

ANNEXE XVIII LES LAMINOPATHIES

Plus de 10 maladies héréditaires sont dues à des altérations de la lamina. Toutes les laminopathies ont des manifestations cliniques graves, mais moins désastreuses que celles qui s'observent chez les patients souffrant de progérie juvénile. Ces diverses maladies résultent de mutations dans le gène de la lamine* A ou dans celui de la protéase *ZMSTE24***.

XVIII.A. STRUCTURE DES LAMINES

Les lamines appartiennent à la famille des protéines qui constituent les filaments intermédiaires. Chez l'homme, il en existe quatre types différents (A, B1, B2 et C), spécifiées par trois gènes (*LMNA*, *LMNB1* et *LMNB2*). Les lamines A et C sont toutes deux produites par le gène *LMNA*** Contrairement aux autres protéines de la même famille, les lamines portent un signal d'adressage nucléaire (*fig. XVIII.A*).

Les lamines B1 et B2 sont présentes dans toutes les cellules, tandis que les lamines A et C ne le sont que dans les cellules en cours de différenciation ou différenciées, et notamment dans celles de la peau, du système nerveux, des muscles squelettiques, du cœur, du tissu adipeux et des os.

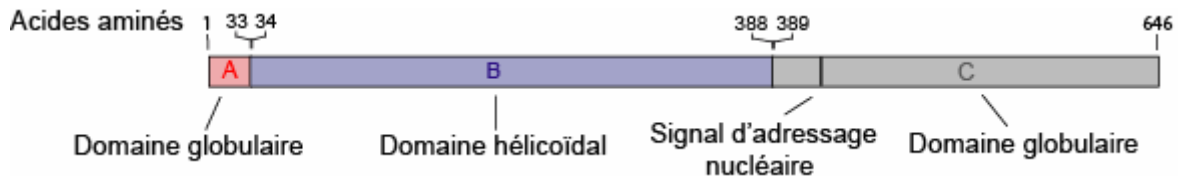


Fig. XVIII.A. Structure de la lamine A.

La protéine comporte 646 acides aminés, répartis en trois domaines principaux. Les domaines **A** et **C** ont une conformation globulaire, tandis que le domaine médian a la forme d'un bâtonnet rigide (*rod*). Le domaine **B** contient un site de liaison à la chromatine et le domaine **C** un signal de localisation nucléaire. Le dernier acide aminé de la protéine mature porte un groupement farnésyle, comportant 15 atomes de carbone.

XVIII.B. SYNTHÈSE DES LAMINES A ET C

Le gène *LMNA* est situé sur le bras court du chromosome 1. Il couvre environ 24 kb et comporte 12 exons, séparés par 11 introns. L'exon 1 spécifie les acides aminés 1 à 119, qui forment le premier domaine globulaire et une partie du domaine hélicoïdal (*fig. XVIII.A*). L'exon 7 et les suivants spécifient la région de la protéine qui constitue le second domaine globulaire.

Les lamines A et C sont synthétisées grâce à un mécanisme de maturation différentielle de l'ARN pré-messager *LMNA* (*annexe XV*). Elles sont produites en quantités à peu près égales (*fig. XVIII.B*).

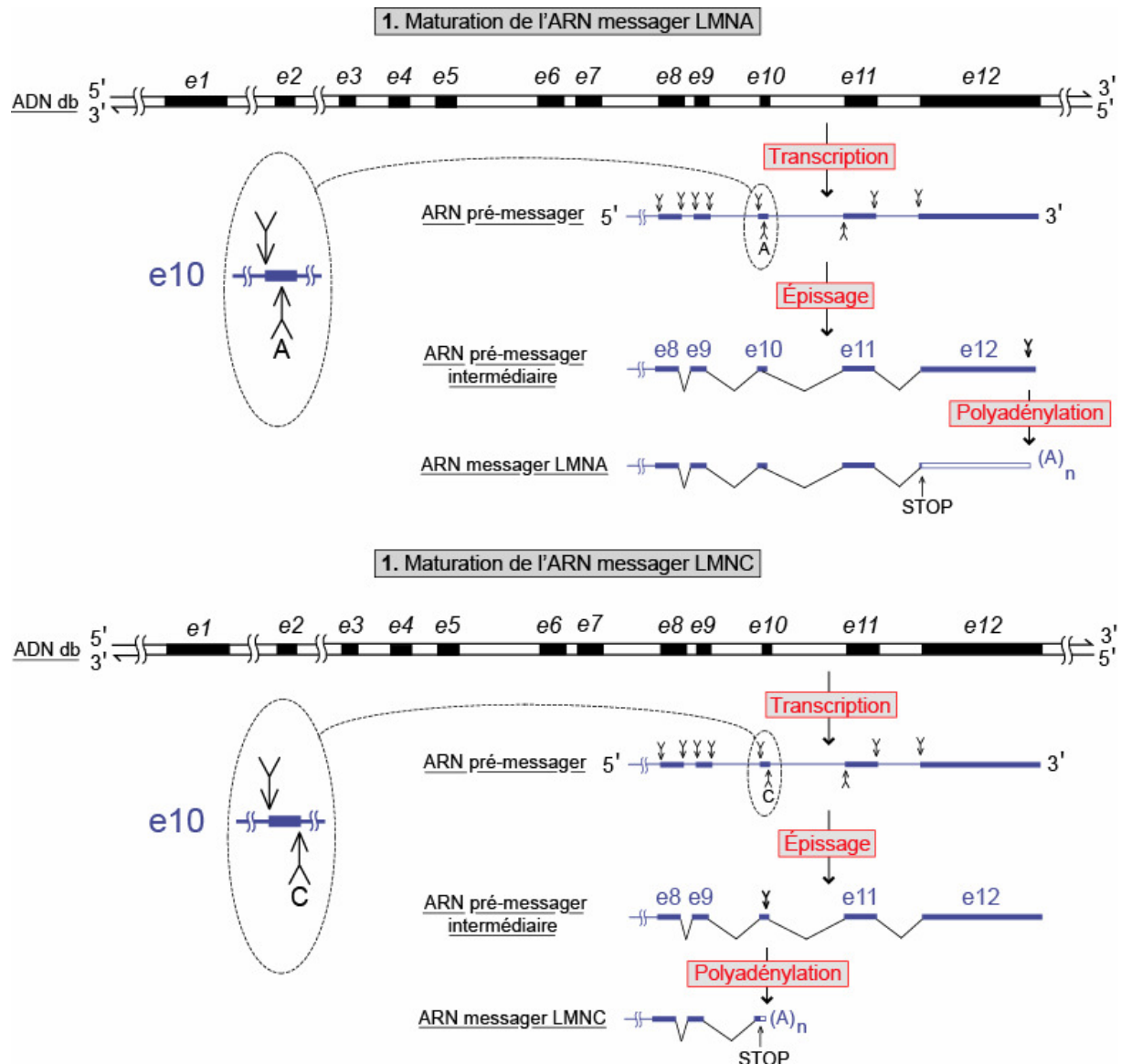


Fig. XVIII.B. Maturation différentielle de l'ARN pré-messager des lamines A et C.

Le produit primaire du gène *LMNA* donne naissance à deux ARN messagers de longueur différente, parce qu'un épissage différentiel a lieu dans l'exon 10.

1. L'épissage de type A inclut dans l'ARN messenger tous les exons de, sauf la partie 3'-terminale de l'exon n°10, qui est éliminée. L'exon 12 contient un signal de polyadénylation proche de son extrémité 3' et un signal STOP qui arrête la traduction à son début.

2. L'épissage de type C inclut tous les exons entiers. La partie 3'-terminale de l'exon 10 (manquante dans l'ARN de type A) contient un signal de polyadénylation qui provoque une coupure à la fin de cet exon, si bien que les exons 11 et 12 sont éliminés. Un signal STOP arrête la traduction à peu près au milieu de l'exon 10.

Comme l'exon 10 est raccordé à l'exon 11 à deux endroits différents, la séquence des deux ARN est identique jusqu'au site d'épissage A, après quoi elle diverge. De ce fait, la séquence des lamines A et C est la même sur presque toute leur longueur, mais diffère à partir de l'acide aminé n° 566. La lamine A nouvellement synthétisée comporte au total 664 acides aminés. La lamine C n'en comporte que 572.

Les rectangles foncés représentent dans les ARN messagers la phase ouverte de lecture, qui spécifie les acides aminés des lamines. Les rectangles clairs correspondent à la séquence qui n'est pas traduite.

La protéine spécifiée par l'ARN messager LMNA ne reste pas en l'état. Elle subit une maturation complexe, consistant pour l'essentiel à y fixer de manière transitoire un groupement farnésyle, très hydrophobe (*fig. XVIII.C*).

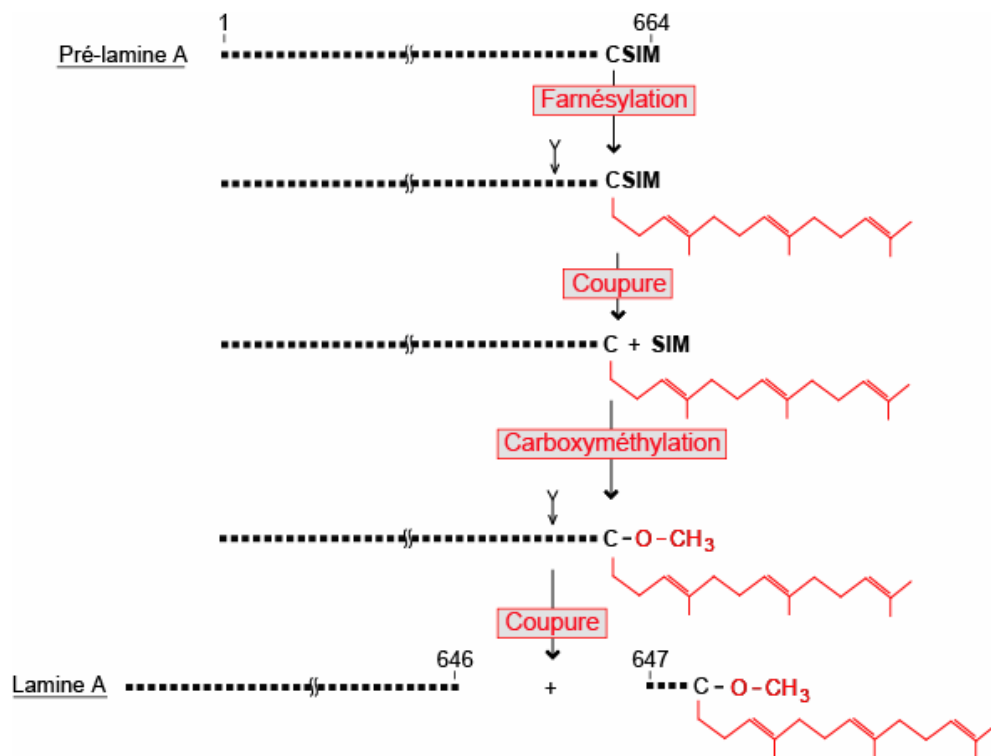


Fig. XVIII.C. Maturation de la pré-lamine A.

La protéine spécifiée par l'ARN LMNA se termine par la séquence CSIM (cystéine – sérine - isoleucine – méthionine), qui est un signal de reconnaissance pour la farnésyl transférase. Le remodelage de l'extrémité de la molécule fait en quatre étapes : **1**) fixation d'un groupement farnésyle à la cystéine (**C**) n° 661 ; **2**) élimination des acides aminés n° 662 à 664 par la protéase ZMSTE24 ; **3**) fixation d'un groupement carboxyméthyle sur la cystéine terminale ; **4**) élimination des 15 derniers acides aminés par la protéase ZMSTE24. Au total, la maturation raccourcit la protéine de 18 aa.

XVIII.C. STRUCTURE ET FONCTIONS DE LA LAMINA

Les lamines A, B et C forment une sorte de toile à mailles carrées, appelée lamina*, qui tapisse la face interne de l'enveloppe nucléaire (*fig. XVIII.D*). Les fils de la toile ont un diamètre d'environ 10 nm. Les molécules individuelles de lamine s'enroulent l'une autour de l'autre de façon parallèle, c'est-à-dire suivant la même orientation, pour former des dimères. Ces derniers s'unissent à leur tour deux par deux pour construire des protofilaments antiparallèles. Un faisceau de huit protofilaments constitue le fil de la toile.

La lamina contribue à rigidifier l'enveloppe nucléaire. Elle est extensible, mais oppose une certaine résistance à la compression. Mais son rôle n'est pas uniquement structural. Elle contrôle dans une certaine mesure la rotation du cycle cellulaire en interférant avec la fonction de la protéine RB** par l'intermédiaire de la protéine Lap2 α ** (*chapitre 2, section 2.8.3*). La lamina contrôle aussi l'expression de nombreux gènes, parce qu'elle interagit avec la chromatine. Les produits de ces gènes gouvernent, non seulement la sénescence cellulaire (*chapitre 2, section 2.8.2 et chapitre 6, section 6.1*), mais aussi la lipogenèse* et l'adipogenèse*, du fait que le facteur SREBP1**, qui contrôle ces deux processus (*annexe XXII.G*), porte un site d'interaction avec le second domaine globulaire de la lamine A.

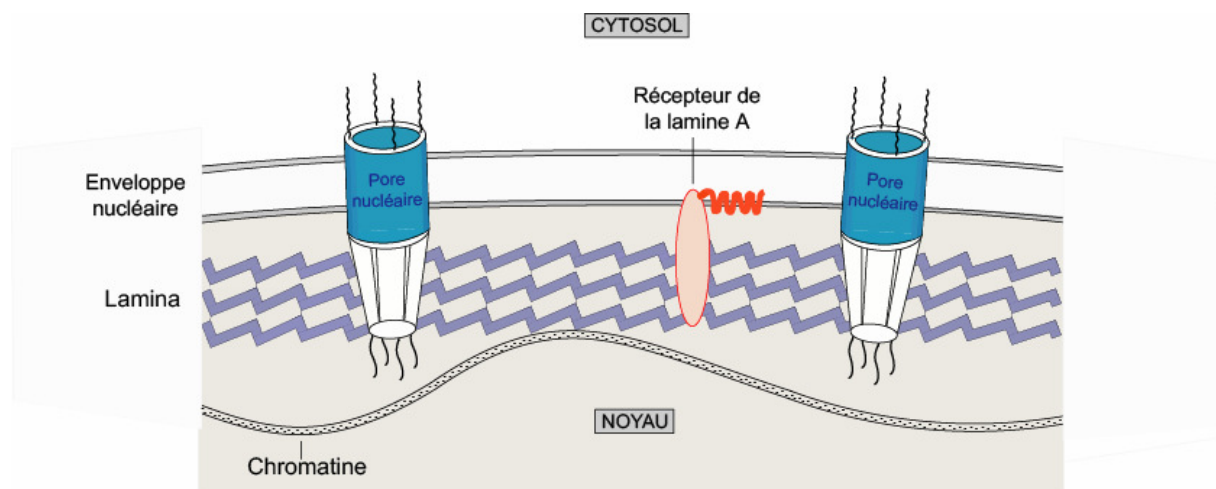


Fig. XVIII.D. Structure de l'enveloppe nucléaire des cellules eucaryotes.

L'enveloppe nucléaire est formée par une double membrane percée de pores, par où transitent toutes sortes de molécules et de macromolécules (ARN, ribosomes, protéines). La membrane externe est en continuité avec celle du réticulum endoplasmique. La membrane interne est ancrée à la lamina par différentes protéines, et en particulier par le récepteur de la lamine A, dont l'extrémité hydrophobe est intégrée à la membrane. La lamina est elle-même liée à la chromatine, du fait que les lamines possèdent des sites de fixation aux histones* de cœur (H2A, H2B, H3 et H4). Plusieurs protéines renforcent les liens entre la chromatine et la lamina. Celle-ci retient également l'ARN polymérase* II, divers facteurs d'épissage, ainsi que plusieurs facteurs de transcription*, tels que RB.

(D'après Capell BC et Collins FS. *Nature Rev Genet* 2006; 7: 940-52, simplifié).

XVIII.D. CAUSE DE LA MALADIE DE HUTCHINSON-GILFORD

La plupart des patients progériques portent une mutation ponctuelle qui semble à première vue inoffensive. Cette mutation n'altère pas la séquence de la lamine A, mais perturbe la maturation du produit primaire du gène *LMNA* et de la protéine correspondante, qui ne peut pas se débarrasser du groupement farnésyle fixé sur elle auparavant (*fig. XVIII.E*). La mutation ne modifie pas la structure de la lamine C, parce qu'elle a lieu dans l'exon n° 11, qui est éliminé dans l'ARN messager court. Selon toute probabilité, la persistance du groupement farnésyle sur la protéine mutante est à l'origine des anomalies structurales observées au niveau de la lamina et des problèmes de santé dont souffrent les malades (*chapitre 2, section 2.8.2*).

Dans les cellules en interphase, la lamine anormale se concentre en périphérie du noyau, au lieu de se distribuer aussi à l'intérieur, car elle ne peut pas se détacher de l'enveloppe nucléaire, du fait qu'elle reste ancrée par son extrémité hydrophobe à la membrane interne (*fig. XVIII.D*). L'enveloppe nucléaire ballonne parce que les propriétés mécaniques de la lamina sont altérées. L'épanchement de la chromatine dans le cytoplasme s'expliquerait par une perméabilité accrue des pores nucléaires. Ces derniers ont tendance à former des agrégats, au lieu de se répartir régulièrement sur tout le pourtour du noyau.

Pendant la mitose, la lamine mutée se comporte de manière anormale. Au lieu de se distribuer de manière diffuse dans toute la cellule après que l'enveloppe nucléaire a disparu, elle reste associée aux membranes des vésicules cytoplasmiques. Vers la fin de la division, elle ne s'agrège pas aux chromosomes, comme elle devrait le faire. Ces derniers ne se séparent pas correctement et de nombreuses cellules deviennent binucléées.

On comprend moins bien comment la mutation perturbe le métabolisme du cholestérol, dont l'accumulation dans les artères provoque l'athérosclérose* qui est responsable de la mort prématurée de la plupart des patients.

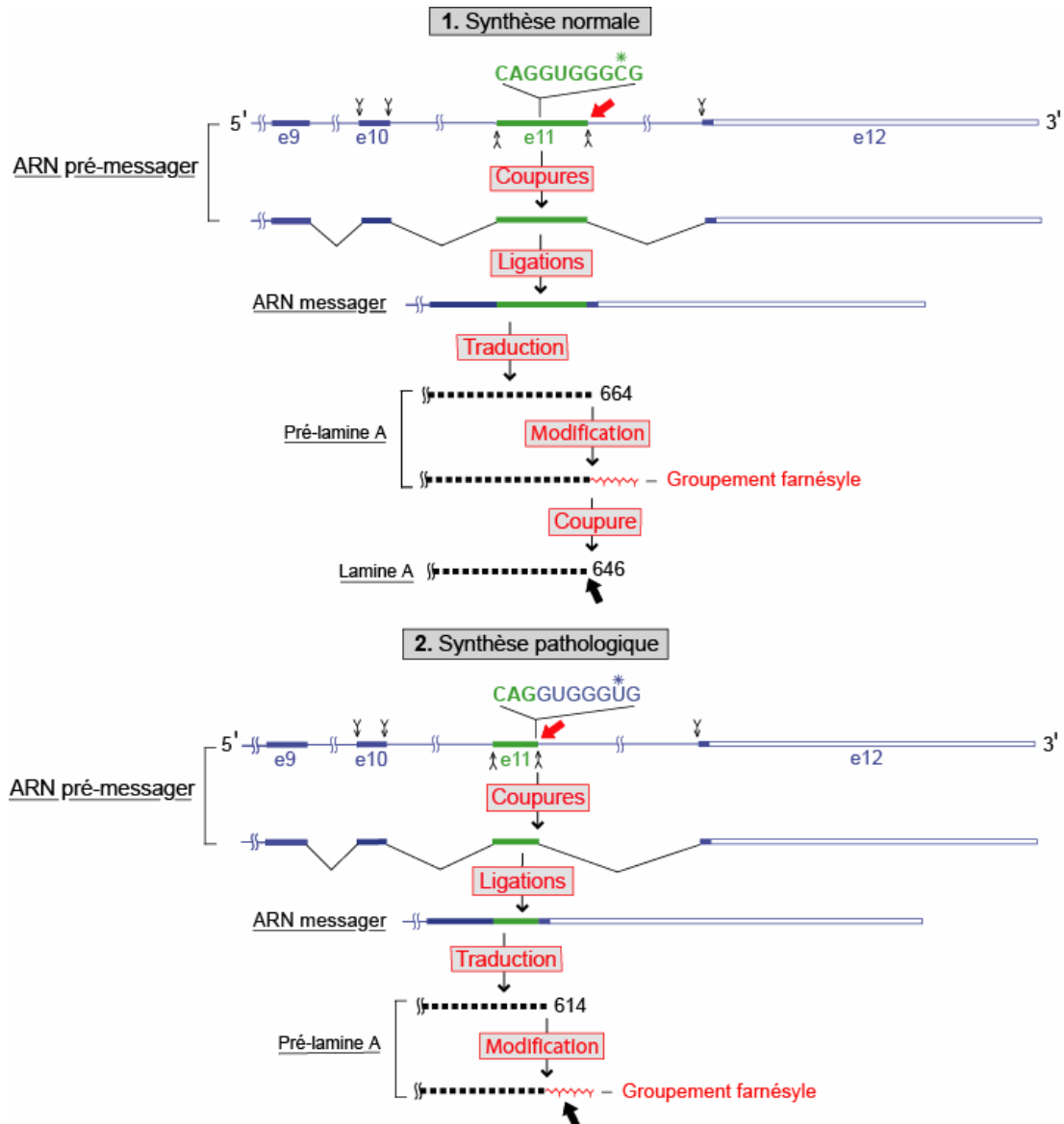


Fig. XVIII.E. Cause présumée du syndrome de Hutchinson-Gilford.

La plupart des patients progériques portent une mutation dans l'exon 11 du gène *LMNA*.

1. L'exon 11 du produit primaire du gène normal contient une séquence de neuf bases (CAGUGGGC), qui ressemble à l'une des séquences consensus encadrant le site d'épissage en 3' des introns (CAGUGAGU). Cette séquence n'est pas reconnue par le système d'épissage, qui coupe l'ARN à quelque 150 bases en aval, si bien que la totalité de l'exon 11 est incluse dans l'ARN messenger. Celui-ci est traduit en une protéine de 664 acides aminés, qui subit ensuite une série de modifications (fig. XVIII.C), consistant pour l'essentiel à fixer de manière transitoire un groupement farnésyle sur une cystéine subterminale.

2. Dans l'exon n° 11, une seule base (C) est remplacée par une autre (U). Cela ne devrait pas changer la structure de la lamine, car le codon normal (GGC) et le codon muté (GGU) spécifient le même acide aminé (la glycine). Mais la substitution crée une séquence consensus d'épissage presque parfaite (CAGUGGGU). La maturation de l'ARN pré-messager s'en trouve modifiée : la partie 3' terminale de l'exon n° 11 est traitée comme un intron, ce qui raccourcit l'ARN messenger de 150 bases, et la protéine de 50 acides aminés. Le groupement farnésyle fixé sur la protéine naissante ne peut pas être éliminé, parce que le site de reconnaissance de l'enzyme chargé de cette mission (la protéase ZMSTE24) se trouve dans la région manquante de la protéine.

Il faut noter que dans les cellules des malades, l'épissage anormal ne concerne qu'une partie de l'ARN pré-messager *LMNA*, si bien que la forme longue et la forme courte de la protéine sont synthétisées en permanence.

XVIII.E. AUTRES FORMES DE LAMINOPATHIE

Toutes les laminopathies ne sont pas dues à des mutations récurrentes, comme c'est le cas pour le syndrome de Hutchinson-Gilford, mais se transmettent dans certaines familles comme des caractères dominants ou récessifs.

Au total, près de 200 mutations ont été recensées dans les gènes des lamines. Elles entraînent toutes sortes d'anomalies, qui affectent surtout les dérivés du mésoderme, tels que les muscles et le tissu adipeux. Ces perturbations pourraient être dues à un défaut dans la différenciation du mésoderme. Il se fait que la protéine RB, qui interagit avec la lamina (*fig. XVIII.D*), intervient dans ce processus, en faisant pencher d'un côté ou de l'autre l'équilibre entre prolifération et différenciation. Les myopathies prédominent dans cinq syndromes différents. Le cœur des patients souffre de troubles du rythme ; les muscles squelettiques manquent de force et s'affaiblissent rapidement avec l'âge. Deux autres syndromes se manifestent par des perturbations dans l'adipogenèse et la lipogenèse. Ces dysfonctionnements peuvent être attribués à une interaction incorrecte entre la lamina et le facteur SREBP1**.

XVIII.F. MODÈLES MURINS DE LAMINOPATHIE

Afin de mieux comprendre les causes des divers types de laminopathies humaines, on a supprimé ou modifié chez la souris les gènes *Imna* ou *zmste24*.

Les souris hétérozygotes *Imna*^{+/-} sont normales. Les homozygotes sont viables, mais meurent sept à huit semaines après la naissance, en présentant plusieurs symptômes caractéristiques de diverses formes de laminopathie, telles qu'une faiblesse musculaire et une dilatation du cœur. Il faut en conclure que les lamines A et C ne sont pas indispensables au cours du développement embryonnaire et que leurs fonctions peuvent être prises en charge par les lamines B.

On a également créé des souris dont le génotype ressemble celui des patients progériques, en remplaçant un ou les deux gènes *Imna* par un gène manipulé in vitro (*Imna*^{HG}), de manière à supprimer la partie 3'-terminale de l'exon 11, si bien que la protéine est raccourcie et conserve son groupement farnésyle (*fig. XVIII. E*). Les animaux hétérozygotes *Imna*^{+/^{HG}} présentent des symptômes assez semblables à ceux qui caractérisent le syndrome de Hutchinson-Gilford : retard de croissance, perte des poils, fractures osseuses. Les homozygotes *Imna*^{HG/^{HG}} meurent vers l'âge de trois à quatre semaines. Ils restent petits et sont totalement dépourvus de tissu adipeux.

L'inactivation des deux allèles du gène *zmste24* n'empêche pas les souris de vivre. Mais les mutants souffrent des diverses anomalies : retard de croissance, perte des poils, fractures osseuses et réduction de la force musculaire.

BIBLIOGRAPHIE

- Cao C, Capell BC, Erdos MR, Djabali K, Collins FS. A lamin A isoform overexpressed in Hutchinson-Gilford progeria syndrome interferes with mitosis in progeria and normal cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **2007**; **104**: 4949-54.
- Capell BC, Collins FS. Human laminopathies: nuclei gone genetically awry. *Nature Rev Genet* 2006; **7**: 940-52.
- Lin, F, Worman HJ. Structural organization of the human gene encoding nuclear lamin A and nuclear lamin C. *J Biol Chem* 1993; **268**: 16321-6.
- De Sandre-Giovannoli A, Bernard R, Cau P, Navarro C *et al.* Lamin A truncation in Hutchinson-Gilford progeria. *Science* 2003; **300**: 2055.
- Eriksson M, Brown WT, Gordon LB, Glynn MW *et al.* Recurrent *de novo* point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature* 2003; **423**: 293-8.
- Fong LG, Frost D, Meta M, Qiao X *et al.* A protein farnesyl transferase inhibitor ameliorates disease in a mouse model of Progeria. *Science* 2006; **311**: 1621-3.
- Goldman RD, Shumaker DK, Erdos MR, Eriksson *et al.* Accumulation of mutant lamin A causes progressive changes in nuclear architecture in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Proc Natl Acad USA* 2004; **101**: 8963-8.
- Hutchinson CJ, Worman HJ. A-type lamins: Guardians of the soma? *Nature Cell Biol* 2004; **6**: 1062-7.
- Scaffidi P, Misteli T. Lamin A-dependent nuclear defects in human aging. *Science* 2006; **312**: 1059-61.
- Stuurman N, Heins S, Aebi U. Nuclear lamins: their structure, assembly, and interactions. *J Struct Biol* 1998; **122**: 42-66.
- Varela I, Cafiñanos J, Pendás AM, Gutiérrez-Fernández *et al.* Accelerated ageing in mice deficient in Zmpste24 peptidase is linked to p53 signalling activation. *Nature* 2005; **437**: 564-8.