

Prévenir et guérir les surcharges en fer, les espoirs de l'hepcidine

Lydie Viatte, Sophie Vaulont

Le métabolisme du fer doit être finement régulé par l'organisme car une quantité insuffisante de ce métal entraîne une anémie. À l'inverse, lorsque le fer s'accumule dans les organes, il s'avère néfaste car il conduit à la formation de radicaux libres. C'est ce qui se passe chez les patients atteints d'hémochromatose, maladie génétique extrêmement fréquente.

L'hémochromatose, conséquence de la surcharge en fer

On estime à ce jour que 180 000 français ont trop de fer dans le sang. La forme la plus courante de la maladie est de transmission autosomique récessive et se caractérise par une surcharge en fer progressive dans tout l'organisme, en particulier le foie. Les premiers hépatocytes à se surcharger en fer sont les hépatocytes situés autour des espaces portes. En effet, le fer qui s'accumule provient, d'une part, de l'absorption excessive du fer alimentaire par les entérocytes duodénaux et, d'autre part, du relargage accru du fer des macrophages essentiellement spléniques. Les signes précurseurs d'une accumulation de fer sont l'augmentation de la saturation de la transferrine et l'augmentation de la ferritine sérique. Les symptômes de la maladie sont peu spécifiques, ce qui en fait une maladie difficile à diagnostiquer en absence de mesure des marqueurs biochimiques sériques.

L'accumulation du fer dans les organes est délétère et entraîne leur dysfonctionnement. Les premiers symptômes de l'hémochromatose sont le plus souvent la fatigue et les douleurs articulaires. Par la suite,

la surcharge en fer s'aggravant, la maladie peut évoluer avec des complications variées comprenant cirrhose, hépatocarcinome, diabète, cardiomyopathie, arthrite, dérèglements endocriniens, etc. Pour éliminer la surcharge en fer, la mesure essentielle du traitement est la saignée. C'est en 1996 que le gène responsable de cette maladie a pu être identifié, il s'agit du gène *HFE*. Près de 80% des patients atteints d'hémochromatose sont porteurs de la mutation C282Y du gène *HFE* à l'état homozygote. Le modèle murin d'inactivation du gène *Hfe* reproduit les anomalies du métabolisme du fer, avec une surcharge en fer viscérale associée à une diminution de la quantité de fer des macrophages (macrophages qui sont normalement responsables du recyclage du fer des globules

L. Viatte : European Molecular Biology Laboratory, Heidelberg, EMBL, Meyerhofstrasse 1, D-69117 Heidelberg, Allemagne.

S. Vaulont : Institut Cochin, Inserm, U567, CNRS UMR 8104, Université René Descartes-Paris 5, Faculté de Médecine René Descartes, 24, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

vaulont@cochin.inserm.fr

viatte@embl.de

rouges sénescents par érythrophagocytose (Figure 2A) (pour revue, voir [1]).

Le déficit en hepcidine à l'origine de l'hémochromatose

L'hepcidine est un petit peptide de 25 acides aminés synthétisé par le foie, déversé dans la circulation sanguine et excrété par le rein. Son rôle dans le métabolisme du fer a récemment été mis en évidence (pour revue, voir [2]). Ce peptide hormonal agit en diminuant l'absorption intestinale du fer et le relargage du fer par les macrophages.

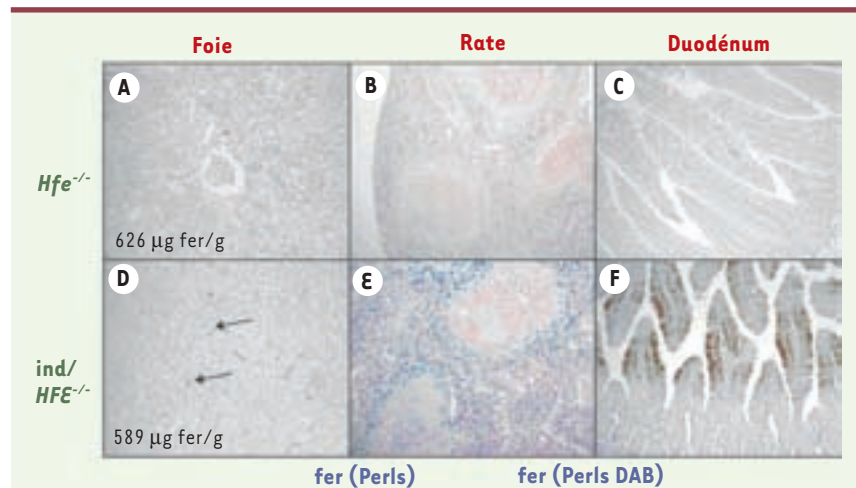


Figure 1. Détection du fer dans le foie, la rate et le duodénum de souris inductibles hepcidine croisées avec des souris *Hfe*^{-/-} et traitées pendant trois semaines à la doxycycline. Coloration du fer au Perls (A, B, D et E, le fer est coloré en bleu) ou Perls DAB (C et F, le fer est coloré en marron) sur des coupes de foie (A et D), de rate (B et E) et de duodénum (C et F) de souris *Hfe*^{-/-} (A-C) et de souris inductibles hepcidine *Hfe*^{-/-} (ind/*Hfe*^{-/-}, D-F). La quantité totale de fer hépatique est indiquée pour chaque animal. Les flèches indiquent les macrophages du foie.

L'hémochromatose, nous l'avons vu, est, dans la grande majorité des cas, due à une mutation dans le gène *HFE*. On le sait aujourd'hui, la maladie est hétérogène et la mutation d'autres gènes (comme le récepteur de la transferrine 2, l'hémojuvéline, et le gène de l'hepcidine lui-même) est responsable d'hémochromatoses. Un pas considérable dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques de l'hémochromatose a été établi lorsque, récemment, plusieurs groupes ont montré que l'hepcidine était présente en quantité insuffisante dans l'hémochromatose et que la quantité résiduelle d'hepcidine était directement liée à la précocité et à la gravité de la maladie. Ces résultats suggérant que l'insuffisance en hepcidine pouvait être la cause même de la maladie, nous avons cherché à déterminer l'effet d'hepcidine substitutive dans un modèle murin d'hémochromatose (les souris *Hfe*^{-/-}). En croisant les souris malades *Hfe*^{-/-} avec des souris transgéniques exprimant de façon constitutive et précoce l'hepcidine, nous avons effectivement pu montrer que l'hepcidine, quand elle est présente dès la naissance, peut empêcher l'apparition de la surcharge en fer qui s'opère normalement chez les souris *Hfe*^{-/-} [3].

Les enseignements du modèle murin

Compte tenu de l'apparition progressive des symptômes de l'hémochromatose, le diagnostic n'est souvent possible qu'une fois la surcharge en fer déjà installée. C'est pourquoi, il nous a semblé important de tester les effets de l'hepcidine mais cette fois chez des souris *Hfe*^{-/-} présentant déjà une surcharge en fer. Pour cela, nous avons développé un modèle murin surexprimant l'hepcidine de manière inducible (système Tet ON¹). Ce modèle murin a été validé en montrant que les souris surexprimant de façon inducible l'hepcidine (appelées « souris inducibles ») présentent, après induction du transgène, une diminution du fer sérique à court terme et, à long terme, une anémie hypochrome microcytaire [4].

Nous avons alors croisé ces souris inducibles

¹ Système dérivé de l'opéron tétracycline qui repose sur l'utilisation de deux transgènes. L'induction du transgène hepcidine (transgène effecteur) est obtenue par traitement des souris à la doxycycline (un dérivé de la tétracycline) qui se lie alors à un transactivateur (facteur de transcription rTA produit par le transgène activateur) reconnaissant spécifiquement les séquences promotrices placées en amont de la séquence hepcidine.

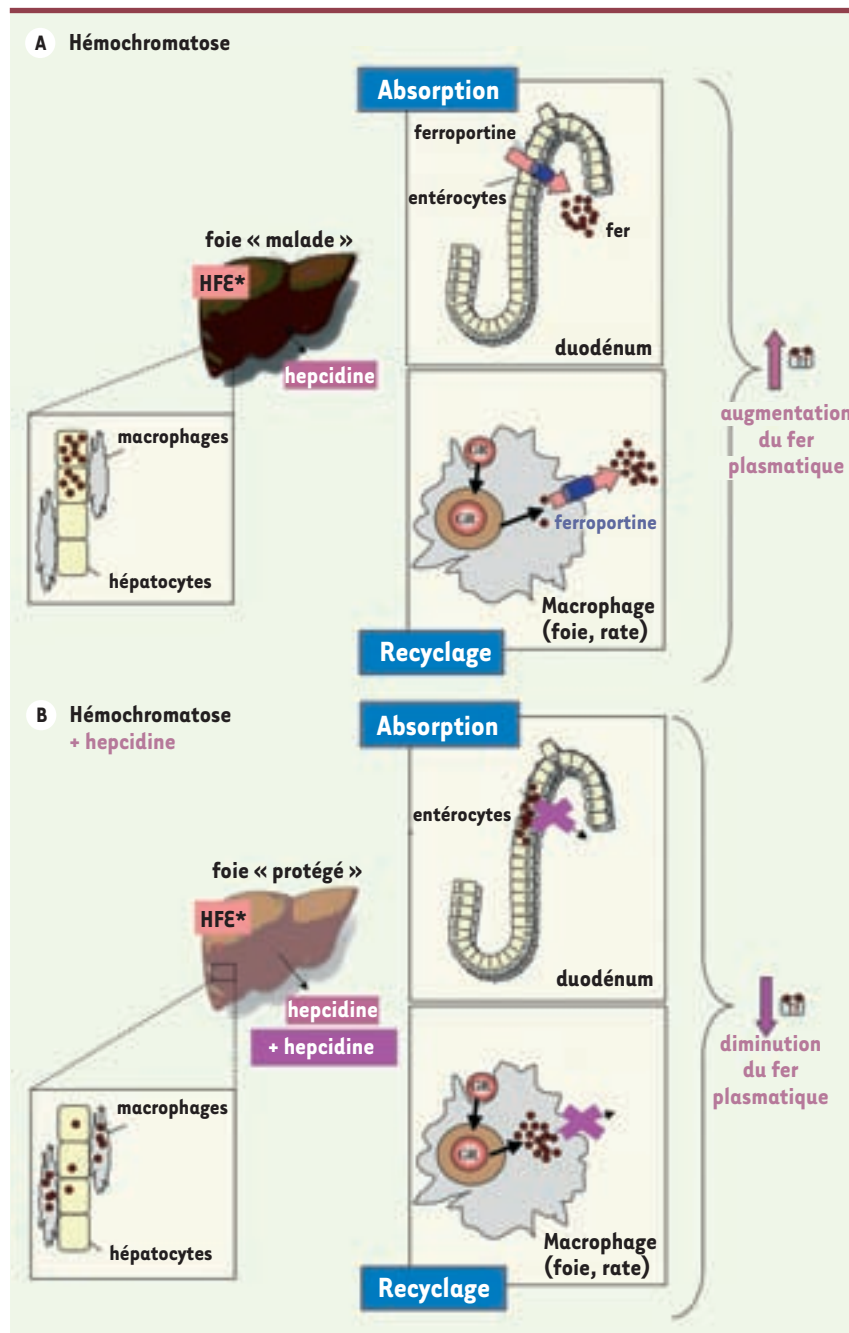


Figure 2. Modèle de la pathogénie de l'hémochromatose (A) et de l'action de l'hepcidine exogène sur la surcharge en fer (B). Le fer est absorbé au niveau du duodénum par les cellules entérocytaires. Le fer absorbé se retrouve dans la circulation sanguine transporté par la transferrine (Tf). Le fer est utilisé principalement pour la formation des globules rouges (GR). Les GR en fin de vie sont phagocytés par les macrophages qui recyclent ainsi le fer qu'ils contiennent. Le foie, avec les macrophages, est un lieu de stockage du fer. **A.** Dans le cas d'une hémochromatose (foie malade), la mutation du gène *HFE* (*HFE**) conduit à une production insuffisante d'hepcidine par le foie. Il en résulte une augmentation de l'absorption du fer par les entérocytes et une augmentation du relargage du fer par les macrophages via la ferroportine. Cela entraîne une augmentation du fer circulant qui va s'accumuler en premier lieu dans les hépatocytes, entraînant fibrose, cirrhose et, en absence de traitement, peut conduire à un hépatocarcinome. **B.** L'apport d'hepcidine exogène, dans notre modèle par induction d'un transgène, entraîne une diminution de l'export du fer des entérocytes et des macrophages via une diminution de la ferroportine. Le fer étant retenu dans ces cellules, le fer circulant est diminué et l'accumulation dans les hépatocytes est moindre (foie protégé).

avec des souris *Hfe*^{-/-} et attendu que les souris issues de ces croisements (appelées ind/*Hfe*^{-/-}) atteignent l'âge de deux mois avant d'induire l'expression de l'hepcidine transgénique par traitement des souris avec l'inducteur doxycycline. Après trois semaines de traitement, nous montrons que la présence d'hepcidine transgénique entraîne la rétention du fer dans les macrophages du foie (*Figure 1D versus 1A*) et de la rate (*Figure 1E versus B*) ainsi que dans les entérocytes (*Figure 1F versus 1C*) [4].

La ferroportine, seul exporteur cellulaire de fer connu à ce jour, est une cible importante de l'hepcidine. E. Nemeth et ses collaborateurs ont en effet montré que l'hepcidine était capable de se lier à la ferroportine et de conduire à l'internalisation puis à la dégradation de ce transporteur de fer [5]. Dans notre modèle murin, nous montrons pour la première fois *in vivo*, qu'après induction de l'hepcidine, la quantité de ferroportine à la surface des macrophages et des entérocytes

est diminuée, expliquant très probablement la rétention du fer dans ces cellules. Enfin, nous observons que, sans modifier la quantité totale de fer présente dans le foie, la présence d'hepcidine transgénique semble toutefois entraîner un changement de distribution du fer. Dans le foie des souris malades *Hfe*^{-/-}, le fer s'accumule dans les hépatocytes alors que dans le foie des souris ind/*Hfe*^{-/-}, le fer des hépatocytes est diminué et le métal s'accumule préférentiellement dans les macrophages (*Figure 1D versus 1A*). La toxicité hépatique du fer étant liée à sa surabondance dans les hépatocytes, ce résultat confirme et élargit l'intérêt thérapeutique de l'hepcidine (ou des inducteurs de l'hepcidine) dans le traitement des surcharges en fer, en particulier des hémochromatoses communes. En effet, un tel traitement serait susceptible non seulement de corriger

l'hyperabsorption intestinale du fer, cause de la maladie, mais aussi d'induire une redistribution du fer déjà accumulé, et donc d'en réduire la toxicité (*Figure 2B*). ♦

To prevent and cure the iron overloads, the hopes of hepcidin

RÉFÉRENCES

1. Camaschella C. Understanding iron homeostasis through genetic analysis of hemochromatosis and related disorders. *Blood* 2005 ; 106 : 3710-7.
2. Ganz T. Hpcidin: a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. *Best Pract Res Clin Haematol* 2005 ; 18 : 171-82.
3. Nicolas G, Viatte L, Lou DQ, et al. Constitutive hepcidin expression prevents iron overload in a mouse model of hemochromatosis. *Nat Genet* 2003 ; 34 : 97-101.
4. Viatte L, Nicolas G, Lou DQ, et al. Chronic hepcidin induction causes hypsideremia and alters the pattern of cellular iron accumulation in hemochromatotic mice. *Blood* 2006 ; 107 : 2952-8.
5. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, et al. Hpcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004 ; 306 : 2090-3.

NOUVELLE

Tiktaalik, un pas décisif vers la terre ferme

Hervé Tostivint, Hubert Vaudry

Inserm U.413,
Laboratoire de Neuroendocrinologie Cellulaire et Moléculaire,
Institut Fédératif de Recherches Multidisciplinaires
sur les Peptides n° 23,
76821 Mont-Saint-Aignan Cedex, France.
hervé.tostivint@univ-rouen.fr
hubert.vaudry@univ-rouen.fr

> La conquête du milieu terrestre est certainement, pour nous, humains, l'une des étapes les plus marquantes de l'histoire des vertébrés, puisqu'elle a permis l'émergence des premiers tétrapodes, dont nous sommes précisément issus. On estime que cette conquête est le résultat de l'évolution de certains poissons dont les descendants actuels les plus proches appartiennent au groupe des dipneustes. Ces derniers possèdent en effet plusieurs caractères - comme par exemple l'existence de poumons fonctionnels, en plus de branchies, ou un début de cloisonnement du cœur - qu'ils partagent de façon exclusive avec les tétrapodes. De même, leurs nageoires présentent une organisation qui préfigure clairement celle des membres des tétrapodes. Toutefois, malgré ces particularités, les dip-

neustes sont totalement incapables de mener une vie active prolongée hors de l'eau.

La conquête du milieu terrestre

Il est donc légitime de penser que les espèces qui se sont affranchies du milieu aquatique avaient acquis de nombreux caractères supplémentaires. Leurs plus proches descendants actuels appartiennent au groupe des amphibiens qui, au moins à l'état adulte, présentent de très nettes adaptations au milieu aérien, même s'ils restent plus ou moins dépendants du milieu aquatique, notamment pour leur reproduction. Entre les dipneustes et les amphibiens, le fossé est donc très important et la simple étude de leurs caractéristiques mor-

pho-fonctionnelles ne permettra jamais de reconstituer l'ensemble des événements qui ont marqué la conquête du milieu terrestre. Certes, les amphibiens ont la particularité de subir une métamorphose qui les amène à effectuer au cours de leur développement ce même passage de l'eau à l'air, mais il serait illusoire de penser que la métamorphose récapitule fidèlement les étapes historiques de la sortie des eaux. La reconstitution des étapes de la conquête du milieu terrestre par les vertébrés est en réalité inconcevable sans l'étude des fossiles. Malheureusement, les fossiles capables de témoigner directement de cette période sont actuellement très peu