

## Un point sur les « empreintes génomiques »

Les empreintes parentales ou génomiques, dites encore « sceau parental », représentent un des phénomènes les plus étranges de la biologie, l'un de ceux dont l'importance est la plus difficile à cerner. Elles interviennent en physiologie comme en pathologie, cette dernière, comme bien souvent, étant susceptible d'éclairer la première. *médecine/sciences* a déjà consacré des revues partielles [1-4] et plusieurs nouvelles à certains aspects du problème, mais il est peut-être temps d'en obtenir une vue d'ensemble, sans répéter en détail ce qui a été dit antérieurement.

L'origine du concept d'empreinte parentale provient de la constatation que, chez les mammifères (contrairement à de nombreuses autres espèces qui sont capables de se reproduire par parthénogenèse), l'union d'un gamète mâle et d'un gamète femelle s'est toujours montrée nécessaire pour obtenir un individu viable. Androgenèse et gynogenèse n'aboutissent pas ; on en conclut que les génomes paternel et maternel, malgré leur constitution génique identique, ne fonctionnent pas de façon équivalente mais complémentaire. On attribue ce phénomène à des modifications épigénétiques différentielles (empreintes) qui se produisent dans la lignée germinale, et qui réduisent au silence certains allèles dans l'un des deux sexes. Le descendant est devenu fonctionnellement hémizygote, lorsque seul l'allèle paternel ou maternel est exprimé. L'inactivation pathologique de cet allèle actif unique aboutit à la suppression du produit.

Deux types de démonstration ont conduit à cette notion de spécificité parentale. La première partait d'expériences de transplantation avec échange de pronucleus dans des œufs fécondés : une souris ne se

développe normalement que si l'œuf contient les deux génomes des parents ; une double dose du seul génome paternel, ou maternel, ne permet pas le développement normal. Le deuxième type de démonstration est dû à Cattanach *et al.* [5] ; ils ont travaillé sur des souris porteuses de chromosomes transloqués, qu'ils ont croisées de façon à produire des embryons porteurs de disomies uniparentales\* des régions transloquées. Quand les souris étaient anormales ou non viables, on en concluait que la région était soumise à impression. Cette méthode ne permettait pas d'identifier des gènes individuels, mais on peut noter qu'encore maintenant tous les gènes identifiés comme soumis à empreinte sont inclus dans ces régions.

### Les empreintes génomiques dans le génome normal

Les modifications épigénétiques qui sont à la base des empreintes génomiques sont conférées aux lignées germinales à une période où celles-ci sont séparées. Quand un allèle imprimé, et donc complètement ou partiellement inactif, passe dans une lignée germinale nouvelle, l'empreinte doit être effacée et remplacée par celle du sexe de la lignée nouvelle. L'effaçage, cependant, contrairement à l'empreinte elle-même, peut également avoir lieu dans les tissus somatiques. Un « relâchement » de l'empreinte peut, de fait, apparaître dans certains tissus normaux ou pathologiques.

Les quatre premiers gènes endogènes imprimés, sur lesquels nous insisterons peu car ils ont fait l'objet de discussions récentes dans *médecine/sciences*, ont pu être identifiés chez la souris à partir des expériences initiales. C'est une recherche

visant à cibler le gène causal de la létalité périnatale associée à une délétion maternelle, mais non paternelle, du locus *Tme* (*T-associated maternal effect*), qui aboutit à la découverte que l'*Igf2R\** est exprimé uniquement par l'allèle maternel [6]. L'inverse fut trouvé pour le facteur *Igf2* lui-même. Le troisième gène, *H19*, est très proche de celui de *Igf2* et imprimé en sens contraire (*m/s* n° 2, vol. 10, p. 216). Enfin, un gène appelé *Snrpn* (*small ribonucleoprotein polypeptide N*) siège sur le chromosome 7 de la souris, un homologue du chromosome 15 humain, dont ne s'exprime que l'allèle maternel (*m/s* n° 2, vol. 9, p. 232). On connaît d'ailleurs l'analogie de comportement entre gènes homologues d'homme et de souris (Tableau 1) ; la relation cependant n'est pas absolue : un des quatre gènes mentionnés ci-dessus, *IGF2R*, ne paraît pas imprimé chez l'homme [7]. Il semble cependant y avoir des exceptions dans ce dernier cas [8] et nous allons voir qu'une variabilité dans l'expression uni- ou biallélique peut exister, même normalement.

Récemment, de nouveaux gènes ont été ajoutés à la liste, qu'on peut trouver, dans son état actuel, dans le Tableau 1, emprunté à une revue de MS Bartolomei [9]. Un de ces gènes a été baptisé *U2afbp-rs* (ou *SP2*) parce que la séquence du polypeptide codé ressemble à une sous-unité du facteur d'épissage *U2af* [10]. Il est localisé dans une zone imprimée du chromosome 11 de la souris et est d'expression paternelle. Un autre gène, *WT1*, caractérisé chez l'homme, est imprimé dans le placenta et le cerveau, d'expression maternelle, mais non dans le rein [11]. Cet exemple montre que, même dans les tissus normaux, l'empreinte parentale n'est pas un phénomène de tout ou rien. Cette notion a été étendue par Jinno *et al.*

[12] qui ont vu que l'expression de *WT1* pouvait être biallélique dans certains placentas, et qu'il peut donc exister des polymorphismes.

Le travail le plus passionnant est celui qui a été consacré à l'insuline [13]. Le gène de l'insuline (*INS2*) est très proche des gènes *IGF2* et *H19*, tant chez l'homme que chez la souris. Il n'avait pas fait l'objet de travaux, car on considérait comme improbable l'impression d'un gène d'une telle importance. Les auteurs ont trouvé que l'expression, chez la souris, était biparentale dans le pancréas, mais uniquement paternelle dans le sac vitellin. Le phénomène est également observé pour un deuxième gène de l'insuline, *INS1*, qui semble un rétroposon dupliqué sur un autre chromosome, mais qui paraît avoir gardé les signaux d'empreinte.

Ce travail a déclenché une re-

cherche chez l'homme. On sait, en effet, qu'une susceptibilité au diabète dépendant de l'insuline est associée à la transmission paternelle d'une région de 4,1 kb qui englobe le gène de l'insuline. Haig [14] rappelle en outre l'existence d'une condition rare, le diabète transitoire néonatal : les nouveau-nés ne produisent pas d'insuline détectable, mais leur diabète disparaît après quelques mois, avec apparition d'insuline. Il se pourrait que l'insuline soit imprimée chez le fœtus, une mutation du seul allèle actif provoquant un diabète jusqu'à la relaxation de l'autre allèle. A l'appui de cette hypothèse, on cite une famille dans laquelle un homme a eu trois enfants atteints de ce type de diabète, nés de trois femmes différentes.

Il est probable qu'il reste à découvrir nombre d'autres gènes imprimés.

Deux arguments militent en ce sens : d'une part, une carte récente [15] évalue à une quinzaine le nombre de régions du génome soumises à impression, chacune susceptible de porter plusieurs gènes. D'autre part, une étude de la méthylation différentielle d'îlots CpG suggérerait l'existence d'une centaine de candidats [10]. Il est naturellement nécessaire de tempérer une telle assertion ; on ne saurait affirmer que toute région de méthylation différentielle est adjacente à un gène imprimé.

Nous n'insisterons pas longuement sur les mécanismes qui président à l'inactivation préférentielle d'un allèle. Le seul candidat actuel est la méthylation de l'ADN ([15] et *m/s* n° 2, vol. 10, p. 216). Les gènes « imprimants » pourraient coder pour des « méthylases imprimantes » spécifiques d'une lignée germinale ; à côté de la méthyltransférase classique, dont le rôle est prouvé par les expériences d'inactivation de son gène (*m/s* n° 3, vol. 10, p. 351), une nouvelle méthyltransférase de l'ADN aurait été détectée chez des embryons de souris à 8 jours, qui disparaîtrait ensuite. Si la méthylation joue certainement un rôle, il ne s'agit pas d'une simple répression de tout gène méthylé : il a fallu notamment expliquer pourquoi, chez les souris déficientes en méthyltransférase, le gène *H19* est exprimé par les deux allèles, alors que *Igf2* est éteint.

### Empreintes génomiques et pathologie

En pathologie, la mise en jeu des empreintes génomiques peut avoir deux sortes d'effets très différents. (1) Lorsque l'allèle qui est normalement seul exprimé est défaillant, aucun produit du gène n'apparaîtra. Cela peut se produire par délétion de la région impliquée, par une mutation qui l'altérerait ou par disomie uniparentale, lorsque les deux chromosomes viennent du parent qui n'exprime pas le gène. Un exemple sera fourni par le syndrome de Prader-Willi. Cet effet de la disomie uniparentale est à distinguer des maladies récessives qui peuvent se révéler dans une isodisomie\*, et

Tableau I

#### GÈNES SOUMIS A EMPREINTE CHEZ LA SOURIS ET CHEZ L'HOMME

Gène de souris	Allèle exprimé	Remarques
<i>igf2</i>	Paternel	L'homologue humain est exprimé dans tous les tissus, à l'exception du foie adulte. Les gènes murins perdent leur empreinte dans les plexus choroïdes et les leptoméniges au milieu de la gestation.
<i>igf2r</i>	Maternel	L'homologue humain n'est pas soumis à empreinte.
<i>H19</i>	Maternel	L'homologue humain est soumis à empreinte.
<i>Snrpn</i>	Paternel	L'homologue humain est soumis à empreinte.
<i>ins1 et 2</i>	Paternel	Soumis à empreinte dans le sac vitellin mais pas dans le pancréas.
<i>U2afbp-rs</i>	Paternel	Caractérisé indépendamment et désigné <i>SP2</i> .
<i>WT1</i>	-	Les deux allèles du gène humain sont exprimés dans le rein mais sont souvent soumis à empreinte (expression de l'allèle maternel) dans le placenta et le cerveau.

D'après [9].

apparaissent paradoxalement dans une famille dont un seul parent est hétérozygote pour cette affection. A l'opposé de cette situation, on peut concevoir une disomie uniparentale dans laquelle les deux allèles proviennent du parent qui exprime, ce qui peut avoir ou non des conséquences nocives, par surproduction

du produit du gène. (2) Le deuxième type d'anomalies consiste en un relâchement de l'empreinte, de sorte que les deux allèles se mettent à s'exprimer. Cette situation, qui *a priori* pourrait paraître anodine, semble au contraire caractéristique d'événements graves, témoins et peut-être causes de néoplasies. Nous

en verrons un exemple dans la tumeur de Wilms.

On connaît un certain nombre de maladies à hérédité dominante qui sont plus graves quand elles sont transmises, soit par le père, soit par la mère [3]. Dans d'autres cas, un syndrome pathologique est observé lorsque les deux allèles d'un même

Tableau II  
**LOCI DES MALADIES HUMAINES ET RÉGIONS CHROMOSOMIQUES IMPLIQUÉES  
 DANS L'EMPREINTE GÉNOMIQUE (D'après [16])**

Chromosome humain	Maladie, malformation	Locus	Origine	Souris Région homologue
4p16.3	Huntington (forme sévère à début précoce)	HD	P	5B-F
6p21.3-21.2	Ataxie spinocérébelleuse	SCA1	P	17
7	Retard de croissance pré- et postnatal	-	Isodisomie M	2, 5, 6, 11, 13
9q34-qter 22cen-q11	Leucémie myéloïde chronique	-	P M	2,4 10
11p15.5	Rhabdomyosarcome embryonnaire	RMS	Isodisomie P	7B5-E3
11p15.5	Beckwith-Wiedemann	BWS	Duplication P	7B5-E3
11p13	Tumeur de Wilms	WT1	Délétion M	2E4-F3
11q23-qter	Paragangliome	PGL	P	9A4-B
13q14.1-q14.2	Rétinoblastome 1	RB1	P	14D2-E1
14	Dysmorphisme, retard mental		Disomie P	12.14
14	Petite taille		Disomie M	12.14
15q11-q13	Angelman	ANCR	Délétion M Disomie P	7B5-D3
15q11-q13	Prader-Willi	PWCR	Délétion P Disomie M	7B5-D3
16	Retard de croissance intra-utérin, avortement		Isodisomie M	7, 8, 11, 16, 17
17q11.2	Neurofibromatose 1 (forme sévère)	NF1	M	11B5-E1
19q13.3	Myotonie dystrophique (forme sévère)	DM	M	7cen-A3
20q13.11	Ostéodystrophie d'Albright	AHO	M	2H
22q11.21-q13.1	Neurofibromatose 2 (forme sévère)	NF2	M	10, 11, 15, 16

M, P : origine maternelle ou paternelle de l'anomalie exprimée.

gène sont hérités d'un même parent. Une revue [16] énumère une vingtaine de *loci*, homologues chez l'homme et la souris, pour lesquels une empreinte parentale peut être soupçonnée, incluant seulement les *loci* pathologiques (Tableau II).

L'exemple de loin le mieux étudié est le diptyque que constituent deux affections, le syndrome de Prader-Willi et le syndrome d'Angelman ([17] et *m/s* n° 7, vol. 8, p. 741). Nous rappellerons seulement que ces syndromes résultent d'anomalies de la région 15q11-q13 ; cette région est soumise à empreinte parentale, et est homologue d'une région du chromosome 7 de la souris qui porte le gène *Snrpn*, dont seul l'allèle paternel est exprimé chez l'embryon et le jeune souriceau. Comme il est habituel dans les régions imprimées, la réplication des deux allèles en 15q11-q13 est asynchrone, l'allèle paternel se répliquant le premier. En l'absence de contribution paternelle, quelle qu'en soit la cause moléculaire, on observe un syndrome de Prader-Willi, tandis que l'absence de contribution maternelle provoque un syndrome d'Angelman. Il semble toutefois que la zone responsable des deux syndromes ne soit pas exactement la même. Une autre maladie mérite une mention, l'ostéodystrophie héréditaire d'Albright ([18] et *m/s* n° 4, vol. 9, p. 472). Dans cette affection, apparemment deux fois plus fréquente chez la femme que chez l'homme, on observe deux types cliniques : l'un complet, incluant une résistance à la parathormone, l'autre incomplet, sans résistance. Ces deux formes peuvent coexister dans la même famille. L'examen de la transmission conduit à penser que l'expression complète est associée à la transmission de l'allèle maternel, la forme incomplète à une transmission paternelle, indépendamment de l'atteinte du parent lui-même. Cet effet suggère un phénomène d'empreinte dans l'ostéodystrophie d'Albright ; une même interprétation a déjà été évoquée dans d'autres maladies dominantes dans lesquelles la gravité semble dépendre du sexe du parent transmetteur, dont la maladie de Huntington.

*m/s* n° 10, vol. 10, octobre 94

### Empreintes génomiques et cancer

C'est probablement dans le domaine du cancer que les empreintes génomiques prendront toute leur importance. C. Junien l'a déjà signalé dans un article de *médecine/sciences* en 1989 [19]. Des travaux récents l'ont confirmé ; leurs conclusions sont résumées dans un article cosigné par 24 auteurs de 13 laboratoires [20]. Ces travaux portaient sur le syndrome de Beckwith-Wiedemann, qui comporte des anomalies multiples du développement, mais aussi des tumeurs, au premier chef la tumeur de Wilms (voir glossaire). Le locus du syndrome est en 11p15, proche de ceux de l'insuline et de IGF2, dont on note parfois une hyperproduction. Un certain nombre de cas (18 depuis 10 ans) présentent des duplications de 11p, d'origine paternelle dans les 11 cas informatifs. Mais le point essentiel est que dans les réarrangements équilibrés à l'intérieur de 11p (c'est-à-dire sans gain ni perte de matériel), qui sont tous d'origine maternelle, les points de cassure sont localisés constamment dans deux ensembles qui délimitent deux régions distinctes donnant naissance au syndrome. L'une, BWSCR1, est très proche de INS et de IGF2 ; l'autre, BWSCR2, est plus proximale, et associée à l'apparition de tumeurs chez l'enfant. L'explication que donnent les auteurs est que les deux *loci* situés en 11p15 porteraient des empreintes en sens opposés. Le locus distal contient le gène IGF2, qui possède des propriétés mitotiques et est d'expression paternelle ; le locus proximal porterait un ou plusieurs gènes suppresseurs de IGF2, d'expression maternelle. Ce modèle met en évidence l'importance de la voie de l'IGF2, dont le dysfonctionnement pourrait être responsable de tumeurs de Wilms et aussi de rhabdomyosarcomes. Il se pourrait même que l'empreinte de IGF2 ait une importance qui déborde le champ de la maladie de Beckwith-Wiedemann. Un groupe japonais [21] a examiné le comportement de IGF2 dans les prélèvements de 77 cancers du poumon. Sur 30 échantillons montrant un polymorphisme avec l'enzyme

Apal, 14 ont montré une relaxation de l'empreinte. L'expression biallélique de IGF2 a été observée même dans les stades initiaux de certains cancers. Il s'agit là d'une voie de recherche sûrement féconde, et qui n'a pas encore révélé toutes ses possibilités.

### Conclusion

La notion d'empreinte génomique est encore en évolution, et ses limites restent à définir. Les gènes imprimés sont minoritaires ; le mode de régulation qu'ils imposent est toujours mystérieux. Parmi les multiples questions qui se posent, certaines réponses pourront être apportées par des transgènes, un aspect que nous n'avons pas abordé. Il est probable toutefois qu'il faudra encore analyser un certain nombre de gènes imprimés, non reconnus à ce jour, pour proposer un modèle qui ait des chances d'être définitif ■

### \* GLOSSAIRE \*

**Disomie uniparentale :** deux chromosomes homologues viennent d'un seul parent. Il s'agit d'une isodisomie quand est présent un même chromosome dupliqué ; le sujet est alors homozygote pour tous les gènes de ce chromosome. Il s'agit d'une hétérodisomie quand les deux chromosomes d'un même parent sont présents.

**Igf2R :** récepteur de l'Igf2 (insulin-like growth factor 2).

**Tumeur de Wilms :** néphroblastome souvent en relation avec une anomalie du bras court du chromosome 11.

### RÉFÉRENCES

1. Babinet C, Barra J, Renard JP. Le marquage et l'expression différentiels des génomes paternel et maternel. *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 8-15.
2. Paladi A, Jami J. L'empreinte génomique : complémentarité fonctionnelle des deux génomes parentaux. *médecine/sciences* 1991 ; 7 : 247-54.

## RÉFÉRENCES

3. Dreyfus JC. Quand deux chromosomes homologues viennent d'un seul parent... Les disomies uniparentales en pathologie. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 57-60.
4. Babinet C. L'empreinte génomique parentale. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 65-70.
5. Cattanach CM, Beechey CV. Chromosome imprinting phenomena in mice and indications in man. *Chromosomes Today* 1989 ; 10 : 135-48.
6. Barlow DP, Stöger R, Hermann BG, Saito K, Schweifer N. The mouse insulin-like growth factor type 2 receptor is imprinted and closely linked to the Tme locus. *Nature* 1991 ; 349 : 84-7.
7. Kalscheuer VM, Mariman EC, Schepens MT, Rehder H, Ropers HH. The insulin-like growth factor type-2 receptor gene is imprinted in the mouse but not in human. *Nature Genet* 1993 ; 5 : 74-8.
8. Xu Y, Goodyer CG, Deal C, Polychronakos C. Functional polymorphism in the parental imprinting in the human *IGF2R*. *Biochem Biophys Res Commun* 1993 ; 197 : 747-54.
9. Bartolomei MS. The search for imprinted genes. *Nature Genet* 1994 ; 6 : 220-1.
10. Hayashizaki Y, Shibata H, Hirotsune S, et al. Identification of an imprinted U2af binding protein related sequence on mouse chromosome 11 using the RLGS method. *Nature Genet* 1994 ; 6 : 33-40.
11. Zhang Y, Tycko B. Monoallelic expression of the human *H19* gene. *Nature Genet* 1992 ; 1 : 40-4.
12. Jinno Y, Yun K, Nishikawa K, Kuboto T, Ogawa O, Reeve AE, Niikawa N. Mosaic and polymorphic imprinting of the *WT1* gene in humans. *Nature Genet* 1994 ; 6 : 305-9.
13. Giddings SJ, King CD, Harman KW, Flood JF, Carnaghi LR. Allele specific inactivation of insulin 1 and 2, in the mouse yolk sac, indicates imprinting. *Nature Genet* 1994 ; 6 : 310-3.
14. Haig D. Is human insulin imprinted ? *Nature Genet* 1994 ; 7 : 10.
15. Efstratiadis A. Parental imprinting of autosomal mammalian genes. *Curr Op Genet Dev* 1994 ; 4 : 265-80.
16. Searle AG, Edwards JH, Hall JG. Mouse homologues of human hereditary disease. *J Med Genet* 1994 ; 31 : 1-19.
17. Knoll JHM, Cheng SD, Lalande M. Allele specificity of DNA replication timing in the Angelman/Prader-Willi syndrome imprinted chromosomal region. *Nature Genet* 1994 ; 6 : 41-6.
18. Davies SJ, Hughes HE. Imprinting in Albright's hereditary osteodystrophy. *J Med Genet* 1993 ; 30 : 101-3.
19. Junien C, Henry I. Bras court du chromosome 11 : empreinte parentale différentielle, tumorigénèse et pertes d'allèles. *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 480-8.
20. Mannens M, Hoovers JMN, Redeker E, et al. Parental imprinting of human chromosome region 11p15.3p-ter involved in the Beckwith-Wiedemann syndrome and various human neoplasia. *Eur J Hum Genet* 1994 ; 2 : 3-23.
21. Suzuki H, Ueda R, Takahashi T. Altered imprinting in lung cancer. *Nature Genet* 1994 ; 6 : 332-3.

### Jean-Claude Dreyfus

Professeur honoraire au CHU Cochin-Port-Royal, Institut Cochin de Génétique Moléculaire, Inserm U. 129, CHU Cochin, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

### TIRÉS A PART

J.-C. Dreyfus.