

## Harmonine, un joli nom pour une protéine impliquée dans un des syndromes de Usher

Pendant longtemps, la surdité est apparue comme l'atteinte sensorielle la plus difficile à explorer en génétique moléculaire. Malgré sa grande hétérogénéité – on dénombre actuellement 55 locus – les découvertes se sont multipliées au cours de la dernière décennie avec 17 gènes identifiés, codant tous pour des protéines inconnues jusqu'alors (*m/s* 1998, n°2, p. 246 et 2000, n°2, p. 270) et permettant dans certains cas un diagnostic prénatal (*m/s* 1998, n°8-9, p.1000).

Les surdités peuvent être isolées ou syndromiques, associées à d'autres manifestations cliniques. Dans le syndrome de Usher (USH1), l'atteinte sensorielle est double: les malades ont en effet une surdité congénitale profonde (avec trouble de la fonction vestibulaire), et une cécité due à une rétinite pigmentaire évolutive. Cette maladie récessive autosomique est génétiquement très hétérogène puisqu'il en existe trois types et que, pour le type 1, six locus ont été dénombrés (USH1 de A à F). Jusqu'à présent un seul gène avait été identifié: *MYO7A*, codant pour la myosine de type VIIA, et impliqué dans le syndrome de Usher USH1B (*m/s* 1995, n°8, p. 1181). Dans le syndrome de Usher USH2A, une protéine de la matrice extracellulaire semble impliquée [1].

L'équipe de Christine Petit vient de découvrir un second gène localisé en 11p14, correspondant au syndrome de Usher de type 1C, USH1C [2]. Ce syndrome rare avait été décrit dans une population de descendants d'Acadiens en Louisiane. Les auteurs ont réalisé un clonage par soustraction entre des ADNc isolés à partir de fragments disséqués de l'épithélium sensoriel de l'oreille interne de la souris, et des fragments non sensoriels des canaux semi-circulaires. Un des clones ainsi isolé avait 90 % d'identité avec un ADNc humain

codant pour une protéine déjà décrite [3] qui possède un domaine PDZ. Après avoir reconstitué la structure introns/exons du gène humain, des mutations furent mises en évidence chez les malades de différentes origines. Et le nom d'harmonine\* fut donné à cette protéine dont on cherche déjà à entrevoir le rôle au cours de la transduction du signal neurosensoriel. Le domaine PDZ doit son nom aux trois premières protéines découvertes qui étaient pourvues de ce motif de 80-90 acides aminés: PSD95, intervenant dans la synapse, dgl, suppresseur de tumeur chez la drosophile et ZO-1, protéine de jonction de la membrane plasmique [4]. Les protéines PDZ sont capables de fixer, d'assembler des protéines transmembranaires (récepteurs, canaux ioniques), et d'organiser des complexes multiprotéiques dans des structures subcellulaires spécifiques comme les jonctions synaptiques ou les jonctions serrées des cellules épithéliales.

Parmi les mutations observées, deux (une délétion dans des familles libanaises, et une insertion dans des familles d'origine européenne) affectent la séquence codante et entraînent probablement la formation de protéines tronquées. Il est intéressant de signaler que chez les malades d'origine acadienne, la séquence codante est intacte mais qu'il existe à l'état homozygote une expansion avec 9 répétitions d'un VNTR (*variable number tandem repeat*) dans l'intron 5. Aucun des cent témoins français\*\* ne présente plus de 6 répétitions sur l'un ou l'autre de ses allèles. La reconstitution de l'ADNc

du gène *Ush1C* murin a permis de révéler l'existence de huit transcrits différents dans l'oreille interne. Les isoformes des protéines prédites se divisent en trois sous-classes: a, b et c. Les isoformes b sont les plus longues et possèdent deux domaines *coil-coiled*, trois domaines PDZ et une région PST (riche en proline, sérine, thréonine). Un des transcrits du gène *Ush1C* est détecté dans différents organes de la souris: intestin grêle, colon, rein, pancréas, œil, pendant la période embryonnaire. Toutefois, certains des transcrits ne semblent exprimés que dans l'oreille interne. L'étude en immunohistofluorescence montre que l'harmonine est présente dans les régions sensorielles de l'oreille interne, c'est-à-dire dans la cochlée et dans les cinq formations du vestibule (utricle, saccule, et les trois ampoules des canaux semi-circulaires) (*m/s* 2000, n°2, p. 270), la coloration étant limitée aux cellules sensorielles ciliées et localisée dans le cytoplasme et le stéréocil.

Dans le même temps, une équipe anglaise, étudiant un syndrome de gènes contigus, a trouvé une délétion de 122 kb dans la région incluant le gène *ABCC8* et le syndrome de Usher sur les deux chromosomes 11 chez des enfants de deux familles consanguines [5]. Ceux-ci présentaient un hyperinsulinisme (attribué à la perte partielle du gène *ABCC8*, codant pour un composant d'un canal potassique sensible à l'ATP) ainsi qu'une surdité et une entéropathie. La perte d'une partie du gène *USH1C* (19 des 21 exons sont délétés) a été démontrée. Les auteurs considèrent que non seulement la surdité, mais aussi l'entéropathie peuvent être la conséquence de cette perte de *USH1C*. En effet, l'harmonine avait initialement été découverte comme antigène dans une entéropathie auto-immune [6].

\* Harmonie: (du grec) ensemble qui résulte de l'accord de ses éléments et de leur adaptation à une fin. Harmonia: fille d'Aphrodite.

\*\* Pays d'origine des Acadiens.

Ce nouvel élément qui participe à la transduction du signal auditif pourrait permettre de mieux comprendre les mécanismes d'adaptation se produisant en réponse à un signal auditif. On sait que les cellules sensorielles sont dotées d'une touffe ciliaire et que chaque touffe comporte une soixantaine de stéréocils contenant des canaux cationiques. Ces canaux sont fixés à des liens provenant de l'extrémité apicale du stéréocil adjacent. Le stimulus sonore provoque la déflexion des stéréocils, et donc une tension des liens, ce qui provoque l'ouverture des canaux cationiques (figure 1). Il est donc évident que la cellule sensorielle possède des mécanismes lui permettant

de s'adapter à un stimulus sonore prolongé. Selon un modèle hypothétique, cette adaptation se fait en quelques millièmes de secondes par l'action des ions  $Ca^{2+}$  entrés dans la cellule, qui se fixeraient sur les canaux cationiques mécano-sensoriels et les inhiberaient [7]. Un autre modèle propose l'intervention moins rapide (en quelques dizaines de millisecondes) d'un moteur moléculaire actif constitué de plusieurs douzaines de myosines associées de façon indirecte aux canaux ioniques. L'entrée de  $Ca^{2+}$  stimulerait ce moteur, ce qui abaisserait les filaments d'actine, réduisant ainsi la tension et permettant la fermeture des canaux. L'harmonine, sous forme d'homomulti-

mère, pourrait jouer un rôle dans ce modèle en servant de protéine « cargo » (*rafting protein*) qui assemblerait les unités de myosine et les disposerait le long des filaments d'actine (figure 1). Les deux modèles ne sont du reste pas exclusifs. L'obtention de souris déficientes en harmonine permettrait de progresser dans la compréhension de ce subtil mécanisme et de connaître aussi l'action éventuelle de l'harmonine sur la rétine, car la phototransduction, qui implique déjà une autre protéine PDZ [8], fonctionne selon les mêmes modèles. Enfin, le locus de la surdité DFNB18 est, lui aussi, localisé dans la région 11p14-15, où *USH1C* n'est situé qu'à 8kb du gène *OTGN* codant l'otogéline. Il faudra donc départager entre ces deux gènes qui sont tous deux de bons candidats pour cette surdité profonde non syndromique.

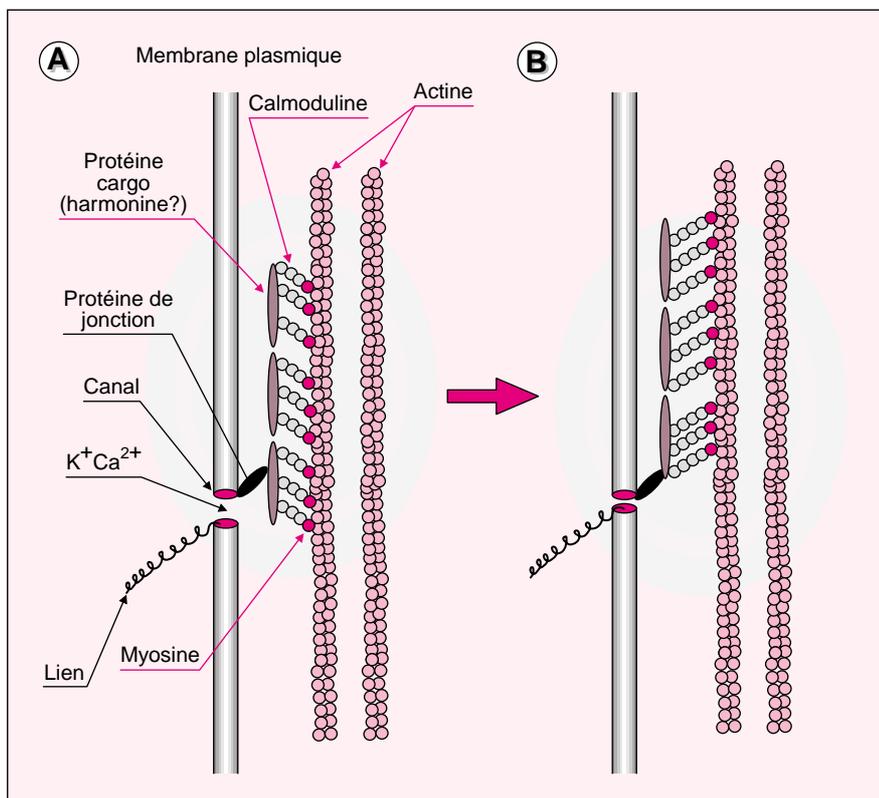


Figure 1. **Modèle hypothétique impliquant l'harmonine dans l'adaptation de la cellule sensorielle à un stimulus sonore prolongé.** A. Lors de la déflexion des stéréocils, les canaux cationiques s'ouvrent en raison de la tension exercée sur le lien réunissant deux stéréocils adjacents. Il existe une structure motrice multiprotéique reliée à ces canaux. Cette structure serait constituée de plusieurs douzaines de myosines ancrées sur une protéine d'assemblage et de glissement (protéine cargo) qui pourrait être un homomultimère d'harmonine. B. Après l'ouverture du canal, l'afflux d'ions  $Ca^{2+}$  se liant aux calmodulines régulatrices associées à la myosine permettrait au moteur moléculaire de démarrer et de glisser le long des filaments d'actine. Ceci entraînerait une réduction de la tension et la fermeture des canaux (d'après [7]).

1. Eudy JD, Weston MD, Yao S, Hoover DM, Rehm HL, *et al.* Mutation of a gene encoding a protein with extracellular matrix motifs in Usher syndrome type Iia. *Science* 1998; 280: 1753-7.
2. Verpi E, Leibovici M, Zwaenepoel I, Lui X-Z, Gal A, *et al.* A defect in harmonin, a PDZ domain-containing protein expressed in the inner ear sensory hair cells, underlies Usher syndrome type 1C. *Nat Genet* 2000; 26: 51-5.
3. Scanlan MJ, Williamson B, Jungbluth A, Stockert E, Arden KC, *et al.* Isoforms of the human PDZ-73 protein exhibit differential tissue expression. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1445: 39-52.
4. Fanning AS, Anderson JM. Protein modules as organizers of membrane structure. *Curr Opin Cell Biol* 1999; 11: 432-9.
5. Bitner-Glindzicz M, Lindley KJ, Rutland P, Blyden D, Smith VV, *et al.* A recessive contiguous gene deletion causing infantile hyperinsulinism, enteropathy and deafness identifies the Usher type 1C gene. *Nat Genet* 2000; 26: 56-60.
6. Kobayashi I, Imamura K, Kubota M, Ishikawa S, Yamade M, *et al.* Identification of an autoimmune enteropathy-related 75 kilodalton antigen. *Gastroenterology* 1999; 117: 823-30.
7. Montell C. A PDZ protein ushers in new links. *Nat Genet* 2000; 26: 6-7.
8. Montell C. Visual transduction in Drosophila. *Ann Rev Cell Dev Biol* 1999; 15: 231-68.

**Simone Gilgenkrantz**

9, rue Basse, 54330 Clérey-sur-Brenon, France.