

À la recherche des empreintes perdues : les épigénotypes anormaux

Simone Gilgenkrantz

9, rue Basse,
54330 Clerey-sur-Brenon,
France.



> La nécessité pour un être humain d'avoir un héritage maternel et un héritage paternel est une réalité biologique incontournable. En effet, un certain nombre de gènes, une cinquantaine environ, sont marqués d'une empreinte parentale, les uns d'origine maternelle, les autres d'origine paternelle (*voir encadré*). L'absence d'empreinte peut avoir des conséquences redoutables en pathologie humaine. La plupart des maladies dues à ces défauts d'empreinte ont été répertoriées ainsi que les différents mécanismes responsables (isodisomie, délétion...) (*voir encadré*).

Mais les gènes et les mécanismes assurant le déclenchement et la maintenance de la méthylation, dans le génome maternel et dans le génome paternel, restaient mal connus. Au cours de ces dernières décennies toutefois, les processus agissant sur le génome, modelage de la chromatine, inactivation du chromosome X, désacétylation des histones, méthylation, sont devenus une véritable science : « l'épigénomique » [1].

Dans ce domaine, plusieurs publications récentes viennent enrichir nos connaissances, par des études chez

l'animal d'une part, en pathologie humaine d'autre part.

Les ADN méthyl-transférases normales et altérées

La découverte de plusieurs ADN-méthyltransférases (DNMT) et de protéines voisines (DNMTL), codées par des gènes disséminés dans le génome [2], montrent comment, à partir de cellules germinales où l'empreinte a été effacée, la méthylation est réintroduite au cours de la différenciation des gonocytes mâles et femelles (*Figure 1*). Grâce à des études chez la souris (en

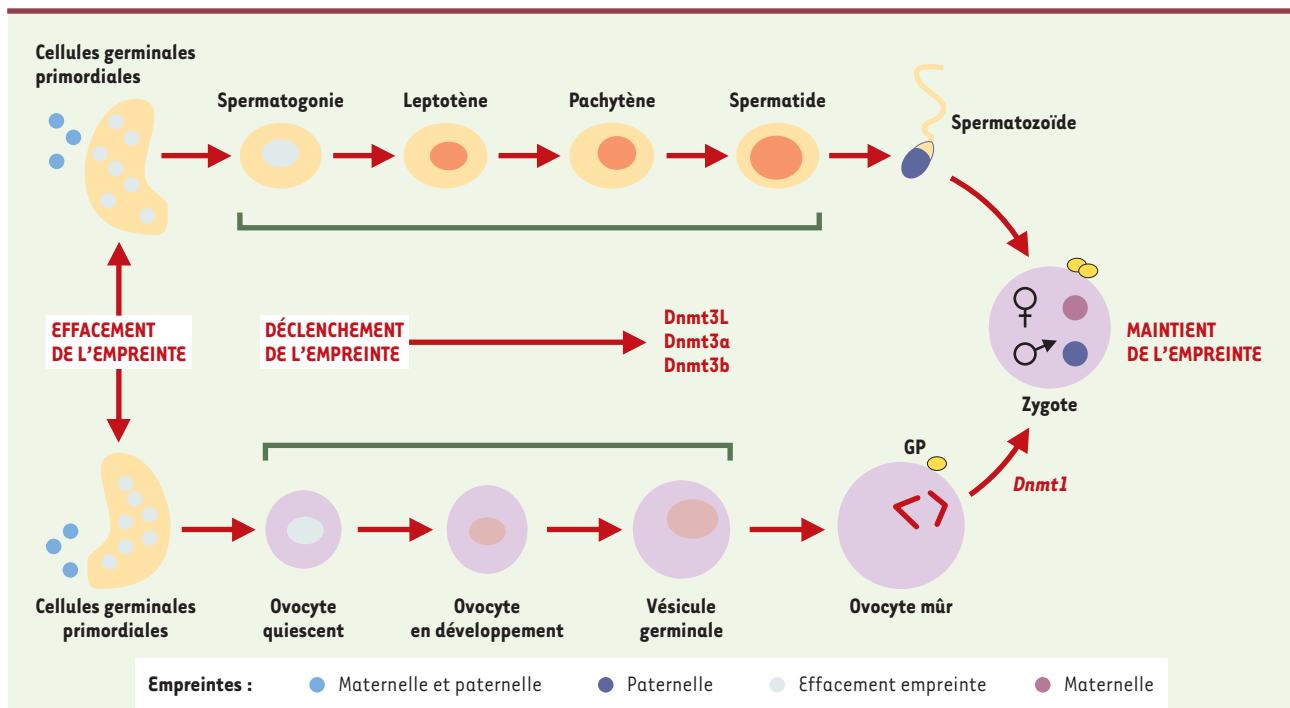


Figure 1. Mécanisme d'empreinte au cours de la gamétogenèse. Les cellules germinales primordiales perdent les empreintes maternelle et paternelle. L'initiation et le maintien de l'empreinte se produisent au cours de l'ovogenèse et de la gamétogenèse, mais les gènes intervenant dans la spermatogenèse sont inconnus ? Dans l'ovogenèse, *Dnmt3L* (et probablement *Dnmt3a* et *Dnmt3b*) réintroduit l'empreinte maternelle (d'après [14]).

particulier des invalidations génétiques), l'action des divers membres de cette famille, sur les stades de la méthylation et selon le type des cellules, commence à être mieux connue.

- Dans les cellules somatiques, une délétion de *Dnmt1* entraîne une déméthylation complète du génome en agissant à la fois sur les gènes soumis à empreinte et sur l'X inactivé. Dans les ovocytes où les profils de méthylation sont déjà apparus, la délétion du variant *Dnmt1* spécifique s'accompagne de la perte de l'empreinte maternelle par déméthylation de certains gènes [3]. Ce variant n'a donc pas d'effet sur le déclenchement de la méthylation mais assure sa maintenance probablement jusqu'aux premières heures du développement embryonnaire.

- L'inactivation des gènes *Dnmt3a* et *Dnmt3b* bloque la méthylation dans les cellules ES (*embryonic stem cells*) et chez le zygote aux premiers stades du développement embryonnaire, mais n'a pas d'effet sur la maintenance des profils de méthylation. Les embryons de souris *Dnmt3a*^{-/-} parviennent à terme mais dépérissent et meurent vers l'âge de 4 semaines [4].

- Les embryons de souris *Dnmt3b*^{-/-} ont de nombreux troubles du développement et meurent *in utero*. Chez l'homme, des mutations du gène orthologue, *DNMT3B* empêchent la méthylation d'ADN satellites situés dans des régions hétérochromatiques des chromosomes 1, 9 et 16, et provoquent le syndrome ICF (*immunodeficiency centromeric instability-facial anomalies*) [5]. Cette maladie récessive autosomique rare, mais extrêmement sévère, est connue depuis les

(→) m/s
2000, n° 1,
p. 105

années 1980 en raison des remaniements chromosomiques très particuliers qui apparaissent dans les cellules somatiques.

Elle comporte, outre la dysmorphie faciale, des infections à répétition, respiratoires, digestives et cutanées (→).

- En ce qui concerne le gène *Dnmt3L*, il vient d'être démontré que son invalidation chez la souris n'entraîne pas de répercussion importante chez les animaux, qu'ils soient mâles ou femelles. Toutefois, les mâles sont hypogonadiques et azoospermiques. Les souris femelles peuvent procréer mais, lorsque les ovocytes sont fécondés, les embryons dégèrent rapidement après leur implantation dans l'utérus, avec apparition d'anomalies placentaires. Cet effet létal est dû à l'absence d'empreinte maternelle et les anomalies observées ressemblent beaucoup à celles que présentent les zygotes dépourvus de génome maternel ou d'empreinte parentale [6].

Ainsi, *Dnmt3L* (et peut-être *Dnmt3a* et *Dnmt3b*), interviendrait sur les cellules germinales au sein desquelles les empreintes paternelles et maternelles ont été effacées. *Dnmt3L* permet la

réexpression de l'empreinte maternelle dans les ovocytes. On ignore encore actuellement comment l'empreinte paternelle est réintroduite dans les spermatogonies. Les gènes soumis à empreinte paternelle sont plus éparpillés dans le génome, mais ils n'en sont pas moins indispensables puisque les produits de fécondation pourvus de deux génomes maternels sont incapables de se développer.

Les môles biparentales ou le syndrome des mères absentes

En pathologie humaine, les môles hydatiformes se caractérisent par une prolifération anormale des tissus extra-embryonnaires avec présence de villosités trophoblastiques vésiculeuses. Leur fréquence varie selon les ethnies: 1/250 grossesses en Extrême-Orient, 1/1 500 aux États-Unis.

Dans 25 % des cas, ce sont des môles partielles (un embryon très malformé et non viable peut exister) qui sont dues à un accident de fécondation de type triploïdie, avec un lot de chromosomes supplémentaires d'origine paternelle. Lorsque la triploïdie est d'origine maternelle, les tissus extra-embryonnaires sont, à l'inverse, très hypoplasiques. Dans la plupart des autres cas, il s'agit

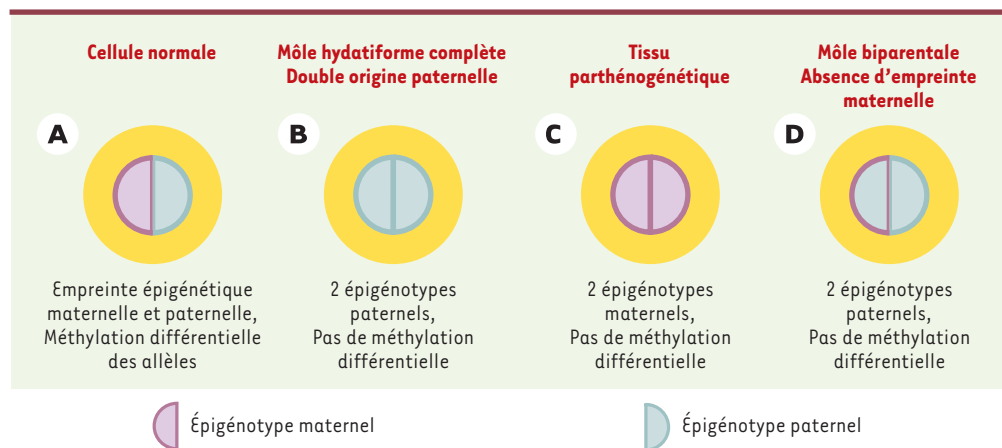


Figure 2. Épigénotypes normaux et pathologiques dans des cellules diploïdes. A. Cellule normale avec la double empreinte. B. Dans la môle hydatiforme, deux lots paternels ont été transmis. C. Dans le tissu parthénogénétique, deux lots maternels ont été transmis. D. Dans la môle biparentale, dans le lot maternel, l'empreinte parentale ne s'exerce pas, par déficit d'un gène intervenant sur la méthylation.



de môles complètes, survenant de façon sporadique mais pouvant être à l'origine de choriocarcinomes [7]. L'étude génétique révèle une absence d'héritage maternel [8]. La diploïdie correspond à une duplication d'un spermatozoïde haploïde (90 % des cas) ou à la fécondation d'un ovule - anucléé - par deux spermatozoïdes. Il est facile de vérifier la dispermie car, dans ce cas, les allèles étudiés sont différents, alors qu'on trouve une homozygotie pour tous les allèles quand il s'agit d'une duplication du lot haploïde d'un spermatozoïde.

Cependant, quelques cas de récurrence avaient été rapportés dans des familles consanguines où les femmes ne réussissaient pas à avoir une seule grossesse normale [9]. Les môles étudiées s'étaient révélées différentes: elles avaient une constitution diploïde avec un héritage maternel et un héritage paternel, comme les zygotes normaux [10].

Pour ces môles dites « biparentales », il fallait donc chercher ailleurs la cause de la prolifération anormale du trophoblaste sans développement d'embryon. La recherche d'une mutation autosomique récessive, vraisemblable chez ces femmes consanguines, fut bientôt confirmée par les analyses de ségrégation familiale: un locus fut trouvé en 19q13.3-q13.4 [11]. L'hypo-

thèse d'une anomalie d'un gène maternel intervenant dans les processus d'empreinte fut alors proposée.

C'est pourquoi, chez une femme pakistanaise de la région de Mirpur Khas, qui avait eu successivement 6 grossesses molaires, une analyse des empreintes parentales fut réalisée sur les tissus de la sixième môle [12].

Après avoir démontré qu'il s'agissait bien d'une môle biparentale, avec héritages maternel et paternel, diverses régions non contiguës où s'exercent les empreintes parentales furent analysées: 11p15, 15q, 7q32 et 19q13-4. Des tissus parthénogénétiques et des trophoblastes de môles androgénétiques furent utilisés comme témoins ainsi que du tissu normal (cellules diploïdes et villosités choriales ou VC) (Figure 2).

Si l'hypothèse était bonne, on devait trouver une méthylation différentielle pour les zones à empreinte paternelle, et une absence de méthylation sur les deux allèles pour les zones à empreinte maternelle.

Dans la région Beckwith-Wiedemann (voir encadré), dans les tissus molaires, le gène *H19*, soumis à l'empreinte paternelle, révéla effectivement une méthylation différentielle entre les deux allèles, comme chez le témoin normal. Chez le témoin androgénote, le gène était complètement

méthylé à tous les dinucléotides CpG. À l'opposé, la méthylation était complètement absente chez le témoin parthénogénote (Tableau 1).

Dans cette même région, le gène *KCNQ10T1* est soumis à empreinte maternelle. Il donna les résultats attendus: la méthylation différentielle observée chez le témoin normal ne fut pas retrouvée. La môle biparentale se comporte comme si elle avait un épigénotype paternel, avec absence de méthylation sur les deux allèles, de la même façon que le témoin androgénote. Les autres gènes soumis à empreinte maternelle (*SNRPN*, *PEG1*, *PEG3*) testés ont donné les mêmes profils, en montrant chaque fois une absence d'empreinte maternelle (Tableau 1). Ces résultats furent confirmés par l'étude du statut de méthylation du locus complexe *GNAS* (*guanine nucleotide-binding protein, alpha-stimulating activity polypeptide 1*) (voir OMIM 139320), où plusieurs régions séparées sont soumises à empreinte, l'une primaire, établie pendant la gamétogenèse, les autres secondaires, survenant au stade blastocyste [13].

Cette impossibilité d'imprimer l'empreinte maternelle, phénomène baptisé *immaculate misconception* par Surani [14], doit donc être le fait de mutations dans un gène essentiel à l'empreinte maternelle, présentes à l'état homozygote chez ces femmes consanguines qui se trouvent dans l'incapacité totale d'avoir des enfants. Malheureusement, ce gène est complètement inconnu, car il ne correspond ni à *DNMT3L* qui est intact, ni au locus 19q qui semble exclu dans cette famille.

On le voit, il reste encore beaucoup à apprendre des mécanismes épigénétiques maternel et paternel, passionnants du point de vue fondamental et peut-être plus souvent impliqués qu'on ne l'imagine dans les échecs de grossesses. ♦

Looking for the lost imprintings: abnormal epigenotypes

Gènes analysés	<i>H19</i>	<i>KCNQ10T1</i>	<i>SNRPN</i>	<i>PEG1</i>	<i>PEG3</i>
Tissus étudiés					
Tissu diploïde normal	+/-	-/+	-/+	-/+	-/+
Villosités choriales normales	+/-	-/+	-/+	-/+	-/+
Villosités choriales androgénotes	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-
Tissu parthénogénote	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+
Môle biparentale	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Prader-Willi			+/+		

Tableau 1. Étude de la méthylation dans différents tissus de gènes soumis à empreinte parentale.

Les gènes soumis à empreinte paternelle sont en bleu, à empreinte maternelle en rouge. Pour chaque tissu, la couleur indique l'origine du lot: bleu pour le lot paternel, rouge pour le lot maternel. + indique une méthylation; - indique une absence de méthylation.

RÉFÉRENCES

1. Junien C. L'empreinte parentale: de la guerre des sexes à la solidarité entre générations. *Med Sci* 2000; 16: 336-44.
2. Bestor TH. The DNA-methyltransferases of mammals. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 2395-402.
3. Howell CY, Bestor TH, Ding F, et al. Genomic imprinting disrupted by maternal effect mutation in the *Dnmt1* gene. *Cell* 2001; 24: 88-91.
4. Okano M, Bell DW, Haber DA, Li E. DNA methyltransferases *Dnmt3a* and *Dnmt3b* are essential for *de novo* methylation and mammalian development. *Cell* 1999; 247-57.
5. Xu GL, Bestor TH, Bour'chis D, et al. Chromosome instability and immunodeficiency syndrome caused by mutations in a DNA methyltransferase gene. *Nature* 1999; 402: 187-91.
6. Bour'chis D, Xu GL, Lin CS, Bellman R, Bestor TH. *Dnmt3L* and the establishment of maternal genomic imprints. *Science* 2001; 294: 2536-9.
7. Fisher RA, Lawler SD, Povey S, Bagshaw KA. Genetically homozygous choriocarcinoma following pregnancies with hidatidiform mole. *Br J Cancer* 1988; 58: 788-92.
8. Kajii T, Ohama K. Androgenetic origin of hydatidiform mole. *Nature* 1977; 268: 633-4.
9. Seoud M, Khalil A, Frangieh A, et al. Recurrent molar pregnancies in a family with extensive intermarriage: report of a family and review of the literature. *Obstet Gynecol* 1995; 86: 692-5.
10. Helwani NM, Seoud M, Zahed L, Zaatari G, Khalil A, Slim R. A familial case of recurrent hydatidiform molar pregnancies with biparental genomic contribution. *Hum Genet* 1999; 105: 112-5.
11. Moglabey YB, Kircheisen R, Seoud ME, et al. Genetic mapping of a maternal locus responsible for familial hydatidiform moles. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 667-71.
12. Judson H, Hayward BE, Sheridan E, Bonthron DT. A global disorder of imprinting in the human female germ line. *Nature* 2002; 416: 539-42.
13. Hayward BE, Moran V, Strain L, Bonthron DT. Bidirectional imprinting of a single gene: *Gnas* encodes maternally, paternally and biallelically derived protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 1575-80.
14. Surani HA. Immaculate misconception. *Nature* 2002; 416: 491-2.

Un gène est soumis à empreinte lorsque l'expression de ce gène dépend de son origine parentale (maternelle ou paternelle). Un gène peut être soumis à empreinte seulement dans un tissu particulier (par exemple uniquement dans le placenta) ou à un moment particulier (par exemple au cours du développement embryonnaire). Les gènes soumis à empreinte sont le plus souvent regroupés dans des domaines chromatiniques contrôlés par un centre d'inactivation. On connaît actuellement chez l'homme plus de 30 gènes soumis à empreinte parentale, et on estime qu'il en existe probablement dix fois plus. Il existe, chez un individu diploïde, une disomie uniparentale (DUP) pour un chromosome ou un segment de chromosome lorsque les deux exemplaires de ce matériel ont été hérités d'un seul et même parent. On parle d'**isodisomie** ou d'**hétérodisomie uniparentale** selon que les deux exemplaires du matériel considéré chez l'individu sont la copie d'un même exemplaire ou des deux exemplaires différents du matériel parental, respectivement.

Le syndrome de Beckwith-Wiedemann est caractérisé à la naissance par un gigantisme, une viscéromégalie avec omphalocèle et une macroglossie. Occasionnellement, peuvent s'observer une hypoglycémie néonatale, des indentations des lobules des oreilles et une hémihypertrophie. De plus, ce syndrome prédispose à la survenue, dans environ 10 % des cas, de cancers de l'enfant, en particulier de tumeur de Wilms (néphroblastome) et de cortico-surrénales. L'incidence du syndrome de Beckwith-Wiedemann est de 1/14000 naissances environ. Les anomalies génétiques responsables du syndrome de Beckwith-Wiedemann sont complexes mais la majorité des malades présentent une expression biallélique du gène *IGF2* au cours du développement (seule la copie paternelle de ce gène est normalement active).

NOUVELLE

Peupliers à lignines modifiées : du génie génétique à l'industrie papetière

Gilles Pilate

> Le bois (ou xylème) est un tissu complexe composé de l'empilement successif, année après année, des cernes. Sa formation résulte de l'activité cyclique d'un méristème secondaire, le cambium (Figure 1) [1]. Le bois est formé majoritairement des parois de cellules mortes et peut être, de ce fait, assimilé à un matériau composite fait de microfibrilles

de cellulose rigidifiées dans une matrice faite de polysaccharides et de lignines. Ces lignines, qui constituent de 15 à 36 % de la matière sèche du bois, sont indispensables au bon développement de l'arbre: elles jouent un rôle important dans les fonctions de soutien, de conduction et de défense contre l'attaque des champi-

gnons et des insectes. Seule la lignification des parois cellulaires donne aux fibres la rigidité nécessaire à l'édification du tronc des arbres et aux vaisseaux la capacité de conduire la sève sur de grandes distances. Ainsi, l'acquisition par les plantes de la capacité de synthétiser les lignines a probablement été un facteur déterminant dans leur conquête du milieu aérien [2].

Les lignines sont des polymères tridimensionnels résultant de la polymérisation oxydative de trois types d'alcools phénoliques. Ces monomères diffèrent par le

UAGPF, Inra-Orléans,
avenue de la Pomme de Pin,
BP 20619 Ardon,
45166 Olivet Cedex, France.
pilate@orleans.inra.fr