



ultérieure par *M. ulcerans*. La protection conférée aux souris par les piqûres d'insectes non infectés est associée à la production d'anticorps réagissant contre les protéines salivaires de *naucoris*, protéines qui entourent *M. ulcerans* pendant son séjour dans les glandes salivaires, et sont transmises avec le parasite lors de la piqûre. Ainsi, le parasite serait une cible « innocente » de cette réaction immune qui n'est pas dirigée directement contre lui [9]. Le même mécanisme protecteur surviendrait chez l'homme, puisqu'une analyse sérologique mesurant les immunoglobulines G reconnaissant des constituants du suc salivaire des punaises, réalisée en zone endémique, a montré chez les patients présentant des lésions à *M. ulcerans* un taux d'IgG inférieur à celui de sujets exposés aux piqûres des insectes mais sans lésion [6]. Ces observations rappellent l'immunité protectrice conférée par une exposition préalable aux protéines salivaires des tiques et des phlébotomes vecteurs des micro-organismes responsables de la leishmaniose ou de la maladie de Lyme. Mais, pour ces deux cas, les arthropodes incriminés sont hématophages contrairement aux punaises aquatiques qui sont

des carnivores. Les conséquences de ces observations sont importantes non seulement parce qu'elles identifient une signature immunitaire utile aux études épidémiologiques et à un dépistage précoce de l'ulcère de Buruli, mais aussi parce qu'elles constituent une première étape vers une meilleure compréhension de l'immunité contre cette maladie, une meilleure caractérisation des molécules salivaires liant *M. ulcerans* pouvant éventuellement conduire à envisager une approche vaccinale. ♦

### Aquatic insects and transmission of *Mycobacterium ulcerans*

#### REMERCIEMENTS

Ces travaux ont reçus le soutien de la Fondation Raoul Follereau, de l'université et CHU d'Angers, l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm), de l'Institut Pasteur et de ses réseaux (PTR 212).

#### RÉFÉRENCES

- George KM, Chatterjee D, Gunawardana G, et al. Mycolactone: a polyketide toxin from *Mycobacterium ulcerans* required for virulence. *Science* 1999; 283 : 854-7.
- Étuaful S, Carbone B, Grosset J, et al. Efficacy of the combination rifampin-streptomycin in preventing growth of *Mycobacterium ulcerans* in early lesions of Buruli ulcer in humans. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49 : 3182-6.
- Aiga H, Amano T, Cairncross S, et al. Assessing water-related risk factors for Buruli ulcer: a case-control study in Ghana. *Am J Trop Med Hyg* 2004; 71 : 387-92.
- Portaels F, Aguiar J, Debacker M, et al. *Mycobacterium bovis* BCG vaccination as prophylaxis against *Mycobacterium ulcerans* osteomyelitis in Buruli ulcer disease. *Infect Immun* 2004; 72 : 62-5.
- Torrado E, Fraga AG, Castro AG, et al. Evidence for an intramacrophage growth phase of *Mycobacterium ulcerans*. *Infect Immun* 2007; 75 : 977-87.
- Torrado E, Adusumilli S, Fraga AG, et al. Mycolactone-mediated inhibition of TNF production by macrophages infected with *Mycobacterium ulcerans* has implications for the control of infection. *Infect Immun* 2007; 21 mai online.
- Marsollier L, R. Robert, Aubry J, et al. Aquatic insects as a vector for *Mycobacterium ulcerans*. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68 : 4623-8.
- Marsollier L, Aubry J, Coutanceau E, et al. Colonization of the salivary glands of *Naucoris cimicoides* by *Mycobacterium ulcerans* requires host plasmatocytes and a macrolide toxin, mycolactone. *Cell Microbiol* 2005; 7 : 935-43.
- Marsollier L, Andre J P, Frigui W, et al. Early trafficking events of *Mycobacterium ulcerans* within *Naucoris cimicoides*. *Cell Microbiol* 2007; 9 : 347-55.
- Marsollier L, Stinear T, Aubry J, et al. Aquatic plants stimulate the growth of and biofilm formation by *Mycobacterium ulcerans* in axenic culture and harbor these bacteria in the environment. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70 : 1097-103.
- Marsollier L, Brodin P, Jackson M, et al. Impact of *Mycobacterium ulcerans* biofilm on transmissibility to ecological niches and Buruli ulcer pathogenesis. *PLoS Pathog* 2007; 3 : e62.
- Marsollier L, Severin T, Aubry J, et al. Aquatic snails, passive hosts of *Mycobacterium ulcerans*. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70 : 6296-8.
- Marsollier L, Deniaux E, Brodin P, et al. Protection against *Mycobacterium ulcerans* lesion development by exposure to aquatic insect saliva. *PLoS Med* 2007; 4 : 288-95.

## NOUVELLE

### Neutral lipid storage diseases et déficits en ATGL (adipose triglycérade lipase) et CGI-58/ABHD5 ( $\alpha$ - $\beta$ hydrolase domain-containing 5) : myopathie, ichtyose, mais pas d'obésité

Judith Fischer, Anne Negre-Salvayre, Robert Salvayre

> Dans les cellules eucaryotes, les réserves énergétiques sont constituées par des lipides (triglycérades ou triacylglycérols) et des polysaccharides (glycogène chez les animaux et amidon chez les plantes).

Chez les animaux, les triglycérades (triesters d'acides gras et de glycérol) constituent la principale réserve énergétique de l'organisme. Ces triglycérades peuvent être stockés sous forme de gouttelettes

J. Fischer : CNG, Centre National de Génotypage, 2, rue Gaston-Crémieux CP 5721, 91057 Évry Cedex, France.  
A. Negre-Salvayre, R. Salvayre : Inserm U466, Université Paul Sabatier, IFR-31, CHU Rangueil, 1, avenue du Pr-Jean-Poulhès TSA 50032, 31059 Toulouse Cedex, France.  
[fischer@cng.fr](mailto:fischer@cng.fr)  
[salvayre@toulouse.inserm.fr](mailto:salvayre@toulouse.inserm.fr)

lipidiques cytoplasmiques (*lipid droplets*, formées de triglycérades et d'esters de cholestérol) dans les adipocytes, mais aussi dans toutes les cellules de l'organisme.

Les triglycérides cytoplasmiques sont synthétisés par chaque cellule à partir d'acides gras exogènes (d'origine alimentaire, ou hépatique, et transportés par des lipoprotéines qui libèrent les acides

gras lors de leur lipolyse), et endogènes (biosynthétisés par les cellules). Cette biosynthèse se fait à partir d'acyl-CoA et de sn-glycérol-3-phosphate qui donnent du 1,2-diacylglycérol-3-phosphate

servant à la synthèse de phospholipides et des triacylglycérols. Ces triglycérides des réserves peuvent être dégradés par divers types de lipases qui hydrolysent des liaisons esters et libèrent progressivement les acides gras [1, 2]. Ceux-ci peuvent être utilisés par la cellule elle-même, pour la production énergétique, ou pour la synthèse de lipides complexes membranaires. Ils peuvent en outre être libérés par la cellule (c'est le cas du tissu adipeux) et transportés par le sang (par l'albumine principalement) vers d'autres cellules utilisatrices (Figure 1).

Plusieurs maladies génétiques rares sont associées à des accumulations de lipides neutres cellulaires (sous forme de gouttelettes lipidiques cytoplasmiques ou dans les lysosomes) [1], et sont dues soit à un déficit en lipase, soit au stockage d'acides gras excédentaires (Figure 2).

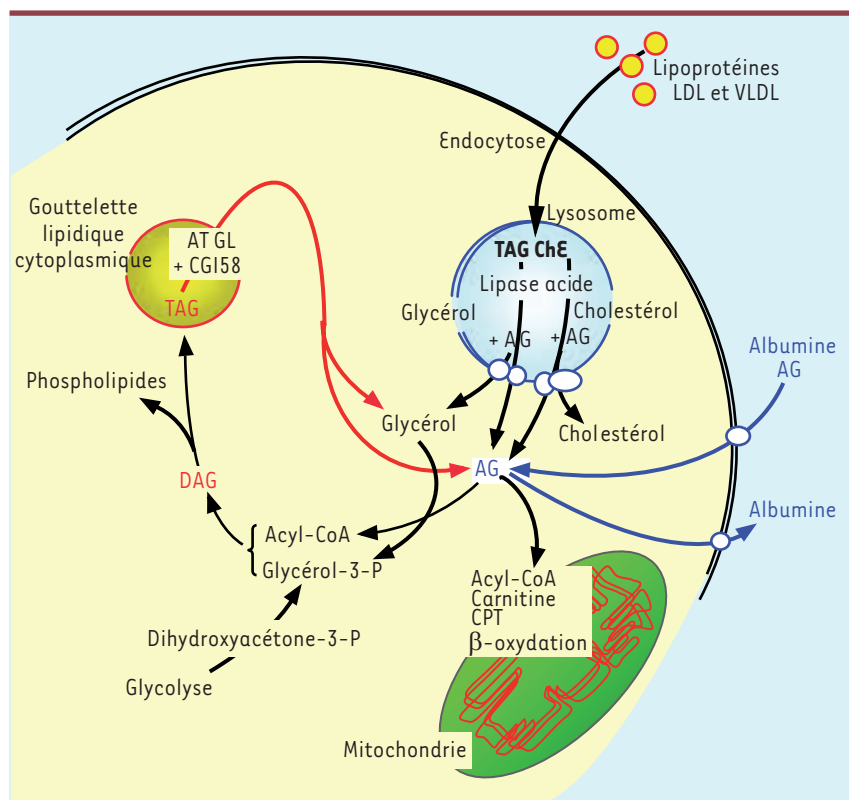
- Le déficit en lipase acide lysosomale (codée par le gène *LIPA*, localisé en 10q23.2-q23.3) provoque une accumulation de triglycérides et d'esters de cholestérol dans les lysosomes de tissus de patients atteints soit de maladie de Wolman (OMIM 278000), forme grave rapidement mortelle chez l'enfant, soit de CESD (*cholesterol ester storage disease*) évoluant plus lentement et compatible avec une survie prolongée jusqu'à un âge adulte avancé (la gravité de la maladie est corrélée à la sévérité du déficit fonctionnel de la lipase acide).

- Diverses maladies avec déficit mitochondrial du métabolisme des acides gras (déficit systémique en carnitine (gène *SLC22A5*, localisé en 5q31.1 - OMIM 603377 et 212140), déficit en carnitine musculaire (OMIM 212160), déficit en carnitine-palmitoyl transférase II (*CPT2* localisé en 1p32, OMIM 600650), déficit en enzymes de dégradation des acides gras ou de la chaîne respiratoire entre autre...) associent une symptomatologie musculaire, neurologique... souvent grave, et une accumulation de triglycérides cytoplasmiques (mais sans ichtyose).

- Enfin des déficits de dégradation des triglycérides cytoplasmiques peuvent aboutir à une accumulation de triglycé-

	Fréquence des symptômes %		
	NLSDM	NLSDI/CDS	
<b>Accumulation de triglycérides (neutral lipid storage)*</b>			
• Leucocytes (anomalie de Jordans)*	100	100	
• Muscle et divers tissus*	100	100	
<b>Symptômes cliniques</b>			
• Icthyose**	0	100	
• Myopathie modérée*	• clinique	100	55-60
	• enzymes* <sup>1</sup>	100	88-100
• Cardiomyopathie	• clinique	33	ni
	• ECG <sup>2</sup>	66	ni
• Foie	• hépatomégalie	50	50
	• enzymes* <sup>1</sup>	100	100
• Retard de la marche	66	ni	
• Retard mental modéré	33	40	
• Symptômes ophtalmologiques	0	60	
• Surdité	0	40	
• Retard de croissance et petite taille	66	25	
• Microcéphalie	0	15	
• Splénomégalie	0	24	
• Diabète	33	0	
• Pancréatite chronique	33	0	
• Symptômes intestinaux	33	9	
<b>Génétique**</b>			
• <i>ATGL</i>	muté	non muté	
• <i>CGI-58</i>	non muté	muté	
Biochimie	• accumulation de triglycérides*	100	100

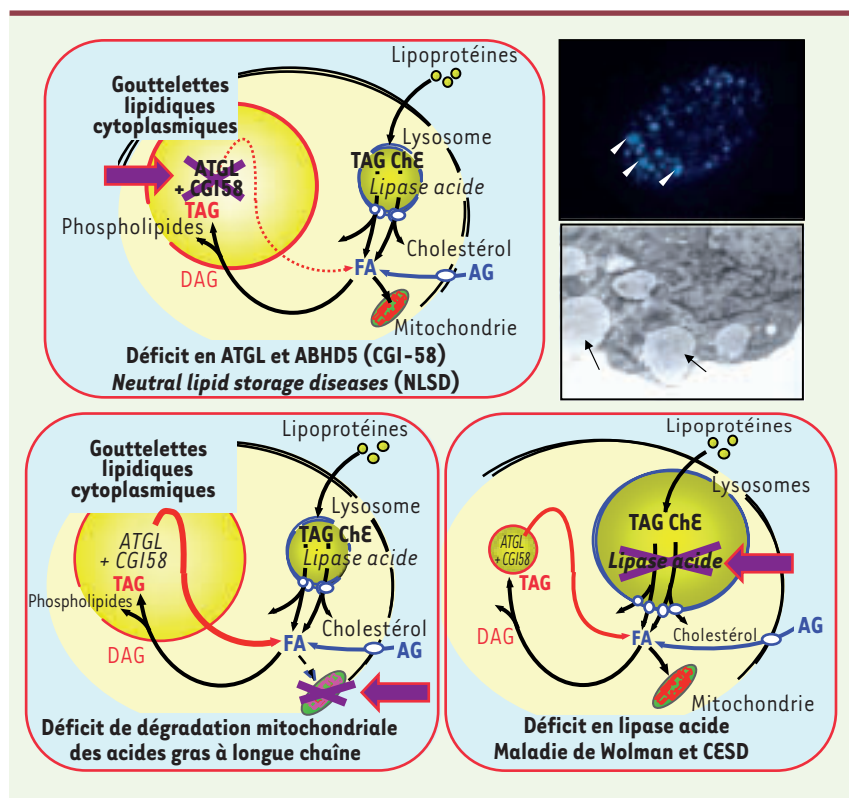
**Tableau 1. Phénotype des patients atteints de NLSM avec myopathie (NLSM) et de NLSM avec ichtyose (NLSM ou syndrome de Chanarin-Dorfman, CDS).** \* Symptômes les plus fréquents ou constants dans la NLSM (donc communs aux deux entités, NLSM et NLSDI). \*\* Symptôme (ichtyose) et génétique (anomalies génétiques, mutations dans la séquence) discriminants entre les 2 maladies. Ni : non indiqué. Nombre de cas bien identifiés et publiés : 3 cas de NLSM ; environ 50 cas de NLSDI/CDS. CGI-58 : comparative gene identification 58 = ABHD5 ( $\alpha$ - $\beta$  hydrolase domain-containing 5). ATGL : adipose triglycéride lipase. <sup>1</sup> Enzymes anormales (muscle [CPK] et foie [SGOT, SGPT,  $\gamma$ -GT, LDH, AP]). <sup>2</sup> Anomalies de l'électroencéphalographie, divers.



**Figure 1. Compartiments métaboliques cellulaires des triglycérides (TAG) et des acides gras (AG) [1].**

Les lysosomes représentent un premier compartiment : les lipoprotéines (LDL, VLDL) internalisées par la voie des récepteurs apoB/E et l'endocytose clathrine-dépendante sont adressées vers les lysosomes où la lipase acide lysosomale dégrade les triglycérides et les esters de cholestérol, en libérant glycérol, cholestérol et acides gras qui sont ensuite transférés dans le cytoplasme. Les gouttelettes lipidiques cytoplasmiques constituent l'autre compartiment subcellulaire contenant des triglycérides qui sont dégradés par l'ATGL qui est ubiquitaire et activée par CGI-58 [2, 8, 9]. À noter que dans le tissu adipeux, la lipase hormono-sensible joue également un rôle majeur dans la dégradation des triglycérides cytoplasmiques [2]. Les acides gras cytoplasmiques proviennent de plusieurs sources : de la captation des acides gras libres extracellulaires (transportés par l'albumine), et de la lipolyse des lipides cellulaires. Ces acides gras libres cellulaires peuvent être libérés dans le milieu extracellulaire ou bien être convertis

en acyl-CoA pour être utilisés pour la production énergétique dans la mitochondrie ou pour synthétiser des lipides cellulaires, lipides complexes membranaires (phospholipides et sphingolipides) et triglycérides stockés dans les gouttelettes lipidiques cytoplasmiques).



**Figure 2. Mécanismes physiopathologiques et compartiments subcellulaires d'accumulation des triglycérides (TAG).**

Dans les NLSM (en haut) et dans des déficits d'utilisation mitochondriale des acides gras (en bas à gauche), les lipides sont localisés dans des gouttelettes lipidiques cytoplasmiques (visibles en microscopie à fluorescence dans des cellules de NLSM cultivées en présence d'acides gras fluorescents sous forme de compartiments, et en microscopie électronique à transmission) (en haut à droite). Dans les déficits en lipase acide (maladie de Wolman et CESD), les triglycérides et des esters de cholestérol s'accumulent dans les lysosomes.

rides sous forme de gouttelettes lipidiques : ces maladies sont désignées sous le vocable de maladies de stockage de lipides neutres ou *neutral lipid storage disease* (NLSL).

Les NLSL constituent un groupe de maladies hétérogènes sur le plan clinique et génétique. La symptomatologie clinique comporte une ichtyose (inconstante), un syndrome myopathique, ainsi que d'autres signes inconstants (*Tableau I*). Elle s'accompagne toujours d'une accumulation multisystémique (dans la plupart des tissus de l'organisme) de triglycérides, en particulier dans les leucocytes qui contiennent des vacuoles lipidiques (anomalie de Jordans) [3]. Les tests biochimiques (après avoir exclu un déficit en carnitine et une pathologie mitochondriale comme le déficit de  $\beta$ -oxydation des acides gras à longue chaîne), montrent un déficit du catabolisme des triglycérides cytoplasmiques qui évoque un déficit du système de la lipase cytoplasmique [1].

Nous avons récemment identifié les gènes [4, 5] impliqués dans deux types de NLSL autosomiques récessives présentant des tableaux cliniques sensiblement différents et nommés NLSL avec ichtyose ou NLSL1) correspondant au syndrome de Chanarin-Dorfman [6, 7] et NLSL avec myopathie (NLSL2) [5]. Un premier gène nommé *PNPLA2* (localisé en 11p15.5 chez l'homme) code une lipase nommée *adipose triglyceride lipase* (ATGL) [5, 8], le second, *ABHD5*

ou *CGI-58* (localisé en 3p21) codant une protéine activatrice de l'ATGL [4, 9].

• NLSL avec ichtyose (NLSL1) et *ABHD5* (OMIM 275630 et 604780)

Nous avons proposé de réserver la dénomination NLSL avec ichtyose (NLSL1) ou syndrome de Chanarin-Dorfman (CDS) au sous-groupe de NLSL présentant une ichtyose associée à un cortège de symptômes recensés dans le *Tableau I*, et un déficit de dégradation des triglycérides cytoplasmiques. La NLSL1 est due à des mutations de *ABHD5/CGI-58* (sans mutation de *PNPLA2/ATGL*) [4, 5].

• NLSL avec myopathie (NLSL2) et *PNPLA2/ATGL* (OMIM 610717)

Pour un sous-groupe de 3 patients atteints de NLSL avec myopathie modérée (NLSL2), mais sans ichtyose et sans mutation de *ABHD5/CGI-58*, nous avons recherché des mutations de *PNPLA2* qui code l'ATGL, lipase exprimée dans tous les tissus et activée par CGI-58 [2, 8, 9]. Son déficit chez la souris induit une accumulation de triglycérides dans les muscles et la plupart des tissus, et une insuffisance cardiaque sévère [10]. L'analyse des mutations observées chez ces 3 patients par séquençage de la région codante et des jonctions exon-introns a révélé quatre mutations différentes [5]. Trois d'entre elles aboutissent à des protéines tronquées, avec perte du domaine hydrophobe de liaison aux lipides, mais avec

conservation du domaine « patatin » qui contient le site actif de la lipase. Ces anomalies structurales prédites sont cohérentes avec les propriétés de la lipase mutée qui conserve une activité enzymatique, mais est incapable de se lier aux gouttelettes de triglycérides. La conséquence est un déficit de dégradation des triglycérides cytoplasmiques, qui est mimé par des siARN dirigés contre l'ATGL [5].

Enfin, il est intéressant de constater qu'aucun des 3 cas de déficit en ATGL ne présente d'obésité. Ces données montrent que, chez l'homme, l'ATGL n'est pas indispensable pour la dégradation des triglycérides dans le tissu adipeux et qu'un déficit d'ATGL n'est probablement pas une cause d'obésité. ♦

### Neutral lipid storage diseases and ATGL (adipose triglyceride lipase) and CGI-58 deficiency: myopathy, ichthyosis, but no obesity

#### RÉFÉRENCES

1. Salvayre R, Negre A, Radom J, Douste-Blazy L. Independence of triacylglycerol-containing compartments in cultured fibroblasts from Wolman disease and multisystemic lipid storage myopathy. *FEBS Lett* 1989 ; 250 : 35-9.
2. Zechner R, Strauss JG, Haemmerle G, et al. Lipolysis pathway under construction. *Curr Opin Lipidol* 2005 ; 16 : 333-40.
3. Jordans GH. The familial occurrence of fat containing vacuoles in the leukocytes diagnosed in two brothers suffering from dystrophia musculorum progressiva (ERB.). *Acta Med Scand* 1953 ; 145 : 419-23.
4. Lefèvre C, Jobard F, Caux F, et al. Mutations in CGI-58, the gene encoding a new protein of the esterase/lipase/thioesterase subfamily, in Chanarin-Dorfman syndrome. *Am J Hum Genet* 2001 ; 69 : 1002-12.
5. Fischer J, Lefèvre C, Morava E, et al. The gene encoding adipose triglyceride lipase (PNPLA2) is mutated in neutral lipid storage disease with myopathy. *Nat Genet* 2007 ; 39 : 28-30.
6. Dorfman ML, Hersko C, Eisenberg S, Sagher F. Ichthyosiform dermatosis with systemic lipidosis. *Arch Dermatol* 1974 ; 110 : 261-6.
7. Chanarin I, Patel A, Slavin G, et al. Neutral-lipid storage disease: a new disorder of lipid metabolism. *Br Med J* 1975 ; 1 : 553-5.
8. Zimmermann R, Strauss JG, Haemmerle G, et al. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. *Science* 2004 ; 306 : 1383-6.
9. Lass A, Zimmermann R, Haemmerle G, et al. Adipose triglyceride lipase-mediated lipolysis of cellular fat stores is activated by CGI-58 and defective in Chanarin-Dorfman Syndrome. *Cell Metab* 2006 ; 3 : 309-19.
10. Haemmerle G, Lass A, Zimmermann R, et al. Defective lipolysis and altered energy metabolism in mice lacking adipose triglyceride lipase. *Science* 2006 ; 312 : 734-7.

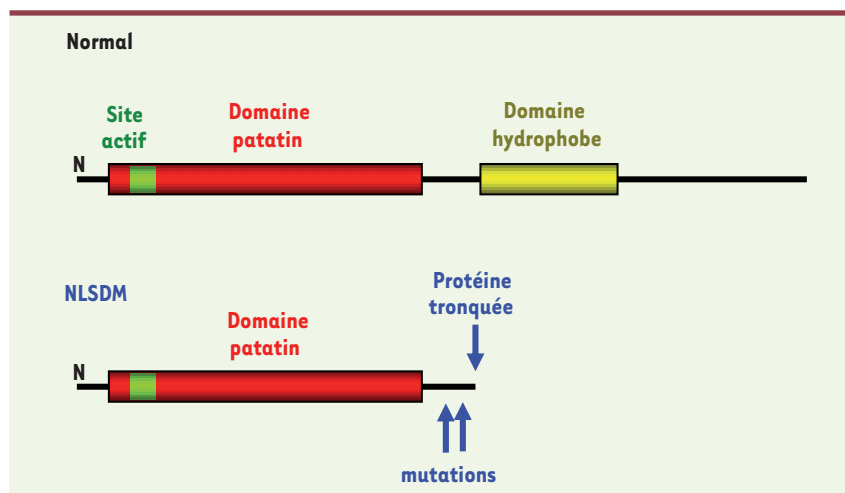


Figure 3. Domaines fonctionnels de la lipase *PNPLA2/ATGL* chez le sujet normal et les patients atteints de NLSL avec myopathie (NLSL2) [5].