

## Syndrome clinique d'X fragile par délétion du gène, totale ou partielle

Une *mini-synthèse* parue dans *m/s* en mars 1992 (n° 3, vol. 8, p. 252) narrait les progrès récents de la connaissance de l'X fragile. Les deux principaux étaient l'isolement du gène responsable, désormais appelé *FMR1* (*fragile X mental retardation 1*) et l'identification de l'anomalie sous forme d'une augmentation du nombre des répétitions CGG, qui est normalement de 28.

Tout récemment [1, 2] ont été décrits deux malades présentant les signes cliniques de l'X fragile, faciès caractéristique avec front large, forte mâchoire inférieure, oreilles de grande taille, handicap intellectuel modéré. Aucun signe de fragilité de l'X ne pouvant être mis en évidence *in vitro*, ce diagnostic aurait été mis en doute encore récemment. Cependant la disponibilité de sondes de *FMR1* permet aujourd'hui de vérifier l'intégrité du gène ; l'application de ces méthodes a révélé dans les deux cas une délétion, de taille différente suivant les sujets.

Wöhrle *et al.* (Allemagne et Royaume-Uni) ont étudié [1] un homme de 25 ans. L'analyse moléculaire montra l'existence d'une délétion de taille inférieure à 250 kb, englobant au moins cinq exons du gène *FMR1* et en particulier les répétitions CGG. Aucun message de *FMR1* n'était détectable. Les autres membres de la famille (père, mère, et une sœur) paraissaient normaux, suggérant l'apparition *de novo* de la délétion.

Gedeon *et al.* (Australie et Allemagne) ont observé [2] un homme de 19 ans présentant l'aspect caractéristique et lui aussi sans fragilité *in vitro*. La délétion était beaucoup plus étendue que dans le cas précédent. Elle couvrait en effet 2,5 mégabases, englobant le locus *FMR1* en entier, y compris les répétitions CGG, et des séquences flanquantes. Comme la gravité clinique

n'était pas plus grande que dans les cas classiques d'X fragile, cette délétion ne devrait pas contenir d'autre gène important que *FMR1*, sinon des gènes qui seraient eux aussi reliés au syndrome de l'X fragile.

Le père, un frère et deux sœurs étaient normaux à l'analyse moléculaire, mais la mère était hémizygote pour *FMR1* et donc porteuse de la délétion à l'état hétérozygote.

On sait que les femmes hétérozygotes pour une délétion cytogénétique du chromosome X ont généralement un modèle d'inactivation biaisé, favorisant tantôt le chromosome sain, tantôt le délété. Chez la mère du malade, au contraire, aucun de ces biais n'était apparent ; l'inactivation se faisait au hasard ; il est probable que cette délétion submicroscopique n'était pas assez étendue pour retentir sur le mode d'inactivation, ou que les séquences qui modifient ce dernier n'y étaient pas présentes.

On voit donc que ces malades, qui présentent le syndrome clinique de l'X fragile, ne peuvent en toute rigueur être qualifiés de ce terme puisqu'il n'y a pas de fragilité. L'anomalie moléculaire n'en existe pas moins, démontrant l'importance du gène *FMR1* dans l'intégralité du fonctionnement cérébral et certains caractères du faciès. On peut penser que d'autres lésions moléculaires du gène — telles que des mutations ponctuelles en des points cruciaux — pourront être découvertes à l'avenir.

Il est enfin curieux de constater que, alors que de telles mutations étaient inconnues jusqu'à présent, deux malades provenant de pays différents soient découverts, étudiés, et publiés en même temps dans des journaux différents — et qu'aucune allusion ne soit faite d'un article à l'autre, alors même

que plusieurs auteurs sont signataires des deux.

J.C.D.

1. Wöhrle D, Kotzot D, Hirst MC, *et al.* A microdeletion of less than 250 kb, including the proximal part of the *FMR-1* gene and the fragile-X site, in a male with the clinical phenotype of fragile-X syndrome. *Am J Hum Genet* 1992 ; 51 : 299-306.

2. Gedeon AK, Baker E, Robinson H, *et al.* Fragile X syndrome without CGG amplification has an *FMR1* deletion. *Nature Genetics* 1992 ; 1 : 341-4.

### ■■■ BRÈVE ■■■

■■■ Le promoteur spécifique des glandes salivaires du gène de l'amylase provient d'un élément transposable. Le groupe de M. H. Meisler (Ann Harbor, MI, USA) a observé que le gène humain codant pour l'amylase salivaire est associé à deux éléments insérés, un rétrogène (*processed gene*) de  $\gamma$ -actine et un élément ressemblant à une séquence rétrovirale endogène. La réinsertion dans des souris transgéniques de ce gène humain variablement modifié a montré que la séquence régulatrice responsable de l'expression spécifique de ce gène dans les glandes salivaires correspondait à l'élément de type rétroviral [1]. Ce résultat, associé à d'autres données récentes soulignant l'existence d'événements de transposition chez l'homme (*m/s* n° 2, vol. 8, p. 139), suggère que la plasticité du génome et ces éléments mobiles ont pu jouer un rôle au cours de l'évolution.

[1. Ting CN, *et al.* *Genes Dev* 1992 ; 6 : 1457-65.]

■■■ **Spécificité de ligand conférée par les récepteurs RXR des rétinoïdes.** Nous avons vu il y a peu (*m/s* n° 3, vol. 8, p. 283) que les récepteurs des rétinoïdes RXR semblaient avoir une spécificité pour un métabolite de l'acide tout-*trans* rétinoïque, l'acide 9-*cis* rétinoïque. Par ailleurs, le rôle principal des récepteurs RXR semble être de former des hétérodimères avec différents membres de la super-famille des récepteurs nucléaires : les récepteurs de l'acide rétinoïque, des hormones thyroïdiennes, de la vitamine D, ainsi qu'avec le PPAR (*peroxisome proliferator activated receptor*), une molécule activée, probablement indirectement, par les inducteurs de la prolifération peroxysomiale [1, 2]. L'équipe de R.M. Evans (La Jolla CA, USA) vient de montrer que ces molécules hybrides, formées d'une sous-unité PPAR et d'une sous-unité RXR, peuvent se fixer à l'élément PPRE (*peroxisome proliferator response element*) situé en amont du gène codant pour l'acyl-CoA oxydase et activer la transcription lorsqu'elles sont stimulées par les inducteurs de la prolifération peroxysomiale ou par l'acide 9-*cis* rétinoïque. Les deux types d'agent administrés en même temps semblent avoir une action synergique aboutissant à une très forte activation transcriptionnelle. Ce résultat permet de relier entre elles les voies de signalisation passant par les proliférateurs peroxysomiaux et par l'acide rétinoïque, conférant à ce dernier un rôle dans le contrôle du métabolisme lipidique peroxysomiale. On ne sait pas encore si tous les hétérodimères comportant une sous-unité RXR peuvent être très efficacement activés par l'acide 9-*cis* rétinoïque. Ce dernier ligand a un autre rôle, cette fois tout à fait spécifique des récepteurs RXR : alors que ceux-ci sont, normalement, avant tout complexés sous forme d'hétérodimères avec d'autres récepteurs, l'acide 9-*cis* rétinoïque induit leur homodimérisation. La spécificité de fixation de l'homodimère (RXR)<sub>2</sub> semble différente de celle des autres récepteurs de l'acide rétinoïque, de telle sorte que l'acide 9-*cis* rétinoïque pourrait stimuler des pro-

cessus différents de ceux réglés par l'acide tout-*trans* rétinoïque (*m/s* n° 8, vol. 7, p. 863 et n° 3, vol. 8, p. 294). Ainsi, les molécules RXR semblent bien des régulateurs fondamentaux des voies de signalisation mises en œuvre par les rétinoïdes et d'autres effecteurs : sous forme d'hétérodimères, ils sont des auxiliaires de la réponse à divers effecteurs, pratiquement indispensables dans les conditions *in vivo* ; sous forme d'homodimères, dont la formation est induite par un ligand particulier, ils pourraient avoir leur propre spécificité fonctionnelle.

- [1. Latruffe N. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 239-48.]
- [2. Kliewer SA, *et al. Nature* 1992 ; 358 : 771-4.]
- [3. Zhang XK, *et al. Nature* 1992 ; 358 : 587-91.]

■■■ **Un nouveau modèle murin de mucoviscidose obtenu par *knock-out* du gène *CFTR* : variabilité du phénotype.** Il y a un mois nous rapportions dans un *flash* les résultats des laboratoires de B.H. Koller et d'O. Smithies sur la création par recombinaison homologue de souris déficientes en *CFTR* (*m/s* n° 1 vol. 8, p. 653). Ces animaux meurent avant le quatrième jour de vie, avant tout des complications intestinales du déficit, rappelant l'ileus méconial chez les nouveau-nés mucoviscidosiques. Dans cette expérience, la mutagenèse insertionnelle avait été obtenue par un vecteur de remplacement [1] insérant le gène *neo* au milieu du dixième exon. Plus récemment, J.R. Dorin *et al.* du laboratoire de D.J. Porteous (Edinburgh, GB) viennent, eux aussi, de rapporter dans *Nature* l'obtention par recombinaison homologue d'animaux modèles de mucoviscidose [2]. Les principales différences entre les méthodes utilisées par les deux équipes résident dans le vecteur et dans les lignées de souris. L'équipe écossaise a employé un vecteur « d'insertion », et non un vecteur de remplacement, aboutissant à une duplication partielle de la séquence génique au niveau de l'exon 10. Théoriquement, des phénomènes d'épissage alternatif

peuvent, dans de tels cas, engendrer la production d'une très petite quantité de messager et de protéine fonctionnels. D'autre part, le fond génétique des animaux transgéniques n'est pas le même dans les deux cas. Peut-être du fait de l'une de ces différences — ou des deux — les souris de Porteous ont un phénotype nettement plus atténué que celles de Koller : elles ne meurent pas précocement et, à l'examen, ne montrent que de discrets signes d'hyperproduction de mucus dans le colon et, chez l'une d'entre elles, des lésions bronchopulmonaires. Cependant, les anomalies électrophysiologiques typiques du déficit en *CFTR* sont notées, identiques à celles des souris antérieurement décrites. On peut espérer que l'absence de mortalité précoce chez ces animaux permettra l'apparition secondaire des complications bronchopulmonaires (obstruction bronchique et surinfections à *Pseudomonas aeruginosa*) qui font l'essentiel de la gravité de la maladie humaine, ce qui permettrait de disposer d'un modèle de mucoviscidose plus conforme à la réalité clinique qu'avec les animaux de l'équipe américaine.

- [1. Babinet C. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 268-75].
- [2. Dorin JR, *et al. Nature* 1992 ; 359 : 211-5].

■■■■ **Sélection *in vivo* de cellules hématopoïétiques résistantes à la chimiothérapie après transfert rétroviral du gène *MDR1* humain.**

L'amplification du gène de résistance pléiotropique aux drogues cytotoxiques *MDR1* et l'hyperexpression résultante de son produit, la glycoprotéine P (170 kDa), rendent compte de nombreux échecs de la chimiothérapie de tumeurs malignes chez l'homme ; qu'il s'agisse d'un phénomène de résistance primitive ou, plus fréquemment, secondaire à l'administration des drogues antimitotiques [1]. On peut, à l'inverse, tirer profit de ce phénomène pour protéger le tissu hématopoïétique de la toxicité de certaines chimiothérapies, facteur limitant essentiel de ces thérapeutiques. Des études antérieures ont pu démontrer que : (1) des souris transgéniques pour le gène humain *MDR1* sont protégées des effets myélosuppresseurs des cytotoxiques [2, 3] ; et (2) la greffe des cellules hématopoïétiques provenant de ces souris permet une protection similaire des souris receveuses [4]. Les auteurs ont ici [5] tenté avec succès le transfert rétroviral de l'ADNc humain de *MDR1 in vitro* aux cellules hématopoïétiques de souris donneuses pré-conditionnées par le 5-fluoro-uracile. Neuf semaines après transplantation à des souris receveuses, des cellules marquées par le rétrovirus *MDR* sont détectées dans la circulation sanguine (PCR). En revanche, six mois après greffe, le test est négatif. Mais, sous l'effet d'une injection unique d'une puissante drogue, le taxol, des cellules transduites par le rétrovirus réapparaissent en circulation, après une période transitoire de myélosuppression ; et une protection contre l'injection ultérieure de drogue est observée. Ce phénomène de sélection *in vivo* sous l'effet de la chimiothérapie n'est en aucun cas retrouvé chez des souris témoins dont les cellules greffées ont été transduites avec le gène de résistance à la néomycine. En outre, l'analyse de la distribution tissulaire des cellules marquées (moelle

osseuse, thymus, granulocytes circulants) et du profil d'intégration du rétrovirus *MDR1* démontre la transduction effective, mais exceptionnelle, de cellules souches hématopoïétiques totipotentes. L'accessibilité à cette cellule et la démonstration d'une sélection positive opérationnelle *in vivo*, pourrait aussi être mise à profit pour enrichir en une minorité de cellules de moelle osseuse contenant et exprimant un rétrovirus capable de véhiculer en même temps un autre gène d'intérêt thérapeutique, comme, par exemple, celui de la  $\beta$ -globine [6].

- [1. Marie JP. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 443-8.]
- [2. Galski H, et al. *Mol Cell Biol* 1989 ; 9 : 4357-63.]
- [3. Mickisch GH, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 547-51.]
- [4. Mickisch GH, et al. *Blood* 1992 ; 79 : 1087.]
- [5. Sorrentino BP, et al. *Science* 1992 ; 257 : 99-103.]
- [6. Germann UA, et al. *J Biol Chem* 1989 ; 264 : 7418-24.]

■■■■ **Clonage moléculaire des ADNc pour des récepteurs de l'ACTH et des MSH.**

La proopiomélanocortine (POMC) est le précurseur d'une série de peptides hormonaux, l'ACTH (*adreno-corticotropic hormone*), les  $\alpha$ - et  $\beta$ -MSH (*melanocyte-stimulating hormone*), l'hormone  $\beta$ -lipotropique et la  $\beta$ -endorphine. Ce dernier peptide est un analgésique endogène, l'ACTH stimule la production de glucocorticoides par la corticosurrénale et les MSH sont — prioritairement — des stimulateurs des mélanocytes et de la mélanogenèse [1]. Le récepteur de l'ACTH est couplé aux protéines G, et l'on savait par conséquent qu'il appartenait à cette super-famille de récepteurs à sept passages transmembranaires [2]. Cependant, les efforts déployés jusqu'à présent pour cloner ce récepteur, ainsi que celui (ou ceux) des MSH, n'avaient pas été couronnés de succès. L'équipe de R.D. Cone (Portland, OR, USA)

vient maintenant d'isoler des ADN complémentaires et les gènes codant pour ces récepteurs [3]. La stratégie suivie, maintenant assez classique, est celle initialement utilisée par le laboratoire de Gilbert Vassart [2] : grâce à l'utilisation d'amorces oligonucléotidiques reconnaissant des domaines très conservés dans les gènes codant pour cette super-famille, une amplification par PCR a été effectuée en se servant d'ARN de mélanomes comme matrice. Deux fragments d'ADN correspondant à des récepteurs similaires mais non identiques ont été caractérisés ; ils ont servi de sonde pour cribler une banque d'ADNc de mélanome et une banque génomique humaine. De la première furent isolés des ADNc codant pour un récepteur des MSH alors que de la seconde put, en outre, être isolé un gène codant pour un récepteur de l'ACTH. L'identité de ces récepteurs fut démontrée par des expériences d'expression de ces ADNc dans des cellules auxquelles étaient ainsi conférées la propriété de répondre aux hormones correspondantes par une augmentation endogène d'AMP cyclique. Les récepteurs de la MSH et de l'ACTH humains sont identiques à 39 % et sont les plus petites molécules de cette famille connues à ce jour : 297 à 317 acides aminés, avec des domaines aminotermiaux extracellulaires et carboxyterminaux intracellulaires extrêmement petits ; de plus, les quatrième et cinquième passages transmembranaires sont également inhabituellement courts. Ces récepteurs semblent appartenir à un même sous-groupe que les récepteurs du cannabis. Dans le génome, il existe plusieurs séquences hybridant à faible stringence avec les sondes ainsi isolées, ce qui signifie que des récepteurs de ce même sous-groupe n'ont pas encore été caractérisés.

- [1. Vieau D, et al. *médecine/sciences* 1991 ; 7 : 918-26.]
- [2. Vassart G. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 985-90.]
- [3. Mountjoy KG, et al. *Science* 1992 ; 257 : 1248-51.]