

## Un gène de la maladie de Hirschsprung localisé sur le bras long du chromosome 10 : une brèche dans le modèle multifactoriel des malformations de l'enfant

La maladie de Hirschsprung a plus de cent ans [1]. Elle a été décrite en 1887 par Harald Hirschsprung, un clinicien danois, chez des enfants présentant une occlusion néonatale fatale avec dilatation colique majeure. Pendant près de soixante ans, le mégacôlon congénital a été considérée comme la cause de la maladie jusqu'à ce que Bodian (Londres, GB) démontre chez ces enfants l'absence des cellules neuronales qui assurent l'innervation intrinsèque des couches musculuses de l'intestin et donc le péristaltisme intestinal. Dès lors, ce furent l'absence de ces cellules des plexus nerveux intrinsèques qui définirent la maladie de Hirschsprung ainsi que ses signes histologiques indirects (hypertrophie des terminaisons nerveuses parasympathiques au voisinage de ces plexus ganglionnaires dépeuplés [2]).

Cette maladie est fréquente : elle touche 1 enfant sur 5 000 [3, 4]. Les progrès des techniques chirurgicales, dans lesquelles plusieurs groupes français ont joué un rôle déterminant (opération de Duhamel, travaux du groupe de D. Pellerin), ont permis un bien meilleur pronostic, au prix d'une résection recto-colique étendue [5].

Selon le modèle physio-pathologique le plus plausible, les cellules ganglionnaires autonomes migrent des crêtes neurales troncales (somites 1 à 7) le long du tube digestif. La migration de ces cellules s'effectue de façon cranio-caudale, les cellules neurales pénétrant l'intestin antérieur par son extrémité crâniale, œsophagienne, et migrant progressivement jusqu'à son extrémité terminale, anale. Cette hypothèse repose sur les caractéristiques cytologiques et enzymologiques de ces cellules, ainsi que sur l'étude de la migration des cellules neurales dans le modèle expérimental chimère caille-poulet étudié par M.-A. Teillet dans le groupe de N. Le Douarin [6]. Cette

migration cranio-caudale explique que l'atteinte de l'intestin terminal soit constante, alors que l'extrémité supérieure de la zone pathologique est variable, définissant les formes classiques (formes recto-sigmoïdiennes, 80 % des cas) et les formes longues de la maladie, étendues parfois à l'ensemble du côlon, voire aux premières anses grêles (formes coliques, 20 % des cas). L'origine de ces cellules conduit donc à rattacher la maladie de Hirschsprung au vaste groupe des neurocristopathies [7].

Si, dans la majorité des cas, la maladie de Hirschsprung est sporadique, on sait de longue date que des facteurs génétiques jouent un rôle important dans sa survenue [4, 8]. Les arguments sont les suivants :

- une récurrence plus élevée que ne le voudrait le hasard dans la fratrie d'un enfant atteint (5 à 19 % selon les cas [4, 8]) ;
  - des pedigrees évoquant une transmission verticale de la maladie [9] ;
  - l'association connue de la maladie de Hirschsprung avec d'autres maladies génétiquement déterminées : anomalies chromosomiques (trisomie 21, micro-délétions du chromosome 13 [10, 11], autres atteintes de la crête neurale comme le syndrome de Waardenbrug [12]) ;
  - les analyses de ségrégation dans de grandes séries invitant à envisager un modèle multifactoriel duquel se dégagerait un gène autosomique dominant majeur, de faible pénétrance [8] ;
  - et, enfin, les modèles animaux de méga-côlon aganglionique qui se comportent chez la souris comme des caractères mendéliens (souris *lethal spotted*, *dominant spotting*, ou *piebal lethal* [13]).
- En l'absence d'approches biochimiques, plusieurs groupes ont entrepris, dès 1990, la cartographie primaire de la maladie de Hirschsprung, en s'appuyant sur le recueil de familles

informatives, comportant au moins deux individus atteints. De nombreuses localisations candidates ont été successivement exclues : chromosomes 21, 13 et gènes jouant un rôle dans le développement des cellules de la crête neurale (famille *pax*). A cet égard, il est intéressant de noter que le gène *Hox 1.4*, localisé sur le chromosome 7, a été exclu alors que son expression dérégulée chez l'animal transgénique suggérerait un modèle de mégacôlon aganglionique [14]. De surcroît, ces travaux fastidieux de cartographie étaient rendus plus difficiles par la petite taille des familles et la faible informativité des sondes polymorphes classiques.

Récemment, la description d'une patiente italienne atteinte de maladie de Hirschsprung colique totale et présentant une délétion importante de la région proximale du bras long du chromosome 10 a alerté sur une nouvelle région candidate [15]. Dès lors, deux outils devenaient disponibles :

- des hybrides somatiques homme-rongeur retenant le chromosome 10 normal ou le chromosome 10 délété de cette enfant, pour une cartographie physique fine des sondes moléculaires localisées dans la délétion ;
- le panel de microsatellites humains développé par le groupe de J. Weissenbach à l'Institut Pasteur et au Généthon, autorisant d'escompter une informativité élevée [16].

Les résultats positifs viennent d'être récemment publiés dans la revue *Nature Genetics* [17]. L'étude de 15 familles de maladie de Hirschsprung (9 formes familiales longues ou mixtes, et 6 formes familiales courtes) a permis d'obtenir un *lod score* significatif avec plusieurs marqueurs micro-satellites de la région proximale du bras long du chromosome 10 (*lod score* maximum de 4,36 à une fraction de recombinaison de 4 % au locus D10S196). Il est inté-

ressant de noter que les paramètres génétiques utilisés pour cette étude possèdent un gène autosomique dominant à pénétrance variable (pénétrance de 0,66 chez les garçons et de 0,51 chez les filles). Cette analyse combinée à la cartographie physique de la délétion permet de conclure à la présence d'un gène de la maladie de Hirschsprung en position 10q11.2 (*locus* HSCR1).

Cette information constitue un premier pas vers le démantèlement génétique de la maladie de Hirschsprung. De fait, la localisation primaire du gène HSCR1 autorise logiquement d'entreprendre une étude de la région 10q11.2 à la recherche des séquences exprimées et conservées. Cependant, cette approche lourde de clonage positionnel est rendue plus délicate encore par la faible pénétrance du gène qui rend hasardeuse la cartographie génétique fine. A l'opposé, l'approche gène-candidat peut se révéler prometteuse. Plusieurs gènes d'intérêt sont déjà localisés dans cette région et, singulièrement, le proto-oncogène *c-ret* de la famille des récepteurs tyrosine kinase [18]. Récemment, il a été démontré que des mutations du domaine transmembranaire de ce proto-oncogène sont responsables d'endocrinopathies néoplasiques multiples (MEN2A) dont le gène avait été localisé de longue date dans cette même région [19]. Ces mutations activatrices de *c-ret* provoquent une transformation tumorale des dérivés de la crête neurale : carcinomes médullaires de la thyroïde et phéochromocytomes. Il s'agit du premier exemple de mutations promotrices de tumeur d'un gène dominant. Malgré cela, il ne semble pas impossible que le même gène puisse être un candidat majeur pour la maladie de Hirschsprung, compte tenu de son expression dans la crête neurale, de sa localisation physique et de nos toutes dernières données de cartographie génétique qui en font le *locus* polymorphe de la région le plus voisin du gène HSCR1 (*lod score* de 6,15 à 0 % de recombinaison, P. Edery *et al.*, soumis). Naturellement, il devrait s'agir alors de mutations inactivatrices dont on peut imaginer le rôle précoce dans l'embryogenèse et le développement des cellules neurales intestinales. A l'appui de cette hypothèse, on peut placer l'association MEN2 et maladie de Hirschsprung décrite dans certaines

familles [20], et surtout le *knock-out* du gène *c-ret* qui entraînerait des agénésies rénales, mais aussi une absence complète d'innervation intrinsèque du tube digestif chez la souris (V. Pachnis *et al. sous presse*).

Sur le plan clinique, cette localisation soulève la question de savoir si les formes courtes sont le témoin d'une hétérogénéité génétique [8] ou, au contraire, d'une expression variable des mutations du même gène (polyallélisme ou expression restreinte de mutations identiques). L'existence d'enfants atteints de formes longues et courtes dans une même famille tendrait à accréditer cette dernière hypothèse (P. Edery *et al.*, soumis). Toutefois, cette homogénéité génétique serait une surprise car la maladie de Hirschsprung a été considérée, de longue date, comme un modèle d'hérédité multifactorielle. Qu'en est-il alors des formes apparemment sporadiques, qui restent de loin les plus fréquentes ?

Quant aux modèles animaux, aucun des gènes des mutants murins cités plus haut n'est localisé sur le génome murin dans une région synténique de la région proximale du chromosome 10 humain. Cette observation, ainsi que la coexistence indéniable de la maladie de Hirschsprung avec d'autres anomalies génétiques (notamment les délétions interstitielles du bras long du chromosome 13) laissent penser que plusieurs gènes pourraient être responsables de cette maladie.

Ainsi, c'est une fois encore l'étude des maladies qui pourrait conduire à résoudre certaines questions importantes de biologie cellulaire et d'embryologie moléculaire comme, par exemple, la nature des gènes impliqués dans la multiplication, la migration et la différenciation des cellules de la crête neurale. Cependant, il n'est pas du tout exclu que le gène HSCR1 joue plus volontiers un rôle dans l'implantation de ces cellules et qu'il puisse coder pour un facteur intestinal, ce qui, tout compte fait, expliquerait mieux l'étrange « affinité » de cette neurocristopathie pour l'intestin primitif...

S. L.  
P. E.  
C. N.-F.  
A. M.  
et le C.F.M.H.

- Hirschsprung H. Stuhlträchtigkeit Neugeborener infolge von Dilatation und Hypertrophie des colons. *Jb Kinderheilk* 1887 ; 27 : 1.
- Nézelof C, Leborgne M. Diagnostic histopathologique de la maladie de Hirschsprung. *Ann Gastroentérol Hépatol* 1984 ; 20 : 125-8.
- Bodian M, Carter CO. A family study of Hirschsprung disease. *Ann Hum Genet* 1963 ; 26 : 261-77.
- Passarge E. The genetics of Hirschsprung disease. *N Engl J Med* 1987 ; 276 : 138-43.
- Nihoul-Fékété C, Ricour C, Martelli H, Lortat-Jacob S, Pellerin D. Total colonic aganglionosis (with or without ileal involvement) : a review of 27 cases. *J Pediatr Surg* 1986 ; 21 : 251-4.
- Le Douarin N, Teillet MA. The migration of neural crest cells to the wall of the digestive tract in avian embryo. *J Embryol Exp Morphol* 1973 ; 30 : 31-48.
- Bolande RP. The neurocristopathies : a unifying concept of disease arising in neural crest maldevelopment. *Hum Pathol* 1973 ; 5 : 409-29.
- Badner JA, Sieber WK, Garver KL, Chakravarti A. A genetic study of Hirschsprung disease. *Am J Hum Genet* 1990 ; 46 : 568-80.
- Lipson AH, Harvey J. Three-generation transmission of Hirschsprung's disease. *Clin Genet* 1987 ; 32 : 175-8.
- Emanuel B, Padorr MP, Swenson O. Mongolism associated with Hirschsprung's disease. *J Pediatr* 1965 ; 66 : 437-9.
- Bottani A, Xie Y, Binkert F, Schinzel A. A case of Hirschsprung disease with a chromosome 13 microdeletion, del(13)(q32.3q33.2) : potential mapping of one disease locus. *Hum Genet* 1991 ; 87 : 748-50.
- Omenn GS, McKusick VA. The association of Waardenburg syndrome and Hirschsprung megacolon. *Am J Med Genet* 1979 ; 3 : 217-23.
- Cass DT, Ling Z, Morthrope J. Aganglionosis in rodents. *J Pediatr Surg* 1992 ; 27 : 351.
- Wolgemuth J, Behringer R, Mostoller MP, Brinster L, Palmiter D. Transgenic mice overexpressing the mouse homoeobox-containing gene *Hox-1.4* exhibit abnormal gut development. *Nature* 1989 ; 337 : 464-7.
- Martucciello G, Bicochi MP, Dodero P, *et al.* Total colonic aganglionosis associated with interstitial deletion of the long arm of chromosome 10. *Pediatr Surg Int* 1992 ; 7 : 308-10.
- Weissenbach J, Gyapay GE, Dib C, *et al.* Second generation genetic linkage map of the human genome. *Nature* 1992 ; 359 : 794-801.
- Lyonnet S, Bolino A, Pelet A, *et al.* A gene for Hirschsprung disease maps to the proximal long arm of chromosome 10. *Nature Genet* 1993 (sous presse).
- Takahashi M, Burna Y, Iwamoto T, Inaguma Y, Ikeda H. Cloning and expression of the *ret* proto-oncogene encoding a tyrosine kinase with two potential transmembrane domains. *Oncogene* 1988 ; 3 : 571-8.
- Mulligan I, Kwok JBJ, Healey CS, *et al.* Germ-like mutations of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2A. *Nature* 1993 ; 363 : 458-60.
- Verdy M, Weber AM, Royer CC, *et al.* Hirschsprung's disease in a family with multiple endocrine neoplasia type 2. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1982 ; 1 : 603-7.