

# Thèse [Yizhen Yang](#) : Analyse fonctionnelle et régulation du gène HFE impliqué dans l'Hémochromatose

## Résumé

L'hémochromatose héréditaire se caractérise par une hyperabsorption du fer conduisant à une accumulation progressive de fer dans l'organisme. La forme majoritaire, transmise selon un mode autosomique récessif, est liée à un défaut du gène HFE, dont le rôle dans le métabolisme du fer est encore mal compris, et est associée à un bas niveau de production d'hepcidine qui régule la ferroportine, l'exporteur de fer. La substitution c. 845G>A (p. C282Y) représente 85% des chromosomes des patients atteints d'hémochromatose, et le reste des chromosomes se compose de 39% de variant c. 187C>G (p. H63D) et 4,7% de variant c. 193A>T (p. S65C), cependant ces trois variants montrent une pénétrance incomplète. Une première partie de l'étude a porté sur l'analyse du rôle de HFE dans les macrophages prélevés à partir de patients atteints d'hémochromatose et de sujets sains contrôles. Nos résultats pouvaient suggérer que la protéine HFE puisse jouer un rôle dans la balance du fer entre le cytoplasme et le lysosome, en régulant directement le flux du fer et/ou l'expression des gènes impliqués dans ce mécanisme. La forme p. C282Y non-fonctionnelle de HFE pourrait perturber cette balance et donc modifier la capacité de stockage du fer dans ces cellules. Une seconde partie concerne une étude de corrélation génotype-phénotype à l'aide de SNPs internes au gène HFE suivie d'une analyse fonctionnelle des variants SNP corrélés à une surcharge en fer. Le variant e. 187G montre un déséquilibre de liaison avec deux haplotypes représentant respectivement 79,8% et 20,2% des chromosomes porteurs ; ces haplotypes se distinguent uniquement par la variation g. 4694C>G (5' UTR c. -467C>G). L'allèle g. 4694G est plus commun chez les patients que chez les contrôles. De plus, pour les chromosomes non-mutants, un haplotype protecteur et un haplotype à risque associé à des paramètres sériques élevés en fer sont mis en évidence ces haplotypes se distinguent par les variations g. 4694C>G et c. 1007-47G>A. La faible pénétrance du variant c. 187C>G pourrait être lié au risque plus élevé de développer une surcharge pour le sous groupe de chromosomes associés à l'haplotype à risque. L'allèle g. 4694C est situé au sein d'un site putatif de réponse à l'hypoxie localisé dans la séquence promotrice du gène HFE, et nos analyses tendraient à montrer un rôle du facteur HIF dans la régulation de l'expression de HFE.

## Title : Functional and regulation analysis of the HFE gene implicated in hemochromatosis

## Résumé

Hereditary hemochromatosis is characterized by iron hyperabsorption leading to progressive iron overload in human body. The main form, an autosomal recessive disorder, is linked to the HFE gene defect, whose role in iron metabolism is still unclear, and is associated to a low expression of the hepcidin peptide which regulates the ferroportin iron exporter. The c. 845G>A (p. C282Y) substitution accounts for 85% of hemochromatosis patient chromosomes, the remaining chromosomes consist of 39% of c. 187C>G (p. H63D) variant and 4.7% of the c. 193A>T (p. S65C) variant, but incomplete penetrance of the HFE mutations has been revealed. A first part of the study concerns the analysis of the role of HFE in macrophages from hemochromatosis patients and control subjects. Our results could suggest that v protein could play a role in iron balance between cytosolic and sequestered iron, by regulating iron flux and/or gene expression involved in this mechanism. The non-functional p. C282Y form may alter this balance, thereby disrupting the iron storage capacity in cells. A second part concerns a genotype-phenotype correlation study by using internal HFE SNPs, followed by functional analysis of SNP variants correlated to iron overload trait. The e. 187G variant is in linkage disequilibrium with two haplotypes accounting for 79.8% and 20.2%, respectively, of the carrier chromosomes; these haplotypes only diverge for the g. 4694G>C variation (5' UTR c. 467C>G). The g. 4694G allele appeared to be more common among patients than in controls. Moreover, among non-mutant chromosomes, a protective haplotype and an at-risk haplotype associated with elevated serum iron parameters have been evidenced; these haplotypes differed only by g. 4694C>G and c. 1007-47G>A variations. The low penetrance of the e. 187G mutation could thus be related to the increased risk for developing iron overload trait from a subset of e. 187G chromosomes associated with the risk haplotype. The g. 4694C allele is located within a putative hypoxia response element of the HFE promoter sequence, and our analyses tend to show a role of the hypoxia HIF factor in the regulation of HFE expression.