

La commutation (switch) périnatale de l'hémoglobine

Le modèle murin permet une avancée importante

La synthèse de l'hémoglobine *in vivo* est soumise à une quadruple régulation. Elle est spécifique des tissus érythroïdes ; elle se modifie au cours du développement ontogénique de l'individu, mais également au cours de la maturation érythrocytaire. Enfin la synthèse de deux sous-unités, codées sur des chromosomes différents, doit être coordonnée. Les mécanismes contrôlant ces régulations ne sont encore que partiellement compris. Leur intérêt est cependant évident, puisque leur contrôle, celui en particulier qui commande la commutation « hémoglobine fœtale → hémoglobine adulte » dans la période périnatale ou les mois qui suivent, permettrait un abord thérapeutique des maladies monogéniques actuellement les plus fréquentes au monde, c'est-à-dire les thalassémies.

L'utilisation du modèle murin que constituent les souris transgéniques a permis récemment à deux équipes américaines [1, 2], travaillant de façon indépendante, une avancée importante dans la compréhension de cette régulation au cours du développement. D'autres éléments ont été apportés au cours d'une conférence consacrée aux thalassémies (*Sixth Cooley's Anemia Symposium*, New York, 13-15 mars 1990).

Il avait été montré que l'expression d'un gène de globine humaine en souris transgénique est spécifique des tissus érythroïdes : qu'elle est également soumise à la régulation du développement, c'est-à-dire que le gène β s'exprime dans les tissus adultes et le gène γ dans les tissus embryonnaires de la souris, mais que cette expression reste faible (*m/s*, n° 1, vol. 3, p. 49). Il semble donc que des séquences *in cis*, très proches

des gènes, conditionnent ces spécificités, mais sont insuffisantes pour régler l'expression quantitative. Dans une étape ultérieure, il était montré que le transfert d'une construction comportant le gène de β globine encadré par des zones hypersensibles à la désoxyribonucléase situées normalement à distance, aux frontières du locus β , l'ensemble constituant un « mini-locus β », permettrait l'expression constitutive à un niveau élevé du gène humain transféré dans les souris transgéniques (*m/s*, n° 4, vol. 4, p. 252). Ce « mini-locus » a lui-même été précisé et la propriété *enhancer* localisée à un « micro-locus » d'environ 2 kb situé à 10-11 kb en amont du gène ϵ (LAR, *locus activating region*, ou DCR, *dominant control region*).

Des constructions un peu différentes ont été utilisées par les deux équipes dont les résultats viennent d'être publiés, et sont très comparables. Dans les deux cas, la région stimulatrice LAR/DCR est placée en amont du gène transféré chez la souris, gène adulte β ou gène fœtal γ . On constate alors que l'expression du gène transféré se fait à un niveau élevé, mais a perdu sa spécificité dans le temps : le gène adulte s'exprime déjà dans les tissus embryonnaires, l'expression du gène γ persiste dans les tissus adultes. Cet état de choses est paradoxal puisque *in vivo*, dans une structure chromosomique comportant l'élément LAR/DCR, l'expression de ces gènes est correctement contrôlée aux diverses étapes du développement.

Pour retrouver une régulation dans le temps, des constructions plus comparables aux structures existant *in vivo* ont été utilisées, dans lesquelles le LAR/DCR était placé en amont

d'un segment d'ADN contenant du gène A γ dans un cas [1] et G γ dans l'autre [2] jusqu'au gène β . Ce fragment incluait donc le pseudogène $\varphi\beta$ et le gène δ . Ces constructions ont alors été transférées à la souris. L'expression de ces gènes, étudiée à différents stades du développement, a montré que, chez l'embryon de 11 jours, seul le gène humain γ était exprimé, et que, chez la souris adulte, on ne mettait en évidence que l'expression du gène β . Dans le foie du fœtus de 14 jours, les deux gènes s'expriment comme dans la période périnatale humaine. La commutation normale du stade fœtal au stade adulte a donc été rétablie.

Il s'agit là donc d'une succession d'expériences : régulation correcte d'un gène introduit solitairement ; perte de cette régulation par couplage du gène à une séquence stimulatrice puissante qui rend son expression constitutive à tous les stades de l'ontogénie ; et restauration du contrôle dans le temps quand la séquence stimulatrice est couplée aux deux gènes simultanément dans leur contexte topographique normal. Ce modèle de compétition de différents gènes pour un même *enhancer* n'est pas sans rappeler ce qui a été décrit chez le poulet où une même séquence, située à mi-distance entre les gènes embryonnaire et adulte, interagit successivement et de façon compétitive avec l'un et l'autre promoteurs, entraînant la commutation de l'expression [3, 4]. Dans le modèle humain également, l'hypothèse la plus probable est celle d'une compétition mutuellement exclusive entre les différents gènes de la batterie β pour l'interaction avec la séquence stimulatrice LAR/DCR qui

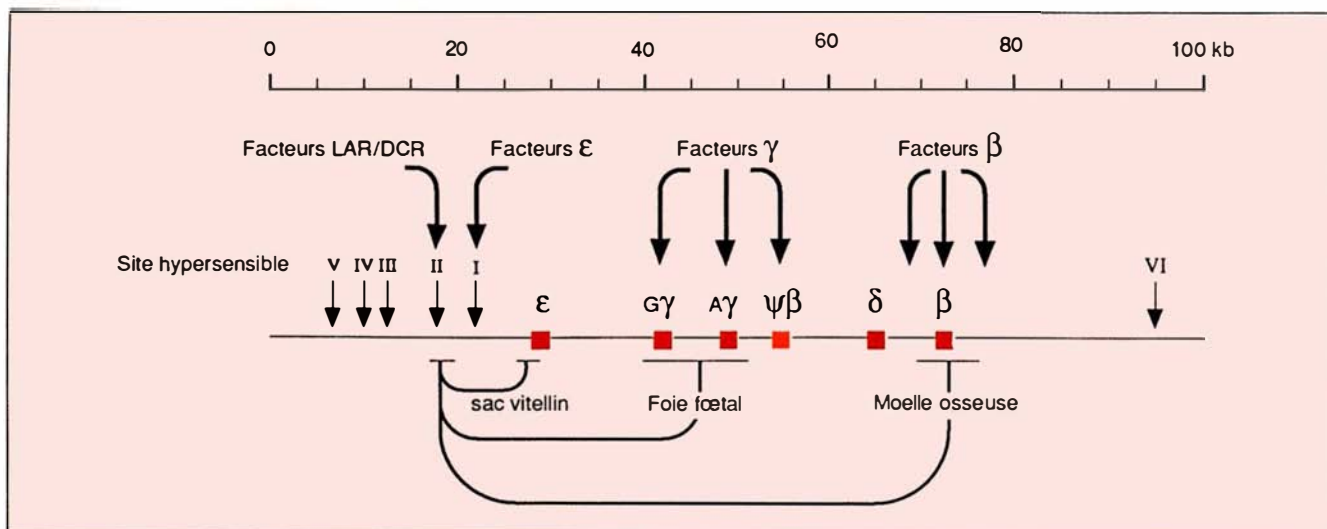


Figure 1. **Modèle général de la commutation des hémoglobines humaines au cours du développement** (d'après [2]). Selon ce modèle, des facteurs protéiques activeraient la région activatrice LAR/DCR dès les stades les plus précoces de l'érythropoïèse embryonnaire. Le complexe activateur ainsi formé interagirait de façon exclusive avec des complexes spécifiques des régions régulatrices de chaque gène du locus β : successivement, le gène ϵ (dans le sac vitellin), puis les gènes γ (dans le foie fœtal), et enfin le gène β dans la moelle osseuse. Cette chronologie serait la conséquence de l'apparition séquentielle de protéines activatrices de transcription caractéristiques de chacun de ces gènes.

n'interagit qu'avec un seul gène à la fois (figure 1). Le fait qu'un gène individuel, entouré seulement des séquences immédiatement avoisinantes, et sans le LAR/DCR, soit correctement contrôlé fait penser qu'il existe, flanquant les gènes eux-mêmes, des séquences impliquées dans la régulation dans le temps. La commutation s'expliquerait donc par l'interaction successive entre un *enhancer* stimulant fortement tout le locus β et des séquences avoisinant chaque gène, ceci par l'intermédiaire de facteurs protéiques agissant *in trans* et spécifiques de chaque stade du développement (figure 1 et *m/s*, n° 4, vol. 5, p. 252).

Une communication récente vient à l'appui de cette hypothèse (S.H. Orkin, *Sixth Cooley's Anemia Symposium*). Le facteur GF-1 (encore appelé NFE-1 (*m/s*, n° 4, vol. 5, p. 252), spécifique de tissu et dont le gène est porté par le chromosome X, a été étudié chez la souris. Son expression dans le foie fœtal précède de peu et est parallèle à celle de l'hémoglobine β^{maj} , équivalent murin de l'hémoglobine adulte humaine.

S'appuyant sur l'expression de l'hémoglobine fœtale humaine chez la souris, quelques applications prati-

ques ont pu être recherchées. Sans que cela n'équivaille à une preuve, on constate que le modèle proposé est compatible avec les observations de persistance héréditaire d'hémoglobine fœtale associées à des délétions du gène β . Dans un autre ordre d'idées, on a constaté que les souris dont le transgène est le gène $A\gamma$, sous le contrôle du LAR/DCR, sont sensibles aux inductions pharmacologiques : butyrate, érythropoïétine, mais aussi 5-azacytidine, hydroxyurée. Le traitement, comme chez l'homme, induit une synthèse d'hémoglobine fœtale variable selon sa durée. Le fragment transféré contient donc les séquences impliquées dans cette induction et les animaux pourront être utilisés pour des essais pharmacologiques (G. Stamatoyannopoulos, *Sixth Cooley's Anemia Symposium*).

D'autres recherches portent sur la définition de plus en plus précise de la séquence stimulatrice. L'activité *enhancer* stimulant le promoteur γ est actuellement localisée à 20 pb situées de façon précise à 10,9 kb en amont du gène ϵ (A. Nienhuis, *Sixth Cooley's Anemia Symposium*).

Si les mécanismes impliqués ne sont pas encore compris dans leur ensem-

ble, il est sûr que les modèles murins permettent déjà de formuler des hypothèses qui pourront être contrôlées dans un avenir proche.

Dominique Labie

Directeur de recherches à l'Inserm, Institut Cochin de génétique moléculaire, CHU Cochin, 24, rue du Fg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France

RÉFÉRENCES

1. Enver T, Raich N, Ebens AJ, Papayanopoulou T, Costantini F, Stamatoyannopoulos G. Developmental regulation of human fetal-to-adult globin gene switching in transgenic mice. *Nature* 1990 ; 344 : 309-13.
2. Behringer RR, Ryan TM, Palmiter RD, Brinster RL, Townes TM. Human γ - to β -globin gene switching in transgenic mice. *Genes & Development* 1990 ; 4 : 380-9.
3. Nickol JM, Felsenfeld G. Bidirectional control of the chicken β - and ϵ -globin genes by a shared enhancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 2548-52.
4. Baik Choi OR, Enger JD. Developmental regulation of β -globin gene switching. *Cell* 1988 ; 55 : 17-26.