

Epigénétique :

Point sur les recherches en cours sur *stress inflammatoire et grossesse.*

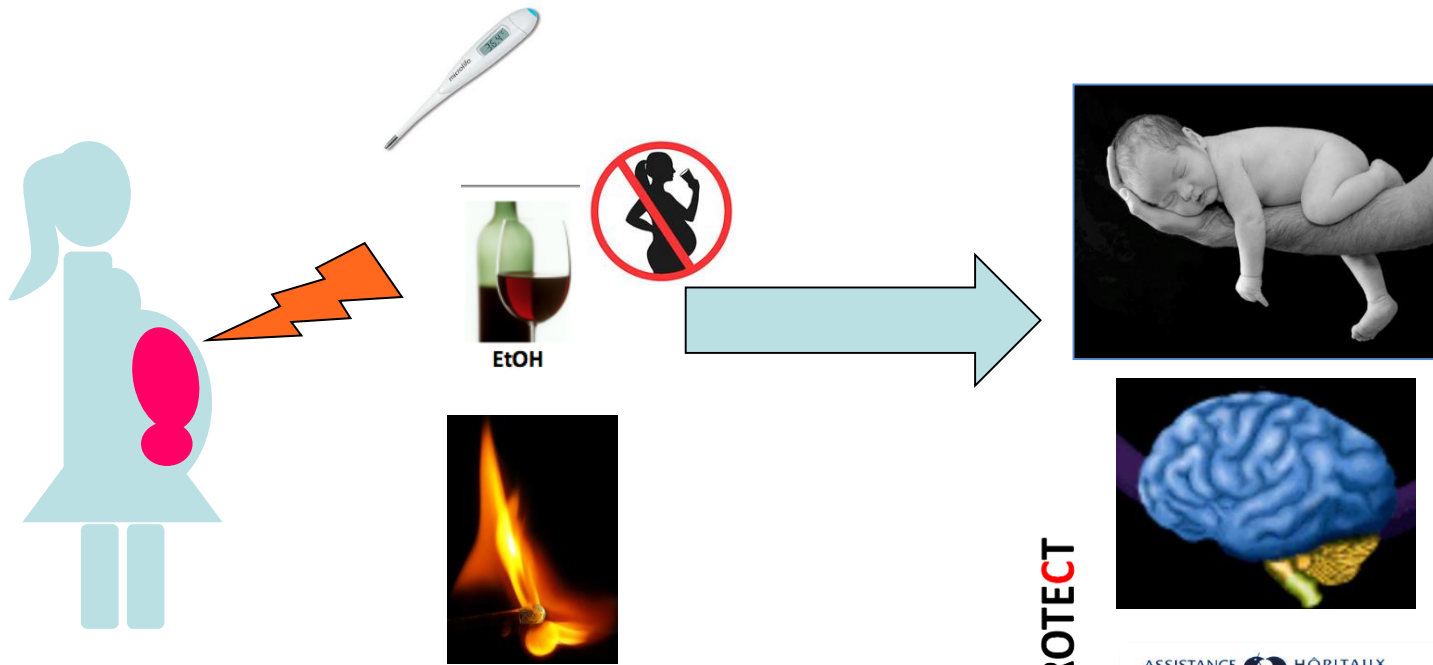
Délara Sabéran-Djoneidi

1^{er} Avril 2016



Problématique de recherche

Quels sont les effets d'un stress périnatal sur le développement du cerveau embryonnaire?



Risques de :
Retard mentaux,
troubles cognitifs,
sensibilité à de nouveaux stress,
allergies...

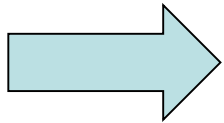
DHU PROTECT



Quels sont les effets d'un stress périnatal sur le développement du cerveau embryonnaire?

- **Effet sur le développement** (*i.e.* altération de la migration neuronale)

- **Modification de la méthylation de l'ADN**
- **Effet sur les facteurs associés à l'ADN**
i.e. altération de l'accessibilité de certains gènes à la transcription



Nécessité de clarifier les effets directs sur le développement du cerveau embryonnaire, des effets indirects (modifications épigénétiques)

Qu'est ce que l'épigénétique?

Phénotype **stable et héritable** résultant de changements de la chromatine sans affecter la séquence d'ADN :

⇒ Contrôle de l'accessibilité de l'information génétique au sein du génome.

⇒ Modifications héritables de la « fonction » du génome

Le génome porteur de l'information génétique?

Un même génome

Dépendant de
signaux émis par
le poisson
prédateur de la
puce d'eau
(*Daphnia
lumholtzi*),



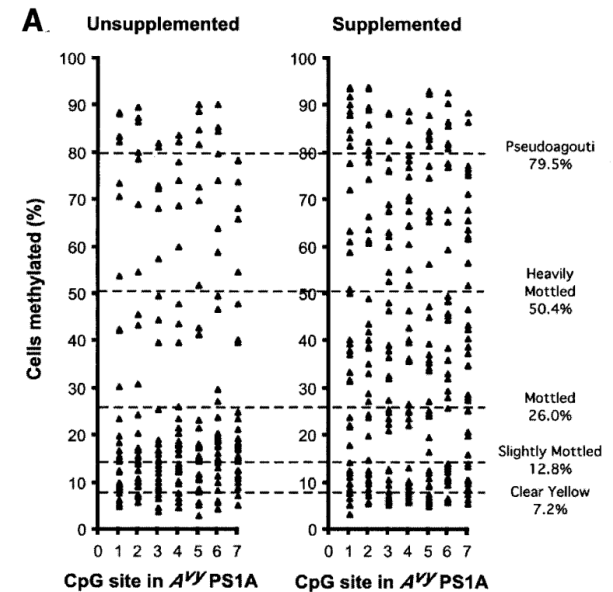
Différent phénotypes

Le génome porteur de l'information génétique?

Un même génome

Dépendant de
l'alimentation de
la mère durant la
gestation
(alimentation plus
ou moins riche en
folate, Vit B12
choline et betaine)

Supplémentation
de l'alimentation



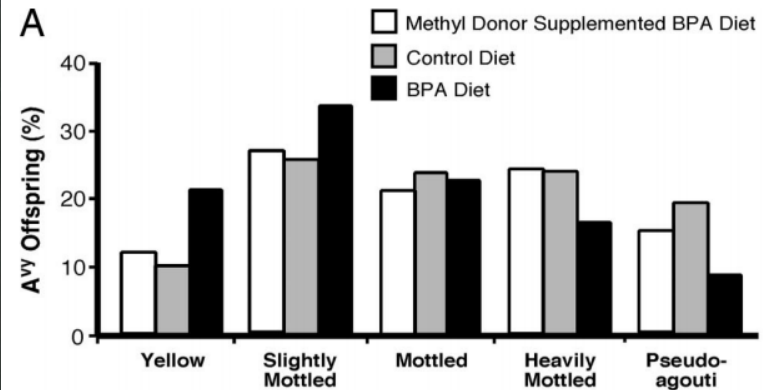
L'état de méthylation du locus
agouti dépend de
l'alimentation de la mère

Différent phénotypes

Le génome porteur de l'information génétique?

Un même génome

Dépendant de
l'exposition au
Bisphénol A
(induit une
hypométhylation
de l'ADN)



Méthylation du
locus agouti

Le traitement au BPA est
compensé par l'apport en
groupe méthyl

Différent phénotypes

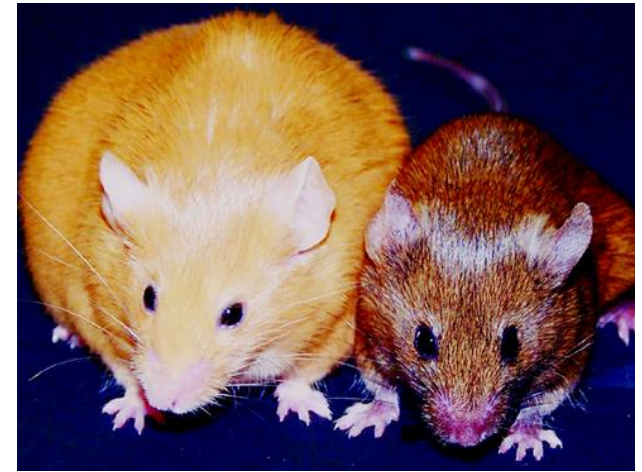
Le génome porteur de l'information génétique?

Un même génome

Dépendant de l'exposition au **Bisphénol A** de la mère (induit une hypométhylation de l'ADN)



Souris âgées de 3 semaines



Souris âgées de 1 an

mères exposées au BPA
alimentation normale ou riche en folate

Différent phénotypes

Le génome porteur de l'information génétique?

Un même genome



Live specimen of *Peloria*



Normal *Linaria* (toadflax)

Différent phénotypes

Dépendant du
niveau de
méthylation de
gènes impliqués
dans la formation
de la fleur

Le génome porteur de l'information génétique?

Un même genome

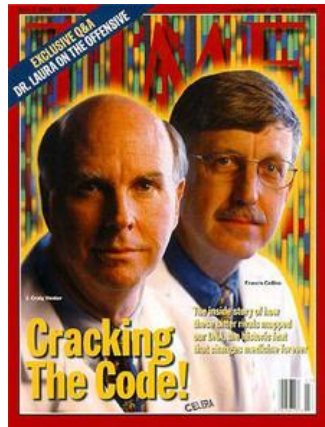
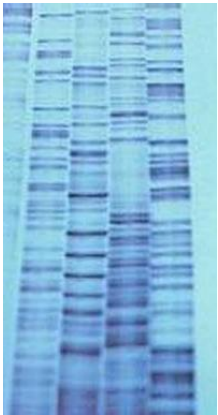
Dépendant du
niveau de
méthylation de
certains gènes



Différent phénotypes

Le génome porteur de l'information génétique

Le décryptage du génome :



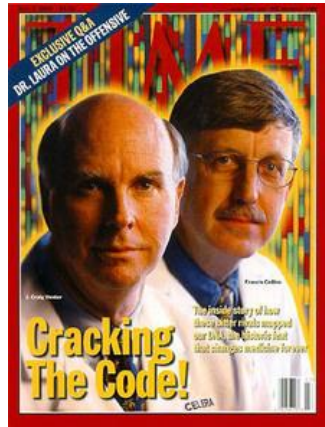
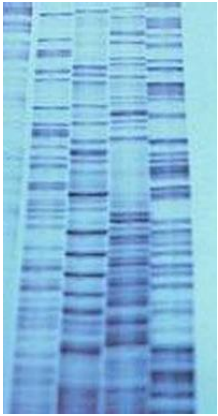
Human Genome project



1989-2003

Le génome porteur de l'information génétique

Le décryptage du génome :



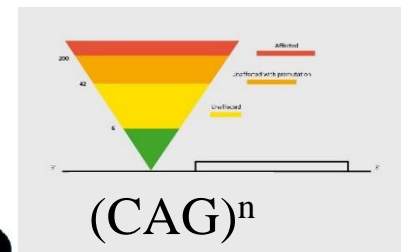
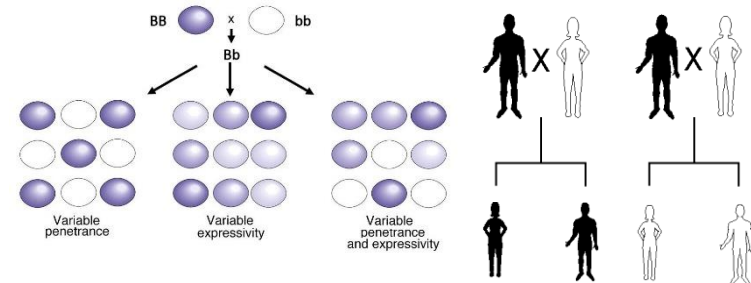
Human Genome project



1989-2003



Barbara Mc Clintock

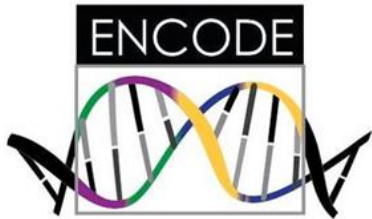


12

L'épigénome porteur de l'information génétique?

Le décryptage du génome : les perspectives aujourd'hui

National Human Genome Research Institute



**Définir des séquences
fonctionnelles du génome**

**Un projet pour définir des séquences
fonctionnelles du génome en fonction
de l'identité cellulaire
⇒ Notion de dynamique**

2003-...

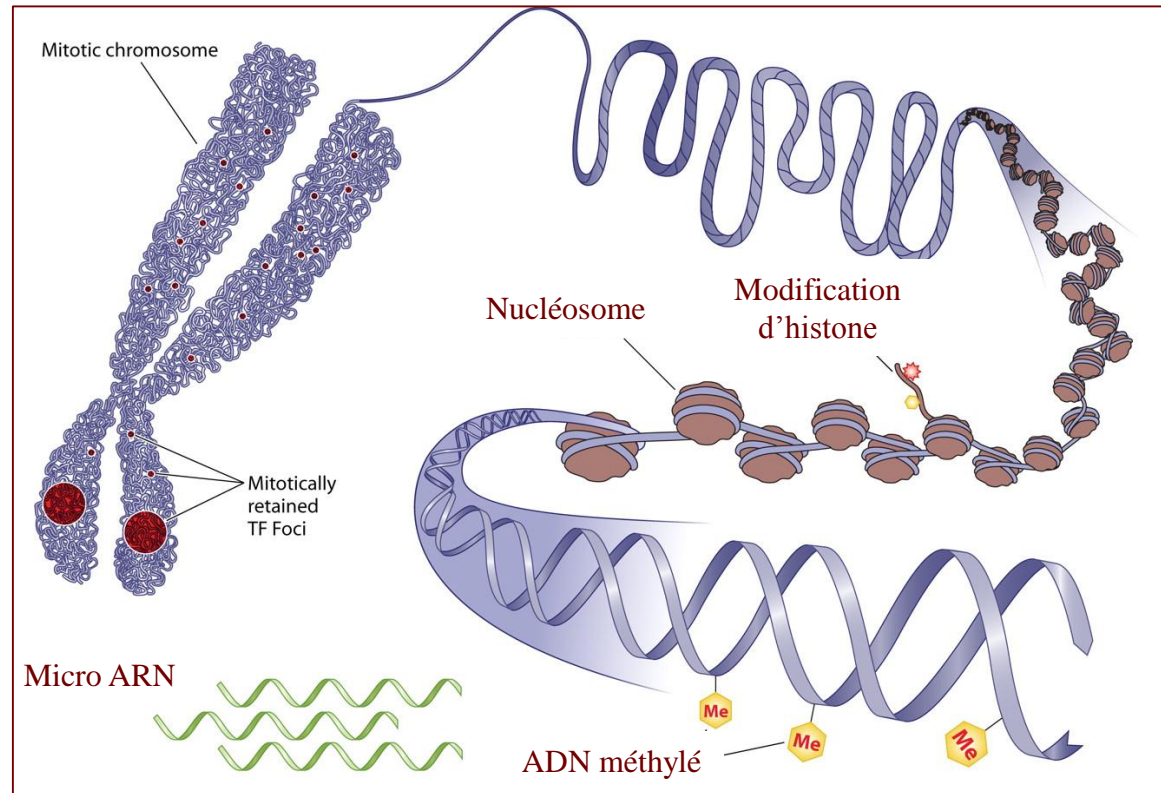


Il faut pouvoir décrypter une *combinatoire*
de « mots » :

- Séquence d'ADN
- Facteurs de transcription
- Histones
- Remodeleurs de la chromatine

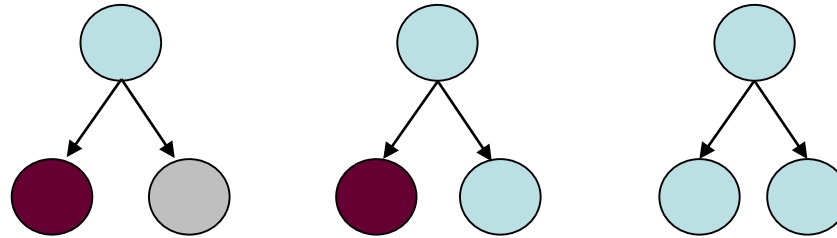
L'épigénome porteur de l'information génétique?

L'identité cellulaire une question d'utilisation différentielle du génome



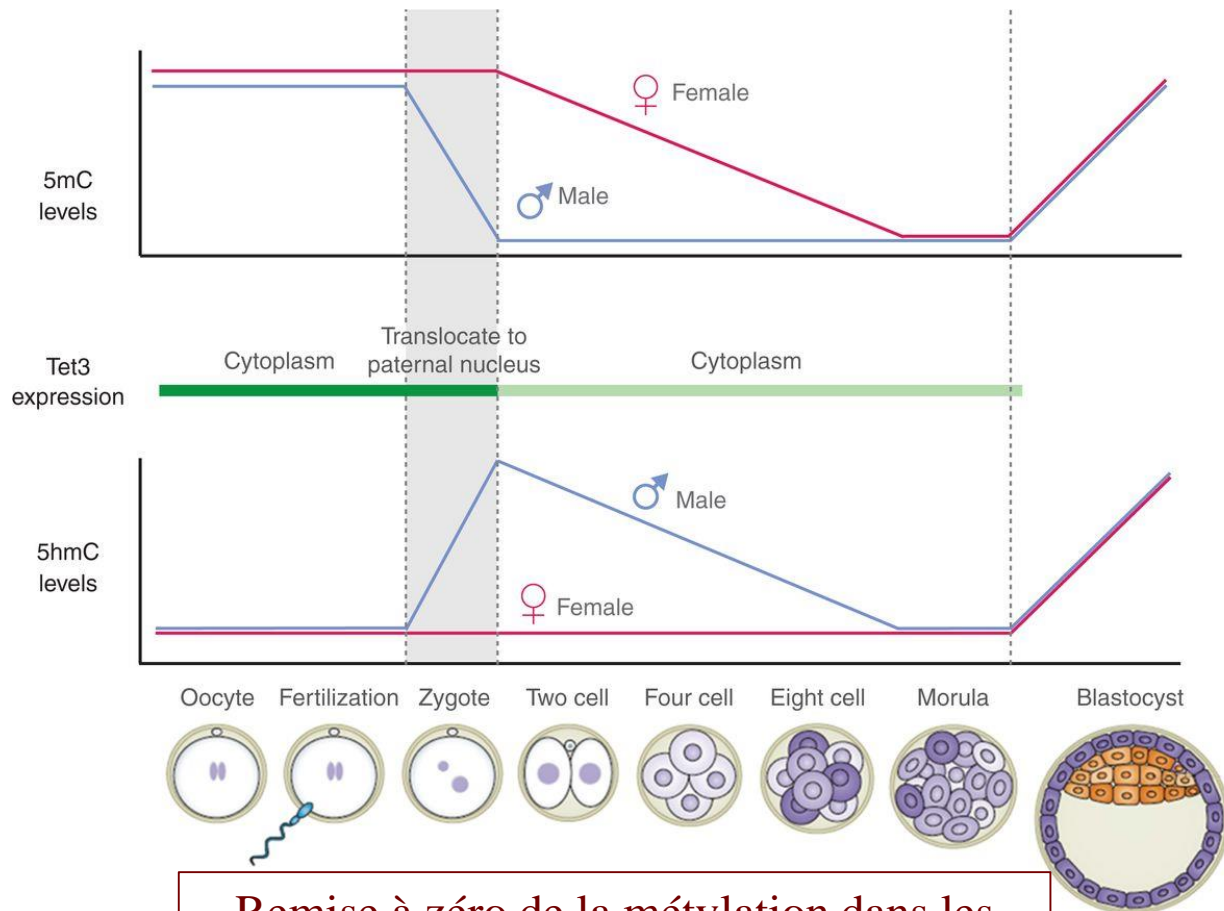
L'épigénome porteur de l'information génétique?

L'identité cellulaire une question d'utilisation différentielle du génome



L'embryon est déméthylé avant l'implantation

Dynamics of 5mC/5hmC/5fC/5caC in paternal and maternal genomes during preimplantation development.



Remise à zéro de la méthylation dans les cellules germinales

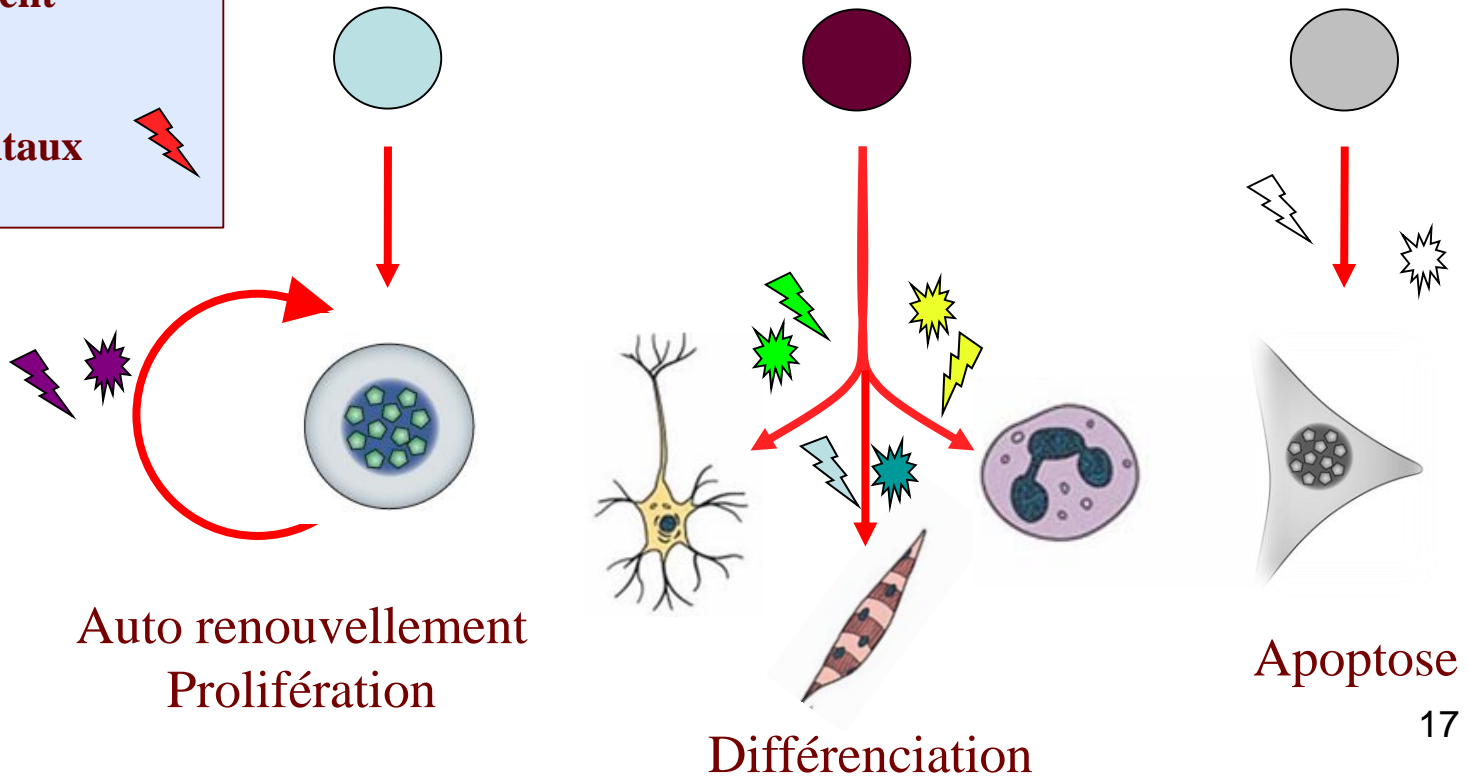


L'épigénome porteur de l'information génétique?

L'identité cellulaire une question d'utilisation différentielle du génome

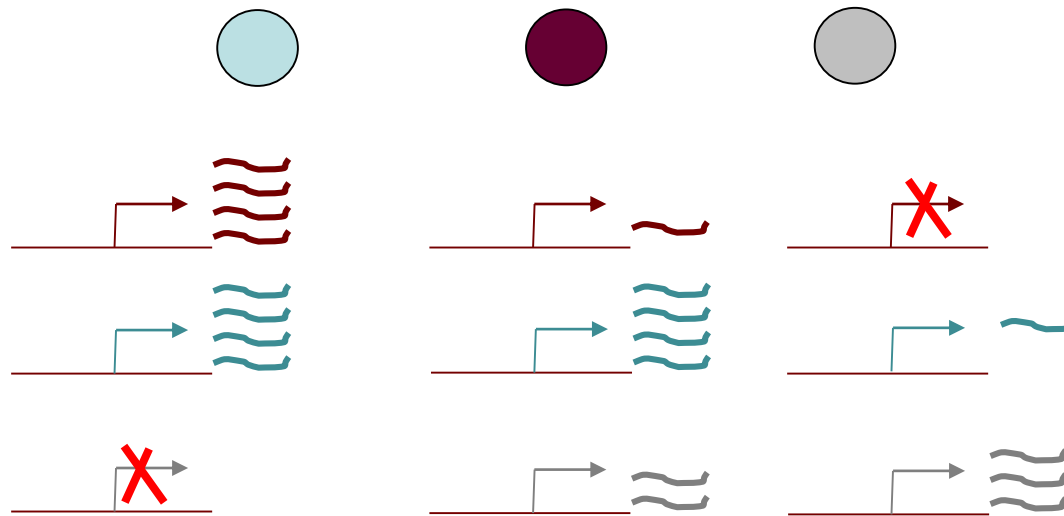
Signaux émis au cours du développement

Stress Environnementaux



L'épigénome porteur de l'information génétique?

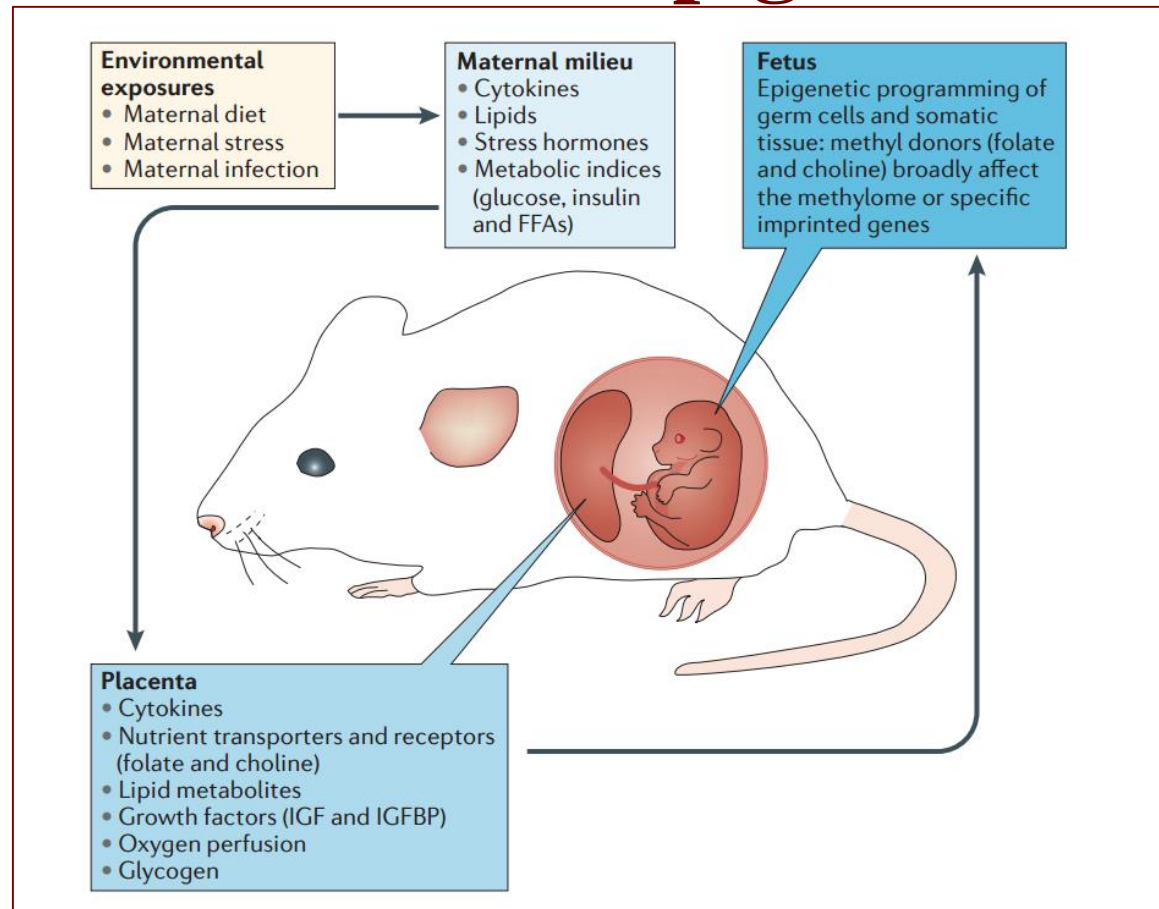
L'identité cellulaire une question d'utilisation différentielle du génome



Une identité cellulaire dépend d'une **combinaison** d'expression génique
La cellule doit **acquérir** une identité et doit pouvoir la **maintenir**

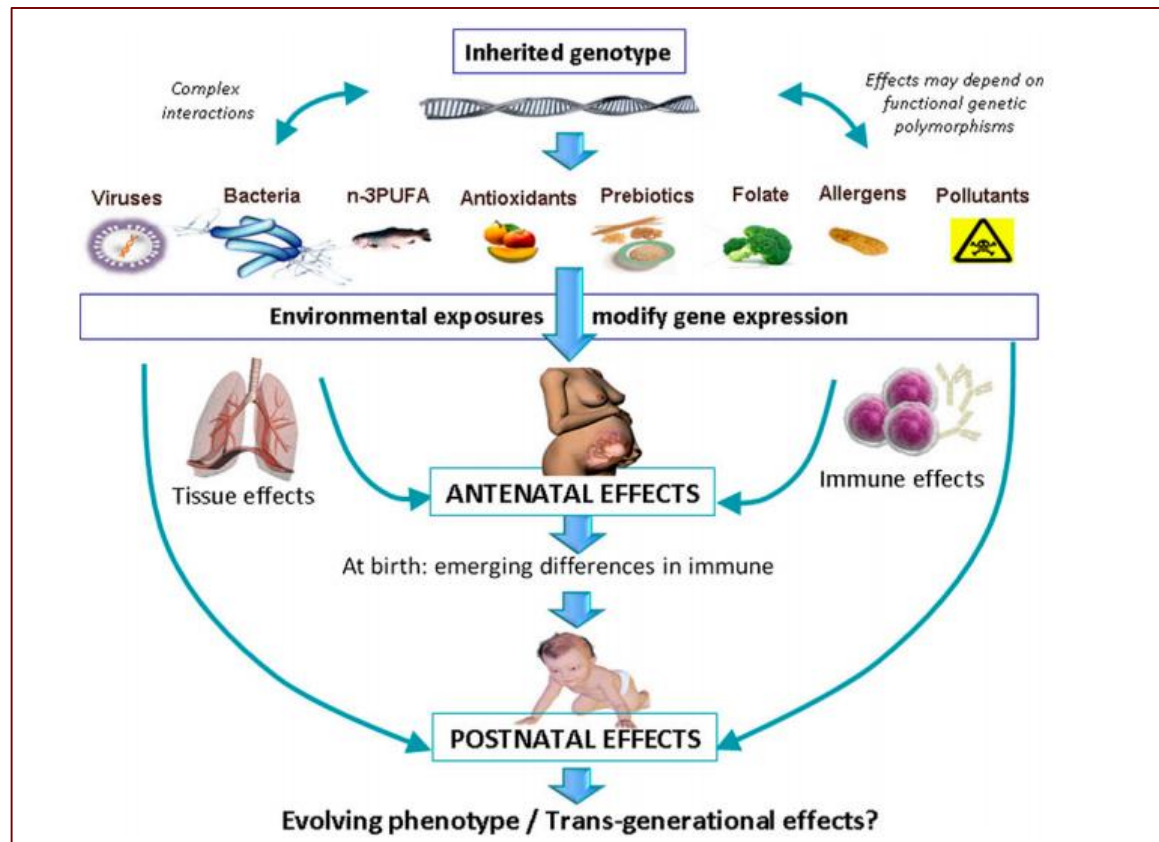
Stress et gestation

Les stress prénataux ont-ils une influence sur l'épigénome?



Stress et gestation

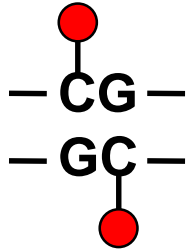
Les stress prénataux ont-ils une influence sur l'épigénome?



Risques allergiques, déficits cognitifs, retard mentaux, risques de pathologies psychiatriques... 20

Les modifications de l'épigénome

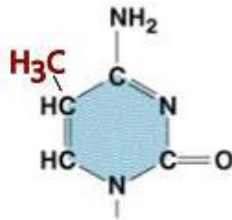
Methylation de l'ADN



Etat Chromatinien Expression Genique

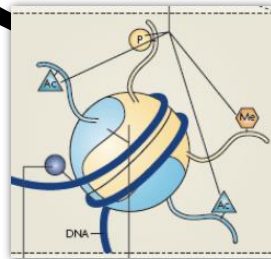
DNA méthyltransférases
DNMT1
DNMT3A
DNMT3B
DNMT3L

5-methylcytosine

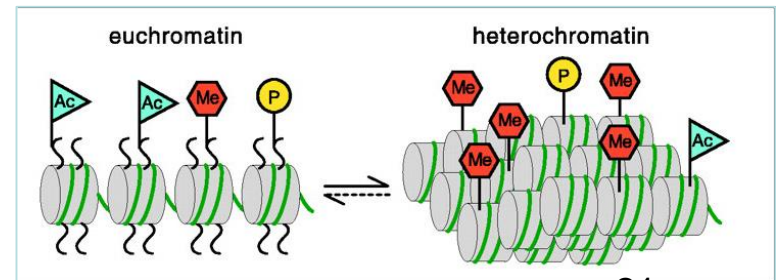


ARN non codant

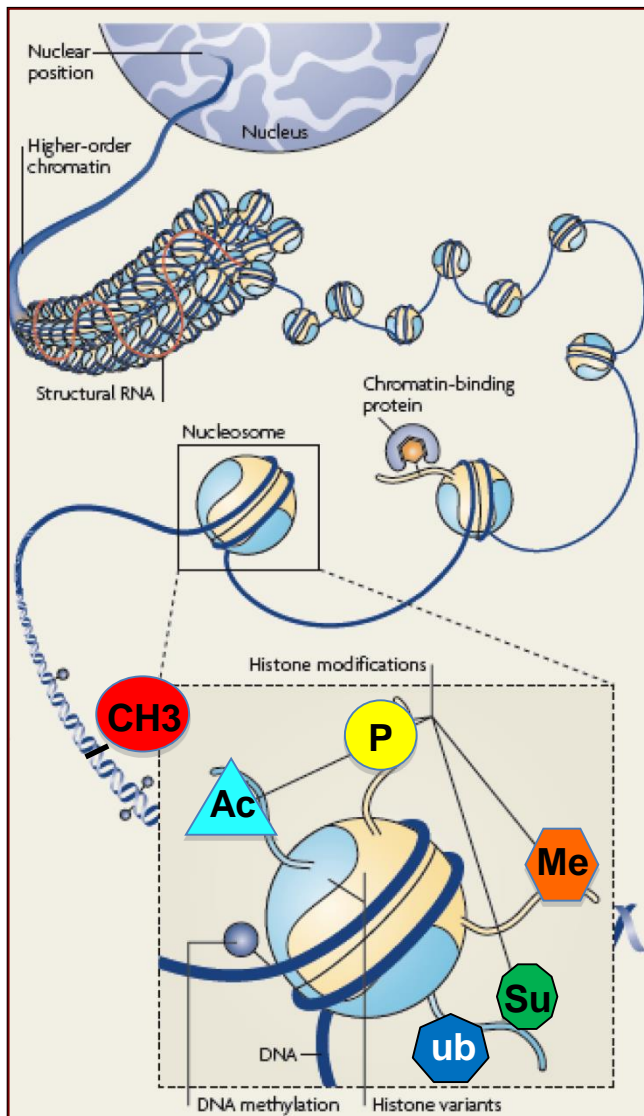
Histone acetyl-transférases (HATs)
Histone déacétylases (HDACs)



Chromatine & Histone



Les modifications de l'épigénome



**Compaction de l'ADN
+
information épigénétique
= Identité cellulaire**

1- Méthylation de l'ADN



**2- Modifications des histones
et variants d'histones**



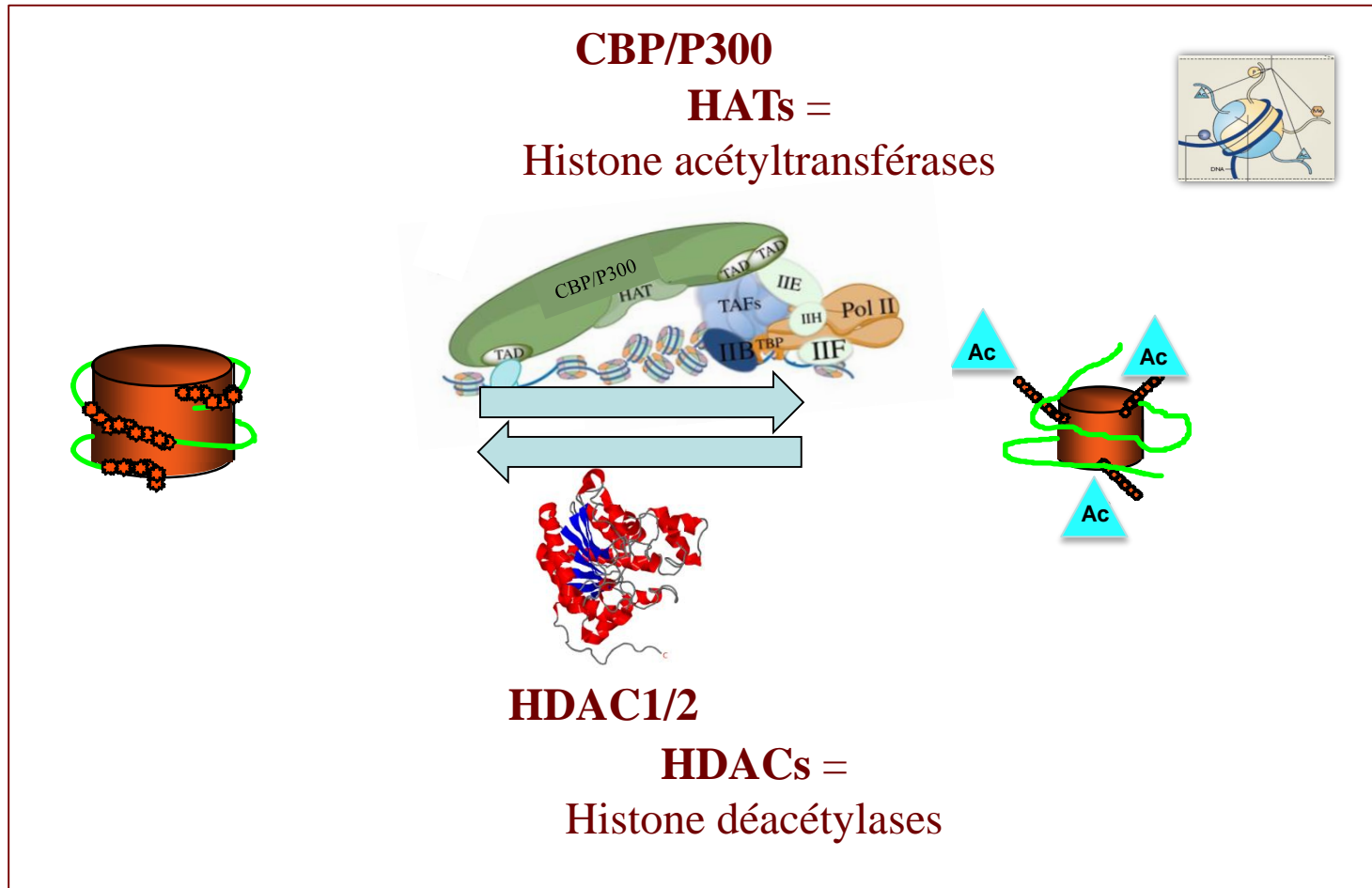
3- ARNs non codants

4- Distance entre les nucléosomes

5- Niveau de compaction

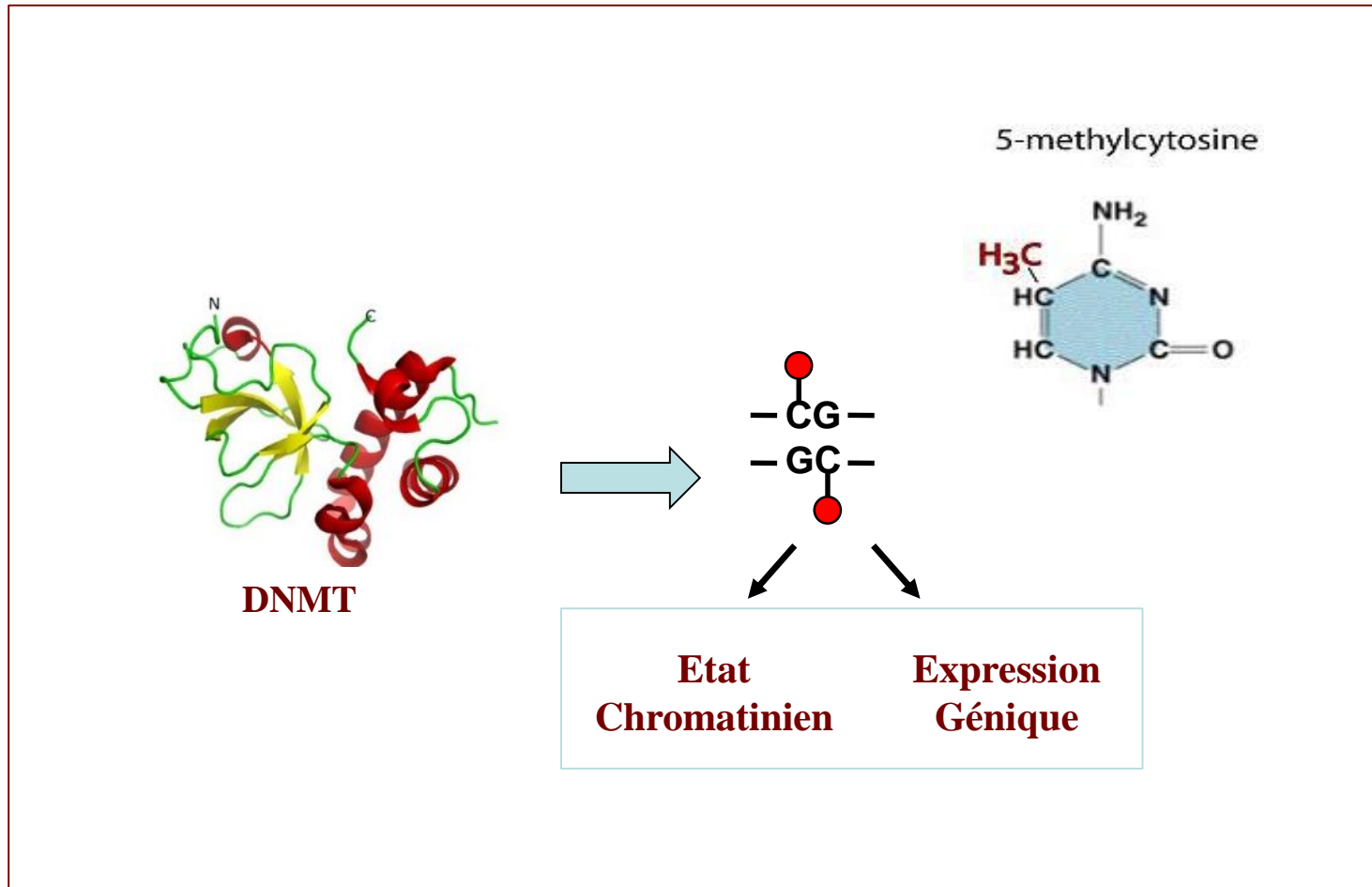
Les modificateurs de l'épigénome

L'acétylation des histones



Les modificateurs de l'épigénome

La méthylation de l'ADN



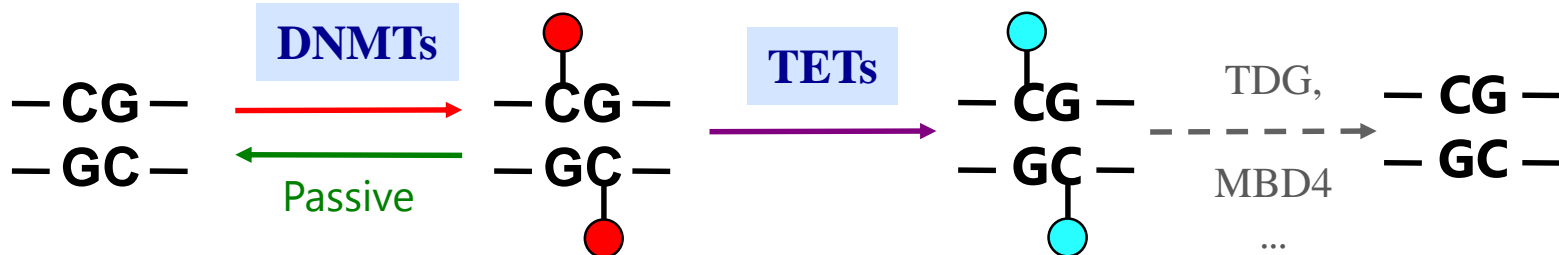
Les modificateurs de l'épigénome

La méthylation de l'ADN

WRITERS

 C : 5-methyl-cytosine

 C : 5-hydroxymethyl-cytosine

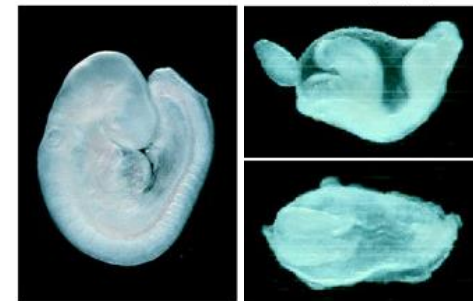


État chromatinien Expression des gènes

Fonctions essentielles

WT

Dnmt1(c/ps)



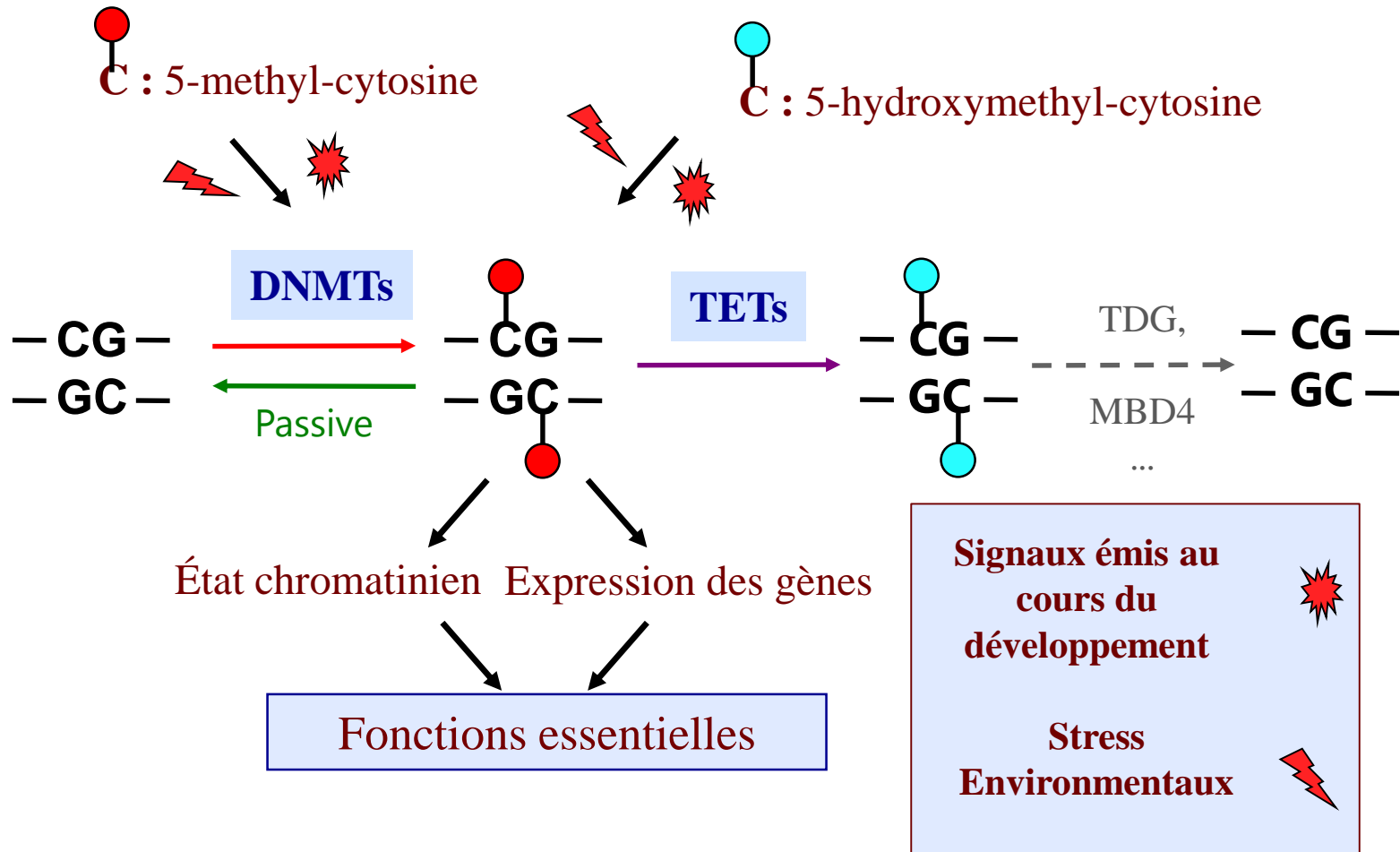
Les modificateurs de l'épigénome

La méthylation de l'ADN

WRITERS



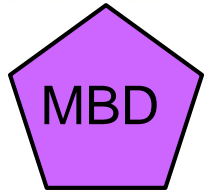
© Mystic Arts, LLC



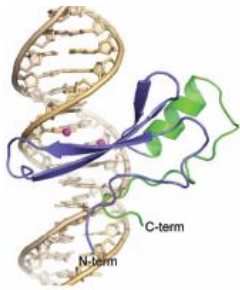
La méthylation de l'ADN

Une marque essentielle de l'épigénome

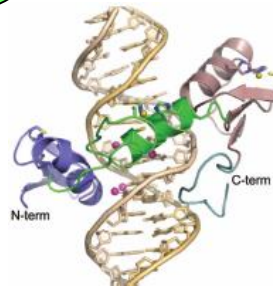
READERS



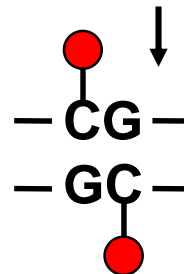
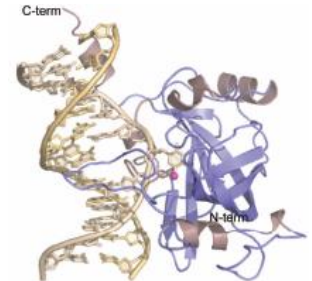
MeCP2, MBD1
MBD2, MBD4



ZBTB4, ZBTB33,
ZBTB38, ZFP57

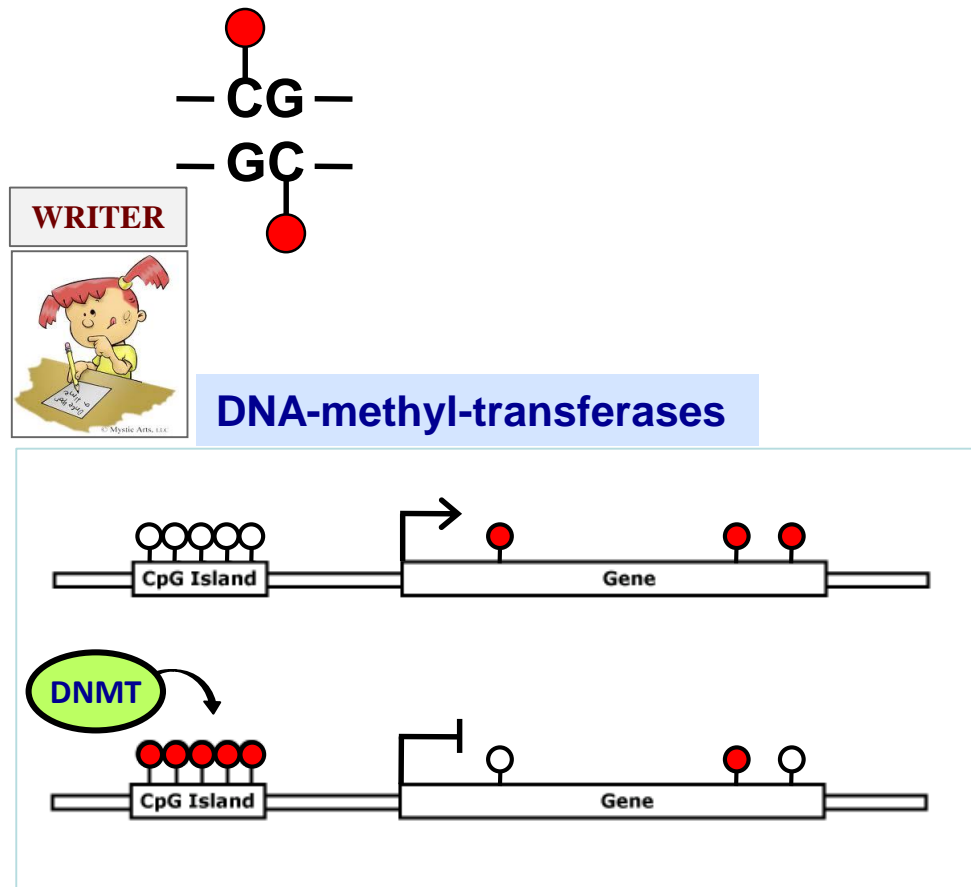


UHRF1
UHRF2



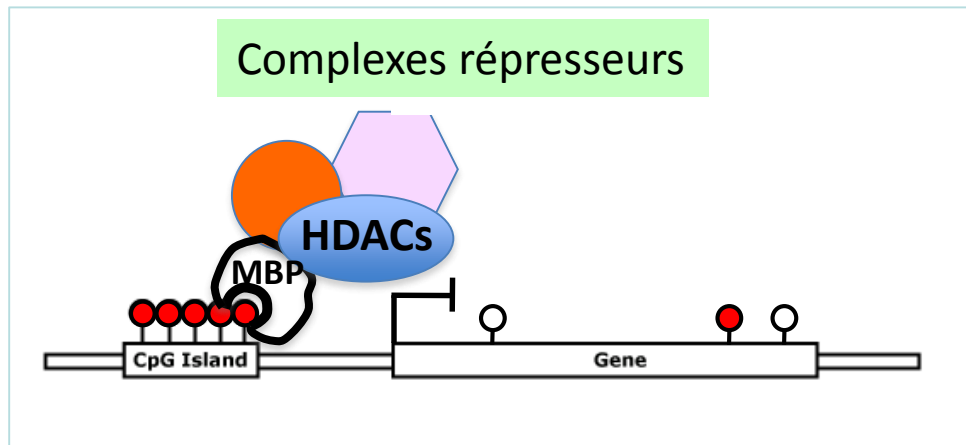
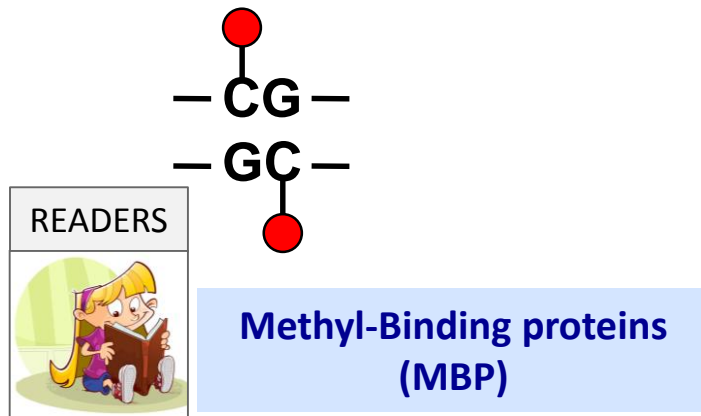
La méthylation de l'ADN

Une marque essentielle de l'épigénome

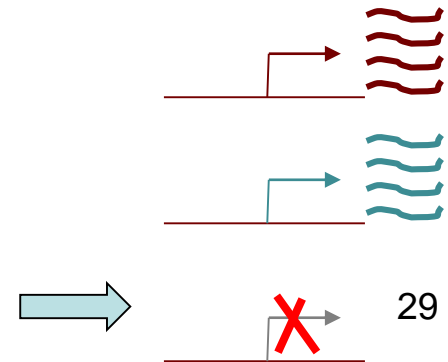


La méthylation de l'ADN

Une marque essentielle de l'épigénome

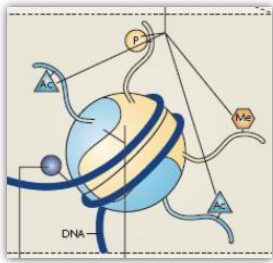


Si l'expression des gènes est modifiée de façon pérenne, l'**identité cellulaire** se trouve modifiée

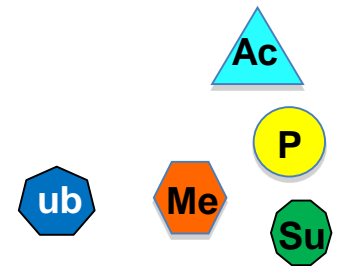
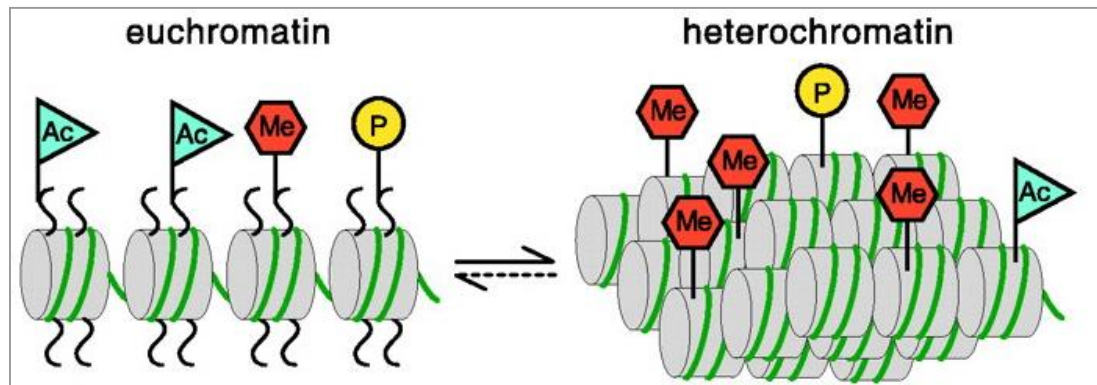
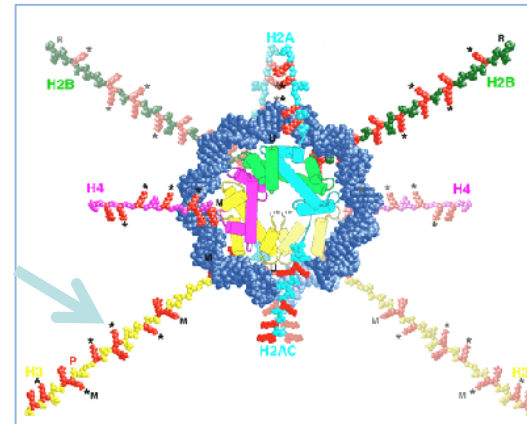


Modification des histones

Modification de la compaction de l'ADN

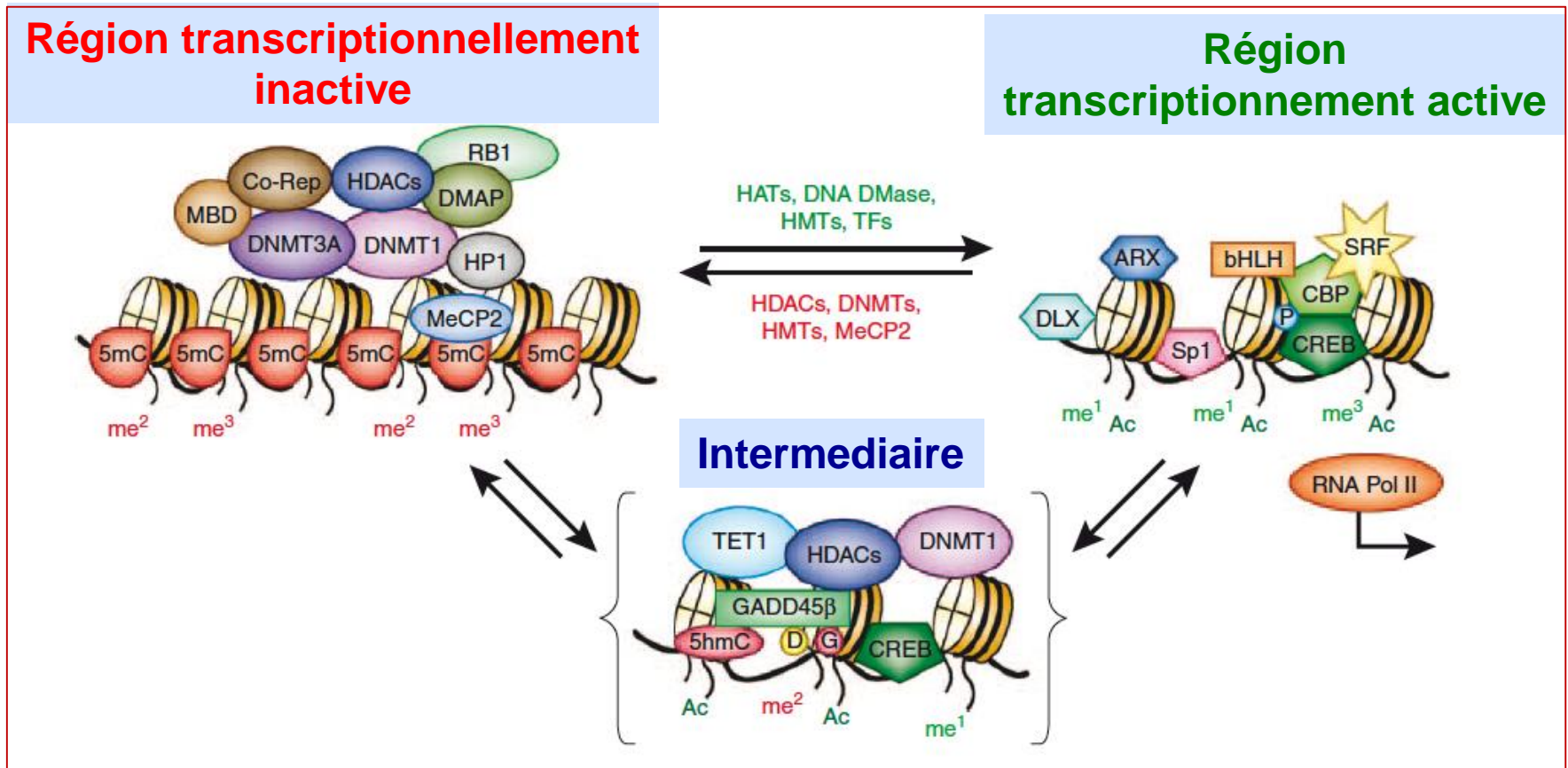


La queue de l'Histone H3 est souvent modifiée:
Lysine 4 = K4
Lysine 9 = K9



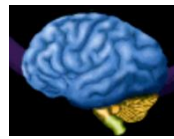
Modification des histones

Conséquences de la compaction de l'ADN



L'état de compaction de l'ADN détermine l'expression locale des gènes

Epigénétique et développement cérébral



- **Méthylation de l'ADN :**

- impliquée dans le switch neurogenèse/gliogenèse
- impliquée dans la réponse au stress



- **ARNs non codant impliqués dans le neurodéveloppement**



- **Le complexe REST impliqué dans le neurodéveloppement**



- **REST impliqué dans des microcéphalies**



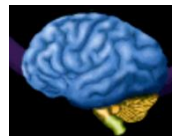
(maladies)

- **Stress Fœtal/Perinatal et désordres neuropsychiatriques**



Notion de cicatrices épigénétiques et mémoire du stress

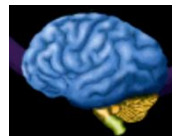
Epigénétique et développement cérébral



Genes associated with mental retardation and epigenetic regulation.

| Gene | Function ^a | Locus | Disease | OMIM ^b | Remarks | References |
|---|-----------------------|----------|---|----------------------------|---|--|
| <i>Direct modifiers: genes encoding proteins which directly modulate chromatin structure through their enzymatic properties</i> | | | | | | |
| ATRX | ATPase/Helicase | Xq13 | α -thalassaemia MR syndrome MR-hypotonic facies syndrome (MRXHF1) | 301040 309580 | | Gibbons et al., (1995) Villard (1996) |
| CHD7 | ATPase/Helicase | 8q12 | CHARGE syndrome | 214800 | | Visser (2004) |
| CREBBP | HAT | 16p13 | Rubinstein-Taybi syndrome | 180849 | | Petrij (1995) |
| DNMT3B | DNMT | 20q11 | ICF syndrome | 242860 | | Xu (1999) |
| EHMT1 | HMT | 9q34 | 9q subtelomeric deletion syndrome | 610253 | | Kleefstra (2006) |
| EP300 | HAT | 22q13 | Rubinstein-Taybi syndrome | 180849 | | Roelfsema (2005) |
| ERCC6 | ATPase/Helicase | 10q11.23 | COFS syndrome | 214150 | | Meira (2000) |
| HUWE1 | Ubi | Xp11.22 | XLMR Turner type | 300706 | Duplications and missense mutations | Froyen (2008) |
| JARID1C | HDM | Xp11 | Syndromic XLMR | 300534 | | Jensen (2005) |
| NSD1 | HMT | 5q35 | Sotos syndrome Weaver syndrome | 117550 277590 | | Kurotaki (2002) Douglas (2003) |
| PHF8 | HDM | Xp11.2 | XLMR + cleft palate | 300560 | | Laumonnier (2005) |
| <i>Indirect modifiers: genes encoding proteins which indirectly modulate chromatin structure</i> | | | | | | |
| BCOR | CR | Xp11.4 | OFCD syndrome | 300166 | | Ng et al., (2004) |
| CDC2L6 | kinase | 6q21 | Syndromic MR | | | Mukopahdyay (personal communication) |
| CDKL5 | Kinase | Xp22 | Infantile Spasm syndrome X-linked | 300672 | Rett-like syndrome | Tao et al., (2004); Weaving et al., (2004) |
| BRWD3 | CB | Xq13 | XLMR and macrocephaly | 300659 | | Field et al., (2007) |
| MECP2 | MDB | Xq28 | Rett syndrome Angelman syndrome Nonsyndromic XLMR | 312750 105830 - | | Amir et al., (1999) |
| Med12 | TR | Xq13 | MR + progressive spasticity FG/Opitz-Kaveggia Syndrome Lujan-Fryns Syndrome | 300260 305450 309520 | MECP2 duplications | Risheg (2007) Schwartz (2007) |
| PHF6 | HB | Xq26 | Borjeson-Forsmann-Lehman syndrome | 301900 | | Lower et al., (2002) |
| RPS6KA3 | Kinase | Xp22 | Coffin-Lowry syndrome | 303600 | | Trivier et al., (1996) |
| ZNF41 | DB | Xp11.3 | Nonsyndromic XLMR | 314995 | | Shoichet et al., (2003) |
| ZNF81 | DB | Xp11.23 | Nonsyndromic XLMR | 314998 | Disrupted by translocation (X;9) also involving EHMT1 | Kleefstra (2004) |
| ZNF674 | DB | Xp11.3 | Nonsyndromic XLMR | 300573 | | Lugtenberg (2006) |
| ZNF711 | DB | Xq21 | Nonsyndromic XLMR | 300803 | | Tarpey et al., (2009) |

Epigénétique et développement cérébral



Les microARN non codant

Table 1

A list of miRNAs that regulate neuronal and glial cell fate determination.

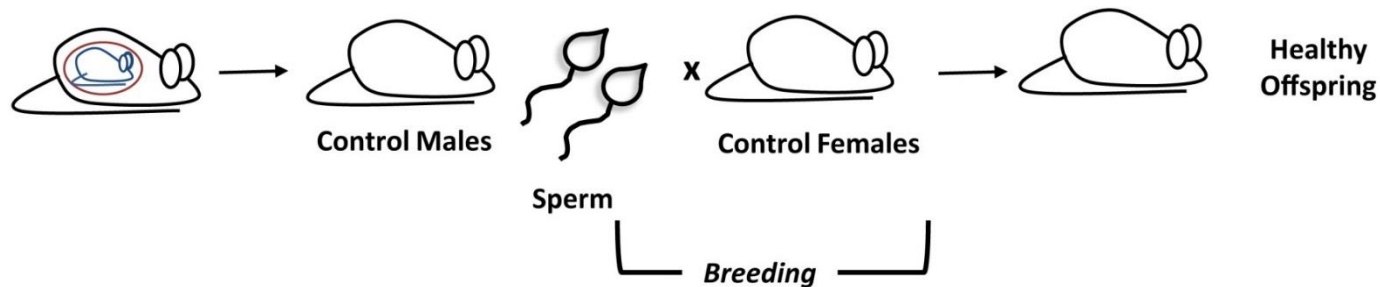
| Cell fate determination | miRNAs | Species and tissues | Targets | Reference | |
|--------------------------------|------------------------------------|--|--|--|---------|
| NSC proliferation | miR-17-92 cluster | Mouse embryonic cortex | Pten, Tbr2 | [19*,20] | |
| | miR-134 | Cultured embryonic mouse cortical NSCs | Cnr1d-1, Dcx | [21] | |
| | miR-184 | Cultured adult mouse forebrain NSCs | Numb1 | [22] | |
| | miR-195 | Cultured adult mouse forebrain NSCs | MBD1 | [23*] | |
| | miR-25 | Cultured adult mouse forebrain NSCs | ? | [24] | |
| | miR-137 | Cultured adult mouse forebrain NSCs | Ezh2 | [25] | |
| | miR-129, miR-155, miR-214, miR-222 | <i>Xenopus</i> retina progenitor | Oxt2, Vsx1 | [26] | |
| NSC differentiation | Let-7b | Adult and embryonic mouse forebrain NSCs | TLX, Cyclin D1, lin-28 | [28,29] | |
| | miR-9 | Adult and embryonic mouse forebrain NSCs | TLX | [30] | |
| | | NPs in Zebrafish | Fgf8-1, Fgfr1 | [32] | |
| | | NPs in <i>Xenopus</i> | Hairy1 | [33] | |
| | miR-137 | Embryonic mouse forebrain NSCs | LSD1 | [31] | |
| | miR-26b | Zebrafish neural tube | Ctdsp2 | [34*,35] | |
| | miR-125b | Cultured mouse forebrain NSCs | Nestin | [36] | |
| miR-124 | Mouse neuroblastoma cell lines | PTBP1 | [37] | | |
| | | Adult SVZ NSCs | Sox9 | [38,39] | |
| Neuronal subtype specification | Dopaminergic neurons (DN) | miR-133b | Embryonic mouse midbrain | Pitx3 | [41] |
| | | miR-132 | Embryonic stem cells | Nurr1 | [42] |
| | | miR-7a | Suppressing DN differentiation | Pax6 | [43] |
| | Projection neurons | miR-9-2/3 | Embryonic mouse cortex | Foxg1, Pax6, Gsh2 | [44*] |
| | Olfactory neurons | miR-200 family | Mouse and zebrafish | Foxq1, Zfhx1, Lfng | [45] |
| | Spinal motor neurons | miR-17-3p | Mouse spinal motor neuron progenitors | Olig2 | [46] |
| | | miR-9 | Chick spinal motor neurons | FoxP1 | [47,48] |
| Gliogenesis | Astroglialogenesis | miR-125b | Neural cell line | ? | [49] |
| | Oligodendrocyte differentiation | miR-219 and miR-338 | Postnatal rat and mouse CNS | PDGFR α , Sox6, FoxJ3, ZFP238, Hes5 | [50,51] |
| | | miR-17-92 cluster | Neonatal mouse brain | ? | [52] |
| | | miR-7 | Embryonic mouse brain | Pax6, NeuroD4 | [53] |
| | | miR-23 | Mouse fibroblast and neural cell lines | Lamin B1 | [54] |

NSCs: Neural stem cells; NPs: neural progenitors; SVZ: subventricular zone; CNS: central nervous system.

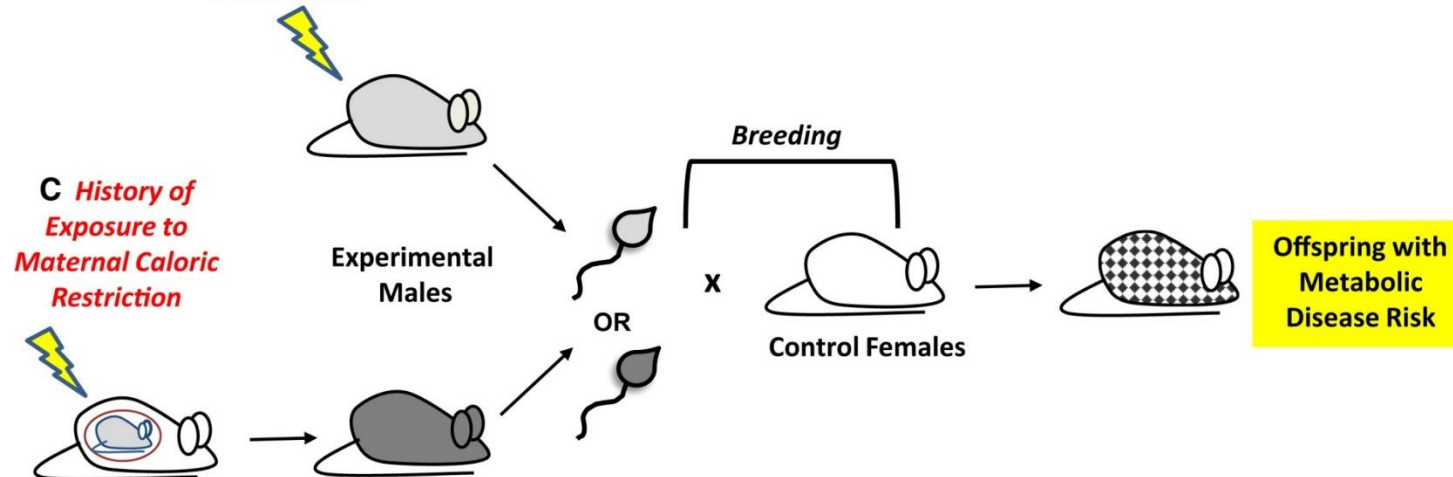
Les questions soulevées

Transmission transgénérationnelle?

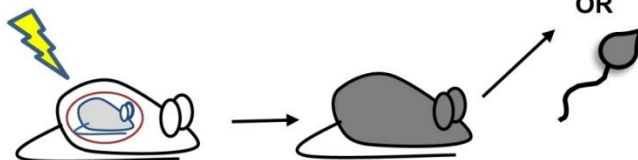
A *Control development and postnatal nutrition in fathers.*



B *Current High Fat or Low Protein Diet*



C *History of Exposure to Maternal Caloric Restriction*



Stress inflammatoire et grossesse

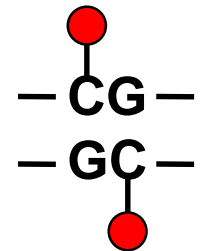
Exemples de la littérature (I)

Études sur des cellules humaines en culture

- La production d'IL-6 stimule l'expression et l'activité de L'ADN (cytosine 5)-**methyltransferase 1**

Hodge, D. R. *et al.* Interleukin-6 regulation of the human DNA methyltransferase (HDNMT) gene in human **erythroleukemia cells**.

J. Biol. Chem. **276**, 39508–39511 (2001).



➔ Ceci induit donc une **modification de la méthylation de l'ADN**. Conduit à la repression de la transcription de séquences répétées (LINE 1)

Quelles conséquences pour l'embryon/foetus?

Stress inflammatoire et grossesse

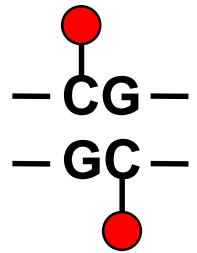
Exemples de la littérature (II) Études chez la souris

- Suite à une infection de *Campylobacter rectus* induite chez la femelle gestante on observe une diminution de la taille des embryons due à une **modification de la méthylation du gène soumis** à l'empreinte IGF2 dans les cellules embryonnaires.

Bobetsis YA , Barros SP , Lin DM , et al .

Bacterial infection promotes DNA hypermethylation .

J Dent Res. 2007 ; 86 (2): 169 - 174 .



➡ Ceci induit donc une **modification de la méthylation de l'ADN**. Quelles conséquences à long terme pour l'embryon/foetus?

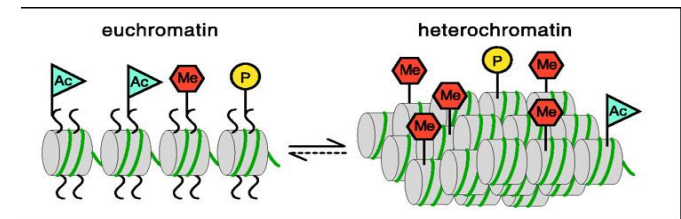
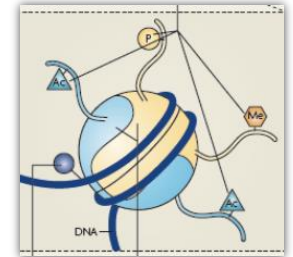
Stress inflammatoire et grossesse

Exemples de la littérature (III)

Infection prénatale et allergie

- L'exposition prénatale à des bactéries non pathogènes réduirait le risque d'allergie en augmentant l'acétylation des histones du promoteur de **l'interféron γ**

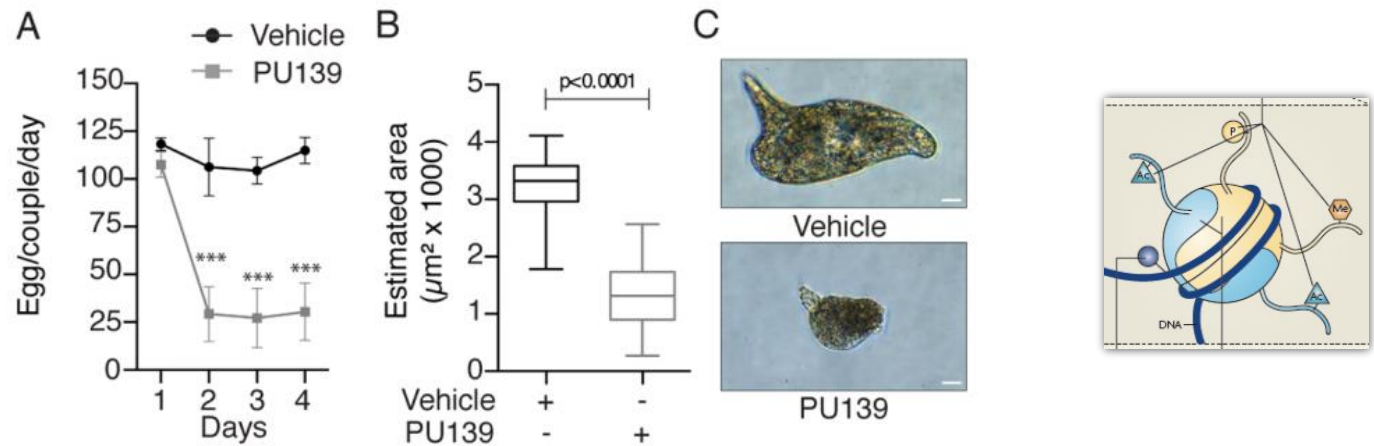
Epigenetics and Prenatal Influences on Asthma and Allergic Airways Disease
Martino and Prescott
CHEST, 2011



➔ Une infection bactérienne bénéfique pour le fœtus?

Nouvelles cibles thérapeutiques?

Exemples de la littérature (IV) Infection parasitaire



- Le traitement avec un inhibiteur d'une HAT (histone acétylase transférase) restreint l'expression de gènes du Schistosome empêchant le développement de l'oeuf

Carneiro *et al.* 2014

PLOS Pathogens May 2014 Volume 10

Epigenetic Changes Modulate Schistosome Egg Formation and Are a Novel Target for Reducing Transmission of Schistosomiasis

Stress inflammatoire et grossesse

Exemples de la littérature (V)

Traitement antibiotique et grossesse

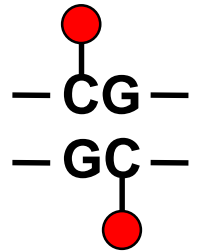
- Un traitement antibiotique de la femme enceinte durant le premier trimestre de la grossesse induit une **modification de la méthylation de gène soumis** à l’empreinte dans les cellules embryonnaires.

Associations between **antibiotic** exposure during pregnancy, birth weight and aberrant methylation at imprinted genes among offspring

Vidal *et al.* 2013

International Journal of Obesity (2013) 37, 907–913

➔ C’est une étude d’association, peu étayée. On ne peut exclure que le différentiel de méthylation soit dûe à l’infection bactérienne et non par l’antibiotique





Exemples de la littérature (VI) Infection virale et oncogénèse

- Le virus KSHV (Kaposi Sarcoma associated herpes virus) produit la protéine LANA lorsqu'il est en phase de latence. LANA interagit avec des DNMT (en particulier DNMT3A) et une histone méthyltransférase (Suv39H1) qui conduit à une répression transcriptionnelle dans les lymphocytes B lors de la lymphomogénèse.

Epigenetic reprogramming of host genes in viral and microbial pathogenesis

Paschos and Allday

Trends in Microbiology, October 2010

➔ Ceci induit donc une modification de la méthylation de l'ADN : serait ce la cause de l'initiation du lymphome?



Exemples de la littérature (VII) Co-infection Virus/ Bactérie(s)

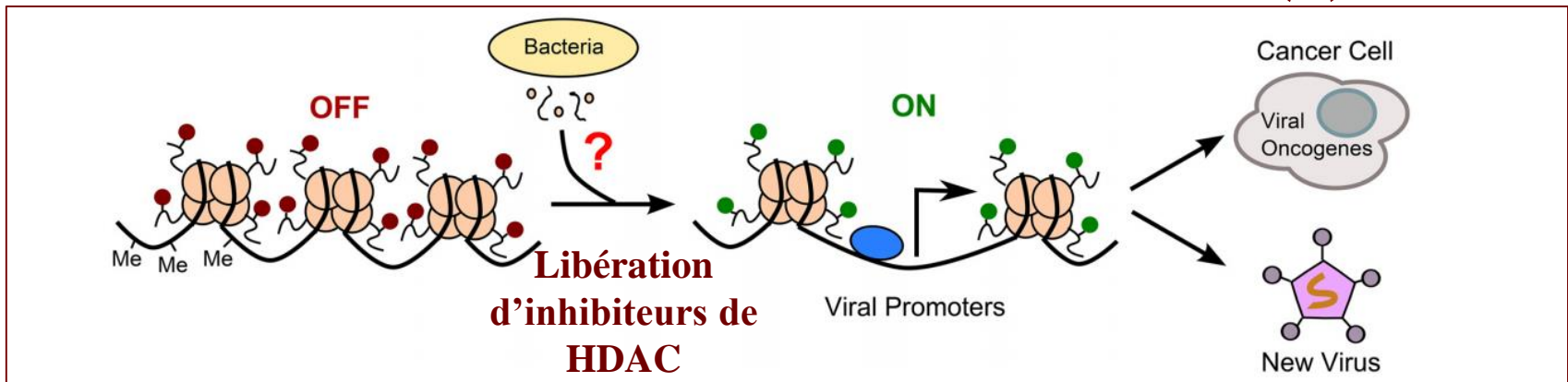


TABLE 1 Summary of bacterium-mediated epigenetic modifications to viruses

| Bacteria | Virus | Interaction | Viral epigenetic modification(s) |
|---|-------|-------------|--|
| <i>P. gingivalis</i> | KSHV | Direct | Global H3 and H4 acetylation |
| | EBV | Direct | H3 acetylation and HDAC dissociation from BZLF1 promoter |
| Periodontitis-associated bacteria | HPV | Indirect | DNA hypomethylation |
| <i>P. gingivalis</i> , <i>F. nucleatum</i> , <i>C. cochlearium</i> , <i>E. multiforme</i> , <i>A. tetradius</i> , (Butyrate) | HIV | Direct | Increased H3K4me2, H3ac, and H4ac, decreased H3K9me3, RNAPII binding, HDAC1 dissociation at LTR |
| <i>H. pylori</i> | EBV | Indirect | DNA hypermethylation |

Polymicrobial Infection and Bacterium-Mediated Epigenetic Modification of DNA Tumor Viruses Contribute to Pathogenesis

J. M. Doolittle, a. J. Webster-Cyriaque

Stress inflammatoire et grossesse

Exemples de la littérature (VII) Co-infection Virus/ Bactérie(s)

Polymicrobial Infection and Bacterium-Mediated
Epigenetic Modification of DNA Tumor Viruses
Contribute to Pathogenesis

J. M. Doolittle,^a J. Webster-Cyriaque

➡ La virulence bactérienne modifie le paysage épigénétique de promoteurs de gènes viraux favorisant l'activation du virus et l'oncogénèse

Les questions soulevées

Que peut-on faire de ce constat?

- **Suivi de cohorte de patients à risque :**
 - Recherche de **symptômes prodromiques**
 - **Attention particulière** lors d'un **second stress** (potentialisation de la réponse)
 - **Travail conjoint** avec les **structures scolaires**

- **Examen clinique approfondi**
- **Interrogatoire sur l'histoire prénatale du patient**

- Mise en place de **questionnaires approfondis**
- Recherche de **biomarqueurs**

- **Travail conjoint** avec des **chercheurs en épigénétique**



Perspectives thérapeutiques

- **Etude de la méthylation de l'ADN du patient** (*New Generation Sequencing*)

- **Traitement avec la Dépakine (Valproate)?**
L'acide valproïque (VPA) est un inhibiteur des HDAC1/2
- **Traitement avec Vidaza (Azacytidine)?** déméthyle l'ADN

- **Mise en place de protocoles favorisant la résilience**
- ...

Conclusions

- **Il est nécessaire d'ajuster son point de vue, évaluer les conséquences de stress.**
- **Il est important de connaître l'histoire du patient.**

- **Un stress inflammatoire peut avoir les mêmes conséquences qu'un stress traumatique**

- **Avoir conscience de l'épigénétique permet de réaliser que les événements cellulaires sont reprogrammables**



Remerciements

Interface entre développement et environnement

Valérie Mezger

Véronique Dubreuil

Agathe Duchateau

Aurélie De Thonel

Anne Le Mouël

Geoffrey Pires

Myriam Mohamed (EPHE)

Collaborations

Sascha Ott (Warwick University, GB)

Jean-Pol Tassin (IBPS, Paris)

Jean-Paul Concordet (MNHN, Paris)

Pierre Gressens (Hopital R.Debré, Paris)

Lea Sistonen (Turku University, Finland)

Emmanuel Courtade (PhLam, Lille)

Anciens Etudiants et Post doc

Federico Miozzo (PhD)

Mathilde Henry (M2)

Déborah Bouvier (M1)

Anne-Laure Schang (post doc)