

## **L** Le gène responsable du syndrome ATR-X : vers une approche fonctionnelle

La description par le groupe de David J. Weatherall, Richard J. Gibbons et Douglas R. Higgs d'un syndrome associant retard mental et  $\alpha$ -thalassémie remonte à 1990 [1]. L'identification d'un certain nombre de cas familiaux d'expression phénotypique remarquablement univoque, associant retard mental profond, dysmorphies faciales,  $\alpha$ -thalassémie et anomalies génitales, a ensuite permis de localiser au chromosome X le locus responsable de ce syndrome ATR-X. Une étape importante a été la localisation de ce gène par clonage positionnel et sa caractérisation partielle par la même équipe d'Oxford, avec la mise en évidence de mutations chez un certain nombre de sujets atteints (*m/s n° 6, vol. 11, p. 910*) [2]. Ce gène, appelé *XH2* ou *XNP* code pour une hélicase, exprimée précocement dans de nombreux tissus, en particulier dans le cerveau, chez l'homme et la souris. Aucun élément ne permettait alors de préciser son rôle dans la régulation d'expression des différents gènes dont l'atteinte était suggérée par le phénotype. La recherche s'est alors orientée simultanément dans deux directions : l'exploration du gène d'une part, et les hypothèses possibles à partir de la séquence déduite, l'étude de nouveaux cas d'autre part, à la recherche d'une dissociation entre les éléments les plus classiques du syndrome initialement décrit. Outre quelques cas sporadiques, cette recherche a été menée en grande partie par le même groupe anglais, mais aussi par l'équipe de Michel Fontès à Marseille.

Dès 1996, l'observation d'un certain nombre de patients permettait de constater que les seuls éléments constants du phénotype étaient un retard mental profond et des dysmorphies faciales caractéristiques. L' $\alpha$ -thalassémie, décrite initialement comme atypique puisque la région des gènes  $\alpha$ -globine s'avérait normale, faisait défaut dans certains cas.

L'un de ces cas, dû à une mutation d'épissage, a été mentionné dans *médecine/sciences (m/s n° 5, vol. 12, p. 647)*. Les auteurs marseillais publiaient, en 1996 également, deux autres observations, un syndrome familial de Juberg-Marsidi [3] et un cas se présentant comme un syndrome ATR-X sans l' $\alpha$ -thalassémie [4]. Une dernière série de symptômes enfin, les anomalies génitales, était, en revanche, prédominante dans un autre cas atypique s'accompagnant d'une réversion sexuelle [5].

Parallèlement à ces études de patients, la caractérisation progressive du gène a permis des avancées importantes. La séquence de l'ADNc a permis de prédire la structure de la protéine. Celle-ci se présente comme un nouveau membre de la sous-classe SNF2 des hélices, avec des domaines ATPase et hélicase [6]. Aucune évolution vers la malignité n'ayant jamais été observée, le mécanisme d'action le plus probable est une régulation globale précoce de l'expression génique. Afin de mieux interpréter les relations entre génotype et phénotype, une étude de structure du gène était également menée à Marseille. Elle comportait la détermination de toutes les limites exon/intron, ainsi que celle de la longueur des introns [7]. Le gène *XNP* occupe sur le chromosome X une longueur d'environ 200 kb et il comporte au moins 35 exons, dont l'un, l'exon 9, a une longueur exceptionnelle de plus de 3000 pb (*figure 1*). Le gène s'étend en 5' à environ 2500 pb en amont de ce qui était connu antérieurement ; il engendre un transcrit de plus de 10,3 kb qui code pour deux protéines, respectivement de 2492 acides aminés et 2453 acides aminés, cette dernière correspondant à une perte de l'exon 6 par épissage alternatif. Dans l'extrémité nouvellement décrite on trouve trois motifs en doigt de zinc, codés respectivement par les exons 7, 8 et 9, alors que les motifs hélicase

sont tous codés par l'extrémité 3' du gène. Les auteurs concluaient à l'existence de deux domaines fonctionnels différents, les motifs en doigt de zinc se liant à l'ADN, et la région hélicase étant utilisée pour l'ouverture de la double hélice selon le mécanisme dépendant de l'ATP. Ils avaient aussi situé les différentes mutations sur cette structure génomique. Deux formes sans  $\alpha$ -thalassémies étaient localisées dans les séquences hélicases II et V, alors que la quasi-totalité des autres mutations se situe dans les 3 kb de cette région, mais en dehors des motifs eux-mêmes. Enfin, l'exploration de la zone nouvellement identifiée dans des cas sporadiques, révélait une mutation d'épissage au niveau de l'exon 7, dont la conséquence était la perte d'un doigt de zinc. Des résultats similaires, identifiant deux domaines dans le gène et la protéine, ont été retrouvés par l'équipe anglaise [8].

Une nouvelle étape vient sans doute d'être franchie dans une publication qui ouvre des perspectives sur le mode d'action du gène et l'explication des symptômes observés [9]. Partant de la variabilité des syndromes de retard mental du à des mutations du gène, et aussi du fait que les protéines de type SNF2 font partie de complexes protéiques dont la fonction s'exerce sans doute par remodelage de la chromatine, les auteurs ont cherché, par la technique des doubles hybrides, à quelles protéines de l'hétérochromatine s'associait la protéine XNP ; ils ont ainsi montré une interaction avec les protéines EZH2, de façon plus précise du domaine hélicase de XNP avec le domaine SET situé à l'extrémité carboxy-terminale de EZH2. Cette protéine, connue également sous le nom de ENX-1, présente une forte homologie avec la protéine E(z) de la drosophile (*Drosophila Enhancer of zeste*), codée par un gène membre du groupe *polycomb*, régulateur transcriptionnel de l'expression des gènes à

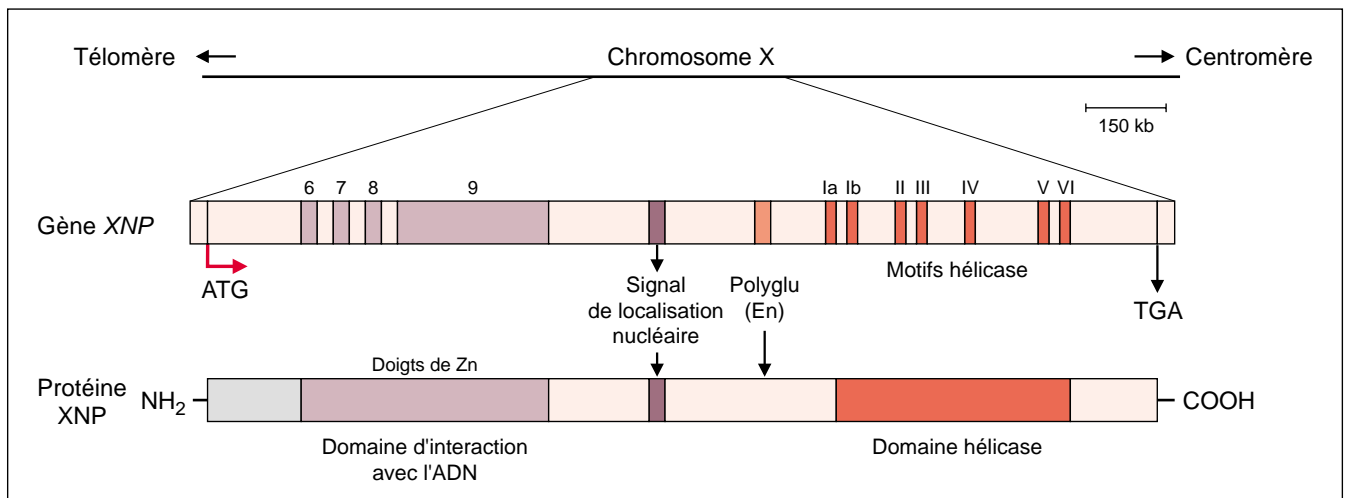


Figure 1. **Représentation schématique du gène XNP (ou XH2) sur le bras long du chromosome X.** Le gène comporte 35 exons; seuls ont été représentés dans la partie 5' les exons 6, 7, 8 et 9. L'exon 6 peut être spontanément perdu par un mécanisme d'épissage alternatif. Les produits des exons 7, 8 et 9, riches en cystéines, comportent des doigts de zinc qui assurent la liaison à l'ADN. La fonction d'une séquence de résidus d'acide glutamique ( $E_n$ ) n'est pas connue. Dans la moitié 3' du gène se trouve le domaine codant pour des activités hélicase (de la à VI). Ce domaine, qui classe la protéine produite dans la catégorie des protéines SNF2, serait responsable des modifications de la chromatine. C'est par ce domaine hélicase que se ferait l'interaction de la protéine XNP avec la protéine EZH2, et que se constituerait un complexe VAV1-EZH2-XNP susceptible d'expliquer l'intervention de ce gène dans l'hématopoïèse. Des mutations ont été décrites initialement dans cette moitié 3' du gène, se traduisant par le syndrome ATR-X le plus complet incluant une  $\alpha$ -thalassémie. Alors que le retard mental et les dysmorphies faciales sont constantes, d'autres variants de phénotypiques sont sans doute liés à des mutations dont la localisation est différente.

homéoboîte, dont la fonction serait de contrôler l'expression des gènes par remodelage de la chromatine [10]. Il a été par ailleurs montré que cette même protéine interagit spécifiquement avec le produit du protooncogène VAV1, effecteur connu du système hématopoïétique [11]. L'hypothèse est donc formulée qu'un complexe VAV1-EZH2-XNP pourrait intervenir dans l'hématopoïèse en contrôlant la transcription du gène  $\alpha$ -globine, dont on sait que la structure chromatinienne est différente de celle du gène  $\beta$ -globine. Le fait que l'interaction protéique se fasse par l'intermédiaire du domaine SET de EZH2 est à rapprocher des observations faites chez la drosophile. La protéine E(z) peut en effet s'y comporter par l'intermédiaire de son domaine SET à la manière de celles du groupe Polycombe, répresseur, ou du groupe Trithorax, activateur des gènes homéotiques, suivant les étapes et les tissus du développement embryonnaire [12]. Cette spécificité serait-elle retrouvée dans le recrutement de EZH2 ? Dans le domaine de la pathologie, enfin, on pourra noter que le

gène *EZX2* est situé sur le chromosome 21 en 21q22.2, région impliquée aussi dans le mongolisme, dont certaines similitudes avec le syndrome ATR-X ne manquent pas d'intriguer.

#### D.L.

1. Wilkie AOM, Zeitlin HC, Lindenbaum RH, Buckle VJ, Fischel-Ghodsian N, Chui DHK, Gardner-Medwin D, McGillivray MH, Weatherall DJ, Higgs DR. Clinical features and molecular analysis of the  $\alpha$  thalassemia/mental retardation syndromes. II. Cases without detectable abnormalities of the  $\alpha$  globin complex. *Am J Hum Genet* 1990 ; 46: 1127-40.
2. Gibbons RJ, Picketts DJ, Villard L, Higgs DR. Mutations in a putative global transcriptional regulator cause X-linked mental retardation with  $\alpha$ -thalassemia (ATR-X syndrome). *Cell* 1995 ; 80: 837-45.
3. Villard L, Gecz J, Mattei JF, Fontès M, Saugier-Verber P, Munnich A, Lyonnet S. XNP mutation in a large family with Juberg-Marsidi syndrome. *Nat Genet* 1996 ; 12: 359-60.
4. Villard L, Lacombe D, Fontès M. A point mutation in the XNP gene, associated with an ATR-X phenotype without  $\alpha$ -thalassemia. *Eur J Hum Genet* 1996 ; 4: 316-20.
5. Ion A, Telvi L, Chaussain JL, Galacteros F, Valayer J, Fellous M, McElreavey K. A novel muta-

- tion in the putative DNA helicase *XH2* is responsible for male-to-female reversal associated with an atypical form of the ATR-X syndrome. *Am J Hum Genet* 1996 ; 58: 1185-91.
6. Picketts DJ, Higgs DR, Bachoo S, Blake DJ, Quarrell OWJ, Gibbons RJ. *ATRX* encodes a novel member of the SNF2 family of proteins: mutations point to a common mechanism underlying the ATR-X syndrome. *Hum Molec Genet* 1996 ; 5: 1899-907.
  7. Villard L, Lossi AM, Cardoso C, Proud V, Chiaroni P, Colleaux L, Schwartz C, Fontès M. Determination of the genomic structure of the XNP/ATRX gene encoding a potential zinc finger helicase. *Genomics* 1997 ; 43: 149-55.
  8. Gibbons RJ, Bachoo S, Picketts DJ, Aftimos S, Asenbauer B, et al. Mutations in transcriptional regulator *ATRX* establish the functional significance of a PHD-like domain. *Nat Genet* 1997 ; 17: 146-8.
  9. Cardoso C, Timsit S, Villard L, Khrestchatsky M, Fontès M, Colleaux L. Specific interaction between the XNP/ATRX gene product and the SET domain of the human EZH2 protein. *Hum Molec Genet* 1998 ; 7: 679-84.
  10. Chen H, Rossier C, Antonarakis SE. Cloning of a human homolog of the *Drosophila Enhancer of zeste* gene (*EZH2*) that maps to chromosome 21q22.2. *Genomics* 1996 ; 38: 30-7.
  11. Hobert O, Jallal B, Ullrich A. Interaction of Vav with ENX-1, a putative transcriptional regulator of homeobox gene expression. *Mol Cell Biol* 1996 ; 16: 3066-73.
  12. Lajeunesse D, Shearn A. *E(z)*: a polycomb group gene or a trithorax group gene? *Development* 1996 ; 122: 2189-97.