

# Neurofibromatose chez le porc : un nouveau syndrome

## *Porcine neurofibromatosis : a new syndrome*

Par Hervé MORVAN<sup>(1)</sup>, Dominique VIDAUD<sup>(2)</sup>, Jean-Noël SIALELLI<sup>(3)</sup>,  
Ingrid LAURENDEAU<sup>(21)</sup>, Eduardo MARINHO<sup>(4)</sup>, Alain DUCOS<sup>(5)</sup>, Dominique BEGON<sup>(6)</sup>,  
Henri GUILMOTO<sup>(3)</sup>, Bérangère RAVARY<sup>(7)</sup>, Dominique REMY<sup>(7)</sup> et Jean-Marie GOURREAU<sup>(8)</sup>.

(communication présentée le 1er avril 2004)

### RÉSUMÉ

Une affection tumorale similaire à la neurofibromatose de l'Homme vient d'être découverte chez le porc. Cette maladie, de caractère génétique dominant, a été retrouvée dans plusieurs élevages sous deux des trois formes rencontrées chez l'Homme, l'une à grosses tumeurs sous-cutanées et l'autre, strictement intradermique. Ces lésions ont été étudiées aux plans clinique et anatomo-pathologique. Les cellules tumorales ont été mises en culture et le séquençage de leur génome entrepris. Ce travail revêt une importance toute particulière car il n'existait jusqu'alors aucun modèle animal de cette maladie très fréquente chez l'Homme.

**Mots-clés :** *neurofibromatose, porc, gliome, schwannome, tumeurs congénitales.*

(1) Laboratoire de Développement et d'Analyses des Côtes d'Armor, 5 – 7 rue du Sabot, BP 54, 22440 Ploufragan.

(2) Laboratoire de Génétique Moléculaire, EA 3618, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Paris 5, 4, Av. de l'Observatoire, 75006 Paris.

(3) COOPERL HUNAUDAYE, BP 348, 22400 Lamballe.

(4) Anatomie et cytologie pathologiques, 60 rue de Wattignies, 75012 Paris.

(5) Laboratoire de Cytogénétique, Ecole Nationale Vétérinaire, 23, chemin des Capelles, 31076 Toulouse cedex 3.

(6) Service d'imagerie médicale, Ecole Nationale Vétérinaire, 7, Av. du Gén. De Gaulle, 94700 Maisons-Alfort.

(7) Unité Pédagogique de Reproduction animale, Ecole Nationale Vétérinaire, 7, Av. du Gén. De Gaulle, 94700 Maisons-Alfort.

(8) AFSSA-LERPAZ, 22, rue Pierre Curie, 94703 Maisons-Alfort Cedex.

## SUMMARY

*A genetically dominant neoplastic disease similar to human neurofibromatosis has just been discovered in pigs. Two of the three clinical forms known in man have been identified in several pig farms: one with large subcutaneous tumours, the other exclusively intradermal. Clinical and pathology studies have been performed on these lesions. Tumour cells are being cultured and the sequencing of their genome is underway. This research is especially important because no animal model of this very common disease in man was available until now.*

**Key words :** neurofibromatosis, swine, glioma, schwannoma, congenital tumours.

Les gliomes du système nerveux périphérique sont des tumeurs bénignes qui regroupent les neurofibromes et les schwannomes. Ils sont rares chez les bovins et les chevaux et exceptionnels chez les petits ruminants et les porcins. Les schwannomes malins ou neurofibrosarcomes (tumeurs malignes des gaines nerveuses) sont extrêmement rares dans toutes les espèces. Ces tumeurs sont élaborées à partir des cellules de Schwann de la gaine des axones. Leur étiologie est encore inconnue.

Nous rapportons ici la description de quelques cas de neurofibrome dans l'espèce porcine, espèce dans laquelle à notre connaissance, ce type de tumeur n'avait encore jamais été décrit à ce jour.

### • CAS CLINIQUES

En juin 2003, un éleveur naisseur-engraisseur de porcs des Côtes d'Armor voit apparaître sur certains de ses animaux, tant sur ceux en post-sevrage qu'en engraissement, des tuméfactions sous-cutanées plus ou moins volumineuses, évoquant des abcès. Dans les mois qui suivent, l'affection prend une allure pseudo-épidémique, atteignant pratiquement la moitié des bandes de porcelets : de 3 à 10 porcelets sur 150 environ sont touchés. Les lésions se localisent en différents endroits du corps : mâchoires, groin, sternum, coude, épaules, aine, auge (figures 1 à 3). Une dizaine d'animaux doivent ainsi être euthanasiés pour non valeur économique. Chez les porcs en engraissement, la croissance de ces tumeurs est plus rapide, elles peuvent atteindre une trentaine de centimètres de diamètre en quelques semaines.



**Figure 1 :** Porc atteint de neurofibromatose : localisation sternale (cliché H. Morvan).



**Figure 2 :** Porc atteint de neurofibromatose : localisation jugale (cliché H. Morvan).



**Figure 3 :** Porc atteint de neurofibromatose : localisation à l'auge (cliché J.M. Gourreau).

Chez le premier animal examiné, la masse sous-glossienne illustrée par la figure 3 se dissèque comme une grenouillette et occupe tout le côté gauche de la gorge, déformant le montant de la mandibule et remontant sous la peau jusqu'au milieu de l'oreille. Aucune adhérence n'était décelable, sauf peut-être au niveau de l'os hyoïde. Les plus grosses de ces lésions sont richement vascularisées (figure 4). L'examen radiographique de cette région montre une lésion fortement calcifiée, sans atteinte des structures osseuses sous-jacentes (figures 5 et 6).



**Figure 4 :** Vue rapprochée montrant la vascularisation de la tumeur de l'auge chez l'une des femelles étudiée (cliché J.M.Gourreau).



**Figure 5 :** Radiographie en incidence de profil de la région de l'auge montrant la forte calcification de la lésion (cliché D. Begon).



**Figure 6 :** Radiographie en incidence caudo-craniale de la région de l'épaule montrant l'absence d'atteinte des os sous-jacents (cliché D. Begon).

Un autre animal examiné est affecté de lésions intra-dermiques strictes (figure 7), diffuses, de taille plus faible, ne grossissant que très peu dans le temps et localisées en différents endroits du corps (flancs, lombes, épaules), à l'instar de ce que l'on rencontre chez l'Homme. Ces tumeurs ne sont pas calcifiées.



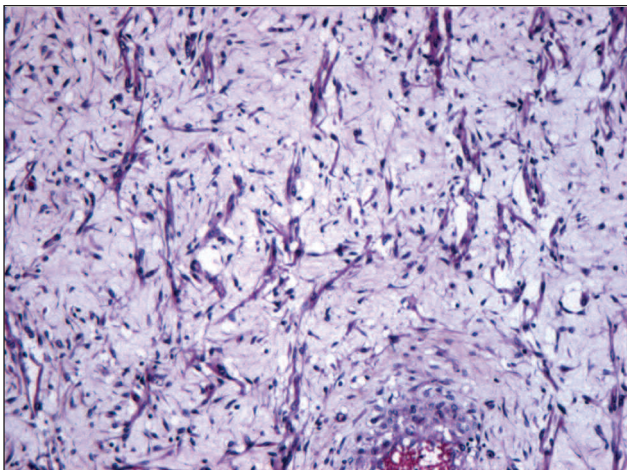
**Figure 7 :** Lésion intra-dermique stricte chez une autre truie. Ce type de lésion reste stable au cours du temps (cliché J.M.Gourreau).

Ces animaux sont nés de femelles inséminées artificiellement, nourris avec un aliment du commerce et abreuvés avec de l'eau issue de forage.

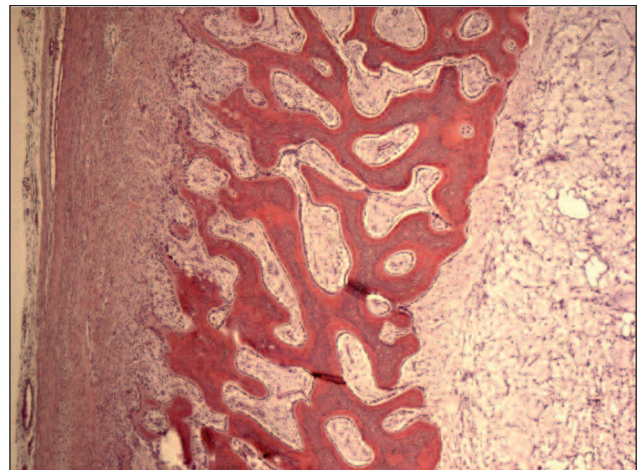
L'autopsie révèle la présence de formations tumorales plus ou moins circulaires entourées d'une fine coque osseuse discontinue et constituées d'un tissu mal différencié. L'examen histopathologique montre la présence, au centre de la tumeur, d'une prolifération dense de cellules fusiformes de petite taille disposées en cordons tressés et en faisceaux tourbillonnants, dans un stroma conjonctif lâche de collagène dense, richement vascularisé. Ces cellules sont généralement bien différenciées ; elles ont un noyau vésiculeux, à chromatine marginée. Les mitoses sont rares (figures 8 et 9). Le marquage de la protéine S100 est négatif. Le marquage à la desmine en revanche est positif, ce qui indique la présence de myosine dans le cytoplasme (figure 10). La périphérie de la tumeur est constituée par endroits de cellules osseuses entourées par un tissu très vascularisé (figure 11).

Au vu de ces lésions, le diagnostic le plus vraisemblable est celui d'une tumeur neuroïde de type neurofibrome plutôt que d'un lipome immature. La négativité du marquage de la protéine S100 et des neurofilaments ne permet cependant pas d'affirmer l'origine nerveuse des cellules tumorales examinées.

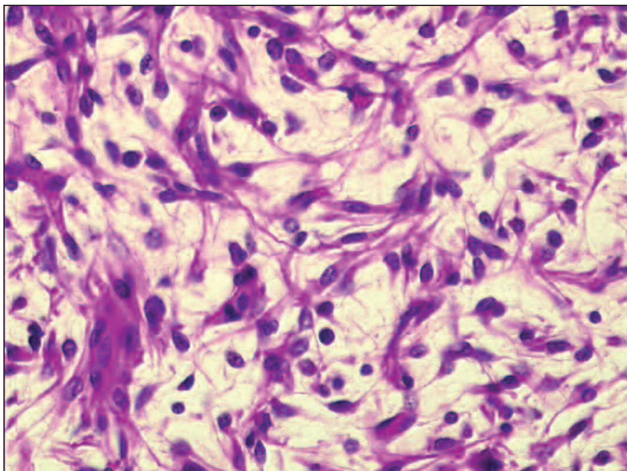
Afin d'isoler les différents constituants cellulaires, des fragments de tumeur sont mis en culture en présence de NDFb177-228, facteur de croissance des cellules de



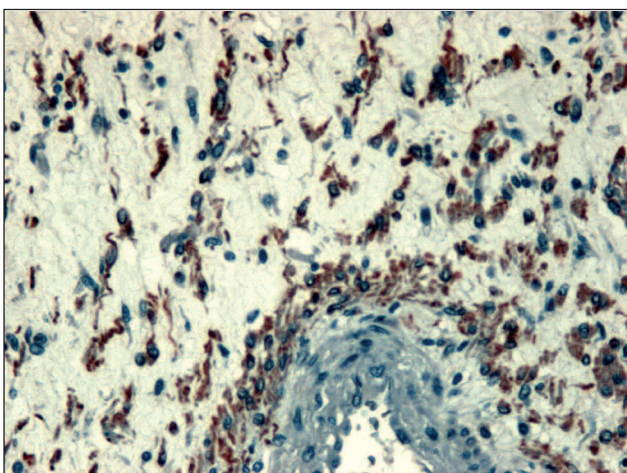
**Figure 8 :** Histologie de la lésion de l'auge : tissu lâche formé de cellules fusiformes, à disposition tourbillonnante et richement vascularisé (x 50) (cliché H.Morvan).



**Figure 11 :** Coque partielle fibreuse et discontinue, entourant la lésion (col. HES, x 50) (cliché H. Morvan).



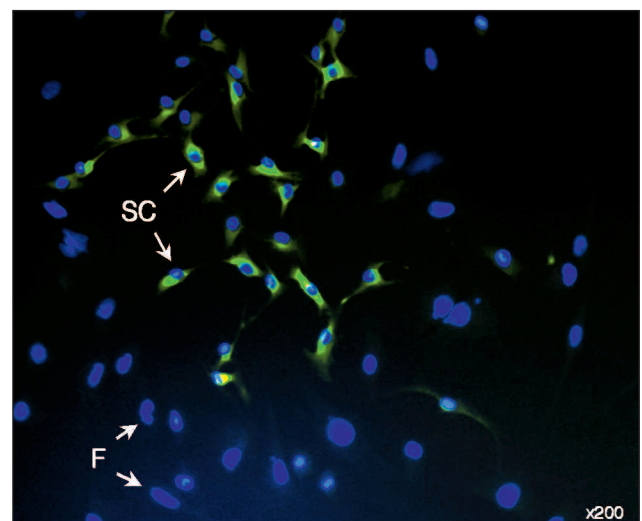
**Figure 9 :** Même tissu à plus fort grossissement montrant des noyaux vésiculeux et des mitoses en faible nombre (Col. HES, x 300) (cliché E. Marinho).



**Figure 10 :** Marquage positif à la desmine (x200) (cliché H. Morvan).

Schwann (ROSENBAUM *et al.*, 2000). Après 4 jours de culture, les éléments cellulaires observés correspondent à des fibroblastes et à des cellules de Schwann dont la présence est confirmée par immunofluorescence à l'aide d'un anticorps anti-S100 bovin révélé par un anticorps secondaire marqué à la fluorescéine (figure 12).

Le séquençage du gène NF1 caractéristique de la neurofibromatose chez l'Homme est en cours. Les premiers résultats montrent un pourcentage d'homologie entre les séquences codantes humaines et porcines, voisin de 95 %.



**Figure 12 :** Immunomarquage S100 des cellules de Schwann (SC) mises en culture à partir des tumeurs d'un porc atteint de neurofibromatose. Après fixation dans le paraformaldéhyde à 4 %, les cellules sont incubées en présence de l'anticorps anti-S100 bovin (1 : 200 dans PBS, BSA 4 %). Celui-ci est révélé par un anticorps secondaire marqué à la fluorescéine permettant le marquage spécifique (en vert) des cellules de Schwann. Un contre-marquage non spécifique (en bleu) des noyaux de la totalité des cellules présentes en culture est réalisé à l'aide du DAPI (cliché D. Vidaud).

Un caryotype en bande GTG a été établi : il s'est révélé normal,  $2n = 38, XX$ .

Ce même type de symptomatologie a été retrouvé fin janvier 2004 dans un autre élevage de porcs de la même région, affectant 1 % des animaux : la localisation et l'aspect des tumeurs étaient identiques dans les deux cas. Les truies étaient quant à elles inséminées avec de la semence provenant d'un même fournisseur. Celles ayant donné naissance aux animaux affectés ont, dans leurs descendants, des ancêtres communs.

#### • DISCUSSION

Les gliomes, qui regroupent schwannomes et neurofibromes sur le système nerveux périphérique (SNP), ont été décrits dans de nombreuses espèces de mammifères : bovins, équidés, chiens, macaques et même, chez certains poissons comme les requins (RICCARDI, WOMACK et JACKS, 1994, SCOTT, 1988). Des schwannomes ont été artificiellement provoqués *in utero* chez la souris, le rat et le hamster exposés pendant la gestation à des composés nitreux (éthylnitrosurée).

Chez l'Homme, deux maladies héréditaires prédisposent au développement de tumeurs du système nerveux périphérique : la neurofibromatose de type II et celle de type I ou maladie de Von Recklinghausen. Cette dernière est une affection transmise sur un mode autosomique dominant ; elle est relativement fréquente (1/3500 naissances), à pénétrance complète avant l'âge de 10 ans mais son expression clinique est extrêmement variable. Elle se caractérise essentiellement par la présence de taches café au lait, de neurofibromes (tumeurs bénignes hétérogènes du SNP constituées de cellules de Schwann, de fibroblastes, de mastocytes et de cellules péri-neurales) et de nodules de Lisch (hamartomes iriens) (ZHU et PARADA, 2002). A ces signes classiques, peuvent s'ajouter des troubles cognitifs, une dysmorphie faciale ainsi que des déformations osseuses à type de pseudoarthrose. Cinq pour cent des patients environ développent des tumeurs malignes des gaines nerveuses (MPNSTs pour Malignant Peripheral Nerve sheath tumors), mettant en jeu leur pronostic vital. Leur croissance serait d'ailleurs accélérée par des influences hormonales (RICCARDI, WOMACK et JACKS, 1994).

Chez les bovins domestiques, les schwannomes se rencontrent généralement chez des adultes et ont également été décrits chez les veaux (MISDORP, 2002 ; MONTLUX et DAVIS, 1953 ; MONLUX, ANDERSON et DAVIS, 1956 ; SIMON et BREWER, 1963). Dans l'espèce bovine, ce sont souvent des tumeurs multiples et largement disséminées dans tout l'organisme : plexus brachial, nerfs intercostaux, cœur, nerfs, plexus et ganglions intra thoraciques, nerfs, plexus et ganglions cervicaux, nerfs des muscles striés (DRIEUX et MENDOZA, 1937 ; GOODMAN *et al.*, 1955 ; MONTLUX et DAVIS, 1953), langue, hyoïde, plexus hépatique, nerfs ischiatiques et médiastinaux... Des lésions tumorales sont également rencontrées au niveau cutané et oculaire (neurofibromatose). Toutes les races sont touchées, en particulier les

races Hereford, Frisonne-Holstein, Hereford et Salers (DRIEUX, POISSON et VASSEUR, 1944). Les femelles seraient plus souvent atteintes que les mâles.

À l'heure actuelle, on s'accorde à différencier les lésions viscérales de celles à localisation cutanée ou oculaire qui s'apparentent à celles de la maladie de Von Recklinghausen chez l'Homme. En effet, au plan histologique, les schwannomes sont caractérisés par deux types de formations : d'une part des aires de cellules palissadiques fusiformes spiralées ou entrecroisées, faiblement éosinophiliques (tissu de type A d'Antonini), alternant avec des aires de stroma oedémateux éosinophile ne contenant qu'un petit nombre de cellules, celles-ci étant disposées au hasard (type B d'Antonini) (HARKIN et REED, 1969). Dans les neurofibromes cutanés, si l'on peut trouver des cellules d'Antonini de type B, ce sont toutefois les cellules de type A qui sont prédominantes : elles se caractérisent par une basale bien différenciée, un petit nombre d'organites cytoplasmiques et produisent à la fois du collagène et des fibres de réticuline. Elles se colorent très fortement en brun lors du marquage de la protéine S100 (WEIDENHEIM et CAMPBELL, 1986, cité par JOHNSON *et al.*, 1998). Les cellules péri-neurales en revanche ont une basale incomplète et se révèlent négatives à l'immuno-marquage. La mise en évidence de la protéine intracytoplasmique S100 permet d'affirmer que les cellules de type A ont pour origine la crête neurale (MUKAI, 1983, SARTIN *et al.*, 1994).

Dans notre observation, si l'on retrouve bien les deux types cellulaires décrits par Antonini, l'immuno-marquage de la protéine S100 est négatif sur les coupes examinées, différence notoire avec les observations effectuées chez l'Homme et les bovins. Il serait donc nécessaire de la refaire pour vérifier ce fait. Par ailleurs, une étude ultra-structurale en microscopie électronique devrait permettre de trancher entre un profil cellulaire neuroïde et lipomateux.

Il est maintenant établi que les neurofibromes sont d'origine congénitale dans de nombreuses espèces, l'anomalie étant occasionnée par la présence d'une mutation sur le chromosome 19 au niveau du locus NF1 chez les bovins (VON SLANINA *et al.*, 1978). Il s'agit d'un gène à transmission autosomale dominante, à pénétrance complète mais à expressivité variable. Cela s'avérerait également être le cas dans notre observation : les truies qui avaient donné naissance à des animaux affectés par cette maladie étaient vraisemblablement issues d'un même géniteur dans les trois exploitations concernées. Toutefois, la généalogie n'a pas encore été formellement établie à ce jour.

Une dernière hypothèse, bien que peu probable, reste à vérifier en ce qui concerne ce syndrome, celle d'une étiologie virale. En effet, chez les bovins, des pseudo-particules virales de 40 à 60 nm ont été mises en évidence dans les cellules de Schwann des gaines nerveuses, celles-ci formant des inclusions nucléaires (DOUGHTY, 1977 ; CANFIELD et DOUGHTY, 1980). Un examen en microscopie électronique devrait permettre de le déterminer. Toutefois, ces particules virales n'ont jamais été retrouvées chez l'Homme.

Enfin, cette étude pourrait être corroborée par une tentative de reproduction expérimentale de la maladie : à l'heure actuelle cependant, il ne subsiste qu'une seule femelle porteuse du gène, tous les autres animaux issus du mâle reproducteur à l'origine de la maladie ayant été abattus pour éradiquer la tare. Cette femelle est celle qui présente les tumeurs intradermiques. Elle a été accueillie au Centre INRA de Rouillé (Vienne) dans le but de conserver le gène responsable après mise à la reproduction et cryo-conservation d'embryons.

## • CONCLUSION

Nous rapportons ici la mise en évidence d'une nouvelle entité pathologique chez le Porc, affection se rapprochant de la maladie de Von Recklinghausen de l'Homme. Cette affection, encore mal caractérisée à l'heure actuelle dans cette espèce, se présente sous la forme de tumeurs mésenchymateuses peu différenciées dont l'aspect évoque davantage celui d'un neurofibrome que celui d'une tumeur lipomateuse ou musculaire. Des études génétiques et anatomo-pathologiques doivent être poursuivies pour la caractériser plus finement et plus complètement. L'intérêt de cette communication réside bien sûr dans la mise en évidence d'une nouvelle affection dans l'espèce porcine mais aussi dans le fait que cette pathologie pourrait servir de modèle dans l'étude de la maladie de Von Recklinghausen chez l'Homme.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Professeur J.P.Mialot de l'Unité pédagogique de Reproduction Animale de l'ENV d'Alfort pour avoir accueilli les animaux dans son service, Madame P. Leroy et Monsieur J.Gruand de l'INRA, pour avoir accepté de mettre à la reproduction une des femelles atteintes, au Centre de Rouillé (Vienne) et l'Association Neurofibromatoses et Recklinghausen de Blagnac (Haute-Garonne) pour son aide financière.

## BIBLIOGRAPHIE

- CANFIEJLD PJ, DOUGHTY FR (1980) A study of virus-like particles present in bovine nerve sheath tumours. *Aust. Vet. J.*, **56**, 257- 261.
- DOUGHTY FR (1977) Incidence of neurofibroma in cattle in abattoirs in New South Wales. *Aust. Vet. J.*, **53**, 280-281.
- DRIEUX H, MENDOZA MA (1937) Quelques observations de neurofibromatose chez les bovidés. *Bull. Acad. Vét.*, **10**, 59-73.
- DRIEUX H, POISSON J, VASSEUR M (1944) Lésions cutanées de neurofibromatose chez un Bovidé. *Bull. Acad. Vét.*, **17**, 183-188.
- GOODMAN M, FINCHER MG, KENNEDY PC, STACK WF (1955) Neurofibromatosis in cattle : a report of two cases. *Cornell Vet.*, **15**, 229-238.
- HARKIN JC, REED RJ (1969) Tumors of the peripheral nervous system. In : *Atlas of tumor pathology*, 2<sup>nd</sup> ed., 3, Washington DC, Armed Forces Institute of Pathology, 34 pp.
- JOHNSON RC, ANDERSON WI, LUTHER PB, RYAN AM (1998) Multicentric schwannoma in a mature Holstein cow. *Vet. Rec.*, **123**, 649-650.
- MISDORP W (2002) Congenital tumours and tumours-like lesions in domestic animals. 1. Cattle. *Veterinary Quarterly*, **24**, (1), 2-11.
- MONLUX AW, ANDERSON WA, DAVIS CL (1956) A survey of tumors occurring in cattle, sheep and swine. *Am. J. Vet. Res.*, **17**, 646 - 677.
- MONLUX AW, DAVIS CL (1953) Multiple schwannomas of cattle (Nerve sheath tumors ; multiple neurilemmomas ; neurofibromatosis). *Am. J. Vet. Res.*, **14**, 499-509.
- MUKAI M (1983) Immunohistochemical localization of S-100 protein and peripheral nerve myelin proteins (P2 protein, P0 protein) in granular cell tumors. *Am. J. Pathol.*, **112**, 139- 146.
- RICCARDI VM, WOMACK JE, JACKS T (1994) Neurofibromatosis and related tumors. Natural occurrence and animal models. *Am. J. Pathol.*, **145**, (5), 994-1000.
- ROSENBAUM T, ROSENBAUM C, WINNER U, MULLER HW, LENARD HG HANEMANN CO (2000) Long term culture and characterization of human neurofibroma-derived Schwann cells. *J. Neurosc. Res.*, **61**, (5), 524-532.
- SARTIN EA, DORAN SE, RIDDELL MG, HERRERA GA, TENNYSON GS, D'ANDREA G, WHITLEY RD, COLLINS FS (1994) Characterisation of naturally occurring cutaneous neurofibromatosis in Holstein cattle : a disorder resembling neurofibromatosis type 1 in humans. *Am. J. Pathol.*, **145**, (5), 1168-1174.
- SCOTT DW (1988) *Large animal dermatology*. W.B. Saunders Co. editor, Philadelphia. 488 pp.
- SIMON J, BREWER RL (1963) Multiple neurofibromatosis in a cow and calf. *JAVMA*, **142**, (10), 1102-1104.
- VON SLANINA L, KONRAD V, VAJDA V, LOJDA L, ZIBRIN M, TOMAJKOVA E , SOKOL J, LEHOCKY J, SKARDA R, MAD'AR J (1978) Kongenitale Neurofibromatose der Haut bei Kälbern. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, **85**, (2), 41-45.
- ZHU Y, PARADA LF (2002) The molecular and genetic basis of neurological tumours. *Nature*, **2**, 616-626.