

■■■■ **Les leçons à tirer d'une étude de la fréquence d'une mutation du gène *BRCA1* dans la population juive ashkénase.** Les fréquences génétiques des principales maladies génétiques ne sont pas encore connues avec précision dans les populations humaines. Certains groupes humains ont cependant fait l'objet d'études particulières et, récemment, Motulsky [1] a présenté une liste de maladies génétiques fréquentes chez les juifs ashkénases, certaines d'entre elles faisant l'objet de dépistage systématique en Israël. Le gène *BRCA1* (*m/s* n° 11, vol. 10, p. 1172, n° 3, vol. 11, p. 336) devra sans doute bientôt être ajouté à cette liste puisque le groupe de Larry Brody, au Centre National Américain de Recherche sur le génome humain à Bethesda [2], vient d'établir qu'environ 1% des juifs ashkénases étaient porteurs d'une mutation dans le gène de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire *BRCA1*. Plusieurs publications antérieures [3-5] avaient attiré l'attention sur le fait que les familles à risque dans lesquelles on avait trouvé la mutation 185delAG (une délétion de deux paires de bases dans l'exon 2) étaient toutes d'origine juive ashkénase. La détection de cette mutation en *dot-blot* étant facile, il était tentant de la rechercher sur un grand nombre d'échantillons provenant de cette population. A partir de trois lots de prélèvements effectués en Israël et aux États-Unis, la mutation fut retrouvée 8 fois sur 858. La fréquence de cette mutation serait donc d'environ 1% chez les juifs ashkénases et sa responsabilité serait alors engagée dans 16% des cancers du sein et 39% des cancers de l'ovaire chez les femmes de moins de cinquante ans, pourcentage considérable, comparé au risque de la population générale (aucune mutation n'a été décelée dans le groupe témoin). Un dépistage systématique pourrait se concevoir. Mais, avant que la nouvelle ne se répande, il convient de méditer sur les implications de cette étude. Les échantillons analysés

avaient été initialement prélevés pour rechercher des mutations dans les gènes impliqués dans la maladie de Tay Sachs et la mucoviscidose par diverses équipes israéliennes et américaines et ils avaient ensuite été stockés de façon anonyme. De la sorte, selon la législation américaine, ils pouvaient être utilisés sans qu'un consentement éclairé fût nécessairement demandé. Mais, dans ces conditions, impossible de retrouver les personnes à risque, impossible de les prévenir. Au demeurant, comment savoir si elles auraient souhaité connaître leur risque ? Et, dans le choix des personnes prélevées, n'y a-t-il pas un biais de recrutement inconnu ? Appartenaient-elles à une famille à risque pour le cancer du sein ou de l'ovaire ? Autant de questions sans réponse qui rendent urgente une nouvelle étude. Mais, cette fois, il faudra solliciter des volontaires, leur demander un consentement éclairé, établir l'arbre généalogique et surtout leur apporter toutes les explications nécessaires pour nuancer les informations avant l'annonce du résultat. On voit donc que la demande de consentement éclairé rendue nécessaire en France par la législation est pleinement justifiée. La nécessité de recherches analogues dans d'autres populations dans l'avenir rend évidente l'insuffisance du nombre de généticiens cliniciens capables de mener à bien de telles enquêtes en Europe et aux USA. Les leçons à tirer de cette étude ponctuelle ont donc largement dépassé le but initial.

- [1. Motulsky AG. *Nature Genet* 1995 ; 9 : 99-101.]
- [2. Stuewing JP, et al. *Nature Genet* 1995 ; 11 : 198-200.]
- [3. Stuewing JP, et al. *Am J Hum Genet* 1995 ; 57 : 1-7.]
- [4. Takahashi H, et al. *Cancer Res* 1995 ; 55 : 2998-3002.]
- [5. Tonin P, et al. *Am J Hum Genet* 1995 ; 57 : 187-9.]

■■■■ **Trouble de l'absorption intestinale de la vitamine B12 : un locus sur le chromosome 10.** L'anémie mégalo-blastique de l'enfant est un événement rare pouvant relever de multiples étiologies. Il en existe cependant une forme génétique, récessive autosomique, surtout observée dans les pays nordiques, où elle est appelée maladie de Gräbeck-Imerslund, ainsi que dans quelques pays du Moyen-Orient. Cliniquement, l'anémie survient avant l'âge de cinq ans chez des enfants qui ne sont pas sous-alimentés et qui ne présentent aucun syndrome général de malabsorption. Indépendamment de l'anémie mégalo-blastique, il existe une protéinurie. La concentration sérique de vitamine B12 est diminuée et les tests de Schilling I et II (mesurant l'absorption de vitamine B12 marquée) mettent en évidence un trouble de l'absorption de la vitamine B12 même en présence de facteur intrinsèque\*. Le traitement, par injection intramusculaire de vitamine B12, doit être maintenu chez les malades leur vie durant, moyennant quoi tous les signes disparaissent, à l'exception de la protéinurie qui persiste. Le groupe d'Albert de la Chapelle (Helsinki, Finlande) a voulu retrouver les familles étudiées dans les années 1960 pour réactualiser les arbres généalogiques, effectuer une collecte de prélèvements et tenter de trouver une localisation génique [1]. Même si cette maladie est rare, l'identification du gène responsable ne manque pas d'intérêt, en particulier pour bien comprendre le mécanisme de la libération de la cobalamine du complexe cobalamine-facteur intrinsèque-récepteur (dans les entérocytes) pour être transloquée à travers la cellule intestinale et être prise en charge par la

\* Protéine sécrétée par les cellules bordantes du fundus gastrique, permettant l'absorption de la vitamine B12 (ou cobalamine).

transcobalamine II (dans le sang circulant). En l'absence de gène candidat, une analyse de déséquilibre de liaison fut faite sur six grandes familles finlandaises avec de nombreux microsatellites (fournis par Généthon pour la plupart) qui permit une localisation en 10p12.1, entre les marqueurs *D10S586* du côté centromérique et *D10S570* du côté télomérique, dans un intervalle de 16 cM. Elle fut ensuite retrouvée dans d'autres familles. Le premier gène candidat que l'on devrait rechercher à ce locus *MGA1* (anémie mégalo-blastique 1) serait celui qui code pour le récepteur du complexe facteur intrinsèque-cobalamine. Il n'a pas encore été cloné mais la protéine est connue et a été isolée de l'intestin humain, canin et porcine. Elle est également présente dans le rein et les urines humaines concentrées [2]. Chez des chiens allemands, les *schmauzer* (une variété de griffons), on trouve une mutation récessive entraînant une malabsorption sélective de la vitamine B12 avec protéinurie. S'il s'agit bien de la même maladie, ce modèle animal pourrait être très utile. Par ailleurs, cette étude a permis d'observer un phénomène classique en génétique des populations. La collecte a en effet révélé une nette diminution des nouveaux cas. Pas un seul n'a été répertorié au cours des dix dernières années. Sur les quatre cas dépistés depuis 1971, le dernier remonte à 1982. Plusieurs hypothèses ont donc été envisagées dont certaines ont été rapidement éliminées. Il était exclu de supposer que la diminution soit le fait du hasard ou que les cas nouveaux n'aient pas été diagnostiqués. L'étude initiale ayant été faite dans l'immédiat après-guerre, période où le régime était plus pauvre en protéines animales, on pouvait aussi supposer que la carence alimentaire aurait favorisé l'apparition des manifestations cliniques à cette époque. En fait, la quasi-disparition de la maladie tient sans doute essentiellement à la dispersion du gène et à la rare-

faction des homozygotes. Car les isolats ruraux dans lesquels la maladie avait jadis été observée, ont éclaté, avec afflux vers les villes de ces familles, d'où la diminution des homozygotes qui a pu être vérifiée, du moins en Finlande. Cette dernière hypothèse est donc la plus probable.

[1. Aminoff M, et al. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 824-31.]

[2. Guéant JL, et al. *Gastroenterology* 1995; 108: 1622-8.]

■■■ **Clonage du gène *EXT-1* impliqué dans la maladie des exostoses multiples.** Dès 1984, Erika Buhler [1] avait montré que le syndrome de Langer-Giedion (LGS), syndrome tricho-rhino-phalangien compliqué d'exostoses multiples, était dû à une microdélétion en 8q24. Par la suite, il fut facile de classer cette maladie dans le groupe des syndromes des gènes contigus puisque le locus *EXT1* était lié à la transmission de la maladie des exostoses multiples dans des familles sans syndrome tricho-rhino-phalangien. Grâce à des malades atteints de LGS et porteurs non pas d'une délétion mais d'un remaniement chromosomique avec point de cassure en 8q24.1 [2], il fut possible de localiser plus précisément le locus, de cloner la région dans un cosmide et de rechercher des ADNc. Enfin, par RACE-PCR (*rapid cloning of cDNA extremities by PCR*), la séquence vient d'être presque entièrement reconstituée [3]. Bien qu'elle n'ait d'homologie évidente avec aucune des séquences connues, sa région 5' non traduite (UTR) est inhabituellement longue, comme certaines séquences UTR de proto-oncogènes. Le gène, *EXT1*, contient deux signaux de polyadénylation précédant la queue poly A. Le cadre de lecture laisse prévoir un polypeptide de 746 acides aminés avec des sites potentiels de modification post-traductionnelle : trois sites d'amidation, trois de N-gly-

cosylation, deux de myristoylation et vingt-cinq sites de phosphorylation pour trois kinases différentes. *EXT1* est absent chez les malades atteints de LGS ainsi que chez un malade atteint d'exostoses multiples. Il s'exprime dans les chondrocytes et dans les autres tissus étudiés. Il intervient sans doute dans le développement de l'os, mais on ignore encore son rôle dans la survenue des exostoses multiples car il s'agit de tumeurs composées de différents types de cellules et parce qu'il existe deux autres loci sur les chromosomes 11 (*m/s n° 4*, vol. 10, p. 477) et 19 (*m/s n° 8*, vol. 11, p. 1186).

[1. Buhler EM and Malik NJ. *Am J Med Genet* 1984; 19: 113-9.]

[2. Lüdecke HJ, et al. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 31-6.]

[3. Ahn J, et al. *Nature Genet* 1995; 11: 137-43.]

■■■ **La protéine anormale dans l'hypophosphatémie liée à l'X serait proche des endopeptidases.** Le rachitisme hypophosphatémique lié à l'X (HYP) est la forme la plus fréquente des hypophosphatémies familiales (1/20 000) [1]. Dans cette maladie, il est évident que la diminution de la réabsorption du phosphate par les tubules rénaux (dont l'hypophosphatémie est la conséquence) n'est pas due à une anomalie rénale intrinsèque. Les gènes codant pour les cotransporteurs du phosphate dans les tubules proximaux, qui dépendent du sodium, auraient fait de bons gènes candidats s'ils n'étaient localisés en 5q35 et en 6p. Leur existence laisse cependant supposer que de nombreux gènes doivent intervenir dans la régulation du phosphate. Chez la souris, les gènes impliqués dans deux maladies analogues (*Hyp* et *Gy*), ont été localisés dans une région de l'X murin homologue du segment Xp22 humain. Il est assez surprenant de constater que la gravité de cette maladie dominante liée à l'X est identique chez les hommes et

les femmes alors que le mode de transmission dominant lié à l'X entraîne souvent une létalité masculine. La localisation du gène humain remonte à 1986 [2]. Pour plus d'efficacité, les équipes travaillant sur *HYP* se sont groupées en un consortium international qui vient enfin d'isoler un gène dont les mutations sont vraisemblablement responsables du rachitisme hypophosphatémique lié à l'X [3]. La recherche a comporté plusieurs étapes: construction d'un *contig* de YAC (*yeast artificial chromosomes*); réduction de la région candidate à un seul YAC; à partir de segments de celui-ci purifiés en champs pulsés, isolement de clones de cosmides, de phages P1 et de PAC (chromosomes artificiels dérivés de P1) et enfin séquençage des clones et identification d'exons potentiels. Les cosmides furent ensuite utilisés pour cribler une banque d'ADNc et une bonne partie de la séquence a pu être obtenue. Des délétions, détectées dans cinq cosmides non chevauchants, furent mises en évidence chez des malades ainsi que des mutations. Bien qu'il ne soit pas encore complètement identifié, on sait que ce gène comporte de nombreux petits exons. Il a des analogies avec les gènes codant pour les protéines de la famille des endopeptidases neutres, glycoprotéines de membrane ayant une courte région N-terminale, un seul domaine transmembranaire et un long domaine C-terminal extracellulaire comprenant un motif liant le zinc (*m/s n° 8, vol. 8, p. 868*) [4]. Ces métallo-endopeptidases comprennent l'antigène Kell, l'enzyme-1 de conversion de l'endothéline (ECE-1) et l'endopeptidase neutre (NEP) ou antigène de leucémie aiguë lymphoblastique (CALLA, CD10). Le nouveau gène, baptisé *PEX* (pour phosphate, endopeptidase et X) code dans sa région 5' pour des résidus hydrophobes qui constituent probablement un domaine transmembranaire que l'on trouve aussi chez les NEP; dans sa région 3', il code pour un motif de liaison du zinc. Le modèle de la protéine Kell, qui forme un complexe avec

un transporteur, XK [5], impliqué dans le syndrome de McLeod, fait supposer que la protéine *PEX* pourrait avoir une action enzymatique sur une hormone contrôlant l'absorption du phosphate par les tubules rénaux. Mais il faudra cloner le gène *PEX* sur toute sa longueur pour pouvoir le comparer aux autres gènes codant pour des endopeptidases et connaître son rôle dans la régulation du phosphate.

- [1. Tenenhouse HS. *médecine/sciences* 1986; 2: 429-39.]
- [2. Read AP, *et al. Hum Genet* 1986; 73: 457-67.]
- [3. The HYP consortium. *Nature Genet* 1995; 11: 130-6.]
- [4. Corvol P, *et al. médecine/sciences* 1993; 9: 1050-60.]
- [5. Kamlichi S, *et al. Eur J Biochem* 1995; 228: 931-4.]

■■■■ **Du nouveau dans les cardiomyopathies dilatées familiales.** Les cardiomyopathies hypertrophiques familiales ont fait l'objet de nombreuses études ces dernières années [1]. En revanche, les généticiens se sont peu intéressés aux cardiomyopathies dilatées, la dilatation ventriculaire étant considérée comme une conséquence mécanique de troubles divers de la fonction cardiaque. Mais des études récentes ont montré que les cardiopathies dilatées familiales (FDC) n'étaient pas exceptionnelles et qu'une transmission autosomique dominante pouvait exister dans 20 % à 25 % des cas [2]. Un groupe italien a donc entrepris une étude de liaison sur trois familles soigneusement sélectionnées du point de vue clinique et dont l'une comportait 13 sujets atteints [3]. L'approche par gènes candidats n'ayant pas été fructueuse, une analyse de liaison systématique à l'aide de 251 microsatellites a permis de trouver un *locus* unique pour les trois familles en 9q13-q22. Le gène de l'ataxie de Friedreich (*m/s n° 3, vol. 9, p. 344*) n'est pas

loin, mais, bien qu'il existe souvent une cardiomyopathie dilatée dans l'évolution de cette maladie, ce gène ne doit pas être en cause du fait, entre autres, de la transmission autosomique récessive de l'ataxie de Friedreich. Le gène codant pour une protéine kinase dépendante de l'AMPc [4] réglant la conductance du canal calcique se trouve aussi en 9q13. Mais le gène candidat le plus séduisant est, au demeurant, celui codant pour la tropomoduline (en 9q22) [5]. Cette protéine, localisée à l'extrémité des filaments d'actine, inhibe la liaison de la tropomyosine à l'actine et sa présence vient d'être démontrée dans les cellules myocardiques [6]. Espérons une rapide confirmation. Le dépistage présymptomatique des sujets porteurs d'une mutation permettrait un meilleur suivi. Il ne faut pas oublier que l'évolution est souvent sévère chez ces malades dont la transplantation cardiaque est finalement le seul recours.

- [1. Carrier L, *et al. médecine/sciences* 1995; 11: 1685-93.]
- [2. Keeling PJ and McKenna WJ. *Herz* 1994; 19: 91-6.]
- [3. Krajcinovic M, *et al. Am J Hum Genet* 1995; 57: 846-52.]
- [4. Catterall WA. *Science* 1998; 242: 50-61.]
- [5. Sung LA, *et al. Cytogenet Cell Genet* 1991; 58: 1944.]
- [6. Sung LA, *et al. Biochem Biophys Res Commun* 1994; 201: 627-34.]

■■■■ **Un modèle animal pour la trisomie 21.** L'homologie génétique entre le chromosome 21 humain et le chromosome 16 de la souris ne permettait pas jusqu'à présent d'étude phénotypique comparative puisque les souris trisomiques 16 meurent *in utero*. Une lignée de souris, T65Dn, obtenue en utilisant une translocation (16;17) et porteuse d'une trisomie 16 partielle qui atteint l'âge adulte sans problème, est désormais proposée comme

modèle murin de la trisomie 21 humaine [1]. La région trisomique contient une séquence de 18 *loci* avec entre autres *app* (précurseur du peptide amyloïde), *sod1* (superoxyde dismutase), *pcp4* (protéine cérébelleuse) correspondant à la partie distale du chromosome 21 impliquée dans le phénotype « trisomique ». La surexpression de ces gènes, présents en triple exemplaire, a été vérifiée chez les souris T65Dn. Phénotypiquement, elles ont des malformations cardiaques, une hyperactivité locomotrice et répondent moins bien que les témoins aux tests d'apprentissage spatial et de mémorisation. En revanche, et bien qu'elles aient des lésions cérébrales dont on ignore encore la signification, elles ne présentent aucune image analogue à celles observées dans la maladie d'Alzheimer (et retrouvées aussi chez les trisomiques adultes). Chez des souris transgéniques exprimant l'APP humain en grande quantité, on a pu observer récemment des dépôts amyloïdes comme dans la maladie d'Alzheimer, sans toutefois que ces souris présentent de signes neurologiques (*m/s n°2, vol.11, p.1251*). Les troubles de type Alzheimer des jeunes adultes trisomiques 21 sont donc peut-être dus à un surdosage d'autres gènes, situés hors de la région dupliquée chez les souris T65Dn. Cette lignée de souris reste néanmoins précieuse puisqu'elle est génétiquement un authentique modèle animal de la trisomie 21. Certes, les quelque quatre-vingts millions d'années qui nous séparent phylogénétiquement des souris ne

permettent pas une étude comparative très fine des troubles psychomoteurs et du retard intellectuel. Mais les méthodes d'exploration des fonctions cérébrales deviennent si performantes que toute référence animale est potentiellement éclairante.

[1. Reeves HR, *et al. Nature Genet* 1995; 11: 177-83.]

■■■■ **Spécificité des mutations de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne.** L'hémoglobinurie paroxystique nocturne est une anémie hémolytique acquise, due à une mutation somatique dans une cellule souche hématopoïétique, qui se manifeste par l'absence, totale ou partielle, d'une série de protéines normalement ancrées dans le réticulum endoplasmique par le glycosyl phosphatidylinositol (GPI) (*m/s n°10, vol. 9, p. 1130*). La cause, toujours retrouvée jusqu'à présent, a été l'existence de clone(s) présentant une mutation d'un gène *PIG-A* situé sur le chromosome X et codant pour une protéine impliquée dans cet ancrage (*m/s n°4, vol. 10, p. 482*). Un travail récent du groupe de L. Luzzatto (Londres, Grande-Bretagne, et New York, USA) présente le résultat d'une recherche effectuée sur dix-sept malades [1]. La recherche a été faite sur l'ADN de granulocytes, qui sont plus fréquemment déficients, et les résultats ont été confrontés aux données phénotypiques, en particulier à la notion d'un déficit partiel ou total des clones isolés. Ces données, jointes à des séries

précédentes, permettent un début de synthèse. La recherche a permis l'identification de quinze mutations trouvées chez douze malades. Les mutations, toutes différentes les unes des autres et de celles de la littérature, étaient réparties sur l'ensemble des séquences codantes sans localisation élective. Chez trois malades, deux clones différents reflétaient des populations cellulaires distinctes. Si l'on joint à ces données le fait que chez d'autres sujets il y avait coïncidence de clones partiellement et totalement déficients, on aboutit au résultat que dans la majorité des cas (7/12) coexistaient chez les malades des clones d'origine indépendante. Cette constatation permet évidemment l'hypothèse d'un avantage sélectif de croissance et de survie des clones déficients dans le contexte d'une insuffisance médullaire. En comparant la classification des mutations aux données concernant, d'une part, les mutations héréditaires d'autres gènes, d'autre part, les mutations somatiques des polyposes adénomateuses du côlon, on constate une relative similitude avec cette dernière série : il s'agit en majorité d'insertions ou délétions, mutations nulles, dont la sélection clonale pourrait être supérieure à celle qu'entraîne un déficit partiel. Le contraste est total, en revanche, avec les mutations du déficit en G6PD, presque toujours mutations ponctuelles permettant une activité résiduelle de l'enzyme, sans doute nécessaire à la survie de l'individu.

[1. Nafa K, *et al. Blood* 1995 ; 86 : ??]