

Méthylation et maladies humaines : le cas du syndrome ICF

Le syndrome ICF (immunodéficience, instabilité centromérique et anomalies faciales) a été présenté pour la première fois en 1978, au symposium de la Société Européenne de Génétique Humaine. Il avait été identifié à partir de deux cas indépendants. Plus de vingt ans auront finalement été nécessaires pour élucider l'énigme posée par ce syndrome si particulier, caractérisé par l'association d'une immunodéficience à des images caryotypiques exceptionnelles impliquant principalement les chromosomes 1, 9 et 16. L'isolement du gène responsable de cette maladie héréditaire très rare a de plus fourni des éléments fondamentaux pour la compréhension d'un phénomène complexe, celui de la méthylation de l'ADN.

Hypométhylation et instabilité chromosomique

Le syndrome ICF est une maladie génétique de très faible prévalence (environ 40 cas décrits) et de transmission récessive autosomique. L'immunodéficience se caractérise par une réduction variable du taux sérique d'immunoglobulines et conduit, pendant l'enfance, à des infections récurrentes dont la gravité est variable, de modérée à létale. Les régions hétérochromatiques des chromosomes de patients atteints d'ICF sont d'autre part le siège d'importants réarrangements, comme des décondensations, des points de cassure provoquant des duplications et des délétions de bras chromosomiques, ainsi que des configurations multiradiales (figures 1A-1B). Ces anomalies, évoquant celles qui sont induites par l'agent déméthylant 5-azacytidine, ont initialement orienté les recherches

moléculaires vers une étude de la méthylation de l'ADN. Les séquences répétées d'ADN satellite classique, de localisation juxtacentromérique, sont effectivement hypométhylées (figures 1C-1D), définissant le syndrome ICF comme la première maladie héréditaire résultant d'un défaut constitutif de méthylation de l'ADN [1]. D'autres séquences sont également touchées, mais de façon variable, telles que les séquences Alu, les séquences alphoïdes et certains gènes soumis à empreinte [2]. Enfin, le chromosome X inactif des patientes atteintes d'ICF apparaît globalement hypométhylé sans que cette hypométhylation induise pour autant une réactivation de ce chromosome [3] (*m/s* 1996, n° 12, p. 1459).

Méthylation et développement

La méthylation de l'ADN est une des nombreuses modifications épigénétiques, qui modulent l'activité du génome sans en affecter la séquence nucléotidique. Elle a été impliquée dans des phénomènes aussi fondamentaux que le contrôle de l'expression génique et le maintien de l'intégrité du génome (*m/s* 1994, n° 10, p. 351). Elle apparaît indispensable au développement, puisque l'absence du gène *DNMT1* est létale, et semble également importante d'un point de vue somatique puisque des désordres de la méthylation sont associés à certains cancers [4] (*m/s* 1995, n° 11, p. 1346 et 1998, n° 14, p. 114). La mise en place des profils de méthylation au cours du développement suit une logique spécifique et ordonnée [5]. Juste après la fécondation, le zygote est tout d'abord soumis à une vague de déméthylation qui efface en par-

tie les profils de méthylation parentaux. Au moment de l'implantation, l'embryon procède alors à l'établissement de sa propre carte de méthylation, par un mouvement de méthylation *de novo*. Ces profils sont ensuite transmis au cours des générations cellulaires par une activité de méthylation dite de maintenance. La signification biologique de cette reprogrammation dynamique ainsi que les mécanismes responsables des transitions de méthylation sont encore mal cernés. La caractérisation de l'origine du défaut de méthylation des patients atteints d'ICF est ainsi devenue un enjeu primordial pour la compréhension de l'importance et du rôle de la méthylation du génome.

Le rôle essentiel des méthyltransférases

La localisation du gène *DNMT3B* dans la région critique du syndrome ICF, située sur le chromosome 20 en 20 q11-q13 [6] a donné un nouvel élan à la recherche du gène responsable de ce syndrome. *DNMT3B* appartient à la famille des ADN-méthyltransférases catalysant les réactions de transfert de résidus méthyles sur l'ADN. En collaboration avec les membres du Consortium Européen ICF et le laboratoire de T.H. Bestor aux États-Unis, notre équipe a validé l'implication de cette méthyltransférase par la recherche directe de mutations chez les patients atteints d'ICF. Ceux-ci sont effectivement porteurs de mutations affectant des positions de *DNMT3B* strictement invariantes chez différentes espèces et appartenant à des motifs impliqués dans les réactions de transméthylation, communs à

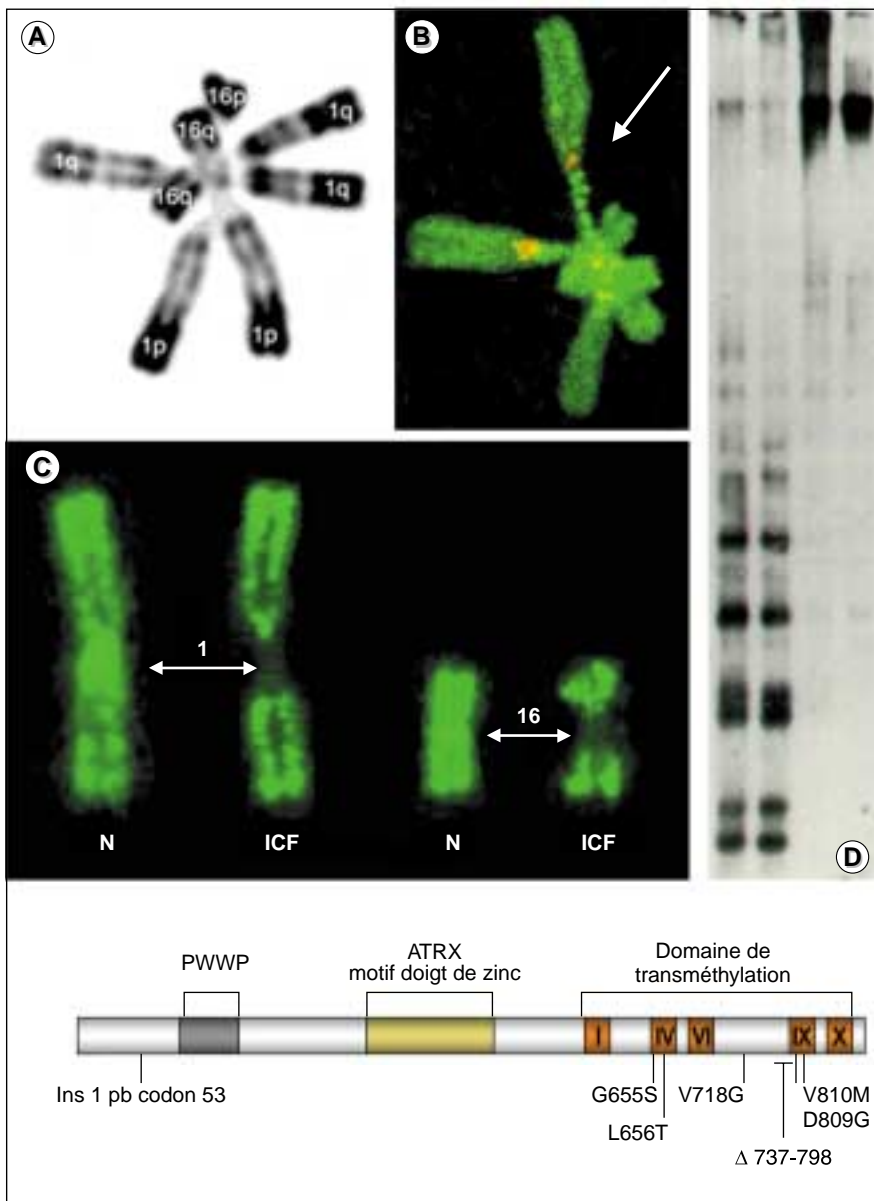


Figure 1. **Analyse génétique des patients atteints du syndrome ICF. A, B, C et D.** Anomalies cytogénétiques et de méthylation typiques des patients ICF. **A.** Figure chromosomique multiradiale montrant les duplications du bras long des chromosomes 1 et 16. Marquage chromosomique en bandes R. **B.** Hybridation in situ double-couleur des deux composants majeurs de l'hétérochromatine humaine sur le chromosome 1: étirement spécifique du satellite classique 2 (vert) en position juxtacentromérique et condensation normale du satellite alpha centromérique (rouge). **C.** Hypométhylation caractéristique du satellite classique 2 des chromosomes 1 et 16 mise en évidence par un anticorps anti-méthylcytosine. **D.** Southern blot après digestion par des enzymes de restriction sensibles à la méthylation et hybridation de la sonde spécifique du satellite classique 2: profil hypométhylé des patients atteints d'ICF (deux lignes de gauche) comparé aux individus témoins (droite). **E.** Organisation fonctionnelle de DNMT3B et cartographie des mutations ICF. Les positions des acides aminés modifiés sont indiquées et concernent préférentiellement la région catalytique de la protéine (domaines de transméthylation).

toutes les ADN-méthyltransférases [7] (figure 1E). Le syndrome ICF constitue aujourd'hui la preuve qu'un défaut de méthylation peut être dû à une mutation dans une méthyltransférase et non pas être le reflet d'un état physiologique globalement altéré.

Depuis que leur activité de méthylation *de novo* a été démontrée *in vitro*, Dnmt3B et son homologue Dnmt3A sont apparues comme potentiellement responsables de l'établissement initial des profils de méthylation au cours de l'embryogenèse. Cette méthylation *de novo* a des conséquences importantes sur le développement comme l'illustre l'expérience récente de méthylation induite chez la drosophile. Ses caractéristiques fonctionnelles ont pu être confirmées *in vivo* chez des souris mutantes (par délétion de plusieurs domaines fonctionnels de Dnmt3a et 3b) qui présentent une létalité embryonnaire précoce associée à une hypométhylation préférentielle des séquences répétées [8]. Enfin, le contexte pathologique ICF, caractérisé par une hypométhylation systématique et une décondensation de l'ADN satellite classique, montre que Dnmt3B contrôle spécifiquement la méthylation et la stabilisation de ce composant majeur de l'hétérochromatine humaine. La relation entre le défaut de méthylation de l'hétérochromatine et les autres signes de la maladie tels que l'immunodéficience et les anomalies faciales n'est pas évidente *a priori*, mais pourrait révéler le rôle de l'hétérochromatine sur la répression génique chez les mammifères. L'élucidation moléculaire du syndrome ICF confirme aujourd'hui l'émergence des maladies à composante épigénétique, dans lesquelles des systèmes de régulation de base sont défaillants, telles que le syndrome de Rett (*m/s* 1999, n° 11, p. 1334) avec l'implication du gène *MECP2* [9], qui code pour une protéine impliquée dans l'effet répressif de la méthylation, ou encore le syndrome ATRX (*X-linked α -thalassemia/mental retardation*) dans lequel est en cause une protéine impliquée, elle, dans le remodelage de la chromatine [10].

1. Jeanpierre M, Turleau C, Aurias A, *et al.* An embryonic-like methylation pattern of classical satellite DNA is observed in ICF syndrome. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 731-5.
2. Miniou P, Jeanpierre M, Bourc'his D, *et al.* Alpha-satellite DNA methylation in normal individuals and in ICF patients: heterogeneous methylation of constitutive heterochromatin in adult and fetal samples. *Hum Genet* 1997; 99: 738-45.
3. Bourc'his D, Miniou P, Jeanpierre M, *et al.* Abnormal methylation does not prevent X inactivation in ICF patients. *Cytogenet Cell Genet* 1999; 84: 245-52.
4. Jones PA, Laird PW. Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet* 1999; 21: 163-7.
5. Jaenisch, R. DNA methylation and imprinting: why bother? *Trends Genet* 1997; 13: 323-9.
6. Wijmenga C, van den Heuvel LP, Strengman E, *et al.* Localization of the ICF syndrome to chromosome 20 by homozygosity mapping. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 803-9.

7. Xu G-L, Bestor TH, Bourc'his D, *et al.* Chromosome instability and immunodeficiency syndrome caused by mutations in a DNA methyltransferase gene. *Nature* 1999; 402: 187-91.
8. Okano M, Bell DW, Haber DA, Li E. DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. *Cell* 1999; 99: 247-57.
9. Amir RE, Van den Veyver IB, Wan M, *et al.* Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG binding protein 2. *Nat Genet* 1999; 23: 185-8.
10. Gibbons RJ, Picketts DJ, Villard L, Higgs DR. Mutations in a putative global transcriptional

Note ajoutée aux épreuves

De nouvelles mutations du gène *DNMT3B* viennent d'être identifiées chez des patients atteints d'ICF (Scott Hansen R, Wijmenga C, Luo P *et al.* The *DNMT3B* DNA methyltransferase gene is mutated in the ICF immunodeficiency syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 25: 14412-7).

regulator cause X-linked mental retardation with alpha-thalassemia (ATR-X syndrome). *Cell* 1995; 80: 837-45.

Déborah Bourc'his

Inserm U. 383, Hôpital Necker, 149, rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, France.

Marc Jeanpierre

Inserm U. 129, CHU Cochin, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

Evani Viegas-Péquignot

Inserm U. 383, Hôpital Necker, 149, rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, France.