

■■■ **De l'importance des sulfates dans les chondrodysplasies: un gène pour trois maladies.**

Les récepteurs des facteurs de croissance sont impliqués dans les maladies de l'ossification: FGFR3 est non seulement responsable de l'achondroplasie [1], mais aussi de nanismes thalathophores, TD-I et TD-II, deux chondrodysplasies létales (*m/s n° 5, vol. 11, p. 780*). Les protéoglycanes riches en sulfate d'héparane (HSPG) jouent un rôle majeur dans la localisation de FGF au niveau de la matrice cellulaire [2], si bien que des mutations dans un gène transporteur de sulfates pouvaient aussi être responsables de chondrodysplasies. Effectivement, dans la dysplasie diastrophique (DTD), caractérisée cliniquement par des atteintes articulaires, des membres courts, une cyphoscoliose et, souvent, une fente palatine, le gène muté est un transporteur de sulfates à expression ubiquitaire, baptisé *DTDST* par l'équipe finlandaise qui l'a identifié (*m/s n° 10, vol. 11, p. 1492*) [3]. L'atélo-ostéogénèse de type II (AOII), quoique plus sévère puisque l'étranglement du thorax entraîne souvent la mort des nouveau-nés par insuffisance respiratoire, présente beaucoup de similitudes radiologiques et cliniques avec la DTD, ainsi que l'achondrogénèse de type IB (ACG-IB), forme létale, cette fois, de chondrodysplasie. Des mutations du gène *DTDST* ont donc été recherchées, et trouvées, dans ces deux autres maladies [4, 5]. Il serait donc souhaitable de trouver un nom plus général à ce transporteur de sulfates. Bien que son expression soit ubiquitaire, l'atteinte préférentielle du cartilage s'explique par la concentration basse des sulfates libres extracellulaires (environ 100 μ M contre 300 μ M dans le sérum, en raison de l'effet Donnan: la charge négative de la matrice extracellulaire excluant les ions négatifs). Dans ces conditions, les protéoglycanes ne peuvent probablement plus fixer les FGF à leurs récepteurs. Peut-on déjà distinguer des différences dans les mutations

répondant aux différences de gravité de ces trois maladies? Il semble que oui: absence complète de fonction pour ACG-IB, perte partielle pour AOII, et perte encore plus modérée pour DTD, avec un niveau d'expression d'ARNm bas mais retrouvé par RT-PCR chez des sujets finlandais atteints de DTD.

- [1. Dreyfus JC, *et al. médecine/sciences* 1994; 10: 936-7.]
- [2. Coulier F, *et al. médecine/sciences* 1992; 8: 811-8.]
- [3. Hästbacka J, *et al. Cell* 1994; 78: 1073-87.]
- [4. Superti-Furga A, *et al. Nature Genet* 1996; 12: 100-2.]
- [5. Hästbacka J, *et al. Am J Hum Genet* 1996; 58: 255-62.]

■■■ **Des MITE dans le génome humain.**

La maladie de Charcot-Marie-Tooth de type I (CMT1A) et la neuropathie héréditaire avec paralysies à la pression (HNPP) sont les conséquences réciproques d'un *crossing-over* inégal se produisant en 17p11.2: duplication dans *CMT1A* et délétion dans *HNPP* d'une région de 1,5 Mb. Jean-Claude Dreyfus l'avait relaté dans nos colonnes avec un clair schéma explicatif (*m/s n° 5, vol. 10, p. 590*). La protéine myéline périphérique PMP22 est située dans cette région et joue un rôle essentiel dans le mécanisme étiopathogénique de ces deux maladies: haplo-insuffisance dans HNPP, surexpression dans CMT1A. L'équipe de Lupski, qui avait analysé la région et trouvé, de part et d'autre du gène *PMP22*, deux grandes régions de séquences répétées, les *CMT1A-REP* [1], a séquencé la région recombinante et vient de faire une découverte étrange et vaguement inquiétante s'il ne s'agit pas d'un phénomène isolé [2]. A partir d'une carte de restriction couvrant les deux séquences *CMT1A-REP* proximale et distale, on constate que celles-ci s'étendent sur 20 à

30 kb chacune et qu'elles ont un degré d'analogie de 98%. Et pourtant, le point chaud de recombinaison, qu'on s'attendrait à trouver n'importe où, ne survient que dans un secteur bien délimité mesurant seulement 1,7 kb. Les chercheurs suspectèrent donc un élément particulier capable de favoriser l'échange des brins en cet endroit précis. Effectivement, le séquençage d'une région de 7,8 kb des deux *CMT1A-REP*, incluant le point chaud de recombinaison, révéla la présence d'une séquence homologue d'une séquence décrite chez un moustique, *Anopheles gambiae*, l'agent du paludisme en Afrique. Il s'agit d'un transposon, de type *mariner*, très répandu chez les insectes [3] et dont le prototype est l'élément *MOS1* de *Drosophila mauritania*. Appelé MITE (pour *mariner insect transposon-like element*), ces transposons sont différents des autres transposons de type LINE (*long interspersed element*) disséminés dans le génome humain (*m/s n° 2, vol. 8, p. 169*), et leur présence chez l'homme est de découverte toute récente [4]. Ce MITE contient à son extrémité 5' une séquence qui pourrait coder pour une transposase, c'est-à-dire une polynucléotidyl transférase capable de créer une scission dans chaque brin d'ADN, engendrant un site 3' hydroxyl à chaque extrémité. Cette transposase pourrait donc fort bien être l'agent initiateur des *crossing-over* inégaux qui se produisent si fréquemment ici. En admettant qu'elle soit active, comment se fait-il que ce *crossing-over* inégal (observé dans les familles et ayant pour conséquence l'apparition d'une CMT1A) ne survienne que dans la méiose masculine? Est-ce parce que la séquence codante se trouve sous la dépendance d'un promoteur spécifique du testicule? Ce n'est pas impossible: l'autre transposon connu pour être actif dans l'espèce humaine, responsable d'une inversion dans le gène du facteur VIII et provoquant une hémophilie *de novo*, agit presque exclusivement sur les cellules germinales masculines [5]. Enfin, une

dernière question s'impose: y a-t-il d'autres MITE dans le génome humain? si oui, faut-il s'en inquiéter ou s'en réjouir comme d'un élément à utiliser en thérapie génique? Il convient dès maintenant de mettre les points chauds de recombinaison sous haute surveillance pour en savoir plus.

- [1. Chance PF, *et al. Hum Mol Genet* 1994; 3: 223-8.]
- [2. Reiter LT, *et al. Nature Genet* 1996; 12: 288-97.]
- [3. Robertson HM. *Nature* 1993; 362: 241-5.]
- [4. Oosumi T, *et al. Nature* 1995; 378: 672.]
- [5. Rossiter JP, *et al. Hum Mol Genet* 1994; 3: 1035-9.]

■■■■ Une surprise en neurobiologie: le gène de l'épilepsie myoclonique progressive code pour une cystatine. Les épilepsies myocloniques (EPM) forment un groupe hétérogène d'où se dégage la forme d'Unverricht-Lungborg (EPM1). Récessive autosomique, fréquente en Finlande, sa localisation sur le chromosome 21 fut démontrée grâce à des analyses de ségrégation familiale dès 1991 (*m/s n° 6, vol. 7, p. 633*). Jusqu'à présent le diagnostic reposait sur l'histoire clinique (crises myocloniques débutant vers l'âge de 6 à 15 ans, tendant à diminuer avec l'âge mais progressivement remplacées par une démence aux alentours de la trentaine), et sur des signes électroencéphalographiques caractéristiques, permettant de la distinguer des autres formes d'EPM. Un groupe finlandais d'Helsinki et un groupe américain de Stanford unirent leurs efforts pour réduire la région candidate à 175 kb [1]. Quand les segments d'ADNc isolés furent confrontés à une banque de données, les chercheurs eurent la surprise de constater que le gène codait pour une protéine déjà connue, un inhibiteur de protéase à cystéine, la cystatine B, dont la localisation était restée jusque-là incon-

lue. La confirmation de la responsabilité de ce gène fut rapidement obtenue. Les cellules (lignées lymphoblastoïdes) des malades révèlent une diminution considérable du message, et des mutations, dont la nature doit entraîner la disparition de la protéine, furent observées. Il faut donc désormais compter avec les protéases à cystéine et leurs inhibiteurs en pathologie humaine. On avait déjà été surpris de voir que le gène muté dans une des dystrophies des ceintures récessives (LGMD2A pour *limb girdle muscular dystrophy*) codait pour une protéase à cystéine, la calpaïne (*m/s n° 4, vol. 11, p. 637*). Dans le groupe des inhibiteurs des protéases à cystéine, seule, la cystatine C est connue pour être impliquée dans une maladie: l'angiopathie amyloïde familiale (*m/s n° 10, vol. 3, p. 624*). Mais le mécanisme pathogénique, avec accumulation de substance amyloïde riche en cystatine C dans les artères cérébrales ne peut servir de modèle à celui de l'épilepsie. *A priori*, on voit mal comment une cystatine, protéine ubiquitaire, peut être en cause dans une épilepsie, alors qu'on s'attendrait à trouver une anomalie de neurotransmetteurs. A moins de raisonner par analogie avec ces derniers. Les cathepsines, principales cibles des cystatines se trouvent dans les lysosomes. Or, ceux-ci ressemblent beaucoup aux vésicules synaptiques qui libèrent les neurotransmetteurs dans les synapses entre les neurones. Une analogie fonctionnelle serait pour le moins inattendue et conduirait, pour les autres épilepsies myocloniques, comme la maladie de Lafora et l'EPM juvénile, déjà localisées sur le génome [2, 3] à rechercher des mutations d'autres membres de la famille des cystatines ou de leurs substrats.

- [1. Pennachio LA, *et al. Science* 1996; 271: 1731-4.]
- [2. Steinlein OK, *et al. Nature Genet* 1995; 11: 201.]
- [3. Serratosa JM, *et al. Hum Mol Genet* 1995; 4: 1657.]

■■■■ Résistance gonadique à la LH (*lutinizing hormone*): un nouvel exemple de mutation inactivatrice d'un récepteur à sept domaines transmembranaires. La liste des mutations activatrices ou inactivatrices des récepteurs à sept domaines transmembranaires impliquées dans des affections endocriniennes ne cesse de s'allonger [1]. La possibilité d'une résistance à la LH (*lutinizing hormone*) avait été évoquée depuis longtemps chez des patients présentant un hypogonadisme avec pseudohermaphrodisme masculin ou une insuffisance ovarienne primaire ne répondant pas à l'HCG. La LH règle, au niveau testiculaire, l'activité des cellules de Leydig, contrôlant ainsi la différenciation sexuelle masculine et la production d'androgènes. Chez la femme, la LH agit sur les cellules de la thèque qui produisent les précurseurs des androgènes et règle la maturation folliculaire ainsi que la phase lutéale. L'étude du gène du récepteur de la LH chez des sujets issus de trois familles différentes, et présentant un hypogonadisme et des anomalies variables de la différenciation sexuelle, a mis en évidence des mutations récessives inactivatrices de ce récepteur. La première étude publiée révélait, chez deux patients présentant un pseudohermaphrodisme masculin (caryotype 46, XY, phénotype féminin) avec hypoplasie des cellules de Leydig, une mutation ponctuelle homozygote siégeant dans le sixième domaine transmembranaire [2]. Plus récemment, une mutation ponctuelle homozygote inactivatrice créant un codon stop dans la troisième boucle intracellulaire du récepteur de la LH (impliquée dans le couplage à la protéine G) a été observée chez trois sujets d'une même famille présentant un tableau identique [3]. Dans cette famille, une patiente de phénotype et caryotype féminin présentant une insuffisance ovarienne primaire avec des taux plasmatiques élevés de LH et normaux de FSH (*follicle-stimulating hormone*) était homozygote pour la même muta-

tion. Enfin, l'étude d'un garçon de six ans, présentant un caryotype et un phénotype masculin avec micro-pénis et des taux plasmatiques indétectables de testostérone non stimulables par l'HCG, a mis en évidence une mutation ponctuelle homozygote modifiant le codon 616 (sérine → tyrosine) du septième domaine transmembranaire. Des cellules COS-7 exprimant ce récepteur muté ne lient pas la LH. La délétion des acides aminés 616 à 631 du récepteur de la LH du rat (correspondant aux résidus 612 à 627 du récepteur humain) entraîne la rétention du récepteur dans le réticulum endoplasmique. Il est certain que d'autres mutations inactivatrices du récepteur de la LH seront prochainement observées. Il sera intéressant de préciser la diversité des phénotypes liés à ces mutations chez les sujets masculins hypogonadiques mais aussi chez les sujets féminins avec insuffisance ovarienne.

- [1. Bockaert J. *médecine/sciences* 1995 ; 11 : 382-94.]
- [2. Kremer H. *Nature Genet* 1995 ; 9 : 160-4.]
- [3. Latronico AC. *N Engl J Med* 1996 ; 334 : 507-12.]

■■■ **Avec quelques exons de plus, le gène *SNRPN* reste un bon candidat pour le syndrome de Prader-Willi.** Parmi les régions du génome humain soumises à l'empreinte parentale [1], le segment 15q11-q13 avec sa double empreinte, paternelle et maternelle, et la double conséquence clinique en miroir en cas de délétion : syndrome de Prader-Willi (PWS) quand c'est le chromosome paternel qui est délété, syndrome d'Angelman (AS) quand c'est le chromosome maternel, a suscité un intérêt considérable (*m/s n° 9, vol. 7, p. 974*) [2]. De nombreux gènes ont été découverts dans cette région très explorée, mais on ignore encore lesquels sont impliqués dans ces deux maladies. Toutefois, d'excellents arguments donnent fa-

vari dans le PWS, le gène *SNRPN* (*small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N*), à expression monoallélique paternelle et toujours absent dans la plus petite région délétée commune des PWS par délétion. Mais, avec ses huit exons et son promoteur situé à 1 kb environ de la région génomique [3], il semblait lui manquer quelque chose en 5' : le promoteur, constitué de deux séquences Alu, semble peu efficace [4] ; la différence de taille entre la terminaison 5' de *SNRPN* par rapport à la terminaison 5' de *SNRPB* [5], gène avec lequel il présente de grandes similitudes, est surprenante. De plus, l'ADNc du *SNRPN* de souris (*m/s n° 2, vol. 9, p. 233*) ainsi qu'un pseudogène montre une terminaison 5' plus longue, correspondant plutôt à *SNRPPB* ; dans l'exon 1 se trouve un site consensus accepteur d'épissage ; enfin la découverte d'une séquence EST (*expressed sequence tag*) dans laquelle une séquence Alu est insérée (ce qui est très évocateur d'un intron [6]) dans la terminaison 5' donnait à penser aux équipes de Glenn (Gainesville, FL, USA) et de Nicholls (Cleveland, OH, USA) qu'on pouvait retrouver d'autres exons en amont. Pour le vérifier [7], ils construisirent une série d'amorces pour les exons supposés et utilisèrent la séquence de l'exon 1 comme amorce inverse. Par RT-PCR, ils obtiennent un ADNc qui, après vérification, fait bien partie du gène. *SNRPN* contient donc 10 exons et s'étend sur 30 kb d'ADN génomique. Les exons provisoirement numérotés -1 et 0 ne forment avec les 8 autres qu'un seul transcrit qui s'exprime fortement dans le cœur et le cerveau. Dans toutes les régions cérébrales, analysées séparément, l'expression est équivalente. Il ne s'exprime évidemment pas dans les fibroblastes de malades atteints de PWS alors qu'il s'exprime chez les sujets atteints de syndrome d'Angelman. Le site putatif de début de la transcription est enchâssé dans un îlot CpG massivement méthylé dans l'allèle maternel et non

méthylé dans l'allèle paternel, ce qui peut fournir un test diagnostique pratique pour PWS et AS.

- [1. Babinet C. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 65-70.]
- [2. Paldi A, Jami J. *médecine/sciences* 1996 ; 12 : 189-91.]
- [3. Özçelik T, et al. *Nature Genet* 1992 ; 2 : 265-9.]
- [4. Schmauss C, et al. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 8521-9.]
- [5. Rokeach LA, et al. *J Biol Chem* 1989 ; 264 : 5024-30.]
- [6. Knebelmann B, et al. *Hum Mol Genet* 1995 ; 4 : 675-9.]
- [7. Glenn CC, et al. *Am J Hum Genet* 1996 ; 58 : 335-46.]

■■■ **Quand la télévision italienne fait irruption en génétique.** Le syndrome de Barth, décrit dans quelques familles (dont une grande famille hollandaise), se caractérise par une cardiomyopathie précoce et sévère, à laquelle s'associent une neutropénie, une faiblesse musculaire et une petite taille. Il s'agit d'une maladie liée à l'X, n'atteignant que les garçons qui décèdent souvent de décompensation cardiaque dans les premières années de vie. Il est possible, mais pas encore certain, que la fibroélastose endocardique liée à l'X, ainsi que quelques cardiopathies sévères néonatales, soient des formes alléliques du syndrome de Barth [1]. Les analyses de ségrégation avaient permis de localiser le *locus* en Xq28, entre *DXS52* et le gène du facteur VIII. Parmi les nombreux gènes présents dans cette région très fréquentée, l'équipe italienne de Daniela Toniolo vient d'identifier le responsable de ce syndrome. Dénommé G4.5, il comporte 11 exons, s'exprime dans de nombreux tissus, particulièrement dans le cœur et les muscles squelettiques. Différents ARNm sont produits par épissage alternatif, avec des protéines déduites qui seraient différentes dans leur région centrale et dans leur partie amino-terminale. Elles n'ont aucu-

ne analogie avec des séquences déjà connues et l'équipe italienne propose de les nommer *tafazzines* (*Tafazzi* étant un personnage comique des émissions sportives de la télévision italienne). Dans les quatre familles de syndrome de Barth étudiées, une mutation fut retrouvée chez les malades : substitution ou insertion d'une base entraînant un codon stop ou affectant un signal d'épissage. Ces tafazzines ont un bel avenir : elles devraient clarifier la classification clinique des cardiomyopathies infantiles liées à l'X, apporter de nouvelles connaissances biochimiques sur le fonctionnement des fibres myocardiques et, peut-être, aider à trouver des traitements spécifiques.

[1. Gedeon AK, *et al. J Med Genet* 1995 ; 32 : 383-8.]

[2. Bione S, *et al. Nature Genet* 1996 ; 12 : 386-9.]

■■■■ **Ébouriffant, le nouveau gène découvert dans le syndrome de Di George.** L'association d'une hypoplasie du thymus et des parathyroïdes avec une cardiopathie de type cono-troncal observée dans le syndrome de Di George s'explique par un trouble de migration de la crête neurale (*m/s n° 6, vol. 7, p. 618 ; n° 2, vol. 8, p. 182*) [1]. De nombreux gènes de la région habituellement délétée chez les malades ont déjà été isolés : *TDD*, codant pour une protéine de membrane, *TUPLE1* (codant pour un régulateur transcriptionnel contenant une région homologue des séquences du facteur TUP de transcription de la levure) [2, 3] mais on ignore encore leur rôle respectif dans ce syndrome dont l'éventail clinique est très large. Une équipe italienne vient de découvrir dans la région délétée un nouveau gène qui pourrait aussi être impliqué dans le syndrome de Di George [3]. En effet, la séquence connue actuellement (qui correspond à la partie 3'

du gène) présente une forte analogie avec le gène murin *Dvl-1* lui-même analogue d'un gène de la drosophile codant pour la polarité segmentaire [4]. Il s'agit du gène *dishevelled* (que l'on pourrait traduire par «ébouriffé»), qui code pour une phosphoprotéine cytoplasmique [4] sans laquelle le gène *wingless* ne peut agir sur la différenciation et la polarité segmentaire et qui est aussi indispensable au développement normal du cœur [6]. Cette famille de gènes *Dvl*, très conservés dans l'évolution, est présente chez les vertébrés. Les gènes *DVL* régulent le devenir de certaines populations cellulaires. Le gène, observé ici, pourrait agir sur les cellules des troisième et quatrième arcs branchiaux. Évidemment, l'existence d'un cas de syndrome de Di George sans délétion, avec uniquement un point de cassure en 22q11 et rupture d'une séquence exonique ressemblant aux gènes codant pour un récepteur des androgènes met en question le rôle éventuel de tous ces gènes découverts dans la plus petite région commune délétée (*m/s n° 10, vol. 11, p. 1500*). Pourtant, leur implication potentielle dans la symptomatologie du syndrome de Di George ne peut être écartée. En effet, la régulation locorégionale des gènes de la région habituellement délétée pourrait dépendre d'un locus régulateur unique, gène de contrôle ou organisateur chromatinien, lésé chez cet unique malade porteur de la translocation. Dans les cas les plus fréquents, avec délétion, les manifestations cliniques du syndrome de Di George pourraient être dus à une haplo-insuffisance d'un ou de plusieurs de ces gènes et en particulier du gène *DVL-22*.

[1. Lamour V, *et al. Hum Mol Genet* 1995 ; 4 : 791-9.]

[2. Wadley R, *et al. Hum Mol Genet* 1995 ; 4 : 1027-33.]

[3. Pizzuti A, *et al. Am J Hum Genet* 1996 ; 58 : 722-9.]

[4. Deutsch J, *et al. médecine/sciences* 1995 ; 11 : 1625-8.]

[5. Yanagawa S, *et al. Genes Dev* 1995 ; 9 : 1087-97.]

[6. Wu X, *et al. Dev Biol* 1995 ; 169 : 619-28.]

■■■■ **Un nouveau syndrome avec exostoses multiples, et une poignée de gènes en plus.** La maladie des exostoses multiples (qui apparaissent dans les régions juxta-épiphysaires des os longs), est génétiquement hétérogène puisque trois *loci* ont été décrits : *EXT1* localisé en 8q23-q24, *EXT2* en 11p11-p12 (*m/s n° 4, vol. 10, p. 477*), et *EXT3* sur le bras court du chromosome 9 (*m/s n° 8, vol. 11, p. 1186*). *EXT1* a fait l'objet de nombreuses études. Il appartient en effet au syndrome tricho-rhino-phalangien de type II ou syndrome de Langer-Giedion, un des premiers syndromes de gènes contigus qui furent décrits en pathologie humaine et le gène *EXT-1* vient d'être récemment cloné (*m/s n° 1, vol. 12, p. 111*). On vient de démontrer que le locus *EXT2* peut faire partie, lui aussi, d'un syndrome de gènes contigus en 11p dont les principaux signes sont, outre les exostoses, un élargissement du foramen pariétal (FPP), une dysostose craniofaciale avec cranosynostose et retard mental [1]. L'étude clinique des familles permet de supposer qu'au moins trois gènes sont impliqués dans ce nouveau syndrome, peu connu mais dont la fréquence est probablement sous-estimée : le gène *EXT2* situé entre *D11S1355* et *D11S554* [2], le gène dont les mutations sont responsables de l'élargissement du foramen pariétal (élargissement se traduisant par de larges et symétriques défauts d'ossification des pariétaux) ; enfin un gène intervenant de façon indépendante dans la dysostose craniofaciale. En effet une des familles étudiées, indemne de cette manifestation clinique, avait une délétion moins étendue, de part et d'autre. On peut donc supposer que ce dernier gène se situerait en périphérie, soit dans la région proximale entre

D11S554 et *D11S1319*, soit dans la région distale de la délétion entre *D11S1355* et *D11S903*. Cette dysostose (front bombé, blépharophimosis, ptosis, bouche tombante) est assez voisine du syndrome de Saethre-Chozen avec lequel il peut parfois être confondu [3]. La comparaison des trois gènes *EXT*, une fois séquencés, sera intéressante. Le fait que deux d'entre eux participent à un syndrome de gènes contigus n'est peut-être pas fortuit. Enfin, la révision par la génétique moléculaire de la classification clinique des craniosynostoses n'est pas encore terminée (*m/s n° 12, vol. 11, p. 1748*) [4].

[1. Bartsch O, et al. *Am J Hum Genet* 1996; 58: 734-42.]

[2. Wuyts W, et al. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 382-7.]

[3. Schaffer LG, et al. *Am J Med Genet* 1993; 45: 581-3.]

[4. Lacombe D. *médecine/sciences* 1996; 12: 825.]

■■■ **Rôle de la protéine CFTR mutante dans l'hypersensibilité des patients mucoviscidiques à l'infection pulmonaire due au bacille pyocyanique.** Parmi les manifestations les plus sévères de la mucoviscidose figurent les infections pulmonaires chroniques dues au bacille pyocyanique, *Pseudomonas aeruginosa*. Les mécanismes de l'hypersensibilité à l'infection pulmonaire chez les malades mucoviscidiques ne sont pas bien compris et le rôle des mutations dans le gène *CFTR*, impliqué dans la maladie, n'est pas clair. La fixation puis l'internalisation des pathogènes respiratoires par les cellules épithéliales, suivies de leur desquamation, pourraient être, pour le poumon, un mécanisme de clairance des bactéries. Ce mécanisme a été rapporté pour les infections urinaires basses. Un groupe américain [1] vient de tester le rôle de la mutation $\Delta F508$, mutation la plus fréquemment en cause dans la mucoviscidose et res-

ponsable d'un phénotype grave, dans la capture de *P. aeruginosa* par les cellules de l'épithélium respiratoire. Utilisant des cellules épithéliales respiratoires de patients mucoviscidiques homozygotes $\Delta F508$, comparées à des cellules normales, ils ont montré que l'internalisation de *P. aeruginosa* par les cellules épithéliales respiratoires est corrélée à l'expression membranaire de CFTR. En effet, la mutation $\Delta F508$ entraîne une absence de maturation de la protéine qui n'arrive plus à la membrane et les cellules dépourvues de CFTR à la membrane internalisent de façon significative moins de bactéries que les cellules normales. De plus, l'effet de la mutation $\Delta F508$ sur l'ingestion semble spécifique de *P. aeruginosa*, d'autres pathogènes bactériens testés étant internalisés de façon identique par les cellules $\Delta F508$ et les cellules normales. Au cours de l'infection chronique des patients, émergent des variants de *P. aeruginosa* qui n'expriment plus un lipopolysaccharide (LPS) de structure complète. Les auteurs ont montré que l'invasion maximale des cellules normales se faisait lorsque la bactérie exprimait un LPS avec un polysaccharide de base (*core*) intact et que ce *core* était le ligand bactérien pour l'ingestion par la cellule épithéliale. Ainsi donc, ces résultats suggèrent que l'émergence de souches exprimant un LPS incomplet durant l'évolution de l'infection à *P. aeruginosa* pourrait réduire la capture des bactéries par les cellules épithéliales et contribuer à la survie des bactéries au niveau de l'arbre respiratoire. Ces hypothèses semblent être corroborées par les études histologiques des poumons de patients mucoviscidiques où *P. aeruginosa* n'est jamais vu internalisé dans les cellules, est rarement retrouvé attaché aux cellules mais est au contraire présent en microcolonies dans le mucus extracellulaire de la lumière des voies respiratoires. On peut prévoir que des thérapies géniques ou autres qui restaureraient l'expression de la

protéine CFTR à la surface des cellules épithéliales pourraient augmenter l'élimination de *P. aeruginosa* par capture cellulaire et modifier favorablement l'évolution clinique des patients mucoviscidiques.

[1. Pier GB, et al. *Science* 1996; 271: 64-7.]

■■■ **Inactivation de l'X: le *XIST* ne suffit pas.** Personne ne conteste le rôle essentiel du *XIST* (*X inactive specific transcripts*) dans l'inactivation de l'X (*m/s n° 3, vol. 7, p. 375*) [1] mais plus les recherches progressent et plus il devient évident que d'autres éléments, encore inconnus, sont nécessaires au processus d'inactivation. Dans l'embryon de souris, entre le moment où le gène *Xist* s'exprime (au stade de quatre cellules) et celui où l'X est inactivé, il se passe un à deux jours, ce qui laisse supposer l'intervention d'autres facteurs dans la mise en route de l'inactivation. Une fois établie dans les cellules XX, cette inactivation n'a pas besoin du *Xist* pour se maintenir [2]. Comme le *XIST* ne code pour aucun produit, on suppose qu'il agit en tant qu'ARN fonctionnel interagissant avec la chromatine, ou qu'il intervient en modifiant sa structure, modification se propageant ensuite sur toute la longueur de l'X qui est soumis à l'inactivation (*m/s n° 1, vol. 9, p. 95*). Afin d'en savoir plus sur le comportement du *XIST* dans le génome, des souris transgéniques ayant reçu un chromosome artificiel de levure (YAC) contenant le gène *Xist* ont été étudiées par deux groupes [3, 4]. Le groupe français de l'Institut Pasteur [3] a utilisé un YAC contenant le gène *Xist* ainsi que deux gènes récemment découverts, *Cdx*, un gène à homéoboite [5] et *Bpx*, nouveau gène s'exprimant uniquement dans le cerveau [6], tous deux situés dans la région du centre inactivateur *Xic*, en 3' de *Xist*, respectivement à une distance de 100 et de 300 kb. Le YAC fut modifié par re-

combinaison homologue pour y adjoindre le gène *LacZ* comme marqueur (par mesure de l'activité β -galactosidase). Les souris transgéniques obtenues après la réimplantation des œufs ayant reçu le YAC par micro-injection montrent que, malgré la présence du gène *Xist* dans le génome, celui-ci ne s'exprime pas et n'empêche pas l'expression des deux gènes *Cdx* et *Bpx* ni celle du gène *LacZ*. Le transgène *Xist* est donc incapable, dans ces conditions, d'exercer un effet inactivateur. Le groupe anglais [3] a obtenu des souris transgéniques avec un YAC contenant le *Xist* et *cdx4*. Parmi celles-ci, une lignée a intégré la séquence transgénique dans le chromosome Y, sur la partie distale du bras long: elle est transmise exclusivement aux descendants mâles. La comparaison entre les lignées chez lesquelles le segment fut intégré dans un autosome et celle où il fut intégré dans l'Y est intéressante. Chez les souris transgéniques où le *Xist* est porté par un autosome, le résultat est identique à celui du groupe français: le *Xist* est méthylé et ne s'exprime pas; en revanche, quand il est porté par l'Y, on trouve une hypométhylation en 5' et en 3', mais sur un brin seulement. On voit donc que la position du *XIST* dans le génome est déterminante pour son fonctionnement.

- [1. Gilgenkrantz S. *médecine/sciences* 1996; 12: 636-8.]
- [2. Brown CJ, Willard HF. *Nature* 1994; 368: 154-6.]
- [3. Heard E, et al. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 441-50.]
- [4. Matsuura S, et al. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 451-9.]
- [5. Horn JM, Ashworth A. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 1041-7.]
- [6. Rougeulle C, Avner P. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 41-9.]

■■■■ **Le syndrome de Pendred: un siècle entre son individualisation et sa localisation sur le génome.** C'est en 1896, en effet, que Pendred identifiait ce syndrome associant

surdité et goitre [1]. Cette maladie récessive autosomique, beaucoup plus difficile, il est vrai, à localiser qu'une surdité dominante, n'avait jusqu'à présent bénéficié d'aucun apport de la génétique moléculaire, alors que l'on connaît non seulement les *loci* mais la nature des gènes impliqués dans d'autres formes syndromiques de surdité congénitale: gène *COL4A5* dans le syndrome d'Alport (*m/s n° 7, vol. 6, p. 710*) [2], gènes *PAX3* et *MITF* dans le syndrome de Waardenburg (*m/s n° 4, vol. 8, p. 393; n° 1, vol. 11, p. 133*), entre autres. Deux équipes viennent de localiser la région chromosomique où se situe le *locus* du syndrome de Pendred: sur le bras long du chromosome 7, entre q21 et q34, probablement en q31 [3, 4]. L'équipe anglaise a rassemblé douze familles [3] et a choisi de faire porter l'analyse de ségrégation sur les régions où des gènes de surdité non syndromiques sont déjà localisés. Grâce à cette stratégie, elle put rapidement constater que le *locus* du syndrome de Pendred se situe en 7q31, comme le *locus* *DFNB4*, rapporté dans une unique famille druze d'Israël [5]. Le hasard fait parfois bien les choses, car le *locus* du syndrome de Pendred étant situé à 5,5 cM du *locus* *DFNB4*, il ne doit s'agir que d'une coïncidence, le gène *DFNB4* n'ayant probablement aucune implication dans le syndrome de Pendred. L'autre groupe [4], composé de chercheurs américains (Iowa City, IO, USA) et israéliens, a utilisé une autre approche. Dans deux familles consanguines, par une technique fondée sur l'homozygotie et la superposition des ADN, elle choisit de se concentrer sur les gènes intervenant dans l'hormonogenèse thyroïdienne. On sait en effet que le goitre observé dans le syndrome de Pendred est lié à un défaut de transformation organique de l'iode. Mais, ni le gène codant pour la peroxydase thyroïdienne (*TPO*), ni le gène de la thyroglobuline (*Tg*) ne sont en cause. Pourtant l'étude *in vitro* de cellules thyroïdiennes

confirme la diminution de transformation organique de l'iode et la diminution nette et corrélée à la précédente de la tri-iodothyronine sécrétée par les thyrocytes des malades par rapport aux témoins. Reste à savoir si ce trouble de l'hormonogenèse thyroïdienne a une relation directe avec la surdité (éventuellement en provoquant des malformations de l'organe de Corti pendant l'embryogenèse). L'isolement du ou des gènes en cause dans le syndrome de Pendred est attendu car il représente 7% des surdités de l'enfant [6].

- [1. Pendred V. *Lancet* 1896; 2: 523.]
- [2. Aumailley M, Verrando P. *médecine/sciences* 1993; 9: 926-33.]
- [3. Coyle B, et al. *Nature Genet* 1996; 12: 421-3.]
- [4. Sheffield VC, et al. *Nature Genet* 1996; 12: 424-6.]
- [5. Baldwin CT, et al. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 1637-42.]
- [6. Sheffield VC, et al. *Curr Op Gen Dev* 1995; 5: 335-41.]