

Syndromes de Beckwith-Wiedemann dus à une mutation d'empreinte sans isodisomie

On sait que les gènes soumis à l'empreinte parentale sont le plus souvent groupés, et la notion d'une « boîte d'empreinte » contrôlant l'expression différentielle des allèles paternel et maternel a été particulièrement étudiée dans le cas des syndromes de Prader-Willi et d'Angelman au niveau du chromosome 15q13 [1]. Un autre groupe de gènes liés et soumis à l'empreinte génétique a été très étudié chez la souris. La régulation monoallélique coordonnée des gènes *H19* et *Igf2* pourrait être due au fait qu'ils sont en compétition pour le même *enhancer*. On a démontré que la délétion par recombinaison homologue du gène *H19* et de ses régions flanquantes a pour effet, dans sa transmission maternelle, une expression biallélique du gène *Igf2* qui se traduit par une augmentation de taille d'environ 30 % (*m/s* n° 10, vol. 11, p. 1483). Cette expérience démontrait donc qu'au moins une partie du signal d'empreinte parentale se trouve au niveau de la région délétée.

Une méthylation différentielle de la cytosine des dinucléotides CpG se présente actuellement comme le meilleur candidat à un marquage épigénétique des deux allèles. Préservée aux étapes précoces du développement, elle pourrait servir de marqueur d'empreinte. L'équipe de S.M. Tilghman (Princeton, USA) a pu montrer qu'on la retrouve, spécifique de l'allèle paternel, sur un nombre limité de sites situés loin en amont du gène, mais pas sur d'autres sites plus proches ou même intragéniques (figure 1) [2]. La régulation de l'empreinte parentale de *H19* au cours de la vie embryonnaire de la souris vient aussi d'être rapportée [3]: au stade

préimplantatoire ou postimplantatoire précoce, seul l'allèle maternel est exprimé, la méthylation complète ne s'organisant qu'au moment de l'implantation. Chez l'embryon uniparental androgénote, cependant, *H19* est exprimé dans le trophoblaste malgré un degré réduit de méthylation. La comparaison de ces deux séries de résultats évoquerait un rôle « signal » pour les sites maintenus méthylés à travers l'évolution et un pouvoir de stabilisation lié à une méthylation extensive. D'autres expériences restent nécessaires pour vérifier ces hypothèses.

Un groupe synténique des gènes soumis à l'empreinte parentale étudiés chez la souris, *Ins*, *Igf2* et *H19*, est retrouvé chez l'homme au niveau du chromosome 11 en 11p15.5. Comme chez la souris, il semble que l'expres-

sion de *IGF2* (paternel) et de *H19* (maternel) soit exclusive. Une expression biallélique du gène *IGF2* est par ailleurs observée dans des circonstances pathologiques, les tumeurs de Wilms et certains cas de syndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS) [4]. Il s'agit, dans un cas comme dans l'autre, d'une perte d'hétérozygotie. Environ 20 % des cas de BWS s'accompagnent en effet d'une isodisomie paternelle (UPD pour *uniparental paternal disomy*) de la région 11p15.5, et on peut de ce fait rattacher à l'hyperexpression d'*IGF2* l'augmentation de poids d'environ 30 % observée à la naissance. Dans la majorité des cas, cependant, le phénotype de BWS, gigantisme, macroglossie, viscéromégalie, propension aux tumeurs embryonnaires, existe sans UPD concomitante. Dans le

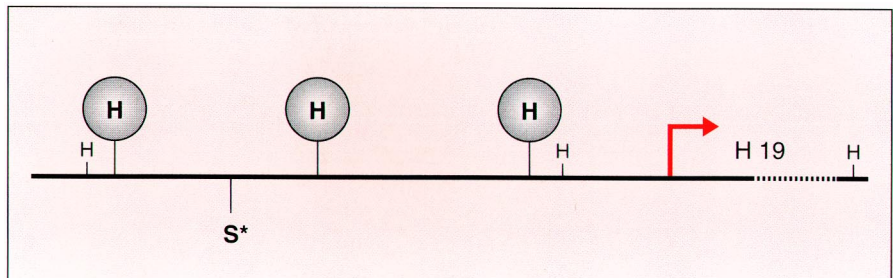


Figure 1. Méthylation en amont de l'allèle paternel du gène *H19* murin. On a représenté la zone d'environ 5 kb qui a été explorée en amont du gène *H19*. Le début de la transcription du gène est marqué par une flèche à angle droit. La lettre S, avec astérisque, montre le site polymorphe *Sacl* qui permet de discriminer les allèles. Tous les sites sont méthylés sur le chromosome paternel dans les cellules somatiques. Une détermination de méthylation spécifique d'allèle au stade préimplantatoire a exploré spécifiquement cinq sites *HhaI* ou *HpaII* en 5' du gène et des sites intragéniques qui ne sont pas figurés. Une méthylation spécifique de l'allèle paternel à tous les stades de la vie embryonnaires a été trouvée sur trois de ces sites (caractères gras). Ils pourraient représenter le signal de marquage épigénétique.

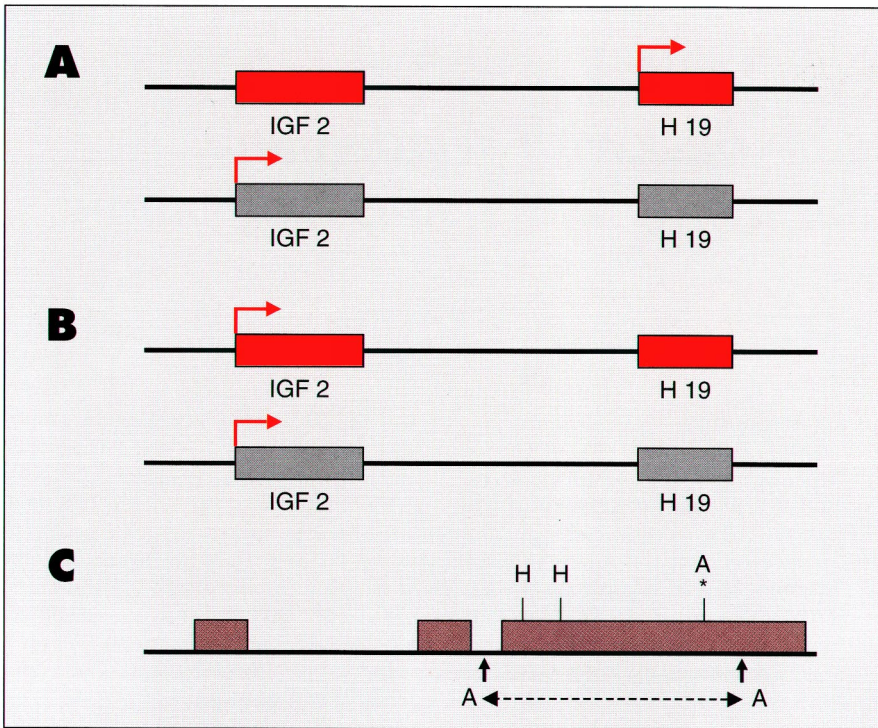


Figure 2. **Expression biallélique du gène IGF2 dans certains cas de syndrome de Beckwith-Wiedemann sans isodisomie paternelle.** **A.** Chez le sujet normal, le gène H19 est exprimé sur le chromosome maternel (en rouge), le gène IGF2 sur le chromosome paternel (en bistre). La méthylation est spécifique de l'allèle paternel. **B.** Dans les cas de BWS décrits ici, l'expression du gène IGF2 est biallélique. Le caractère silencieux des deux allèles H19 n'est que supposé. On retrouve également une méthylation extensive de type paternel sur les deux allèles. **C.** Le caractère biallélique de la méthylation a pu être vérifié de façon précise sur un segment du gène IGF2 (intron 8/exon 9) dans lequel existe un polymorphisme de restriction Apal* dans lequel existe un polymorphisme de restriction Apal*. Les deux sites HpaII (H) sont méthylés sur les deux allèles.

cadre de l'hypothèse dans laquelle les gènes responsables du BWS seraient soumis à l'empreinte parentale et la maladie due à une hyperexpression d'*IGF2*, l'équipe de W.Reik (Cambridge, UK) a étudié la méthylation de la région 11p15 chez une série de malades [5]. Une méthylation spécifique d'allèle a été notée dans tous les cas d'une première série de 42 sujets. Les dix cas d'UPD étaient tous des mosaïques; l'hyperméthylation, constante, était proportionnelle au nombre de cellules isodisomiques. Dans les cas non isodisomiques la méthylation du *locus IGF2*, spécifique du chromosome paternel, a été trouvée normale, prouvée comme chez la souris, par un polymorphisme de restriction; une anomalie de méthylation était donc

exclue comme mécanisme général expliquant le phénotype des BWS non isodisomiques. Plus récemment, cependant, la même équipe a pu identifier des cas de BWS qui évoquent fortement l'existence d'une mutation d'empreinte [6]. Dans deux cas sporadiques de ce syndrome, on a éliminé la possibilité d'une isodisomie grâce à l'existence d'un polymorphisme intragénique d'*IGF2*. Cependant, contrairement aux cas décrits précédemment, le profil d'hyperméthylation de type paternel était trouvé identique sur les deux allèles et, en culture de fibroblastes, l'allèle *IGF2* maternel s'exprimait comme sur l'allèle paternel (figure 2). La mutation épigénétique responsable de ces modifications d'expression devrait s'être produite sur le chromoso-

me maternel, et cela précocement dans la vie embryonnaire. Cette observation, la première faite sur un mutant humain naturel, est fortement en faveur d'une corégulation d'empreinte de la région, déjà suggérée chez la souris. Elle pourrait expliquer, par atteinte du gène *INS*, l'existence d'un diabète dans certains cas de BWS. Une observation complémentaire vaut aussi d'être signalée. Une réplication mitotique asynchrone est habituelle dans les domaines chromosomiques soumis à l'empreinte parentale, l'allèle paternel se répliquant le premier. Dans les deux observations de BWS décrits ici, qui semblent dues à une mutation d'empreinte, une asynchronie est retrouvée; le contrôle régional de la réplication semble donc dissocié du contrôle de méthylation allélique et d'expression des gènes. Comme dans les syndromes de Prader-Willi et d'Angelman, ces cas de syndrome de Beckwith-Wiedemann évoquent l'existence d'une «boîte d'empreinte». Ces observations démontrent également l'hétérogénéité génotypique sous-jacente au phénotype BWS. D'autres mutants naturels pourront aider à une progressive dissection des niveaux de régulation mis en jeu dans le phénomène d'empreinte parentale.

D.L.

1. Páldi A, Jami J. Éléments chromosomiques contrôlant l'empreinte parentale des gènes. *médecine/sciences* 1996; 12: 189-91.
2. Tremblay KD, Saam JR, Ingram RS, Tilghman SM, Bartolomei MS. A paternal-specific methylation imprint marks the alleles of the mouse *H19* gene. *Nature Genet* 1995; 9: 407-13.
3. Sasaki H, Ferguson-Smith AC, Shum ASW, Barton SC, Surani MA. Temporal and spatial regulation of *H19* imprinting in normal and uniparental mouse embryos. *Development* 1995; 121: 4195-202.
4. Junien C, Henry I. Bras court du chromosome 11: empreinte parentale différentielle tumorigène et pertes d'allèles. *médecine/sciences* 1989; 5: 480-8.
5. Reik W, Brown KW, Slatter RE, Sartori P, Elliott M, Maher ER. Allelic methylation of *H19* and *IGF2* in the Beckwith-Wiedemann syndrome. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 1297-301.
6. Reik W, Brown KW, Schneid H, Le Bouc Y, Bickmore W, Maher ER. Imprinting mutations in the Beckwith-Wiedemann syndrome suggested by an altered imprinting pattern in the *IGF2-H19* domain. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 2379-85.