



L'épigénétique ou le changement transmissible du phénotype sans modification de la séquence de l'ADN

Marc Delpech, Claudine Junien, J.-L. Guéant, P. Debré

► To cite this version:

Marc Delpech, Claudine Junien, J.-L. Guéant, P. Debré. L'épigénétique ou le changement transmissible du phénotype sans modification de la séquence de l'ADN. Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine, 2021, 205 (7), pp.775-781. 10.1016/j.banm.2021.03.007 . hal-03325312

HAL Id: hal-03325312

<https://hal.inrae.fr/hal-03325312v1>

Submitted on 2 Aug 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Copyright

L'épigénétique ou le changement transmissible du phénotype sans modification de la séquence de l'ADN*

Epigenetics or transmissible phenotypic change without DNA sequence modification

Marc Delpech¹, Claudine Junien², Jean-Louis Guéant³, et Patrice Debré⁴

1 – Faculté de Santé de l'Université de Paris 15 rue de l'école de Médecine 75006 Paris

2 – Inra UMR1198, Biologie du développement et de la reproduction, Domaine de Vilvert Bâtiment 230, 78350 Jouy-en-Josas France

3 - N-GERE (Nutrition Génétique et Exposition aux Risques Environnementaux), Université de Lorraine et INSERM UMRS 954, Nancy, France.

4 - Sorbonne Université, Inserm U1135, CNRS ERL 8255, Centre d'Immunologie et des Maladies Infectieuses (CIMI-Paris), Paris, France, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Département d'Immunologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France.

Aucun lien d'intérêt.

***Séance du 13 avril 2021**

Résumé

L'épigénétique est la discipline qui étudie les mécanismes permettant une modification du phénotype sans aucune modification de la séquence de l'ADN. Cette modification phénotypique est notamment induite par l'environnement. Elle peut être réversible mais aussi transmissible de génération en génération. Les mécanismes impliqués sont multiples et ne sont pas encore tous connus. La méthylation de certaines cytosines de l'ADN ainsi que les méthylations et les acétylations des histones jouent un rôle majeur. D'autres mécanismes moins bien connus, comme les modifications de la structure de la chromatine et l'intervention de divers ARN non codants courts, comme les miARN ou microARN, et long, comme les lncARN ou long ARN non codant, ou encore des événements impliquant des phénomènes biochimiques ou de régulation jouent aussi un rôle important. Les modifications épigénétiques peuvent être à l'origine de pathologies et pratiquement tous les domaines de la Médecine peuvent être concernés, des maladies chroniques aux infections microbiennes. Les progrès dans le domaine de l'épigénétique ont permis d'apporter une explication à des observations telles que certaines discordances du phénotype chez les jumeaux monozygotes, qui partagent pourtant le même patrimoine génétique, ou la transmission à la descendance d'une obésité ou de maladies cardiovasculaires.

Abstract

Epigenetics is the discipline that studies the mechanisms that allow for a phenotype modification without any change in DNA sequence. This phenotypic modification can be induced by the environment. It can be reversible but also transmissible from generation to

47 generation. The mechanisms involved are multiple and are not yet all known. The
48 methylation of certain DNA cytosines as well as the methylation and acetylation of histones
49 play a major role. Other less well-known mechanisms, such as specific changes in chromatin
50 structure and the intervention of various noncoding RNA, short such as miRNAs or
51 microRNAs, and long noncoding RNAs, lncRNAs, or events involving biochemical or
52 regulatory phenomena, also play an important role. Epigenetic modifications can be the
53 cause of pathologies of practically all fields of Medicine, from chronic diseases to microbial
54 infections. Progress in epigenetics allowed to explain some observations such as phenotypic
55 mismatches in monozygotic twins, which share the same genetic heritage, or the
56 transmission to offspring of pathologies such as obesity or cardiovascular diseases.

57
58 **Mots clés :** Épigénomique ; Méthylation de l'ADN ; Chaperons d'histones

59
60 **Key words:** Epigenomics ; DNA Methylation ; Histone Chaperones

61
62

La notion d'épigenèse remonte à Aristote (384-322 av. J-C) avec son livre *Sur la génération des animaux*. L'épigenèse est une théorie selon laquelle les organes apparaissent progressivement au cours de la croissance embryonnaire et sont sous l'influence de forces extérieures. Il ne pouvait pas à l'époque le démontrer. Il s'opposait ainsi à une autre théorie, celle de la préformation, qui postule que l'embryon existe déjà après la fécondation et qu'il ne fait simplement que grossir au cours du temps sans apparition de nouvelles structures. Le microscope, en permettant d'observer l'intérieur de l'œuf et les premières divisions cellulaires après la fécondation, a mis à mal cette dernière théorie et l'a invalidée. Il faudra attendre cependant le XX^e siècle pour que la communauté scientifique reprenne la notion d'épigenèse et en démontre sa véracité. Cela a conduit au développement de nouveaux concepts et à la création d'une nouvelle discipline : l'épigénétique. Le pionnier fut sans doute Thomas Morgan (1866 – 1945) qui posait la question suivante lors de sa présentation à l'occasion de la réception de son prix Nobel, en 1933 :

"... if the characters of the individual are determined by the genes, then why are not all the cells of the body exactly alike? Every cell comes to contain the same kind of genes. Why then is that some cells become muscle cells, some nerve cells, and others remain reproductive cells?"

Le terme épigénétique a été créé en 1942 par l'embryologiste britannique Conrad Waddington (1905-1975) [1-2]. Il définit sous ce terme les mécanismes par lesquels les interactions entre les gènes et l'environnement donnent naissance au phénotype, c'est-à-dire aux caractères physiologiques et morphologiques de l'individu. Cette définition initiale était très large mais n'incluait pas la notion de transmission d'une génération à l'autre. L'étendue du champ de cette définition a conduit au cours du temps à ce que tout ce qui n'était pas expliqué par la génétique soit considéré comme relevant de l'épigénétique, mais sans qu'aucun mécanisme moléculaire ne puisse l'étayer. Une définition plus limitée, qui introduit la notion de transmission de génération en génération et qui prévaut aujourd'hui, a été proposée en 1987 par Robin Holliday (1932–2014) [3]. Il qualifie d'épigénétique toute modification transmissible du phénotype sans aucune modification du génotype, c'est-à-dire de l'ADN. Plus récemment il a été ajouté que ces modifications peuvent être réversibles. Selon certains auteurs l'épigénétique, dans son acception la plus large, comprend également des événements impliquant des phénomènes biochimiques ou de régulation, ou encore le prion et sa transmission.

1 - Les mécanismes moléculaires à la base de l'épigénétique.

Les principaux acteurs biologiques de l'épigénétique sont schématiquement (1) les méthylations de l'ADN ; (2) les modifications post-traductionnelles des histones comme les acétylations et les méthylations ; (3) la conformation de la chromatine et (4) des ARN dont certains sont des petits ARN (miRNA, siRNA...) d'autres longs ARN non codants (lncRNA). Cela sans compter tous les acteurs que nous ne connaissons pas encore aujourd'hui.

C'est en 1975 que le premier mécanisme épigénétique, la méthylation de l'ADN, a été découvert [4]. Depuis d'énormes progrès ont été réalisés. Chez les mammifères, 5 à 10 % des cytosines sont méthylées et l'état de méthylation est transmis aux cellules filles à chaque division cellulaire. Une série de résultats convergents a montré que la méthylation des cytosines situées dans la région en 5' non transcrite des gènes est le plus souvent associée à une diminution de leur activité transcriptionnelle. Un argument supplémentaire a été

apporté en 1985 lorsqu'il a été montré que l'ADN des cellules cancéreuses, qui ont une forte activité transcriptionnelle, est largement hypométhylé comme celui des cellules non malignes adjacentes. Enfin une hypo-méthylation activant la transcription peut être artificiellement créée dans les cellules en culture par la 5-aza-cytidine, un analogue de la cytosine qui ne peut pas être méthylé en 5'. Le fait que l'ADN du chromosome X inactivé - dont les 2/3 des gènes ne sont pas exprimés - est très fortement méthylé apporte un argument supplémentaire qui soutient le rôle globalement inhibiteur de la méthylation des cytosines sur l'expression des gènes [5]. Il existe de rares cas de méthylations de cytosine en 3' des gènes. Elles ont un effet inverse.

Puisque la méthylation des cytosines situées dans le promoteur des gènes inhibe souvent leur expression, et qu'elle est maintenue au cours des divisions cellulaires, elle constitue l'un des moyens utilisés par la cellule pour modifier le phénotype sans changer la séquence de l'ADN avec une transmission de génération en génération ; elle remplit donc tous les critères qui définissent aujourd'hui l'épigénétique.

Les enzymes responsables des méthylations, les méthyltransférases, ont été progressivement caractérisées. Le maintien de la méthylation de l'ADN est assuré par l'enzyme DNMT1 (*DNA (cytosine-5)-methyltransferase 1*) qui joue un rôle essentiel, ce qui est démontré par le fait que l'altération du gène qui la code conduit à une létalité *in utero*. La méthylation de novo de l'ADN, influencé par l'environnement, est assurée par les enzymes DNMT3a et 3b. L'inactivation de DNMT3a est létale durant la période prénatale tardive et l'inactivation de DNMT3b est létale durant la période postnatale précoce. Il existe une maladie qui est due à des mutations de DNMT3b qui diminuent son activité sans l'abolir, il s'agit du syndrome **ICF** qui associe une Immunodéficience, une instabilité de l'hétérochromatine Centromérique, une dysmorphie Faciale, un retard de croissance et un déficit intellectuel. La transmission est autosomique récessive. Dans cette maladie on observe une hypométhylation limitée de l'ADN des régions péri-centromériques des chromosomes 1q, 9q, 16q.

Les mécanismes de la déméthylation sont de connaissance récente. Il en existe deux types :

- **Passive** par manque d'activité de DNMT1 avec une dilution des méthylations à chaque division.
- **Active** réalisée par le cycle des protéines TET (*ten-eleven-translocation*) qui implique des hydroxylations des 5-méthyl cytosines.

Où la méthylation de l'ADN est-elle trouvée dans les gènes ? Celle-ci est principalement dans les régions riches en motif CpG situées dans les promoteurs de certains gènes et dans des séquences régulatrices. On en trouve très peu dans les séquences codantes. Si l'effet de la méthylation d'un ADN est le blocage de son expression, il existe cependant des sites dans la partie 3' de certains gènes pour lesquels la méthylation a l'effet inverse, c'est-à-dire qu'elle conduit à une activation du gène.

La méthylation a été étudiée au cours du développement. On observe une forte méthylation lors de la génération des gamètes avec une méthylation plus importante dans les spermatozoïdes par rapport aux ovocytes. Après fécondation une très forte déméthylation est observée dans les deux pronoyaux et cela jusqu'au stade blastocyte précoce, avec maintien du profil de méthylation des gènes soumis à empreinte. Ensuite le niveau de méthylation dépend du devenir des cellules. Dans celles qui donneront les cellules germinales primordiales, il n'y a pratiquement pas de méthylation. Elle est limitée dans les

cellules trophoblastiques qui donneront le placenta et le sac vitellin. Elle est très importante dans les cellules somatiques. La reprogrammation du méthylome peut induire une diversité phénotypique. La méthylation est aussi fonction des apports alimentaires en folate, vitamine B12 et choline qui sont les précurseurs de co-enzymes donneurs de méthyles nécessaires à la synthèse de S-Adénosylméthionine (SAM). La SAM est le substrat universel des enzymes qui méthylent l'ADN et les histones. Il existe des différences importantes de méthylation entre la femelle et le mâle, avec un marquage différentiel dès le stade blastocyste et 1/3 des gènes montrant une expression différentielle [6].

Les modifications post-traductionnelles des histones du nucléosome représentent le second acteur du contrôle épigénétique. Les bras des histones des nucléosomes émergent de la sphère qu'est le nucléosome. Ces bras sont riches en résidus de lysine très fortement chargés positivement. Ils interagissent donc fortement avec l'ADN qui est lui chargé négativement. De ce fait, l'ADN n'est pas accessible aux facteurs transcriptionnels et les deux brins de l'ADN ne peuvent pas être séparés ce qui empêche toute transcription et donc l'expression des gènes.

L'acétylation des lysines des bras des histones neutralise leurs charges positives. Il en résulte qu'il n'y a plus d'interaction entre le nucléosome et l'ADN qui peut ainsi être transcrit. Des modifications post-traductionnelles autres que l'acétylation sont possibles. Il s'agit de (1) la méthylation des lysines et arginines (jusqu'à 3 groupements méthyle peuvent être fixés sur ces acides aminés) et (2) de la phosphorylation d'acides aminés porteurs de fonction alcool comme la sérine ou la thréonine. Contrairement à l'acétylation des lysines qui a toujours un effet activateur, la méthylation des lysines et des arginines peut avoir des effets activateurs ou inhibiteurs. Tout dépend de la lysine ou l'arginine touchée. La triméthylation de la Lysine 36 de l'histone H3 présente la particularité d'être le seul exemple où la méthylation est réalisée par une méthylase spécifique, SETD2 (SET domain-containing protein 2). En général la méthylation des histones rend l'ADN accessible aux facteurs transcriptionnels. Il s'ensuit une activation s'il y a accès à des facteurs transcriptionnels activateurs ou au contraire une répression de l'expression du gène si le facteur transcriptionnel est répresseur d'activité, comme c'est le cas avec les facteurs MECP1 et 2 (methyl-CpG-binding protein 1 and 2) ou MDB 1 à 4 (methyl-CpG binding domain 1 to 4). Ces protéines ont une très forte affinité pour l'ADN méthylé sur lequel elles s'attachent, ce qui empêche la fixation des facteurs transcriptionnels indispensables à l'expression du gène. Pour MECP2 l'effet est amplifié par le recrutement d'une histone désacétylase qui, en désacétylant les histones, renforce le blocage de la transcription du gène. Des mutations de ce gène conduisent au syndrome de Rett. Les marquages des histones H3K27me et H3K9me sont une exception puisque la méthylation a un effet répressif. Il existe une bonne centaine de marques d'histone.

La chromatine doit aussi être remaniée pour que les gènes puissent être exprimés. Elle l'est par une série de très grands complexes protéiques de remodelage qui font partie de « la machinerie épigénétique » car leur activité est modulée par des signaux de l'environnement.

Un autre mécanisme régulateur implique soit de longs ARNs non codants (lncARN) qui interfèrent avec la transcription de certains gènes soit des micro ARN ou miARN qui agissent en aval de la transcription. Près de 60 % des ARN messagers peuvent être régulés par des miARN. Certains miARN sont sécrétés, ce qui permet une action à longue distance. Beaucoup de miRNA sont trouvés dans le lait et le liquide séminal, ce qui permet une transmission d'information hors chromatine des parents à l'enfant. Ils sont semble-t-il

stables et peu sensibles à la dégradation. On en trouve aussi dans les spermatozoïdes, mais ils ne sont pas produits par eux et proviennent de l'environnement testiculaire. Cela pourrait être par exemple la cause de l'observation qu'un mâle obèse aura des enfants obèses même si ses enfants n'ont pas de suralimentation et un exemple de transmission par le liquide séminal.

Enfin des phénomènes biochimiques ou de régulation de l'expression des gènes peuvent aboutir à un état stable et transmissible comme on l'observe dans l'interrupteur transcriptionnel (*toggle switch*) [7] ou dans le rétrocontrôle positif qui conduit à une auto-amplification.

2 - Epigénétique et pathologie

Les maladies chroniques représentent en Médecine le défi du XXI^e siècle. Les données de l'Organisation Mondiale de la santé (OMS) montrent qu'elles sont la cause du décès de 35 millions de personnes par an, ce qui représente 63 % des décès annuels. Cela atteint même jusqu'à 80 % dans les pays à revenu moyen et faible.

Des études de jumeaux montrent que la Génétique peut expliquer de 25 % (ex : cancer du sein non héréditaire) à 75 % (ex : autoimmunité thyroïdienne) de la variabilité entre individus. Les 75 % à 25 % restants résultent de l'environnement, donc de l'épigénétique. Les études réalisées chez les jumeaux monozygotes ont montré l'existence d'une modification des méthylations durant le développement et au cours de la vie qui a été appelée dérive épigénétique (*epigenetic drift*) [8]. Ces variations ont été confirmées par des études comparant le méthylome chez les nouveau-nés par rapport à celui des centenaires [9]. Génétique et épigénétique sont étroitement liées en conjonction avec les impacts épigénétiques de l'environnement passé et présent. Ainsi la méthylation « conditionnante » d'un allèle du gène FKBP5 [10] au niveau d'un enhancer facilite la survenue d'un PTSD chez un individu conditionné (par méthylation) par des sévices durant l'enfance, avec inversement une possibilité de compensation par un changement de style de vie.

Une première révolution a été la mise en évidence de l'origine fœtale de la santé et des maladies (ou *Developmental Origin of Health and Diseases*, DOHaD) dont David Barker fut le pionnier [11]. Au cours du développement se constitue un capital santé qui est variable suivant les individus et qui est influencé par le déroulement de la grossesse. Ce capital va être dépensé au cours de la vie par une usure physiologique, mais aussi par le style de vie et les conditions environnementales. Dès que le capital passera sous un seuil critique une maladie apparaîtra et malheureusement il sera trop tard pour qu'un traitement efficace puisse être mis en place. Les altérations développementales précoces et organisationnelles n'étant pas réversibles, il faut donc optimiser ce capital durant la grossesse et l'adapter à l'environnement après la naissance.

Une étude rétrospective des maladies métaboliques liées à l'obésité, dont le diabète de type 2 et des maladies cardiovasculaires, a montré que le risque est plus élevé chez les sujets adultes qui sont issus d'une grossesse au cours de laquelle la femme avait eu des problèmes nutritionnels entraînant un retard de croissance du fœtus.

Le contexte nutritionnel est fondamental dans le développement des maladies cardio-métaboliques. Une étude en 2016 montre qu'environ 39 % de la population mondiale est en surpoids et 16 % est obèse [12]. David Barker a associé un petit poids de naissance à un risque cardiovasculaire. Ces résultats ont été confirmés par plusieurs études. Si toute la grossesse ainsi que la période postnatale précoce sont impliquées, la période la plus critique est le premier trimestre de gestation. En outre, lorsque le contexte à la naissance est

différent de celui qui a prévalu durant la grossesse, il se produit une réponse inadéquate qui conduit à des pathologies. On observe une aggravation des phénotypes en cas de déviation entre la situation prédite *in utero* et la situation post-natale réelle (par exemple un rattrapage rapide de croissance). Il existe aussi une composante paternelle qui agit au moment de la conception et après la naissance.

Enfin de nombreux gènes, qui représentent au total plus de 2 % du génome, ont une expression mono-allélique stochastique [13], cette expression mono-allélique, comme celle du gène Pax5 [14], pourrait expliquer certains cas d'haploinsuffisance à l'origine de maladies génétiques dominantes

3 - Variation de l'épigénome au cours de la vie et en fonction de l'exposition à l'environnement

Des modifications de l'épigénome au cours de la vie peuvent être induites par plusieurs facteurs. Les expositions à l'alcool, certaines drogues dont le cannabis et la cocaïne et certains xénobiotiques, dont les perturbateurs endocriniens induisent des modifications de l'épigénome. Lorsque l'exposition a lieu au cours de la grossesse, elle entraîne des altérations du développement du fœtus et du nourrisson et une susceptibilité post-natale accrue à de nombreuses maladies [12].

Une sous-nutrition de la mère durant la grossesse va augmenter le risque de diabète de type II chez l'enfant, c'est le « *fœtal programming* » ou « *fœtal conditionning* » [15]. En cas de surnutrition on observe une diminution de l'expression et de l'activité de SIRT1 qui est une désacétylase qui agit sur la protéine PGC1α qui, elle-même, contrôle l'expression de nombreuses protéines comme PPARα, ERRα, HNF-4α et VDR dont les cibles sont des gènes du métabolisme des lipides, de l'oxydation des acides gras, et de l'homéostasie de la moelle osseuse [16]. Les modifications de méthylation sont aussi très dépendantes de l'alimentation car c'est elle qui apporte les donneurs de méthyles nécessaires. Une surnutrition produit la même diminution de l'expression de SIRT1 que le déficit nutritionnel en précurseurs de la méthylation [17]. De plus, le *fœtal conditionning* produit par le déficit en donneurs de méthyle pendant la gestation et l'exposition à une surnutrition au cours de la vie amplifient le risque de maladies liées à l'obésité. Il en résulte des modifications d'expression de dizaines de gènes qui favorisent la survenue d'une obésité et/ou d'un diabète de type II.

Il est aussi observé une relation entre la méthylation et le vieillissement ainsi qu'entre la méthylation et le cancer [18].

4 - Epimutations et pathologies

Une épimutation est une marque épigénétique transmise des parents aux enfants et directement impliquée dans les mécanismes moléculaires sous-jacents d'une maladie. La plupart des épimutations sont somatiques. Elles existent sous forme mosaïque avec des effets spécifiques selon les tissus. Au contraire les épimutations constitutionnelles sont présentes dans les cellules germinales et tous les tissus. Il existe deux types d'épimutations :

- **Les épimutations primaires** qui sont produites indépendamment de tout changement de séquence d'ADN. Elles peuvent être transgénérationnelles et non intergénérationnelles car non effacées dans les cellules germinales. Elles perdurent au moins sur trois générations chez les mâles et quatre générations chez les femelles. Elles n'ont jamais été liées à ce jour à des pathologies humaines.

- **Les épimutations secondaires** : qui résultent d'un changement de séquence d'ADN. Elles sont effacées dans les cellules germinales de la descendance, dans tous les cas rapportés jusqu'à présent. Elles sont observées principalement dans les cancers et en pathologie humaine

Compte tenu de leur importance, il est intéressant d'analyser quelques exemples d'épimutations secondaires.

Il a été observé des épimutations dans le gène *MLH1* (un gène impliqué dans la réparation de l'ADN) qui sont effacées dans les spermatozoïdes puis réintégrées dans les cellules somatiques de la génération suivante [18]. L'hyperméthylation d'un allèle de *MLH1* dans des cellules somatiques produit une prédisposition au développement du cancer colorectal héréditaire sans polypose, retrouvée dans deux générations successives. Il existe aussi des formes familiales de cancer du colon qui sont liées au gène *MSH2* (un autre gène impliqué dans la réparation de l'ADN) et qui sont dues à une épimutation qui apparaît à la suite d'une délétion de gènes environnants.

Il a aussi été enfin découvert une alpha-thalassémie liée au gène *HBA2* qui résulte d'une épimutation induite à la suite d'une délétion de gènes tête-bêche conduisant à une transcription anti-sens.

Un dernier exemple particulièrement complexe est celui d'un nouveau type de maladie héréditaire du métabolisme de la vitamine B12 appelée *epicb/C*, par analogie à la maladie de type *cb/C* produite par des mutations du gène *MMACHC*, qui est la maladie héréditaire du métabolisme intra-cellulaire de la vit B12 la plus fréquente. L'étude du gène chez un enfant, décédé à l'âge de 1 mois, par séquençage de son ADN sanguin a montré la présence d'une mutation hétérozygote de *MMACHC*, malgré la sévérité du tableau clinique alors que la maladie est récessive. L'allèle *MMACHC* portant la mutation était le seul transcrit dans les fibroblastes du patient. Le traitement des fibroblastes par la 5-azacytidine (5-AZA), qui est, comme déjà indiqué, un inhibiteur des ADN méthyltransférases, restaurait l'expression de l'allèle non muté. La maladie résulte en fait d'une épimutation qui est transmise par le père et elle a été transmise dans les 3 générations accessibles de cette famille. L'épimutation est retrouvée dans le sperme du père et chez le grand père. Il s'agit du premier cas d'une épimutation constitutionnelle. Le séquençage de toute la région met en évidence une mutation d'épissage dans l'exon 5 d'un gène situé immédiatement en aval du gène *MMACHC* et transcrit en sens inverse, le gène *PRDX1*. D'autre part, *MMACHC* partage son promoteur avec un gène adjacent situé en amont, le gène *CCDC163P*. Les deux gènes sont en sens opposé, le promoteur commun est donc bi-directionnel. La mutation du gène *PRDX1* produit une transcription aberrante antisens qui se prolonge au-delà du promoteur bidirectionnel. L'épimutation résulte d'une méthylation du promoteur par la méthylase DNMT3B1 recrutée suite à la méthylation de la lysine 36 de l'histone H3 (H3K36me3). La méthylation de l'histone est produite par la protéine SETD2, qui est induite par la transcription aberrante. Un élément important pour la genèse de l'épimutation est le taux de transcription anti sens très élevé de *PRDX1* par rapport à celui de la transcription dans le bon sens de *MMACHC*. La maladie chez l'enfant résulte donc d'interactions entre trois gènes (*MMACHC*, *PRDX1* et *CCDC163P*) [19].

Ce mécanisme qui est décrit pour la première fois par l'équipe de J-L Guéant ne concerne probablement pas que le gène *MMACHC*. En effet une analyse exhaustive du génome montre qu'il existe une quarantaine de gènes qui sont ainsi organisés en trios similaires et

quelques-uns sont associés à des maladies rares. Leur caractérisation permettra peut-être de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans les épimutations

5 - Épigénétique et infections microbiennes

Il est impossible ici de passer en revue l'ensemble des effets épigénétiques des infections microbiennes et nous nous limiterons à quelques exemples, celui de *Listeria monocytogenes* et celui des nucléomodulines.

5.1 - Le ciblage de la chromatine par une bactérie : *Listeria monocytogenes* n'est normalement pas dangereuse car nous possédons de bonnes défenses contre elle. Cependant, elle présente un danger pour les sujets à risque, notamment elle est très dangereuse en cas de grossesse car elle est capable de traverser la barrière placentaire. *Listeria* envahit et manipule les cellules de mammifères. Dans la cellule, *Listeria* est libre, elle induit une dépolymérisation de l'actine ce qui permet la mobilité cellulaire qui induit une possibilité de contamination d'autres cellules. *Listeria* produit un facteur de virulence LntA (*Listeria nuclear targeted protein A*) qui cible une protéine BAHD1 de la chromatine dans le noyau des cellules hôtes. C'est une protéine qui n'est présente que chez les vertébrés. La surexpression de BAHD1 induit la formation d'hétérochromatine. Comme nous l'avons déjà indiqué, la compaction de la chromatine régule l'activité des gènes, et cette compaction dépend aussi des modifications des histones et de la méthylation de l'ADN. Le complexe auquel appartient BAHD1 est une machinerie impliquée dans la méthylation et la désacétylation des histones. Il est colocalisé avec les marqueurs de l'hétérochromatine. *Listeria* agit sur ces complexes. Cela induit une répression de l'expression des gènes de la réponse aux interférons lors de l'infection des cellules épithéliales lorsque le facteur de virulence LntA n'est pas actif. Lorsque LntA est actif, il inhibe BAHD1 et active les gènes de la réponse aux interférons lors de l'infection des cellules épithéliales par *Listeria*. La bactérie module ainsi l'expression de gènes de l'immunité innée en agissant positivement, ou négativement, sur le régulateur épigénétique BAHD1. La réponse à l'interféron est donc OFF si LntA est OFF et ON si LntA est ON. Cela a été confirmé dans un modèle d'infection par *Listeria* chez la souris.

Les études in vitro de l'interaction entre LntA et BADH1 ont montré qu'il y a une interaction entre ces deux protéines au niveau de deux lysines situées en position 180 et 181 de LntA. Le rôle central de ces deux acides aminés a été confirmé en les mutant en acide aspartique. Le mutant LntA K180D-K181D perd la capacité d'activer la réponse à l'interféron pendant l'infection à *Listeria*. La protéine LntA est donc un facteur bactérien agissant directement dans le noyau de la cellule hôte comme inhibiteur de la machinerie épigénétique en induisant la modification de l'expression de gènes. Ce type de facteur porte le nom de nucléomoduline [20]. Les nucléomodulines peuvent agir soit directement soit au travers de cascades.

5.2 - L'attaque de la machinerie épigénétique par les « nucléomodulines »

Un premier exemple est celui d'*Anaplasma phagocytophilum*. C'est une bactérie pathogène transmise à l'homme et les animaux par les tiques. Elle est l'agent de l'anaplasmose. Elle envahit des cellules immunitaires comme les neutrophiles et en prend le contrôle. Dans cette cellule elle va se reproduire à l'intérieur des vacuoles. Elle secrète aussi une

nucléomoduline, **AnkA**, qui entre dans le noyau et recrute une enzyme, l'histone désacétylase HDAC1 au niveau de ses gènes cibles. Il en résulte une inhibition de la transcription de gènes de l'immunité (par exemple : gène codant pour l'enzyme bactéricide CYBB).

Un second exemple est celui de *Legionella* qui sécrète depuis sa vacuole le facteur Rom A qui est une nucléomoduline et induit une modification des méthylations au niveau de la chromatine

Un troisième exemple est celui de *Mycobacterium* qui sécrète plusieurs nucléomodulines (RV1988, RV2966 et RV3423) qui agissent directement sur la chromatine de la cellule infectée.

Enfin des virus ou des parasites peuvent produire des substances qui ont une activité de type nucléomoduline. Par exemple, *Toxoplasma* sécrète le facteur Tg1st qui entre dans le noyau et recrute alors le complexe NurD qui contient des désacétylases HDAC1/2 conduisant à une répression de la transcription de gènes de l'immunité : les gènes de réponse à l'interféron gamma

Ainsi, les nucléomodulines agissent sur la machinerie épigénétique et dérèglent des gènes de l'immunité innée conduisant à des effets épigénétiques cellulaires à long terme des pathogènes et à des changements des phénotypes cellulaires de longue durée. Cette découverte a conduit à une nouvelle entité : la patho-épigénétique.

5.3 - Un nouveau champ pour la recherche : la patho-épigénétique

Elle correspond aux « effets collatéraux » des infections bactériennes ou des dysbioses. *Helicobacter pylori*, par exemple, sécrète des facteurs déclenchant une réaction inflammatoire persistante en agissant sur la réparation de l'ADN. Cela induit des mutations qui mettent en place un contexte propice au cancer.

De nombreux virus induisent aussi des cancers par un mécanisme qui implique des altérations de la méthylation qui sont donc liés à l'épigénétique.

Les bactéries peuvent aussi modifier l'identité tissulaire. Par exemple l'infection de cellules de Schwann par *Mycobacterium leprae* conduit à une reprogrammation vers un état de type cellule souche. Ces cellules vont migrer et propager l'infection du tissu musculaire, des macrophages...

Les bactéries sont donc des générateurs potentiels d'épivariations. Des molécules bactériennes pourraient générer des empreintes persistantes sur la chromatine, et reprogrammer l'expression des gènes dans le long terme, sans agir sur la séquence nucléotidique de gènes.

6 - Le cadre de l'épigénétique est maintenant bien cerné.

Depuis une trentaine d'année, et avec une forte accélération récemment, les mécanismes impliqués ont été progressivement découverts. Nous sommes cependant au début de cette histoire et d'autres mécanismes, qui restent à découvrir, nous permettront de mieux comprendre comment l'homme s'adapte à son environnement ou le subit parfois au cours du vieillissement.

Références

[1] Waddington C.H. The Epigenotype. Endeavour 1942;1: 18-20

- [2] Waddington C.H. The Strategy of the Genes. a Discussion of Some Aspects of Theoretical Biology. London : Allen & Unwin ; 1957.
- [3] Holliday R. The inheritance of epigenetic defects. Science 1987;238: 163-170
- [4] Holliday R and Pugh JE. DNA modification mechanisms and gene activity during development. Science 1975;187: 226-232.
- [5] Riggs AD. X inactivation, differentiation, and DNA methylation. Cytogenetics and cell genetics 1975;14: 9-25.
- [6] Oliva M, Muñoz-Aguirre M, Kim-Hellmuth S, Wucher V, Gewirtz AD, Daniel J, Cotter DJ et al. Science. 2020 ; 369 : 1331-32
- [7] Lugagne JB, Sosa Carrillo S, Kirch M, Köhler A, G, et Hersen P. Balancing a genetic toggle switch by real-time feedback control and periodic forcing. Nat Commun 2017; 8:1671.
- [8] Poulsen P, Esteller M, Vaag A, et Fraga MF The Epigenetic Basis of Twin Discordance in Age-Related Diseases. Pediatric Research 2007; 61:38–42
- [9] Heyna H, Li N, Ferreira HJ, Morana S, Pisanoe DG, Gomeza A, et al. Distinct DNA methylomes of newborns and centenarians Proc Natl Acad of Sci USA 2012; 109: 10522–10527
- [6 10] Cristóbal-Narváez P, Sheinbaum T, Rosa A, de Castro-Catala M, Domínguez-Martínez T, Kwapił TR et al. Interaction of both positive and negative daily-life experiences with *FKBP5* haplotype on psychosis risk. European Psychiatry, 2020;63 : 1–8
- [11] Barker D.J., Winter P.D., Osmond C., Margetts B., Simmonds S.J. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. Lancet 1989;2(8663): 577-80.
- [12] NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults The Lancet 2016; 390: 2627-2642
- [13] Jeffries AR, Perfect LW, Ledderose J, Schalkwyk LC, Bray NJ, Mill J, et al., Stochastic choice of allelic expression in human neural stem cells. Stem cells 2012; 30:1938-47
- [14] Nutt SL et Busslinger M Monoallelic Expression of Pax5: A Paradigm for the Haploinsufficiency of Mammalian PaxGenes? Biol. Chem 1999; 380:601 – 611
- [15] Knopik VS, Marceau K, Bidwell LC, Rolan E. Prenatal substance exposure and offspring development: Does DNA methylation play a role? Neurotoxicol Teratol. 2019;71:50-63.
- [16] Chittaranjan S. Koumudi G, Suhas R. and Himangi G. Fetal Programming of Type 2 Diabetes Is sex important? Diabetes Care 2007;30: 2754-2755.

- 484 [17] Guéant JL , Namour F, Guéant-Rodriguez RM, Daval JL. Folate and fetal programming: a
485 play in epigenomics? Trends Endocrinol Metab 2013;24:279-89.
486
- 487 [18] Hitchins MP, Ward RL. Erasure of MLH1 methylation in spermatozoa - implications for
488 epigenetic inheritance. Nat Genet 2007;39 : 1289.
489
- 490 [19] Guéant, JL., Chéry, C., Oussalah, A. Nadaf J., Coelho D., Josse T. *et al.* A PRDX1 mutant
491 allele causes a MMACHC secondary epimutation in cblC patients. Nat Commun 2018;9: 67
492
- 493 [20] Bierne H. et Cossart P. When bacteria target the nucleus: the emerging family of
494 nucleomodulins. Cell Microbiol. 2012;14: 622-633.