPK* et est encadrée par un îlot CpG [18]. La séquence et l'organisation du gène *DMPK* (figure 3) indiquent qu'il s'agit d'un gène d'environ 14kb possédant 15 exons et plusieurs sites d'épissage alternatif [19]. Certaines de ces isoformes perdent, selon l'épissage, des domaines fonctionnels putatifs importants comme le domaine transmembranaire et peuvent donc avoir un rôle spécialisé dans certains tissus. Des expériences de *western blot* ont par ailleurs montré l'existence de différentes isoformes de la protéine *DMPK* dans le cœur et le muscle [20]. Cependant, le rôle des différentes isoformes et leur expression tissulaire n'ont pas été encore clairement établis.

L'implication physiopathogénique des triplets répétés CTG reste donc mystérieuse. Depuis l'identification du gène *DMPK*, plusieurs groupes ont tenté de comprendre ce phénomène en analysant l'expression du gène *DMPK* dans les tissus de sujets normaux et atteints. Les données de la littérature sur le niveau d'expression du gène *DMPK* dans les différentes formes de la maladie restent cependant contradictoires. Une diminution des messagers mutés [21-23] liée à un défaut post-transcriptionnel (défaut de maturation ou diminution de la stabilité de l'ARN porteur de l'expansion du triplet répété) a été observée dans les différentes formes de la maladie. Le caractère dominant de la maladie demeure lui aussi inexplicable. Alors que le taux d'expression de l'allèle muté diminue progressivement jusqu'à 700 répétitions et qu'à partir de cette amplification seul l'allèle normal s'exprime, il est étonnant de constater que la maladie continue de s'aggraver, voire se transforme en une autre forme, la forme néonatale (figure 4). Certains auteurs ont rapporté une diminution du niveau du messager codé par l'allèle normal dans des tissus *DM*, ce qui pourrait suggérer un effet en *trans* de la mutation [18, 23]. Le nombre de patients et de témoins examinés étant toutefois limité, ces observations mériteraient d'être vérifiées. Des

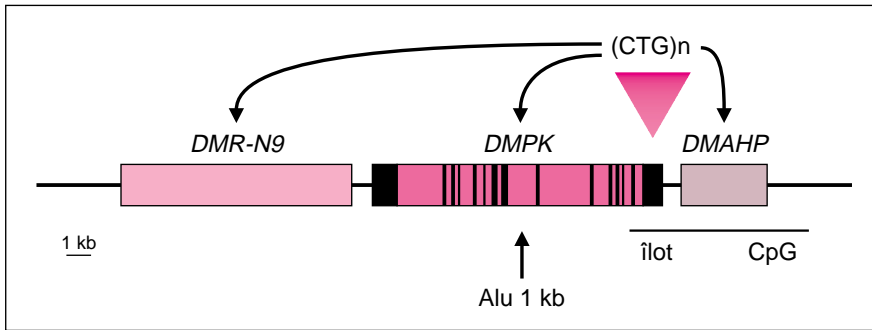


Figure 3. **Structure et organisation des trois gènes de la région DM.** Les trois gènes *DMR-N9*, *DMPK* et *DMAHP* sont représentés. Les exons du gène *DMPK*, la répétition *CTG* et l'îlot *CpG* sont indiqués. La répétition *CTG* a-t-elle un effet sur l'expression des trois gènes de la région ?

expériences *in vivo* ont montré que les expansions *CTG* pouvaient favoriser l'assemblage des nucléosomes, altérer la structure secondaire de l'ADN et fixer des protéines nucléaires spécifiques ([7], pour revue). Il n'est donc pas impossible que l'amplification *CTG* perturbe l'expression des gènes voisins comme le gène *DMR-N9* situé à environ 500 pb en 5' du gène *DMPK* et le gène *DMAHP* situé en 3'. Bien que le gène *DMR-N9* soit essentiellement exprimé dans le cerveau et les testicules (tissus atteints chez les patients *DM*), il n'existe pour le moment aucune démonstration de l'altération de l'expression de ce gène chez les malades. L'expression du gène *DMAHP* dans différents tissus atteints n'a pas encore été étudiée en détail.

La fonction des produits de ces deux gènes est inconnue\*. Enfin, les séquences 3'UTR peuvent contenir des sites de fixation pour des facteurs affectant la stabilité et la localisation des messagers [24, 25] et peuvent jouer un rôle sur la régulation de certains gènes en *trans* [26, 27]. La présence d'une large expansion *CTG* dans la séquence 3'UTR du gène *DMPK* pourrait perturber la régulation post-transcriptionnelle du gène *DMPK* mais aussi la régulation d'autres gènes, en *trans*, qu'il faudra identifier. La fonction de la protéine-kinase *DMPK*, localisée notamment aux jonctions neuromusculaires [28], ses cibles et le rôle précis de ses différentes isoformes dans les mécanismes physiopathologiques de la dystrophie

myotonique restent encore mal définis. La *DMPK* pourrait intervenir dans les voies de transmission du signal et être responsable de la phosphorylation de protéines membranaires structurales ou de canaux ioniques. En effet, Timchenko *et al.* ont montré qu'une protéine *DMPK* recombinante pouvait phosphoryler spécifiquement le récepteur de la dihydropyridine [29]. Par ailleurs, la protéine *DMPK* présente certaines homologies avec la protéine *warts* de la drosophile. Des mutations dans le gène *warts*, gène suppresseur de tumeur potentiel, entraînent des anomalies de prolifération cellulaire avec tumeurs bénignes des cellules épithéliales et calcification des épithéliums. Ces caractéristiques, retrouvées aussi chez les patients atteints de dystrophie myotonique pourraient résulter de la perte d'hétérozygotie du gène *DMPK* dans les cellules des patients. Selon cette hypothèse, on pourrait imaginer que l'amplification *CTG* représenterait alors le premier événement mutationnel du gène « suppresseur de tumeur » *DMPK* [7].

### Vers le modèle animal : un nouveau Graal

Les premiers modèles de souris transgéniques issues de la micro-injection des ADNc des gènes *AR*, *HD* et *SCA1* contenant respectivement 45, 44 et 82 CAG n'ont pas reproduit l'instabilité de ces répétitions au cours des générations successives [30-32]. Ces résultats suggéraient une différence dans l'efficacité des systèmes de réparation de l'ADN et/ou la fidélité de la réplication entre l'homme et la souris ou bien une implication de séquences génomiques proches des triplets répétés mais absentes dans ces modèles (*m/s* n° 2, vol. 12, p. 258). Plus récemment, trois groupes ont

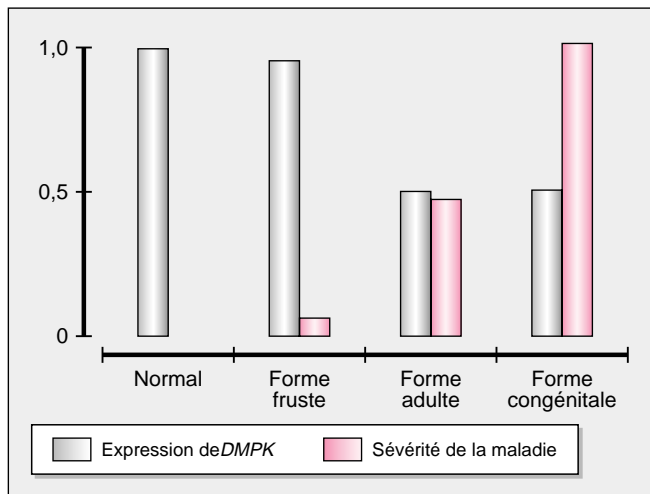
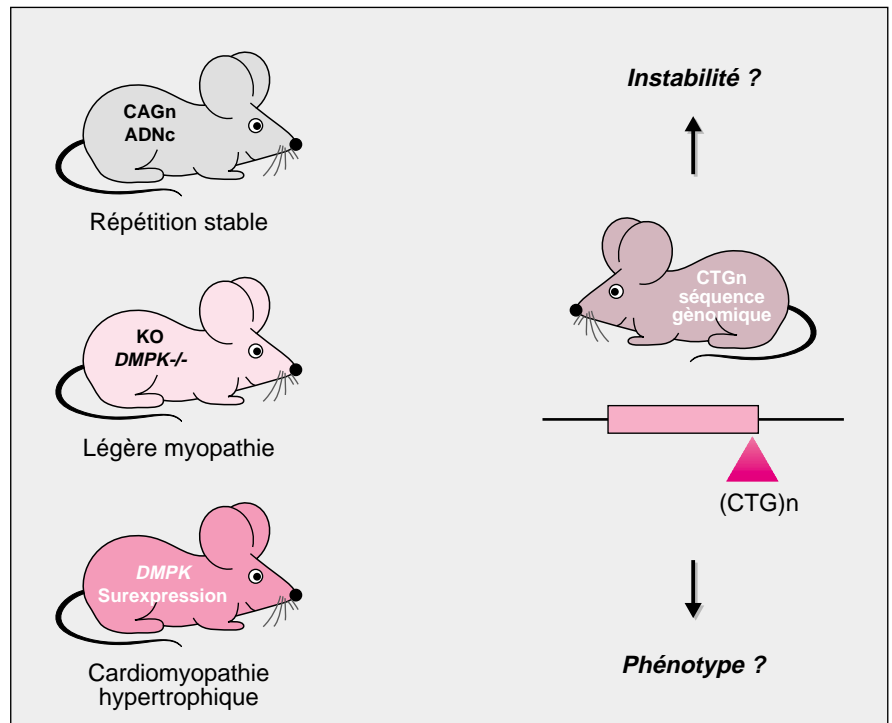


Figure 4. **Une dominance peu orthodoxe.** La gravité de la maladie varie en fonction de la taille de la répétition *CTG* et de l'expression du gène *DMPK* pour la forme fruste et la forme adulte. Mais, paradoxalement, au-delà de 700 *CTG*, alors que théoriquement seul l'allèle normal s'exprime, la gravité de la maladie augmente pour aboutir, parfois, à une forme différente, la forme congénitale !

\* Deux articles récents parus dans *Nature Genetics* attirent particulièrement l'attention sur le gène *DMAHP* qui code pour une homéoprotéine également appelée *Six 5* [39, 40]. Les gènes *Six* sont les homologues du gène *sine oculis* de *drosophile*, et *Six 4* a été montré jouer un rôle fondamental dans l'expression de la sous-unité  $\alpha 1$  de la *K-ATPase* dans le muscle en développement. Un enhancer de *DMAHP* est situé à proximité immédiate de l'extrémité 3' non traduite du dernier exon de *DMPK* et l'expansion des triplets *CTG* semble plus étroitement corrélée à une inhibition du gène *DMAHP* que du gène *DMPK* dont les propres régions régulatrices sont situées plus à distance [39].

pu recréer une instabilité, non seulement intergénérationnelle, mais également somatique à l'aide de modèles murins transgéniques portant (1) 55 CTG et de larges séquences génomiques flanquantes de la région DM sur environ 45 kb; (2) 162 CTG et la région 3'UTR du gène *DMPK*; ou (3) environ 140 CAG contenus dans des séquences couvrant le premier exon du gène *HD* [33-35]. Ces derniers travaux, comparés aux premiers modèles porteur de CAG stables, suggèrent un effet de seuil d'instabilité chez la souris. Cet effet de seuil pourrait être modulé par les séquences génomiques environnantes dans le cas du modèle porteur de 55 CTG. Ces modèles pourraient permettre d'approcher les mécanismes d'instabilité des triplets répétés.

Une nouvelle maladie musculaire ressemblant à la dystrophie myotonique chez l'homme a été décrite chez la caille japonaise mais le gène impliqué n'est toujours pas identifié [36]. Chez la souris, chez laquelle cette affection n'a jamais été observée, le gène *Dmpk* présente de fortes homologues avec le gène *DMPK* humain, mais ne contient dans son dernier exon qu'une répétition imparfaite de (CTG)<sub>n</sub>: CTG CTG CAG CAG CTG dont l'amplification n'a jamais été observée. L'inactivation (*knock-out*) de ce gène a été réalisée simultanément par deux équipes [37, 38]. Les souris dépourvues de gène *Dmpk* fonctionnel présentent une myopathie progressive des muscles squelettiques et quelques anomalies des fibres musculaires du cou et de la tête. Par ailleurs, un modèle de surexpression du gène *DMPK* humain normal a permis d'observer chez les souris transgéniques une cardiomyopathie hypertrophique ainsi qu'une mortalité néonatale accrue [35]. Ces modèles qui présentent certaines des anomalies typiques de la dystrophie myotonique confirment l'implication du gène *DMPK* dans la maladie. L'altération de l'expression du gène *DMPK* n'est cependant pas suffisante à elle seule pour expliquer le développement de l'ensemble des signes cliniques de la dystrophie myotonique. La prochaine étape, dans la recherche des mécanismes impliqués dans le développement de la dystrophie myotonique, passe donc nécessairement par la création de souris transgéniques porteuses de la muta-



**Figure 5. Les tentatives de modèle animal.** Deux invalidations du gène *Dmpk* et un modèle de surexpression du gène *Dmpk* normal n'ont pas reproduit tous les signes cliniques de la dystrophie myotonique. Des modèles contenant des ADNc de gènes impliqués dans certaines maladies neurodégénératives porteurs d'amplification CAG n'ont pas reproduit l'instabilité des triplets répétés. On peut espérer qu'un modèle contenant le gène *DMPK* et une répétition CTG dans son environnement génomique humain sera capable de reproduire à la fois l'instabilité observée chez l'homme et le phénotype, du fait du caractère dominant de la mutation.

tion *DM* (figure 5). Bien que d'importants progrès aient été réalisés dans le domaine de la prévention grâce au diagnostic prénatal ou présymptomatique, notamment sur le plan cardiaque, un traitement curatif fait encore cruellement défaut. Cette impuissance thérapeutique justifie donc pleinement la recherche d'un modèle animal à partir duquel de nouvelles stratégies thérapeutiques pourront être envisagées sur la base d'une meilleure connaissance des mécanismes physiopathogéniques ■

## RÉFÉRENCES

1. Junien C, Lavedan C. Myotonie de Steinert: encore une mutation instable. *Med Sci* 1992; 8: 249-51.
2. Harper PS. *Myotonic dystrophy*, 2nd ed. London, Philadelphia: Saunders, 1989.
3. Nakagawa M, Yamada H, Higuchi I, Kaminishi Y, Miki T, Johnson K, Osame M.

A case of paternally inherited congenital myotonic dystrophy. *J Med Genet* 1994; 31: 397-400.

4. Ohya K, Tachi N, Chiba S, Sato T, Kon S, Kikuchi K, Imamura S, Yamagata H, Miki T. Congenital myotonic dystrophy transmitted from an asymptomatic father with a DM-specific gene. *Neurology* 1994; 44: 1958-60.

5. Wieringa B. Myotonic dystrophy reviewed: back to the future? *Hum Mol Genet* 1994; 3: 1-7.

6. Imbert G, Kretz C, Johnson K, Mandel JL. Origin of the expansion mutation in myotonic dystrophy. *Nature Genet* 1993; 4: 72-6.

7. Harris H, Moncrieff C, Johnson K. Myotonic dystrophy: will the real gene please step forward! *Hum Mol Genet* 1996; 5: 1417-23.

8. Mandel J. Maladies monogéniques et dysfonctions du système nerveux: progrès et perspectives. *Med Sci* 1996; 12 (suppl n°10): 100-8.

9. Sutherland GR, Richards RI. Simple tandem DNA repeats and human genetic disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 3636-41.

## RÉFÉRENCES

10. Campuzano V, Montermini L, Molto MD, Pianese L, Cossee M, Cavalcanti F, Monros E, Rodius F, Duclos F, Monticelli A, *et al.* Friedreich's ataxia: autosomal recessive disease caused by an intronic GAA triplet repeat expansion. *Science* 1996; 271.
11. Koenig M, Campuzano V, Cossée M, Mandel J. Ataxie de Friedreich: les expansions de triplets frappent encore. *Med Sci* 1996; 12: 431-5.
12. Lavedan C, Hofmann-Radvanyi H, Shelbourne P, Rabes JP, Duros C, Savoy D, Dehaupas I, Luce S, Johnson K, Junien C. Myotonic dystrophy: size- and sex-dependent dynamics of CTG meiotic instability, and somatic mosaicism. *Am J Hum Genet* 1993; 52: 875-83.
13. Lavedan C, Hofmann-Radvanyi H, Rabes JP, Roume J, Junien C. Different sex-dependent constraints in CTG length variation as explanation for congenital myotonic dystrophy. *Lancet* 1993; 341: 237.
14. Jansen G, Willems P, Coerwinkel M, Nillesen W, Smeets H, Vits L, Howeler C, Brunner H, Wieringa B. Gonosomal mosaicism in myotonic dystrophy patients: involvement of mitotic events in (CTG)<sub>n</sub> repeat variation and selection against extreme expansion in sperm. *Am J Hum Genet* 1994; 54: 575-85.
15. Ashizawa T, Anvret M, Baiget M, Barcelo JM, Brunner H, Cobo AM, Dallapiccola B, Fenwick RG Jr, Grandell U, Harley H, *et al.* Characteristics of intergenerational contractions of the CTG repeat in myotonic dystrophy. *Am J Hum Genet* 1994; 54: 414-23.
16. McMurray CT. Mechanisms of DNA expansion. *Chromosoma* 1995; 104: 2-13.
17. Gourdon G, Dessen P, Lia AS, Duros C, Junien C, Hofmann-Radvanyi H. Intriguing association between disease associated unstable trinucleotide repeat CpG island. *Ann Genet* 1997 (sous presse).
18. Hofmann-Radvanyi H, Junien C. Myotonic dystrophy: over-expression or/and under-expression? A critical review on a controversial point. *Neuromusc Disord* 1993; 3: 497-501.
19. Fu YH, Kuhl DPA, Pizzuti A, Fenwick JRG, King J, Rajnarayan S, Dunne PW, Dubel J, Nasser GA, Ashizawa T, *et al.* An unstable triplet repeat in a gene related to myotonic muscular dystrophy. *Science* 1992; 255: 1256-8.
20. Maeda M, Taft CS, Bush EW, Holder E, Bailey WM, Neville H, Perryman MB, Bies RD. Identification, tissue-specific expression, and subcellular localization of the 80- and 71-kDa forms of myotonic dystrophy kinase protein. *J Biol Chem* 1995; 270: 20246-9.
21. Fu HY, Friedman DL, Richards S, Pearlman JA, Gibbs RA, Pizzuti A, Ashizawa T, Perryman MB, Scarloto G, Fenwick RG, *et al.* Decreased expression of myotonic-protein kinase messenger RNA and protein in the adult form of myotonic dystrophy. *Science* 1993; 260: 235-8.
22. Hofmann-Radvanyi H, Lavedan C, Rabes JP, Savoy D, Duros C, Johnson K, Junien C. Myotonic dystrophy: absence of CTG enlarged transcript in congenital forms, and low expression of the normal allele. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 1263-6.
23. Wang JZ, Pegoraro E, Menegazzo E, Gennarelli M, Hoop RC, Angelini C, Hoffman EP. Myotonic dystrophy: evidence for a possible dominant-negative RNA mutation. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 599-606.
24. Decker CJ, Parker R. Diversity of cytoplasmic functions for the 3' untranslated region of eukaryotic transcripts. *Curr Opin Cell Biol* 1995; 7: 386-92.
25. Taneja LK, McCurrach M, Schalling M, Housman D, Singer RH. Foci of trinucleotide repeat transcripts in nuclei of myotonic dystrophy cells and tissues. *J Cell Biol* 1995; 996-1002.
26. Rastinejad F, Blau HM. Genetic complementation reveals a novel regulatory role for 3' untranslated regions in growth and differentiation. *Cell* 1993; 72: 903-17.
27. Rastinejad F, Conboy MJ, Rando TA, Blau HM. Tumor suppression by RNA from the 3' untranslated region of alpha-tropomyosin. *Cell* 1993; 75: 1107-17.
28. Whiting EJ, Waring JD, Tama K, Somerville MJ, Hincke M, Staines WA, Ikeda JE, Korneluk RG. Characterization of myotonic dystrophy kinase (DMK) protein in human and rodent muscle and central nervous tissue. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 1063-72.
29. Timchenko L, Nastainczyk W, Schneider T, Patel B, Hofmann F, Caskey CT. Full-length myotonin protein kinase (72 kDa) displays serine kinase activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 5366-70.
30. Bingham PM, Scott MO, Wang S, McPhaul MJ, Wilson EM, Garbern JY, Merry DE, K.H. F. Stability of an expanded trinucleotide repeat in the androgen receptor gene in transgenic mice. *Nature Genet* 1995; 9: 191-6.
31. Zeisler J, Goldberg YP, Julien JP, Tufaro F, Jirik F, Hayden MR. Transgenic mice containing expanded CAG trinucleotides within the full length cDNA of the Huntington disease gene. *Am J Hum Genet (1994 annual meeting)* 1994; 55: A46.
32. Burchright EN, Clark HB, Servadio A, Matilla T, Feddersen RM, Yunis WS, Duvick LA, Zoghbi HY, Orr HT. SCA1 transgenic mice: a model for neurodegeneration caused by an expanded CAG trinucleotide repeat. *Cell* 1995; 82: 937-48.
33. Gourdon G, Radvanyi F, Lia AS, Duros C, Blanche M, Abitbol M, Junien C, Hofmann-Radvanyi H. Moderate instability of a 55 CTG repeat in transgenic mice carrying a 45 kb genomic region from an affected DM patient. *Nature Genet* 1997; 15: 190-2.
34. Mangiarini L, Sathasivam K, Mahal A, Mott R, Seller M, Bates GP. Instability of highly expanded CAG repeats in mice transgenic for the Huntington's disease mutation. *Nature Genet* 1997; 15: 197-200.
35. Monckton DG, Coolbaugh MI, Ashizawa KT, Siciliano MJ, Caskey CT. Hypermutable myotonic dystrophy CTG repeats in transgenic mice. *Nature Genet* 1997; 15: 193-6.
36. Braga IS, Oda K, Kikuchi T, Tanaka S, Shin Y, Sento M, Itakura C, Mizutani M. New inherited muscular disorder in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Vet Pathol* 1995; 32: 351-60.
37. Jansen G, Groenen PJ, Bächner D, Jap PH, Coerwinkel M, Oerlemans F, van den Broek W, Gohlsch B, Pette D, Plomp JJ, *et al.* Abnormal myotonic dystrophy protein kinase levels produce only mild myopathy in mice. *Nature Genet* 1996; 13: 317-24.
38. Reddy S, Smith DB, Rich MM, Leferovich JM, Reilly P, Davis BM, Tran K, Rayburn H, Bronson R, Cros D, *et al.* Mice lacking the myotonic dystrophy protein kinase develop a late onset progressive myopathy. *Nature Genet* 1996; 13: 325-34.
39. Klesert TR, Otten AD, Bird TD, Tapscott SJ. Trinucleotide repeat expansion at the myotonic dystrophy locus reduces expression of *DMAHP*. *Nature Genet* 1997; 16: 402-6.
40. Thornton CA, Wymer JP, Simmons Z, McClain C, Moxsley III RT. Expansion of the myotonic dystrophy CTG repeat reduces expression of the flanking *DMAHP* gene. *Nature Genet* 1997; 16: 407-9.

## TIRÉS À PART

C. Junien.

**Symposium international  
Strategies in virus-host relationships  
Lyon, France 16-18 février 1998  
organisé par la Fondation Mérieux**

**Informations-inscriptions :** Betty Dodet, Fondation Mérieux, 17, rue Bourgelat, 69002 Lyon, France  
Tél. : 04 72 73 78 44 - Fax : 04 72 73 79 93  
e-mail: 100765.1401@compuserve.com      web: www.fond-merieux.org

## Summary

### Myotonic dystrophy: an intriguing unstable trinucleotide repeat

Myotonic dystrophy (DM) is one of a growing number of genetic disorders associated with a triplet repeat dynamic mutation discovered during the last five years. The intergenerational increase in size represents the molecular basis of the long debated phenomenon known as anticipation, an increase of the severity through consecutive generations. Myotonic dystrophy (DM) is the most frequent autosomal dominant muscular dystrophy of adults, the symptoms of which may be numerous and diverse. The mutational event causing DM is a dynamic amplification of a repeated (CTG)<sub>n</sub> DNA motif located within the 3' untranslated region (3'UTR) of the gene encoding myotonin protein kinase DMPK. Whereas the underlying mechanisms by which other expanded triplets, CAG, CCG and GAA produce the phenotype in other diseases are rather well-understood there has hardly been any progress in answering the key question: how does the DM CTG repeat in the 3'UTR exert its effect(s)? The severe and multisystemic manifestations of myotonic dystrophy may not be a simple monogenic loss- or gain-of-function effect. There remains a question mark upon whether the expanded repeat in DM influences the *DMPK* gene, its RNA or its protein products by interference with transcription, alternative splicing, transport or translational efficiency of mRNA or the entire cellular context in which the *DMPK* is expressed. However haploinsufficiency of *DMPK* as a unique pathogenic mechanism has been ruled out and the mouse models clearly showed that DM is not simply due to a lack or excess of the DMPK protein since these animals lack myotonia, cataracts and the congenital form. Other neighbouring genes within this gene-dense area may also be involved. An alternative hypothesis could be an alteration in the normal cellular function of the 3'UTR of the DMPK. Finally it has been put forward that the expanded DM could interact with RNA. Other animal models are therefore needed to understand the pathological consequences of this mysterious type of mutation and to reproduce the human DM phenotype for future therapy.

r

## INVASION MÉTASTATIQUE TUMORALE

- 8 h 30 Accueil des participants - Introduction de Jacques PICARD
- 8 h 45 Claude GRISCELLI (Directeur général de l'Inserm)  
Introduction
- 9 h 00 Dominique STEHELIN (Cnrs, Institut Pasteur - Lille)  
Similitudes entre les mécanismes de néoangiogenèse et d'invasion tumorales
- 9 h 30 Jean-Paul THIERY (Cnrs, Institut Curie - Paris)  
Rôle des facteurs de croissance dans la dissémination métastatique
- 10 h 00 Jean-Marie BLANCHARD (Cnrs, IGM - Montpellier)  
Contrôle du cycle cellulaire et progression tumorale
- 10 h 30 *Pause-café*
- 11 h 00 Marc MAREEL (Hôpital Université - Gand)  
E-cadhérine et  $\alpha$ -caténine dans l'invasion cancéreuse
- 11 h 30 Daniel LOUWARD (Cnrs, Institut Curie - Paris)  
Rôle de l'ezrine dans la motilité des cellules épithéliales normales et tumorales
- 12 h 00 Jean FEUNTEUN (Cnrs, Institut Gustave-Roussy - Villejuif)  
Prédisposition génétique au cancer du sein et de l'ovaire
- 12 h 30 *Déjeuner*
- 14 h 30 Henri ROCHEFORT (Inserm, Montpellier)  
Influence des œstrogènes et de la cathepsine D dans l'invasion métastatique des cancers du sein
- 15 h 00 Paul BASSET (Cnrs, IGBMC - Strasbourg)  
Les protéases extracellulaires d'origine stromale : contribution à la progression cancéreuse et perspectives thérapeutiques
- 15 h 30 Marie-France POUPON (Cnrs, Institut Curie - Paris)  
Effet de mutations de la protéine p53 sur la stabilité génomique et le potentiel métastatique dans une lignée humaine de cancer du côlon
- 16 h 00 *Pause-café*
- 16 h 15 Jean BÉNARD (Institut Gustave-Roussy - Paris)  
Les facteurs oncogéniques de la dissémination métastatique du neuroblastome
- 16 h 35 Hugues de THÉ (Cnrs, Institut Hôpital Saint-Louis - Paris)  
La leucémie promyélocytaire, un modèle thérapeutique ciblé sur l'oncogène
- 17 h 00 Patricia PATERLINI (Inserm - Paris)  
Implications cliniques de la dissémination spontanée et iatrogène de cellules tumorales chez les patients avec cancer primitif du foie
- 17 h 30 *Table ronde*