

Inactivation de l'X : un gène actif spécifique de l'X inactif ?

Dès 1961, une généticienne anglaise, Mary F. Lyon, émettait l'hypothèse d'un mécanisme compensateur permettant d'aboutir à un dosage génique équivalent chez l'homme (46, XY) et chez la femme (46, XX) [1]. Cette inactivation (ou lyonisation) d'un des deux X est directement visualisée par le corpuscule de Barr dans les cellules épithéliales en interphase (ou *drumstick* dans les polynucléaires). Le chromosome X est alors pycnotique, et sa répllication asynchrone est retardée par rapport à celle de l'X actif.

L'élément essentiel apporté par M. F. Lyon est la notion d'inactivation au hasard, c'est-à-dire touchant de façon aléatoire l'X paternel ou l'X maternel. Ainsi, toute femme est une mosaïque, chacune de ses cellules exprimant soit l'X paternel soit l'X maternel. Lorsqu'il existe plus de deux X dans une cellule, tous sont inactivés à l'exception d'un seul. On trouve donc un corpuscule de Barr dans les cellules d'un patient présentant un syndrome de Klinefelter (47, XXY), et deux dans le syndrome (47, XXX). Tout se passe donc comme si un signal empêchait un des X de répondre au processus d'inactivation qui affecte tous les autres. L'analyse de différents cas de translocations (X ; autosome) a permis à plusieurs équipes de cerner une région minimale nécessaire pour l'inactivation de l'X et a fait suggérer l'existence d'un centre inactivateur (XCI) localisé au niveau de la bande Xq13. En réalité, le processus d'inactivation comporte trois étapes successives : l'initiation, qui se ferait aux dépens du XCI, la propagation de ce processus qui peut s'étendre dans certains cas particuliers à des portions autosomiques transloquées

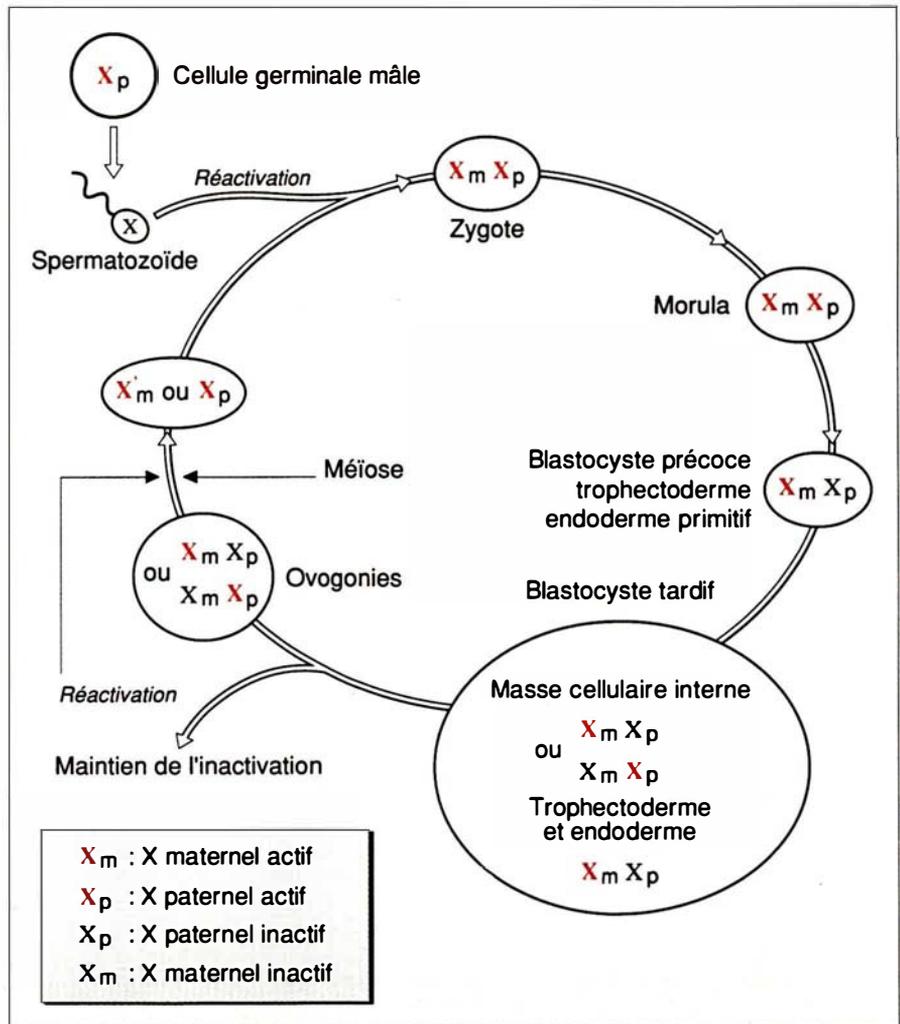


Figure 1. **Chronologie de l'inactivation-réactivation de l'X au cours du développement embryonnaire.** X_m : X maternel actif ; X_p : X paternel actif ; X_p : X paternel inactif ; X_m : X maternel inactif. Une cellule germinale femelle contenant un X actif est fécondée par un spermatozoïde dont le chromosome X a vraisemblablement été successivement inactivé puis réactivé, donnant naissance à un zygote femelle dont les deux X sont actifs. Au stade blastocyste précoce, les tissus extra-embryonnaires subissent une inactivation préférentielle de l'X paternel. Par la suite, les cellules de la masse cellulaire interne subissent une inactivation au hasard d'un de leurs X. Enfin, au cours de la gamétogenèse, l'X inactif sera réactivé lors de l'entrée des cellules en méiose donnant naissance à un ovocyte contenant 23 chromosomes seulement, dont un X actif.

sur l'X, et enfin son maintien, extrêmement stable, notamment après division cellulaire.

Différentes techniques permettent de reconnaître l'X inactif, la plus fréquemment utilisée étant l'incorporation de BrdU (bromodésoxyuridine). Certains auteurs ont également remarqué la présence d'une coudure des bras longs du chromosome X inactif dans la région de la bande Xq13, sans toutefois en connaître la signification.

Epstein, en 1978 [2], puis B. Migeon [3] ont tenté d'établir le cycle d'inactivation-réactivation de l'X au cours de l'embryogenèse (figure 1). Chez la souris, le chromosome X est inactivé entre trois et six jours de développement embryonnaire, après le stade 8 cellules. D'autres équipes ont par la suite montré l'inactivation préférentielle de l'X paternel dans le trophoctoderme et l'endoderme primitif, rejoignant ainsi la notion d'empreinte parentale ou *imprinting* [4]. Les cellules de la lignée germinale féminine subissent également un cycle d'inactivation-réactivation au cours de leur ontogénie, la réactivation ayant lieu au moment de l'entrée des cellules en méiose.

L'élucidation des mécanismes déterminant ce phénomène d'inactivation, qui est un processus actif, n'avait que peu progressé à ce jour. De nombreuses hypothèses ont été postulées parmi lesquelles celle qui fait jouer à la méthylation de l'ADN un rôle essentiel. En effet, certains gènes inactifs sur l'X peuvent être réactivés lorsque l'on déméthyle l'ADN.

L'établissement d'un principe voulant que rapidement lui soient trouvées des exceptions, la liste des gènes liés à l'X échappant systématiquement à l'inactivation s'est rapidement allongée. Parmi ceux-ci, on trouve notamment le gène ZFX (facteur de détermination sexuelle), le gène STS (stéroïde sulfatase) ou, plus récemment, RPS4 (codant pour une protéine ribosomale et présumé impliqué dans le syndrome de Turner (*m/s n° 3, vol. 7, p. 289*)). La plupart de ces gènes échappant à l'inactivation sont localisés à l'extrémité du bras court du

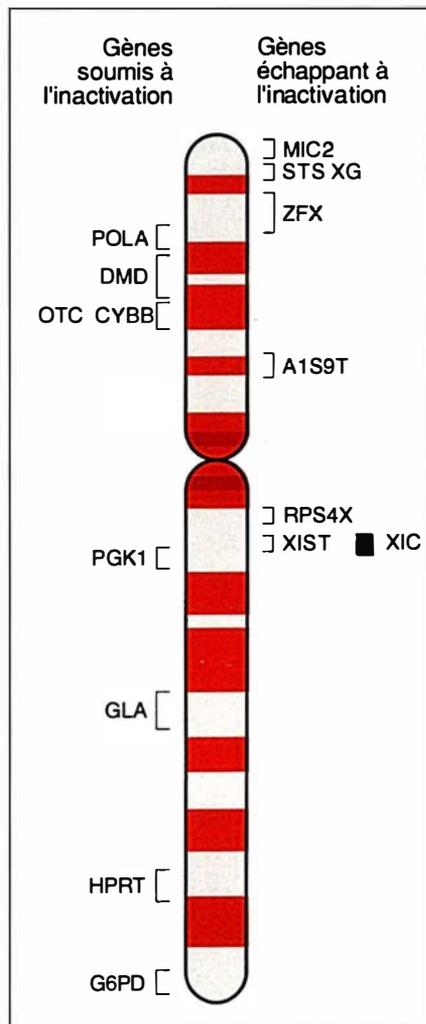


Figure 2. **Carte du chromosome X et gènes actifs ou inactifs.** POLA : polymérase DNA alpha, DMD : dystrophine, OTC : ornithine transcarbamylase, CYBB : cytochrome b, PGK1 : phosphate glycérate kinase, GLA : alpha galactosidase A, HPRT : hypoxanthine guanine phosphoribosyltransférase, G6PD : glucose-6-phosphate déshydrogénase. MIC2 : antigène reconnu par l'anticorps monoclonal 12E7, STS : stéroïde sulfatase, XG : groupe sanguin, ZFX : facteur de détermination sexuelle, RPS4X : gène codant pour une protéine ribosomale, XIC : centre inactivateur de l'X. XIST : transcrits spécifiques de l'X inactif.

chromosome X, dans une région dite pseudo-autosomique car elle trouve son correspondant sur le chromosome Y (figure 2). Cependant, l'observation de gènes restant actifs sur le bras long du chromosome X (RPS4) ou dans la partie médiane du bras court (A1S9T) interdit de penser que le processus d'inactivation s'épuise à l'extrémité télomérique du chromosome X. Il s'agit plutôt d'un contrôle *locus* après *locus* des gènes devant être inactivés.

Si l'inactivation est un processus touchant au hasard l'un des deux X, il semble que ce soit également fortuitement que l'équipe de Willard [5] ait isolé un gène dont le profil d'expression n'avait encore jamais été rencontré. En effet, c'est en criblant une banque d'ADNc de placenta humain avec des anticorps dirigés contre la stéroïde sulfatase, que les auteurs ont isolé un clone très particulier. On connaissait déjà les gènes inactivés sur l'X inactif et les gènes restant toujours actifs quel que soit l'X. C'est désormais un gène s'exprimant uniquement sur l'X inactif, et par conséquent silencieux sur l'X actif, qui vient d'être isolé. Brown et ses collaborateurs ont en effet testé l'expression de ce clone, en l'utilisant comme sonde dans des expériences d'hybridation moléculaire des ARN ou en l'amplifiant par PCR, sur des préparations provenant de lignées lymphoblastiques humaines masculines ou féminines et d'hybrides somatiques variés. Ces différentes approches concordent toutes et ne révèlent un signal que dans les cellules contenant au moins un X inactif, l'intensité du signal augmentant parallèlement au nombre d'X inactifs présents par cellule. Aucun signal n'est obtenu avec de l'ARN issu de tissus masculins. Le profil très hétérogène obtenu par *Northern blot* permet de penser qu'il n'existe pas un mais des transcrits multiples ; ce résultat semble confirmé par des expériences d'amplification *in vitro* (PCR) sur l'ADNc de lignées cellulaires, résultats qui révèlent la présence de nombreux transcrits épissés alternativement (au moins cinq espèces différentes sur une portion du gène testée).

L'expression de ce(s) transcrit(s) est assez ubiquitaire puisqu'elle est retrouvée dans tous les tissus féminins examinés (cerveau, rein, foie, fibroblastes). Une séquence nucléotidique de plus de 2 kilobases a été déterminée ; des codons stop ont été notés dans tous les cadres de lecture (3 pour chaque brin), ne permettant pas l'ouverture d'une phase de lecture de plus de 300 paires de bases (100 acides aminés). Si cette dernière observation peut suggérer que ce transcrit n'est pas codant, en revanche, la présence de signaux de polyadénylation dans certains des ARN les apparente plutôt à des messagers, c'est-à-dire à des espèces traductibles en protéine. Ce gène XIST (pour *X inactive specific transcripts*) semble conservé entre différentes espèces de mammifères (chien, chat, lapin, vache et, dans une moindre mesure, rongeurs) et est localisé chez l'homme en Xq13, siège également du centre d'inactivation XCI [6].

Son profil d'expression ainsi que sa localisation tendent à incriminer le gène XIST dans le processus d'inactivation. En contrôle-t-il la survenue ou en est-il uniquement le témoin ? On peut, à ce stade, émettre différentes hypothèses. Si ce gène XIST est responsable directement du processus d'inactivation, il est vraisemblable que son produit soit une molécule d'ARN impliquée de façon structurale dans la formation de l'hétérochromatine. En effet, si ce transcrit codait pour une protéine, il faudrait alors imaginer que la protéine synthétisée dans le cytoplasme et exportée dans le noyau puisse agir *in cis*, et par conséquent puisse reconnaître l'X qui l'a engendrée. Mais l'inactivation du gène XIST sur l'X actif peut n'être que secondaire : un signal émis au niveau du locus XCI déclencherait alors le processus d'inactivation qui, lui-même, serait responsable de la modification de l'expression du gène XIST. Ce gène pourrait également intervenir au stade du maintien de l'état inactivé.

Les prochaines étapes expérimentales visant à répondre à cette question comprendront le séquençage de

l'ADNc complet et la recherche d'un produit protéique, l'étude de l'expression du gène XIST au cours du développement embryonnaire et sa corrélation avec la chronologie de l'inactivation de l'X. Enfin, l'identification de l'homologue de ce gène chez la souris, modèle beaucoup mieux étudié sur le plan de l'inactivation, permettra probablement d'accélérer l'aspect cognitif de cette question. Quant au lien entre l'isolement de ce transcrit et les anticorps dirigés contre la stéroïde sulfatase, le mystère reste entier... ■

Hélène Gilgenkrantz

Docteur en médecine, Inserm U. 129, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

RÉFÉRENCES

1. Lyon MF. Gene action in the X chromosome of the mouse. *Nature* 1961 ; 190 : 372-3.
2. Epstein CJ, Travis B, Tucker G, Smith S. Both X chromosomes function before visible X chromosome inactivation in female mouse embryos. *Nature* 1978 ; 274 : 500-3.
3. Migeon BR, Shapiro LJ, Norum RA, Mohandas T, Axelman J, Dabora RL. Differential expression of steroid sulfatase locus on active and inactive human X chromosome. *Nature* 1982 ; 299 : 838-40.
4. Rastan S, Kaufman MH, Handyside AH, Lyon MF. X chromosome inactivation in extra-embryonic membranes of diploid parthenogenetic mouse embryos demonstrated by differential staining. *Nature* 1980 ; 288 : 172-3.
5. Brown CJ, Balladio A, Rupert JL, *et al.* A gene from the region of the human X inactive centre is expressed exclusively from the inactive X chromosome. *Nature* 1991 ; 349 : 38-44.
6. Brown CJ, Lafrenière RG, Powers VE, *et al.* Localization of the X inactivation centre on the human X chromosome in Xq13. *Nature* 1991 ; 349 : 82-3.