



aussi importantes que les cancers. L'identification de partenaires comme la glycosyltransférase OGT permettra certainement de mieux comprendre l'influence des TET sur la structure chromatinienne, et un rôle du lien TET-OGT est envisageable dans certaines pathologies où le métabolisme est dérégulé. De nombreuses découvertes restent encore à faire, mais il est sûr que ces protéines s'attarderont dans les lumières des projecteurs pendant encore un long moment. ♦

TET-OGT interaction potentiates transcription by regulating histone H3 methylation

LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Delatte B, Fuks F. TET proteins: on the frenetic hunt for new cytosine modifications, *Brief Funct Genomics* 2013 ; 12 : 191-204.
2. Tahiliani M, Koh KP, Shen Y, et al. Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1. *Science* 2009 ; 324 : 930-5.
3. Kriaucionis S, Heintz N. The nuclear DNA base 5-hydroxymethylcytosine is present in Purkinje neurons and the brain. *Science* 2009 ; 324 : 929-30.
4. Ito S, Shen L, Dai Q, et al. Tet proteins can convert 5-methylcytosine to 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine. *Science* 2011 ; 333 : 1300-3.
5. Depluis R, Delatte B, Schwinn MK, et al. TET2 and TET3 regulate GlcNAcylation and H3K4 methylation through OGT and SET1/COMPASS. *EMBO J* 2013 ; 32 : 645-55.
6. Fujiki R, Hashiba W, Sekine H, et al. GlcNAcylation of histone H2B facilitates its monoubiquitination. *Nature* 2011 ; 480 : 557-60.
7. Chen Q, Chen Y, Bian C, et al. TET2 promotes histone O-GlcNAcylation during gene transcription. *Nature* 2013 ; 493 : 561-4.
8. Vella P, Scelfo A, Jammula S, et al. Tet proteins connect the O-linked N-acetylglucosamine transferase Ogt to chromatin in embryonic stem cells. *Mol Cell* 2013 ; 49 : 645-56.
9. Shi FT, Kim H, Lu W, et al. Ten-eleven translocation 1 (Tet1) is regulated by O-linked N-acetylglucosamine transferase (Ogt) for target gene repression in mouse embryonic stem cells. *J Biol Chem* 2013 ; 288 : 20776-84.
10. Ito R, Katsura S, Shimada H, et al. TET3-OGT interaction increases the stability and the presence of OGT in chromatin. *Genes Cells* 2014 ; 19 : 52-65.
11. Ruan HB, Singh JP, Li MD, et al. Cracking the O-GlcNAc code in metabolism, *Trends Endocrinol Metab* 2013 ; 24 : 301-9.

NOUVELLE

Diminuer l'expression de la dynamine 2

Une piste thérapeutique dans la myopathie myotubulaire ?

Jocelyn Laporte, Belinda Cowling

Département de médecine translationnelle, IGBMC, Inserm U964, CNRS UMR7104, Université de Strasbourg, 1, rue Laurent Fries, 67404 Illkirch, France.

jocelyn@igbmc.fr
belinda@igbmc.fr

Les myopathies centronucléaires

Les muscles représentent 40 % du poids sec d'un individu et sont importants pour la génération de mouvements, pour la thermogenèse et le métabolisme entre autres. Les fibres musculaires striées peuvent atteindre 20 cm de long et sont multinucléées ; les noyaux sont localisés en périphérie et la majorité du cytoplasme est occupée par les protéines contractiles et le réticulum sarcoplasmique.

Les myopathies centronucléaires sont des myopathies sévères se caractérisant, comme leur nom l'indique, par une position anormalement centrale des noyaux en l'absence de régénération musculaire excessive [1]. Différentes formes de myopathies centronucléaires (CNM pour *centronuclear myopathies*) sont connues (Figure 1A). La forme liée au chromosome X (XLCNM) est la plus fréquente et est aussi appelée myopathie

myotubulaire. Elle est due à des mutations de la myotubularine, une phosphatase à phosphoinositides codée par le gène *MTM1* [2]. Les nouveau-nés atteints présentent une forte hypotonie et une faiblesse musculaire engageant le pronostic vital. La forme autosomique dominante (ADCNM) est associée à une faiblesse musculaire lentement progressive pouvant démarrer dès l'enfance, à l'adolescence ou seulement à l'âge adulte. Elle est liée à des mutations du gène *DNM2* codant pour la dynamine 2 [3]. Les dynamines sont des GTPases régulant principalement la fission des membranes, et donc l'endocytose et le trafic intracellulaire [4]. La forme autosomique récessive des myopathies centronucléaires est liée soit à des mutations du gène *BINI* codant pour l'amphiphysine 2 dans le cas d'une formule histologique classique avec forte prédominance de noyaux centraux

[5], soit à des mutations de la titine ou du récepteur de la ryanodine chez des patients ayant un spectre phénotypique plus large.

Il n'existe pas à ce jour de thérapie ciblée pour la myopathie myotubulaire ni pour les autres formes de myopathies centronucléaires ; de plus les fonctions de la myotubularine et de la dynamine 2 ainsi que leur relation dans le muscle squelettique étaient peu établies jusqu'à maintenant.

Une hypothèse d'épistasie entre *MTM1* et *DNM2*

Chez la plupart des patients atteints de myopathie myotubulaire liée à l'X, les niveaux de myotubularine sont fortement diminués, suggérant que cette forme de myopathie centronucléaire est due à une perte de fonction. Les mutations de *DNM2* ségrégent de façon dominante, et des expériences *in vitro* suggèrent

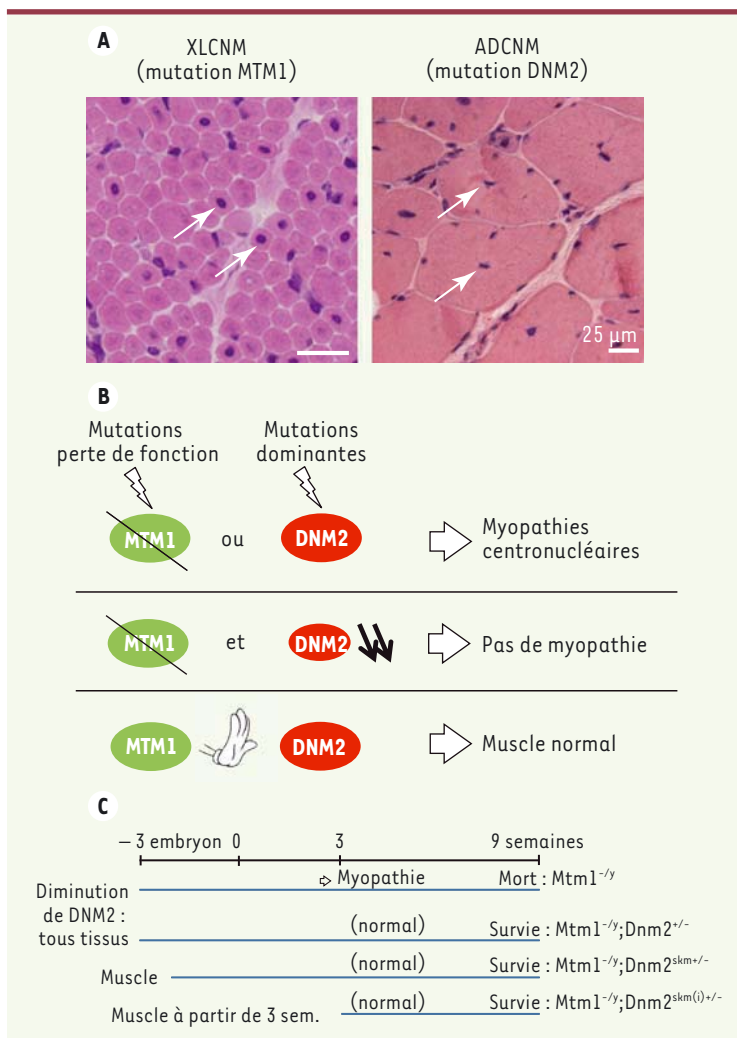


Figure 1. La myotubularine et la dynamine 2 dans les myopathies centronucléaires. **A.** Des mutations de *MTM1* codant la myotubularine ou de *DNM2* codant la dynamine 2 conduisent aux myopathies centronucléaires liée à l’X (XLCNM) ou autosomique dominante (ADCNM), respectivement. La forme liée à *MTM1* est aussi appelée myopathie myotubulaire. Coloration hématoxyline-éosine des muscles (adapté de figure 1 [11]). **B.** L’hypothèse de travail est que les mutations *MTM1* entraînent des pertes de fonction et les mutations *DNM2* des gains de fonction. La diminution de la dynamine 2 dans des souris sans myotubularine restaure un phénotype normal, ce qui suggère que la myotubularine inhibe la dynamine 2 lors du fonctionnement normal du muscle. **C.** La souris *Mtm1*^{-/-} reproduit un phénotype de myopathie myotubulaire à partir de l’âge de 2 à 3 semaines, et développe une myopathie progressive menant au décès de l’animal. La diminution de l’expression de *Dnm2* dans tous les tissus (*Dnm2*^{+/-}), ou sélectivement dans le muscle de façon constitutive (*Dnm2*^{skm+/-}), ou sélectivement dans le muscle à partir de 3 semaines de vie (*Dnm2*^{skm(i)+/-}), stoppe la progression de la myopathie et corrige le phénotype tout en augmentant grandement la survie des animaux *Mtm1*^{-/-}.

que certaines mutations augmentent l’activité GTPase et l’oligomérisation de la dynamine 2 sans influencer le taux de la protéine. De plus, la diminution de 50 % de l’expression de *Dnm2* chez la souris ne cause aucun phénotype détectable, écartant un mécanisme d’haploinsuffisance, alors que l’introduction par transgène constitutive ou transduction virale d’une mutation de *Dnm2* observée chez un patient à l’état hétérozygote reproduit la myopathie [6-8]. Or, la surexpression de la protéine sauvage, que ce soit par transfert génique ou transgène, conduit elle aussi à un phénotype de myopathie centronucléaire [8, 9]. Tout ceci nous a amené à proposer que les myopathies centronucléaires sont dues à une perte de fonction de la myotubularine ou à un gain de fonction

de la dynamine 2 (Figure 1B). En d’autres termes, si ces deux protéines sont bien dans la même voie, l’une inhibe l’autre pour un fonctionnement normal du muscle. Cette hypothèse a été testée dans la souris *Mtm1*^{-/-} reproduisant la myopathie myotubulaire ; nous avons évalué l’amélioration du phénotype après réduction du niveau de dynamine 2 de façon constitutive, spécifiquement dans le muscle, ou après la naissance au début de la myopathie (Figure 1C).

La diminution de dynamine 2 sauve les souris myopathes

Les souris *Mtm1*^{-/-} développent une faiblesse musculaire progressive à partir de 2 à 3 semaines après la naissance, et l’histologie musculaire est similaire à celle qui est observée chez

les patients (fibres hypotrophiques à noyaux centraux) ; elles meurent entre un et trois mois. En revanche, les souris *Mtm1*^{-/-} chez lesquelles une diminution de 50 % de l’expression de *Dnm2* a été induite (*Mtm1*^{-/-};*Dnm2*^{+/-}) survivent jusqu’à plus de deux ans, une durée de vie normale pour une souris (Figure 2A-B) [6]. Le poids et le déplacement sont normalisés, et la masse musculaire, qui était fortement réduite dans les souris *Mtm1*^{-/-}, est corrigée dans la majorité des muscles testés. Il est remarquable d’observer que les performances physiques ainsi que la force de muscles isolés et la capacité respiratoire sont corrigées. L’examen histologique des souris *Mtm1*^{-/-};*Dnm2*^{+/-} révèle une normalisation de la taille des fibres musculaires ainsi qu’une

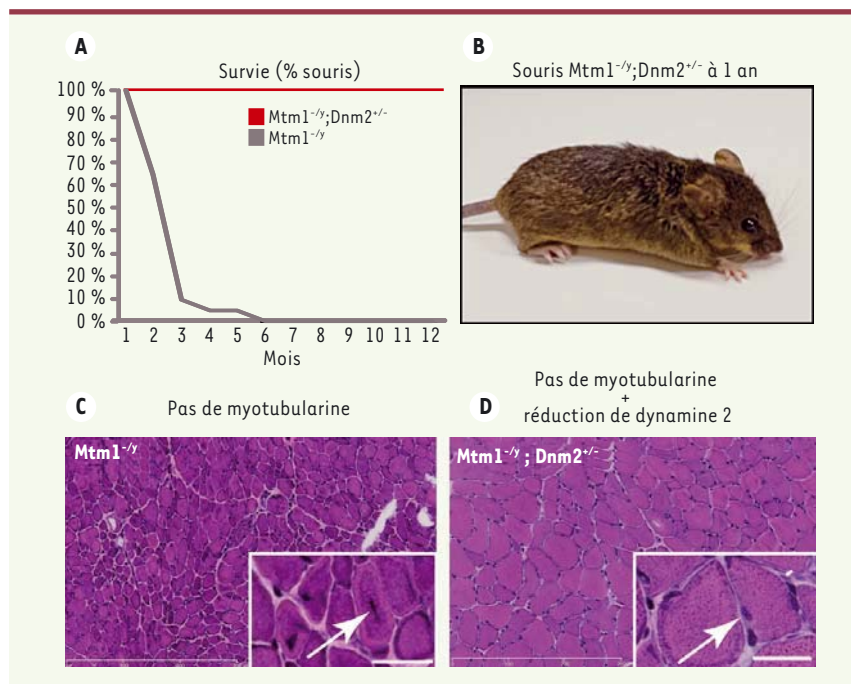


Figure 2. La diminution de la dynamine 2 améliore la myopathie myotubulaire dans des souris. **A.** Alors que toutes les souris *Mtm1*^{-/-} sont mortes avant l'âge de 6 mois, 100 % des souris *Mtm1*^{-/-};*Dnm2*^{+/-} survivent, et les plus âgées ont atteint l'âge de 2 ans, une durée de vie normale (adapté de [6]). **B.** La première souris sans myotubularine ayant atteint l'âge de 1 an (adapté de la figure 7A de [6]). **C.** Les fibres des muscles de souris *Mtm1*^{-/-} ont un phénotype « centrонуcléaire » caractérisé par des fibres hypotrophiques avec des noyaux centralisés. **D.** La diminution de 50 % de la dynamine 2 normalise la taille des fibres et diminue significativement les défauts de positionnement des noyaux. Échelles 300 µm et 25 µm dans les grossissements (adapté de la figure 3A de [6]).

diminution très nette du nombre de fibres à noyaux centraux (Figure 2C-D). L'organisation intracellulaire des fibres musculaires est aussi normalisée ainsi que la forme et la position des triades, des structures membranaires permettant la transformation de l'influx nerveux en contraction.

La diminution de la dynamine 2 améliore la myopathie même une fois les premiers signes déclarés

Nous avons ensuite testé si la correction de la myopathie est due à une diminution spécifique de la dynamine 2 dans le tissu musculaire et si cette stratégie pouvait être appliquée après le début de la maladie, puisque les patients sont déjà affectés à la naissance. Nous avons pour cela provoqué la délétion d'un allèle de *Dnm2* (construction floxée) par

la recombinaison Cre, placée sous contrôle du promoteur musculaire de l'actine squelettique humaine et couplée à un mutant du récepteur des œstrogènes ; l'activité du récepteur, et donc de Cre, peut être induite par l'injection de tamoxifène (souris *Mtm1*^{-/-} ; *Dnm2*^{+/*flox*} ; HSA-Cre ou Cre-ER^{T2}).

La diminution de la dynamine 2 seulement dans les fibres musculaires dès l'embryogenèse est suffisante pour améliorer grandement le phénotype musculaire et la survie des souris. Parallèlement à la diminution constitutive de la dynamine 2, nous avons noté une amélioration de la force et de la structure des muscles ainsi qu'une forte relocalisation des noyaux dans les fibres musculaires et donc une diminution de leur position centrонуcléaire. Ces données suggèrent que l'effet thérapeu-

tique de la réduction de cette molécule intervient directement dans le muscle atteint, et que la myotubularine et la dynamine 2 interagissent fonctionnellement dans ce tissu.

Nous avons également provoqué la délétion d'un allèle de *Dnm2* dans le muscle des souris *Mtm1*^{-/-};*Dnm2*^{+/*flox*};HSA-Cre-ER^{T2} à partir de 3 semaines, un âge où un début d'atrophie musculaire et de centralisation des noyaux est observé chez les souris *Mtm1*^{-/-}. Comme précédemment, la diminution de *Dnm2* augmente la survie et diminue, voire stoppe, l'atrophie musculaire et le phénotype centrонуcléaire.

Quel lien fonctionnel entre myotubularine et dynamine dans le muscle ?

Ces données génétiques démontrent que la myotubularine et la dynamine 2 appartiennent à une même voie contrôlant la force et la structure des fibres musculaires ainsi que le positionnement des organites. Ces deux protéines régulent le remodelage des membranes : la myotubularine joue sur la courbure membranaire du réticulum sarcoplasmique et le positionnement et la structure des triades, et la dynamine est impliquée dans la tubulation et la fission des membranes de différents compartiments [10]. De plus, la myotubularine déphosphoryle certains phosphoinositides ; alors que la fonction de la dynamine 2 est régulée par une liaison directe à des phospho-inositides et à des protéines régulées par des phosphoinositides. Il reste à tester si la myotubularine inhibe la dynamine 2 directement ou *via* son action sur les membranes et/ou ces phosphoinositides.

D'autre part, le taux de dynamine 2 est augmenté dans les souris sans myotubularine ainsi que chez les patients atteints de myopathie myotubulaire, après le début des signes cliniques [6]. Cette augmentation pourrait être en partie la cause d'une trop grande activité de la dynamine 2, qui est corrigé par la diminution génétique de *Dnm2*.

Applications thérapeutiques envisageables

L'identification de la dynamine 2 comme excellente cible thérapeutique dans la myopathie myotubulaire ouvre plusieurs perspectives. Il est techniquement envisageable de diminuer le niveau ou l'activité de la dynamine 2 chez l'homme. Les résultats suggèrent aussi une fenêtre d'action assez large et une intervention possible après l'apparition de la maladie. De plus, il sera important de tester si cette approche améliore les autres formes de myopathies centronucléaires dues à des mutations de BIN1 ou titine par exemple.

Enfin, il s'agit d'une des premières propositions de « thérapie croisée », où la diminution d'une protéine impliquée dans les myopathies centronucléaires (dynamine 2) guérit le phénotype dû à la perte d'une autre protéine impliquée dans les myopathies centronucléaires (myotubulaire). ♦

Decreasing dynamin 2 to rescue myotubular myopathy

REMERCIEMENTS

Belinda Cowling a été soutenue par la Fondation pour la recherche médicale et Jocelyn Laporte par l'Inserm et un contrat hospitalier de recherche translationnelle avec l'AP-HP.


LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Jungbluth H, Wallgren-Petersson C, Laporte J. Centronuclear (myotubular) myopathy. *Orphanet J Rare Dis* 2008; 3: 26.
2. Laporte J, Mandel JL. Le clonage du gène de la myopathie myotubulaire définit une nouvelle famille de tyrosine phosphatases. *Med Sci (Paris)* 1996; 12: 856-7.
3. Bitoun M, Romero NB, Guicheney P. Des mutations de la dynamine 2 à l'origine de la forme dominante de la myopathie centronucléaire. *Med Sci (Paris)* 2006; 22: 101-2.
4. Praefcke GJ, McMahon HT. The dynamin superfamily: universal membrane tubulation and fission molecules? *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 133-47.
5. Toussaint A, Nicot AS, Mandel JL, Laporte J. Mutations de l'amphiphysine 2 (BIN1) dans les myopathies centronucléaires récessives. *Med Sci (Paris)* 2007; 23: 1080-2.
6. Cowling BS, Chevremont T, Prokic I, et al. Reducing dynamin 2 expression rescues X-linked centronuclear myopathy. *J Clin Invest* 2014; 124: 1350-63.
7. Durieux AC, Vignaud A, Prudhon B, et al. A centronuclear myopathy-dynamin 2 mutation impairs skeletal muscle structure and function in mice. *Hum Mol Genet* 2010; 19: 4820-36.
8. Cowling BS, Toussaint A, Amosii L, et al. Increased expression of wild-type or a centronuclear myopathy mutant of dynamin 2 in skeletal muscle of adult mice leads to structural defects and muscle weakness. *Am J Pathol* 2011; 178: 2224-35.
9. Liu N, Bezprozvannaya S, Shelton JM, et al. Mice lacking microRNA 133a develop dynamin 2-dependent centronuclear myopathy. *J Clin Invest* 2011; 121: 3258-68.
10. Cowling BS, Toussaint A, Muller J, Laporte J. Defective membrane remodeling in neuromuscular diseases: insights from animal models. *PLoS Genet* 2012; 8: e1002595.
11. Toussaint A, Cowling BS, Hnia K. Defects in amphiphysin 2 (BIN1) and triads in several forms of centronuclear myopathies. *Acta Neuropathol* 2011; 121: 253-66.

NOUVELLE



Les tanocytes hypothalamiques
Porte d'entrée de la leptine dans le cerveau
Églantine Balland, Vincent Prévot

Inserm, équipe développement et plasticité du cerveau postnatal, Centre de recherche Jean-Pierre Aubert, Inserm U837, bâtiment Biserte, 1, place de Verdun 59045 Lille Cedex, France ; Université de Lille, faculté de médecine, Lille, France. vincent.prevot@inserm.fr

Balance énergétique et poids corporel

Le poids corporel d'un individu est défini par sa balance énergétique, c'est-à-dire par l'équilibre entre la prise alimentaire et les dépenses énergétiques de l'organisme (activité physique et métabolique). Si la prise alimentaire est plus importante que la dépense énergétique, le bilan sera en faveur d'un stockage d'énergie sous forme de graisses. Dans le cas inverse, les réserves graisseuses seront utilisées pour produire de l'énergie, provoquant une perte de poids. Comme toute fonction indispensable à la survie, la balance énergétique est finement régulée, notamment par divers

facteurs hormonaux sécrétés par les tissus périphériques, qui informent le système nerveux central (SNC) de l'état des réserves énergétiques afin d'adapter le comportement alimentaire et la dépense énergétique.

La leptine, hormone clé du métabolisme

Parmi les facteurs régulant la balance énergétique, la leptine produite par les adipocytes a été identifiée comme un régulateur majeur du poids corporel [1]. En effet, un défaut de production de leptine provoque l'obésité, et l'administration de cette adipokine permet le

retour à un poids corporel normal aussi bien chez l'homme que chez la souris mutante *ob/ob* [2,3]. De même, une souris ne possédant pas le récepteur de la leptine *LepRb* (souris mutante *db/db*) développe une obésité [4]. La leptine exerce donc un effet inhibiteur sur la prise alimentaire proportionnel au degré d'adiposité de l'organisme. Ainsi, si la masse graisseuse augmente, la quantité de leptine produite augmente, ce qui déclenche une diminution de la consommation de nourriture. Cet effet sur la prise alimentaire est relayé par le système nerveux central où la leptine active les circuits neuronaux anorexigènes et