

M/S : médecine sciences



Mutations de la neurotrypsine et retard mental

Neurotrypsin: the first gene involved in non syndromic mental retardation

Florence Molinari, Marlène Rio, Arnold Munnich and Laurence Colleaux

Volume 19, Number 5, mai 2003

Neurosciences

URI: <https://id.erudit.org/iderudit/006615ar>

[See table of contents](#)

Publisher(s)

SRMS: Société de la revue médecine/sciences
Éditions EDK

ISSN

0767-0974 (print)
1958-5381 (digital)

[Explore this journal](#)

Cite this article

Molinari, F., Rio, M., Munnich, A. & Colleaux, L. (2003). Mutations de la neurotrypsine et retard mental. *M/S : médecine sciences*, 19(5), 525–527.

Tous droits réservés © M/S : médecine sciences, 2003

This document is protected by copyright law. Use of the services of Érudit (including reproduction) is subject to its terms and conditions, which can be viewed online.

<https://apropos.erudit.org/en/users/policy-on-use/>

érudit

This article is disseminated and preserved by Érudit.

Érudit is a non-profit inter-university consortium of the Université de Montréal, Université Laval, and the Université du Québec à Montréal. Its mission is to promote and disseminate research.

<https://www.erudit.org/en/>



RÉFÉRENCES

1. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001; 409: 860-921.
2. Heilig R, Brüls T. Premiers regards sur la séquence du génome humain. *Med Sci* 2001; 17: 299-308.
3. Dunham I, Shimizu N, Roe Ba, et al. The DNA sequence of human chromosome 22. *Nature* 1999; 402: 489-95.
4. Hattori M, Fujiyama A, Taylor TD, et al. The DNA sequence of human chromosome 21. *Nature* 2000; 405: 311-9.
5. Deloukas P, Matthews LH, Ashurst J, et al. The DNA sequence and comparative analysis of human chromosome 20. *Nature* 2001; 414: 865-71.
6. Heilig R, Eckenberg R, Petit JL, et al. The DNA sequence and analysis of human chromosome 14. *Nature* 2003; 421: 601-7.
7. Brüls T, Gyapay G, Petit JL, et al. A physical map of human chromosome 14. *Nature* 2001; 409: 947-8.
8. The International Human Mapping Consortium. A physical map of the human genome. *Nature* 2001; 409: 934-41.
9. Roest Crollius H, Jaillon O, Bernot A, et al. Estimate of human gene number provided by genome-wide analysis using *Tetraodon nigroviridis* DNA sequence. *Nat Genet* 2000; 25: 235-8.
10. Roest Crollius H, Jaillon O. Le nombre des gènes dans le génome humain: les paris sont ouverts. *Med Sci* 2000; 16: 988-90.
11. Rowen L, Young J, Birditt B, et al. Analysis of the human neurexin genes: alternative splicing and the generation of protein diversity. *Genomics* 2002; 79: 587-97.

NOUVELLE

Mutations de la neurotrypsine et retard mental

Florence Molinari, Marlène Rio, Arnold Munnich, Laurence Colleaux

Inserm U.393,
Hôpital Necker-Enfants
Malades, 149, rue de Sèvres,
75015 Paris, France.
colleaux@necker.fr

> Le terme retard mental regroupe différentes affections caractérisées selon l'OMS (Organisation mondiale de la santé) par un quotient intellectuel inférieur à 70 (QI < 70) [1]. Le retard mental est le handicap majeur le plus fréquent puisque sa prévalence est de 1 % si on ne considère que le retard mental sévère (QI < 50), et s'élève à 2-3 % si l'on inclut le retard mental léger (QI entre 50 et 70) [2, 3]. Malgré les récents progrès de la génétique médicale, dans 40 % des cas, la cause exacte du retard mental demeure cependant encore totalement inexplicée.

On distingue classiquement deux groupes de maladies: (1) les retards mentaux syndromiques, qui associent un retard mental et des anomalies neurologiques, morphologiques, viscérales ou biochimiques; et (2) les retards mentaux non syndromiques, définis par un retard mental isolé sans autres anomalies cliniques. Les gènes impliqués dans des retards mentaux syndromiques sont très divers et participent à de multiples processus cellulaires de sorte qu'il est souvent difficile de comprendre le lien exact entre le

défaut moléculaire et la déficience cognitive observée. À l'inverse, les gènes responsables de retards mentaux non syndromiques participent directement aux processus liés aux fonctions cognitives: mémorisation, apprentissage, comportement, etc.

Le nombre des gènes responsables de retards mentaux est estimé à environ 300 et seuls 90 d'entre eux ont été identifiés. En effet, l'extrême hétérogénéité clinique et génétique de ces maladies rend difficile l'utilisation des techniques classiques d'analyse de liaison génétique, en particulier dans le cas des retards mentaux non syndromiques. En conséquence, seuls onze gènes responsables de retards mentaux non syndromiques liés à l'X ont été identifiés [4-6], mais aucun gène associé à un retard mental isolé récessif autosomique (→). La gravité et la fréquence de ces affections font du démantèlement des gènes responsables de ces maladies un des enjeux majeurs de la génétique médicale.

Afin d'identifier certains des gènes autosomiques, nous avons choisi d'utiliser une

méthode de localisation utilisant l'homozygotie par filiation. Cette stratégie, décrite en 1987 par E.S. Lander et D. Botstein, consiste à étudier des familles consanguines « multiplex » [7]. Dans de telles familles, tous les sujets atteints sont homozygotes par descendance non seulement pour la mutation morbide mais aussi pour les marqueurs avoisinants. D'autres régions sont également retrouvées homozygotes, mais sont différentes d'un individu atteint à l'autre. L'étude, par cette stratégie, d'une famille consanguine comprenant quatre enfants atteints de retard mental sévère et quatre enfants sains nous a permis de localiser le premier gène de retard mental autosomique récessif sur le bras long du chromosome 4. Parmi les nombreux gènes portés par cette partie du chromosome, nous nous sommes plus particulièrement intéressés au gène *PRSS12*.

Ce gène, très fortement exprimé dans le cerveau, code pour la neurotrypsine, un membre de la famille des protéases à sérine [8]. Des études menées chez la souris suggéraient que cette protéine puisse être impliquée dans

(→) m/s
2000, n° 3,
p. 363

les processus de maturation synaptique et de plasticité neuronale [9]. Nous avons donc déterminé la structure du gène humain et analysé, chez un des patients, l'ensemble de la séquence des treize exons codants. Ce travail nous a permis d'identifier une délétion de quatre paires de base. Cette mutation, qui conduit à un décalage du cadre de lecture et à l'apparition d'un codon d'arrêt prématuré de la traduction, co-ségrège dans cette famille, selon le mode récessif autosomique, avec le phénotype de retard mental [10]. Enfin, l'étude d'autres familles consanguines nous a permis d'identifier la même mutation dans une seconde fratrie.

Pour mieux comprendre la fonction de cette protéine, nous avons analysé son expression au cours du développement humain et dans le cerveau adulte. Nous avons montré que ce gène est fortement exprimé au cours du développement du système nerveux, en particulier dans le cortex, l'hippocampe et le noyau moteur du tronc cérébral, c'est-à-dire des structures liées à l'apprentissage et à la mémoire. Dans le cerveau adulte, la neurotrypsine s'accumule dans des vésicules synaptiques localisées à proximité de la membrane pré-synaptique des neurones corticaux (Figure 1A). Ces données nous permettent de proposer l'hypothèse selon laquelle la neurotrypsine, qui est une protéine sécrétée, se comporterait comme un neurotransmetteur en activant, par protéolyse, un récepteur spécifique ancré dans la membrane post-synaptique (Figure 1B). L'inactivation du gène de la neurotrypsine conduirait donc à un défaut de transmission synaptique par absence de la protéine.

Outre le fait qu'il s'agit du premier gène de retard mental non syndromique autosomique caractérisé, ces résultats ouvrent de nombreuses perspectives dans le domaine de la neurobiologie. Il s'agit en effet de la première démonstration qu'une anomalie de la protéolyse synaptique puisse conduire à un déficit intellectuel. Des travaux antérieurs, menés déjà

montré le rôle des protéases à sérine et de leurs inhibiteurs dans le développement et le fonctionnement du système nerveux central. Ainsi, des anomalies des synapses et des neurones sont observées chez des souris dont le gène codant pour la neuropsine, une autre protéase à sérine, est inactivé [11]. De même, plusieurs groupes ont démontré l'effet de la surexpression, ou au contraire, de l'inactivation du gène codant pour la nexine (un inhibiteur de protéase à sérine) sur la plasticité synaptique de l'hippocampe [12]. Nos résultats soulignent cependant le rôle crucial de la protéolyse synaptique dans les fonctions cérébrales humaines. Ils ouvrent ainsi la voie à d'autres travaux visant à caractériser la cascade de gènes impliqués dans ce mécanisme synaptique et leur rôle éventuel dans d'autres retards mentaux.

D'un point de vue médical, la caracté-

sation de la mutation à l'origine de cette maladie est une avancée majeure pour les familles concernées. Le diagnostic de ces affections permet en effet d'éviter d'autres investigations coûteuses et parfois pénibles à supporter pour l'enfant et les parents. Il fournit les éléments essentiels pour proposer un conseil génétique. Enfin, il permet de donner des éléments de réponse quant à l'évolution du handicap et aux possibilités de prises en charge thérapeutiques et/ou éducatives. ♦

Neurotrypsin: the first gene involved in non syndromic mental retardation

REMERCIEMENTS

Ce travail n'aurait pu être mené à bien sans l'étroite interaction de notre unité de recherche avec le département de Génétique Médicale de l'Hôpital Necker-Enfants Malades et le soutien financier de la Fondation de France et de la Fondation France Telecom.

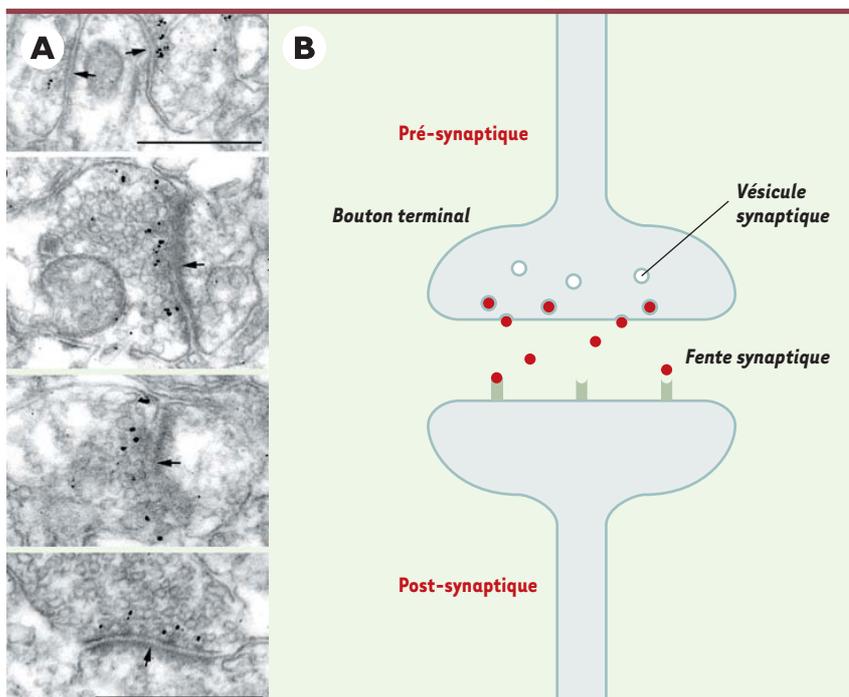


Figure 1. A. Localisation de la neurotrypsine dans les synapses corticales par immunohistochimie et observation en microscopie électronique. Les flèches indiquent la membrane pré-synaptique (barre = 0,5 µm). B. Représentation schématique d'une synapse montrant le mécanisme d'action possible de la neurotrypsine. La protéine (rouge) est stockée dans des vésicules synaptiques localisées à proximité de la membrane synaptique. À la suite d'une dépolarisation, la protéine est libérée dans la fente synaptique où elle pourrait reconnaître, et activer par clivage, un récepteur transmembranaire localisé dans la membrane post-synaptique. Cette activation assurerait alors la transmission du message.



RÉFÉRENCES

- Luckasson R, Coulter DL, Polloway EA. *Mental retardation: definition, classification and systems of supports*. Washington DC: American Association on Mental Retardation, 1992.
- Flint J, Wilkie AOM. The genetics of mental retardation. *Br Med Bull* 1996; 52: 453-64.
- Raynham H, Gibbons R, Flint J, Higgs D. The genetic basis for mental retardation. *Q J Med* 1996; 89: 169-75.
- Chelly J, Mandel JL. Monogenic causes of X-linked mental retardation. *Nat Rev Genet* 2001; 2: 669-80.
- Stromme P, Mangelsdorf ME, Shaw MA, et al. Mutations in the human ortholog of *Aristaless* cause X-linked mental retardation and epilepsy. *Nat Genet* 2002; 30: 441-5.
- Bienvenu T, Poirier K, Friocourt G, et al. *ARX*, a novel Prd-class-homeobox gene highly expressed in the telencephalon, is mutated in X-linked mental retardation. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 981-91.
- Lander ES, Botstein D. Homozygosity mapping: a way to map human recessive traits with the DNA of inbred children. *Science* 1987; 236: 1567-70.
- Gschwend TP, Krueger SR, Kozlov SV, Wolfer DP, Sonderegger P. Neurotrypsin, a novel multidomain serine protease expressed in the nervous system. *Mol Cell Neurosci* 1997; 9: 207-19.
- Wolfer DP, Lang R, Cinelli P, Madani R, Sonderegger P. Multiple roles of neurotrypsin in tissue morphogenesis and nervous system development suggested by the mRNA expression pattern. *Mol Cell Neurosci* 2001; 18: 407-33.
- Molinari F, Rio M, Meskenaitė V, et al. Truncating neurotrypsin mutation in autosomal recessive nonsyndromic mental retardation. *Science* 2002; 298: 1779-81.
- Hirata A, Yoshida S, Inoue N, et al. Abnormalities of synapses and neurons in the hippocampus of neuropsin-deficient mice. *Cell Neurosci* 2000; 17: 600-10.
- Luthi A, Van der Putten H, Botteri FM, et al. Endogenous serine protease inhibitor modulates epileptic activity and hippocampal long-term. *J Neurosci* 1997; 17: 4688-99.

NOUVELLE

Comment localiser un gène morbide sans étude de liaison génétique ?

Pascale de Lonlay

> Cette question se pose de plus en plus souvent pour les maladies génétiques dites orphelines car les études de liaison génétique sont souvent très limitées ou impossibles du fait de la petite taille des familles ou de l'hétérogénéité génétique. C'est le cas des maladies mitochondriales, qui, bien que relativement fréquentes (1/10000 naissances environ) [1], sont extrêmement hétérogènes tant sur le plan clinique que génétique. On ne connaît pas encore tous les gènes codant pour des protéines mitochondriales chez l'homme, mais on peut estimer qu'il en existe plusieurs centaines. On ne s'étonne donc pas alors de rencontrer des maladies mitochondriales dues à des gènes « privés » [2]. Cette caractéristique rend l'identification des gènes responsables de ces maladies par liaison génétique extrêmement difficile et réalisable uniquement dans les familles de grande taille.

Complémentation fonctionnelle par transfert de chromosome

Pour contourner cette difficulté, le groupe d'A. Munnich a élaboré une approche de complémentation fonctionnelle par transfert de chromosome [3]. Le principe de cette approche est d'introduire, dans des cellules issues de patients et mises en culture, en l'occurrence des fibroblastes, les différents chromosomes humains et d'observer les conséquences de ce transfert sur le phénotype des cellules. Les chromosomes humains sont porteurs d'un gène de sélection, le plus souvent codant pour une protéine de résistance à un antibiotique. Une correction du déficit enzymatique de la chaîne respiratoire dans les clones obtenus montrera que le chromosome introduit porte le gène qui est muté chez le patient. Les chromosomes humains sont obtenus par fragmentation de cellules hybrides stables homme-rongeur ne contenant

qu'un seul chromosome humain. Les *microcells* contenant ce chromosome sont ensuite fusionnées avec les fibroblastes de patients présentant un déficit de la chaîne respiratoire (Figure 1). Cette technique n'avait été utilisée auparavant qu'une seule fois avec succès

dans le domaine des maladies mitochondriales [4] et a été très améliorée par l'utilisation d'un milieu sélectif dans lequel les cellules déficientes meurent en quelques jours (→). Ce milieu, dépourvu de sucres, impose aux cellules de ne vivre que sur ce qui est produit par leur chaîne respiratoire et permet une discrimination rapide de l'efficacité de la complémentation sur la fonction mitochondriale. Ainsi, seules survivront les cellules qui auront intégré le chromosome normal portant le gène dont l'anomalie est, dans les cellules du patient, responsable du déficit, sans qu'il y ait besoin d'appliquer une sélection par un antibiotique. La seule présence d'un clone permet d'identifier le chromosome en cause et l'étude biochimique de ce clone ne fait que confirmer qu'il y a bien eu correction du déficit.

Inserm U.393, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149, rue de Sèvres, 75015 Paris, France.

(→) m/s
1999, n° 3,
p. 409