



HAL
open science

Apport de la génétique à la pathogénie et au diagnostic de la maladie de Marfan

C Boileau, Gwenaëlle Collod-Bérout, D Bonnet

► **To cite this version:**

C Boileau, Gwenaëlle Collod-Bérout, D Bonnet. Apport de la génétique à la pathogénie et au diagnostic de la maladie de Marfan. Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux, 1997, pp.1707-12. hal-01662945v1

HAL Id: hal-01662945

<https://hal.science/hal-01662945v1>

Submitted on 13 Dec 2017 (v1), last revised 20 Dec 2017 (v2)

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Apport de la génétique à la pathogénie et au diagnostic de la maladie de Marfan

Summary

Genetic Input into the Pathophysiology and the Diagnosis of Marfan Syndrome.

C. Boileau* et ***, G. Collod* et D. Bonnet**

The anatomical substrate of Marfan's syndrome is a degeneration of elastic fibres and desorganisation of the collagen. It is now known that these lesions are due to mutation of genes localised on chromosome 15. The first of them (FBN1) codes for the main constitutive protein of the elastic tissue : fibrillin 1, present mainly in structures which must resist load and stress (aortic adventitia, the suspending ligament of the lens, skin) ; the second (FBN2) codes for fibrillin 2 : responsible for the orientation of the elastin and mainly present in cartilage, the aortic media, the bronchi, and all tissues rich in elastin. Mutations of FBN1 are very common and are associated not only with Marfan's syndrome but also fibrillinopathies : incomplete forms, neonatal forms, ectopic lens, isolated aneurysms of the thoracic aorta. The widespread distribution of fibrillin explains the pleiotropic nature of Marfan's syndrome and its clinical presentation. The variability of interfamilial expression is due to genetic heterogeneity (at least two genes) and allelic differences (different mutations of FBN1 from one family to another), also explaining mild forms due to quantitative reduction in normal fibrillin and severe forms by "negative dominance" where the fibrillin is structurally abnormal because of alteration of the polymerisation mechanism. The biologic diagnosis of fibrillinopathy can be made by a protein test analysing fibrillin on a culture of the patient's fibroblast obtained by skin biopsy. At present, molecular diagnosis of the mutation within the FBN1 gene is not feasible as a routine procedure. Arch Mal Cœur 1997 ; 90 : 1707-12.

Résumé

Le *substratum* anatomique de la maladie de Marfan est une dégénérescence des fibres élastiques avec désorganisation des fibres collagènes. On sait aujourd'hui que ces lésions sont liées à la mutation de gènes localisés sur le chromosome 15. L'un (FBN1) code pour la protéine constitutive majoritaire du tissu élastique : la fibrilline 1 qui est surtout présente dans les structures qui doivent résister à charge et tension (adventice aortique, ligament suspenseur du cristallin, peau) ; l'autre (FBN2) code pour la fibrilline 2, responsable de l'orientation de l'élastine et surtout présente dans le cartilage, la media aortique, les bronches, tous tissus très riches en élastine. Les mutations de FBN1 sont très nombreuses et sont associées non seulement à la maladie de Marfan mais à d'autres fibrillinopathies : formes incomplètes, formes néonatales, ectopie cristallinienne, anévrismes isolés de l'aorte thoracique. La répartition ubiquitaire de la fibrilline explique le pléiotropisme de la maladie de Marfan et permet d'en comprendre la sémiologie. La variabilité d'expression interfamiliale s'explique par l'hétérogénéité génétique (au moins deux gènes) et allélique (mutations différentes de FBN1 d'une famille à l'autre), d'où des formes modérées par réduction quantitative de fibrilline normale, et des formes graves par « dominance négative » où la fibrilline est structurellement anormale du fait d'une altération des mécanismes de polymérisation. Le diagnostic biologique de fibrillinopathie peut se faire par un test protéique qui étudie la fibrilline sur une culture de fibroblastes du patient recueillis par biopsie cutanée. Pour l'heure, le diagnostic moléculaire visant à identifier la mutation dans le gène FBN1 n'est pas réalisable en routine. Arch Mal Cœur 1997 ; 90 : 1707-12.

(*) INSERM U383, Université René Descartes-Paris V,

(**) Service de cardiologie pédiatrique, hôpital Necker-Enfants malades, 149, rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, (***) Laboratoire de biochimie et de génétique moléculaire, hôpital Ambroise-Paré, 9, avenue Charles-de-Gaulle, 92100 Boulogne.

(Tirés à part : Dr D. Bonnet).

Le défaut primitif responsable du syndrome de Marfan a longtemps été attribué à l'un des composants de la matrice extracellulaire et plus particulièrement les fibres de collagène ou d'élastine. Cette hypothèse

reposait notamment sur l'examen histologique de la paroi de l'aorte de proposants qui montre classiquement une dégénérescence puis une fragmentation et une raréfaction des fibres élastiques de la média.

De plus, la microscopie électronique montre aussi une désorganisation des fibres de collagène. Néanmoins, des études biochimiques classiques, complétées ensuite par des études génétiques, ont montré qu'il ne s'agissait que d'altérations secondaires à un défaut primitif inconnu. L'identification de ce défaut a été possible par la mise en œuvre de deux approches (l'une structurale, l'autre génétique) qui ont convergé et abouti au début de cette décennie. L'approche structurale a permis de mieux caractériser le réseau microfibrillaire, ensemble des fibres non striées de diamètre étroit souvent associées à l'élastine mais parfois réunies en faisceaux isolés. Le constituant majoritaire de ces microfibrilles est une grosse protéine très résistante appelée fibrilline [1]. Le gène codant pour cette protéine a été partiellement cloné et localisé chez l'homme sur le chromosome 15 en 1991 [2]. Quelques mois auparavant, l'approche génétique avait montré que le gène porteur de l'altération responsable du syndrome de Marfan (gène *MFS1*) était aussi localisé dans la même région du chromosome 15 [3]. L'identification des premières mutations de la fibrilline chez des porteurs Marfan a démontré de façon définitive qu'il s'agissait non pas d'une collagénopathie mais d'une « fibrillinopathie » [4].

GÈNE DE LA FIBRILLINE-1 ET STRUCTURE PRIMAIRE DÉDUITE DE LA PROTÉINE

Un grand gène d'environ 110 kb, le gène *FBN1* code la fibrilline-1. L'organisation génomique de *FBN1* (limites intron/exon) a été élucidée en 1993 par Pereira et coll. [5]. Elle a révélé un gène très morcelé (65 exons) qui code pour un grand ARNm (10 kb environ). La structure protéique primaire déduite montre que le gène de la fibrilline code pour une protéine complexe de 2 871 acides aminés comprenant de nombreux modules répétés (fig. 1). La protéine présente des

domaines sans homologie avec d'autres protéines : il s'agit des extrémités N terminale et C terminale, et de la région riche en proline. Le domaine central de la protéine est formé par la répétition de plusieurs modules. L'analyse comparative a révélé de fortes homologies entre 47 de ces modules présentant 6 cystéines avec des modules du précurseur de l'*epidermal growth factor* (EGF). Ces modules *EGF-like* sont caractérisés par une organisation conservée de 6 cystéines qui forment des ponts disulfures intrachânes donnant une conformation en feuillet β antiparallèle. Quarante trois de ces 47 modules contiennent, de plus, une séquence consensus conservée qui est nécessaire à la liaison du calcium. Ces modules ont été appelés « cb *EGF-like* » (cb pour calcium *binding*). Un deuxième module, composé de 8 cystéines et répété 7 fois dans la protéine, est fortement homologue à des modules décrits dans la protéine liant le *transforming growth factor*- β 1 (TGF- β 1 BP). Dans la fibrilline-1 comme dans TGF- β 1 BP, ces modules « 8 cystéines » s'intercalent avec les modules *EGF-like*. Enfin, un troisième module est retrouvé 2 fois, intercalé dans les répétitions *EGF-like* et TGF- β 1 BP. Ces modules, dits « hybrides », présentent des caractéristiques des deux types de modules précédemment décrits [6].

ASSEMBLAGE DES MONOMÈRES DE FIBRILLINE

Une fois synthétisés, les monomères de fibrilline vont très rapidement s'assembler pour former des microfibrilles présentant un aspect caractéristique dit « en collier de perles » observable en microscopie électronique. Les bases moléculaires de cet assemblage sont encore mal connues. Le calcium joue certainement un rôle majeur ainsi que le révèlent les nombreuses mutations qui ont été identifiées et qui portent sur les acides aminés des modules cb *EGF-like* qui lient les ions calcium. De plus, des expériences d'ajout et de chélation de calcium ont montré un impact

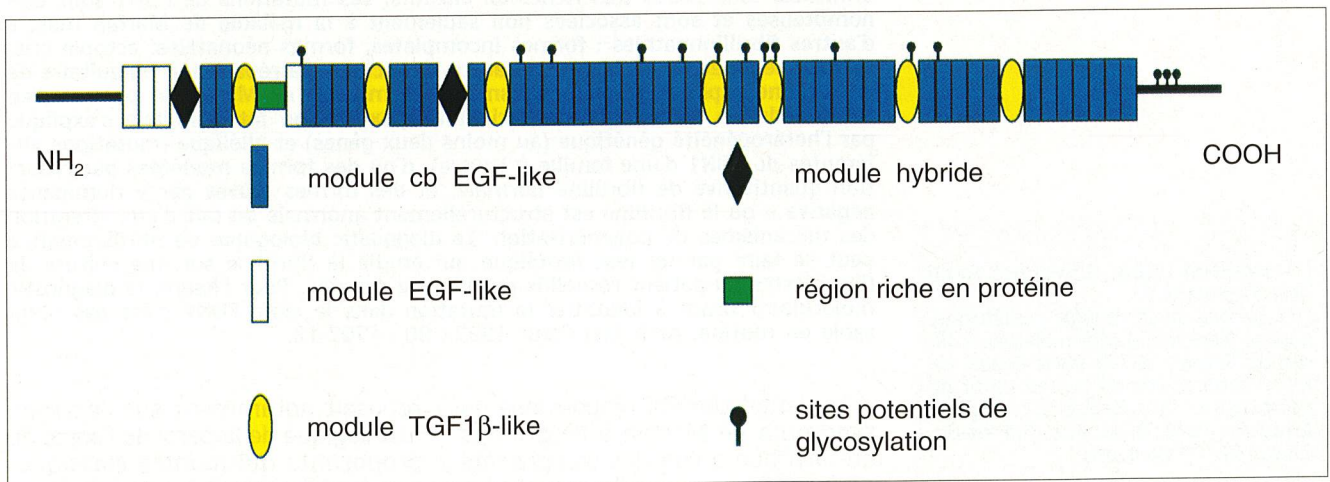


FIG. 1 - Structure primaire déduite de la fibrilline-1.
FIG. 1 - Primary structure deduced from fibrillin 1.

majeur sur l'organisation des régions entre les perles. Récemment un modèle d'assemblage des monomères a été proposé : la première étape consisterait en une dimérisation dans une orientation antiparallèle de deux monomères à laquelle succéderait une deuxième étape d'assemblage de deux dimères [7]. Ce modèle doit maintenant être validé et les interactions de la fibrilline avec les autres constituants du réseau microfibrillaire doivent être élucidées.

FONCTION DES FIBRILLINES DANS LE RÉSEAU MICROFIBRILLAIRE

Le clonage du gène FBN1 a révélé l'existence d'un deuxième gène (FBN2) codant pour une protéine présentant une forte homologie et aussi retrouvée dans le réseau microfibrillaire : la fibrilline-2 [2]. Sur la base des profils spatio-temporels de l'expression des deux gènes de fibrilline, il est fort possible que les deux protéines puissent jouer des rôles différents [8, 9]. La protéine fibrilline-2 est préférentiellement trouvée dans les tissus riches en élastine comme le cartilage, la média de l'aorte et le long de l'arbre bronchique. Durant l'embryogenèse, l'expression de la fibrilline-2 est plus précoce que celle de la fibrilline-1 et est apparemment majoritaire pendant une courte période de temps précédant l'élastogenèse. Il est donc possible qu'une des fonctions majeures de la fibrilline-2 durant la morphogenèse précoce soit de participer à l'orientation de l'élastine lors de l'assemblage des fibres élastiques. Inversement, l'expression plus tardive de FBN1

au cours du développement et la prédominance de la fibrilline-1 dans les structures responsables de la résistance à la charge et à la tension (comme l'adventice de l'aorte, les ligaments suspenseurs du cristallin, la peau) suggèrent que cette glycoprotéine est principalement responsable de la fonction structurale des microfibrilles [9]. Le support de cette fonction est vraisemblablement l'ensemble des modules cb *EGF-like*. Ce type de module, initialement identifié chez la drosophile, a ensuite été retrouvé chez l'homme dans la structure de différentes protéines de la coagulation (facteurs IX et X, protéines C et S). Leur identification dans la fibrilline a montré qu'ils avaient un rôle structural majeur comparable à l'hélice des collagènes fibrillaires et qu'ils conféraient à la protéine sa grande solidité. Plus récemment, l'attention des chercheurs s'est orientée vers les modules TGF β 1-bp qui contiennent les fibrillines et qui pourraient leur conférer la capacité de moduler localement l'activité de certains facteurs de croissance.

FIBRILLINOPATHIES DE TYPE I

À ce jour plus de 120 mutations du gène FBN1 ont été décrites [10, 11]. Leur analyse révèle une absence totale de gros réarrangements dans le gène. Ces mutations sont réparties sur toute la longueur du gène et sont dans leur grande majorité privées (seulement 8 cas de mutations récurrentes ont été décrits). Il s'agit surtout de mutations faux-sens touchant préférentiellement des cystéines (fig. 2). Les décalages du

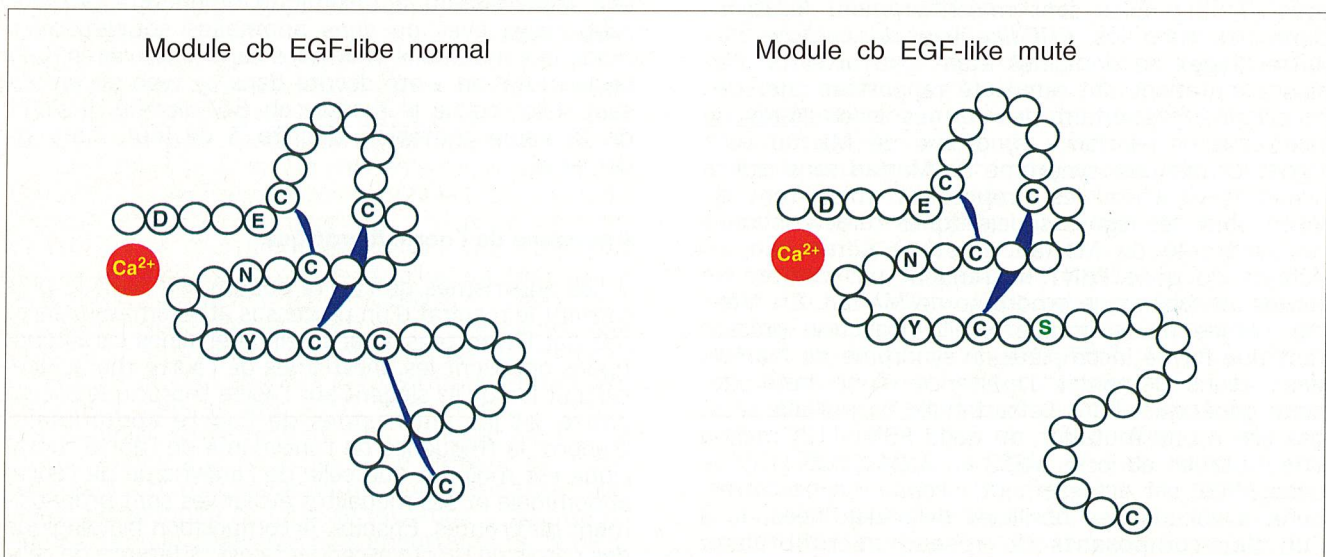


FIG. 2 - Représentation de modules cb *EGF-like* normal et muté. Les lettres indiquent les acides aminés suivants : C pour cystéine, D pour acide aspartique, E pour acide glutamique, N pour asparagine, Y pour tyrosine et S pour sérine. Les traits bleus représentent les ponts disulfures qui s'établissent habituellement entre les 6 résidus cystéine du domaine. La mutation, en remplaçant un résidu cystéine, fait disparaître un pont disulfure et donc provoque une désorganisation de la structure du domaine.

FIG. 2 - Diagrams of normal and muted cb *EGF-like*. The letters indicate the following amino acids : C = cystein ; D = aspartic acid ; E = glutamic acid ; N = asparagine ; Y = tyrosine and S = serine. The blue lines represent disulphide bridges which usually develop between the 6 cysteine residues of the domaine. The mutation, replacing a cysteine residue, causes the disulphide bridge to disappear and provokes structural disorganisation of the domaine.

cadre de lecture ne sont associés qu'à 22 % des mutations avec une égalité de répartition entre les mutations de sites d'épissage et les délétions, les mutations de type insertion étant très minoritaires. Dans environ 75 % des cas, elles sont localisées dans un module *cb EGF-like*. Les autres mutations sont retrouvées dans tous les autres domaines sauf le domaine riche en proline (dans lequel aucune mutation n'a été rapportée à ce jour).

Très rapidement après le clonage du gène *FBN1* de nombreux travaux ont montré que des altérations de ce gène étaient associées non seulement au syndrome de Marfan (MFS) mais aussi à différentes maladies du tissu conjonctif. Ces maladies, longtemps considérées comme des collagénopathies, constituent le nouveau groupe des « fibrillinopathies ». Il s'agit d'un ensemble de pathologies présentant soit de façon isolée certains symptômes du MFS (ectopie du cristallin, signes squelettiques ou anévrisme de l'aorte ascendante), soit des symptômes n'appartenant pas au spectre du MFS (formes néonatales de MFS, syndrome de Shprintzen-Goldberg, syndrome de Weill-Marchesani).

Marfan classique et formes incomplètes du marfan

Les premières mutations dans le gène *FBN1* ont été identifiées chez des sujets qui présentaient la forme classique complète du syndrome de Marfan. Depuis, de nombreuses mutations ont été caractérisées [7, 11]. Elles sont majoritairement localisées dans des modules *EGF-like* liant le calcium, les autres types de domaines étant peu atteints. Plusieurs mutations ont aussi été rapportées chez des proposants présentant des formes incomplètes de syndrome de Marfan : syndrome de Marfan sans signes cardiaques, syndrome de Marfan sans signes oculaires et chez des proposants présentant de façon isolée les signes squelettiques caractéristiques du syndrome de Marfan. Il est à noter que les défauts du gène *FBN1* ne rendent pas compte de toutes les formes de syndrome de Marfan. En effet, par l'étude d'une grande famille française présentant une forme incomplète de syndrome de Marfan, nous avons démontré l'existence d'une hétérogénéité génétique. Dans cette famille, la maladie n'est pas liée à une mutation du gène *FBN1* [12] mais à une mutation au locus *MFS2* en 3p24.2-p25 [13]. Le gène *MFS2* est actuellement inconnu : il ne correspond à aucune des fibrillines déjà identifiées, ni à l'un des composants du réseau microfibrillaire actuellement connus. Il est hautement probable que *MFS2* code soit pour un constituant du réseau microfibrillaire, soit pour une protéine interagissant avec celui-ci.

L'identification de *MFS2* est actuellement en cours par une approche de clonage positionnel.

Marfan néonatal ou infantile

Il s'agit d'une forme plus précoce et plus sévère de syndrome de Marfan impliquant des pertes de mobilité des articulations comme celles retrouvées dans l'arachnodactylie contracturante congénitale (CCA ou syndrome de Beals-Hecht), un faciès anormal, des maladies plurivalvulaires et une mort précoce généralement due à une insuffisance cardiaque et non à un anévrisme aortique cause la plus fréquente du décès dans le syndrome de Marfan. L'association de signes du syndrome de Marfan et du syndrome de Beals-Hecht a longtemps fait supposer qu'il ne s'agissait pas d'une anomalie du gène *FBN1*.

En 1994, Kainulainen et coll. ont apporté la preuve de l'implication de ce gène dans cette forme particulière de syndrome de Marfan par la description de plusieurs mutations [14]. Depuis, 16 mutations ont été rapportées, localisées dans la majorité des cas dans les exons 24 à 32 du gène [7]. Ces exons codent probablement pour un domaine de la protéine ayant une fonction importante mais encore inconnue.

Cette région est liée également à des formes sévères de syndrome de Marfan caractérisées par des faciès anormaux et une absence de perte de mobilité des articulations [15]. Il semble donc que ce domaine protéique est le support d'une fonction particulièrement importante au cours du développement.

Ectopie du cristallin

Des cas familiaux de dislocation du cristallin avec une transmission autosomique dominante ont été rapportées avec ou sans anomalies squelettiques modérées mais sans anomalies cardiovasculaires. Une seule mutation a été décrite dans ce type de proposant. Elle touche le module *cb EGF-like#38*. Il s'agit de la seule mutation décrite à ce jour dans ce domaine.

Anévrisme de l'aorte thoracique

Les anévrismes de l'aorte abdominale sont le plus souvent le résultat d'un processus athéromateux favorisé par l'hypertension artérielle. Certaines caractéristiques opposent les anévrismes de l'aorte thoracique, surtout lorsqu'ils siègent sur l'aorte thoracique ascendante, et les anévrismes de l'aorte abdominale. D'abord, la fréquence de l'anévrisme de l'aorte thoracique est moindre que celle de l'anévrisme de l'aorte abdominale et ses modalités évolutives sont probablement différentes. Ensuite, la composition histologique des parois de l'aorte ascendante est différente de celle de l'aorte abdominale. L'aorte initiale est plus riche en élastine, et la part musculaire de sa paroi est moins développée que celle de l'aorte plus distale. Les facteurs responsables des anévrismes de l'aorte thoracique sont très mal connus et les entités cliniques mal définies. Ainsi, de nombreux patients qui ne peuvent être considérés comme atteints d'un syndrome de

Marfan classique ont néanmoins une dilatation de l'aorte et des signes thoraciques qui sont compatibles avec ce diagnostic. Ces différents éléments montrent qu'il était logique d'émettre l'hypothèse que des altérations de la fibrilline-1 pouvaient être responsables de ces anévrismes. Malgré des recherches importantes, des mutations dans le gène FBN1 n'ont été identifiées que chez deux proposants [16]. De plus, des formes familiales à transmission autosomique dominante ayant été individualisées, des analyses génétiques ont exclu une implication du gène FBN1. La contribution des altérations de la fibrilline à cette pathologie de l'aorte ascendante semble donc très minoritaire.

MÉCANISMES PATHOGÉNIQUES

D'un point de vue clinique, le syndrome de Marfan est caractérisé par un grand pléiotropisme des manifestations cliniques et une très grande variabilité d'expression tant inter- qu'intra-familiale. La répartition ubiquitaire de la fibrilline permet d'expliquer le pléiotropisme et de comprendre les mécanismes pathogéniques qui sous-tendent le syndrome. Ainsi, la richesse de la zonule en agrégats microfibrillaires ou de la média de l'aorte en fibres élastiques permet aisément de comprendre comment une altération de la fibrilline, composant quantitativement le plus important du réseau et probablement support essentiel de sa fonction, rend compte tant des signes cliniques que des altérations histologiques. En ce qui concerne la variabilité d'expression interfamiliale, elle est due à deux types d'anomalies moléculaires : d'une part l'hétérogénéité génétique (à savoir l'implication soit du gène FBN1 soit du gène MFS2) et d'autre part l'hétérogénéité allélique (à savoir l'existence de mutations différentes du gène FBN1 d'une famille à l'autre). Pour l'hétérogénéité allélique, deux types de mécanismes permettent d'expliquer l'existence de formes modérées (premier mécanisme) ou graves (deuxième mécanisme). Dans le premier mécanisme, la mutation conduit à la synthèse d'une protéine très tronquée, instable et rapidement dégradée. Les sujets porteurs de ce type de mutation présenteront une diminution de moitié de la quantité de fibrilline synthétisée et incorporée dans la matrice extracellulaire. Cette fibrilline sera qualitativement normale. Le deuxième mécanisme fait intervenir le phénomène de « dominance négative » et correspond à la majorité des mutations identifiées dans le gène FBN1. Dans ce cas, la mutation, simple remplacement d'un acide aminé par un autre, conduit à la synthèse d'une protéine qui interfère avec les mécanismes de polymérisation. Les sujets porteurs de ce type de mutation présenteront une diminution beaucoup plus importante de fibrilline fonctionnelle du fait non seulement de l'altération de la polymérisation mais aussi de la présence d'une protéine dont la structure, et donc probablement la fonction sont altérées [17].

Actuellement, aucune corrélation entre la localisation d'une mutation dans le gène FBN1 et un (ou des) signe(s) clinique(s) particulier(s) n'a pu être

mise en évidence hormis la localisation préférentielle des mutations associées aux formes néonatales du syndrome de Marfan. Par ailleurs, la variabilité intra-familiale de l'expression d'une même mutation reste inexpliquée. Elle est certainement le reflet de l'intervention de différents mécanismes compensateurs ou aggravants encore inconnus.

APPORT DE LA BIOLOGIE AU DIAGNOSTIC DU SYNDROME DE MARFAN

L'identification de la fibrilline et de son gène a permis d'envisager deux types de tests diagnostiques : test protéique et test moléculaire. Le test protéique est réalisable sur une simple biopsie cutanée à partir de laquelle une culture de fibroblastes est obtenue. Par immunofluorescence indirecte avec un anticorps monoclonal anti-fibrilline il sera possible de faire une étude quantitative et qualitative de la fibrilline produite et incorporée dans la matrice extracellulaire produite par les cellules en culture [18]. Il est aussi possible de procéder à une étude immunohistochimique et histologique du réseau élastique directement sur la biopsie cutanée. Ces analyses ne permettent cependant pas d'affirmer ou d'infirmer le diagnostic de Marfan. En effet, des altérations de la fibrilline sont observées tant dans le syndrome de Marfan que dans les autres fibrillinopathies. De plus, il existe des proposants Marfan chez lesquels le défaut n'est pas porté par la fibrilline et pour lequel ce test protéique est normal.

Le test moléculaire le plus direct consisterait à identifier une mutation dans le gène FBN1. Cela n'est pas réalisable en pratique. En effet, il n'existe pas actuellement une technique de biologie moléculaire de routine qui permette d'explorer de façon rapide et efficace un très grand gène. En effet, l'exploration de l'ensemble du gène est indispensable puisque, grossièrement, chaque proposant présente une mutation différente. De plus, avant d'entreprendre une telle étude, il est important de s'être assuré, par l'approche protéique ou l'approche génétique, que chez le proposant il existe bien une altération de la fibrilline. L'approche génétique consiste en une analyse familiale réalisée avec des marqueurs polymorphes du gène FBN1 [19]. Son intérêt est double : d'une part confirmer l'implication de la fibrilline et d'autre part identifier de façon indirecte la copie mutée du gène chez un sujet à risque. En pratique, ce type d'étude ne peut être réalisée que dans des familles suffisamment grandes et présentant plusieurs sujets atteints. La plupart des familles ne répondent pas à ces critères. De plus, cette approche n'est pas envisageable pour les cas sporadiques. Enfin, ici encore, l'implication même démontrée du gène FBN1 ne permet pas d'affirmer le diagnostic de Marfan. L'apport de la biologie au diagnostic du syndrome de Marfan reste donc limité. Sa meilleure indication actuelle est le diagnostic précoce chez les enfants à risque.

MOTS CLÉS : maladie de Marfan, génétique, fibrillines.

Références

1. Sakai L, Keene D, Engvall E. Fibrillin, a new 350 kD glycoprotein, is a component of extracellular microfibrils. *J Cell Biol* 1986 ; 103 : 2499-509.
2. Lee B, Godfrey M, Vitale E et al. Linkage of Marfan syndrome and a phenotypically related disorder to two different fibrillin genes. *Nature* 1991 ; 352 : 330-4.
3. Kainulainen K, Pulkkinen L, Savolainen A, Kaitila I, Peltonen L. Location on chromosome 15 of the gene defect causing Marfan syndrome. *N Engl J Med* 1990 ; 323 : 935-9.
4. Dietz H, Cutting G, Pyeritz R et al. Marfan syndrome caused by a recurrent de novo missense mutation in the fibrillin gene. *Nature* 1991 ; 352 : 337-9.
5. Pereira L, D'Alessio M, Ramirez F et al. Genomic organization of the sequence coding for fibrillin, the defective gene product in Marfan syndrome. *Hum Mol Genet* 1993 ; 2 : 961-8.
6. Corson G, Chalberg S, Dietz H, Charbonneau N, Sakai L. Fibrillin binds calcium and is coded by cDNAs that reveal a multidomain structure and alternatively spliced exons at the 5' end. *Genomics* 1993 ; 17 : 476-84.
7. Collod G, Boileau C. Fibrillines et fibrillinopathies. *Médecine Sciences* 1996 ; 10 : 1077-86.
8. Pan T, Sasaki T, Zhang R, Fessler R, Timpl R, Chu ML. Structure and expression of fibuline-2, a novel extracellular matrix protein with multiple EGF-like repeats and consensus motifs for calcium binding. *J Cell Biol* 1993 ; 123 : 1269-77.
9. Zhang H, Hu W, Ramirez F. Developmental expression of fibrillin genes suggests heterogeneity of extracellular microfibrils. *J Cell Biol* 1995 ; 129 : 1165-76.
10. Nijbroek G, Sood S, McIntosh I et al. Fifteen novel mutations causing Marfan syndrome detected by heteroduplex analysis of genomic amplicons. *Am J Hum Genet* 1995 ; 57 : 8-21.
11. Collod G, Bérout C, Adès L et al. Marfan database (second edition) : Software and database for the analysis of mutations in the human FBN1 gene. *Nucl Acids Res* 1997 ; 25 : 147-50.
12. Boileau C, Jondeau G, Babron MC et al. Autosomal dominant Marfan-like connective tissue disorder with aortic dilation and skeletal anomalies not linked to the fibrillin genes. *Am J Hum Genet* 1993 ; 53 : 46-54.
13. Collod G, Babron MC, Jondeau G et al. A second locus for Marfan syndrome maps to chromosome 3p24.2-p25. *Nature Genet* 1994 ; 8 : 264-8.
14. Kainulainen K, Karttunen L, Puhakka L, Sakai L, Peltonen L. Mutations in the fibrillin gene responsible for dominant ectopia lentis and neonatal Marfan syndrome. *Nature Genet* 1994 ; 6 : 64-9.
15. Putnam E, Cho M, Zinn A, Towbin J, Byers P, Milewicz D. Delineation of the Marfan phenotype associated with mutations in exons 23-32 of the FBN1 gene. *Am J Med Genet* 1996 ; 62 : 233-42.
16. Milewicz D, Michael K, Fisher N, Coselli J, Markello T, Biddinger A. Fibrillin-1 (FBN1) mutations in patients with thoracic aortic aneurysms. *Circulation* 1996 ; 94 : 2708-11.
17. Aoyama T, Francke U, Dietz H, Furthmayr H. Quantitative differences in biosynthesis and extracellular deposition of fibrillin in cultured fibroblasts distinguish five groups of Marfan syndrome patients and suggest distinct pathogenic mechanisms. *J Clin Invest* 1994 ; 94 : 130-7.
18. Hollister D, Godfrey M, Sakai L, Pyeritz R. Immunohistologic abnormalities of the microfibrillar-fiber system in the Marfan syndrome. *N Engl J Med* 1990 ; 323 : 152-9.
19. Pereira L, Levrán O, Ramirez F et al. A molecular approach to the stratification of cardiovascular risk in families with Marfan's syndrome. *N Engl J Med* 1994 ; 331 : 148-53.