



Et le fer dans tout ça ?

Sophie Vulont
 Institut Cochin, Paris
 Avec le concours de Carole Beaumont

► Il y a des histoires que l'on aime raconter, celle-ci en fait indéniablement partie. C'est une histoire humaine et scientifique comme on en vit peu, une histoire qui a réuni des étudiants, des jeunes scientifiques, et des moins jeunes..., des hospitalo-universitaires, et des collaborateurs à travers le monde, une histoire où Axel a joué un rôle décisif.

Cette histoire, la découverte de l'hormone du fer, l'hepcidine, restera, pour tous ceux qui ont vécu l'aventure, de près ou de loin, aussi inoubliable qu'inattendue. Bien sûr, elle vous a déjà été racontée dans les colonnes de *médecine/sciences* – comment aurait-il pu en être autrement ? – ce journal dont Axel disait « parmi tout ce que j'ai aimé faire, et qu'il me semble a posteriori important d'avoir fait, *médecine/sciences* figure en toute bonne place ». Alors, pour les plus jeunes peut-être, faire revivre quelques-unes des étapes qui ont forgé cette histoire dans les colonnes de ce journal, avec un regard particulier sur le rôle qu'y a joué Axel, c'est bien le moindre des hommages que nous pouvions lui rendre.

Nous sommes au milieu des années 1990, Axel m'avait convaincue de partir faire un stage technologique dans le prestigieux laboratoire de Martin Evans au Royaume-Uni pour me familiariser avec les techniques de transgénèse ciblée par recombinaison homologue. De retour en France, je génère donc, avec les moyens du bord, le premier modèle de souris KO pour notre gène d'intérêt, *USF2*, codant un facteur de transcription¹ dont nous cherchions à démontrer l'implication dans le contrôle des gènes du métabolisme glucido-lipidique, l'aire de jeu favorite d'Axel. Les premières souris naissent...

Carole Beaumont, notre chère collaboratrice, alors responsable de l'équipe « Fer et synthèse d'hème » à l'unité de recherche Inserm 409, dirigée par Bernard Grandchamp, à la Faculté de médecine Xavier Bichat, se souvient :

« En 2000, Sophie m'appelle pour me demander si je ne connaissais pas un ou une jeune thésard(e) intéressé(e) par un stage post-doctoral dans mon laboratoire. Je connaissais Sophie depuis déjà plusieurs années pour avoir fait des transcriptions in vitro sur noyaux isolés, technique lourde qu'elle maîtrisait parfaitement alors qu'elle faisait sa thèse sous la direction d'Axel. Celui-ci était une présence très stimulante, voire même

*inspirante dans le laboratoire, improvisant à tout va des discussions animées avec ses étudiants sur la régulation de la glycémie et les maladies métaboliques. C'est donc tout naturellement que Sophie m'appelle pour l'aider à trouver un candidat et Gaël Nicolas, qui venait juste de soutenir sa thèse dans notre laboratoire, accepte avec enthousiasme. Il aura donc pour mission d'explorer le phénotype des souris KO pour le gène *USF2* que Sophie venait de générer. Rien ne prédisposait ces souris à être à l'origine d'une découverte qui viendra bouleverser les connaissances de la régulation du métabolisme du fer, et pourtant ! En effet, Gaël observe rapidement que ces animaux KO présentent un foie, et surtout un pancréas, d'une couleur marron foncée inhabituelle, un aspect qui lui était familier pour l'avoir vu lors des réunions de labo et qui lui évoque tout de suite une surcharge en fer. Il vient donc nous voir et nous l'aidons à explorer ce phénotype inattendu et confirmons rapidement son intuition. Mais quel rapport entre *USF2* et une surcharge en fer ? A priori, aucun. Mais l'équipe d'Axel remarque que les gènes *USF2* et *HAMP*² (codant l'hepcidine) sont à moins de 2 000 paires de base l'un de l'autre sur le chromosome 7 de la souris. Cette observation est d'autant plus intéressante qu'au même moment l'équipe d'Olivier Loral de l'unité de recherche Inserm 522 à Rennes vient d'identifier le gène codant l'hepcidine comme étant un gène activé par la surcharge en fer. L'inactivation du gène *USF2* dans le modèle de Cochin aurait-il aussi inactivé le gène *HAMP* ? Pour le confirmer, l'équipe fait une expérience en miroir et produit rapidement des souris transgéniques qui surexpriment le gène *HAMP* sous contrôle d'un promoteur hépato-spécifique, non régulé par le fer. Et là, bingo, les souriceaux transgéniques sont sévèrement anémiques et carencés en fer à la naissance, confirmant ainsi pour la première fois que l'hepcidine est le régulateur majeur des échanges en fer entre les différents compartiments de l'organisme. Par ailleurs, l'équipe démontre aussi que le gène *HAMP* est réprimé par l'hypoxie et l'anémie, deux conditions dans lesquelles l'absorption intestinale du fer*

¹ *Upstream Stimulatory Factor 2, C-Fos Interacting.*

² Pour « *Hepcidin AntiMicrobial Peptide* ».

est augmentée, alors que l'expression de ce même gène est augmentée par l'inflammation où le fer sérique est diminué.

Cette découverte fortuite, « a dirty experiment that brought back gold » comme le dira un chercheur étranger peu de temps après, a révolutionné notre vision du métabolisme du fer, tant sur le plan cognitif que sur le plan des perturbations associées à de nombreuses situations pathologiques. Car c'était bien de l'or scientifique et médical dont il s'agissait, Axel l'a vu tout de suite et a mis tout son légendaire enthousiasme à soutenir cette découverte. En tant que médecin hématologiste, il a rapidement anticipé l'implication de l'hepcidine dans la survenue de l'anémie des états inflammatoires, dans la surcharge en fer des maladies du globule rouge (thalassémies, drépanocytoses...) et, bien sûr, dans les surcharges en fer héréditaires, les hémochromatoses génétiques.

De nombreuses équipes de par le monde se lanceront ensuite dans la recherche sur l'hepcidine, désormais considérée comme l'hormone du métabolisme du fer, mais c'est incontestablement grâce à l'environnement scientifique de haut niveau, stimulant et inspirant, mis en place par Axel, que Sophie et son équipe ont pu débobiner cette histoire aussi vite et ouvrir un nouveau champ d'investigations tout à fait exceptionnel ! »

Voilà, c'est donc cette histoire qui est née sous la bonne étoile d'Axel.

Vous l'aurez compris, la première souris KO que nous avons générée avait une double invalidation, l'invalidation génique programmée pour le facteur de transcription *Usf2*, on l'aurait presque oublié, mais également, du fait de sa proximité dans le génome, l'invalidation « fonctionnelle » du gène codant l'hepcidine, que nous ne soupçonnions pas... Il faut savoir effectivement qu'alors, on n'éliminait pas les cassettes de sélection insérées dans le génome des cellules ES, ce qui pouvait aboutir à des altérations importantes de la chromatine et donc déréguler l'expression des gènes environnants (mais je vous parle d'une époque révolue à l'aire du CRISPR/Cas9 !...). Encore fallait-il publier ces résultats en essayant de convaincre la communauté scientifique que le phénotype de surcharge en fer observé n'était pas dû au déficit en *Usf2* mais au déficit en hepcidine. Pour cela, nous n'avons pas hésité à demander l'aide de nos compétiteurs américains de l'époque qui avaient également généré des souris KO pour le gène *USF2*, mais avec une cassette de sélection placée à un autre endroit du locus *USF2*. Après analyse des « souris américaines », celles-ci n'ont révélées aucune surcharge en fer, nous permettant d'éliminer l'hypothèse d'un rôle d'*Usf2* dans l'étiologie de cette surcharge. Le papier est alors rédigé, envoyé à PNAS³ et publié rapidement, avec pour commentaire du Reviewer « *This is a provocative and important paper. Nicolas and colleagues noted that *Usf2* KO mice develop iron overload and then built a strong case to support the idea that hepcidin is involved in the regulation of iron metabolism. While it is still formally possible that they are*

mistaken, I think it is extremely likely that they are correct ». On est en 2002, il y a alors trois articles sur l'hepcidine dans PubMed. Aujourd'hui il y en a plus de 5 000 !

Après l'observation du phénotype de surcharge en fer des souris KO pour *USF2*, l'histoire s'est écrite très vite, rythmée par des discussions scientifiques animées, des expériences qui s'enchaînaient pour essayer de tester les nombreuses hypothèses avancées, relever les défis, toujours dans la bonne humeur, le respect de chacun, et une grande bienveillance. Il fallait aller vite. Et ne pas se tromper. Il nous fallait comprendre la régulation de l'expression de l'hormone, identifier sa structure et sa biologie, comprendre son mode d'action et son interaction avec son récepteur, la ferroportine, identifier les connexions avec les gènes déjà impliqués dans les hémochromatoses ou les anémies génétiques (qui se sont révélés être des régulateurs de l'expression du gène *HAMP*, *HFE*, *TMPRSS6*), etc. Axel se montrait extrêmement curieux et impatient. Une fois l'expérience conçue et programmée, il n'avait de cesse de venir dans le laboratoire et nous demander : « Alors ?... ». Et il fallait parfois lui rappeler que, non, Axel, une souris transgénique, cela ne se fait pas en une semaine... Mais on aimait cette stimulation, l'effervescence des débats, nos réunions de travail avec nos collègues de Bichat qui se terminaient souvent en éclats de rire !

Puis il y a eu la communication vers le grand public. Inutile d'aller chercher la presse, la presse est venue à nous ! Pour Axel, un communicant né, frayer avec les journalistes était un jeu d'enfant. La presse radio ou télévisuelle ne s'y trompait pas, qui le sollicitait tant sur différents sujets, puisqu'une seule prise suffisait toujours !



Axel lors d'un déjeuner qu'il avait organisé au laboratoire (l'U. 129) pour fêter l'arrivée des premières souris KO « made in Cochon » !

³ PNAS, Proceedings of the National Academy of Sciences USA.

Axel a su impulser cette histoire, avançant à vive allure, embarquant dans son sillon, avec l'énergie que nous lui connaissons, toute une équipe, qui en gardera, avec émotion, de nombreux souvenirs. De cette découverte, il disait « il s'agit de l'une des avancées les plus significatives de ces dernières années en matière biomédicale ». Et cette hormone, qui était recherchée depuis des décennies, a tenu promesse !

La découverte du rôle de l'hepcidine dans l'homéostasie du fer a changé notre regard sur la physiopathologie des maladies liées à des désordres du fer et la liste de ces maladies ne cesse de s'agrandir. Elle a en outre favorisé le développement de nouvelles méthodes diagnostiques et thérapeutiques et différents essais cliniques fondés sur l'axe hepcidine-ferroportine sont aujourd'hui en cours.

À un journaliste qui lui demandait quelle était son occupation préférée, Axel avait répondu « prendre un programme intellectuel et avoir l'impression que je le fais avancer ». Mission accomplie ! ♦

RÉFÉRENCES (les premiers papiers de l'histoire)

1. Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, Beaumont C, Grandchamp B, Kahn A, Vaulont S. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 8780-5.
2. Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, Mativet S, Beaumont C, Grandchamp B, Sirito M, Sawadogo M, Kahn A, Vaulont S. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ; 99 : 4596-601.

3. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 2002 ; 110 : 1037-44.
4. Nicolas G, Viatte L, Lou DQ, Bennoun M, Beaumont C, Kahn A, Andrews NC, Vaulont S. Constitutive hepcidin expression prevents iron overload in a mouse model of hemochromatosis. *Nat Genet* 2003 ; 34 : 97-101.
5. Lou DQ, Nicolas G, Lesbordes JC, Viatte L, Grimber G, Szajnert MF, Kahn A, Vaulont S. Functional differences between hepcidin 1 and 2 in transgenic mice. *Blood* 2004 ; 103 : 2816-21.
6. Nicolas G, Andrews NC, Kahn A, Vaulont S. Hepcidin, a candidate modifier of the hemochromatosis phenotype in mice. *Blood* 2004 ; 103 : 2841-3.
7. Viatte L, Lesbordes-Brion JC, Lou DQ, Bennoun M, Nicolas G, Kahn A, Canonne-Hergaux F, Vaulont S. Deregulation of proteins involved in iron metabolism in hepcidin-deficient mice. *Blood* 2005 ; 105 : 4861-4.
8. Nicolas G, Hetet G, Vaulont S, Grandchamp B, Beaumont C. Deregulation of proteins involved in iron metabolism in hepcidin-deficient mice. *FEBS Lett* 2004 ; 574 : 187-91.
9. Lou DQ, Lesbordes JC, Nicolas G, Viatte L, Bennoun M, Van Rooijen N, Kahn A, Renia L, Vaulont S. Iron- and inflammation-induced hepcidin gene expression in mice is not mediated by Kupffer cells in vivo. *Hepatology* 2005 ; 41 : 1056-64.
10. Vaulont S, Lou DQ, Viatte L, Kahn A. Of mice and men: the iron age. *J Clin Invest* 2005 ; 115 : 2079-82.



Sophie

Sophie Vaulont
sophie.vaulont@inserm.fr



Axel et ses souris !



Axel dans son bureau de l'Institut Cochin, avec la photo de son père derrière lui.