



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

N°...../SNV/2020

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDE

Présenté par

Imad Abdelwaheb BOUMENDIL

Zina MAHARREUR

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Génétique fondamentale et appliquée

THÈME

La contribution de l'épigénétique a la
médecine préventive contre le
développement du cancer

Déposé le 28/09/2020

DEVANT DE JURY :

Président	MEKHALDI Abdelkader	Professeur	U. Mostaganem
Examineur	GUEDOUAR Y.	MCB	U. Mostaganem
Encadreur	CHIBANI A.	Professeur	U. Mostaganem

Année Universitaire 2019-2020

Dédicaces :

Nous dédions ce travail à nos très chers parents de nous avoir aidés tout au long du chemin du savoir, de la connaissance et de la sagesse. Voilà maman et papa, recevez ce travail en témoignage de tous les espoirs que vous avez placé en nous et comme le fruit de votre patience et la récompense de tous les moments qui vous avez supportés à nos égards.

À nos frères et sœurs.

À nos chers enseignants qui nous ont appris, guidés et enseignés tout au long de nos parcours scolaires et universitaires.

à nos très chers amis bien-aimés qui nous ont aidés à garder le sourire et le courage quand tout semblait si difficile et impossible à atteindre .

Remerciements :

Nous remercions tout d'abord Allah tout puissant qui nous a aidé et mené vers le chemin du savoir.

Nous remercions nos mères et nos pères de nous avoir guidés et éduqués et construire ce que nous sommes aujourd'hui.

Nous remercions notre faculté de nous avoir fourni les moyens adaptables à travers cette crise pandémique pour mener à bien ce travail et le présenter.

Nous remercions Dr CHIBANI Abdelwaheb pour son encadrement et son soutien moral et scientifique.

Nous remercions également prof. MEKHALDI A. et Dr. GUEDOUAR Y. qui ont accepté d'être les membres de jury de ce mémoire.

Nous remercions tous ceux qui nous ont aidé à élaborer ce travail. Nos collègues de génétique fondamentale et appliquée.

Table des matières

Dédicaces :.....	1
Remerciements :.....	2
Liste des figures :.....	4
Liste des tableaux :.....	4
Résumé :.....	5
Introduction :.....	6
Les microARNs :	8
La méthylation de l'ADN :	9
Présentation :	11
Principe :	11
Mise en évidence :	12
Emergence de l'Épigénétique :	13
Codage épigénétique et évolution :	14
Mécanismes :	15
Structure de la chromatine :	16
L'état des histones :	17
La transcription de l'ADN en ARN :	17
Système de transcription structurelle :	19
L'empreinte parentale :	19
Implication et application :	20
Pathologie :	20
Causes et héritabilité :	20
Comportement et psychisme :	21
Prions :	21
Agents pathogènes :	22
Thérapeutique :	22
Le terme d'épigénétique en psychologie :	22
Le cancer : (Modifications épigénétiques et cancer).....	23
Hyperméthylation locale et hypométhylation globale : le paradoxe de la méthylation dans les cellules cancéreuses :	24
Méthylation des motifs CpG :	24
Gènes cibles de l'hyperméthylation :	29
Un code épigénétique complexe: les modifications covalentes des histones :	31
Une nouvelle approche thérapeutique : la thérapie épigénétique :	35
Thérapies épigénétiques :	36

Conclusions :	37
Thérapies indirectement épigénétiques :	38
Médicaments et drogues ayant des effets épigénétiques nonthérapeutiques :	38
Références :	40

Liste des figures :

Figure 1 : <i>Schéma résumé du rôle et des dérégulations de différents mécanismes épigénétiques dans le cancer - Les différencismes épigénétiques mentionnés peuvent s'inter-réguler.</i> (Etude de l'implication de mécanismes épigénétiques dans la physiopathologie du myélome multiple et dans la différenciation plasmocytaire normale.)	7
Figure 2: Les mécanismes épigénétiques (Québec Sciences, 2019)	16
Figure 3: Mécanismes de transcription de l'ADN en ARNm au sein du noyau (Sciences de la Vie et de la Terre - Lycée - Première S - Synthèse des protéines, 2018)	18
Figure 4: Aspects de la chromatine au niveau de gènes suppresseurs de tumeur, dans les situations normale et tumorale. (MEDECINE/SCIENCES, 2005).....	27
Figure 5: Modifications épigénétiques et réactivation pharmacologique. (MEDECINE/SCIENCES, 2005)	34

Liste des tableaux :

Tableau 1: Gènes suppresseurs de tumeurs communément inactivés lors de la tumorigenèse.....	28
---	----

Résumé :

Le lien entre épigénétique et cancer provient de dérégulations épigénétiques. Ces modifications épigénétiques (acétylation des histones et méthylation de l'ADN) participent à la tumorigenèse par l'inactivation des gènes suppresseurs de tumeur.

La liste des gènes suppresseurs de tumeurs inactivés via des modifications épigénétiques s'allonge régulièrement au fil des études de plus en plus nombreuses. Les gènes suppresseurs de tumeurs les plus souvent inactivés par des modifications épigénétiques sont représentés dans le tableau suivant, ainsi que les principaux types de cancers associés à ces inactivations.

Contrairement aux causes génétiques du cancer affectant la séquence de l'ADN qui sont irréversibles, les modifications épigénétiques sont réversibles. Aussi de nouvelles approches thérapeutiques s'ouvrent avec l'utilisation d'inhibiteurs spécifiques des méthyltransférases de l'ADN (DNMT) ou des histone-désacétylases (HDAC).

Ce travail a été réalisé afin d'étudier le développement du cancer EPI génétiquement et citer les différentes approches thérapeutiques qui existent déjà et qui peuvent révolutionner la médecine préventive.

En quoi L'épigénétique est-elle déterminante dans l'élaboration de la médecine préventive (contre le cancer) d'aujourd'hui ?

Summary :

The link between epigenetics and cancer comes from epigenetic deregulation. These epigenetic changes (acetylation of histones and methylation of DNA) participate in tumorigenesis by inactivating tumor suppressor genes.

The list of tumor suppressor genes inactivated via epigenetic modifications is steadily growing over the course of more and more studies. The tumor suppressor genes most often inactivated by epigenetic modifications are shown in the following table, as well as the main types of cancer associated with these inactivations.

Unlike the genetic causes of cancer affecting the DNA sequence which are irreversible, epigenetic changes are reversible. Also, new therapeutic approaches are opening up with the use of specific inhibitors of DNA methyltransferases (DNMT) or histone deacetylases (HDAC).

This work was carried out in order to study the development of EPI cancer genetically and to cite the different therapeutic approaches that already exist and which can revolutionize preventive medicine.

How is epigenetics crucial in the development of preventive medicine (against cancer) today?

Key words : *epigenetic, DNA methylation, acetylation of histones, EPI cancer, preventive medicine*

Introduction :

L'épigénétique (du grec ancien ἐπί, épí, « au-dessus de », et de génétique) est la discipline de la biologie qui étudie la nature des mécanismes modifiant de manière réversible, transmissible (lors des divisions cellulaires) et adaptative l'expression des gènes sans en changer la séquence nucléotidique (ADN).

Il s'agit là d'une des premières questions à l'origine de l'étude des changements d'expression génique héréditaires, via la mitose et/ou la méiose, ne modifiant pas la séquence d'ADN : l'épigénétique. L'épigénétique est un champ de recherche très vaste et malgré l'ample évolution de ce domaine depuis plus de 50 ans, il existe encore quelques consensus à propos de ses aspects fondamentaux, incluant la délimitation conceptuelle de ce qui est considéré ou pas comme étant de l'épigénétique¹⁻³. Au cours du développement et de la différenciation cellulaire, les mécanismes épigénétiques participent dans un premier temps à l'établissement d'un nouvel état cellulaire, puis au maintien de cet état permettant de stabiliser l'identité cellulaire. Ces processus sont nécessaires au fonctionnement normal des organismes multicellulaires. Les modifications épigénétiques régulent également l'expression de gènes en fonction des conditions environnementales. Il s'agit d'un phénomène conférant à l'organisme la plasticité nécessaire pour s'adapter à son environnement et la capacité à induire des phénotypes alternatifs à partir d'un même génotype.

Au cours de la vie d'un organisme, les cellules somatiques comme germinales peuvent développer des dérégulations épigénétiques et peuvent transmettre ces changements à leur progéniture. Des changements et altérations de l'épigénome peuvent apparaître au cours du temps, sous l'influence de facteurs internes, externes et/ou stochastiques, et peuvent être responsables de l'apparition de nombreuses pathologies. Les dérégulations de l'épigénome sont des mécanismes importants participant au développement et à la progression tumorale. Ces anomalies épigénétiques peuvent être réversibles, par opposition aux mutations se développant en parallèle dans le génome de la tumeur, et peuvent donc constituer d'éventuelles cibles thérapeutiques. Les fonctions du génome sont inexorablement liées à l'épigénome. La régulation épigénétique impacte l'état transcriptionnel, la compaction locale ou globale de la chromatine, et le partitionnement du matériel épigénétique pendant les réponses aux dommages de l'ADN et la progression du cycle cellulaire. Au niveau moléculaire,

l'épigénétique est basée sur différents mécanismes incluant la méthylation de l'ADN (DNAm), les microARNs (miARNs), les modifications post-traductionnelles (PTMs) d'histones, les variants d'histones et la topologie nucléaire globale.

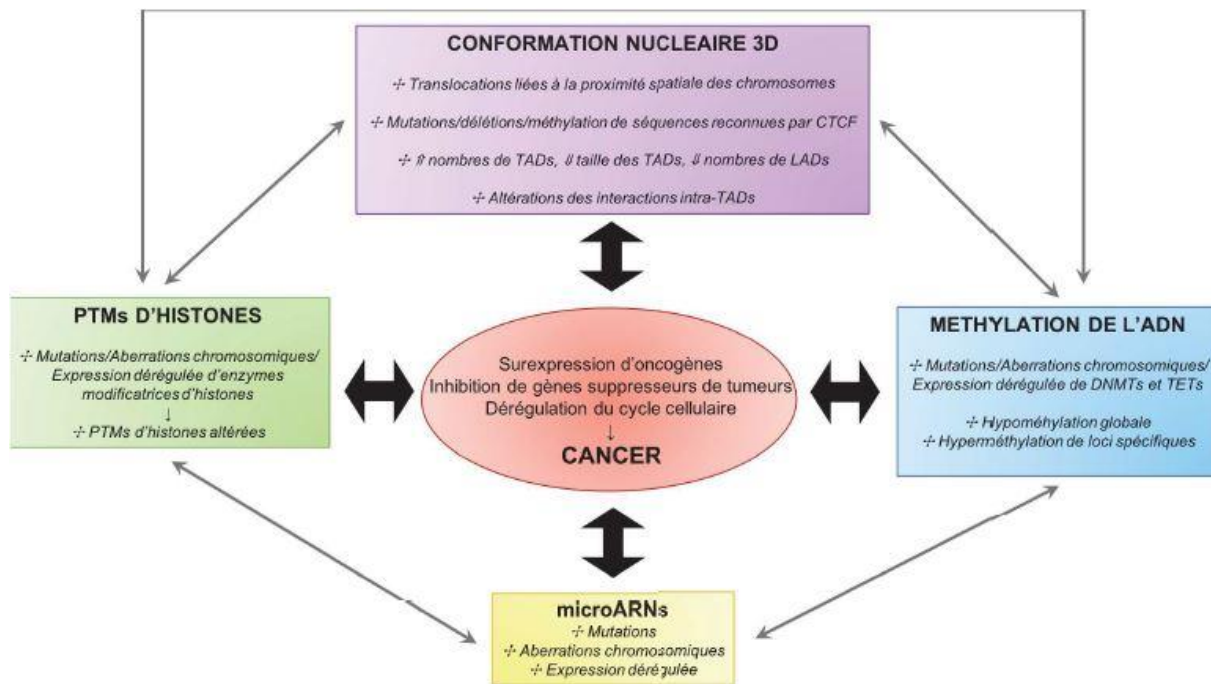


Figure 1 : Schéma résumé du rôle et des dérégulations de différents mécanismes épigénétiques dans le cancer - Les différencismes épigénétiques mentionnés peuvent s'inter-réguler. (Etude de l'implication de mécanismes épigénétiques dans la physiopathologie du myélome multiple et dans la différenciation plasmocytaire normale, 2018)

Les microARNs :

Les microARNs sont des ARNs non-codants de 18-24 nucléotides capables de réguler l'expression des gènes au niveau post-transcriptionnel en se fixant, en collaboration avec le complexe RISC, sur la région 3'UTR de leur ARN messagers (ARNm) cibles. Cette interaction conduit à la diminution de la traduction ou la dégradation de l'ARNm. Leur potentiel de régulation est vaste : plus de 60% des gènes codant pour des protéines ont été prédits comme pouvant être des cibles de miARNs. Ces derniers constituent un mécanisme épigénétique redondant, d'une part du fait que chaque miARN peut avoir plusieurs ARNm cibles, mais également que chaque ARNm peut être ciblé par différents miARNs. Bien que les miARNs soient des facteurs héréditaires à travers la mitose et la méiose, capables de réguler l'expression des gènes sans changer la séquence d'ADN, leur classification en tant que facteurs épigénétiques est encore débattu.

Les miARNs jouent un rôle important dans différents processus cellulaires, dont la prolifération, la régulation du cycle cellulaire, l'apoptose, la différenciation, la capacité d'invasion, et des fonctions spécifiques à certains tissus telles que les réponses immunitaires, les sécrétions hormonales ou l'angiogenèse. Tous ces processus sont impliqués dans le développement et l'évolution de cancers (**Figure 1**). L'expression de différents miARNs est dérégulée dans la plupart des cancers à travers différents mécanismes, dont des défauts de la machinerie de biogénèse des miARN, l'amplification/délétion de régions contenant des miARNs, ou un contrôle transcriptionnel aberrant. Les miARNs peuvent également être dérégulés par une méthylation anormale de l'ADN ou par des altérations des PTMs des histones régulant leur transcription. D'autre part, plusieurs miARNs, les épi-miARNs, sont capables de réguler différents acteurs épigénétiques (PRC1, PRC2, DNMTs, HDACs...) et sont souvent dérégulés dans les cancers. De plus, il a été montré que certains miARNs pouvaient être présents dans le noyau, dans lequel ils régulent l'expression de gènes via leur fixation sur certains promoteurs, entraînant le recrutement d'acteurs de la transcription.

La méthylation de l'ADN :

La méthylation de l'ADN est le processus épigénétique le plus largement étudié.

D'un point de vue biochimique, cette marque épigénétique est caractérisée par l'addition covalente d'un groupement méthyle (CH₃) sur le carbone 5 des cytosines pour former la 5-méthylcytosine (5mC), principalement dans un contexte de dinucléotides CpG. La méthylation de l'ADN est catalysée par une famille d'enzymes appelées ADN méthyltransférases (DNMTs). DNMT3A et DNMT3B, dites ADN méthyltransférases « de novo », sont capables de méthyler de l'ADN précédemment non-modifié. DNMT1 fonctionne au cours de la réplication de l'ADN afin de copier le profil de méthylation du brin d'ADN parental sur le brin nouvellement synthétisé : il s'agit de l'ADN méthyltransférase dite « de maintenance ». Ces DNMTs, impliquées dans l'embryogénèse, voient leur expression significativement diminuée dans les cellules différenciées, suggérant que le profil de méthylation de l'ADN des cellules post-mitotiques est stable.

La déméthylation de l'ADN peut être un processus passif lié à la prolifération des cellules¹⁰, ou un processus actif. La déméthylation active est médiée par les enzymes de la famille TET, capables d'oxyder les cytosines méthylées pour former notamment des résidus de 5-hydroxyméthylcytidine (5hmC), qui sont ensuite remplacés par des cytosines non-méthylées via des mécanismes de réparation de l'ADN. Par ailleurs, l'enzyme AID, essentielle au processus d'hypermutation somatique (SHM) dans les cellules B du centre germinatif (GC), pourrait être une nouvelle candidate pour la déméthylation active de l'ADN. La déamination des 5mC entraînerait la formation de mésappariements T>G, induisant le recrutement de la machinerie de réparation de l'ADN, et ainsi la correction de la thymine en cytosine non-méthylée.

La méthylation de l'ADN est notamment impliquée dans l'empreinte génomique, l'inactivation du chromosome X ou encore la suppression d'éléments transposables. Elle est aussi associée à la répression des gènes lorsqu'elle est située sur des régions régulatrices, empêchant ainsi la fixation de facteurs de transcription ou favorisant le recrutement de complexes corépresseurs de la transcription au niveau des promoteurs des gènes cibles. Par ailleurs, il a été suggéré que la méthylation des corps de gènes pouvait promouvoir la transcription. Cependant, des études récentes du méthylome de

l'ADN et du transcriptome ont révélé que leur association est plus nuancée que ce qui avait été observé précédemment.

La méthylation de l'ADN peut en effet avoir de multiples rôles en fonction du contexte, notamment la présence d'autres modifications épigénétiques.

L'hydroxyméthylation de l'ADN, longtemps considérée comme étant un état transitoire, est présente de manière stable sur certains promoteurs, au niveau de corps de gènes activement transcrits et de régions régulatrices actives ou en état de pause. Le rôle de la 5hmC dans la régulation de la transcription des gènes reste cependant éluusif. Il a été notamment suggéré qu'il était dépendant du type cellulaire et du contexte chromatinien¹⁶. Ces deux modifications des cytosines sont dérégulées dans de nombreux cancers (**Figure 1**).

En effet, l'oncogenèse est associée à une hypométhylation globale de l'ADN, une diminution globale du taux de 5hmC, ainsi qu'une hyperméthylation localisée de certains loci^{15,16}. Bien que ces aberrations du profil de méthylation ne soient pas toujours associées à l'expression des gènes, il a été montré que cette marque épigénétique pouvait être utilisée comme biomarqueurs pour le diagnostic, l'établissement du pronostic et le suivi de réponse aux traitements des patients atteints de cancers¹⁷. Par ailleurs, une surexpression, des mutations ou des délétions des DNMTs ont été détectées dans différents cancers¹⁸. Des protéines TET sont également mutées, anormalement transloquées ou sous-exprimées dans de nombreux cancers¹⁹. De plus, l'utilisation de molécules inhibant les DNMTs sur plusieurs modèles de cancer a montré une réelle efficacité sur la prolifération et la survie des cellules tumorales, notamment via la réactivation de suppresseur de tumeur. La méthylation de l'ADN constitue donc une cible thérapeutique potentielle dans les cancers. Des essais cliniques sont actuellement en cours dans différentes hémopathies et tumeurs solides.

Dans l'histoire de ce sujet d'étude, l'épigénétique est d'abord mise en évidence par la différenciation cellulaire puisque toutes les cellules d'un organisme multicellulaire ont le même patrimoine génétique, mais l'expriment de façon très différente selon le tissu auquel elles appartiennent. Puis ce sont les possibilités d'évolution d'un même œuf en mâle ou femelle chez les tortues, en reine ou ouvrière chez les abeilles, qui prouvent

que des mécanismes peuvent lier des facteurs environnementaux et l'expression du patrimoine génétique.

En matière d'évolution, l'épigénétique permet d'expliquer comment des traits peuvent être acquis, éventuellement transmis d'une génération à l'autre ou encore perdus après avoir été hérités. La mise en lumière récente de ces moyens épigénétiques d'adaptation d'une espèce à son environnement est selon Joël de Rosnay en 2011 « la grande révolution de la biologie de ces 5 dernières années » car elle montre que dans certains cas, notre comportement agit sur l'expression de nos gènes. Elle explique aussi le polyphénisme, par exemple les changements de couleur en fonction des saisons (tels le renard polaire qui devient blanc en hiver).

L'épigénétique a des applications possibles en médecine, avec des perspectives thérapeutiques nouvelles notamment à l'aide « d'épi-médicaments », mais aussi en biologie du développement, agronomie ou nutrition.

Présentation :

« L'épigénétique est l'étude des changements d'activité des gènes — donc des changements de caractères — qui sont transmis au fil des divisions cellulaires ou des générations, sans faire appel à des mutations de l'ADN. »

Par exemple, une même larve d'abeille deviendra une reine ou une ouvrière en fonction de la façon dont elle est nourrie, et un même œuf de tortue peut éclore en mâle ou femelle en fonction de la température. Il s'agit bien de l'expression du même code génétique global, mais des facteurs environnementaux ont sélectionné une expression plutôt qu'une autre, chacune étant disponible dans la « base de données » génétique. Autrement dit, l'épigénétique gouverne la façon dont le génotype est utilisé pour créer un phénotype.

Principe :

Par analogie, on peut rapprocher le couple génétique - épigénétique à l'écriture et à la lecture d'un livre.

« On peut sans doute comparer la distinction entre la génétique et l'épigénétique à la différence entre l'écriture d'un livre et sa lecture. Une fois que le livre est écrit, le texte

(les gènes ou l'information stockée sous forme d'ADN) sera le même dans tous les exemplaires distribués au public. Cependant, chaque lecteur d'un livre donné aura une interprétation légèrement différente de l'histoire, qui suscitera en lui des émotions et des projections personnelles au fil des chapitres. D'une manière très comparable, l'épigénétique permettrait plusieurs lectures d'une matrice fixe (le livre ou le code génétique), donnant lieu à diverses interprétations, selon les conditions dans lesquelles on interroge cette matrice. »

S'il existe une "base de données génétique", sa lecture s'effectue de façon éminemment diverse en fonction des modifications épigénétiques qui sont apportées au génome et à la chromatine. La transmission de l'héritage génétique s'accompagne également de celle d'un héritage épigénétique.

Mise en évidence :

« Si les caractères de l'individu sont déterminés par les gènes, pourquoi toutes les cellules d'un organisme ne sont-elles pas identiques ? »

Cette interrogation de Thomas Morgan qui se rapporte aux organismes pluricellulaires impose le constat de différences possibles dans l'expression d'un même génome car les cellules d'un même organisme — ou cellules somatiques — sont génétiquement identiques, clones les unes des autres. Sauf cas exceptionnel de mutation spontanée, les cellules issues d'une seule cellule œuf et dupliquées par mitose partagent exactement le même patrimoine génétique. Pourtant un neurone, un globule blanc, ou encore une cellule épithéliale sont très différentes les unes des autres. « Cadre classique de l'épigénétique », cette différenciation cellulaire sur la base d'un même code génétique, ce qui change une cellule souche en une cellule spécialisée, est un objet d'étude de la biologie du développement.

L'existence de phénomènes épigénétiques se trouve également illustrée par les différences physiques et biologiques constatées chez des animaux de laboratoire clonés, ou chez les clones naturels que sont les vrais jumeaux (monozygotes) chez qui les empreintes épigénétiques sont beaucoup plus semblables à 3 ans qu'à 50 ans. Une vaste étude est toujours en cours pour caractériser les différences entre jumeaux

monozygotes. Si ces mises en évidence concernent principalement des êtres pluricellulaires eucaryotes, des phénomènes épigénétiques ont aussi été mis en évidence chez des êtres unicellulaires aussi bien eucaryotes (par exemple la levure) que procaryotes.

Emergence de l'Épigénétique :

On attribue la paternité de l'épigénétique dans son sens moderne au biologiste et embryologiste Conrad Hal Waddington qui la définit en 1942 comme une branche de la biologie étudiant les implications entre les systèmes *gènes + environnement* et leurs *produits* donnant naissance au phénotype d'un individu. Cette idée venait combler des lacunes du *modèle génétique* postulant une équivalence unique entre phénotype et génotype qui ne pouvait expliquer tous les phénomènes liés à la différenciation cellulaire. Il fut alors élaboré une théorie dans laquelle chaque cellule indifférenciée passait par un état critique qui serait responsable de son développement futur non uniquement lié à ses gènes, et pour cette raison qualifié d'*épigénétique*. Dans les années 1960 et 1970, les expérimentations en biologie moléculaire fleurissent et donnent lieu à des Prix Nobel. En 1965, pour François Jacob, Jacques Monod et André Lwoff, qui mettent en évidence le rôle de l'ARN dans le contrôle génétique des synthèses enzymatiques et virales ; en 1975, pour David Baltimore et Howard Temin, qui mettent en évidence le phénomène de transcription inverse, la synthèse d'un brin d'ADN à partir d'une matrice ARN. Ces mécanismes annexes à la génétique sont fondamentaux dans la compréhension et l'émergence de l'épigénétique, mais ils ne remettent pas en cause le modèle standard de compréhension de l'évolution, la théorie synthétique de l'évolution, où seuls le hasard des mutations génétiques et la sélection naturelle sont en cause.

Cette certitude scientifique reste inébranlable jusque dans les années 1990 pendant lesquelles cette théorie synthétique est confrontée au séquençage complet de plusieurs génomes ce qui suggère qu'elle doit être complétée, car la communauté scientifique n'y découvre pas la totalité des effets phénotypiques dont elle espérait l'explication. Cette difficulté inattendue remet au goût du jour la recherche de facteurs externes au génome. L'épigénétique ainsi redéfinie revendique alors sa place comme prolongement et complément de la génétique classique, notamment dans le domaine

de la nutrition, de la reproduction, et comme « aspect de la post-génomique » accompagnant la recherche dans son passage de l'étude du génome à celui de l'épigénome.

Dans les années 1980, Robin Holliday (**en**) nomme « hérédité épigénétique » l'hérédité mise en évidence chez les mammifères en 1999 par Emma Whitelaw (**en**). L'étape suivante qui se développe depuis les années 2000 est le travail sur le rôle de facteurs environnementaux sur l'expression génétique, comme en 2007 avec l'exposition au bisphénol A qui perturbe la méthylation de l'ADN de souris. On étudie alors la possibilité de transmission des caractères acquis et le rôle des gamètes pour savoir si elles peuvent conserver certains des marqueurs épigénétiques. Souvent polémique parce que non prévue par la théorie synthétique de l'évolution (bien que son principe ait été suggéré par Lamarck hors de toute connaissance génétique, et que Darwin lui-même laisse ouverte *explicitement* dans L'Origine des espèces la possibilité chez les chiens pointers d'*effets cumulatifs du dressage*), mais surtout parce que prises à tort par le grand public pour une réfutation de l'existant plutôt qu'un complément, ces études accordent volontiers à l'épigénétique un rôle davantage que marginal pour expliquer quelques mécanismes d'adaptation et d'évolution des formes vivantes .

D'autres dimensions du rôle de l'épigénétique sont aussi explorées comme son incidence sur les neurones pour stabiliser leurs connexions synaptiques, ce qui aurait un rôle sur la mémoire à long terme ; ou l'effet d'un stress infantile sur la sensibilité au stress à l'âge adulte par son effet sur la méthylation de l'ADN des récepteurs au glucocorticoïde.

Codage épigénétique et évolution :

L'épigénétique propose des explications dans le sujet de la transmission des caractères acquis. La sélection naturelle combinée à la génétique et au hasard des mutations étaient les seuls facteurs reconnus de l'évolution depuis August Weismann, et jusqu'à l'apparition de l'épigénétique dans les années 1990. Pourtant l'idée de la possibilité de transmettre des caractères acquis est abordée entre autres par Aristote, Jean-Baptiste de Lamarck, Charles Darwin, ou encore Ivan Mitchourine et Lyssenko. Les caractères épigénétiques ne s'opposent pas aux théories génétiques associées à

la sélection naturelle, mais les complètent. Ainsi, l'hérédité épigénétique « présente une plus grande sensibilité à l'environnement et une stabilité inférieure à celle des modifications de la séquence de l'ADN ».

On a récemment montré (2017) chez le rat de laboratoire que l'exposition d'une mère à de l'atrazine (désherbant) au moment de la formation des gonades de ses embryons faisait que cette molécule (ou le stress induit *in utero* par cette molécule) pouvait reprogrammer durablement des cellules souches gonadique et être source de problèmes épigénétiques dans les générations suivantes (susceptibilité aux maladies induites par l'atrazine, chez les mâles et les femelles).

De même une chimiothérapie subie par un adolescent semble induire des effets épigénétiques (transmis donc à la descendance) via une modification qualitative du sperme (anomalies de l'ADN). C'est la 1ère démonstration du fait qu'une exposition chimique précoce peut reprogrammer durablement l'épigénome des cellules souches spermatogènes. Les épimutations de la lignée germinale (cellules du sperme) identifiées suggèrent que la chimiothérapie peut changer l'hérédité épigénétique à la génération suivante.

Mécanismes :

On étudie, en épigénétique les mécanismes, vecteurs, ou moyens de sélection des gènes à exprimer. Ils dépendent pour beaucoup de la biologie cellulaire, et en particulier moléculaire qui fait le lien entre gène et protéines. Puisque le phénotype d'une cellule ou d'un individu est affecté par l'expression de ses gènes, les états issus de ces transcriptions peuvent donner lieu à des traces épigénétiques. Parfois appelé mémoire de la cellule, son état moléculaire hors code génétique est aussi nommé *code épigénétique*, par analogie et par distinction du code génétique.

L'état moléculaire correspond à la nature des molécules en présence dans la cellule, mais aussi à l'état de compaction de l'ADN. Comme une pellicule qu'il faut dérouler pour visionner le film, la chaîne d'ADN doit être « déroulée » pour accéder aux gènes qu'elle contient.

Structure de la chromatine :

L'ADN s'enroule en bobine autour des histones, protéines avec lesquelles il forme une structure à laquelle on a donné le nom de chromatine (quand on l'a observée au microscope grâce à une coloration chromatique). Celle-ci peut être soit décondensée ou « ouverte » (euchromatine), permettant ainsi l'accès à la machinerie transcriptionnelle et à l'expression génique, soit condensée ou « fermée » (hétérochromatine), empêchant ainsi l'expression d'un gène.

Certaines régions du génome sont déjà constamment dans un état chromatinienn fermé, on parle d'hétérochromatine constitutive. C'est ainsi le cas des centromères et des télomères. L'état de la chromatine dépend de plusieurs facteurs qui dictent si l'ADN doit être « ré-enroulé après lecture », notamment l'état post-traductionnel des protéines d'histones liées à l'ADN ou l'action de remodeleurs de la chromatine et de protéines chaperons.

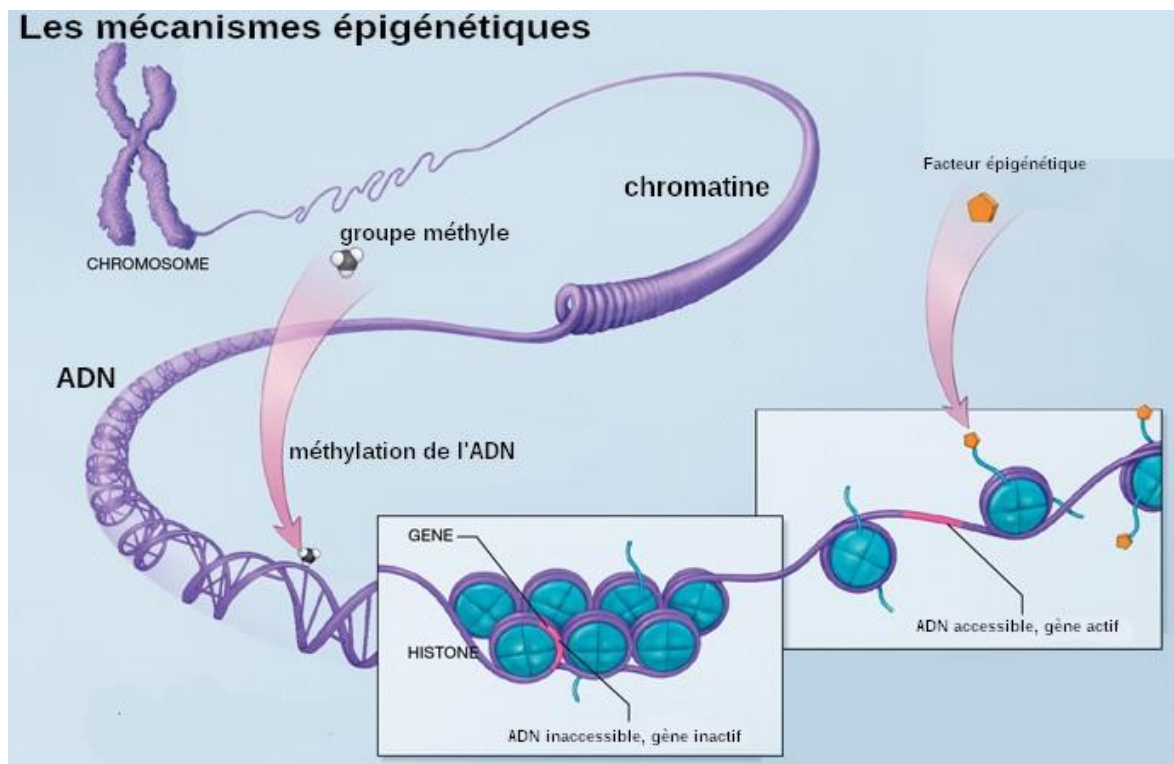


Figure 2: Les mécanismes épigénétiques (Québec Sciences, 2019)

L'état des histones :

Les histones forment la « bobine » autour de laquelle vient s'enrouler l'ADN avec lequel chaque boucle forme un nucléosome. Ces protéines histones sont elles-mêmes sensibles à plusieurs modifications post-traductionnelles que l'on retrouve sur leurs queues N-terminales qui dépassent de la structure du nucléosome :

- 1- La méthylation : l'action du groupe méthyle au niveau de résidus lysines entraîne généralement une fermeture de la chromatine en favorisant l'enroulement de l'ADN autour des histones, c'est le cas par exemple des tri-méthylations sur les lysines 9 et 27 de l'Histone H3 (H3K9me3 et H3K27me3). Toutefois ce constat n'est pas toujours la norme et certaines méthylations sont associées à un état ouvert de la chromatine telle la tri-méthylation de la lysine 4 de l'histone H3 (H3K4me3) qui est retrouvée au niveau des promoteurs de gènes exprimés.
- 2- L'acétylation : l'action chimique sur les lysines entraîne généralement une ouverture de la chromatine, permettant ainsi la transcription.
- 3- D'autres modifications peuvent être observées sur les histones et peuvent influencer sur l'état d'ouverture de la chromatine, parmi elles la phosphorylation ou encore l'ubiquitination et la sumoylation.

La transcription de l'ADN en ARN :

La transcription est la copie du code génétique de l'ADN en ARN qui permet ensuite de synthétiser les protéines après l'étape de traduction.

La double hélice de l'ADN est ouverte et une chaîne d'ARN correspondant au code génétique de l'ADN est formée par le complexe de l'ARN polymérase II. Comme pour une page restée ouverte, il y a des chances accrues de « rouvrir le livre » là où il a déjà été ouvert. On parle du phénomène d'auto-activation du gène qui peut également s'étendre aux gènes adjacents (ou afférents).

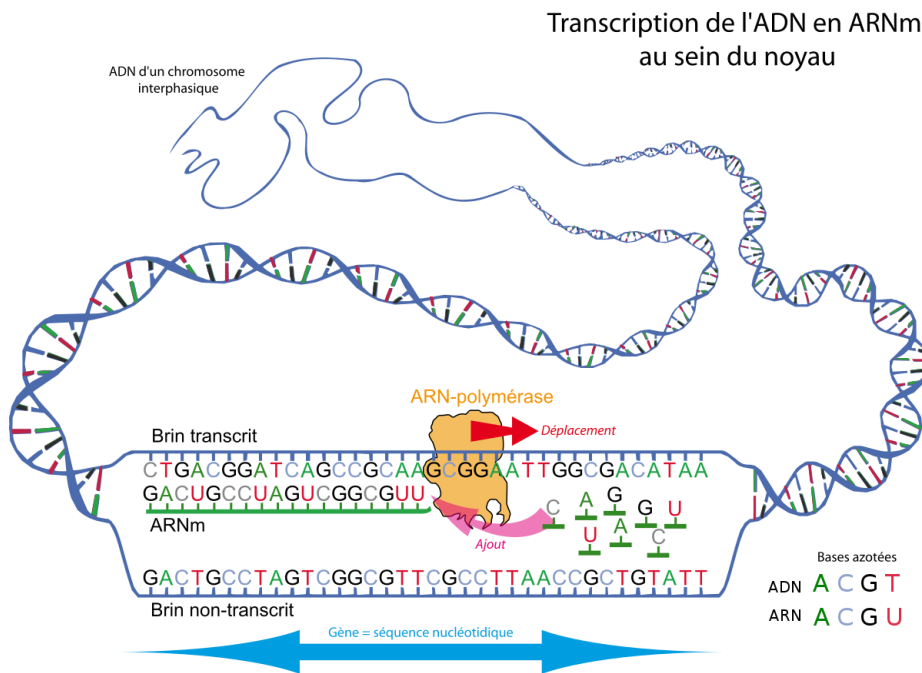


Figure 3: Mécanismes de transcription de l'ADN en ARNm au sein du noyau (Sciences de la Vie et de la Terre - Lycée - Première S - Synthèse des protéines, 2018)

Ceci est illustré par l'expression de gènes codant des facteurs de transcription qui favorisent eux-mêmes la transcription comme HNF4 et MyoD chez l'homme. Après la division cellulaire par méiose ou mitose, le stimulus à l'origine de l'activation d'un gène est absent, mais les cellules filles peuvent hériter de cette activation chez la cellule mère (par exemple par la présence de ces facteurs de transcription). Le plus souvent l'activation d'un gène se produit par transduction, mais il est possible que l'ARN se transmette aux autres cellules par diffusion, et on met aussi en cause un système de transmission structurelle.

Système de transcription structurelle :

La transmission structurelle est un mécanisme encore mystérieux. Il implique la transmission entre cellules (voire entre cellules de générations différentes) de structures particulières (par exemple de protéines). Ces structures modifiées semblent jouer le rôle de « patron » pour l'organisation structurelle de la génération suivante. Ce mécanisme de transmission a été mis en évidence dans les organismes unicellulaires ciliés comme la tetrahymena ou la paramécie. En effet, pour des cellules semblables au niveau génétique, on peut observer des différences dans l'organisation des cils de surface. Cette organisation est transmissible à la génération suivante. On soupçonne une telle transmission d'être également possible pour les organismes multicellulaires.

L'empreinte parentale :

Lors de la division cellulaire (mitose), un gène peut être transmis avec état de méthylation de l'ADN qui le porte, comme on peut donner un livre avec ces marques pages, mais on considère généralement que pour la reproduction (méiose et fécondation), il y a un nettoyage de tout marquage épigénétique pour permettre le développement d'un nouvel individu.

La méthylation de l'ADN est l'acteur majeur de la mise en place de l'empreinte parentale, mécanisme par lequel l'expression d'un gène va dépendre de l'origine parentale. Par exemple, dans le cas d'un gène à expression maternelle, l'allèle paternel est méthylé et entièrement éteint alors que l'allèle maternel est non méthylé et entièrement exprimé. L'empreinte parentale dépend également des modifications de la chromatine. La méthylation de l'ADN est également souvent observée dans les gènes répétés et les rétrotransposons et pourrait être un mécanisme naturel pour l'inactivation des gènes inutiles et potentiellement délétères s'ils étaient exprimés.

Les méthylations de l'ADN peuvent soit être héritées, soit créées ou modifiées en réponse à un facteur environnemental. Dans ce dernier cas, la modification créée par l'environnement sera transmise aux descendants au même titre qu'une marque héritée.

Implication et application :

Pathologie :

L'épigénétique aurait un rôle dans des maladies complexes, mais étant un sujet d'étude récent, voire en plein boom, les études émettent majoritairement des conjectures sur des facteurs influant plus que des certitudes scientifiques sur d'éventuels rapports de cause à effet.

Causes et hérabilité :

« Trois voies de transmission sont possibles : la transmission héréditaire par les cellules germinales, ovocyte et spermatozoïdes, l'imprégnation in utero et la transmission par les interactions sociales. »

Il est question de caractéristiques de santé héritées d'un vécu des parents, par exemple l'influence du stress sur la taille des nouveaux nés ou de la faim pendant la gestation, sur la santé de la descendance (par exemple lors de la famine aux Pays-Bas en 1947). En 2002, deux études ont été publiées concernant les effets sur la descendance humaine de la nutrition.

L'une sur l'effet des privations alimentaires entre 1890 et 1920 sur la descendance. L'autre sur une population dont étaient référencés tous les individus, ainsi que leur alimentation en fonction des récoltes, et qui a montré qu'une grand-mère ayant vécu une famine transmet cette information à sa descendance qui peut développer des maladies alors qu'elle n'a jamais connu de famine.

En 2010, Frances Champagne met en corrélation la malnutrition, le stress et l'exposition aux produits toxiques de la mère avec l'état de santé des enfants, voire des petits enfants. De même, des études ont montré que les enfants de femmes enceintes durant les événements du 11 septembre 2001 possédaient un taux de cortisol plus élevé. On peut lire dans la même veine que « la mémoire traumatique de l'Holocauste se transmettrait génétiquement » avec la précision « Il s'agit de la première démonstration de transmission d'un traumatisme parental à son enfant, associé à des changements épigénétiques ».

Ces phénomènes impliqueraient que certaines maladies ne sont pas dues à une variation de la séquence d'ADN mais peut-être à des « épimutations ». Par exemple, une anomalie épigénétique serait impliquée dans plus de la moitié des cas de syndrome de Silver-Russel.

Comportement et psychisme :

Depuis 2010, des études lient des états mentaux et comportementaux à l'épigénétique par différents biais. L'épigénétique a un impact sur les neurones, via une stabilisation de leurs connexions synaptiques, ce qui aurait un rôle sur la mémoire à long terme. Un stress infantile produit une sensibilité au stress à l'âge adulte par son effet sur la méthylation de l'ADN des récepteurs au glucocorticoïde.

La dépression adulte, à la suite d'une maltraitance quotidienne de 30 minutes chez la souris, est associée à un marquage épigénétique d'un facteur neurotrophique dérivé du cerveau. En 2010, certains auteurs pensent qu'on pourra sans doute, dans un futur proche, « identifier des mécanismes épigénétiques impliqués dans le développement des maladies psychiatriques » et trouver de « nouvelles cibles thérapeutiques ». Mais en 2012, d'autres auteurs rappellent que le statut de vérité scientifique du rôle de l'épigénétique dans les troubles mentaux est encore loin d'être atteint.

Mais le sujet est aussi abordé, sans mettre en cause la science, par des auteurs qui font le lien entre pauvreté et santé mentale, par différents vecteurs, avant de conclure : « Par conséquent, la priorité devrait être donnée aux politiques et programmes qui réduisent le stress parental, augmentent le bien-être émotionnel des parents et leur assurent des ressources matérielles suffisantes ».

Prions :

Les maladies infectieuses ne sont pas habituellement décrites comme des régulateurs épigénétiques, mais et la transmission verticale de virus fonctionnent de manière identique. De plus, certains prions ont montré des effets bénéfiques et, comme ils décrivent la nature adaptative des protéines, ils ont été décrits comme des mécanismes de transmission épigénétique.

Agents pathogènes :

Certaines bactéries pathogènes sont capables d'induire des changements épigénétiques dans les cellules qu'elles infectent. Par exemple *Listeria monocytogenes* provoque des modifications d'histones par le biais de nucléomodulines tandis que l'infection par *Helicobacter pylori* entraîne une hyperméthylation du génome des cellules concernées. Cette stratégie vise généralement à empêcher l'activation de gènes de la réponse immunitaire.

Thérapeutique :

« Les variations épigénétiques sont finalement assez plastiques. Elles peuvent être effacées par des traitements chimiques, ce qui ouvre d'immenses perspectives thérapeutiques. Cet espoir s'est déjà concrétisé par le développement de premières « épidrogues » pour traiter certains cancers. »

Le terme d'épigénétique en psychologie :

Le psychologue Erik Erikson développa une *Théorie épigénétique du développement humain* traitant des crises psycho-sociales vécues par l'individu, servant ainsi à décrire différentes étapes développementales entrecoupées par ces crises. Selon lui, même si ces crises ont le plus souvent une origine génétique, la manière dont elles se vivent ne peut être expliquée par la génétique et donc, en écho à la théorie en biologie, sont qualifiées d'épigénétiques.

Le cancer : (Modifications épigénétiques et cancer)

Le cancer est une prolifération de cellules toutes issues d'un même clone qui a acquis certaines caractéristiques lui permettant une résistance accrue et une capacité à se diviser indéfiniment. On peut donc l'envisager sous l'angle d'une maladie de l'expression des gènes. En effet, les mutations spontanées des gènes sont plutôt rares, les cellules humaines en culture présentent un taux de mutations spontanées de 2×10^{-7} mutations par gène par division cellulaire et l'on considère ainsi que d'autres mécanismes sont en cause pour expliquer l'apparition des cancers.

Plusieurs types de cancers sont associés à une réduction globale du taux de méthylcytosines dans le génome par rapport au tissu normal, alors qu'à l'inverse on observe parfois que certains gènes suppresseurs de tumeurs sont rendus silencieux par méthylation *de novo* de leur promoteur.

Des tumeurs peuvent maintenir stablement une mutation sur un allèle de gène alors que l'autre est hyperméthylé, et ainsi inactivé.

De plus, les gènes suppresseurs de tumeurs résident souvent au sein de régions caractérisées par des délétions fréquentes, aboutissant à une perte d'hétérozygotie (LOH).

Enfin, dans certaines de ces régions sont observés des événements épigénétiques sans altérations génétiques.

Ces altérations épigénétiques, telles que la méthylation de l'ADN et les modifications des histones, semblent initier des processus qui résultent en une perte ou une activation de la transcription des gènes. Même une mutation peut être initialement due à un mécanisme épigénétique puisque, par exemple, une 5-méthylcytosine peut se désaminer (perte de la fonction amine) spontanément en thymine (autre base de l'ADN). Dans ce cas, la cause primaire est un phénomène épigénétique. On espère donc un jour pouvoir traiter certains cancers par des médicaments ciblant les modifications épigénétiques (moins fixes que les modifications génétiques, et parfois réversibles).

« Un essai a permis tout récemment d'observer l'effet positif d'un médicament qui supprime les modifications épigénétiques chez des personnes atteintes de cancers

induits par des virus (cancers du col de l'utérus et certains cancers ORL dont ceux du nasopharynx). Les premiers résultats sont très encourageants »

Si l'étude des causes génétiques du cancer (mutations, amplification ou perte de matériel chromosomique, translocations récurrentes) a longtemps occupé le devant de la scène, l'explosion récente des connaissances sur les acteurs moléculaires et les mécanismes sous-jacents qui, en modulant la structure de la chromatine, contrôlent l'expression des gènes a révélé le rôle prépondérant joué par des modifications épigénétiques dans le déclenchement et la progression de nombreuses maladies, en particulier des cancers. De plus, contrairement aux modifications génétiques, les modifications épigénétiques sont dynamiques et réversibles. La caractérisation d'inhibiteurs spécifiques de certains effecteurs épigénétiques a ouvert une nouvelle voie thérapeutique, la thérapie épigénétique, qui semble très prometteuse, certaines molécules étant déjà en essais cliniques.

Hyperméthylation locale et hypométhylation globale : le paradoxe de la méthylation dans les cellules cancéreuses :

Une perte de méthylation au niveau de dinucléotides CpG, seule séquence pouvant être méthylée dans le génome des mammifères, et une diminution globale du taux de méthylcytosine furent les premières modifications épigénétiques identifiées dans les cellules cancéreuses au début des années 1980. Quelques années plus tard, une hyperméthylation spécifique du gène de la calcitonine, un marqueur du cancer du poumon à petites cellules, fut mis en évidence et corrélée à son extinction transcriptionnelle. Cette observation fut ensuite étendue au gène *Rb*, puis à de nombreux autres gènes suppresseurs de tumeur.

Méthylation des motifs CpG :

Les dinucléotides CpG sont répartis de façon non uniforme dans le génome, avec une sous-représentation générale, mais un enrichissement dans de courtes régions, appelées îlots CpG, positionnées au niveau du promoteur et/ou du premier exon de plus de 60% des gènes humaine. Les profils de méthylation sont mis en place très tôt au cours du développement, par l'action concertée d'au moins trois enzymes, les méthyltransférases de l'ADN (DNMT1, -3a et -3b). L'inactivation des gènes de ces

enzymes chez la souris a montré qu'ils jouaient un rôle essentiel pour le développement normal. Un modèle a été proposé, dans lequel DNMT3a et -3b établissent les profils de méthylation au cours du développement (« méthylases *de novo* »), tandis que DNMT1 est considérée comme une « méthylase de maintenance », responsable de la transmission du profil de méthylation de la cellule mère aux cellules filles au cours de la réplication de l'ADN. Cependant, le rôle de DNMT1 comme seule enzyme de maintenance a récemment été remis en cause par des expériences d'inactivation génique dans des lignées de cellules colorectales humaines : en effet, l'hyperméthylation de certains gènes, comme le gène suppresseur de tumeur *p16INK4a*, est maintenue dans des cellules *Dnmt1*^{-/-}, et seule la double inactivation de *Dnmt1* et de *Dnmt3b* permet sa réactivation.

Une faible augmentation de l'activité ADN-méthyltransférase est observée dans les cellules transformées, mais elle ne semble pouvoir expliquer, à elle seule, ni les méthylations aberrantes, ni surtout le ciblage de certains promoteurs. Cette spécificité pourrait être le fait de facteurs de transcription, qui recruterait les DNMT au niveau du promoteur de leurs gènes cibles, comme dans le cas de la protéine de fusion PML-RAR α (*promyelocytic leukemia*-récepteur α de l'acide rétinoïque) impliquée dans des leucémies promyélocyaires aiguës.

Les CpG méthylés sont reconnus par un motif protéique conservé, d'environ 70 acides aminés, appelé MBD (*methyl-CpG binding domain*). Ce motif est porté par une famille de protéines dont les principaux membres, MeCP2, MBD1, MBD2, MBD3 et MBD4, ne se lient cependant pas tous aux CpG méthylés; par ailleurs, des auteurs ont également décrit une activité d'ADN-déméthylase pour MBD2, même si cette observation fait l'objet d'une controverse. Enfin, Kaiso, un facteur de transcription associant un domaine BTB/POZ (*broad complex, tramtrack and bricabrac/poxvirus and zinc finger*) à des doigts de zinc de type C2H2, mais ne possédant pas de domaine MBD, s'est récemment révélé capable de fixer des CpG méthylés.

Une caractéristique commune des protéines à domaine MBD, comme de Kaiso, est de pouvoir recruter, au niveau des CpG méthylés, des complexes ayant des activités de modifications post-traductionnelles des histones (désacétylation et méthylation) entraînant une extinction transcriptionnelle (**Figure 4**). Dans les cellules cancéreuses (où, rappelons-le, l'hyperméthylation de certains gènes s'inscrit de façon paradoxale

dans un contexte d'hypométhylation globale du génome de ces cellules), l'hyperméthylation des CpG entraîne donc une extinction transcriptionnelle, par modification épigénétique, de gènes suppresseurs de tumeur impliqués dans certaines fonctions essentielles pour la cellule, comme le contrôle du cycle cellulaire, la réparation des dommages de l'ADN et l'apoptose, à l'exception notable de la méthylation de l'ADN (**Tableau I**).

Concernant cette dernière, si aucun lien causal direct n'a pu être établi entre l'induction de cancers et la « machinerie de méthylation », des modifications de celle-ci ont néanmoins été impliquées dans certaines maladies: ainsi, le syndrome ICF (*immunodeficiency, chromosomal instability and facial anomalies*), caractérisé par une perte de méthylation des centromères et une grande instabilité chromosomique, mais au cours duquel on n'observe pas de prédisposition au cancer, est lié à des mutations inactivantes de DNMT3b. De même, des mutations de MeCP2 sont responsables d'un désordre neurologique, le syndrome de Rett, essentiellement observé chez les filles.

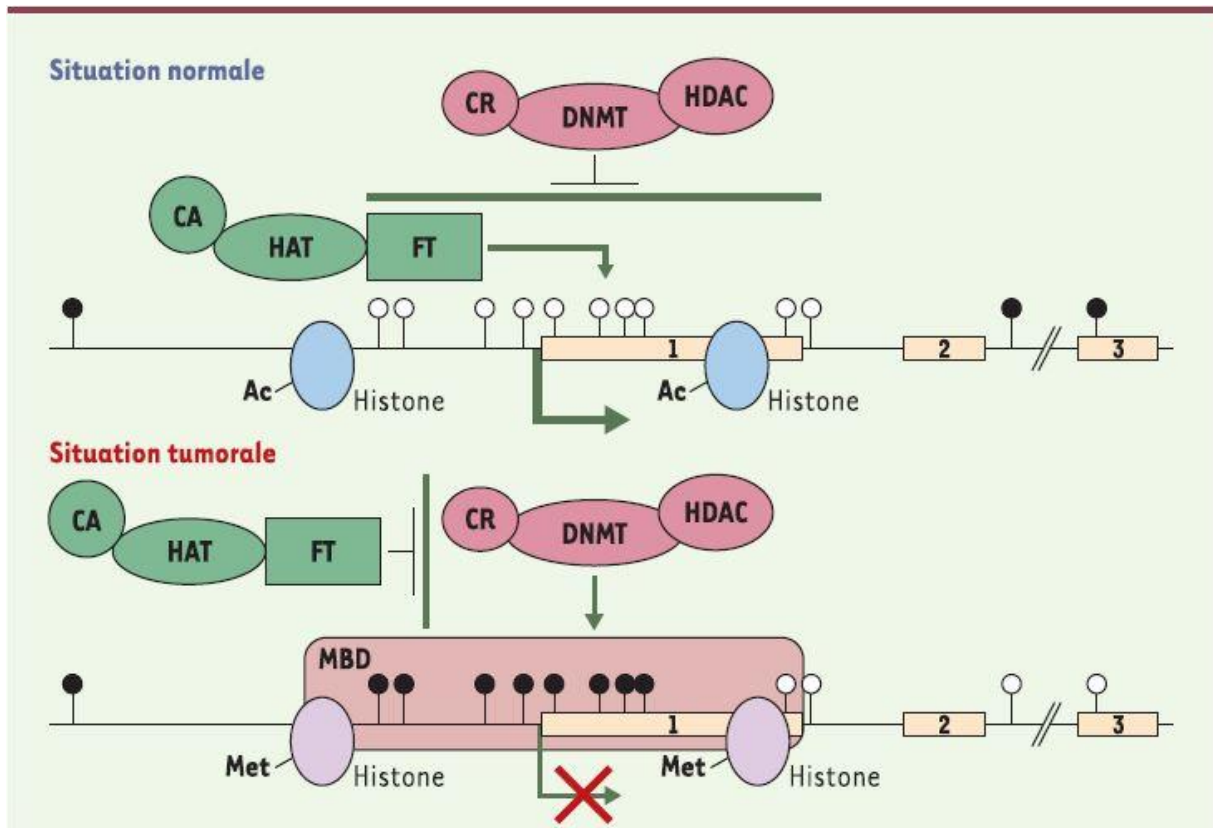


Figure 4: Aspects de la chromatine au niveau de gènes suppresseurs de tumeur, dans les situations normale et tumorale. (MEDECINE/SCIENCES, 2005)

La plupart des gènes présentent, au niveau de leur promoteur et/ou de leur premier exon, un nombre élevé de dinucléotides CpG regroupés dans des zones nommées îlots CpG. Dans une situation normale, la plupart des CpG en dehors des îlots sont méthylés (cercles noirs), tandis que les CpG des îlots ne sont pas méthylés (cercles blancs). Dans cette région promotrice, l'acétylation des histones permet de maintenir la chromatine dans un état « relâché », accessible aux complexes de transcription constitués notamment de facteur de transcription (FT), de protéines acétylant les histones (HAT) et de co-activateurs transcriptionnels (CA). Dans une situation tumorale, les profils de méthylation sont inversés, avec une hypométhylation des CpG répartis le long du génome et dans les régions codantes, et une hyperméthylation des îlots CpG au niveau des promoteurs. Ces CpG méthylés sont reconnus par des protéines à domaine MBD (*methyl-CpG binding domain*), responsables du recrutement, notamment, des enzymes de modifications post-traductionnelles des histones (désacétylation [HDAC] et méthylation), des protéines responsables de la méthylation de l'ADN (DNMT) et des corépresseurs transcriptionnels (CR). Cette zone

devient alors inaccessible aux complexes de transcription, empêchant ainsi l'expression du gène, (**Figure 4**).

Tableau 1: Gènes suppresseurs de tumeurs communément inactivés lors de la tumorigenèse. (MEDECINE/SCIENCES, 2005) :

Gènes	Rôles biologiques	Inactivation par		Principaux types de cancer associés
		Mutations génétiques	Modifications épigénétiques	
Cycle cellulaire				
<i>Rb</i>	Inhibition de la transcription dépendante de E2F	+	+	Rétinoblastome, gliome, cancer du côlon
<i>p16 INK4A</i>	Inhibiteur des CDK 4 et 6	+	+	Leucémie, lymphome, cancers de la peau et du poumon
<i>p15 INK4B</i>	Inhibiteur des CDK 4 et 6	+*	+	Leucémie, lymphome
Maintien de l'intégrité du génome				
<i>p53</i>	Transcription de gènes (cycle cellulaire et apoptose) et réparation de l'ADN	+	+*	Cancers du poumon, de la prostate, du sein et de l'ovaire
<i>BRCA1</i>	Régulation de la transcription et réparation de l'ADN	+	+	Cancers du sein et de l'ovaire
<i>O6-MGMT</i>	Réparation de l'ADN et résistance aux drogues	nd	+	Gliome, lymphome, cancers du poumon et de la prostate
<i>hMLH1</i>	Réparation de l'ADN	+	+	Cancers gastrique, du côlon et de l'ovaire
Apoptose				
<i>Caspase 8</i>	Clivage de substrats lors de l'activation des récepteurs de mort	+	+	Médulloblastome, cancers du poumon et du foie
<i>DAPK</i>	Kinase calcium-dépendante phosphorylant divers substrats	+	+	Lymphome, gliome, cancers gastrique et du col de l'utérus
Migration, invasion				
<i>E-cadhérine</i>	Interaction cellule/cellule et matrice extracellulaire	+	+	Cancers gastrique, de la thyroïde et du sein
<i>TIMP-3</i>	Inhibiteur de métallo protéases	+	+	Médulloblastome et cancer du foie
Réponse aux facteurs de croissance				
<i>PTEN</i>	Inhibition de la voie de la PI3-K	+	+*	Glioblastome, cancers gastrique, du sein et de la thyroïde
<i>ER</i>	Contrôle de la prolifération	+	+	Cancers du sein et de la prostate
Autres suppresseurs de tumeurs				
<i>HIC1</i>	? (répresseur transcriptionnel)	-	+	Médulloblastome, gliome, cancers du sein et de l'ovaire
<i>OVCA1</i>	? (homologie avec DPH2)	nd	+	Cancers de l'ovaire
<i>RASSF1A</i>	Interaction et stabilisation des microtubules	nd	+	Gliome, mélanome, cancers du poumon et du sein

Les gènes suppresseurs de tumeurs les plus souvent inactivés par des modifications épigénétiques sont représentés dans ce tableau, ainsi que les principaux types de cancers associés à ces inactivations.

Lors de la cancérisation, la perte d'expression d'un gène peut être due soit à des pertes d'hétérozygotie, soit à des mutations. Cependant, les travaux effectués ces dernières années permettent de démontrer que les modifications épigénétiques telles que l'hyperméthylation des CpG au niveau du promoteur sont également responsables de nombreuses extinctions de l'expression. Pour certains gènes tels que *p53* et *PTEN*, des cas d'inactivation due à une hyperméthylation n'ont été décrits que très récemment (+*) ; pour d'autres tels que *O6-MGMT*, *OVCA1* et *RASSF1*, la perte d'expression résulte de modifications épigénétiques et, à ce jour, aucune mutation de ces gènes n'a été décrite (nd). Enfin, dans le cas de *HIC1*, l'extinction génique semble exclusivement due à l'hyperméthylation, puisque des travaux tentant de découvrir des mutations de ce gène se sont révélés négatifs (-). *Rb*: *retinoblastoma*; *CDK*: *cyclin dependent kinase*; *BRCA1*: *breast cancer 1*; *O6-MGMT*: *O6-methyl guanine DNA methyl transferase*; *HMLH1*: *human mutant L homologue*; *DAPK*: *death associated protein kinase*; *TIMP-3*: *tissue inhibitor of metalloproteinase 3*; *PTEN*: *phosphatase and tensin homologue*; *PI3-K*: *phosphatidylinositol 3 kinase*; *ER*: *estrogen receptor*; *HIC1*: *hypermethylated in cancer 1*; *OVCA1*: *ovarian cancer 1*; *RASSF1A*: *ras effector homologue*; *DPH2*: *diphtamide biosynthesis protein 2*.

Gènes cibles de l'hyperméthylation :

S'il semble établi que l'hyperméthylation de certains gènes est une cause plutôt qu'une conséquence de la tumorigenèse, l'observation d'une telle modification épigénétique implique-t-elle forcément que le gène affecté soit un gène suppresseur de tumeur ? L'utilisation de modèles animaux peut permettre de répondre à cette question. Le gène *HIC1* (*hypermethylated in cancer 1*), codant un répresseur transcriptionnel, a été isolé dès 1995 au voisinage d'un marqueur microsatellitaire, situé en 17p13.3, fréquemment hyperméthylé dans de nombreux cancers humains.

Cependant, sa fonction de gène suppresseur de tumeur n'a été établie que très récemment, grâce à l'obtention de souris hétérozygotes qui, ayant une copie du gène invalidée par recombinaison homologue (*Hic1+/-*), développent tardivement dans leur vie des tumeurs spontanées. Les gènes soumis à l'empreinte parentale (♂) constituent

un autre groupe de gènes porteurs de méthylations aberrantes au cours de la tumorigenèse. Une région située sur le chromosome 11p15, et contenant une dizaine de gènes soumis à empreinte, est impliquée dans le syndrome de Beckwith-Wiedemann, une maladie qui se traduit par des anomalies de formation d'organes et une prédisposition à certains cancers chez l'enfant, notamment à la tumeur de Wilms. Bien que certains îlots CpG soient hyperméthylés, le génome des cellules cancéreuses se caractérise par une hypométhylation génomique globale qui peut avoir plusieurs implications fonctionnelles.

Tout d'abord, en parfaite opposition avec l'inactivation de gènes suppresseurs par hyperméthylation, elle peut toucher des îlots CpG méthylés dans les tissus normaux, et donc aboutir à la réactivation de certains gènes. Mais, l'hypométhylation est surtout particulièrement importante au niveau de séquences satellites péricentromériques, ce qui pourrait prédisposer l'ADN à des cassures ou des remaniements chromosomiques. De tels événements sont fréquemment observés au cours de plusieurs cancers, notamment dans le cas des tumeurs de Wilms, qui présentent des translocations chromosomiques non équilibrées au niveau de l'ADN péricentromérique des chromosomes 1 et 16.

Par ailleurs, on peut noter que l'hypométhylation génomique globale augmente avec l'âge, ce qui pourrait en partie expliquer l'incidence accrue des cancers chez les personnes âgées. Tous ces résultats montrent bien l'importance de cette modification épigénétique par méthylation de l'ADN dans l'apparition des cancers ; ils indiquent également qu'un équilibre subtil entre hyperméthylation et hypométhylation doit être maintenu à l'intérieur de la cellule.

Un code épigénétique complexe: les modifications covalentes des histones :

Les extrémités aminotermiales des histones, qui font saillie à l'extérieur du nucléosome, sont la cible privilégiée de modifications épigénétiques responsables de l'état transcriptionnel de la chromatine selon le « code histone ». Si de nombreuses modifications covalentes ont été mises en évidence, les plus étudiées restent aujourd'hui l'acétylation et la méthylation des résidus lysine.

Le niveau d'acétylation est la résultante de l'activité de deux familles d'enzymes antagonistes : les histone-acétyltransférases (HAT) et les histone-désacétylases (HDAC). En désacétylant les résidus lysine, les HDAC permettent de passer d'une chromatine « permissive » pour la transcription à une chromatine « réprimée », cet effet pouvant être renforcé par l'intervention ultérieure d'histone-méthyltransférases (HMT) ciblant les mêmes résidus (**Figure 2**). Si l'acétylation est clairement associée à l'activation transcriptionnelle et la désacétylation à la répression, le rôle de la méthylation semble en revanche plus complexe.

En effet, la conséquence fonctionnelle de cette modification épigénétique est variable : ainsi, la méthylation de la lysine 4 de l'histone H3 est corrélée à une activation transcriptionnelle, tandis que celle de la lysine 9 est corrélée à une répression. De plus, le « code histone » se révèle beaucoup plus complexe en ce qui concerne la méthylation, les lysines pouvant être mono-, di- ou triméthylées.

Enfin, on peut noter que la première histone déméthylase, spécifique de la lysine 4 de l'histone H3, n'a été caractérisée que très récemment (⚡). Les histone-acétyltransférases (HAT) comme CBP (*creb binding protein*) et P300, co-activateurs transcriptionnels de diverses protéines, sont la cible de nombreuses translocations chromosomiques associées à des leucémies. De plus, des mutations ponctuelles du gène *p300*, souvent accompagnées de l'inactivation du second allèle, sont retrouvées dans des tumeurs solides.

Enfin, des mutations germinales de CBP sont associées au syndrome de Rubinstein-Taybi, caractérisé par un retard mental, des anomalies faciales et une prédisposition

au cancer chez l'enfant. De façon inattendue, aucune corrélation aussi nette avec des maladies n'a pu être établie dans le cas des histone-désacétylases (HDAC). Une douzaine d'histone-méthyltransférases (HMT) spécifiques des lysines, qu'elles soient impliquées dans l'activation ou la répression transcriptionnelle, ont été liées plus au moins directement au cancer.

Le premier exemple décrit fut celui du locus ALL1/MLL1 (*acute lymphoid leukemia/myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia*) localisé en 11q23, une région impliquée dans une quarantaine de translocations chromosomiques associées à environ 80% des leucémies aiguës chez l'enfant. Une caractéristique commune des protéines de fusion obtenues est l'élimination de l'extrémité carboxyterminale de MLL1, contenant le domaine SET (*su[var]3-9, enhancer-of-zeste, trithorax*), capable de méthyler la lysine 4 de l'histone H3. *MLL1* est l'orthologue humain du gène *trithorax* de drosophile, prototype du groupe *Trithorax* (Trx-G) dont la fonction, antagoniste de celle des membres du groupe *Polycomb* (Pc-G), est la régulation positive de l'expression des gènes au cours du développement.

Des protéines Polycomb ont également été caractérisées chez les mammifères, et plusieurs d'entre elles impliquées dans la tumorigenèse : c'est notamment le cas de l'histone-méthyltransférase EZH2, ciblant principalement la lysine 27 de l'histone H3. EZH2 est surexprimée dans de nombreux cancers, en raison d'une perte de son contrôle par la voie Rb-E2F ; cette surexpression est un marqueur de mauvais pronostic pour le cancer de la prostate et du sein.

Histone-acétyltransférases et histone-désacétylases coopèrent avec des complexes de remodelage de la chromatine utilisant l'énergie issue de l'hydrolyse de l'ATP pour modifier l'accessibilité de l'ADN nucléosomique. Selon la sous-unité ATPasique impliquée, ces complexes ont été regroupés en trois sous-familles dont deux, SWI/SNF (*faulty mating-type switching/sucrose non fermenting*) et Mi-2/NuRD (*mi-2/nucleosome remodelling and deacetylation*), jouent un rôle important dans la tumorigenèse [24]. Ainsi, BRG1 (*brahma/swi2-related gene 1*), l'ATPase de l'un des complexes SWI/SNF humains, est mutée dans de nombreuses tumeurs ; de plus, son invalidation chez la souris a montré que *BRG1* est un gène suppresseur de tumeur haplo-insuffisant, puisque les souris hétérozygotes *brg1+/-*, si elles sont viables et

fertiles, développent des tumeurs vers l'âge de 16 mois. SNF5, l'un des constituants des complexes SWI/SNF, est inactivé dans de nombreux types de tumeurs, en particulier les tumeurs malignes rhabdoïdes.

Enfin, la perte d'expression de MTA3 (*metastasis associated gene 3*), un constituant spécifique de tissu du complexe Mi-2/NURD, a récemment été impliquée dans l'agressivité et le pouvoir métastatique des cancers du sein.

Les modifications épigénétiques des histones, grâce à une série d'étapes étroitement dépendantes, permettent de passer d'une chromatine transcriptionnellement active à une chromatine réprimée, d'abord de façon réversible (acétylation/désacétylation), puis d'une façon plus stable (méthylation). Récemment, des études réalisées chez les plantes et les champignons ont clairement établi une dépendance étroite et réciproque entre la méthylation des histones et celle de l'ADN : cette boucle de régulation permet de propager et de maintenir, de façon plus ou moins stable et localisée, une structure chromatiniennne réprimée de type hétérochromatine au niveau de gènes de l'euchromatine, y compris des gènes suppresseurs de tumeur.

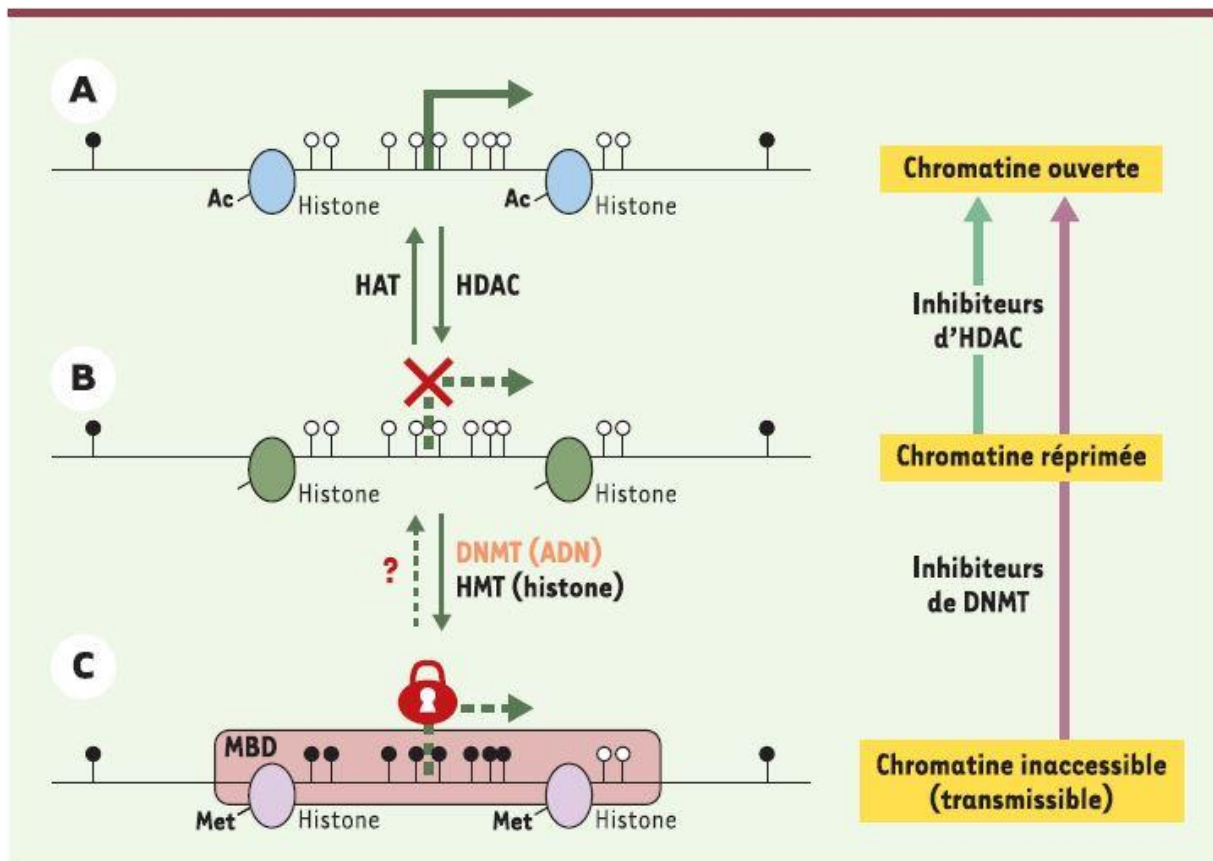


Figure 5: Modifications épigénétiques et réactivation pharmacologique. (MEDECINE/SCIENCES, 2005)

La désacétylation des résidus lysine des histones par les HDAC (histone-désacétylases) permet de passer d'une chromatine « ouverte » (**A**), accessible pour la transcription, à une chromatine « réprimée » (**B**), dans laquelle la transcription est inhibée. Néanmoins, une extinction génique transmissible lors de la mitose et/ou de la méiose est le résultat d'un « verrouillage » (**C**) encore plus important de la chromatine, caractérisé par: (1) la présence de modifications des histones, avec une désacétylation (par des HADC) accompagnée d'une hyperméthylation par des HMT (histone-méthyltransférases) des résidus lysines; (2) une méthylation des îlots CpG par des DNMT (méthyltransférases de l'ADN); et (3) la fixation de protéines à MBD (*methyl CpG binding domain*) sur les CpG méthylés. Alors que plusieurs histone-acétyltransférases (HAT), telles que CBP (*creb binding protein*) et P300, ont été décrites, la première histone déméthylase vient juste d'être découverte et l'existence d'une déméthylase de l'ADN reste un sujet de controverse. Dans le cadre d'une thérapie épigénétique antitumorale, la réactivation de la transcription des gènes inactivés est possible par l'utilisation combinée d'agents modulant l'acétylation des

histones et la méthylation de l'ADN. Ainsi, les inhibiteurs d'HDAC réactivent la transcription de gènes dont les promoteurs sont déméthylés, mais pas celle des gènes dont les promoteurs sont hyperméthylés. En revanche, les inhibiteurs de DNMT permettent de déverrouiller la transcription en déméthylant l'ADN au niveau des îlots CpG de la région promotrice, et de modifier la structure de la chromatine, d'où une réexpression des gènes.

Une nouvelle approche thérapeutique : la thérapie épigénétique :

Contrairement aux causes génétiques du cancer qui affectent la séquence de l'ADN, les modifications épigénétiques sont réversibles, ce qui ouvre des perspectives prometteuses en thérapie. Deux grandes familles d'inhibiteurs sont disponibles, spécifiques des méthyltransférases de l'ADN (DNMT) ou des histone-désacétylases (HDAC) (**Figure 5**).

La 5-azacytidine, la 5-aza-2'-désoxycytidine et leurs analogues sont des inhibiteurs des DNMT, qu'elles piègent en s'intégrant dans l'ADN à la place de résidus cytosine, permettant ainsi la réexpression de gènes suppresseurs de tumeur éteints par l'hyperméthylation. Plusieurs dérivés modifiés pour diminuer la cytotoxicité de ces composés et augmenter leur stabilité en solution aqueuse ont été utilisés en tests cliniques, et ont donné des résultats significatifs dans le traitement de différents types de leucémie.

Les inhibiteurs d'HDAC sont quant à eux regroupés en quatre groupes selon leur classe structurale. Parmi les plus connus, on peut citer des acides gras à courte chaîne, comme le butyrate, des acides hydroxamiques, comme la trichostatine A (TSA), et des térapeptides cycliques, comme la trapoxine. Dans le cas de leucémies promyélocyaires aiguës résistantes au traitement par l'acide rétinoïque (ATRA), l'utilisation conjointe d'inhibiteurs d'HDAC et d'ATRA induit des rémissions.

La démonstration du dialogue entre la méthylation des histones et celle de l'ADN, ainsi que les nombreux résultats expérimentaux obtenus sur diverses lignées cellulaires orientent les protocoles thérapeutiques vers une utilisation conjointe de ces deux types d'inhibiteurs, ou en complément de thérapies classiques. En dépit de nombreux

problèmes encore à résoudre, notamment de toxicité et de spécificité, et même si tous les mécanismes moléculaires ne sont pas encore totalement élucidés, cette nouvelle approche thérapeutique est sans aucun doute promise à un bel avenir.

Thérapies épigénétiques :

La thérapie épigénétique agit sur l'expression des gènes, quand la thérapie génique consiste à changer les gènes.

La thérapie épigénétique peut consister néanmoins à agir directement sur l'ADN, sur la nature de ses constituants. C'est le cas d'une thérapie qui consiste à réactiver un gène silencieux en empêchant la méthylation de l'ADN en substituant un nucléotide normal (ici la cytosine), par un nucléotide qui ne peut être méthylé. Les analogues nucléosides ne pouvant être méthylés comme la 5-azacytidine sont incorporés lors de la réplication de l'ADN, ce qui semble montrer une efficacité dans le traitement de cancer du poumon, et des essais cliniques sont en cours pour traiter les syndromes myélodysplasiques et certaines leucémies, sièges d'une hyper méthylation génique.

Conclusions :

L'épigénétique est définie comme « l'étude des modifications de l'expression des gènes qui sont transmissibles lors de la mitose et/ou la méiose, mais ne découlent pas de modifications dans la séquence de l'ADN ». La mise en place du programme épigénétique est cruciale au cours du développement, et sa stabilité est essentielle pour le maintien des fonctions de chaque type cellulaire au cours de la vie d'un organisme. Les nucléosomes, unité de base du matériel génétique sont, au niveau de leur composition comme de leur arrangement, la cible principale de mécanismes de régulation épigénétiques.

Ceux-ci mettent en oeuvre un ensemble complexe d'étapes étroitement interconnectées et dépendantes qui, depuis le dépôt (« écriture ») des marques épigénétiques jusqu'à leur « lecture » et leur interprétation, permettront de moduler l'activité transcriptionnelle des gènes. Des changements épigénétiques majeurs sont associés à la cancérogenèse, notamment des méthylations aberrantes de l'ADN au niveau de dinucléotides CpG et des modifications post-traductionnelles des extrémités aminoterminales.

L'importance cruciale des modifications épigénétiques au cours du développement normal et leur implication dans de nombreuses maladies ne font plus aucun doute. Un champ fantastique de recherche a ainsi été ouvert, même si de nombreux mécanismes et acteurs moléculaires doivent encore être découverts. Outre son intérêt théorique dans le décryptage des mécanismes fondamentaux de la régulation de l'expression des gènes, l'épigénétique ouvre également des perspectives fascinantes pour l'utilisation de nouvelles approches thérapeutiques.

Ainsi, ces dernières permettraient de restaurer l'expression des multiples gènes hyperméthylés au sein d'un même type de cancer.

Par ailleurs, il a été démontré que le nombre de CpG méthylés augmentait avec l'âge, contribuant en partie au développement de maladies chroniques : dans ce cadre,

l'utilisation des thérapies épigénétiques pourrait être également envisagée. Toutefois, bien que plusieurs agents inhibant la méthylation aient été découverts à ce jour, la plupart ne sont pas spécifiques des méthyltransférases de l'ADN. Les récents progrès concernant la compréhension des phénomènes épigénétiques permettent d'envisager dès à présent des approches plus rationnelles, notamment au niveau de la modélisation moléculaire d'agents ciblant spécifiquement ces modifications épigénétiques.

Thérapies indirectement épigénétiques :

Une intervention indirecte sur l'épigénome consiste à moduler la disponibilité des groupements méthyles. Pour ce faire, il est possible :

- 1- De faire varier les concentrations de cofacteurs transportant les groupes méthyles (plus couramment la cobalamine — vitamine B12 — et l'acide folique, mais aussi la choline et la triméthylglycine, une bétaine) ;
- 2- D'intervenir sur les xénobiotiques et les autres facteurs reconnus pour avoir un impact sur la méthylation (ces traitements sont le plus souvent préventifs) ;
- 3- De contrer le stress oxydatif, reconnu pour son impact négatif sur l'épigénome ;
- 4- De réduire les concentrations d'homocystéine ;
- 5- De moduler la disponibilité des groupes méthyles en intervenant sur leur incorporation dans les accepteurs de groupes méthyles autres que l'ADN, notamment les phospholipides des membranes cellulaires.

Il a été proposé que la vitamine B12, l'acide folique, l'ADH, ainsi que le stress oxydatif ont un rôle à jouer, *via* des modifications épigénétiques, dans les altérations de la neurogenèse observées chez les enfants prématurés.

Médicaments et drogues ayant des effets épigénétiques nonthérapeutiques :

Des médicaments et des drogues peuvent avoir des effets épigénétiques. Selon les études les plus récentes, ces effets seraient fréquents. Par exemple, 5 % des médicaments connus interagissent avec l'histone désacétylase, qui n'est qu'un facteur de régulation épigénétique parmi d'autres. Parmi les médicaments et drogues ayant des effets épigénétiques indésirables, on peut mentionner certains des plus connus : le célécoxib, un anti-inflammatoire non stéroïdien, les antidépresseurs de classe ISRS (le citalopram, la fluoxétine) et tricyclique (l'imipramine), la tamoxifène, un régulateur

des récepteurs de l'oestrogène utilisé dans le traitement du cancer du sein, l'acide valproïque, un médicament indiqué dans de nombreuses pathologies neurologiques, et, parmi les drogues, la cocaïne et les opiacés. La liste est encore incomplète. Voir aussi : Effet épigénétique des antidépresseurs.

Une étude suggère que les effets secondaires épigénétiques des médicaments peuvent être impliqués dans l'étiologie des maladies cardiaques, le cancer, les troubles neurologiques et cognitifs, l'obésité, le diabète, l'infertilité, et la dysfonction sexuelle. Tout effet secondaire épigénétique causé par un médicament, peut persister une fois le médicament arrêté.

Références :

- Wolfe AP, Matzke MA. Epigenetics: regulation through repression. *Science* 1999; 286: 481-6.
- Li E. Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development. *Nat Genet* 2002; 3: 662-73.
- Egger G, Liang G, Aparicio A, *et al.* Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 2004; 429: 457-63.
- Lund AH, van Lohuizen M. Epigenetics and cancer. *Genes Dev* 2004; 18: 2315-35.
- Jones PA, Baylin SB. The fundamental roles of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet* 2002; 3: 415-28.
- Herman JG, Baylin SB. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Engl J Med* 2003; 349: 2042-54.
- Hake SB, Xiao A, Allis CD. Linking the epigenetic language of covalent histone modifications to cancer. *Br J Cancer* 2004; 90: 761-9.
- Feinberg AP, Tycko B. The history of cancer epigenetics. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 143-53.
- Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev* 2002; 16: 6-21.
- Bestor TH. The DNA methyltransferases of mammals. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 2395-402.
- Fuks F. Les méthyltransférases de l'ADN: du remodelage de la chromatine au cancer. *Med Sci (Paris)* 2003; 19: 477-80.
- Ting AH, Jair KW, Suzuki H, *et al.* CpG island hypermethylation is maintained in human colorectal cancer cells after RNAi-mediated depletion of DNMT1. *Nat Genet* 2004; 36: 582-4.
- Rhee I, Bachman KE, Park BH, *et al.* DNMT1 and DNMT3b cooperate to silence genes in human cancer cells. *Nature* 2002; 416: 552-6.
- Claus R, Lübbert M. Epigenetic target in hematopoietic malignancies. *Oncogene* 2003; 22: 6489-96.
- Filion G, Defossez PA. Les protéines se liant à l'ADN méthylé: interprètes du code épigénétique. *Med Sci (Paris)* 2004; 20: 7-8.
- Xu GL, 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.

Kriaucionis S, Bird A. DNA methylation and Rett syndrome. *Hum Mol Genet* 2003; 12: 221-7.

Chen WY, Zeng X, Carter MG, *et al.* Heterozygous disruption of Hic1 predisposes mice to a gender-dependent spectrum of malignant tumors. *Nat Genet* 2003; 33: 197-202.

Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. *Science* 2001; 293: 1074-80.

Kouzarides T. Histone methylation in transcriptional control. *Curr Opin Genet Dev* 2002; 12: 198-209.

Iyer NG, Ozdag H, Caldas C. p300/CBP and cancer. *Oncogene* 2004; 23: 4225-31.

Schneider R, Bannister A, Kouzarides T. Unsafe SETs : histone lysine methyltransferases and cancer. *Trends Biochem Sci* 2002; 27: 396-402.

Cao R, Zhang Y. The functions of E(Z)/EZH2-mediated methylation of lysine 27 in histone H3. *Curr Opin Genet Dev* 2004; 14: 155-64.

Roberts CWM, Orkin SH. The SWI/SNF complex-chromatin and cancer. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 133-42.

Fujita N, Jaye DL, Kajita M, *et al.* MTA3, a Mi-2/NuRD complex subunit, regulates an invasive growth pathway in breast cancer. *Cell* 2003; 113: 207-19.

Fahrner JA, Baylin, SB. Heterochromatin : stable and unstable invasions at home and abroad. *Genes Dev* 2003; 17: 1805-12.

Villar-Garea A, Esteller M. DNA demethylating agents and chromatin-remodelling drugs: which, how and why. *Curr Drug Metab* 2003; 4: 11-31.

Bachman KE, Park BH, Rhee I, *et al.* Histone modifications and silencing prior to DNA methylation of a tumor suppressor gene. *Cancer Cell* 2003; 3: 89-95.

Gius D, Cui H, Bradbury CM, *et al.* Distinct effects on gene expression of chemical and genetic manipulation of the cancer epigenome revealed by a multimodality approach. *Cancer Cell* 2004; 6: 361-71.

Laurie Herviou. Etude de l'implication de mécanismes épigénétiques dans la physiopathologie du myélome multiple et dans la différenciation plasmocytaire normale. Médecine humaine et pathologie. Université Montpellier, 2018 ; p.12

Sophie Deltour, Valérie Chopin, Dominique Leprince. Modifications épigénétiques et cancer. *MEDECINE/SCIENCES* 2005 ; 21 : 405-11.

Marine Corniou. Cancer : l'épigénétique et la chromatine au cœur des recherches. Québec Sciences 2019.

Mecanismes de transcription de l'ADN en ARNm au sein du noyau, Sciences de la Vie et de la Terre - Lycée - Première S - Synthèse des protéines, 2018.