

que le clivage de pro-PCSK9 en PCSK9 est indispensable à son action sur le récepteur des LDL (le Golgi et/ou les endo/lysosomes seraient les sites d'action où pourrait s'opérer la régulation par PCSK9 de l'expression du récepteur des LDL). À partir des données actuelles, on ne peut cependant pas exclure que PCSK9 ait un autre mécanisme d'action qui reste à déterminer.

PCSK9 et production de VLDL

L'étude métabolique de l'apoB100 chez deux patients ayant une mutation S127R indique qu'à côté de la diminution du catabolisme hépatique, ces patients ont une production fortement augmentée de l'apoB100 des VLDL (*very low density lipoproteins*) (lipoprotéines de très basse densité, précurseurs des LDL) par rapport à celle de sujets témoins [13]. Cette observation n'est pas reproduite dans les modèles animaux ou cellulaires: la surexpression de la forme sauvage de PCSK9, chez la souris ou en culture cellulaire, ne provoque pas de modification de la production d'apoB100 et/ou de VLDL (G. Lambert, données non publiées). De même, la surexpression de PCSK9 sauvage ou muté (S127R) ne semble pas affecter la production de VLDL chez la souris déficiente en récepteur des LDL [14]. D'autres études sont nécessaires pour établir les méca-

nismes cellulaires de cette nouvelle action de PCSK9 muté.

Ainsi, *PCSK9* est bien un nouveau gène directement impliqué dans l'hypercholestérolémie familiale. Son action antagoniste sur l'expression et l'activité du récepteur des LDL est désormais établie avec certitude. L'étude réalisée par des techniques de pointe de biologie cellulaire ainsi que la production de souris dont le gène codant pour PCSK9 a été invalidé devraient permettre d'appréhender avec précision les mécanismes moléculaires présidés par PCSK9 et de proposer, éventuellement, une approche thérapeutique d'inhibition de cette voie métabolique. ♦

PCSK9: a new gene involved in familial hypercholesterolemia

RÉFÉRENCES

1. Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH. Monogenic hypercholesterolemia: New insights in pathogenesis and treatment. *J Clin Invest* 2003; 111: 1795-803.
2. Hunt SC, Hopkins PN, Bulka K, et al. Genetic localization to chromosome 1p32 of the third locus for familial hypercholesterolemia in a Utah kindred. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1089-93.
3. Varret M, Rabes JP, Saint-Jore B, et al. Third major locus for autosomal dominant hypercholesterolemia maps to 1p34.1-p32. *Am J Hum Genet* 1999; 64: 1378-87.
4. Abifadel M, Varret M, Rabes JP, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet* 2003; 34: 154-6.
5. Timms KM, Wagner S, Samuels ME, et al. A mutation in PCSK9 causing autosomal-dominant hypercholesterolemia in a Utah pedigree. *Hum Genet* 2004; 114: 349-53.
6. Leren TP. Mutations in the PCSK9 gene in Norwegian subjects with autosomal dominant hypercholesterolemia. *Clin Genet* 2004; 65: 419-22.
7. Seidah NG, Benjannet S, Wickham L, et al. The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): Liver regeneration and neuronal differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 928-33.
8. Maxwell KN, Soccio RE, Duncan EM, et al. Novel putative SREBP and LXR target genes identified by microarray analysis in liver of cholesterol-fed mice. *J Lipid Res* 2003; 44: 2109-19.
9. Horton JD, Shah NA, Warrington JA, et al. Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 12027-32.
10. Dubuc G, Chamberland A, Wassef H, et al. Statins upregulate PCSK9, the gene encoding the proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase-1 implicated in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1-6.
11. Maxwell KN, Breslow JL. Adenoviral-mediated expression of Pcsk9 in mice results in a low-density lipoprotein receptor knockout phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 7100-5.
12. Benjannet S, Rhoads D, Essalmani R, et al. NARC-1/PCSK9 and its natural mutants: zymogen cleavage and effects on the LDLR and LDL-cholesterol. *J Biol Chem* 2004 (sous presse).
13. Uguerram K, Chetiveaux M, Zair Y, et al. Apolipoprotein B100 metabolism in autosomal-dominant hypercholesterolemia related to mutations in PCSK9. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1448-53.
14. Park SW, Moon YA, Horton JD. Post-transcriptional regulation of LDL receptor protein by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9a (PCSK9) in mouse liver. *J Biol Chem* 2004 (sous presse).

NOUVELLE

Bases moléculaires de l'acrodermatite entéropathique

Sébastien Küry, Stéphane Bézieau, Jean-Paul Moisan

► L'acrodermatite entéropathique (AE) est un syndrome héréditaire rare de déficience en zinc, transmis selon un mode autosomique récessif. Apparaissant dès la naissance ou au moment du sevrage [1], l'AE se définit théoriquement par la présence de trois symptômes pathogno-

moniques: une dermatite acrale (des extrémités) et péri-orificielle, une diarrhée et une alopecie [2]. Ces symptômes sont la conséquence précoce d'une déficience nutritionnelle en zinc due à une malabsorption dans le duodénum et le jéjunum. Le corps humain ne possédant

S. Küry, J.-P. Moisan:
Laboratoire d'étude du polymorphisme de l'ADN, Faculté de Médecine, 1, rue Gaston Veil, 44035 Nantes Cedex, France.
S. Bézieau: Laboratoire d'étude du polymorphisme de l'ADN et Service de Génétique médicale, CHU de Nantes, Hôtel Dieu, 44093 Nantes Cedex 1, France.
skury@sante.univ-nantes.fr

pas de véritable réserve de zinc, la déficience s'étend rapidement à tout l'organisme et se manifeste par un tableau cli-

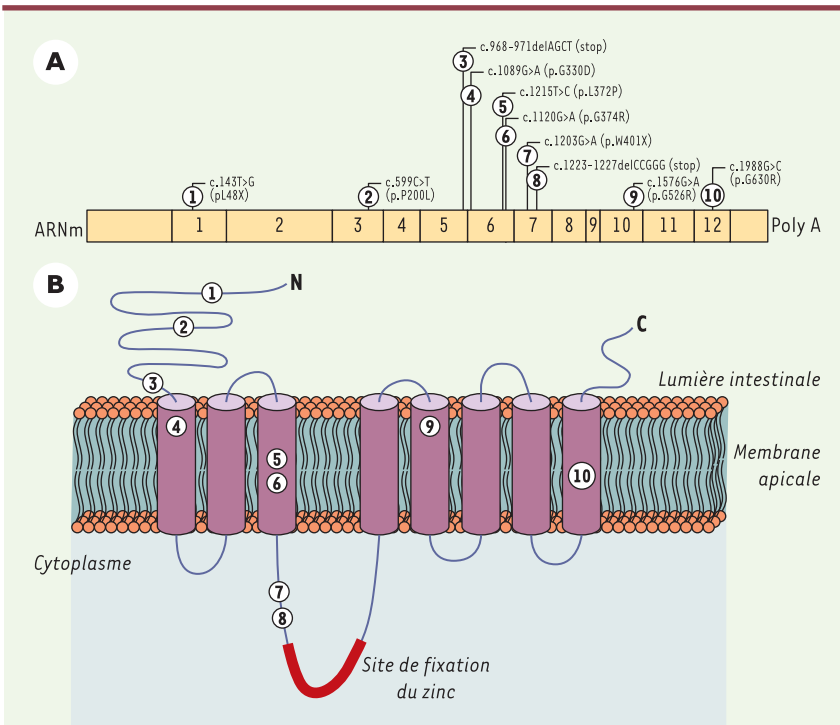


Figure 1. Mutations délétères du gène SLC39A4 observées chez des patients atteints d'acrodermatite entéropathique. A. Localisation dans la séquence ARNm de mutations tronquantes (1, 3, 7 et 8) et faux-sens validées par expression cellulaire *in vitro* (2, 4, 5, 6, 9 et 10). **B.** Localisation des mutations protéiques correspondantes dans la structure secondaire du transporteur Slc39a4.

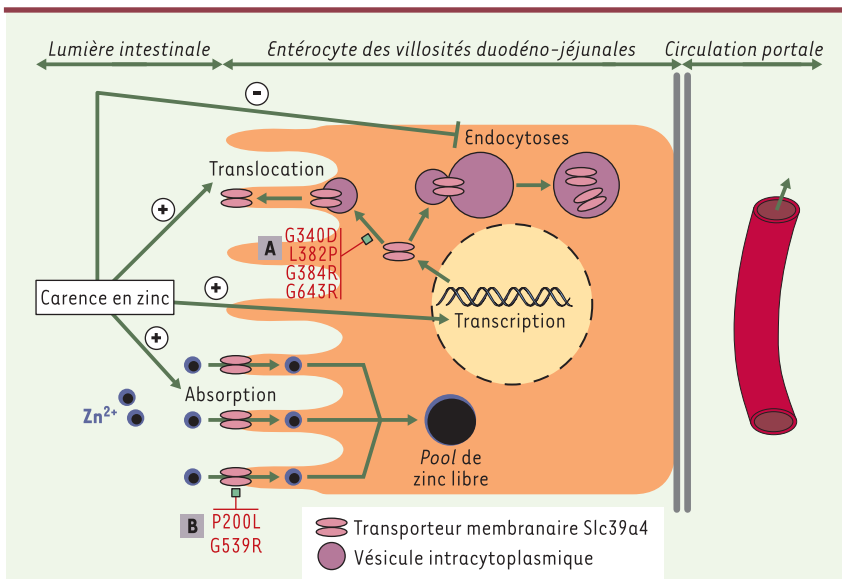


Figure 2. Physiopathologie de l'absorption entérocytaire du zinc par Slc39a4. L'activité de transport de zinc par Slc39a4, inversement proportionnelle à la concentration de zinc des aliments, résulte de la modulation du contrôle des phénomènes activateurs (transcription de SLC39A4 et translocation membranaire vers la surface apicale) et inhibiteurs (endocytose vésiculaire intracytoplasmique). Les mutations faux-sens présentées par des patients atteints d'acrodermatite entéropathique entraînent des altérations soit de la glycosylation de Slc39a4 (A), ce qui empêche sa translocation membranaire, soit de sa conformation, ce qui inhibe sa fonction de transporteur de zinc (B).

nique extrêmement vaste, reflétant le rôle physiologique crucial de cet oligo-élément; si aucun traitement n'est apporté, le manque de zinc conduit à terme à une défaillance organique généralisée et, finalement, à la mort de l'individu [2]. L'importance d'un diagnostic correct est donc d'autant plus grande que, lorsqu'il est posé, une simple supplémentation orale quotidienne de zinc permet de faire disparaître tous les symptômes en quelques jours.

En 2002, nous avons cloné un nouveau gène, SLC39A4, dont les caractéristiques nous ont suggéré son rôle déterminant dans la pathogénie de l'AE [3]. Nous avons ainsi observé que SLC39A4 se localisait dans le locus chromosomique de susceptibilité à l'AE déterminé par K. Wang *et al.* en 8q24.3 [4], qu'il était exprimé dans le duodénum et le jéjunum - les deux sites intestinaux incriminés dans l'AE [1, 5] - et qu'il codait pour une protéine dont la structure est fortement homologue avec celle des transporteurs membranaires connus pour absorber le zinc dans la cellule (Figure 1). De plus, tous les patients atteints d'AE alors inclus dans l'étude présentaient des mutations délétères de SLC39A4, la coségrégation se révélant parfaite entre le génotype et le phénotype au sein des familles des patients [3]. Une étude parallèle confirmait l'altération de SLC39A4 pour d'autres familles atteintes d'AE et révélait que, chez la souris, la protéine Slc39a4 était exprimée sur la face apicale des entérocytes des villosités intestinales, précisément là où s'effectue l'absorption du zinc [6].

Récemment, la fonction d'absorption spécifique du zinc par Slc39a4 a été prouvée expérimentalement par la transfection de son ARNm dans des modèles cellulaires aussi différents que des cellules embryonnaires humaines et des ovocytes de xénope [7] (S. Küry et N. Ford, données non publiées). Des études *in vivo* chez la souris ont montré, quant à elles, que l'activité de transport de Slc39a4 dans l'intestin grêle est inversement proportionnelle à la richesse en

zinc des nutriments. Lorsque l'apport alimentaire est carencé en zinc, les transcrits ARNm entérocytaires de *SLC39A4* augmentent et les nombreuses protéines synthétisées se localisent majoritairement dans la membrane apicale (Figure 2). Au contraire, un excès de zinc provoque une diminution de la transcription et une séquestration des protéines Slc39a4 par endocytose dans des compartiments intracellulaires [7]. La régulation fine de *SLC39A4* en fonction des apports alimentaires de zinc suggère le rôle prépondérant de ce gène dans l'homéostasie du zinc, justement en cause chez les patients atteints d'AE. Or, des expériences d'expression fonctionnelle cellulaire ont démontré que les mutations faux-sens observées chez ces patients induisent une diminution d'absorption du zinc par Slc39a4 (Figure 2) [8] (S. Küry et N. Ford, données non publiées); certaines empêchent la localisation de Slc39a4 dans la membrane apicale en altérant sa glycosylation protéique, tandis que d'autres affectent sa conformation fonctionnelle [8]. Ainsi, la preuve est désormais faite du lien de causalité existant entre les anomalies de *SLC39A4* et l'AE.

La caractérisation du gène codant pour l'AE nous a servi à mettre au point un test moléculaire de *SLC39A4* pour la détection des porteurs de mutations au sein des familles à risque, afin de pouvoir proposer un traitement précoce aux malades. Si le dépistage prénatal ne s'impose pas réellement, l'intérêt du test parental est, en revanche, accru dans les familles consanguines, en particulier celles de l'Afrique du Nord où la prévalence de l'AE est relativement forte. En pratique, ce

test génétique devrait constituer une aide précieuse au diagnostic de l'AE, que la clinique seule ne permet souvent pas d'établir avec confiance en raison de tableaux cliniques incomplets, ou au contraire trop complexes [9]. D'après les résultats obtenus pour une quarantaine de patients, l'efficacité de ce test s'avère remarquable puisque, chez près de 90% des individus examinés, nous avons retrouvé des mutations délétères de *SLC39A4* [10].

Sur un plan fondamental, certains résultats étonnants de ce test nous amènent à considérer l'existence possible d'un second gène impliqué dans l'AE. Celui-ci pourrait avoir un rôle essentiel dans la pathogénie des 10% environ de cas d'AE apparemment non liés à *SLC39A4*. Des mutations de ce second gène pourraient également potentialiser l'effet délétère de celles de *SLC39A4*, expliquant ainsi l'AE sévère de quelques patients chez lesquels nous n'avons identifié qu'une mutation hétérozygote de *SLC39A4* [10]. Il n'est pas non plus exclu que cet autre gène soit à l'origine de l'acrodermatite-like, un syndrome dans lequel le nourrisson allaité par sa mère présente des symptômes cliniques identiques à l'AE. Dans ce cas, la mère présente un déficit de transport de zinc dans le lait, à l'origine de la déficience en zinc de son enfant. Par analyse mutationnelle, nous avons montré que le gène responsable n'était ni *SLC39A4*, ni *SLC30A4* - le gène incriminé dans le syndrome murin orthologue *lethal milk*. Or, nous avons observé que des mutations hétérozygotes de *SLC39A4* pouvaient exceptionnellement induire une carence en zinc du lait maternel [9]. Cela suggère par consé-

quent que l'acrodermatite-like et les formes d'AE non liées à *SLC39A4* pourraient avoir une origine génétique commune. De toute évidence, l'identification de ce second gène constitue la prochaine étape décisive de la recherche sur l'AE; elle devrait permettre à la fois d'améliorer la fiabilité du test diagnostique de l'AE et mieux comprendre la remarquable efficacité de la supplémentation en zinc chez les patients touchés par cette affection. ♦

Molecular bases of acrodermatitis enteropathica

RÉFÉRENCES

1. Van Wouwe JP. Clinical and laboratory diagnosis of acrodermatitis enteropathica. *Eur J Pediatr* 1989; 149: 2-8.
2. Danbolt N. Acrodermatitis enteropathica. *Br J Dermatol* 1979; 100: 37-40.
3. Küry S, Dréno B, Bézieau S, et al. Identification of *SLC39A4*, a gene involved in acrodermatitis enteropathica. *Nat Genet* 2002; 31: 239-40.
4. Wang K, Pugh EW, Griffen S, et al. Homozygosity mapping places the acrodermatitis enteropathica gene on chromosomal region 8q24.3. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 1055-60.
5. Atherton DJ, Muller DP, Aggett PJ, et al. A defect in zinc uptake by jejunal biopsies in acrodermatitis enteropathica. *Clin Sci* 1979; 56: 505-7.
6. Wang K, Zhou B, Kuo YM, et al. A novel member of a zinc transporter family is defective in acrodermatitis enteropathica. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 66-73.
7. Dufner-Beattie J, Wang F, Kuo YM, et al. The acrodermatitis enteropathica gene ZIP4 encodes a tissue-specific, zinc-regulated zinc transporter in mice. *J Biol Chem* 2003; 278: 33474-81.
8. Wang F, Kim BE, Dufner-Beattie J, et al. Acrodermatitis enteropathica mutations affect transport activity, localization and zinc-responsive trafficking of the mouse ZIP4 zinc transporter. *Hum Mol Genet* 2004; 13: 563-71.
9. Kharfi M, Zaraq I, Küry S, et al. Acrodermatite entéro-pathique chez un nourrisson né à terme, nourri exclusivement au sein. *Ann Dermatol Vénereol* 2004 (sous presse).
10. Küry S, Kharfi M, Kamoun R, et al. Mutation spectrum of human *SLC39A4* in a panel of patients with acrodermatitis enteropathica. *Hum Mutat* 2003; 22: 337-8.