



Par le Docteur Isabelle TOUITOU (Août 2018)

Résumé

Une mutation auto-inflammatoire dans NLRC4 révèle une interface d'oligomérisation LRR -LRR

Dans cette étude, les auteurs ont recruté deux patients non apparentés présentant un syndrome d'activation macrophagique (SAM) associé à la même nouvelle mutation dans NLRC4 (NOD-like receptor family CARD containing 4 protein). Ils ont ensuite réalisé des études fonctionnelles pour essayer de comprendre la physiopathologie de la maladie liée à cette mutation.

Description clinique

Les deux patients avaient une hépatomégalie, une fièvre élevée et une CRP nettement augmentée.

Le premier patient a présenté à l'âge de 11 jours une éruption urticarienne et un syndrome inflammatoire clinique et biologique. Méningite et septicémie bactériennes ont été éliminées. Ce patient s'est progressivement dégradé avec le développement d'une thrombocytopénie, d'une insuffisance rénale aiguë, d'une diarrhée sévère et d'une éruption de pétéchies et ecchymoses. Une pancytopénie progressive s'est installée, avec augmentation de la ferritine, des transaminases, et des triglycérides. Une Ponction Biopsie de Moelle a confirmé un SAM. Ce petit est décédé à l'âge de 11 semaines, aucun traitement n'ayant été efficace.

Le second patient a présenté une septicémie néonatale, 2 épisodes de bronchopneumonie à l'âge de 11 mois, et des poussées de dyspnée, diarrhée, douleurs abdominales et éruption maculopapuleuse à l'âge de 18 mois. Lui aussi s'est dégradé progressivement, avec apparition de thrombocytopénie, altération de la conscience, et décès quelques jours après l'admission à l'hôpital.

Diagnostic génétique

Le premier patient a bénéficié d'un séquençage ciblé car le diagnostic a été posé cliniquement. Le second patient a eu une étude d'exome. La même nouvelle mutation dans NLRC4, apparue de novo dans les deux cas, a été mise en évidence : c.1965G>C prédite pour donner l'altération protéique p.W655C. Cette mutation réside dans le domaine LRR en aval des mutations actuellement connues qui sont toutes situées autour des régions de liaison à l'ADP.

Tests fonctionnels

→ Augmentation de ASC

Des cellules HEK293T ont été transfectées de manière transitoire avec un vecteur ASC-GFP et diverses formes mutantes de NLRC4. Une augmentation significative de la formation de particules d'ASC fut observée par rapport à la NLRC4 WT, non seulement pour la mutation p.W655C, mais aussi pour d'autres mutants. Ces résultats indiquent que p.W655C augmente l'assemblage de l'inflammasome.

→ Augmentation du relargage de IL1, IL18 et de la pyroptose

Des cellules de type monocyte THP-1 déficientes en NLRC4 ont été générées en utilisant des techniques d'édition de gènes CRISPR / Cas9. Les cellules KO THP-1 transitoirement transduites avec un mutant NLRC4 (notamment p.W655C) libéraient plus d'IL-1b et d'IL-18 que leur homologue WT, et mourraient plus vite. Cette pyroptose n'était pas significativement réduite par la suppression de l'ASC, contrairement à la sécrétion d'IL-1b qui était légèrement diminuée, et celle d'IL-18 qui était nettement réduite.

→ p.W655 ne tolère pas la substitution

Par ailleurs, les auteurs ont cherché à comprendre le mécanisme à la base de l'activation de NLRC4. L'apparition d'une cystéine à la place du tryptophane ne donne pas lieu à la formation de pont disulfure. Ensuite, les auteurs se sont demandé si l'activation de NLRC4 était spécifique à la substitution de cystéine en ce résidu. Le tryptophane muté en alanine, acide aspartique ou sérine entraîne une augmentation de la formation de particules ASC par comparaison avec NLRC4 WT, suggérant que l'effet des mutations au niveau de W655 n'est pas spécifique à la cystéine.

Enfin, les auteurs ont regardé si une interface LRR-LRR était importante pour l'activation accrue de l'inflammasome observée avec p.W655C. Plusieurs mutations ont été effectuées dans deux hélices séparées (LRR1 et LRR2) afin d'empêcher d'éventuelles liaisons dans une zone LRR adjacente. La combinaison de p.W655C avec une mutation LRR1 ou LRR2 réduit la mort cellulaire et la sécrétion d'IL-1b et d'IL-18 à des niveaux comparables à NLRC4 WT. À noter que l'ajout de mutations de LRR1 à une autre mutation NLRC4 a le même effet, ce qui implique que LRR1 pourrait être important pour l'oligomérisation NLRC4. Par contre, la combinaison de LRR2 avec d'autres mutations connues ne réduit pas l'activation de l'inflammasome, ce qui suggère que LRR2 est une interface qui pourrait être impliquée spécifiquement avec la mutation p.W655C.

Conclusion

Une interface LRR-LRR est importante pour l'activation de l'inflammasome NLRC4 par des mutations responsables de NLRC4-AID