



RÉFÉRENCES

1. Sultan A, Nessler F, Violet M, *et al.* Nuclear tau, a key player in neuronal DNA protection. *J Biol Chem* 2011 ; 286 : 4566-75.
2. Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev* 2001 ; 81 : 741-66.
3. Mawuenyega KG, Sigurdson W, Ovod V, *et al.* Decreased clearance of CNS beta-amyloid in Alzheimer's disease. *Science* 2010 ; 330 : 1774.
4. Gosselet F, Candela P, Cecchelli R, *et al.* La barrière hémato-encéphalique. Une nouvelle cible thérapeutique dans la maladie d'Alzheimer ? *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 987-92.
5. Zlokovic BV. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron* 2008 ; 57 : 178-201.
6. Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, *et al.* Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 1977-81.
7. Bell RD, Winkler EA, Singh I, *et al.* Apolipoprotein E controls cerebrovascular integrity via cyclophilin A. *Nature* 2012 ; 485 : 512-6.
8. Nishitsuji K, Hosono T, Nakamura T, *et al.* Apolipoprotein E regulates the integrity of tight junctions in an isoform-dependent manner in an *in vitro* blood-brain barrier model. *J Biol Chem* 2011 ; 286 : 17536-42.
9. Vandenhaute E, Dehouck L, Boucau MC, *et al.* Modelling the neurovascular unit and the blood-brain barrier with the unique function of pericytes. *Curr Neurovasc Res* 2011 ; 8 : 258-69.
10. Saint-Pol J, Vandenhaute E, Boucau MC, *et al.* Brain pericytes ABCA1 expression mediates cholesterol efflux but not cellular amyloid-beta peptide accumulation. *J Alzheimers Dis* 2012 ; 30 : 489-503.
11. Boucher P, Gotthardt M, Li WP, *et al.* LRP: role in vascular wall integrity and protection from atherosclerosis. *Science* 2003 ; 300 : 329-32.
12. Cramer PE, Cirrito JR, Wesson DW, *et al.* ApoE-directed therapeutics rapidly clear beta-amyloid and reverse deficits in AD mouse models. *Science* 2012 ; 335 : 1503-6.

NOUVELLE

BCL11A contrôle l'expression de l'hémoglobine fœtale

Dominique Labie

Département de génétique, développement et pathologie moléculaire, Institut Cochin, 24, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France.
dominique.labie@cochin.inserm.fr

La régulation de l'expression séquentielle des différentes formes de l'hémoglobine (Hb) fait l'objet de recherches depuis plusieurs décennies, après qu'aient été séquencés les gènes codant pour les chaînes de globine et mis en évidence leur expression successive au cours du développement. L'intérêt en est fondamental et a valeur de modèle pour d'autres familles de gènes évoluant de façon similaire. Mais il présente aussi un intérêt majeur de santé publique. Les β -hémoglobinopathies sont des maladies génétiques extrêmement fréquentes et invalidantes. La drépanocytose, due à une mutation A>T au codon 6 du gène codant pour la β -globine, fréquente en France, est reconnue comme une priorité de santé publique, et les données démographiques montrent que cette fréquence ne peut qu'augmenter. Les β -thalassémies, de causes moléculaires très diverses, sont un problème majeur dans tout le bassin méditerranéen, ainsi qu'en Asie du Sud et du Sud-Est. La prise en charge de ces

pathologies, malgré des progrès considérables, reste largement empirique ou tout au plus symptomatique. Un progrès majeur consisterait à pouvoir contrôler la synthèse d'HbF (hémoglobine fœtale, $\alpha_2\gamma_2$). Dans le cas de la drépanocytose, l'HbF ne s'incorpore pas dans le polymère de l'HbS ($\alpha_2\beta^S_2$) et, au-delà d'un certain taux, s'oppose de ce fait au développement de signes pathologiques. Chez les β -thalassémiques, la γ -globine, en s'associant aux chaînes α -globine en excès, forme l'HbF, assure une fonction respiratoire et s'oppose aux lésions cellulaires. La commutation (*switch*) de l'HbF vers l'HbA adulte ($\alpha_2\beta_2$), en même temps qu'elle représente le prototype d'un contrôle transcriptionnel au cours du développement, pourrait aussi être une cible thérapeutique.

Identification des sites régulateurs de l'hémoglobine fœtale

Les recherches menées depuis plusieurs années ont eu pour but d'élucider et

contrôler le mécanisme moléculaire responsable de cette commutation HbF vers HbA. Le taux d'HbF, variable selon les individus, malades ou témoins normaux, est contrôlé comme un trait quantitatif (QTL). Des études tout génome (GWAS), menées sur différentes populations, ont actuellement identifié trois sites régulateurs dont la somme n'explique, cependant, qu'environ 50 % des variations observées [1].

- L'un, dans le locus β -globine lui-même, est associé à un(des) polymorphisme(s) qui ne sont en fait que des marqueurs. Le plus classique est la variante C/T à la position -158 du gène *HBG2*, créateur d'un site de restriction XmnI [2]. Mais il en existe d'autres, en particulier au niveau du site *HincII-HBG1* et d'une séquence palindromique riche en AT du site HS4 du LCR (*locus control region*). Ces sites sont considérés comme en déséquilibre de liaison (LD) [3].

- Un deuxième site régulateur situé dans le 2^e intron du gène *BCL11A* (*B-cell*

lymphoma/leukemia 11A) sur le bras court du chromosome 2 est actuellement le mieux individualisé. Une série de travaux, produits par l'équipe de S.H. Orkin (*Children's hospital Boston, Harvard medical school, États-Unis*), a montré l'existence au cours du développement d'isomères successifs de *BCL11A*, dont la forme adulte se comporte comme un inhibiteur transcriptionnel spécifique de la synthèse d'HbF et un obstacle potentiel à sa réactivation [4]. Dans un modèle de souris transgéniques exprimant, outre les gènes murins endogènes, la totalité du locus β -globine humaine, *BCL11A* contrôle la commutation des chaînes $\gamma > \beta$ humaines, comme celles des gènes codant pour les hémoglobines embryonnaires murines [5].

- Un troisième site régulateur a été individualisé en 6q dans la région interchromosomique *HSB1L-MYB* (région HMIP), dont l'existence est certaine, mais qui est encore actuellement incomplètement localisé et dont le mode d'action n'est pas connu. Les travaux concernant ce site sont le fait de l'équipe de S.L. Thein (*King's College, Londres, Royaume-Uni*). Sa mise en évidence remonte à 2007 ; les auteurs avaient alors défini plusieurs segments dans cet intervalle, la liaison la plus forte étant localisée dans une séquence de 24 kb, située à peu près à égale distance de l'un et l'autre des deux gènes [6]. Ces gènes sont tous deux exprimés dans les précurseurs érythroïde. *HSB1L* code pour une protéine qui aurait une activité de liaison au GTP, et *MYB* est un facteur de transcription essentiel à la différenciation érythroïde. Plus récemment, les mêmes auteurs ont été plus précis en suggérant que la régulation du gène *MYB* agissait sur l'expression de l'HbF [7].

- On peut enfin évoquer le rôle régulateur du facteur KLF1 (*Kruppel-like factor 1* ou $E[erythroid]KLF$) ; l'étude en a été faite dans une famille de Malte dont plusieurs membres présentaient une persistance héréditaire

d'HbF (*H_{PFH}*) [8], et simultanément dans un travail expérimental chez la souris [9]. L'action de KLF1 s'exercerait indirectement par une régulation d'expression de *BCL11A*.

Dans l'espoir de mieux préciser les sites régulateurs eux-mêmes, divers auteurs ont séquencé les zones identifiées et recherché une association entre des polymorphismes et les taux d'HbF. Le travail le plus poussé dans cette direction a été mené chez 1 032 drépanocytaires africains ou américains, et a défini au niveau de *BCL11A* et de *HSB1L-MYB* les haplotypes qui se présentaient comme étant statistiquement associés avec l'expression d'HbF [10]. Les travaux qui se poursuivent dans l'équipe de S.H. Orkin ont aussi apporté des informations complémentaires sur la localisation chromosomique de *BCL11A* et son interaction directe avec l'ensemble du locus β -globine au cours du développement [11].

Perspectives thérapeutiques

Un travail plus récent des mêmes auteurs, précisant le rôle majeur de *BCL11A* dans un modèle murin de drépanocytose, a l'intérêt d'ouvrir des perspectives thérapeutiques [12]. Les auteurs ont introduit dans des souris transgéniques l'ensemble du locus β -globine humaine, porteur de la mutation β^S , dans un YAC (*yeast artificial chromosome*) et vérifié que le phénotype de ces souris reproduisait la maladie drépanocytaire. L'inactivation (*knock out*) globale de *BCL11A* étant létale chez la souris, un *knock out* conditionnel de ce gène a été réalisé dans la lignée érythroïde (utilisant Cre sous contrôle du promoteur du récepteur de l'érythropoïétine). Il en résulte une inhibition partielle du *switch* $\gamma > \beta$ (l'HbF est à un taux >80 % dans le foie fœtal et se stabilise chez l'adulte à environ 11 %) en même temps qu'une extinction des gènes embryonnaires endogènes de la souris. Ce *knock out* est sélectif,

la maturation érythroïde est normale ainsi que l'expression des facteurs de régulation transcriptionnelle de la lignée érythroïde (GATA1, FOG1, NF- ϵ 2, KLF1, SOX6, et MYB). Dans l'étape suivante les auteurs ont exploré si l'extinction de *BCL11A* pouvait, chez l'adulte, réactiver le gène γ -globine éteint au cours du développement. Pour ce faire, l'allèle Mx1-Cre inducible par l'interféron a été introduit dans le gène *BCL11A* floxé chez la souris transgénique drépanocytaire. De fait, l'excision de *BCL11A* chez la souris adulte, qui n'exprime plus d'HbF, entraîne une réactivation des gènes γ -globine, entraînant la production d'un taux de 13,8 % d'HbF (exprimé par rapport au total des chaînes globine β -like humaines). Les gènes embryonnaires murins sont également réactivés. Cette réactivation ne s'accompagne, là encore, d'aucun désordre hématologique autre qu'une légère diminution des lymphocytes B. D'autres modifications épigénétiques participent à l'extinction du gène γ -globine dans les cellules érythroïdes : méthylation de l'ADN et désacétylation des histones au promoteur du gène γ -globine. De fait, l'administration d'un inhibiteur des déacétylases agit en synergie avec l'extinction de *BCL11A* sur la dérégulation du gène γ , suggérant l'action coordonnée de plusieurs mécanismes dans la répression efficace de l'HbF chez l'adulte.

Un point important restait à vérifier : l'inhibition de *BCL11A* améliore-t-elle les symptômes hématologiques et histopathologiques dans le modèle murin ? L'étude en a été faite sur la souris « Berkeley » SCD (*sickle cell disease*) dont le phénotype récapitule bien la maladie drépanocytaire : anémie, augmentation des réticulocytes, taux d'HbF bas, durée de vie des globules rouges abrégée. L'introduction d'allèles *BCL11A*-nul chez cette souris (SCD *Bcl11a^{fl/fl} EpoR-Cre**) corrige ces altérations et restaure un phénotype très voisin de celui de souris témoins



non drépanocytaires. L'expression du gène γ -globine est très augmentée (28,3 % *versus* 1,3 % du taux total des globines β -like humaines, $P = 0,00017$), et la distribution d'HbF est pancellulaire. On estime que de tels taux d'HbF (> 15-20 %) sont probablement suffisants chez l'homme pour éliminer la symptomatologie drépanocytaire.

L'ensemble des résultats semble fournir une preuve de principe suffisante pour envisager un développement thérapeutique : les auteurs suggèrent plusieurs modalités : interférence ARN, y compris par transfert de gènes codant un shARN, ou approche pharmacologique *via* un criblage moléculaire à la recherche de molécules inhibant la fonction de BCL11A. Les perspectives ne sont pas immédiates, elles sont cependant stimulantes. Première « maladie moléculaire » connue (elle a fêté son centenaire en 2010),

la drépanocytose reste une maladie « orpheline » dont le traitement est très empirique. Une régulation contrôlée de l'HbF se présente comme un traitement rationnel dont il est légitime de suggérer l'extension à certaines β -thalassémies. ♦

BCL11A controls the expression of the human fetal hemoglobin

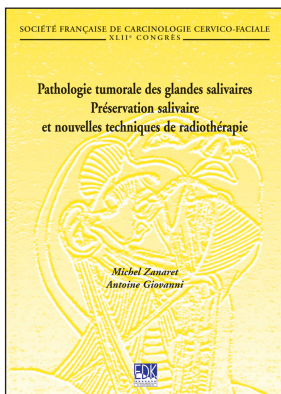
LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Lettre G, Sankaran VG, Bezerra MAC, *et al.* DNA polymorphisms at the *BCL11A*, *HBS1L-MYB* and β -globin loci associate with fetal hemoglobin levels and pain crises in sickle cell disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 11869-74.
2. Labie D, Dunda-Belkhdja O, Rouabhi F, *et al.* The -158 site 5' to the $\zeta\gamma$ gene and $\zeta\gamma$ expression. *Blood* 1985 ; 66 : 1463-5.
3. Neishabury M, Zamani S, Azarkeivan A, *et al.* The modifying effect of Xmn1-HBG2 on thalassemic phenotype is associated with its linked elements in the beta globin locus control region, including the palindromic site at 5'HS4. *Blood Cells Mol Dis* 2012 ; 48 : 1-5.
4. Sankaran VG, Menne TF, Xu J, *et al.* Human fetal hemoglobin expression is regulated by the developmental stage-specific repressor *BCL11A*. *Science* 2008 ; 322 : 1839-42.
5. Sankaran VG, Xu J, Ragozy T, *et al.* Developmental and species-divergent globin switching are driven by *BCL11A*. *Nature* 2009 ; 460 : 1093-7.
6. Thein SL, Menzel S, Peng X *et al.* Intergenic variants of *HBS1L-MYB* are responsible for a major quantitative trait locus on chromosome 6q23 influencing fetal hemoglobin levels in adults. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 11346-51.
7. Wahlberg K, Jiang J, Rooks H, *et al.* The *HBS1L-MYB* intergenic interval associated with elevated HbF levels shows characteristics of a distal regulatory region in erythroid cells. *Blood* 2009 ; 114 : 1254-62.
8. Borg J, Papadopoulos P, Georgitsi M, *et al.* Haploinsufficiency for the erythroid transcription factor KLF1 causes hereditary persistence of fetal hemoglobin. *Nat Genet* 2010 ; 42 : 501-5.
9. Zhou D, Liu K, Sun CW, *et al.* KLF1 regulates *BCL11A* expression and γ - to β -globin gene switching. *Nat Genet* 2010 ; 42 : 742-4.
10. Galarneau G, Palmer CD, Sankaran VG, *et al.* Fine-mapping at three loci known to affect fetal hemoglobin levels explain additional genetic variation. *Nat Genet* 2010 ; 42 : 1049-51.
11. Xu J, Sankaran VG, Ni M, *et al.* Transcriptional silencing of γ -globin by *BCL11A* involves long-range interactions and cooperation with *SOX*. *Genes Dev* 2010 ; 24 : 783-98.
12. Xu J, Peng C, Sankaran VG, *et al.* Correction of sickle cell disease in adult mice by interference with fetal hemoglobin silencing. *Science* 2011 ; 334 : 993-6.

Bon de commande



À retourner à EDK, 25, rue Daviel - 75013 Paris

Tél. : 01 58 10 19 05 - Fax : 01 43 29 32 62 - E-mail : edk@edk.fr

NOM : Prénom :

Adresse :

Code postal : Ville :

Pays :

Fonction :

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Pathologie tumorale des glandes salivaires** : 35 € + 3 € de port = **38 € TTC**

en exemplaire, soit un total de €

Par chèque, à l'ordre de E D K

Par carte bancaire : Visa Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | |



Tarifs d'abonnement *m/s* - 2013

Abonnez-vous

à médecine/sciences

> Grâce à *m/s*, vivez en direct
les progrès des sciences biologiques
et médicales

Bulletin d'abonnement
page 1018 dans ce numéro de *m/s*

