

# Le gène *ABCB4 / MDR3* : de l'ADN au phénotype

---

Dr Véronique Barbu

Dr Michèle Maurice

Pr Chantal Housset

LCBGM & CRMIVB, AP-HP, HUEP  
UPMC & INSERM, CdR Saint-Antoine, Paris

# Réseau national

## « Hereditary Cholestasis and choleLithiasis »

---

- Quatre laboratoires associés à des centres de Compétence/Référence cliniques de maladies biliaires : Kremlin-Bicêtre, Tours, Beaujon et Saint-Antoine.
- Depuis 2000, étude moléculaire des gènes codant les transporteurs biliaires.

# Réseau national

## « Hereditary Cholestasis and choleLithiasis »

---

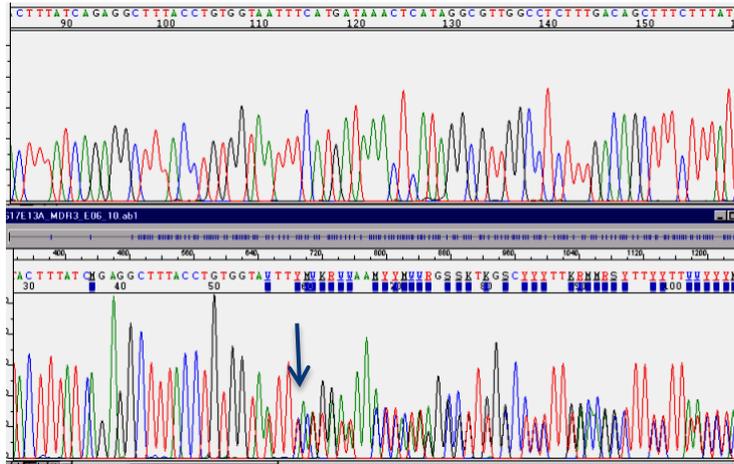
- Quatre laboratoires associés à des centres de Compétence/Référence cliniques de maladies biliaires : Kremlin-Bicêtre, Tours, Beaujon et Saint-Antoine.
- Depuis 2000, étude moléculaire des gènes codant les transporteurs biliaires.
- Gène *ABCB4* : 27 exons codants et jonctions introniques adjacentes.
- Séquençage par électrophorèse capillaire multicanaux
- Contrôle de qualité annuel.

# Variants : Critères

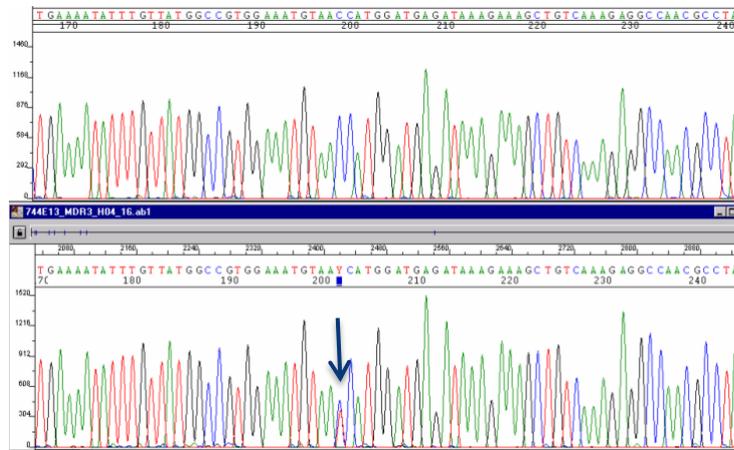
---

- Classification
  - Variants Tronquants & épissage
  - Variants Faux Sens

# Exemples de variants tronquant et faux sens



Exon 13  
c.1553delT  
p.Leu518Tyr fsX15



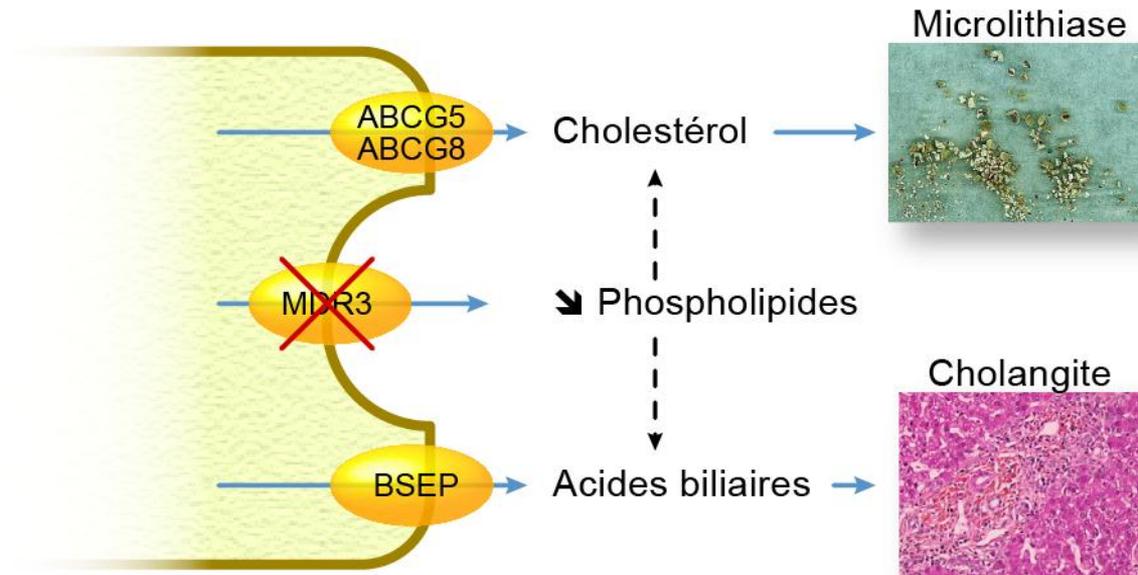
Exon 13  
c.1493C>T  
p.Thr498Ile

# Variants : Critères

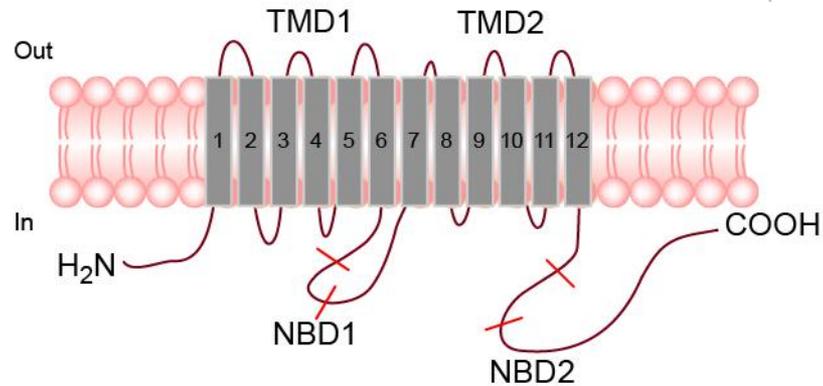
---

- Classification
  - Variants Tronquants & Epissage
  - Variants Faux Sens
- VSCI, sur quels critères?
  - Absence des banques de données SNPs dans une population témoin
  - Exploré par des logiciels de prédiction protéique, de conservation entre espèces et de l'effet sur l'épissage.

# Le transporteur biliaire ABCB4 / MDR3

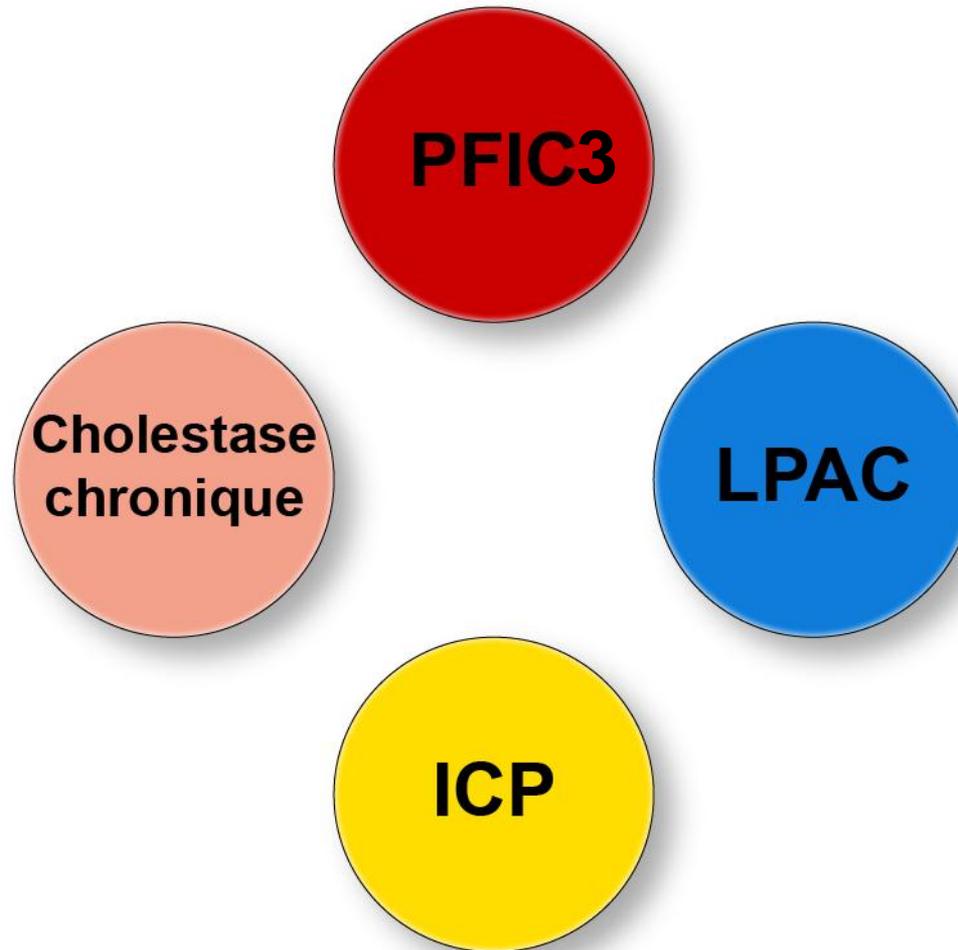


(Rosmorduc et al. Orphanet 2007)



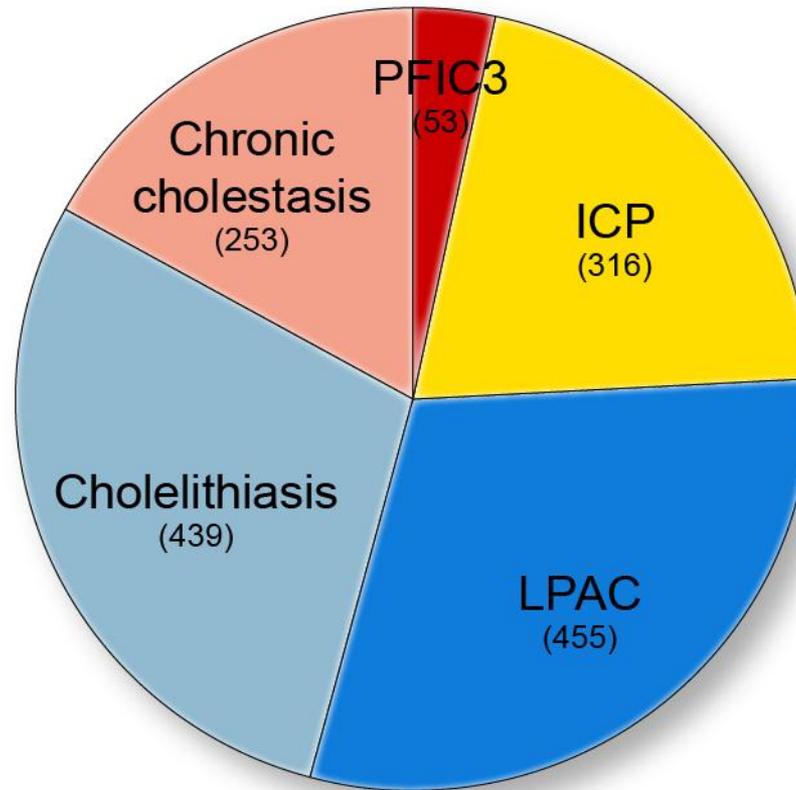
# Variants d'ABCB4 : Phénotypes

---



# Phénotype des patients du réseau – 2000-2008

N=1516



# Fréquence des variants d'ABCB4

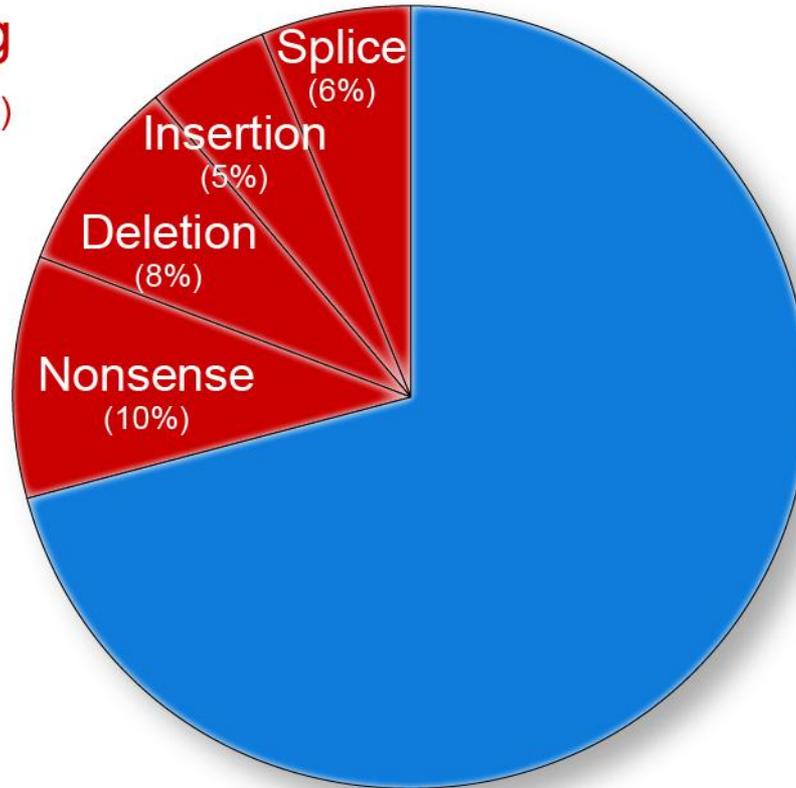
---

Phénotype	n	Fréquence des variants
PFIC3	53	86 %
Chronic cholestasis	253	3 %
ICP: Intrahepatic cholestasis of pregnancy	316	23 %
LPAC	455	49 %
Cholelithiasis	439	15 %

# Nature des variants d'*ABCB4*

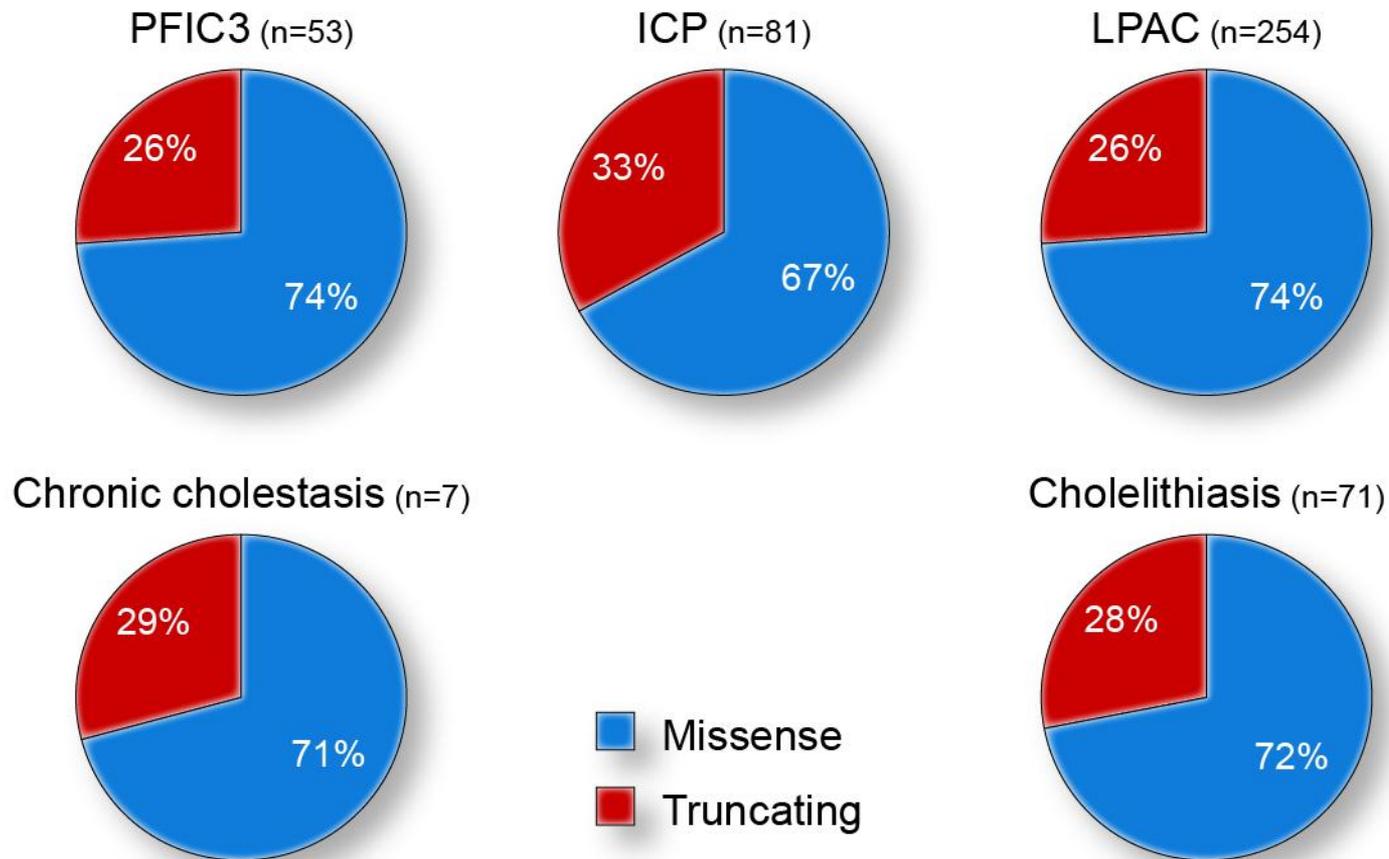
---

Truncating  
& splice (29%)

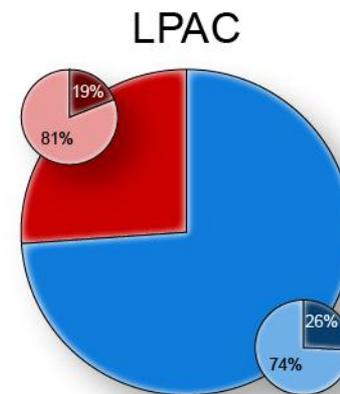
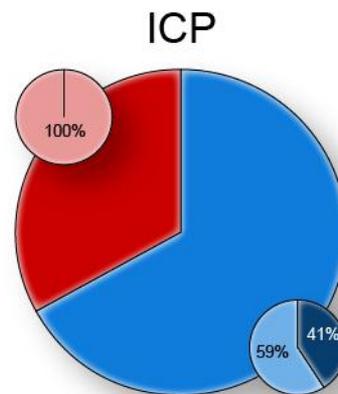
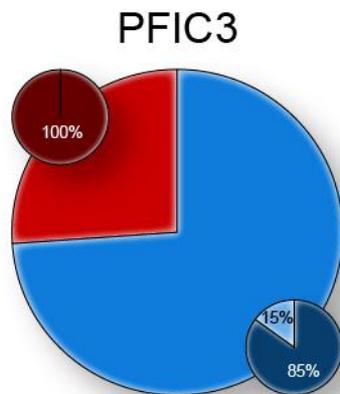


Missense (71%)

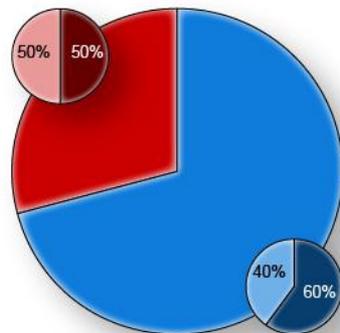
# Nature des variants d'ABCB4



# Statut des variants d'ABCB4



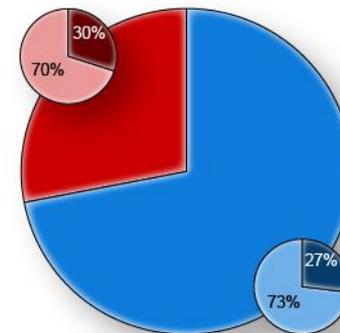
**Chronic cholestasis**



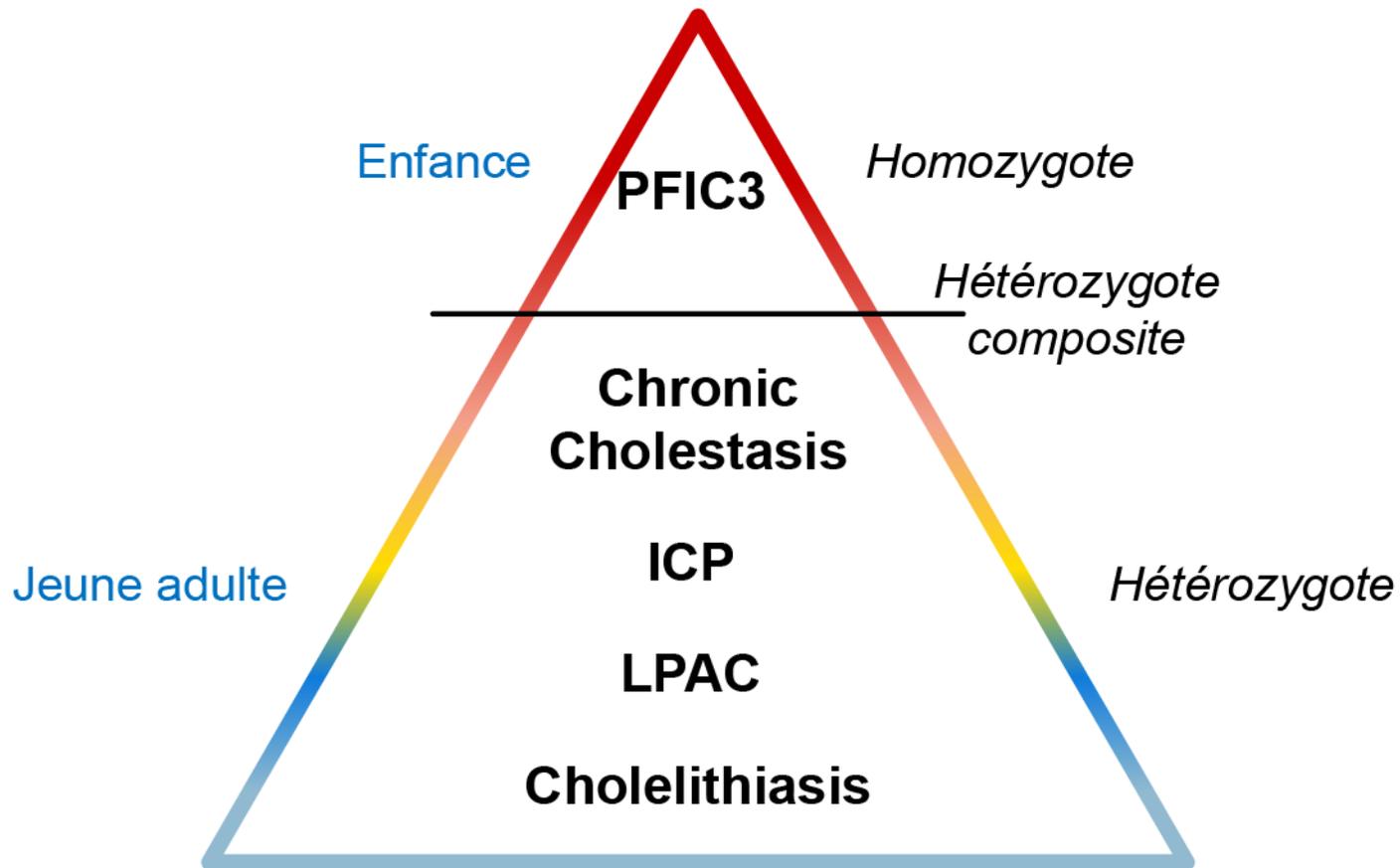
■ Missense  
■ Truncating

■ Biallelic  
■ monoallelic

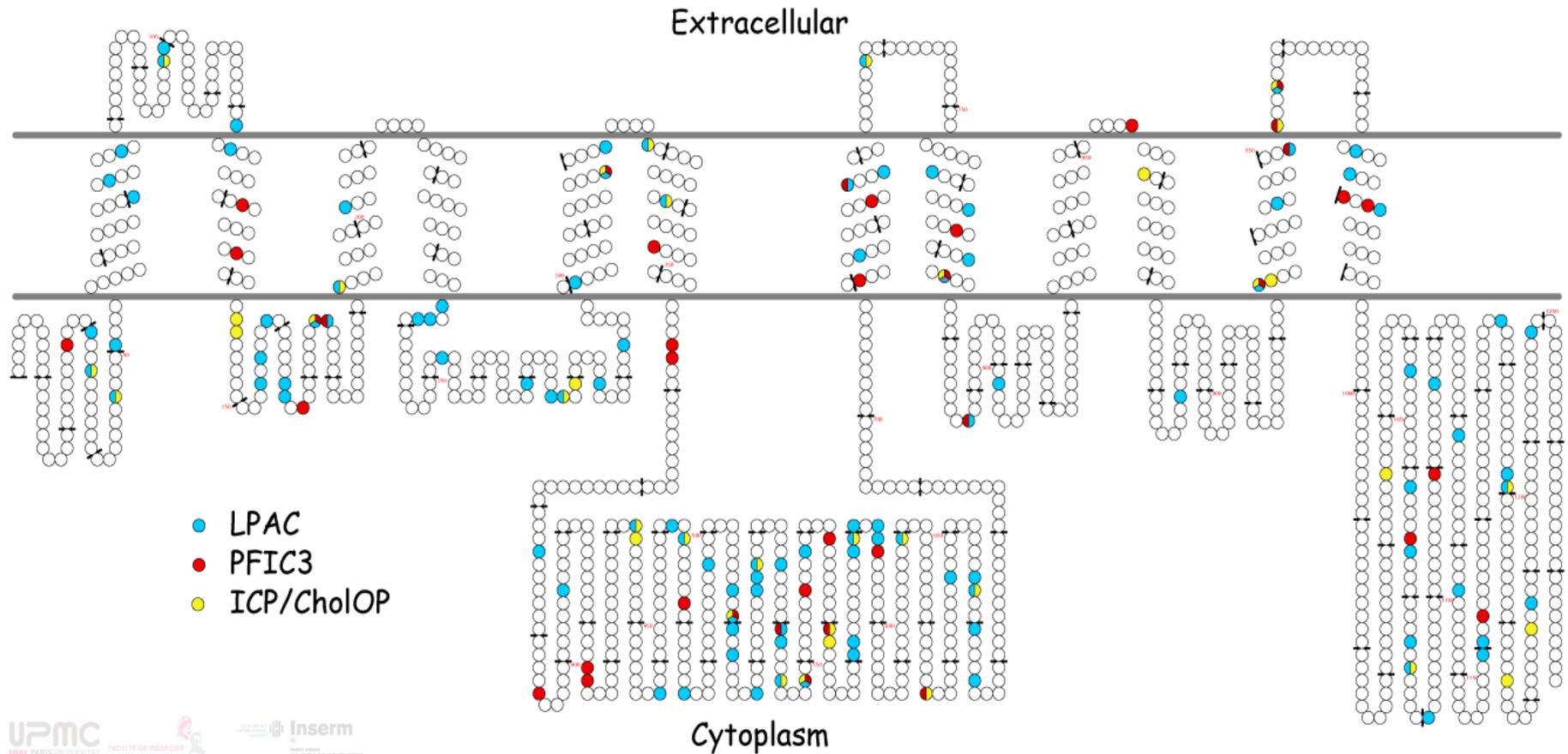
**Cholelithiasis**



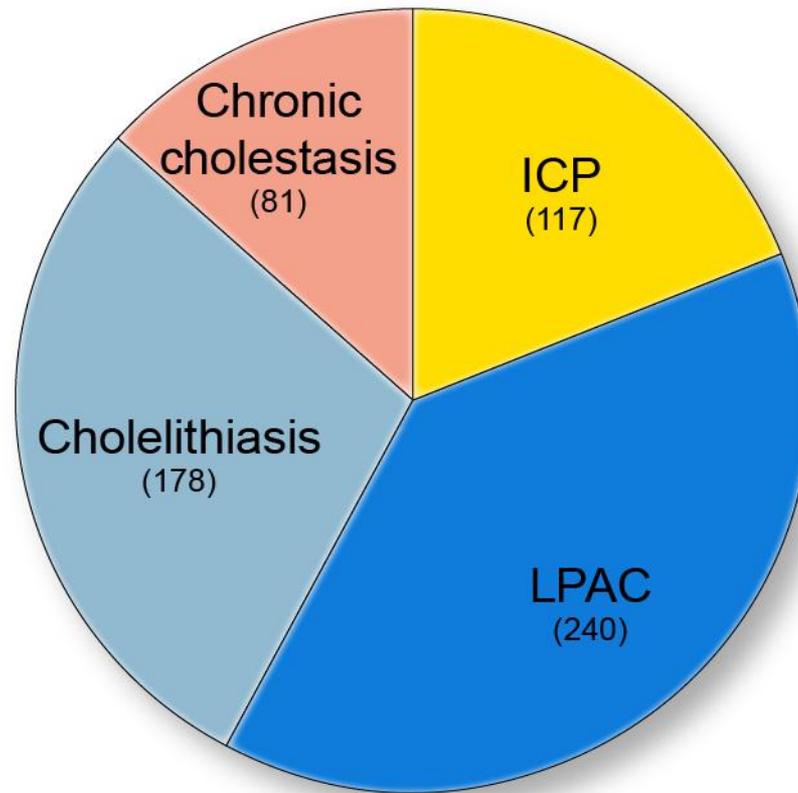
# Corrélation génotype/phénotype



# Distribution des variants dans la protéine MDR3



# Phénotype des Patients analysés au LCBGM Saint-Antoine – 2009-2012



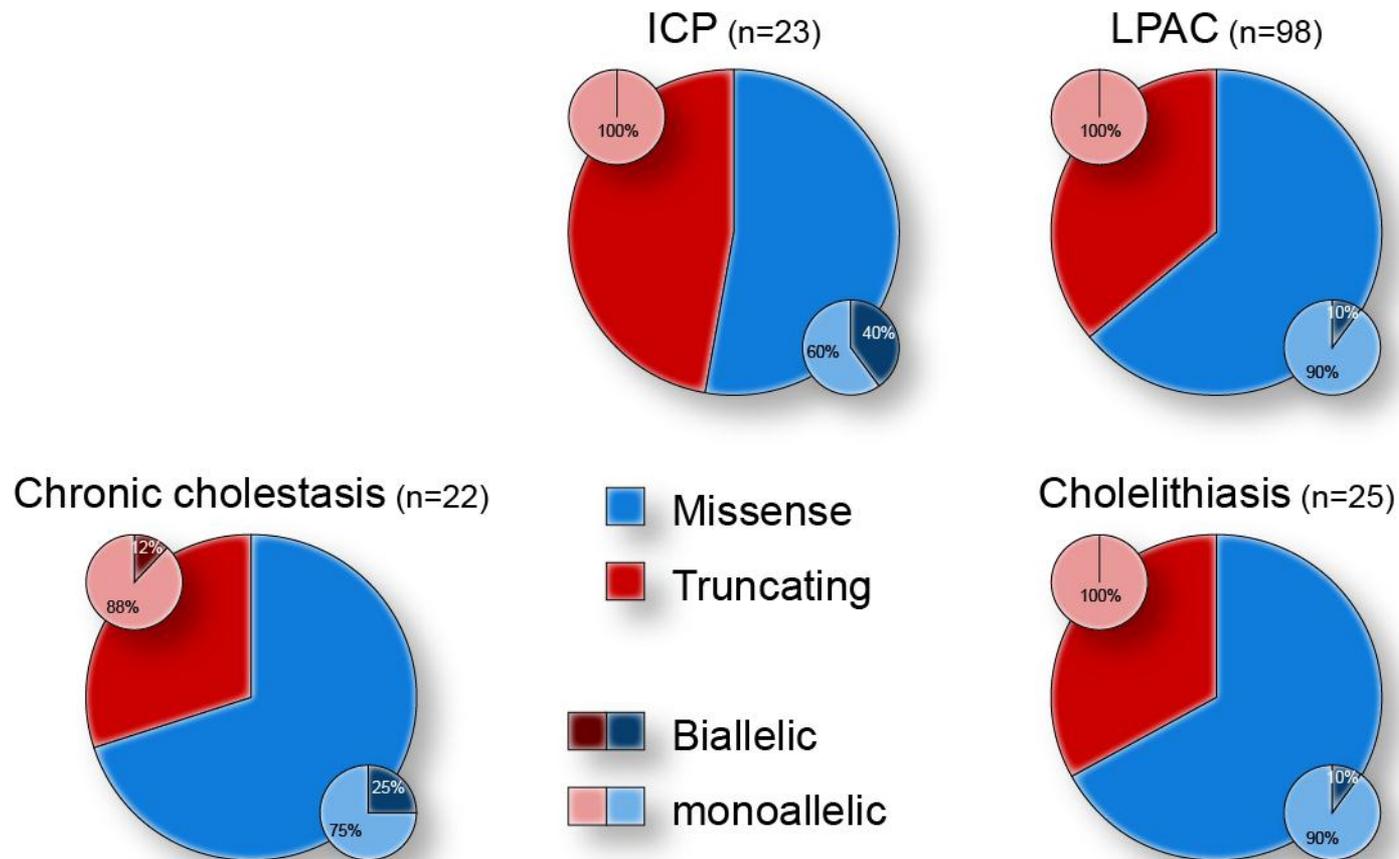
(n=616)

# Fréquence des variants d'*ABCB4*

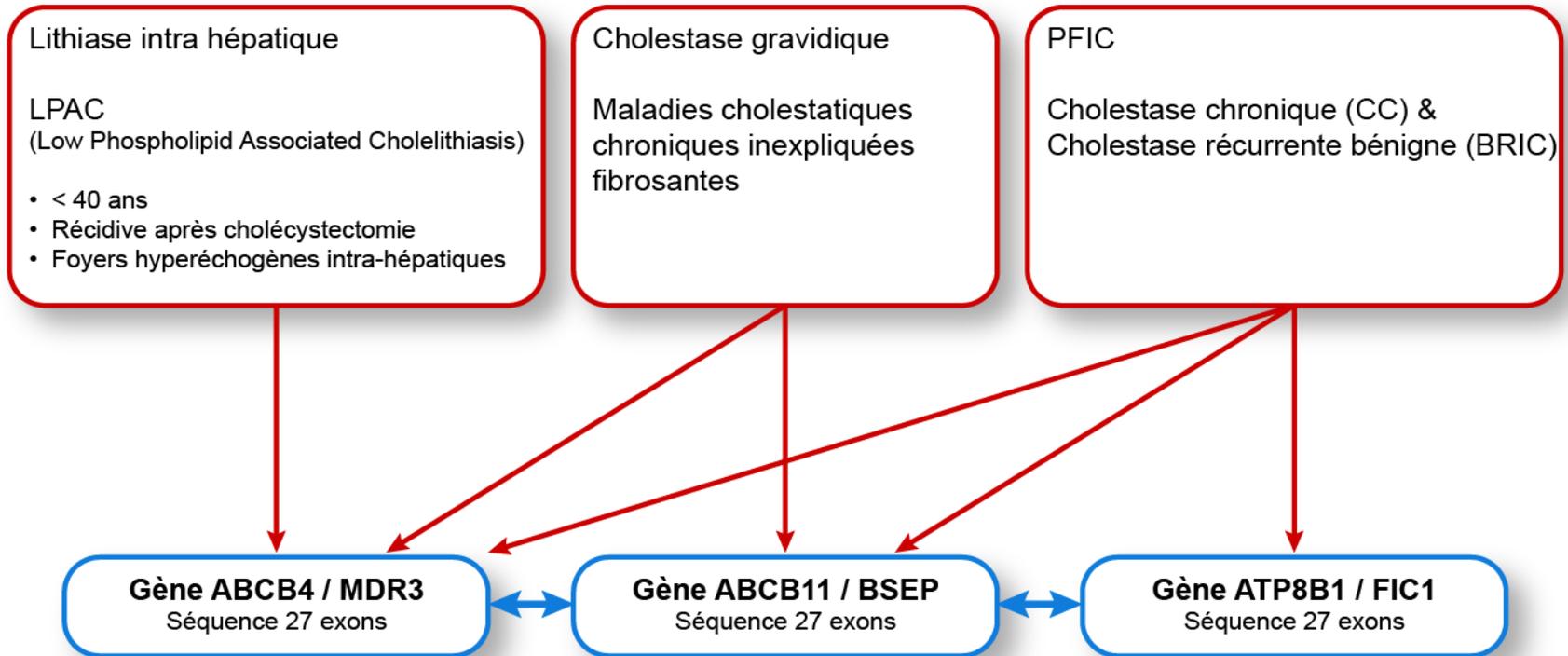
---

Phénotype	n	Fréquence des variants
Chronic cholestasis	81	20 %
ICP: Intrahepatic cholestasis of pregnancy	117	26 %
LPAC	240	41 %
Cholelithiasis	178	14 %

# Nature et Statut des variants d'*ABCB4*



# Diagnostic moléculaire des maladies cholestatiques et lithiasiques héréditaires de l'adulte



# Perspectives

---

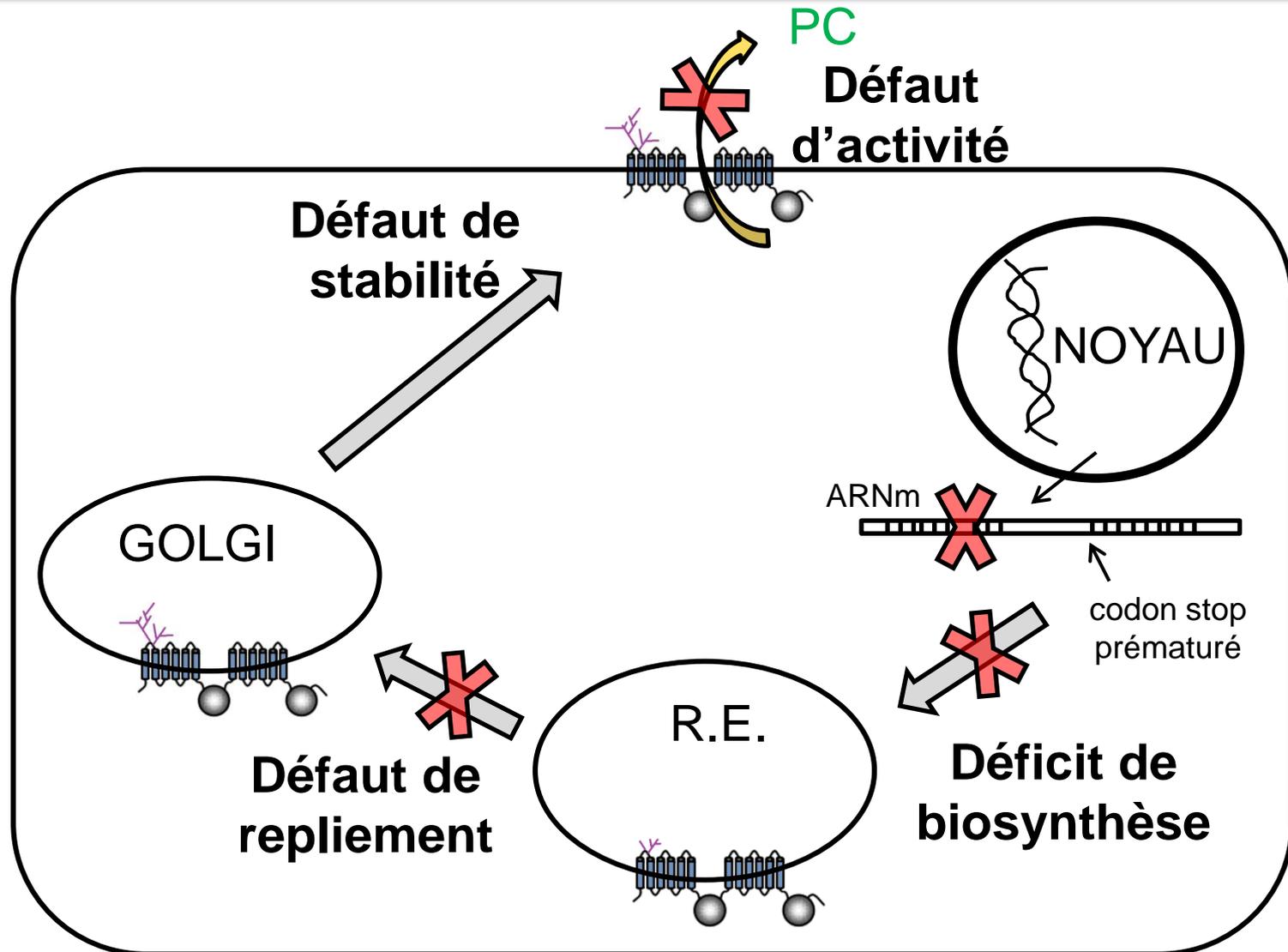
- Validation fonctionnelle des variants
- Séquençage « Haut Débit »
- Identification d'autres gènes impliqués ( Exome)

# Remerciements

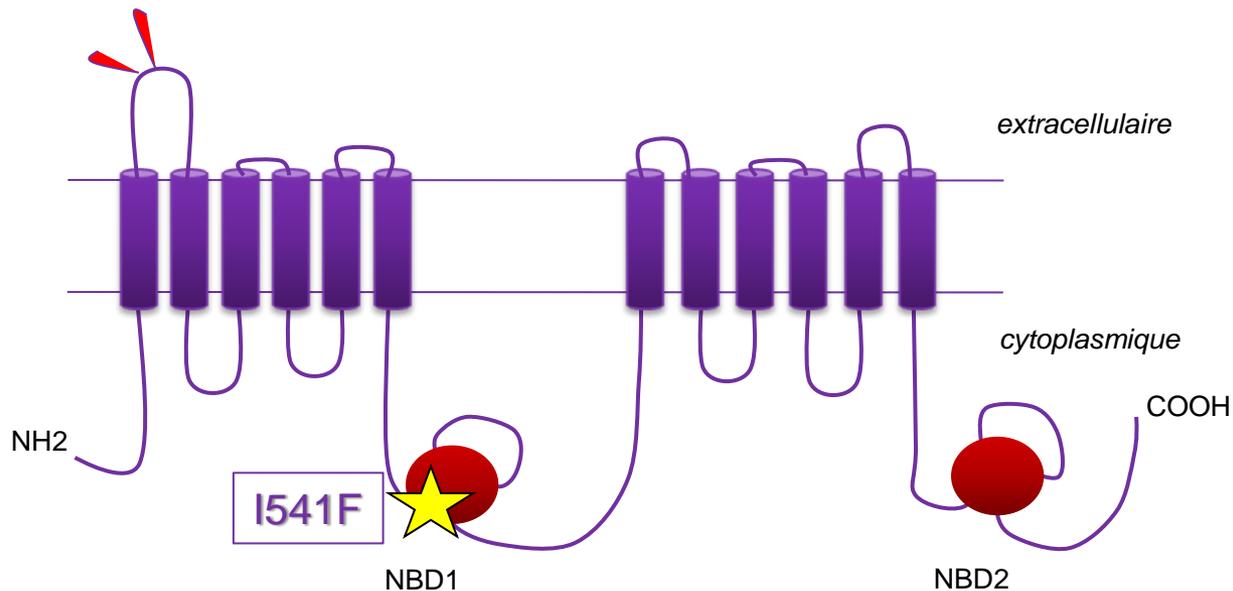
---

- Dr Khaldia Belabbas  
Dr Chantal Gendrot  
Dr Dominique Rainteau  
In. Sophie Magréault
- Dr Anne Spraul  
Dr Béatrice Parfait  
Dr Fabienne Dufernez
- Tous les cliniciens, en particulier, les Prs Raoul Poupon, Olivier Chazouillères et Olivier Rosmorduc, le Dr Christophe Corpechot du GH Est Parisien.
- Tous les techniciens qui ont effectué les séquençages du gène ABCB4.
- Mme Nathalie Laurent et M. Yves Chrétien.

# Défauts engendrés par les mutations



# La mutation I541F



- La mutation I541F est responsable d'une PFIC3 chez un patient homozygote
- Elle est localisée dans le premier domaine de liaison de l'ATP

# La mutation I541F entraîne une rétention intracellulaire

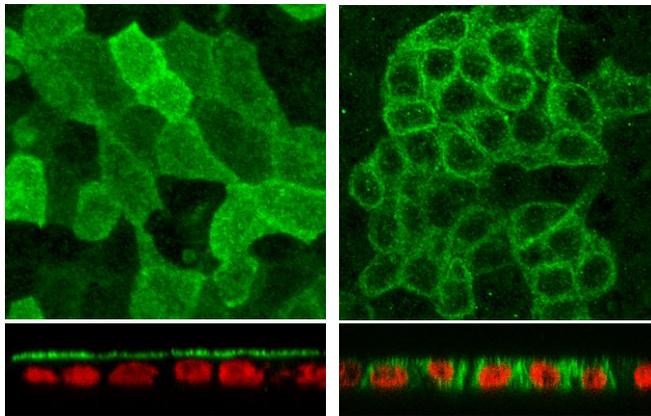
Reproduction de la mutation dans deux lignées cellulaires

Cellules MDCK

ABCB4-wt

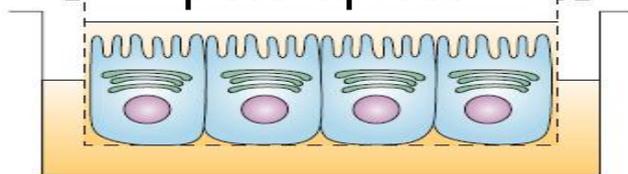
ABCB4-I541F

xy



xz

pôle apical

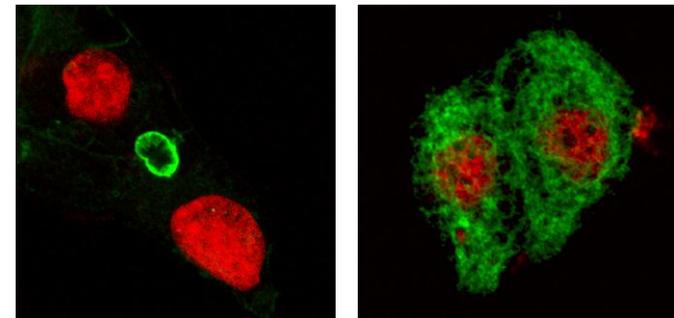


pôle basolatéral

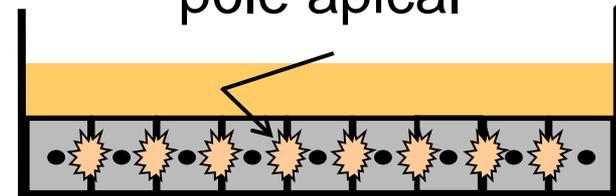
Cellules HepG2

ABCB4-wt

ABCB4-I541F



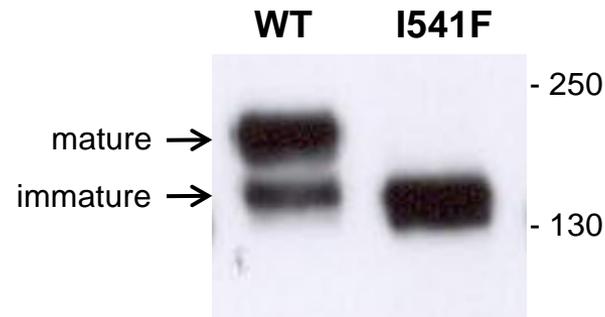
pôle apical



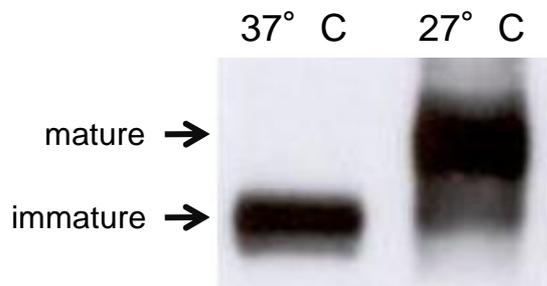
pôle basolatéral

# La mutation I541F entraîne un défaut de repliement

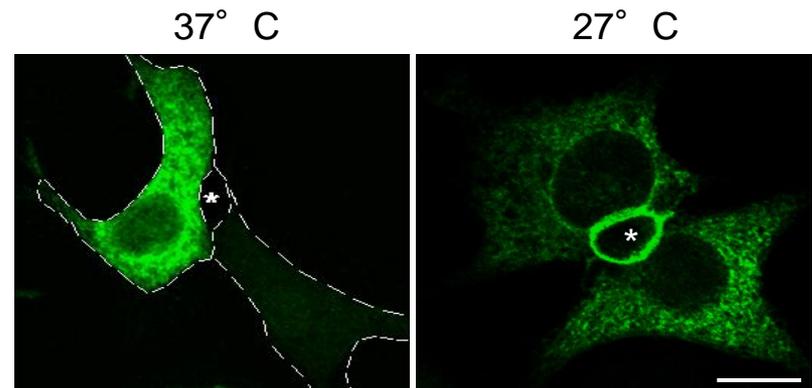
- ABCB4-I541F reste sous forme immature



- L'abaissement de la température restaure la maturation et l'expression canaliculaire

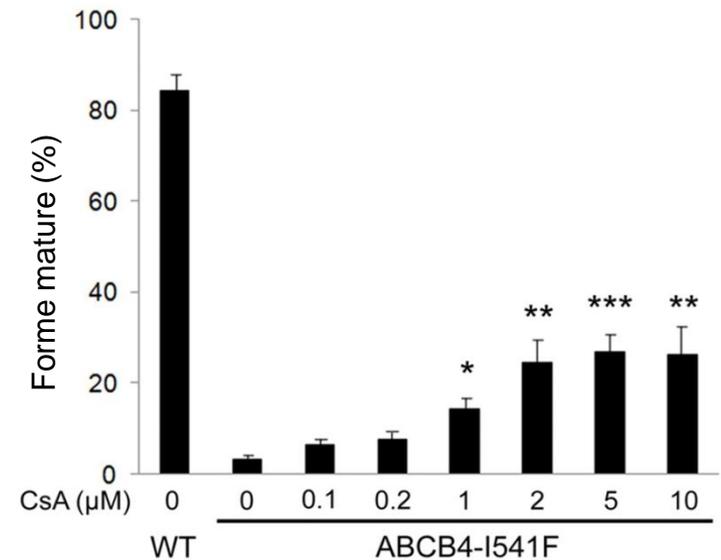
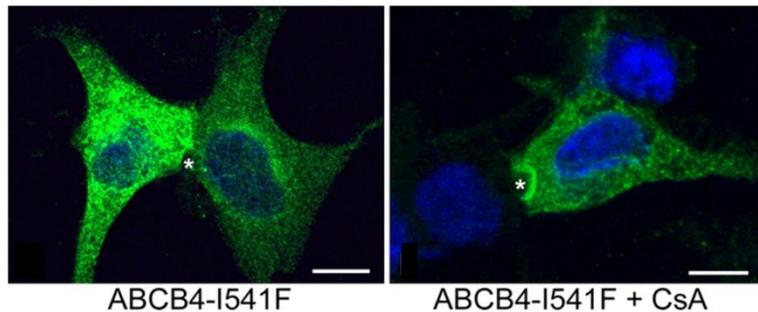
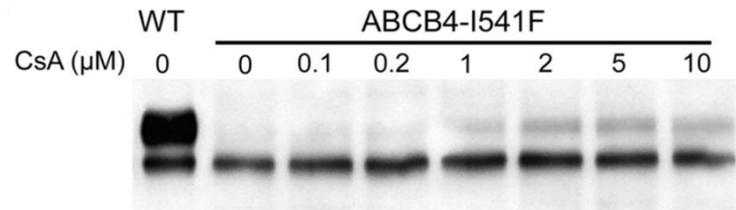


ABCB4-I541F



ABCB4-I541F

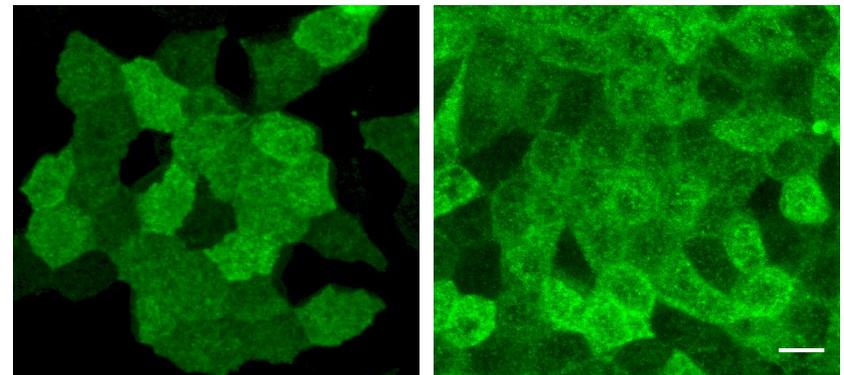
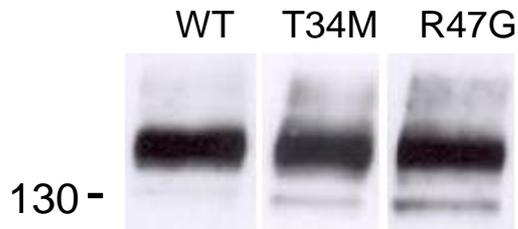
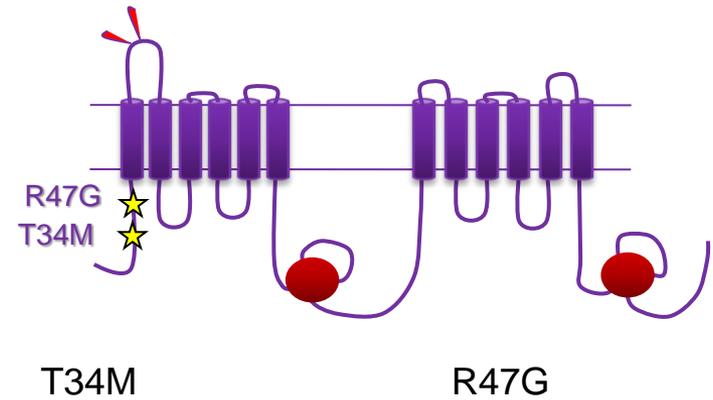
# La cyclosporine A restaure ABCB4-I541F



La cyclosporine A permet de restaurer la maturation du mutant ABCB4-I541F qui se relocalise au canalicule biliaire dans les cellules HepG2

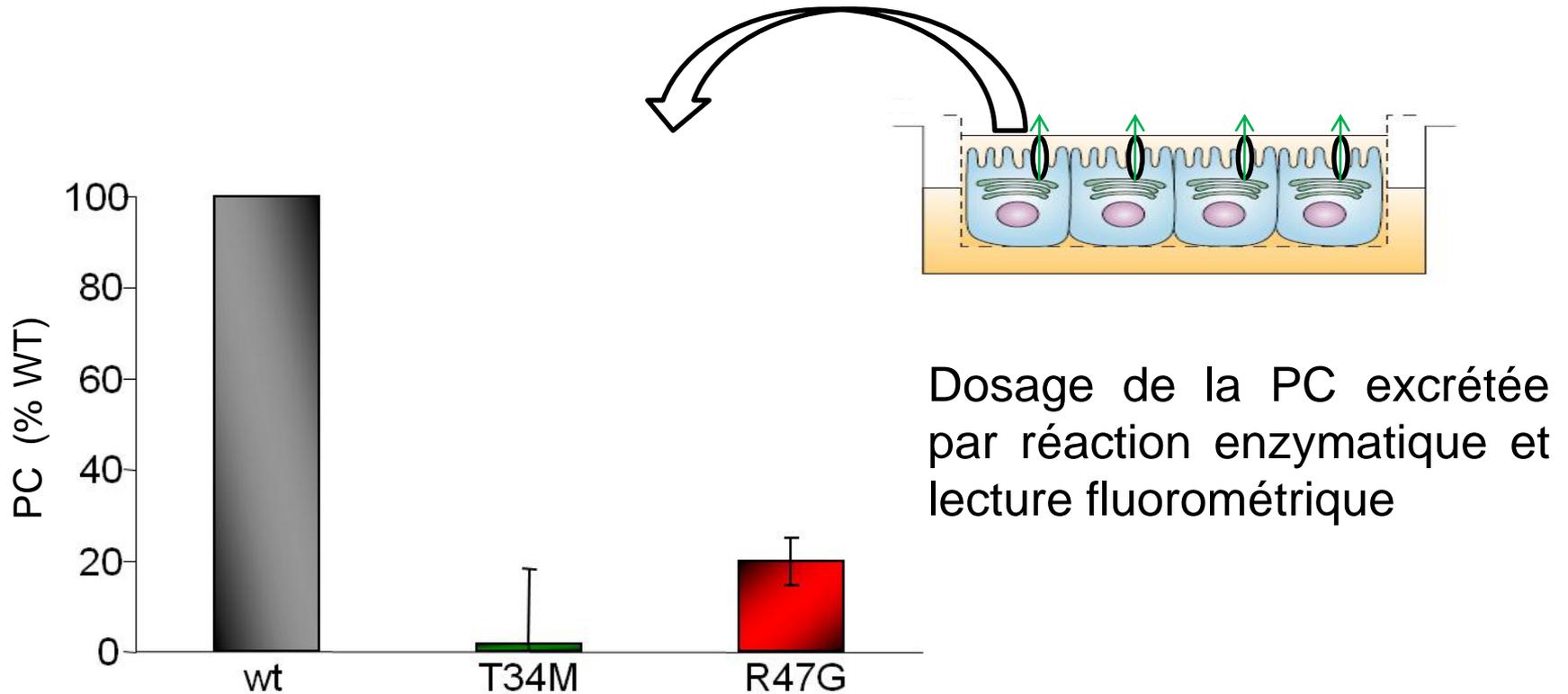
# Effet des mutations T34M et R47G

- Les mutations T34M et R47G ont été décrites chez des patients hétérozygotes atteints d'un syndrome LPAC



- ABCB4-T34M et ABCB4-R47G présentent une maturation normale
- Ils sont exprimés à la membrane apicale des cellules MDCK

# Les mutations T34M et R47G entraînent un défaut d'activité



- Les mutations induisent un défaut de sécrétion de PC

# Conclusion

---

Deux phénotypes différents ont été observés dans les cellules

- Rétention intracellulaire :  
Possibilité de restaurer le trafic, perspectives de traitement pharmacologique de la PFIC3
- Défaut d'activité  
Nécessité de mieux comprendre les mécanismes de régulation de l'activité d'ABCB4

# Remerciements

---

Centre de Recherche Saint-Antoine,  
INSERM-UPMC UMR S 938,  
Equipe Chantal Housset : Pathologie biliaire

Tounsia Aït Slimane  
Véronique Barbu  
Jean-Louis Delaunay  
Danièle Delautier  
Anne-Marie Durand-Schneider  
Thomas Falguières  
Julien Gautherot  
Chantal Housset  
Raoul Poupon

Hôpital de Bicêtre

Emmanuel Jacquemin

IFR65

Plateforme d'imagerie cellulaire

Philippe Fontanges  
Romain Morichon

