

## 2015

### **Essai pour la thérapie génique du cancer du pancréas**

**Explication du Dr. Pierre Cordelier** suite à l'Article sur les espoirs ; cancer du pancréas.

" Nous travaillons depuis bientôt deux décennies sur des approches utilisant les gènes/l'ADN comme médicaments, autrement dit sur des stratégies de thérapie génique.

Plus particulièrement, nous utilisons dans le cadre du cancer du pancréas des gènes dits "suppresseurs de tumeurs", qui sont perdus au cours du processus cancéreux, et dont l'activité inhibe très fortement la progression cancéreuse, en combinaison avec des gènes qui rendent la chimiothérapie plus active. Il faut par la suite associer à ces gènes des "vecteurs" qui permettent leur entrée dans les cellules cancéreuses; dans notre cas, il s'agit de vecteurs chimiques "non viraux".

Le médicament (ADN + vecteur non viral) est administré par endoscopie dans la tumeur de patients qui ne sont pas éligibles pour la chirurgie. Nous avons mené un premier essai chez 22 patients de 2010 à 2012; cet essai clinique de phase I nous a permis de démontrer que cette approche est faisable et sûre, sans effets secondaires majeurs. Chez certains patients, la combinaison de la thérapie génique et de la chimiothérapie a permis une amélioration de leur état général. Nous avons également pu constater une augmentation de la survie des patients, et allons bientôt procéder à un essai clinique de phase II (efficacité sur 80 patients) afin de valider ces premières observations.

Du côté recherche, nous développons désormais d'autres approches basées sur des vecteurs "viraux" et sur des virus tueurs de tumeurs."  
Dr Pierre Cordelier

### **Résumé par le Dr. Arnaud Boulling, des recherches en génétique réalisées à l'unité INSERM UMR1078 (Brest) pour l'année 2015.**

#### Sur le plan diagnostic

- ⇒ Identification de nouveaux facteurs de risques sur les gènes
  - CEL (nouveau gène impliqué dans la pancréatite – travail collaboratif)

- *CTRC* (1<sup>er</sup> identification de mutations introniques de *CTRC* dans la pancréatite)
- *CASR* (à confirmer)

A recombined allele of the lipase gene *CEL* and its pseudogene *CELP* confers susceptibility to chronic pancreatitis.

Fjeld K, Weiss FU, Lasher D, Rosendahl J, Chen JM, Johansson BB, Kirsten H, Ruffert C, Masson E, Steine SJ, Bugert P, Cnop M, Grützmann R, Mayerle J, Mössner J, Ringdal M, Schulz HU, Sandler M, Simon P, Sztromwasser P, Torsvik J, Scholz M, Tjora E, Férec C, Witt H, Lerch MM, Njølstad PR, Johansson S, Molven A.

Nat Genet. 2015 May;47(5):518-22.

Report of 2 *CTRC* Intronic Mutations Associated With Acute or Chronic Pancreatitis and Delineation of Their Pathogenic Molecular Mechanisms.

Masson E, Chen JM, Férec C.

Pancreas. 2015 Aug;44(6):999-1001.

Overrepresentation of Rare *CASR* Coding Variants in a Sample of Young French Patients With Idiopathic Chronic Pancreatitis.

Masson E, Chen JM, Férec C.

Pancreas. 2015 Aug;44(6):996-8.

⇒ **Confirmation des facteurs de risques communs identifiés par le groupe de Whitcomb (USA) à proximité des gènes *PRSS1* et *CLDN2* (travail collaboratif)**

Polymorphisms at *PRSS1-PRSS2* and *CLDN2-MORC4* loci associate with alcoholic and non-alcoholic chronic pancreatitis in a European replication study.

Derikx MH, Kovacs P, Scholz M, Masson E, Chen JM, Ruffert C, Lichtner P, Te Morsche RH, Cavestro GM; PanEuropean Working group on Alcoholic Chronic Pancreatitis members and collaborators, Férec C, Drenth JP, Witt H, Rosendahl J.

Gut. 2015 Sep;64(9):1426-33.

Identification of a functional *PRSS1* promoter variant in linkage disequilibrium with the chronic pancreatitis-protecting rs10273639.

Boulling A, Sato M, Masson E, Génin E, Chen JM, Férec C.

Gut. 2015 Aug 5. pii: gutjnl-2015-310254.

Sur le plan thérapeutique

- ⇒ Le projet de criblage pharmacologique sur modèle levure doit démarrer à la fin de l'année. Il a pour but d'identifier des molécules pouvant avoir un intérêt thérapeutique pour le traitement de la pancréatite chronique. Il s'effectuera dans le cadre d'une thèse.

**Veille scientifique 2015 au sujet de la pancréatite héréditaire, par le Dr. Vinciane Rebours.**

En 2015, des articles sont parus pour essayer de comprendre les mécanismes en cause au cours des pancréatites liées à des mutations génétiques. Un travail a notamment essayé de comprendre les modifications de fonctionnement liées aux mutations du gène CTRC, codant pour la chymotrypsine C. La chymotrypsine C est une enzyme qui joue un rôle dans la digestion des protéines et des mutations entraînent un gain de fonction, c'est à dire une hyperactivation de cette enzyme.

Comme vous le savez, peu de traitements sont disponibles à ce jour et nous attendons avec impatience les résultats de l'essai EUROPAC2 sur l'effet au long cours des anti-oxydants pour limiter le nombre et l'intensité des crises douloureuses. Les inclusions sont terminées. 240 patients ont participé à cette étude et nous les remercions. Cet essai thérapeutique européen étudiait l'effet des traitements anti oxydants (vitamine C, Sélénium, bêta carotène...) ou à base de magnésium chez les patients ayant une pancréatite chronique héréditaire douloureuse. En attendant les résultats qui ne seront pas disponibles avant 15 mois, voici les données d'une méta-analyse parue cette année sur ce sujet. Une méta-analyse est la compilation de tous les résultats de plusieurs études qui traitent d'un même sujet. 8 études étaient compilées, soit 446 patients avec une pancréatite chronique alcoolique ou non alcoolique. 234 patients recevaient un traitement anti oxydant et 212 patients n'en recevaient pas. On notait une diminution significative des douleurs dans le groupe traité en comparaison avec les patients non traités (RR, 0.73; 95% CI, 0.58-0.91; P = 0.006). En faisant des analyses de sous-groupes, cette diminution était observée dans le groupe des pancréatites alcooliques et dans le groupe des pancréatites non alcooliques. Ce résultat est très encourageant car un traitement anti-oxydant est facile à prendre sans réel effet secondaire potentiel.

Une deuxième étude a analysé l'intérêt de traitement par endoscopie chez les enfants pour limiter les douleurs. 12 enfants ont participé à cette étude. Tous avaient une pancréatite héréditaire avec de multiples poussées douloureuses. Une analyse fine du pancréas était faite par IRM pour comprendre les lésions du pancréas qui pouvaient être à l'origine des douleurs, notamment des calcifications qui obstruent le canal principal du pancréas (canal de Wirsung). En cas d'obstruction du canal par des calcifications, une CPRE était faite, c'est à dire un examen sous anesthésie générale qui permet de rentrer dans le canal principal via les voies naturelles.

Une prothèse pancréatique était posée dans le canal principal pendant 12 mois (un tube en plastique) pour laisser ouvert le canal et permettre un meilleur écoulement des sécrétions pancréatiques. Après un suivi de 3 ans, tous les enfants traités n'avaient pas récidivé des douleurs et ils pouvaient tous suivre une activité quotidienne normale.

L'endoscopie est parfois une bonne alternative qui peut permettre de passer un cap. Cependant il faut bien poser l'indication et bien sélectionner les patients qui pourraient en tirer un bénéfice.

Il est important de se renseigner et d'être pris en charge dans un centre expert qui a l'expérience de cette maladie et de ce traitement.

Dr Vinciane Rebours,

Service de Gastroentérologie et Pancréatologie.

Hôpital BEAUJON, Clichy (92110). vinciane.rebours@aphp.fr

### **Référence**

1/ *Antioxidant Therapy for Pain Reduction in Patients With Chronic Pancreatitis- A Systematic Review and Meta-analysis.* Tarun Rustagi and Basile Njei. *Pancreas* 2015;44: 812-818.

2/ *Therapeutic step-up strategy for management of hereditary pancreatitis in children.* Kargl S, Kienbauer M, Duba H, Schöfl, Pumberger. *J Pediatr Surg.* 2015 Apr;50(4):511-4.

## 2014

### **Concernant la PCH : Résumé des recherches actuelles du Dr. Arnaud Boulling (au 25/09/2014)**

Depuis la découverte du premier gène impliqué dans la pancréatite chronique héréditaire en 1996, de nombreuses nouvelles mutations impliquées dans cette maladie ont été identifiées sur différents gènes (PRSS1 et SPINK1 en grande majorité). Toutefois, certains cas restent inexplicés, indiquant que toutes les mutations responsables ou favorisant le développement de la pancréatite chronique n'ont pas été identifiées à ce jour. Un constat expliquant en partie ce phénomène est que depuis près de 20 ans, tous les efforts destinés à identifier des mutations chez les malades se sont focalisés sur la « région codante » des gènes responsables de la maladie. Pourtant, on sait depuis plusieurs années que la région régulatrice appelée promoteur qui borde chacun de nos gènes, et qui en contrôle l'activité, est susceptible de contenir de nombreuses mutations (voir figure). Son étude est plus complexe, ce qui explique qu'aucune équipe n'ait fait l'effort de s'y intéresser. Depuis la fin de ma thèse et pendant mes années de recherche à l'étranger, j'ai eu l'occasion de mettre en place et développer certaines techniques d'études

spécifiques de ces régions. Depuis mon retour dans le laboratoire du professeur Férec (début 2014), j'ai entamé l'identification et l'analyse fonctionnelle systématique de toutes les mutations localisées dans les promoteurs de plusieurs gènes impliqués dans la pancréatite chronique. Les résultats préliminaires que nous avons obtenus ont déjà permis d'identifier de nouvelles mutations impliquées dans cette maladie, ce qui va permettre d'en améliorer le diagnostic.

Le Soutien de **la recherche génétique**, le Dr Arnaud Boulling, , *INSERM U613 Génétique moléculaire et génétique épidémiologique* nous en parle :

### **ANALYSE FONCTIONNELLE DE VARIANTS DU GENE SPINK1 IMPLIQUES DANS LES PANCREATITES HEREDITAIRES**

Depuis maintenant plusieurs années, il est démontré que les variations observées sur le gène *SPINK1* codant le peptide PSTI (Pancreatic Secretory Trypsin Inhibitor) sont associées avec les pancréatites chroniques héréditaires. Ces altérations sont connues pour entraîner une baisse de l'activité ou de l'expression de PSTI. Nous avons récemment déterminé les conséquences fonctionnelles de trois variants situés sur le peptide signal (p.L12F, p.L14P, p.L14R), ainsi que celles de sept variants situés sur le peptide mature de PSTI (p.N34S, p.G48E, p.D50E, p.Y54H, p.P55S, p.R65Q, p.R67C). Les effets des différents variants ont été caractérisés par des western blot réalisés sur le type sauvage et les variants de PSTI, exprimés dans les cellules CHO. L'expression de ces variants a également été évaluée en mesurant leur niveau de transcription par RT-PCR. Les altérations du peptide signal p.L14P et p.L14R entraînent une dégradation intracellulaire rapide de PSTI, empêchant ainsi sa sécrétion, tandis que p.L12F ne présente pas d'effet délétère. Les effets provoqués par les différents variants situés sur le peptide mature permettent de les classer en trois catégories. La première catégorie comprend les polymorphismes p.N34S et p.P55S, qui impliquent une conservation des propriétés physico-chimiques des acides aminés, et n'entraînent pas de réduction de l'expression de PSTI. La deuxième catégorie contient uniquement la mutation faux-sens p.R65Q, substituant un acide aminé chargé positivement par un acide aminé neutre, et causant une réduction d'environ 60% de l'expression de la protéine. La dernière catégorie regroupent les mutants p.G48E, p.D50E, p.Y54H et p.R67C, impliquant des changements de charge des acides aminés et causant une inhibition complète ou presque complète de la sécrétion de PSTI. Les quantités d'ARNm mesurées pour le type sauvage et les mutants sont similaires, ce qui exclut la possibilité que les variations d'expression observées résultent d'une réduction de la transcription ou d'une baisse de la stabilité de l'ARNm. A la lumière de ces

observations, il semble donc que ces mutations faux-sens entraînent une baisse de sécrétion de PSTI en perturbant les mécanismes de transports cellulaires de ce peptide.

*Travail de thèse financé par la région Île de France, dans le cadre du projet PICRI en partenariat avec L'INSERM et l'Association des Pancréatites Chroniques Héritaires.*

## **Bases génétiques des pancréatites héréditaires**

Pour améliorer la compréhension des phénomènes impliqués dans les pancréatites héréditaires, nous avons cherché à comprendre le fonctionnement des anomalies génétiques provoquant cette maladie. Ce travail a porté sur le gène SPINK1, l'un des deux responsables de la pancréatite héréditaire. Il existe 10 anomalies possibles pour ce gène, dont une que nous avons récemment identifiée.

Pour analyser ces anomalies génétiques, nous avons utilisé des cultures de cellules *in vitro*, et procédé de la manière suivante :

- 1) A partir d'un peu d'ADN, nous avons reconstruit le gène malade pour pouvoir l'étudier.
- 2) Nous avons ensuite comparé le fonctionnement du gène sain et du gène malade :

Ainsi, cette étude a permis de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans les pancréatites chroniques héréditaires, en réalisant une analyse fonctionnelle des anomalies génétiques recensées sur le gène SPINK1.

**Un tel travail a pour but non seulement de faire progresser les connaissances fondamentales portant sur cette maladie, mais également de permettre un diagnostic plus efficace des malades atteints de pancréatites chroniques héréditaires.**

**Ce travail a été présenté à un congrès international en génétique humaine** : Boulling A., Le Maréchal C., Trouvé P., Raguénès O., Chen J-M. and Férec C. *Functional analysis of pancreatitis-associated missense mutations in the pancreatic secretory trypsin inhibitor (SPINK1) gene.* (2007). European Society of Human Genetics Conference. 16 – 19 juin, Nice (France).

L'objectif de notre recherche au sein de l'Unité Inserm U613 est de comprendre les mécanismes et tout particulièrement les mécanismes génétiques qui peuvent conduire à l'apparition d'une pancréatite chronique. **Il existe quelques très rares familles où la maladie pancréatique se transmet sur un mode héréditaire et notre travail dans ce domaine a débuté il y a 12**

**ans par la localisation du gène responsable de cette affection, le Trypsinogène cationique situé sur le chromosome 7.**

**Notre recherche est aujourd'hui centrée, non seulement sur l'étude de ce gène (PRSS1) qui code pour la plus importante des enzymes du pancréas, mais également sur son inhibiteur (SPINK1) et sur les autres gènes qui interviennent dans la survenue des pancréatites.** A l'intérieur de la cellule pancréatique, sont synthétisées ces enzymes appelées protéases qui vont permettre la digestion des aliments dans le duodénum. Lorsque les enzymes pancréatiques sont synthétisées en excès dans le pancréas, cet excès peut conduire à la destruction des cellules pancréatiques et à l'apparition de crises de pancréatites aiguës qui peuvent évoluer vers la chronicité.

Nos travaux consistent à comprendre et à élucider les différents mécanismes qui peuvent rompre un délicat équilibre qui existe dans les cellules du pancréas, et à identifier les mécanismes génétiques qui peuvent détruire cet équilibre.

Dans ce contexte, nous avons identifié de nombreuses mutations au niveau de ces gènes et de cette région du génome. La compréhension de ces mécanismes doit nous conduire à diagnostiquer plus précocement la maladie, à mieux la prévenir et demain à traiter efficacement les pancréatites chroniques en particulier celles d'origine génétique.

## **Veille scientifique 2014 : Quelles sont les nouvelles données au sujet de la pancréatite héréditaire?**

Comme tous les ans, de nombreux articles sont parus pour essayer de comprendre les mécanismes en cause au cours de la pancréatite héréditaire selon le type de mutation et du gène en cause, de comprendre les altérations entraînées par les mutations et leur répercussion sur le fonctionnement du pancréas, et notamment dans le fonctionnement des enzymes qui nous aident à digérer les graisses. D'un point de vu des traitements disponibles, comme vous le savez un essai thérapeutique européen est en cours pour l'étude des traitements anti oxydants (vitamine C, Sélénium, bêta carotène...) ou à base de magnésium chez les patients ayant une pancréatite chronique héréditaire douloureuse. Il se poursuit à l'hôpital Beaujon (Clichy, 92) et tous les patients souhaitant participer sont les bienvenus, cependant les inclusions seront bientôt closes car 230 patients / 240 patients prévus ont déjà participé. Il reste donc moins de 10 places pour les centres anglais, allemands et français. Le traitement est de 12 mois avec une visite trimestrielle de suivi pendant ces 12 mois. Nous avons encore besoin de vous.

Ce protocole a été mis en place en raison de résultats encourageants chez des groupes de patients présentant des douleurs rebelles. Une étude récente d'un groupe de chercheurs allemands a essayé de comprendre comment un régime enrichi en magnésium pouvait agir et faire diminuer l'inflammation du pancréas. (1) Au cours de la pancréatite héréditaire, les poussées de pancréatite sont dues à une activation des enzymes pancréatiques au sein du pancréas (au lieu de s'activer

dans le tube digestif pour nous aider à digérer les graisses que nous avons mangées). Il existe ainsi un phénomène « d'autodigestion » du pancréas, c'est la pancréatite aiguë. Si nous plongeons dans la cellule, on constate que cette activation des enzymes est dépendante du taux de calcium relargué à partir des réserves situées dans la cellule du pancréas. Quand on met un agent chimique qui capte l'excès de calcium, on constate qu'il existe moins d'activation des enzymes, donc moins de pancréatite. Le magnésium est un oligo élément qui naturellement peut remplacer le calcium dans la cellule. Mais contrairement au calcium, si le magnésium est en excès, il n'active pas les enzymes du pancréas. L'idée des chercheurs était donc de donner des repas enrichi en magnésium et d'analyser s'il pouvait remplacer le calcium en excès. Pour tester cette hypothèse, ils ont donné à des rats un régime enrichi en magnésium pendant 2 semaines puis ont provoqué des pancréatites expérimentales chez ces rats en leur injectant un produit toxique. Chez les rats qui avaient consommé beaucoup de magnésium, il a été constaté moins d'inflammation et d'anomalies de leur pancréas (en comparaison avec des rats nourris normalement). Pour aller plus loin, ils ont observé que chez des rats privés de magnésium dans leur alimentation, leur pancréas devenait inflammatoire, même pour des seuils d'enzymes qui ne sont normalement pas délétères. Cette étude, très intéressante, nous aide à comprendre comment une prise de magnésium pourrait limiter les crises douloureuses. Cela doit être prouvé chez l'homme et c'est pourquoi nous attendons avec impatience les résultats de l'essai EUROPAC 2 qui répondra à cette question.

**Dr Vinciane Rebours**, service de Gastroentérologie et Pancréatologie. Hôpital BEAUJON, Clichy (92110). [vinciane.rebours@bjn.aphp.fr](mailto:vinciane.rebours@bjn.aphp.fr)

**Référence** : 1 / Effect of magnesium supplementation and depletion on the onset and course of acute experimental pancreatitis. Schick, Scheiber, Mooren, O Ceyhan, Schnekenburger, Sandler, Schwaiger, Omercevic, van den Brandt, Fluhr, Domschke, Krüger, Mayerle, Lerch. *Gut* 2014;63:1469–1480.

## 2013

**Veille scientifique 2013. Quelles sont les nouvelles données au sujet de la pancréatite héréditaire?** Comme tous les ans, de nombreux articles sont parus pour essayer de comprendre les mécanismes en cause au cours de la pancréatite héréditaire selon le type de mutation et du gène en

cause, de comprendre les altérations entraînées par les mutations et leur répercussion sur le fonctionnement du pancréas, et notamment dans le fonctionnement des enzymes qui nous aident à digérer les graisses. Depuis un an, les centres de recherche génétique se focalisent de plus en plus sur les autres déterminants génétiques en cause au cours des pancréatites héréditaires ou non.

Le but est de comprendre pourquoi deux personnes exposées à un même toxique (l'alcool ou le tabac) ou à un même facteur de risque de pancréatite (hypertriglycémie, hypercalcémie) auront des réponses différentes à ces agressions. Ils cherchent ainsi des facteurs génétiques qui rendent plus sensibles le pancréas. En d'autres termes, prises isolément ces anomalies génétiques n'ont pas de répercussions mais couplées à un toxique, une variation anatomique, un état anormal de notre métabolisme calcique ou lipidique, elles déclenchent des poussées de pancréatite. Ces susceptibilités génétiques sont différentes des anomalies du gène PRSS1 dont les mutations à elles seules peuvent provoquer des pancréatites aiguës et une pancréatite chronique. Ainsi, des chercheurs hollandais ont analysé l'expression du gène ATP8B1 qui code pour une protéine très présente dans le pancréas normal et dont le rôle est de participer à l'organisation de la membrane des cellules pancréatiques. L'analyse a porté sur plus de 500 patients atteints de pancréatite chronique et plus de 1000 patients indemnes de toute maladie du pancréas. Au final, les variations du gène n'étaient pas plus fréquentes chez les patients porteurs d'une pancréatite chronique sans cause ou héréditaire. Même si cette étude ne montrait pas de lien positif, les recherches dans ce sens se multiplient.

Une étude allemande a permis de mettre en évidence des variations génétiques plus fréquentes du gène CPA1 chez les patients porteurs d'une pancréatite non alcoolique (3% versus 0,1% chez les patients sans maladie pancréatique). Ce gène code pour la protéine carboxypeptidase A1. De manière très intéressante, elle n'agit pas sur les enzymes du pancréas mais sur le système de défense du pancréas aux agressions.

D'un point de vue thérapeutique, la thérapie génique n'est pas encore disponible au cours des pancréatites héréditaires et les patients présentent depuis leur enfance des douleurs et des pancréatites aiguës le plus souvent invalidantes ayant de réelles répercussions sociales, scolaires et professionnelles.

Le but des traitements proposés est de soulager les patients par des antalgiques mais également exceptionnellement par des techniques endoscopiques, voire chirurgicales. L'objectif est de toujours préserver et épargner le pancréas.

Une équipe américaine a publié des résultats intéressants chez les enfants. Des gestes endoscopiques étaient réalisés chez les enfants permettant de limiter les douleurs et les poussées aiguës pendant en moyenne 3 ans. Il est

bien connu que les douleurs sont plus fréquentes et intenses pendant l'enfance et l'adolescence. Des gestes simples pourraient limiter les douleurs tout en préservant le pancréas. Ces gestes techniques consistent à la mise en place d'une prothèse en plastique dans le canal du pancréas ou à détruire des gros calculs intra pancréatiques par des ultra sons ou tout simplement à ouvrir l'entrée du canal pancréatique principal. Ces gestes se font par voie naturelle et ne nécessitent que quelques jours d'hospitalisation. Cependant ils peuvent à eux seuls déclencher des poussées de pancréatite au décours immédiat du geste. Il faut donc toujours décider d'un tel geste après concertation d'experts dans des centres expérimentés. Si les dossiers des patients sont bien analysés, quelques enfants pourraient peut être bénéficier de ces alternatives thérapeutiques.

Enfin l'étude Européenne pour l'étude des traitements anti oxydants (vitamine C, Sélénium, bêta carotène...) ou à base de magnésium chez les patients ayant une pancréatite chronique héréditaire douloureuse se poursuit à l'hôpital Beaujon (Clichy, 92).

Tous les patients souhaitant participer sont les bienvenus et pourront ainsi bénéficier d'un nouveau traitement dont le but est de diminuer l'inflammation chronique du pancréas et ainsi les poussées. Tous les patients présentant des douleurs chroniques dans le cadre de la pancréatite héréditaire peuvent être inclus. Le traitement est de 12 mois avec une visite trimestrielle de suivi pendant ces 12 mois. Nous avons besoin de vous.

**Dr Vinciane Rebours**, service de Gastroentérologie et Pancréatologie.  
Hôpital BEAUJON, Clichy (92110) vinciane.rebours@bjn.aphp.fr

#### **Références**

- 1/ van der Woerd WL, van Haaften-Visser DY, van de Graaf SF, et al. Mutational Analysis of ATP8B1 in Patients with Chronic Pancreatitis. *PLoS One*. 2013 Nov 19;8(11).
- 2/ Witt H, Beer S, Rosendahl J, Chen JM, et al. Variants in CPA1 are strongly associated with early onset chronic pancreatitis. *Nat Genet*. 2013 Oct;45(10):1216-20.
- 3/ Ceppa EP, Pitt HA, Hunter JL, et al. Hereditary pancreatitis: endoscopic and surgical management. *J Gastrointest Surg*. 2013 May;17(5):847-56.

**Fichier en format PDF à télécharger : [Résumé chronologique de 2004 à 2012](#) <= cliquez sur ce lien**

## 2011

### **La recherche génétique continue, et L'Etude clinique démarre :**

Nous avons besoin de vous ! Proposition de participer à une étude scientifique sur la prise en charge de la douleur PROTOCOLE EUROPAC - 2  
Traitement de la douleur au cours des pancréatites héréditaires et des

pancréatites chroniques idiopathiques : magnésium et traitement antioxydant. Investigateur principal et Médecin Correspondant: Dr REBOURS Vinciane – Service de gastro-entérologie et pancréatologie Hôpital Beaujon – 100, Bd du Général Leclerc – 92110 CLICHY. 1 – Que savons-nous de la pancréatite chronique? Le pancréas est un organe qui appartient à l'appareil digestif qui permet la digestion des graisses par la sécrétion d'enzymes pancréatiques et la régularisation du sucre dans le sang en sécrétant de l'insuline. Il peut être enflammé de manière chronique (pancréatite chronique). La première cause est la consommation excessive et prolongée d'alcool. Cependant, il existe des causes plus rares comme les pancréatites génétiques (transmises par les chromosomes) et parfois, la cause reste inconnue (pancréatites dites « idiopathiques »). Les patients présentent alors des douleurs chroniques nécessitant souvent la prise d'antalgiques (médicaments contre la douleur) qui peuvent être des dérivés de morphine. Les connaissances actuelles sur la pancréatite chronique ont beaucoup évolué depuis ces dernières années et de nouveaux médicaments permettent de diminuer ces douleurs chroniques très invalidantes pour les patients. 2 – Quel est le but de cet essai ? Traitement de la douleur au cours des pancréatites héréditaires et des pancréatites idiopathiques : prise de magnésium et d'antioxydants. Le but de ce protocole est de proposer un traitement pendant 12 mois par magnésium ou antioxydants chez des patients ayant une pancréatite héréditaire ou idiopathique avec des douleurs chroniques. Nous souhaitons répondre à deux questions majeures : Est-ce que le magnésium et les antioxydants permettent de diminuer les douleurs chroniques et ainsi la prise de médicaments pour la douleur ? Est ce que ces médicaments permettent de diminuer le nombre d'attaques aiguës douloureuses de pancréatite? Afin de pouvoir se faire une opinion en toute objectivité, ni le médecin ni le malade ne savent ce que contiennent les gélules dont l'attribution est tirée au sort. C'est ce que l'on appelle une « étude en double aveugle randomisée ». Les médicaments sont fournis gratuitement. 3- Quel est l'intérêt d'un tel traitement ? Les médicaments proposés sont des traitements simples à base d'antioxydants, de vitamines, de sels minéraux (magnésium) qui ont déjà fait preuve de leur efficacité pour limiter l'évolution des pancréatites chroniques. Ces médicaments (sélénium, magnésium, vitamine C, bêta carotène) sont simples à prendre, n'ont jamais entraîné d'effets secondaires majeurs et ne présentent aucun risque pour les patients. Aucune prise de sang ne sera nécessaire. Des prélèvements d'urine seront réalisés à chaque consultation afin de mesurer la concentration des sels minéraux et des vitamines dans les urines. 4 – Quels sont les problèmes que vous pouvez rencontrer au cours de cette étude ? Les traitements proposés au cours de cette étude n'ont aucun effet secondaire décrit. Les médicaments sont pris 3 fois par jour. Les produits ne présentent pas de contre indication : le magnésium est un sel minéral souvent prescrit au cours de la fatigue, de la tétanie. Les antioxydants sont des substances que l'on trouve dans les fruits et légumes que l'on retrouve à l'état physiologique dans notre corps. Les comprimés avec les antioxydants se composent de Méthionine,

vitamine C, vitamine E, bêta carotène et sélénium. Toutes ces substances sont commercialisées depuis longtemps et sont en libre accès dans toute pharmacie. 5- Comment faire pour accéder à ce traitement et participer au protocole? Le médecin investigateur principal de l'étude est le Dr REBOURS Vinciane – Service de gastro-entérologie et pancréatologie - Hôpital Beaujon – 100, Bd du Général Leclerc – 92110 CLICHY.

Les patients qui souhaitent participer à l'essai doivent être vus en consultation et suivi dans le service de pancréatologie de l'hôpital BEAUJON par le Dr Rebours ou le Pr Lévy.

Les visites auprès du médecin s'occupant de l'étude se feront toutes les 12 semaines pendant 12 mois. Pour les malades provinciaux, il n'est pas possible de participer à cette étude sans aller à Clichy, en région parisienne.

Une première visite permettra de vérifier que le patient remplit les conditions de participation puis 5 visites seront organisées sur une année. Les traitements seront donnés lors de chaque consultation. Pour pouvoir participer, il est primordial de venir en consultation avec les données de son dossier médical.

Les patients doivent présenter une pancréatite et : - avoir une mutation connue ou avoir des antécédents de pancréatite dans sa famille ou avoir une pancréatite chronique sans cause connue.

- être âgé de 18 à 65 ans

- avoir eu 2 épisodes francs de douleurs ou plus depuis un an

- ne pas prendre de morphine depuis plus d'un an - ne pas être enceinte

- ne pas fumer plus de 20 cigarettes par jour

Cette étude a déjà commencé depuis 2 ans en Allemagne et en Angleterre avec succès. Les données recueillies sont des questionnaires sur votre qualité de vie et les douleurs ressenties au cours du traitement. Toutes les informations de votre dossier médical et des analyses biologiques sont strictement confidentielles et seront enregistrées de manière complètement anonyme dans un registre européen.

A tout moment, le patient est parfaitement libre de quitter l'essai sans avoir à se justifier. Pour prendre rendez vous avec le Dr REBOURS ou le Pr LEVY, vous pouvez contacter la consultation du service au 01 40 87 52 41.

Dr REBOURS Vinciane – Service de gastro-entérologie et pancréatologie Hôpital Beaujon – 100, Bd du Général Leclerc – 92110 CLICHY.

## 2010

**Le Pr Claude Férec, personnalité de l'année 2009 vendredi 22 janvier 2010 par Laurence GUILMO. Ouest France décembre 2009**

Le professeur Claude Férec, 57 ans, est aussi un sportif accompli qui a couru les plus grands marathons... Archives Béatrice Le Grand ...Portrait Un chercheur populaire Claude Férec a été élu personnalité 2009 du pays du Brest par les internautes avec 33 % des voix, loin devant ses autres challengers..... Un patron moderne :Décrit comme un « travailleur

acharné », il s'investit personnellement pour trouver des fonds. « Un homme de terrain. » Sportif accompli, il participe aux manifestations. Pour « Avec les pompiers pour le souffle », il a fait ses 65 km en vélo ! Il est marathonien. Même pour la photo et la remise des chèques, il est là ! « Simple, modeste, et accessible. »... Claude Férec est aussi expert auprès du tribunal, conseiller scientifique régional pour l'Inserm, directeur scientifique de l'Établissement français du sang, etc. Un « grand » petit labo : Certains chercheurs - anonymes - estiment qu'on ne parle plus que de la muco ; les autres labos peineraient à récolter des subventions... L'an passé, le 32e congrès européen sur la mucoviscidose - celui des vingt ans de la découverte du gène - à Brest a été la cerise sur le gâteau et a valu à Claude Férec des éloges internationaux. Le labo a obtenu une des neuf chaires d'excellence Inserm-Universités, et a recruté un chercheur. 70 salariés y travaillent sur différentes maladies génétiques. Laurence GUILMO. [http://www.ouest-france.fr/actu/actuLocale\\_-Qui-est-la-personnalite-de-l-annee-Claude-ferec-reunit-les-plus-grandsspecialistes-de-la-muco-a-Brest\\_-1202017-----29019-aud\\_actu.Htm](http://www.ouest-france.fr/actu/actuLocale_-Qui-est-la-personnalite-de-l-annee-Claude-ferec-reunit-les-plus-grandsspecialistes-de-la-muco-a-Brest_-1202017-----29019-aud_actu.Htm)

### **Quelles sont les nouvelles données scientifiques publiées au cours de l'année 2010 au sujet de la pancréatite héréditaire?**

Dans toutes les publications scientifiques, les 2 critères actuels pour affirmer le diagnostic de pancréatite héréditaire sont :

1/ Soit être porteur d'une mutation du gène PRSS1. Ce gène se situe sur le chromosome 7 et régule l'activité d'une protéine pancréatique: le trypsinogène cationique. La transmission des mutations est autosomique dominante, c'est-à-dire qu'elle se fait par un parent unique et est suffisante pour donner des symptômes de pancréatite.

2/ Soit avoir des critères généalogiques: être porteur d'une pancréatite chronique idiopathique (c'est-à-dire sans cause de pancréatite connue et retrouvée: pas d'alcoolisme chronique, pas de troubles de la régulation des triglycérides, du calcium et du phosphore, pas de mutations génétiques connues...) avec des antécédents familiaux de pancréatite idiopathique : 2 parents malades au premier degré ou 3 parents malades au 2° degré. Si on remplit le critère généalogique de pancréatite héréditaire, l'anomalie génétique en cause n'est pas ENCORE connue.

Cela s'explique car depuis 1996, plus de 35 mutations de PRSS1 ont été découvertes et de nouvelles mutations sont mises en évidence tous les ans.

Mais il existe également d'autres gènes dont les mutations prédisposent aux pancréatites génétiques et qui peuvent prendre une forme familiale dans certains cas (atteintes de plusieurs générations). L'analyse de tous ces gènes est faite systématiquement en même temps que l'analyse du gène PRSS1. On connaît ainsi le gène SPINK1 depuis plusieurs années et très récemment le gène CTSC.

Grâce à l'aide de l'APCH dans la collecte de fonds auprès de financeurs, un étudiant dans le laboratoire de génétique du Pr Férec à Brest a pu réaliser ses travaux de thèse de sciences sur le gène SPINK1 et les très nombreuses mutations ou variations des différentes parties du gène (codantes ou non). Le

but était aussi d'analyser l'implication de ces variations sur les symptômes des patients.

La transmission des mutations de SPINK1 est autosomique récessive, c'est-à-dire qu'il faut une mutation provenant de chaque parent pour développer une pancréatite (ce cas de figure est très rare).

Cependant, on estime actuellement en France que 2% de la population générale présentent une mutation unique de SPINK1 et que seuls 1% de ces patients vont développer une pancréatite. Toutes les mutations n'ont donc pas de traduction clinique ou nécessitent l'association avec un autre facteur de risque de pancréatite (comme un excès de consommation d'alcool) pour faciliter la formation de celle-ci.

Le gène CTRC est connu depuis peu et ses mécanismes physiopathologiques sont encore en cours d'analyse. Il apparaît cependant qu'une mutation unique de ce gène pourrait être suffisante pour développer une pancréatite génétique. Ce gène code pour une protéine qui permet de limiter l'activité des enzymes pancréatiques.

Quand une mutation est présente, la régulation est défaillante et les enzymes pancréatiques sont activées en permanence et provoquent des pancréatites aiguës à répétition.

Des études très récentes ont montré que des mutations de ce gène étaient souvent associées à des mutations de SPINK1 en Inde et au Sri Lanka et expliquaient ainsi les pancréatites génétiques (anciennement appelées « tropicales » avant que les anomalies génétiques soient découvertes) très fréquentes dans ces régions.

Dr Vinciane Rebours, Service de Gastroentérologie et Pancréatologie. Hôpital BEAUJON, Clichy (92110). vinciane.rebours@bjn.aphp.fr

## 2009

### **Le Conseil Régional d'Ile de France a communiqué sur : Le génome de la pancréatite chronique héréditaire :**

Améliorer les outils diagnostics pour mieux appréhender le génome de la pancréatite chronique héréditaire Génome de la pancréatite chronique héréditaire, une population de malades à la recherche de son identité génétique, support d'espoir thérapeutique  
Objet du PICRI Se doter d'outils diagnostics permettant à la population des malades atteints de pancréatite chronique héréditaire (PCH) d'être mieux définie.

Le dénombrement le plus large des malades exprimant diversement leur maladie est un préalable à une meilleure connaissance de la maladie et à une meilleure optimisation de la prise en charge.

Ce projet a pour triple objectif d'identifier le besoin en santé publique, de partager les acquis scientifiques entre l'association de patients et le laboratoire de recherche, enfin de vulgariser la recherche génétique auprès du grand public, du jeune public et des patients atteints de maladies génétiques.

Caractère novateur du projet, et enjeu sociétal

Ce travail novateur s'inscrit dans la suite logique de travaux soutenus par l'association en particulier des travaux d'épidémiologie réalisés l'an passé qui ont permis de préciser les objectifs.

Ce projet tire son caractère innovant dans sa méthodologie.

En effet, les malades atteints de PCH contribuent à l'élaboration de la problématique de recherche et à la définition des objectifs de santé publique à atteindre. Intérêt régional :

Ce projet est l'occasion de réaliser une action pilote intégrant recherche médicale, partage du savoir et popularisation d'un mode de recherche. Les résultats obtenus par le laboratoire de recherche et par l'association de malades atteints de PCH, dont la base associative est principalement située en Île-de-France, seront exportables à une échelle européenne et mondiale au bénéfice des trois publics précités.

Coproduction des connaissances La collaboration entre les deux partenaires est précieuse pour la formulation de la problématique de la recherche et pour la définition des objectifs à atteindre.

Volet formation : Ce projet implique en premier lieu un jeune ingénieur de recherche en formation dans le laboratoire de génétique moléculaire et génétique épidémiologique à l'Inserm.

Volet dissémination : - Au niveau de l'association, une présentation de la démarche scientifique sera faite lors de l'assemblée générale de l'APCH par le jeune ingénieur de recherche impliqué dans le projet.

Cette assemblée sera aussi l'occasion d'une discussion des résultats obtenus. - Au niveau de publics extérieurs à la maladie : une plaquette sera réalisée sur l'expérience de coopération entre une association et un laboratoire de recherche en génétique clinique et sur les méthodes et retombées de la génétique clinique.

Cette plaquette sera diffusée lors d'actions de sensibilisation sur la PCH. Une seconde plaquette sera réalisée à destination des malades et de leurs familles.

Enfin, une sensibilisation du public adolescent de lycées sera réalisée en collaboration avec les Clubs Inserm jeunesse d'Île-de-France.

<http://www.iledefrance.fr/recherche-innovation/picri/projets-2006/genome>

### **Point sur la recherche génétique :**

Un nouveau rôle pour les associations de malades Arnaud BOULLING Doctorant en génétique moléculaire INSERM U613 Face au problème que représentent les maladies génétiques pour notre société, les associations de patients apparaissent comme le premier soutien aux malades.

Aide psychologique, informations ou récoltes de fonds sont autant d'activités qu'elles exercent pour se battre contre ces affections héréditaires.

Naturellement, cette lutte passe aussi par le biais des laboratoires académiques où les chercheurs s'efforcent de décrypter les mécanismes complexes de la génétique. Pour permettre une meilleure cohésion entre les associations et les scientifiques, la région Ile-de-France amorce un nouveau concept de projet où les malades décident des objectifs de recherche à atteindre, en collaboration avec les chercheurs.

En France, plus de 30 000 enfants naissent chaque année avec une maladie génétique. Actuellement, on en dénombre plus de 6000 et de nouvelles sont découvertes chaque année.

Si certaines d'entre elles font quand même l'objet d'une attention de la part des médias, comme par exemple la mucoviscidose ou encore la myopathie de Duchenne, leur très large majorité reste méconnue du grand public. Les malades

concernés souffrent alors, au delà du mal physique dont ils sont atteints, d'un manque d'attention de la société et plus spécifiquement du corps médical. Ceci s'explique par le peu de recherches effectuées et le manque d'informations circulantes sur ces pathologies, mais également par le désintérêt des industriels, face à une population d'individus qu'ils considèrent comme peu ou pas rentable. L'errance diagnostique dure souvent plusieurs années, l'absence de traitement est quasiment systématique, et parfois même, l'ignorance et l'incompréhension provoquent des discriminations sociales et professionnelles, reléguant ces malades aux bancs de la société.

Ces affections ne touchent généralement que quelques milliers de personnes pour une maladie donnée, ce qui leur a valu le surnom de « maladie orpheline ». Pourtant si on les considère dans leur ensemble, elles concernent en France plusieurs millions de personnes...

Un problème médical et social La société dispose pourtant des outils technologiques nécessaires pour surmonter certaines des difficultés posées par ces pathologies rares et complexes.

Il est aujourd'hui possible de les identifier et de les comprendre, et demain, nous pourrons sans doute les guérir. En effet, les progrès scientifiques faits depuis la fin du XXème siècle dans de nombreux domaines repoussent sans cesse les limites des biotechnologies et de la génétique. Le séquençage complet du génome humain, achevé en avril 2003, en est un bel exemple.

Parallèlement à cela, la volonté de venir en aide aux personnes touchées par les maladies génétiques existe bel et bien. Il reste à faire le lien entre les souhaits des malades et l'orientation des travaux de recherche menés en France. Pour cela, il faudrait médiatiser davantage les avancées de la recherche biomédicale, et être plus à l'écoute des malades et de leurs difficultés.

Des actions sont quand même réalisées dans cette optique, et la plus populaire d'entre elle reste certainement le Téléthon, qui permet à chacun de faire un geste pour la recherche génétique.

Ces manifestations sont cependant trop rares et trop peu interactives pour permettre au malade et au citoyen d'avoir une réelle influence sur la manière dont les choses doivent se dérouler.

Il faut reconnaître que l'implication de la société dans la lutte contre les maladies génétiques reste limitée. Les programmes scientifiques relèvent avant tout de décisions politiques, et leur impact sociétal n'est pas forcément pris en compte. Seul la communauté scientifique et le pouvoir en place décident de ce qui constitue une recherche légitime et nécessaire, pourtant financée par les citoyens, les associations de malades et les malades.

Cette absence de concertation entraîne forcément un décalage entre le monde de la recherche et les acteurs de la société civile, ce qui est néfaste pour les uns comme pour les autres.

Alors que les scientifiques risquent de perdre toute notion de l'intérêt social de leur travail en s'enfermant dans des démarches purement fondamentales, les malades risquent eux d'être découragés, et de perdre confiance en la médecine. Pour réellement exister au sein de la société, la recherche a donc besoin d'être démocratisée. Des solutions pour engager le dialogue entre chercheurs et malades  
*Arnaud BOULLING Doctorant en génétique moléculaire INSERM U613*

La prise de conscience relative à ce problème commence tout de même à émerger dans la population et un certain nombre de mesures voient le jour.

Par exemple, la Fondation pour la Recherche Médicale, organisme public qui finance des projets de recherche, tient compte des attentes des donateurs en

jumelant les dons à des recherches spécifiques portant sur des pathologies ou des populations de malades bien précises.

Le citoyen joue alors un rôle décisionnel, et donne en accord avec ses propres convictions.

Cette initiative représente déjà un changement non négligeable, mais pour vraiment faire le lien entre les malades et les chercheurs et ainsi lever toute frustration issue d'un manque de communication, le regroupement en association reste la forme la plus adéquate.

Pour favoriser le dialogue entre les associations et les scientifiques, le Conseil Régional d'Ile-de-France a pris l'initiative d'institutionnaliser le concept de recherche participative, en mettant en place des Partenariat Institution Citoyen pour la Recherche et l'Innovation (PICRI) 1.

Ces partenariats permettent à des organisations de la société civile (syndicats, associations, ONG, coopératives) de proposer et participer à des recherches qui concernent leur objet social, en collaboration avec des organismes scientifiques. Les sujets abordés sont très divers et concernent des thématiques médicales mais aussi économiques ou juridiques.

Une population de malade à la recherche de son identité génétique Dans le cadre de cette action, un partenariat entre l'Association des Pancréatites Chroniques Héritaire (APCH) 2, et un laboratoire de génétique, l'unité INSERM U613 a vu le jour. Depuis fin 2006, cette collaboration a pour objectif d'améliorer le diagnostic des malades atteints de pancréatite chronique héréditaire.

Il est vrai que cette maladie génétique rare est peu étudiée, ce qui cause des difficultés pour identifier les personnes touchées. Les symptômes qu'elle provoque sont de fortes douleurs abdominales et des troubles de la digestion, causés par une inflammation du pancréas. Près de 10 ans avant la mise en place du PICRI, l'équipe INSERM U613 du laboratoire de génétique de BREST dirigée par le Professeur Férec avait déjà localisé la région du génome impliqué dans la maladie<sup>3</sup>. Ces travaux précurseurs ont permis d'identifier ensuite l'un des gènes responsables de la pathologie, à savoir PRSS1.

Les mécanismes impliqués dans la maladie ont ainsi pu être étudiés et beaucoup de chemin a été parcouru depuis. Malgré cela, le diagnostic de la maladie restait très incomplet et environ la moitié des malades ignoraient quelle était précisément l'anomalie génétique responsable de leur pathologie.

1 Voir [www.picri.fr](http://www.picri.fr) 2 Voir [www.association-apch.org](http://www.association-apch.org) 3 Le Bodic L, Bignon JD, Raguénès O, Mercier B, Georgelin T, Schnee M, Soulard F, Gagne K, Bonneville F, Muller JY, Bachner L, Férec C. The hereditary pancreatitis gene maps to long arm of chromosome 7. *Hum Mol Genet.* 1996 Apr;5(4):549-54. C'est ce constat qui a motivé la collaboration entre l'association de malades, présidée par Nadine Meslet et le laboratoire de génétique.

Grâce à cette démarche, des progrès significatifs ont été faits depuis deux ans en termes de diagnostic et dans la compréhension des mécanismes moléculaires mis en cause. Il est important de noter que ces nouvelles connaissances ont une retombée directe sur les conditions de vie des malades, qui sont alors mieux pris en charge, même si actuellement il n'existe pas de traitement à proprement parler. Ce partenariat a également permis de réaliser de véritables opérations de communication, pour faire découvrir cette maladie rare auprès d'un plus large public. La mise en place d'une recherche plus citoyenne, plus à l'écoute des besoins sociétaux, marque une volonté politique de démocratiser le savoir scientifique.

Cette forme de recherche participative existait déjà depuis quelques temps dans d'autres pays européens.

On peut aujourd'hui se réjouir que ce phénomène prenne de l'ampleur et touche maintenant la France, d'autant plus que cette initiative est plutôt bien accueillie du côté des chercheurs, comme des citoyens.

En effet, les PICRI proposés par la région Ile-de-France depuis 2005 commencent à être connus et reconnus, et de plus en plus de projets sont à l'étude. Enfin, ce récent succès inspire d'autres régions : les conseils régionaux de Bretagne, Midi-Pyrénées et Rhône-Alpes ont déjà fait connaître leur intention de lancer des propositions équivalentes<sup>4</sup>

#### ANALYSE FONCTIONNELLE DE VARIANTS DU GENE SPINK1 IMPLIQUES DANS LES PANCREATITES HEREDITAIRES

Depuis maintenant plusieurs années, il est démontré que les variations observées sur le gène SPINK1 codant le peptide PSTI (Pancreatic Secretory Trypsin Inhibitor) sont associées avec les pancréatites chroniques héréditaires. Ces altérations sont connues pour entraîner une baisse de l'activité ou de l'expression de PSTI. Nous avons récemment déterminé les conséquences fonctionnelles de trois variants situés sur le peptide signal (p.L12F, p.L14P, p.L14R), ainsi que celles de sept variants situés sur le peptide mature de PSTI (p.N34S, p.G48E, p.D50E, p.Y54H, p.P55S, p.R65Q, p.R67C). Les effets des différents variants ont été caractérisés par des western blot réalisés sur le type sauvage et les variants de PSTI, exprimés dans les cellules CHO. L'expression de ces variants a également été évaluée en mesurant leur niveau de transcription par RT-PCR. Les altérations du peptide signal p.L14P et p.L14R entraînent une dégradation intracellulaire rapide de PSTI, empêchant ainsi sa sécrétion, tandis que p.L12F ne présente pas d'effet délétère. Les effets provoqués par les différents variants situés sur le peptide mature permettent de les classer en trois catégories. La première catégorie comprend les polymorphismes p.N34S et p.P55S, qui impliquent une conservation des propriétés physico-chimiques des acides aminés, et n'entraînent pas de réduction de l'expression de PSTI. La deuxième catégorie contient uniquement la mutation faux-sens p.R65Q, substituant un acide aminé chargé positivement par un acide aminé neutre, et causant une réduction d'environ 60% de l'expression de la protéine. La dernière catégorie regroupent les mutants p.G48E, p.D50E, p.Y54H et p.R67C, impliquant des changements de charge des acides aminés et causant une inhibition complète ou presque complète de la sécrétion de PSTI. Les quantités d'ARNm mesurées pour le type sauvage et les mutants sont similaires, ce qui exclut la possibilité que les variations d'expression observées résultent d'une réduction de la transcription ou d'une baisse de la stabilité de l'ARNm. A la lumière de ces observations, il semble donc que ces mutations faux-sens entraînent une baisse de sécrétion de PSTI en perturbant les mécanismes de transports cellulaires de ce peptide. 4 Lionel Larqué, Jacques Testard. La société n'est pas l'ennemie du savoir scientifique. ([www.jacques.testard.free.fr](http://www.jacques.testard.free.fr)) Travail de thèse financé par la région île de France, dans le cadre du projet PICRI en partenariat avec L'INSERM et l'Association des Pancréatites Chroniques Héréditaires Résumé des travaux de thèse d'Arnaud Boulling (2006 - 8 décembre 2009)

Durant mes 3 années de thèse portant sur la génétique des pancréatites chroniques, mes recherches se sont focalisées sur l'étude d'un gène en particulier : SPINK1. Les anomalies de ce gène, qui permet de produire l'inhibiteur pancréatique de la trypsine, sont impliquées dans la pancréatite chronique héréditaire mais également dans d'autres formes de pancréatites non familiales. L'analyse systématique de toutes les mutations localisées sur SPINK1 a permis d'une part de mieux comprendre les mécanismes moléculaires conduisant aux pancréatites chroniques, mais

également d'apprécier le risque qui se cache derrière les différentes mutations de ce gène.

En effet, certaines altérations de SPINK1 peuvent représenter un très grand risque de développer une pancréatite chronique, tandis que d'autres localisées également sur ce gène ne présentent qu'un risque très faible voire presque négligeable (par opposition, on sait par exemple que les mutations du gène PRSS1 produisant la trypsine représentent un risque très élevé de pancréatite chronique dans la plupart des cas).

Les différents tests fonctionnels que nous avons mis en place ont permis ainsi de dégager 3 types de mutations sur SPINK1 :

1) Des mutations très sévères, capables de déclencher la maladie. Celles-ci seront retrouvées dans la pancréatite chronique dite héréditaire.

2) Des mutations fortes, cependant incapables de déclencher la maladie en l'absence de facteurs de risques supplémentaires (alcool, mutations additionnelles...)

3) Des mutations ayant un effet très faible et représentant un risque négligeable à elles seules. Ce type de travail a pour intérêt direct de pouvoir dire si une mutation de SPINK1 est dangereuse ou pas.

Il sera ainsi possible de mieux apprécier le risque de développer la pancréatite chronique chez un porteur de cette mutation, ce qui est important pour la prise en charge de cette maladie. Soutien financier de la recherche génétique : l'APCH a versé 25 000 euros au Laboratoire de génétique moléculaire de l'INSERM U 613, en fond propres, c'est-à-dire qu'ils proviennent de vos implications, de dons, et manifestations.

De nouveaux travaux sont en cours. Il reste beaucoup de travail à faire sur la compréhension des mécanismes génétiques dans la pancréatite héréditaire et sur les perspectives en termes de stratégies thérapeutiques. Arnaud Boulling, chercheur, poursuit ses travaux pour notre cause jusqu'à mi 2010.

Le Pr Claude Ferec, Directeur de l'U613: Génétique Moléculaire et Génétique Epidémiologique de Brest, présentera ses résultats au club européen du pancréas en Hongrie en juillet 2009. Fin 2009

### **Quelles sont les nouvelles données scientifiques publiées au cours de l'année 2009**

au sujet de la pancréatite héréditaire? Par le Dr Vinciane Rebours D'un point de vue génétique: Comme tous les ans, de nouvelles mutations ou variantes du gène responsable de la pancréatite héréditaire, sont découvertes.

Ce gène s'appelle PRSS1 et code pour une protéine (le trypsinogène cationique) qui régule l'activité des enzymes du pancréas. Quand PRSS1 est muté, cela entraîne une augmentation de l'activité des enzymes et des pancréatites à répétition. Ce gène a été découvert en 1996, et depuis 13 ans maintenant, des mutations sont découvertes tous les ans. On en compte actuellement 34 différentes. Cela explique que certaines familles touchées par cette maladie ne connaissent pas encore la mutation en cause dans leur famille. Les années à venir leur donneront probablement l'explication.

L'intérêt de connaître la mutation précise dans une famille est que cela permet de réaliser le dépistage chez les apparentés si besoin : les enfants, les frères et sœurs ainsi que les parents.

Cependant, toutes les anomalies du gène (mutations ou variations) qui sont découvertes ne sont pas toujours à incriminer dans la genèse des pancréatites. Ces

anomalies du gène sont alors trouvées avec une même proportion chez les patients ayant une pancréatite chronique comme chez les personnes non malades. C'est ainsi que la mutation Y113C a été « disculpée » en 2009. D'un point de vue des connaissances générales de l'évolution de la pancréatite: En 2009, les études publiées ont tenté de caractériser les symptômes dus aux mutations découvertes récemment. On connaît ainsi mieux les symptômes des patients ayant une mutation A16V (2 familles en France, 10 familles en Europe et aux USA) et une mutation R122C (1 famille en France, 6 familles en Espagne). Pour A16V, les symptômes sont similaires à ceux des mutations les plus fréquentes du gène (R122H et N29I) et avec une même fréquence. Les premières douleurs et pancréatites débutent dès l'enfance (en moyenne vers l'âge de 10 ans) et sont très fréquentes (80% des patients). Le risque de diarrhée graisseuse et de diabète est estimé à >50% après l'âge de 60 ans. Pour la mutation R122C, les symptômes sont moins fréquents car seuls 50% des patients qui ont la mutation, vont avoir des symptômes en rapport. Toutes ces données sont à prendre avec précaution car toutes ces études sont établies sur de petits effectifs de patients.

**D'un point de vue thérapeutique :** Les médicaments disponibles pour diminuer le nombre de pancréatites sont limités. Actuellement, nous pouvons traiter les conséquences des pancréatites et surtout prescrire des antalgiques (anti douleur) puissants si besoins au long cours. Une étude indienne a étudié l'intérêt de nouveau traitement à base d'antioxydants (sélénium, vitamine C...) pour diminuer le nombre de poussées douloureuses, la quantité d'antalgiques pris et évaluer la qualité de vie de patients ayant une pancréatite alcoolique. Les résultats sont très encourageants car les douleurs étaient moins sévères et beaucoup avaient une amélioration de leur qualité de vie. Un tel essai est en cours en Europe pour les pancréatites héréditaires. Après beaucoup de difficultés administratives, un centre en France sera ouvert dès Janvier 2009 dans le service de Gastroentérologie de l'hôpital Beaujon. Les médicaments seront disponibles dans le cadre de cet essai qui sera organisé par le Dr REBOURS. Tous les patients présentant des douleurs chroniques dans le cadre de la pancréatite héréditaire pourront être inclus. Le traitement sera de 12 mois et cela impliquera une visite mensuelle de suivi pendant ces 12 mois. Les composants des médicaments sont des antioxydants : vitamine C, Sélénium, bêta carotène... Ces médicaments sont sans danger et sont connus depuis longtemps.  
Dr Vinciane Rebours, service de pancréatologie. Hôpital BEAUJON, Clichy (92).  
vinciane.rebours@bjn.aphp.fr

**Résumé des travaux de thèse d'Arnaud Boulling chercheur INSERM (2006 - 8 décembre 2009)** Durant mes 3 années de thèse portant sur la génétique des pancréatites chroniques, mes recherches se sont focalisées sur l'étude d'un gène en particulier : SPINK1. Les anomalies de ce gène, qui permet de produire l'inhibiteur pancréatique de la trypsine, sont impliquées dans la pancréatite chronique héréditaire mais également dans d'autres formes de pancréatites non familiales. L'analyse systématique de toutes les mutations localisées sur SPINK1 a permis d'une part de mieux comprendre les mécanismes moléculaires conduisant aux pancréatites chroniques, mais également d'apprécier le risque qui se cache derrière les différentes mutations de ce gène. En effet, certaines altérations de SPINK1 peuvent représenter un très grand risque de développer une pancréatite chronique, tandis que d'autres localisées également sur ce gène ne présentent qu'un risque très faible voire presque négligeable (par opposition, on sait par exemple que les mutations du gène PRSS1 produisant la trypsine représentent un risque très élevé de pancréatite chronique dans la plupart des cas). Les différents tests fonctionnels que

nous avons mis en place ont permis ainsi de dégager 3 types de mutations sur SPINK1 : 4) Des mutations très sévères, capables de déclencher la maladie. Celles-ci seront retrouvées dans la pancréatite chronique dite héréditaire. 5) Des mutations fortes, cependant incapables de déclencher la maladie en l'absence de facteurs de risques supplémentaires (alcool, mutations additionnelles...) 6) Des mutations ayant un effet très faible et représentant un risque négligeable à elles seules. Ce type de travail a pour intérêt direct de pouvoir dire si une mutation de SPINK1 est dangereuse ou pas. Il sera ainsi possible de mieux apprécier le risque de développer la pancréatite chronique chez un porteur de cette mutation, ce qui est important pour la prise en charge de cette maladie. Arnaud Boulling

## 2007 2008

### **La recherche génétique continue**

L'objectif de notre recherche au sein de l'Unité Inserm U613 est de comprendre les mécanismes et tout particulièrement les mécanismes génétiques qui peuvent conduire à l'apparition d'une pancréatite chronique. Il existe quelques très rares familles où la maladie pancréatique se transmet sur un mode héréditaire et notre travail dans ce domaine a débuté il y a 12 ans par la localisation du gène responsable de cette affection, le Trypsinogène cationique situé sur le chromosome 7.

Notre recherche est aujourd'hui centrée, non seulement sur l'étude de ce gène (PRSS1) qui code pour la plus importante des enzymes du pancréas, mais également sur son inhibiteur (SPINK1) et sur les autres gènes qui interviennent dans la survenue des pancréatites. A l'intérieur de la cellule pancréatique, sont synthétisées ces enzymes appelées protéases qui vont permettre la digestion des aliments dans le duodénum. Lorsque les enzymes pancréatiques sont synthétisées en excès dans le pancréas, cet excès peut conduire à la destruction des cellules pancréatiques et à l'apparition de crises de pancréatites aiguës qui peuvent évoluer vers la chronicité.

Nos travaux consistent à comprendre et à élucider les différents mécanismes qui peuvent rompre un délicat équilibre qui existe dans les cellules du pancréas, et à identifier les mécanismes génétiques qui peuvent détruire cet équilibre.

Dans ce contexte, nous avons identifié de nombreuses mutations au niveau de ces gènes et de cette région du génome. La compréhension de ces mécanismes doit nous conduire à diagnostiquer plus précocement la maladie, à mieux la prévenir et demain à traiter efficacement les pancréatites chroniques en particulier celles d'origines génétiques. Pr. Claude Ferec, Généticien INSERM U613 «Génétique Moléculaire et Génétique Epidémiologique », Brest Etat des Travaux : Le Pr. Claude Ferec, chercheur INSERM de Brest, a publié le 13 décembre dans la revue Nature Genetics, une information sur l'évolution de ses travaux. Il s'agit d'une modification du

génomique où les patients ont quatre copies du gène PRSS1 codant pour le trypsinogène cationique.

Cet excès de trypsinogène conduit à l'apparition des crises. Le Pr. Claude Férec a fait une conférence de presse vendredi 1er décembre 2006, en direction de journaux régionaux (Ouest France /le télégramme et FR3), sur ce sujet. Extrait de l'article de Laurence GUILMO. (Ouest France samedi 2 décembre 2006) : Des chercheurs brestois ont identifié les responsables d'une forme de pancréatite chronique héréditaire, maladie génétique rare. « Dans cinq familles françaises, nous avons mis en évidence un nouveau mécanisme génétique. Un bloc de gènes est répété plusieurs fois, sur l'une des paires du chromosome 7 », a expliqué le professeur Claude Férec, responsable du laboratoire Inserm de génétique moléculaire et épidémiologique à Brest. La PCH se traduit par une inflammation du pancréas, organe essentiel de la digestion. « La crise est très douloureuse. Les patients sont pliés en deux. Ils ne peuvent plus rien faire. » La très grande majorité des pancréatites sont dues à l'alcoolisme. Mais 5 % d'entre elles sont d'origine génétique.

Cette forme de la maladie, héréditaire, ne touche parfois que la moitié des descendants d'un malade. « Dans ce cas, elle se caractérise par l'apparition précoce, souvent avant dix ans, de crises de pancréatite aiguë. »

Avec des risques accrus de diabète (le pancréas produit l'insuline) ou de cancer du pancréas. En 1997, le laboratoire brestois a localisé la zone du chromosome en cause. Six mois plus tard, se basant sur leurs travaux, des « collègues américains » ont identifié le gène coupable et mis en évidence l'action du trypsinogène.

Cette enzyme principale de la digestion circule alors en quantité trop importante dans l'organisme, entraînant le dérèglement... En lien avec d'autres équipes, ils ont également montré que d'autres personnes développent un mécanisme génétique protecteur vis-à-vis de la pancréatite. En deux ans, c'est la cinquième pathologie où ce mécanisme de copie de blocs de gènes est impliqué ». ...

**Le Soutien de la recherche génétique**, le Dr Arnaud Boulling, , INSERM U613 Génétique moléculaire et génétique épidémiologique nous en parle : ANALYSE FONCTIONNELLE DE VARIANTS DU GENE SPINK1 IMPLIQUES DANS LES PANCREATITES HEREDITAIRES Depuis maintenant plusieurs années, il est démontré que les variations observées sur le gène SPINK1 codant le peptide PSTI (Pancreatic Secretory Trypsin Inhibitor) sont associées avec les pancréatites chroniques héréditaires.

Ces altérations sont connues pour entraîner une baisse de l'activité ou de l'expression de PSTI. Nous avons récemment déterminé les conséquences fonctionnelles de trois variants situés sur le peptide signal (p.L12F, p.L14P, p.L14R), ainsi que celles de sept variants situés sur le peptide mature de PSTI (p.N34S, p.G48E, p.D50E, p.Y54H, p.P55S, p.R65Q, p.R67C). Les effets des différents variants ont été caractérisés par des western blot réalisés sur le type sauvage et les variants de PSTI, exprimés dans les cellules CHO. L'expression de ces variants a également été évaluée en mesurant leur niveau de transcription par RT-PCR. Les altérations du peptide signal p.L14P et p.L14R entraînent une dégradation intracellulaire rapide de PSTI, empêchant ainsi sa

sécrétion, tandis que p.L12F ne présente pas d'effet délétère. Les effets provoqués par les différents variants situés sur le peptide mature permettent de les classer en trois catégories.

La première catégorie comprend les polymorphismes p.N34S et p.P55S, qui impliquent une conservation des propriétés physicochimiques des acides aminés, et n'entraînent pas de réduction de l'expression de PSTI.

La deuxième catégorie contient uniquement la mutation faux-sens p.R65Q, substituant un acide aminé chargé positivement par un acide aminé neutre, et causant une réduction d'environ 60% de l'expression de la protéine. La dernière catégorie regroupe les mutants p.G48E, p.D50E, p.Y54H et p.R67C, impliquant des changements de charge des acides aminés et causant une inhibition complète ou presque complète de la sécrétion de PSTI.

Les quantités d'ARNm mesurées pour le type sauvage et les mutants sont similaires, ce qui exclut la possibilité que les variations d'expression observées résultent d'une réduction de la transcription ou d'une baisse de la stabilité de l'ARNm. A la lumière de ces observations, il semble donc que ces mutations faux-sens entraînent une baisse de sécrétion de PSTI en perturbant les mécanismes de transports cellulaires de ce peptide. Travail de thèse financé par la région île de France, dans le cadre du projet PICRI en partenariat avec L'INSERM et l'Association des Pancréatites Chroniques Héritaires. Bases génétiques des pancréatites héréditaires Pour améliorer la compréhension des phénomènes impliqués dans les pancréatites héréditaires, nous avons cherché à comprendre le fonctionnement des anomalies génétiques provoquant cette maladie.

Ce travail a porté sur le gène SPINK1, l'un des deux responsables de la pancréatite héréditaire. Il existe 10 anomalies possibles pour ce gène, dont une que nous avons récemment identifiée. Pour analyser ces anomalies génétiques, nous avons utilisé des cultures de cellules in vitro, et procédé de la manière suivante :

- 1) A partir d'un peu d'ADN, nous avons reconstruit le gène malade pour pouvoir l'étudier.
- 2) Nous avons ensuite comparé le fonctionnement du gène sain et du gène malade : Ainsi, cette étude a permis de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans les pancréatites chroniques héréditaires, en réalisant une analyse fonctionnelle des anomalies génétiques recensées sur le gène SPINK1. Un tel travail a pour but non seulement de faire progresser les connaissances fondamentales portant sur cette maladie, mais également de permettre un diagnostic plus efficace des malades atteints de pancréatites chroniques héréditaires. Ce travail a été présenté à un congrès international en génétique humaine : Boulling A., Le Maréchal C., Trouvé P., Raguénès O., Chen J-M. and Férec C. Functional analysis of pancreatitis-associated missense mutations in the pancreatic secretory trypsin inhibitor (SPINK1) gene. (2007). European Society of Human Genetics Conference. 16 – 19 juin, Nice (France). L'objectif de notre recherche au sein de l'Unité Inserm U613 est de comprendre les mécanismes et tout particulièrement les mécanismes génétiques qui peuvent conduire à l'apparition d'une pancréatite chronique. Il existe quelques très rares familles où la maladie pancréatique se transmet

sur un mode héréditaire et notre travail dans ce domaine a débuté il y a 12 ans par la localisation du gène responsable de cette affection, le Trypsinogène cationique situé sur le chromosome 7. Notre recherche est aujourd'hui centrée, non seulement sur l'étude de ce gène (PRSS1) qui code pour la plus importante des enzymes du pancréas, mais également sur son inhibiteur (SPINK1) et sur les autres gènes qui interviennent dans la survenue des pancréatites. A l'intérieur de la cellule pancréatique, sont synthétisées ces enzymes appelées protéases qui vont permettre la digestion des aliments dans le duodénum. Lorsque les enzymes pancréatiques sont synthétisées en excès dans le pancréas, cet excès peut conduire à la destruction des cellules pancréatiques et à l'apparition de crises de pancréatites aiguës qui peuvent évoluer vers la chronicité. Nos travaux consistent à comprendre et à élucider les différents mécanismes qui peuvent rompre un délicat équilibre qui existe dans les cellules du pancréas, et à identifier les mécanismes génétiques qui peuvent détruire cet équilibre. Dans ce contexte, nous avons identifié de nombreuses mutations au niveau de ces gènes et de cette région du génome. La compréhension de ces mécanismes doit nous conduire à diagnostiquer plus précocement la maladie, à mieux la prévenir et demain à traiter efficacement les pancréatites chroniques en particulier celles d'origine génétique.

cf schéma : visible sur version originale :

<http://www.association-apch.org/images/apch/fichiers/recherche/APCH-resume-chronologique-sur-la-recherche-201204.pdf>

## 2006

**Recherche Génétique avec l'INSERM** : le Pr. Claude FEREC a retenu son candidat, l'étude des mutations doit donc être soutenue par l'APCH .  
Titre : *'Génome de la pancréatite chronique héréditaire (PCH)', une population de malades à la recherche de son identité génétique, support d'espoir thérapeutique.*

Pour financer ce projet l'APCH a obtenu une bourse auprès du Conseil Régional d'Ile de France (PICRI). et Grâce à vos dons et ceux des entreprises qui nous soutiennent dans nos actions : Ariane Régie, Assuréo, Conseil Général du Maine et Loire, Conseil Régional d'Ile de France, Coop logement, Fondation Groupama, le Gang'H, Groupama Loire Bretagne, François Lavrat, Mayoly Spindler, Socag, Solvay Pharma, Spie SCGPM, Super assureur, Unibéton, Ville d'Issy les Moulineaux, l'APCH a réuni la somme de 38 000 euros, au 1 novembre 2006 ; soit l'équivalent d'un an de recherche.

## 2005

**L'étude d'épidémiologie sur les pancréatites chroniques héréditaires** s'est terminée au mois de septembre.

Elle a été coordonnée par l'hôpital Beaujon avec la participation des laboratoires de génétique mais aussi bien sûr de tous les gastro-entérologues et pédiatres français.

Elle a duré un an. Le but de cette étude était de répertorier tous les patients atteints de pancréatite héréditaire en France et de décrire les caractéristiques de cette maladie (le premier symptôme et leur évolution, le type d'atteinte génétique, les complications, les traitements reçus...). Les premiers résultats sont maintenant disponibles et ont permis d'approfondir les connaissances scientifiques sur cette maladie.

Tous les laboratoires de génétique, les gastro-entérologues et les pédiatres français ont été contactés par courrier afin de savoir s'ils suivaient des patients atteints de pancréatite héréditaire et s'ils acceptaient de participer à l'étude.

Le taux de réponse à notre courrier a été de 84% ce qui est un taux particulièrement élevé. Les laboratoires de génétique qui réalisent le test à la recherche des mutations en cause ont tous participé.

Les critères d'inclusion des patients étaient : avoir une mutation connue du gène à l'origine de la pancréatite héréditaire (gène du trypsinogène cationique) ou avoir plusieurs membres de sa famille atteints de pancréatite chronique ou de pancréatite aiguë récidivante. 78 familles ont été répertoriées en France, soit 200 patients dont 180 étaient vivants. Cette cohorte de malades se compose de 53% d'hommes, 47% de femmes. De 34% de fumeurs et de 5% de malades ayant une consommation d'alcool excessive.

Pour chaque famille, 3 générations en moyenne ont été étudiées. Les mutations génétiques du gène responsable de la pancréatite héréditaire (gène du trypsinogène cationique appelé PRSS1) étaient présentes chez 68% des patients et absentes pour 32%. Ce qui signifie que 32% des patients sont malades sans qu'une mutation soit trouvée. D'autres mutations de gènes impliqués dans d'autres formes de pancréatite chronique ont été cherchées systématiquement : mutation du gène de l'inhibiteur du trypsinogène cationique (présente chez 13% des patients) et mutation du gène de la mucoviscidose (présente chez 2% des cas).

La transmission du gène muté PRSS1 était due à la mère chez 65% des patients. L'âge moyen des patients de l'étude était de 30 ans. 17% des patients étaient porteurs de la mutation de PRSS1 mais n'avaient jamais eu de symptômes (porteurs sains).

Les premiers symptômes apparaissaient en moyenne à l'âge de 10 ans. Un délai moyen de 9 ans à partir des premiers symptômes était nécessaire pour faire le diagnostic de pancréatite héréditaire.

Les signes cliniques qui survenaient à un moment ou à un autre de la vie étaient des douleurs abdominales (83%) quotidiennes dans 5%, une pancréatite aiguë (69%), un pseudo-kyste du pancréas (23%), des calcifications du pancréas (61%), une diarrhée graisseuse (34%), un diabète (26%) et un cancer du pancréas (5%). Il n'y avait pas de différence de signes

cliniques (nombre de poussées douloureuses, présence d'un diabète..) selon le type de mutation.

Un risque plus important de cancer du pancréas était confirmé, surtout chez les patients fumeurs.

Un traitement anti-douleur était nécessaire de façon continue pour 10% des patients (c'est à dire un besoin de prise de médicaments tous les jours pendant plus de trois mois consécutifs pour contrôler la douleur). Un traitement endoscopique (pose de prothèse dans le pancréas sous anesthésie générale était nécessaire chez 16% des patients et une opération du pancréas chez 23%. Le nombre de décès était de 19 (dont 10 étaient dus à la pancréatite chronique) survenant à un âge moyen de 60 ans En conclusion : le nombre de familles et de malades atteints de pancréatite chronique héréditaire en France peut être estimé au minimum à 78 familles et 180 malades.

Une mutation du gène de la pancréatite héréditaire n'est pas trouvée chez tous les patients mais seulement dans 68% des cas. Quand la mutation est trouvée elle n'entraîne pas toujours des symptômes (17% n'ont aucun signe clinique).

Il n'y a pas de différence en fonction du type de mutation du gène. La pancréatite héréditaire se déclare dès l'enfance et le diagnostic en est tardif.

Le risque plus élevé de cancer du pancréas nous incite à mettre en place une stratégie de dépistage et à renforcer très fermement les consignes d'abstinence vis-à-vis du tabac.

V Rebours, P Lévy. Hôpital Beaujon, Clichy.

*C'est grâce au parrainage de Solvay Pharma, Sponsor exclusif de cette étude, que le Dr Vinciane Rebours a pu mener cette étude.*