

3. Costantin L, Bozzi Y, Richichi C, et al. Antiepileptic effects of botulinum neurotoxin E. *J Neurosci* 2005 ; 25 : 1943-51.
4. Darios F, Niranjani D, Ferrari E, et al. SNARE tagging allows stepwise assembly of a multimodular medicinal toxin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010 ; 107 : 18197-201.
5. Sollner T, Whiteheart SW, Brunner M, et al. SNAP receptors implicated in vesicle targeting and fusion. *Nature* 1993 ; 362 : 318-24.
6. Sutton RB, Fasshauer D, Jahn R, Brunger AT. Crystal structure of a SNARE complex involved in synaptic exocytosis at 2.4 Å resolution. *Nature* 1998 ; 395 : 347-53.
7. Fasshauer D, Eliason WK, Brunger AT, Jahn R. Identification of a minimal core of the synaptic SNARE complex sufficient for reversible assembly and disassembly. *Biochemistry* 1998 ; 37 : 10354-62.
8. Ferrari E, Darios F, Zhang F, et al. Binary polypeptide system for permanent and oriented protein immobilization. *J Nanobiotechnology* :
9. Lacy DB, Tepp W, Cohen AC, et al. Crystal structure of botulinum neurotoxin type A and implications for toxicity. *Nat Struct Biol* 1998 ; 5 : 898-902.
10. Ferrari E, Maywood ES, Restani L, et al. Re-assembled botulinum neurotoxin inhibits CNS functions without systemic toxicity. *Toxins* 2011 ; 3 : 345-55.
11. El Far O, Seagar M. SNARE, V-ATPase et neurotransmission. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 28-31.
12. Tareste D. Énergie libérée par la machinerie de fusion SNAREpin. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 142-3.

## NOUVELLE

### TIF1 $\gamma$ : un gène suppresseur de tumeur dans la leucémie myélomonocytaire chronique

Romain Aucagne, Nathalie Droin, Éric Solary, Jean-Noël Bastie, Laurent Delva

R. Aucagne, J.N. Bastie, L. Delva : Inserm UMR 866, Faculté de médecine, Université de Bourgogne, 21000 Dijon, France.

R. Aucagne (adresse actuelle) :

Laboratoire de génétique moléculaire des cellules souches, IRIC, Université de Montréal, Montréal H3C3J7, Québec, Canada.

N. Droin, E. Solary : Inserm UMR 1009, Institut Gustave Roussy, 94805 Villejuif, France.

[laurent.delva@u-bourgogne.fr](mailto:laurent.delva@u-bourgogne.fr)

#### Le cofacteur transcriptionnel TIF1 $\gamma$

TIF1 $\gamma$  (*transcription intermediary factor 1 gamma*) appartient à la famille des corégulateurs transcriptionnels TIF1. Son rôle est majeur au cours de l'embryogenèse puisque sa délétion génique est létale [1, 2]. Chez le poisson zèbre, une mutation du gène *tif1 $\gamma$*  perturbe spécifiquement l'hématopoïèse embryonnaire et adulte [3, 4]. Différentes fonctions de TIF1 $\gamma$  ont été décrites également au cours de l'hématopoïèse, tant chez la souris que chez l'homme. Il agit positivement sur la différenciation érythroïde humaine [5], module l'élongation pendant la transcription des gènes érythroïdes [6] et réprime l'activité transcriptionnelle de *Scl* (*stem cell leukemia-1*)/*Tal-1* (*T-cell acute lymphocytic leukemia-1*) et de *Spi-1* (*spleen focus forming virus proviral integration site-1*)/*Pu.1* (*purine rich box.1*) [7, 13]. Afin d'étudier le rôle de *Tif1 $\gamma$*  dans l'hématopoïèse murine adulte, nous avons généré des souris nulizygotés conditionnelles *c-FES* (*cellular-feline sarcoma oncogene*)-*cre* (*cyclization recombinase*)/*Tif1 $\gamma$*  (*Tif1 $\gamma$ <sup>Δ/Δ</sup>*) dans lesquelles ce gène est spécifiquement inactivé dans les cellules hématopoïétiques [8].

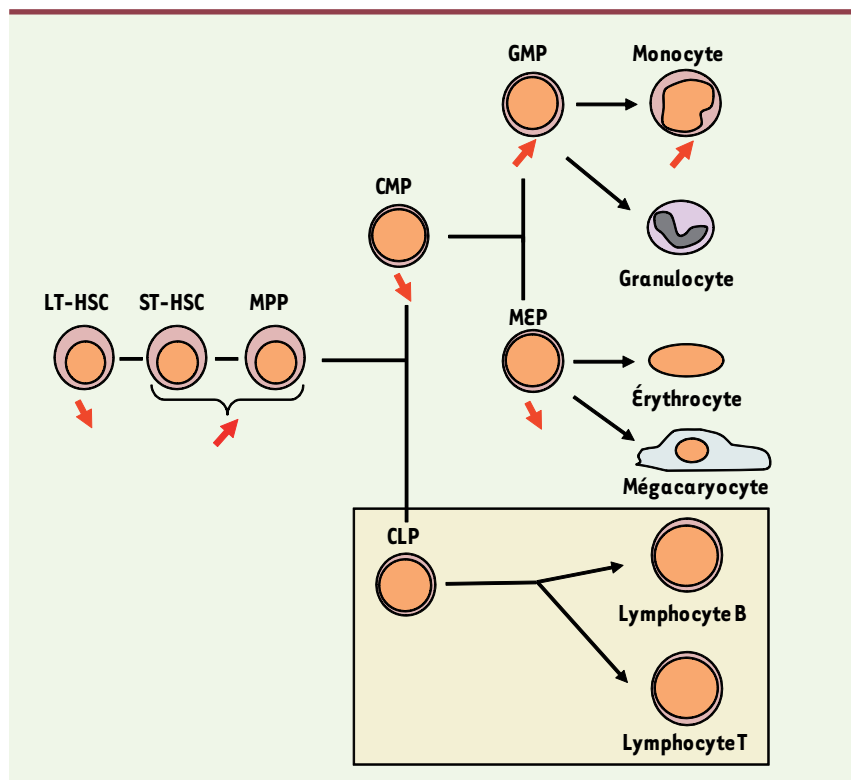
#### Délétion conditionnelle de *Tif1 $\gamma$* dans les lignées hématopoïétiques chez la souris

L'analyse de l'hématopoïèse de ces souris *c-FES-cre/Tif1 $\gamma$*  (*Tif1 $\gamma$ <sup>Δ/Δ</sup>*) montre une altération profonde de la répartition des cellules immatures de la moelle : le nombre de LT-HSC (*long-term hematopoietic stem cell*) est diminué, les nombres de ST-HSC (*short-term hematopoietic stem cell*) et de MPP (*multipotent progenitor*) sont augmentés. En aval, on note une baisse du nombre de CMP (*common myeloid progenitor*) et une expansion sélective du compartiment des GMP (*granulocyte-monocyte progenitor*) aux dépens des MEP (*megakaryocyte-erythroid progenitor*) [8] (Figure 1). À partir de l'âge de 6 mois, les souris *Tif1 $\gamma$ <sup>Δ/Δ</sup>* présentent une hypercellularité médullaire due à une hyperplasie monocytaire, et une splénomégalie, parfois accompagnée d'une hépatomégalie, résultant d'une infiltration de cellules myéloïdes proliférant activement. Ces caractéristiques miment ce qui est observé dans la leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) humaine.

#### La leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC)

La LMMC est une pathologie clonale de la cellule souche hématopoïétique condui-

sant à une prolifération de monocytes qui s'accumulent dans la moelle, le sang et la rate, et provoquent une inhibition progressive de l'hématopoïèse normale. Elle est classée par l'organisation mondiale de la santé dans la catégorie des syndromes myélodysplasiques/myéloprolifératifs. Une anomalie cytogénétique clonale est retrouvée dans les cellules de 40 % des patients, mais aucune n'est spécifique de la maladie. La fréquence des disomies uniparentales a révélé un certain nombre de mutations somatiques dans le clone leucémique. Les plus fréquentes (30 à 60 % des patients) concernent les gènes *TET2* (*tet oncogene family member 2*) [9], *RUNX1* (*runt-related transcription factor 1*) et *ASXL1* (*additional sex combs like 1*). Des mutations des gènes *RAS* (*rat sarcoma viral oncogene*) et *C-CBL* (*Casitas B-lineage lymphoma*) sont moins fréquentes (10 à 30 %), celles de *JAK2* (*Janus kinase 2*), *FLT3* (*FMS-like tyrosine kinase 3*), *IDH1* (*isocitrate dehydrogenase 1*), *IDH2*, *EZH2* (*enhancer of zeste homolog 2*), *UTX* (*ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat, X chromosome*), *DNMT3A* (*DNA méthyltransferase 3A*) et certains acteurs moléculaires de la voie NOTCH sont beaucoup plus rares (< 10 %). De multiples combinaisons sont possibles,



**Figure 1. Représentation schématique de la différenciation hématopoïétique dans les souris nullizygotés conditionnelles pour *Tif1γ* dans la moelle osseuse.** Au niveau du compartiment des cellules souches hématopoïétiques, le nombre de LT-HSC décroît alors que les nombres de ST-HSC et de MPP augmentent fortement. Une baisse du nombre de CMP et une expansion sélective du compartiment des GMP aux dépens des MEP sont observées. Le nombre de lymphocytes ne varie pas. La distribution des CLP n'a pas été évaluée. LT-HSC : long-term hematopoietic stem cell ; ST-HSC : short-term hematopoietic stem cell ; MPP : multipotent progenitor ; CMP : common myeloid progenitor ; GMP : granulocyte-monocyte progenitor ; MEP : megakaryocyte-erythroid progenitor ; CLP : common lymphoid progenitor.

mais il est encore impossible de distinguer les mutations initiales oncogéniques des mutations secondaires responsables de l'évolution clonale.

### TIF1 $\gamma$ chez les patients atteints d'une LMMC

Du fait de la grande similitude des proliférations myélomonocytaires observées chez les souris *Tif1 $\gamma$ <sup>Δ/Δ</sup>* et dans la LMMC, nous avons cherché des mutations de ce gène dans la pathologie humaine. Nous n'avons identifié aucune mutation somatique de la séquence codante de *TIF1 $\gamma$*  dans des monocytes de 66 patients atteints de LMMC. Cependant, l'expression de *TIF1 $\gamma$*  est extrêmement faible, voire le plus souvent indétectable, dans

les cellules de 35 % de ces patients [8]. En outre, dans une cohorte de patients sélectionnés sur des critères de gravité, cette proportion atteint 50 %. La très faible expression de *TIF1 $\gamma$*  ou même son absence, représente donc, avec les mutations de *TET2*, une des anomalies génétiques les plus fréquentes dans la LMMC. Nous avons démontré que la diminution de l'expression de *TIF1 $\gamma$*  était liée à l'hyperméthylation des CpG de son promoteur à la différence de ce qui est observé dans les monocytes de sujets sains. Des altérations de la méthylation de l'ADN au niveau de promoteurs de plusieurs gènes avaient déjà été identifiées dans des syndromes myélodysplasiques, ce qui pouvait partiellement expliquer l'efficacité

des agents dits hypométhylants comme l'azacytidine et la décitabine qui inhibent les ADN méthyltransférases (DNMT) dans ces hémopathies [10] (→). La décitabine induit une réponse clinique et biologique dans 40 % des LMMC de haut grade [11]. Lors de ce traitement, nous avons mis en évidence une restauration de l'expression normale de *TIF1 $\gamma$*  aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* chez les répondeurs [8]. La normalisation de cette expression pourrait donc être utilisée comme un biomarqueur de la réponse à la décitabine. Néanmoins, le niveau de méthylation du promoteur de ce gène n'est pas prédictif de la survie sous traitement, ce qui suggère que d'autres effets du médicament sont en cause dans les réponses thérapeutiques observées.

### Hypothèse d'une dérégulation génétique et épigénétique en cascade dans les LMMC

La méthylation du promoteur du gène *TIF1 $\gamma$*  pourrait être associée à celle de plusieurs autres gènes comme *p15* et les séquences *LINE-1* (*long interspersed nuclear element-1*), traduisant un mécanisme plus global de dérégulation épigénétique et permettant de distinguer deux catégories de patients ayant des phénotypes de méthylation distincts. Dans ce cas, l'hyperméthylation du promoteur de *TIF1 $\gamma$*  pourrait être liée aux mutations du gène *TET2*, dont le produit régule la méthylation de l'ADN, et aux mutations d'*IDH1* ou d'*IDH2*, deux enzymes qui, lorsqu'elles sont mutées, ne produisent plus l' $\alpha$ -cétoglutarate nécessaire au fonctionnement de *TET2*. La compréhension des liens entre ces différentes mutations devrait aider à définir les meilleures conditions d'utilisation des agents déméthylants, seuls ou en association avec d'autres agents ciblant les modifications de la structure chromatinienne comme les inhibiteurs de HDAC (histone désacétylase) [12]. D'une manière plus générale, la LMMC, maladie rare du sujet âgé longtemps assimilée à un syndrome myélodysplasique, devient

une entité indépendante pour laquelle les critères du choix thérapeutique, comme ceux de la réponse au traitement, doivent être revus à la lumière de ces découvertes récentes. ♦

### TIF1 $\gamma$ : a tumor suppressor gene in chronic myelomonocytic leukemia

#### CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

1. Kim J, Kaartinen V. Generation of mice with a conditional allele for Trim33. *Genesis* 2008 ; 46 : 329-33.
2. Morsut L, Yan KP, Enzo E, et al. Negative control of Smad activity by ectoderm/Tif1gamma patterns the mammalian embryo. *Development* 2010 ; 137 : 2571-8.
3. Ransom DG, Bahary N, Niss K, et al. The zebrafish moonshine gene encodes transcriptional intermediary factor 1gamma, an essential regulator of hematopoiesis. *PLoS Biol* 2004 ; 2 : E237.
4. Monteiro R, Pouget C, Patient R. The gata1/pu.1 lineage fate paradigm varies between blood populations and is modulated by tif1gamma. *EMBO J* 2011 ; 30 : 1093-103.
5. He W, Dorn DC, Erdjument-Bromage H, et al. Hematopoiesis controlled by distinct TIF1gamma and Smad4 branches of the TGFbeta pathway. *Cell* 2006 ; 125 : 929-41.
6. Bai X, Kim J, Yang Z, et al. TIF1gamma controls erythroid cell fate by regulating transcription elongation. *Cell* 2010 ; 142 : 133-43.
7. Kusy S, Gault N, Ferri F, et al. Adult hematopoiesis is regulated by TIF1gamma, a repressor of TALL and PU.1 transcriptional activity. *Cell Stem Cell* 2011 ; 8 : 412-25.
8. Aucagne R, Droin N, Paggetti J, et al. Transcription intermediary factor 1gamma is a tumor suppressor in mouse and human chronic myelomonocytic leukemia. *J Clin Invest* 2011 ; 121 : 2361-70.
9. Kosmider O, Gelsi-Boyer V, Ciudad M, et al. TET2 gene mutation is a frequent and adverse event in chronic myelomonocytic leukemia. *Haematologica* 2009 ; 94 : 1676-81.
10. Chaib H, Collette Y, Prébet T, Vey N. Histone méthyltransférases : une nouvelle classe de cibles thérapeutiques dans le traitement du cancer ? *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 725-32.
11. Kantarjian H, Oki Y, Garcia-Manero G, et al. Results of a randomized study of 3 schedules of low-dose decitabine in higher-risk myelodysplastic syndrome and chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 2007 ; 109 : 52-7.
12. Mottet D, Castronovo V. Les histone désacétylases : nouvelles cibles pour les thérapies anticancéreuses. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 742-6.
13. Kusy S, Roméo PH. Quand TIF1 $\gamma$  devient chef d'orchestre de l'hématopoïèse adulte. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 698-700.

## NOUVELLE

### Quand TIF1 $\gamma$ devient chef d'orchestre de l'hématopoïèse adulte

Sophie Kusy, Paul-Henri Roméo

S Kusy : Department of Pediatrics, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA, États-Unis.  
P.H. Roméo : Institut de radiobiologie cellulaire et moléculaire, UMR967 Inserm/Université Paris 7 et Paris 11, CEA, 18, route du Panorama, 92260 Fontenay-aux-Roses, France.  
[paul-henri.romeo@cea.fr](mailto:paul-henri.romeo@cea.fr)

► L'hématopoïèse est initiée à partir de cellules souches hématopoïétiques (CSH) présentes dans la moelle osseuse et aboutit à la production continue et finement régulée des cellules sanguines érythroïdes, plaquettaires, myéloïdes et lymphoïdes. Les CSH restent quiescentes, meurent, s'autorenouvellent et/ou se déterminent dans des structures spécialisées de la moelle osseuse, appelées niches. Ces destins sont régulés par des facteurs intracellulaires (essentiellement des facteurs de transcription) et/ou extracellulaires (molécules d'adhésion et facteurs solubles). La plupart des voies de signalisation activées par les facteurs extracellulaires aboutissent à la translocation de facteurs de transcription dans le noyau de la cellule. Ces facteurs de transcription interagissent alors avec d'autres régulateurs de la transcription, ubiquistes ou spécifiques de l'hématopoïèse, assurant ainsi le devenir des CSH. Les processus qui permettent l'engagement des CSH vers une voie de

maturation ou vers une autre, en fonction des besoins de l'organisme, commencent à être identifiés et de nombreux travaux ont pour objectif d'identifier les facteurs de transcription nécessaires à l'homéostasie de l'hématopoïèse.

#### TIF1 $\gamma$ , TGF- $\beta$ , transcription et hématopoïèse

Le mutant *moonshine* du poisson zèbre se caractérise par une absence complète de globules rouges circulants chez l'embryon, conséquence d'une apoptose des progéniteurs érythroïdes. Cela indique que le produit du gène *moonshine* est requis pour le développement normal et la survie des progéniteurs érythroïdes. Chez le poisson zèbre adulte, cette mutation entraîne un blocage de la différenciation des progéniteurs hématopoïétiques au stade proérythroblaste et une expansion du compartiment myéloïde [1]. Ces résultats indiquaient une fonction majeure du produit du gène *moonshine* dans l'érythropoïèse et la myélopoïèse.

Le clonage positionnel du gène associé au phénotype *moonshine* a montré qu'il s'agit de l'orthologue du gène TIF1 $\gamma$  des mammifères, indiquant que ce régulateur de la transcription est un facteur essentiel de l'érythropoïèse primitive et définitive ainsi que de la myélopoïèse chez le poisson zèbre [2]. Cette même accumulation de proérythroblastes est retrouvée dans un modèle *in vitro* de différenciation érythrocytaire à partir de cellules CD34<sup>+</sup> humaines dans lesquelles TIF1 $\gamma$  a été inhibé par une stratégie d'interférence ARN [3, 4].

Les fonctions moléculaires de TIF1 $\gamma$  restent controversées. TIF1 $\gamma$  est un membre d'une famille de corépresseurs transcriptionnels caractérisée par différents domaines permettant une activité au niveau de la chromatine et possédant une activité E3 ubiquitine ligase [5-7]. TIF1 $\gamma$  est le seul membre de cette famille qui est un composant de la voie de signalisation du TGF- $\beta$  (*transforming growth factor  $\beta$* ) : il interagit avec