

M/S : médecine sciences



Une haplo-insuffisance de *Fli1* à l'origine de la thrombopénie Paris-Trousseau

Fli1 haploinsufficiency underlies Paris-Trousseau thrombopenia

Hana Raslova, Rémi Favier, Olivier Albagli et William Vainchenker

Volume 20, numéro 11, novembre 2004

URI : <https://id.erudit.org/iderudit/009694ar>

[Aller au sommaire du numéro](#)

Éditeur(s)

SRMS: Société de la revue médecine/sciences
Éditions EDK

ISSN

0767-0974 (imprimé)
1958-5381 (numérique)

[Découvrir la revue](#)

Citer cet article

Raslova, H., Favier, R., Albagli, O. & Vainchenker, W. (2004). Une haplo-insuffisance de *Fli1* à l'origine de la thrombopénie Paris-Trousseau. *M/S : médecine sciences*, 20(11), 962–964.

Tous droits réservés © M/S : médecine sciences, 2004

Ce document est protégé par la loi sur le droit d'auteur. L'utilisation des services d'Érudit (y compris la reproduction) est assujettie à sa politique d'utilisation que vous pouvez consulter en ligne.

<https://apropos.erudit.org/fr/usagers/politique-dutilisation/>

érudit

Cet article est diffusé et préservé par Érudit.

Érudit est un consortium interuniversitaire sans but lucratif composé de l'Université de Montréal, l'Université Laval et l'Université du Québec à Montréal. Il a pour mission la promotion et la valorisation de la recherche.

<https://www.erudit.org/fr/>

Une haplo-insuffisance de *Fli1* à l'origine de la thrombopénie Paris-Trousseau

Hana Raslova, Rémi Favier, Olivier Albagli, William Vainchenker

> Le syndrome Paris-Trousseau (PTS), également connu sous le nom de syndrome de Jacobsen, est un désordre congénital associant des anomalies telles qu'un retard mental modéré et un retard de croissance postnatale, une cardiopathie, une dysmorphie faciale avec hypertélorisme et trigonocéphalie [1]. Il est accompagné d'une dysmégacaryopoïèse et d'une thrombopénie avec un nombre élevé dans la moelle osseuse de mégacaryocytes (MK) de petite taille (microMK), fréquemment apoptotiques, et la présence dans le sang périphérique de plaquettes contenant des granules α géants incapables de libérer leur contenu lors de l'activation par la thrombine [2]. Une délétion de la partie terminale du bras long du chromosome 11 avec un point de cassure en 11q23.3-24 est toujours présente chez les malades. Deux facteurs de transcription apparentés, *Ets1* et *Fli1*, capables de transactiver de nombreux gènes mégacaryocytaires (*GPIIb*, *c-mpl*, *PF4*, *GPIX*, *GPIb- α*), sont localisés dans la région déléetée. Leur délétion pouvait donc être considérée comme potentiellement responsable de la thrombopénie [3, 4]. De ces deux facteurs de transcription, *Fli1* présente un intérêt particulier: les souris homozygotes *Fli1*^{-/-} présentent un nombre élevé de microMK immatures synthétisant des granules α anormaux. La désorganisation des membranes de démarcation des plaquettes est également un point commun entre les malades Paris-Trousseau et les souris *Fli1*^{-/-} [3, 5]. En revanche, *Ets1* ne semble pas essentiel pour la mégacaryopoïèse,

puisque les souris *Ets1*^{-/-} ont une différenciation mégacaryocytaire normale alors que d'autres défauts hématopoïétiques, essentiellement sur les lignées lymphoïdes, sont présents [6]. Confirmant un rôle prédominant de *Fli1* dans les MK, nous avons démontré que son expression y est environ 100 fois plus élevée que celle de *Ets1* [7]. L'ensemble de ces données suggère que la délétion hémizygote de *Fli1*, et non celle de *Ets1*, est responsable de la thrombopénie chez les malades présentant un syndrome Paris-Trousseau. À l'appui de cette hypothèse, nous avons mis en évidence, *in vitro*, que le transfert d'ADNc de *Fli1* dans les progéniteurs hématopoïétiques (CD34⁺) des malades restaure, au moins partiellement, la maturation des MK [7].

Quel est le mécanisme de l'haplo-insuffisance de *Fli1* chez les malades atteints du syndrome Paris-Trousseau ?

La présence de deux sous-populations distinctes de MK dans la moelle osseuse des malades, l'une composée de MK normaux et l'autre de microMK, nous a conduits à nous demander pourquoi une seule copie de *Fli1* suffit pour permettre la maturation de la première sous-population, mais pas de la seconde ? Il apparaissait vraisemblable que ces deux sous-populations expriment différemment l'allèle restant de *Fli1*, cette expression atteignant un niveau suffisant dans les MK normaux, mais demeurant trop faible, ou nulle, dans les microMK. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons cherché à examiner s'il existait deux sous-popula-

H. Raslova, O. Albagli,
W. Vainchenker: Inserm U.362,
Institut Gustave Roussy,
39, rue Camille Desmoulins,
94805 Villejuif, France.
R. Favier: Service
d'Hématologie biologique,
Hôpital Armand Trousseau,
26, avenue du Docteur
Arnold Netter,
75571 Paris Cedex 12, France.
hraslova@igr.fr

tions, du point de vue de l'expression de *Fli1*, parmi les MK des malades. La technique de RT-PCR à l'échelon unicellulaire a montré qu'il existe effectivement deux fractions distinctes de MK au sein de la population CD41⁺CD42⁻ des malades, l'une exprimant l'ARNm *Fli1*, et l'autre non. En revanche, comme attendu, chez les sujets normaux, ayant les deux allèles de *Fli1*, tous les MK CD41⁺CD42⁻ expriment l'ARNm *Fli1*.

Il restait à expliquer cette hétérogénéité dans l'expression de *Fli1* parmi les MK des malades. Pour y parvenir, nous avons suivi l'expression allélique de *Fli1* par la méthode de FISH-ARN au cours de la mégacaryopoïèse normale et avons détecté, au sein des MK diploïdes, une phase pendant laquelle l'expression de *Fli1* est monoallélique, correspondant au stade CD41⁺CD42⁻ (Figure 1). On peut donc imaginer que l'expression mono-allélique de *Fli1* pendant une courte période de la mégacaryopoïèse entraîne, chez les malades, la genèse de deux sous-populations de MK: l'une n'exprime pas *Fli1* et est, par conséquent, incapable de se différencier; l'autre, exprimant *Fli1* à partir de l'allèle conservé, poursuit sa maturation aboutissant à une plaquetto-genèse normale (Figure 2). Ainsi la thrombopénie modérée des malades atteints d'un syndrome Paris-Trousseau reflèterait la co-existence de ces deux sous-populations de MK [7].

L'expression mono-allélique d'un gène est souvent liée à l'empreinte génomique

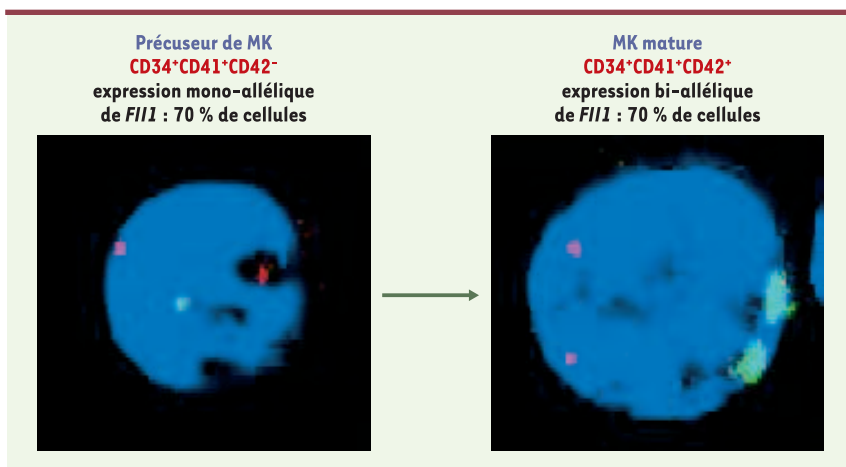


Figure 1. Expression allélique de *Fli1* au cours de la différenciation mégacaryocytaire. Les cellules $CD34^+$ isolées à partir de la cytophère des sujets normaux ont été cultivées en présence de la thrombopoïétine pendant 6 jours. Les cellules ont été triées selon les marqueurs de différenciation des mégacaryocytes ($CD34$, $CD41$, $CD42$). L'ARN nucléaire de *Fli1* (en vert) et le chromosome 12 (en rouge) sont détectés par la méthode de FISH-ARN couplée à FISH-ADN. Le nombre de spots verts indique le nombre d'allèles de *Fli1* transcrits. Le niveau de ploïdie indiquant le nombre de copies de *Fli1* dans la même cellule est déterminé par le nombre de spots rouges. La chromatine est marquée par le DAPI (bleu). L'analyse statistique de l'expression mono-/bi-allélique de *Fli1* dans les MK (mégacaryocytes) diploïdes au cours de leur différenciation montre qu'environ 70% des cellules $CD34^+CD41^+CD42^-$ expriment un seul allèle de *Fli1* alors que le même pourcentage de cellules $CD34^+CD41^+CD42^+$ expriment les deux allèles de *Fli1*, démontrant une commutation de l'expression de mono- à bi-allélique de *Fli1* au cours de la maturation des MK.

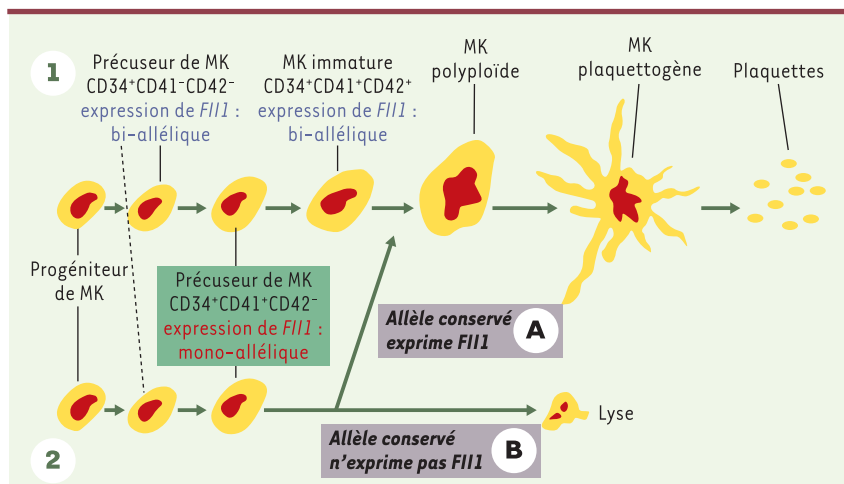


Figure 2. Différentes étapes de la mégacaryopoïèse normale (1) et de celle des malades atteints du syndrome Paris-Trousseau (PTS) (2). Au cours de la mégacaryopoïèse, les progéniteurs des mégacaryocytes (MK) acquièrent différents marqueurs de surface ($CD41$, $CD42$...), les MK matures deviennent ensuite polypléioïdes et, au stade terminal, donnent lieu à la formation de plaquettes. Dans le modèle que nous proposons, le gène codant pour le facteur de transcription *Fli1*, nécessaire à la transactivation de $CD42$, est exprimé de façon mono-allélique au stade $CD41^+CD42^-$ et son expression redevient bi-allélique au moment de l'apparition du $CD42$. Chez les malades atteints du syndrome de Paris-Trousseau, deux situations peuvent se produire au stade de l'expression mono-allélique de *Fli1*: l'une pour laquelle l'allèle conservé de *Fli1* est exprimé, permettant à la cellule de poursuivre une maturation correcte (A), et l'autre pour laquelle l'allèle conservé de *Fli1* sera éteint de façon transitoire, ce qui perturbera la différenciation et entraînera la cellule vers la lyse (B). La co-existence des MK avec et sans expression de *Fli1* pourrait expliquer la genèse de deux sous-populations de MK et la thrombopénie (modérée) liée au PTS.

au cours de l'embryogenèse [8] ou à l'exclusion allélique comme, par exemple, dans le cas des immunoglobulines [9], de certaines cytokines [10] ou des récepteurs olfactifs [11]. Dans le cas du syndrome Paris-Trousseau, la délétion en 11q23.3 concerne aussi bien l'allèle maternel que paternel [12], ce qui exclut que *Fli1* soit soumis à l'inactivation d'un allèle par empreinte génomique [8]. Deux autres mécanismes peuvent dès lors expliquer cette expression monoallélique: (1) l'expression de *Fli1* s'éteint sur un des deux allèles (chez les sujets normaux) de façon stochastique au stade $CD42^-$ de maturation des MK menant à leur ségrégation en deux sous-populations chez les malades selon le « choix » de l'allèle éteint. Cette extinction est réversible puisque, au stade suivant de différenciation ($CD42^+$), l'expression de *Fli1* redevient bi-allélique; (2) l'expression mono-allélique de *Fli1* est en réalité le reflet d'une expression intermittente et asynchrone des deux allèles de sorte qu'un seul allèle (pas forcément le même) est exprimé à un instant donné. En effet, pour d'autres gènes, la transcription apparaît comme un processus discontinu au niveau d'un seul allèle [13, 14]. La perte d'un allèle de *Fli1* pourrait ainsi également conduire à l'interruption complète, mais transitoire, de l'expression de *Fli1* dans les MK $CD41^+CD42^-$ mimant (transitoirement) une délétion homozygote du gène. Nos résultats montrent donc, confirmant une hypothèse formulée à partir de modèles mathématiques [15], que l'expression transitoirement mono-allélique d'un gène essentiel pour la différenciation, quel qu'en soit le mécanisme, pourrait être à l'origine de maladies associées à une haplo-insuffisance. ♦

Fli1 haploinsufficiency underlies Paris-Trousseau thrombopenia

RÉFÉRENCES

1. Favier R, Douay L, Esteva B, et al. A novel genetic thrombocytopenia (Paris-Trousseau) associated with platelet inclusions, dysmegakaryopoiesis and chromosome deletion at 11q23. *CR Acad Sci Paris Ser III* 1993; 316: 698-701.

2. Breton-Gorius J, Favier R, Guichard J, et al. A new congenital dysmegakaryopoietic thrombocytopenia (Paris-Trousseau) associated with giant platelet alpha-granules and chromosome 11 deletion at 11q23. *Blood* 1995; 85: 1805-14.
3. Hart A, Melet F, Grossfeld P, et al. Fli-1 is required for murine vascular and megakaryocytic development and is hemizygotously deleted in patients with thrombocytopenia. *Immunity* 2000; 13: 167-77.
4. Shivdasani RA. Molecular and transcriptional regulation of megakaryocyte differentiation. *Stem Cells* 2001; 19: 397-407.
5. Spyropoulos DD, Pharr PN, Lavenburg KR, et al. Hemorrhage, impaired hematopoiesis, and lethality in mouse embryos carrying a targeted disruption of the Fli1 transcription factor. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 5643-52.
6. Bartel FO, Higuchi T, Spyropoulos DD. Mouse models in the study of the Ets family of transcription factors. *Oncogene* 2000; 19: 6443-54.
7. Raslova H, Komura E, Le Couédic JP, et al. Fli1 monoallelic expression combined with its hemizygous loss underlies Paris-Trousseau/Jacobsen thrombopenia. *J Clin Invest* 2004; 114: 77-84.
8. Hanel ML, Wevrick R. The role of genomic imprinting in human developmental disorders: lessons from Prader-Willi syndrome. *Clin Genet* 2001; 59: 156-64.
9. Schlissel M. Allelic exclusion of immunoglobulin gene rearrangement and expression: why and how? *Semin Immunol* 2002; 14: 207-12.
10. Bix M, Locksley RM. Independent and epigenetic regulation of the interleukin-4 alleles in CD4⁺ T cells. *Science* 1998; 281: 1352-4.
11. Chess A, Simon I, Cedar H, Axel R. Allelic inactivation regulates olfactory receptor gene expression. *Cell* 1994; 78: 823-34.
12. Penny LA, Dell'Aquila M, Jones MC, et al. Clinical and molecular characterization of patients with distal 11q deletions. *Am J Hum Genet* 1995; 56: 676-83.
13. Elowitz MB, Levine AJ, Siggia ED, Swain PS. Stochastic gene expression in a single cell. *Science* 2002; 297: 1183-6.
14. Newlands S, Levitt LK, Robinson CS, et al. Transcription occurs in pulses in muscle fibers. *Genes Dev* 1998; 12: 2748-58.
15. Cook DL, Gerber AN, Tapscott SJ. Modeling stochastic gene expression: implication for haploinsufficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 15641-64.

NOUVELLE

Pharmacogénomique de l'hormone de croissance : le polymorphisme du récepteur en première ligne

Pierre Bougnères

> La génétique quantitative fait ses premiers pas chez l'homme. La variabilité individuelle d'un trait humain mesurable (taille, poids, concentration circulante d'un substrat ou d'une hormone...) comporte une part plus ou moins importante de génétique. La variabilité génétique qui différencie les individus repose sur le polymorphisme de leur ADN. Le génome humain comporte environ 14 millions de polymorphismes de « simple nucléotide » (SNP, *single nucleotide polymorphism*) ainsi que des polymorphismes variés (délétions, microsatellites, minisatellites...). Certains de ces polymorphismes - les uns codants non synonymes, les autres modifiant l'épissage, d'autres encore « régulateurs » - ont des effets fonctionnels. On commence à découvrir le rôle de ces polymorphismes. Certaines variations génomiques jouent un rôle de QTL (*quantitative trait locus*): celui-ci reste souvent encore une vaste région chromosomique de plusieurs centimorgans [1]. L'action des médicaments offre un vaste

champ d'application de la génétique quantitative. La « pharmacogénomique » est à la mode [2]. Mais les études dans ce domaine restent rares. Les médicaments ont des effets mesurables. Certains de ces effets reflètent les propriétés thérapeutiques du médicament, d'autres des conséquences indésirables liées à son emploi: par exemple, la croissance en réponse à l'hormone de croissance (GH, *growth hormone*), et l'insulino-résistance, facteur de diabète, provoquée par la même hormone. Un même variant génomique peut affecter plusieurs traits (pléiotropie). Les effets quantitatifs des variants génomiques peuvent aujourd'hui être évalués *in vivo*, directement, chez les sujets d'une cohorte de patients traités par le médicament (épidémiogénétique, études d'association). Les effets des variants suspectés induire des différences de réponse individuelle doivent être testés *in vitro* (génomique fonctionnelle). Comment trouver les variants géno-

Service d'Endocrinologie et
Inserm U.561, Hôpital Saint-
Vincent-de-Paul, 82, avenue
Denfert Rochereau,
75014 Paris, France.
pierre.bougneres@paris5.inserm.fr

miques à tester? Pour l'action des médicaments, on peut difficilement recourir à des études de liaison génétique familiales, capables d'identifier des régions (QTL) jusque-là incon- nues. En tout cas, c'est impossible pour des médicaments très spécifiques, à indications orphelines du type de l'hormone de croissance, qui ne sont administrés qu'à un membre de la famille. Pour rechercher des relations génotype-phénotype, il vaut donc mieux se tourner d'emblée vers des études d'association, directes, entre un variant éventuellement causal et le trait mesurable. Dans le cas qui nous intéresse, le trait quantitatif mesurable est la vitesse de croissance sous traitement par l'hormone de croissance. Quel variant nucléotidique tester? Le premier gène intéressant s'imposait de lui-même. En effet, il ne fallait pas être un grand devin pour imaginer que le récepteur de la GH, porteur d'un polymorphisme fréquent chez les Européens, pouvait moduler les effets physiologiques de la GH. Une étude récente réalisée dans le service d'Endocrinologie de l'hôpital Saint-Vincent-de-Paul (Paris, France) montre que les enfants porteurs