

Un modèle murin de tyrosinémie : correction in vivo par des mutations somatiques

L'évolution favorable spontanée de certaines maladies génétiques est parfois secondaire à une inversion somatique touchant des tissus ayant une capacité de régénération importante. Parmi les mécanismes impliqués, on distingue des recombinaisons mitotiques intragéniques comme dans le syndrome de Bloom [1], la correction de mutations ponctuelles, décrite chez des patients atteints de déficit en adénosine désaminase [2] ou d'épidermolyse bulleuse [3], ou encore la création d'un décalage du cadre de lecture observée dans un cas de syndrome de Wiskott-Aldrich [4]. Tous ces cas ont en commun la restauration de la synthèse d'une protéine normale. Deux équipes américaines décrivent, dans un modèle murin de tyrosinémie de type 1, un mécanisme nouveau d'inversion somatique résultant de modifications génétiques, non plus de l'allèle mutant, mais de celui d'un gène situé en amont de la même voie métabolique [5].

Deux maladies génétiques liées à des déficits enzymatiques dans la voie du catabolisme de la tyrosine sont connues (figure 1). La tyrosinémie héréditaire de type 1 est due à un déficit en fumarylacétoacétate hydroxylase (FAH), enzyme impliquée dans la dernière étape du catabolisme de la tyrosine (*m/s* 1999, n° 15, p. 706). C'est une maladie infantile grave, marquée par des altérations des fonctions hépatiques et rénales et un risque très élevé d'hépatocarcinome. Cette toxicité hépatique a été attribuée à l'accumulation de deux métabolites alkylants, le maléylacétoacétate (MAA) et le fumarylacétoacétate (FAA). Le seul traitement pharmacologique existant à l'heure actuelle repose sur le NTBC (2-(2-nitro-4-fluoro-méthylbenzoyl)-1,3-cyclohexanedione), un inhibiteur

de la HPD (hydroxyphénylpyruvate-dioxygénase). Il a cependant l'inconvénient d'élever la tyrosinémie, d'où un risque important d'ulcère de la cornée et de troubles neurologiques, et, de surcroît, ne semble pas empêcher l'apparition d'hépatocarcinomes. Le déficit en acide homogentisique dioxygénase (HGD) est en revanche une maladie moins sévère qui, de plus, n'entraîne pas d'hyper-tyrosinémie. Le métabolite accumulé est en effet l'acide homogentisique qui subit une oxydation et peut ainsi être éliminé dans l'urine sous forme d'un pigment noir ou se déposer dans différents tissus de l'organisme. A partir de ces observations, les auteurs ont fait l'hypothèse selon laquelle un traitement de la tyrosinémie héréditaire de type 1 fondé sur l'inhibition du HGD pourrait être moins toxique que le traitement habituel par le NTBC, qui inhibe le HPD [7]. Deux modèles murins ont été utilisés: les souris *Aku* (*Hgd^{Aku}/Hgd^{Aku}*) dont le gène *Hgd* muté induit la synthèse d'une protéine tronquée, et chez lesquelles on observe une accumulation d'acide homogentisique, et les souris dont le gène *Fah* (*Fah^{-/-}*) a été invalidé qui meurent en l'absence de traitement par le NTBC. Par croisement de ces animaux, les auteurs ont voulu connaître l'action d'un blocage de la HGD sur le phénotype sévère de la tyrosinémie héréditaire de type 1.

Trois lignées de souris ont donc été obtenues : doubles mutants (*Fah^{-/-}, Hgd^{Aku}/Hgd^{Aku}*), hétérozygotes pour la mutation de *Hgd* (*Fah^{-/-}, Hgd^{Aku}/Hgd^{wt}*) et simples mutants (*Fah^{-/-}, Hgd^{wt}/Hgd^{wt}*). Tous les animaux ont été traités par le NTBC pendant 2 à 4 mois ; le traitement a ensuite été interrompu et les animaux sacrifiés 4 semaines plus tard. Les doubles mutants étaient alors en

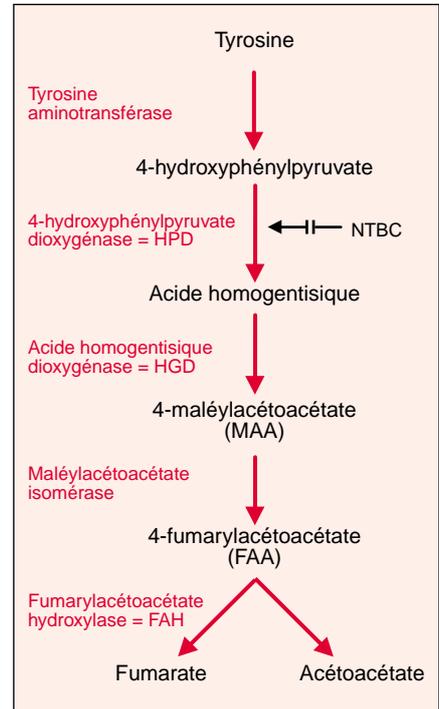


Figure 1. **Voie catabolique de la tyrosine.** Le déficit en fumarylacétoacétate (FAA) est responsable de la tyrosinémie héréditaire de type 1, très sévère, dont le traitement repose sur l'emploi du NTBC, un inhibiteur de la HPD (hydroxyphénylpyruvate dioxygénase) qui augmente cependant la tyrosinémie. Le déficit en acide homogentisique 1,2 dioxygénase (HGD) a des conséquences beaucoup moins graves.

bonne santé, et leur foie avait une apparence normale hormis la présence de quelques cellules inflammatoires. Les résultats ont été confirmés chez des souris maintenues en vie, en l'absence de traitement, pendant plus d'un an. On avait donc la preuve que bloquer la voie catabolique de la tyrosine au niveau de l'enzyme HGD pro-

tège la fonction hépatique, sans augmenter la tyrosinémie. Dans les deux autres groupes, en revanche, les animaux étaient malades et l'on observait une perte de poids, des perturbations de la fonction hépatique avec, à l'examen histologique, des zones d'inflammation, de nécrose et de dysplasie, et une augmentation de la tyrosinémie. De plus, le rein, sain chez les doubles mutants, présentait des lésions tubulaires dans les autres lignées.

Un résultat inattendu fut cependant observé. Quelques animaux hétérozygotes pour la mutation de *Hgd* étaient moins malades, et leurs résultats fonctionnels se rapprochaient de la normale. Chez ces souris, l'examen histologique du foie montrait l'existence de nodules apparemment sains, constitués d'hépatocytes fonctionnels, qu'on ne retrouvait chez aucun simple mutant. L'hypothèse des auteurs a alors été celle de l'apparition, au niveau de ces nodules, d'une mutation somatique inactivant l'allèle *Hgd* sauvage de ces animaux hétérozygotes, et produisant, de ce fait, des cellules doubles mutants susceptibles de proliférer en nodules sains. Ces mutations pourraient être secondaires aux effets mutagènes des substrats alkylants, FAA ou MAA. Elles auraient donc créé une cohorte de souris rescapées, et plusieurs animaux ont en effet survécu et récupéré leur poids normal en l'absence de traitement.

Pour confirmer cette hypothèse, les auteurs ont recherché des mutations dans les nodules d'apparence saine de trois souris hétérozygotes au locus *Hgd* [5]. Ils ont en effet identifié, à partir d'ARN et d'ADN extraits de sections hépatiques, des mutations multiples (délétions, insertions et mutations faux sens) de l'allèle *Hgd* sauvage. Ces mutations, plusieurs chez le même animal, aboutissent à la synthèse d'une protéine tronquée non fonctionnelle, et ce sont ces cellules mutantes sur les deux allèles *Hgd* qui sont probablement à l'origine de la repopulation du foie par des hépatocytes sains [6]. Il ne s'agit donc pas d'une inversion somatique, comme celles décrites habituellement, mais d'une mutation supprimant le phénotype. Une inversion de ce type avait déjà été observée, à titre de modèle, chez l'*Aspergillus* [7]. C'est cependant la première fois qu'elle est décrite *in vivo* chez un mammifère.

Un mécanisme semblable peut-il être imaginé pour expliquer les cas de guérison spontanée de certaines maladies génétiques ? Si des mutations variées, sur une même voie métabolique, ont le même résultat, le cas pourrait être moins rare que celui d'une inversion vraie qui, elle, est exceptionnelle. La multiplicité des mutations retrouvées dans cette étude semble justifier cette hypothèse.

Dominique Labie

Inserm U. 129, CHU Cochin, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75674 Paris Cedex 14, France.

1. Ellis NA, Lennon DJ, Proytcheva M, Alhadeff B, Henderson EE, German J. Somatic intragenic recombination within the mutated locus *BLM* correct the high sister-chromatid exchange phenotype of Bloom syndrome cells *Am J Hum Genet* 1995 ; 57 : 1019-27.
2. Hirschhorn R, Yang DR, Puck JM, Huie ML, Jiang CK, Kurlandsky LE. Spontaneous *in vivo* reversion of an inherited mutation in a patient with adenosine deaminase deficiency. *Nat Genet* 1996 ; 13 : 290-5.
3. Jonkman MF, Scheffer H, Stulp R, *et al*. Revertant mosaicism in epidermolysis bullosa caused by mitotic gene conversion. *Cell* 1997 ; 88 : 543-51.
4. Ariga T, Yamada M, Sakiyama Y. A case of Wiskott-Aldrich syndrome with dual mutations in exon 10 of the *WASP* gene : an additional *de novo* one-base insertion, which restores frame shift due to an inherent one-base deletion, detected in the major population of the patient's peripheral blood lymphocytes. *Blood* 1998 ; 92 : 699-701.
5. Manning K, Al-Dhalimy M, Finegold M, Grompe M. *In vivo* suppressor mutations correct a murine model of hereditary tyrosinemia type 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 ; 96 : 11928-33.
6. Overturf K, Al-Dhalimy M, Tanguay R, *et al*. Hepatocytes corrected by gene therapy are selected *in vivo* in a murine model of hereditary tyrosinaemia type 1. *Nat Genet* 1996 ; 12 : 266-73.
7. Fernandez-Canon JM, Penalva MA. Fungal metabolic model for human type I hereditary tyrosinaemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995 ; 92 : 9132-6.