

Cardiomyopathie due à la lamine de type A mutée

Un traitement en vue grâce à la recherche sur le cancer ?

Anne-Claire Guénantin*, Audrey Ibre*, Michel Pucéat

Aix-Marseille Université, Inserm U1251, MMG (Marseille Medical Genetics), 27 boulevard Jean Moulin, 13885 Marseille, France.

*Contribution égale à la rédaction de cet article

michel.puceat@inserm.fr

> La lamine de type A, codée par le gène *LMNA*, a un rôle essentiel dans la structure du noyau. Son interaction avec la chromatine lui confère une fonction dans la modulation de la transcription des gènes *via* des modifications épigénétiques de leurs régions régulatrices [1]. De nombreuses mutations de *LMNA* sont responsables de laminopathies, des maladies rares pouvant affecter différents tissus. On distingue quatre catégories de laminopathies selon le tissu affecté : les laminopathies des muscles striés, des tissus adipeux, des nerfs périphériques, et les laminopathies multi-systémiques, comme la progéria [2]. La dystrophie musculaire d'Emery Dreiffus (DMED), décrite en 1966, est une laminopathie des muscles striés touchant 1 personne sur 300 000. Les patients développent des faiblesses musculaires, des rétractions des tendons et une cardiomyopathie dilatée, avec un âge d'apparition et une sévérité des premiers signes cliniques variables [3]. En particulier, la mutation His222Pro de *LMNA* cause une DMED autosomique dominante avec une atteinte cardiaque prédominante [4]. Elle provoque une dilatation des cavités cardiaques, une diminution de la contractilité du myocarde, et un défaut de la conduction ventriculaire pouvant causer une mort subite. À ce jour, il n'existe pas de traitement de la DMED, et les cas les plus graves doivent subir une transplantation cardiaque. La lamine de type A est exprimée tôt au cours de l'embryogenèse [5]. La mutation His222Pro de *LMNA*, comme d'autres

mutations de ce gène, est responsable de cardiomyopathies sévères chez de jeunes enfants, nécessitant parfois une transplantation cardiaque dès l'âge de 8 ans [6, 7]. Nous avons émis l'hypothèse que cette mutation pouvait affecter la formation du cœur durant l'embryogenèse. En utilisant un modèle murin et des cellules souches embryonnaires issues de souris porteuses de la mutation à l'état hétérozygote (*Lmna*^{H222P/+}) ou homozygote (*Lmna*^{H222P/H222P}) [8], nous avons étudié l'impact de l'empreinte épigénétique de cette mutation sur la régulation génique et ses conséquences pour la formation du cœur.

Un défaut de régulation épigénétique des gènes à l'origine de la cardiomyopathie

Au jour embryonnaire E13,5, 85 % des souris mutantes homozygotes *Lmna*^{H222P/H222P} présentent une dilatation des oreillettes, et 40 % une dilatation du ventricule gauche. De plus, ces souris ont des défauts de septation ventriculaire, une hypertrabéculatation, une diminution de la contractilité, et présentent une diminution de l'épaisseur de la paroi des ventricules. Ce modèle murin reproduit donc, dès les stades embryonnaires, la cardiomyopathie dilatée sévère des patients atteints de DMED, ce qui témoigne du caractère congénital de cette laminopathie [9]. De même, pour les cellules souches embryonnaires *Lmna*^{H222P/+} différenciées vers les trois feuillettes embryonnaires (ectoderme, endoderme, et mésoderme)

au sein de corps embryonnaires, on observe un retard de la différenciation du mésoderme cardiogénique, avec une contraction des cardiomyocytes débutant plus tardivement (*i.e.*, après 14 jours de culture) que lorsque des cellules non porteuses de la mutation (début de la contraction après 7 jours) sont utilisées. De plus, les cellules *Lmna*^{H222P/+} différenciées en cardiomyocytes présentent une désorganisation sarcomérique, ainsi qu'un défaut du couplage excitation-contraction révélé par une moindre amplitude des oscillations calciques [9]. Nous avons ensuite analysé le transcriptome cardiaque des souris *Lmna*^{H222P/+} et *Lmna*^{H222P/H222P} à E13.5, et avons mis en évidence, chez les souris mutantes homozygotes, une anomalie de la transcription de 1 747 gènes. En particulier, plusieurs gènes impliqués dans la trabéculatation (*Notch*, *BMP10*), dans le couplage excitation-contraction (*Cav1*, *RyR2*, *Pln*), ou dans la myofibrillogenèse (*Myl2*, *Myl7*) étaient significativement moins exprimés chez ces souris. L'analyse du transcriptome des cellules souches embryonnaires *Lmna*^{H222P/+} en cours de différenciation a révélé une dérégulation précoce, au stade du mésendoderme : diminution de la transcription de gènes impliqués dans la transition épithélio-mésenchymateuse nécessaire à la formation du mésoderme (*Twist*, *Snail1*), ou dans la cardiogenèse précoce (*Mef2c*, *Nkx2.5*, *Mesp1*, *Fgf8*, *Tbx5*, *Isl1*), et augmentation de la transcription de *Brachyury* et du gène codant la E-cadhérine [9]. La dérégulation de



ces gènes pendant l'embryogenèse peut expliquer les malformations cardiaques et leurs conséquences chez des patients DMED.

Une augmentation de l'expression du gène codant la E-cadhérine et une diminution de l'expression de *Twist*, *Snail1* et *Mesp1* ayant été observées dans les cellules souches embryonnaires *Lmna*^{H222P/+} en cours de différenciation, nous avons étudié, dans ces cellules, le profil épigénétique des régions régulatrices de ces gènes. Les régions amplificatrices et promotrices du gène codant la E-cadhérine présentaient un enrichissement des marques épigénétiques H3K4me1 et H3K27ac, permettant une activation plus intense de ce gène. À l'inverse, dans les régions amplificatrices de *Twist* et *Mesp1*, nous avons détecté une diminution de la marque H3K4me1, qui rend compte de la diminution d'expression de ces gènes [9].

La dérégulation de la marque H3K4me1 nous a conduits à analyser l'expression de la déméthylase de l'histone LSD1 (*lysine-specific histone demethylase 1A*). Elle est augmentée dans les corps embryonnaires *Lmna*^{H222P/+}, ce qui expliquerait l'effacement de H3K4me1 sur les régions régulatrices des gènes impliqués dans la transition épithélio-mésenchymateuse [9]. Incidemment, la formation des métastases de carcinomes implique également une transition épithélio-mésenchymateuse et LSD1, qui, dans ce cas, favorise cette transition [10].

Sous l'effet d'un inhibiteur pharmacologique de LSD1 développé pour le traitement du cancer ou de petits ARN interférents inhibant la traduction du gène codant LSD1, les cellules souches embryonnaires *Lmna*^{H222P/+} en train de se différencier retrouvent une empreinte H3K4me1 normale dans les régions régulatrices de *Twist* et de *Mesp1*. De plus, les gènes *Myl2* et *Myl4*, impliqués dans la myofibrillogenèse, sont de nouveau exprimés. Une meilleure organisation sarcomérique et une augmentation des corps embryonnaires montrant des zones contractiles sont aussi observées [9].

Le traitement de souris gestantes avec l'inhibiteur de LSD1 (1 mg/kg) aux stades embryonnaires E7,5 et E8,5 a considérablement amélioré le phénotype des embryons mutants homozygotes : ils ne présentent plus de dilatation des cavités cardiaques pendant la vie fœtale ou post-natale, et ont une meilleure contractilité du myocarde, semblable à celle des souris hétérozygotes. L'administration d'un inhibiteur de LSD1 à la femelle gestante permet la correction des défauts épigénétiques causés par la mutation His222Pro de *LMNA* chez le fœtus, améliore la cardiogenèse, et rétablit le fonctionnement cardiaque [9].

Cependant, des considérations éthiques concernant l'administration d'un tel traitement à une femme enceinte pour protéger son fœtus de la cardiomyopathie nous ont conduits à tester directement une thérapie du nouveau-né atteint. Chez les mammifères, les cardiomyocytes conservent une capacité de prolifération pendant plusieurs jours ou pendant plusieurs semaines après la naissance, voire pendant six mois chez les Hommes [11, 12]. Nous avons traité les souriceaux mutants homozygotes avec l'inhibiteur de LSD1, 1 jour et 3 jours après leur naissance. À l'âge de 6 mois, les souris traitées à la naissance avaient une morphologie cardiaque normale, avec une diminution de la fibrose du myocarde (quantifiée comme étant seulement de 6 %) par rapport aux souris non-traitées (fibrose à 32 %) [9]. Il semble donc important de diagnostiquer le plus tôt possible les laminopathies humaines causant des défauts cardiaques, afin de pouvoir les traiter dès les premières semaines de vie post-natale, lorsque les cardiomyocytes prolifèrent encore [12].

La laminopathie : l'assemblage d'un complexe chromatinien en question ?

La dynamique de formation et déconstruction des complexes chromatinien permet de réguler finement la transcription de gènes spécifiques à un

instant précis de la vie embryonnaire ou adulte. Les lamines de type A étant associées à la chromatine, la mutation *Lmna*^{H222P/+} pourrait entraîner la séquestration de la protéine LSD1 à la périphérie du noyau cellulaire, ainsi que celle du complexe NurD (*nucleosome remodeling and deacetylase*), d'UTX (ou lysine déméthylase 6A, KDM6A), une déméthylase de l'histone H3K27 exerçant son action au sein du complexe chromatinien COMPASS, ou de coREST (*co-repressor of RE1 silencing transcription factor*). Ces complexes multi-protéiques auxquels LSD1 peut s'associer regroupent des enzymes modificateurs de la chromatine et modulent la transcription génique sur des régions régulatrices de gènes impliqués dans la transition épithélio-mésenchymateuse, comme *Mesp1* et *Twist*. Cette séquestration provoquerait une hyperactivité locale induisant la déméthylation de la marque H3K4me1 des régions régulatrices des gènes *Mesp1* et *Twist*, qui seraient alors moins exprimés. La transition épithélio-mésenchymateuse étant essentielle pour la formation du cœur dans l'embryogenèse, une inhibition de ces gènes entraînerait une limitation de la formation de cellules progénitrices, puis de cardiomyocytes, conduisant à une cardiomyopathie dilatée.

Alors que pendant le développement embryonnaire, LSD1 inhibe la transition épithélio-mésenchymateuse et provoque des malformations cardiaques, chez l'adulte, LSD1 inhibe les gènes épithéliaux (effet favorisant la transition épithélio-mésenchymateuse) nécessaires à une fonction cardiaque normale et induit de la fibrose (*Figure 1*). Les cibles génomiques de LSD1 pendant l'embryogenèse ou au cours de maladies survenant chez l'adulte dépendent probablement de l'usine transcriptionnelle, incluant les complexes UTX/NurD ou CoREST, dans laquelle LSD1 va résider [13-15].

Perspectives

À ce jour, on ignore encore pourquoi le phénotype des patients atteints de laminopathies cardiaques apparaît à

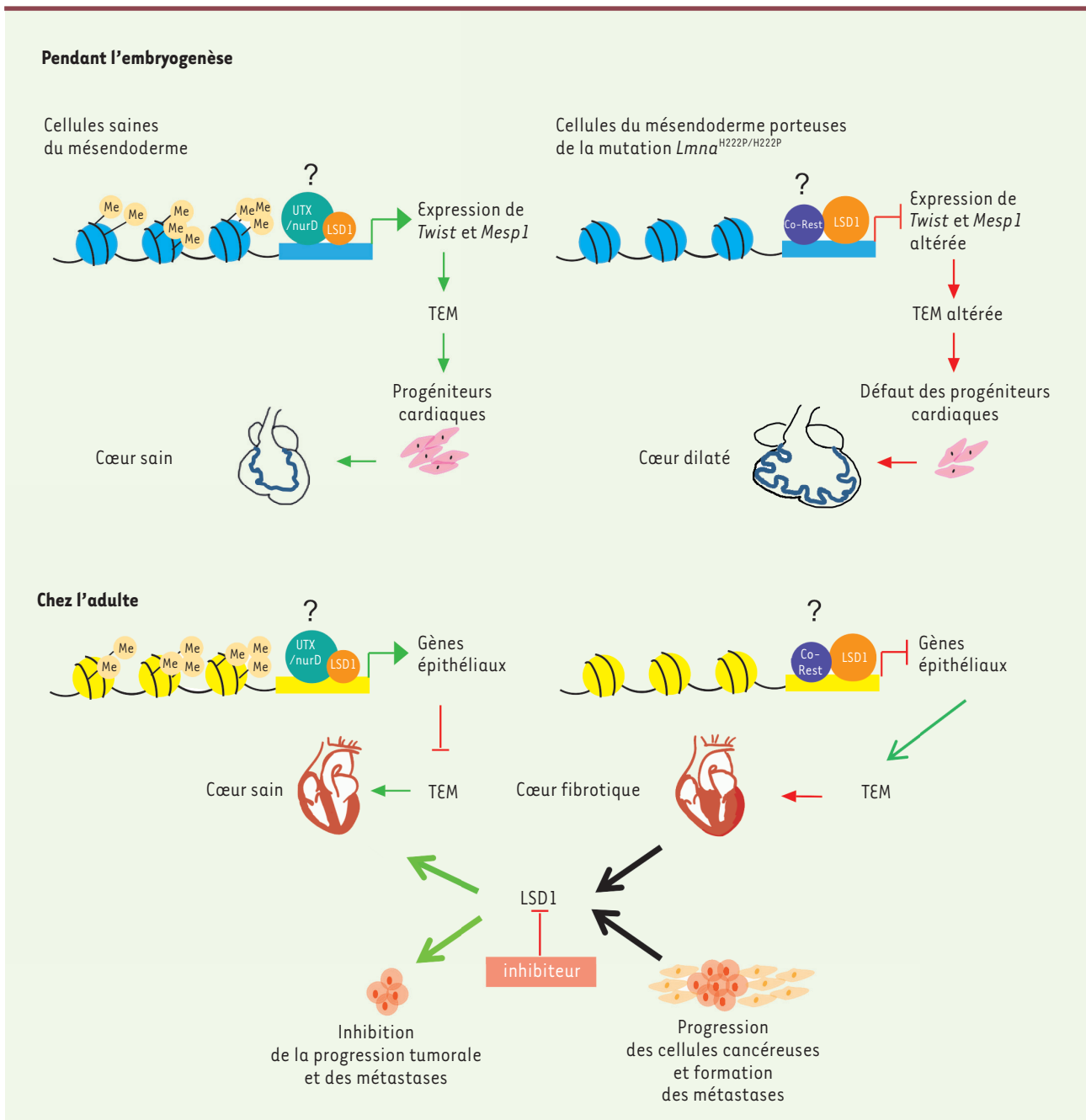


Figure 1. Mécanisme d'action épigénétique de LSD1 (lysine-specific histone demethylase) chez l'embryon et chez l'adulte : du normal au pathologique. Le point d'interrogation indique que l'identité des complexes chromatiniens est inconnue. TEM : transition épithélio-mésenchymateuse.

différents âges. Il serait essentiel de les dépister dès les premiers jours de vie afin d'utiliser la fenêtre de régénération cardiaque post-natale pour les traiter avec un inhibiteur de LSD1.

De plus, la plupart des patients atteints de cardiomyopathies par mutation de la lamine décèdent subitement à cause d'une tachycardie ventriculaire qui pour-

rait être due à une absence de maturation du système de conduction périphérique sous-épicardique. Ce système est en partie formé au cours du développement embryonnaire par une transition épithélio-mésenchymateuse de l'épicarde [16]. Nous nous intéressons désormais à l'impact de la mutation sur la formation du tissu de conduction péri-

phérique, et recherchons si l'inhibition de LSD1 pourrait diminuer le risque de mort subite chez les patients [9, 17]. ♦

When oncology research opens a path toward a therapy for a laminopathy

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Van Steensel B, Belmont AS. Lamina-associated domains: links with chromosome architecture, heterochromatin, and gene repression. *Cell* 2017 ; 169 : 780-91.
2. Worman HJ, Fong LG, Muchir A, Young SG. Laminopathies and the long strange trip from basic cell biology to therapy. *J Clin Invest* 2009 ; 119 : 1825-36.
3. Emery AE. Emery-Dreifuss syndrome. *J Med Genet* 1989 ; 26 : 637-41.
4. Bonne G, Mercuri E, Muchir A, et al. Clinical and molecular genetic spectrum of autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy due to mutations of the lamin A/C gene. *Ann Neurol* 2000 ; 48 : 170-80.
5. Houliston E, Guilly MN, Courvalin JC, Maro B. Expression of nuclear lamins during mouse preimplantation development. *Development* 1988 ; 102 : 271-8.
6. Hasselberg NE, Haland TF, Saberniak J, et al. Lamin A/C cardiomyopathy: young onset, high penetrance, and frequent need for heart transplantation. *Eur Heart J* 2018 ; 39 : 853-60.
7. Long PA, Evans JM, Olson TM. Diagnostic yield of whole exome sequencing in pediatric dilated cardiomyopathy. *J Cardiovasc Dev Dis* 2017 ; 4 : 1-10.
8. Arimura T, Helbling-Leclerc A, et al. Mouse model carrying H222P-Lmna mutation develops muscular dystrophy and dilated cardiomyopathy similar to human striated muscle laminopathies. *Hum Mol Genet* 2005 ; 14 : 155-69.
9. Guenantin AC, Jebeniani I, Leschik J, et al. Targeting the histone demethylase LSD1 prevents cardiomyopathy in a mouse model of laminopathy. *J Clin Invest* 2021 ; 131 : e136788
10. McDonald OG, Wu H, Timp W, et al. Genome-scale epigenetic reprogramming during epithelial-to-mesenchymal transition. *Nat Struct Mol Biol* 2011 ; 18 : 867-74.
11. Porrello ER, Mahmoud AI, Simpson E, et al. Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart. *Science* 2011 ; 331 : 1078-80.
12. Liu H, Zhang CH, Ammanamanchi N, et al. Control of cytokinesis by beta-adrenergic receptors indicates an approach for regulating cardiomyocyte endowment. *Sci Transl Med* 2019 ; 11 : eaaw6419
13. Foster CT, Dovey OM, Lezina L, et al. Lysine-specific demethylase 1 regulates the embryonic transcriptome and CoREST stability. *Mol Cell Biol* 2010 ; 30 : 4851-63.
14. Shi YJ, Matson C, Lan F, et al. Regulation of LSD1 histone demethylase activity by its associated factors. *Mol Cell* 2005 ; 19 : 857-64.
15. Choi HJ, Park JH, Park M, et al. UTX inhibits EMT-induced breast CSC properties by epigenetic repression of EMT genes in cooperation with LSD1 and HDAC1. *EMBO Rep* 2015 ; 16 : 1288-98.
16. Gittenberger-de Groot AC, Blom NM, Aoyama N, et al. The role of neural crest and epicardium-derived cells in conduction system formation. *Novartis Found Symp* 2003 ; 250 : 125-34 ; discussion 34-41, 276-9.
17. Johnston JR, Selgrade DF, McNally EM. Epigenetic reprogramming to prevent genetic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 2021 ; 131 : e143684.

