

Un mécanisme en deux étapes de l'inactivation au hasard d'un X chez la femme

Comme chez toutes les femelles de mammifères placentaires, afin d'obtenir un équilibre compensatoire de dosage génique entre XY et XX, un des X est inactivé chez la femme. Grâce à des études faites sur des X structurellement anormaux, le centre responsable de l'inactivation (XIC) fut localisé en Xq13. Sur ce site se trouve un locus, *XIST* (*X inactive specific transcripts*), ne s'exprimant que sur l'X inactif (*m/s n°3, vol. 7, p. 375*). Son transcrite, dont on connaît la séquence chez la souris et chez l'homme, doit être déterminant dans la mise en route de l'inactivation

(*m/s n°1, vol. 9, p.95*). Le mécanisme s'étend ensuite de part et d'autre, sur toute la longueur du chromosome qui reste condensé, recourbé en épingle à cheveu contre la membrane nucléaire, et dont la plupart des gènes sont réprimés, certains échappant toutefois physiologiquement à l'inactivation. Celle-ci va de pair avec une méthylation qui se fait au hasard, portant tantôt sur l'X paternel, tantôt sur l'X maternel, de sorte qu'il est licite de considérer la femme comme une « mosaïque physiologique » pour cette monosomie fonctionnelle de l'X.

Les études sur l'embryon de souris [1] ont démontré un phénomène d'empreinte parentale : chez la souris mâle, l'allèle *XIST* paternel est déméthylé au début de la méiose et il reste hypométhylé dans les premiers stades qui suivent la fécondation, ce qui favorise son expression. L'X paternel semble donc préprogrammé pour être inactivé et, de fait, il est préférentiellement inactif dans les tissus extra-embryonnaires.

A ces notions désormais familières que nous avons souvent abordées dans nos colonnes, vient s'ajouter une donnée plus récente tirée de

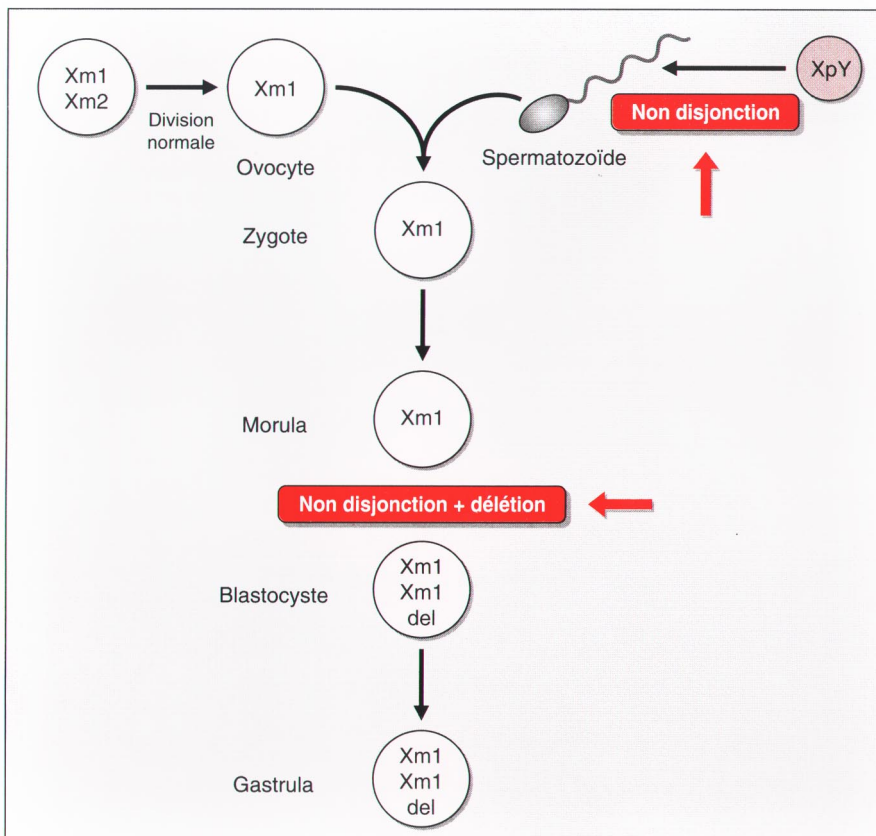


Figure 1. Mécanisme probable de l'isodisomie X maternelle fonctionnelle. L'isodisomie serait due à deux phénomènes successifs de non-disjonction (flèches rouges): d'abord une non disjonction des gonosomes durant la spermatogenèse à la méiose 1, donnant un spermatozoïde dépourvu de gonosome ; puis une duplication de l'X avec cassure et délétion survenue après la fécondation, au cours du développement du zygote. La délétion de l'X (del)(q22) n'a emporté ni le centre inactivateur, ni le locus *XIST*, pourtant, aucun transcrite spécifique de *XIST* n'est synthétisé et il n'y a aucune inactivation de X. Cet événement étant survenu après le comptage des chromosomes X, il n'y a plus de moyen d'ordonner l'inactivation d'un X. *Xm1* et *Xm2* sont les deux chromosomes X maternels, *Xm1del* est le chromosome X maternel ayant subi une délétion, *Xp* le chromosome X paternel (d'après [2]).

l'étude de cas pathologiques : le non respect de la monosomie fonctionnelle de l'X est extrêmement dommageable pour les sujets qui en sont porteurs (*m/s n°3, vol. 10, p. 353*). Quand la région XIC est déletée, l'absence de transcrite spécifique de *XIST* va de pair avec l'expression des gènes portés par l'X. Ainsi, chez certaines femmes à caryotype 45,X/46,XXr, les

gènes portés par le petit X en anneau (Xr) qui a perdu le *XIST* s'expriment et sont responsables d'un phénotype différent du syndrome de Turner classique, avec des anomalies phénotypiques beaucoup plus sévères associées à un retard mental (*m/s n°3, vol. 6, p. 353*). De ce fait, il semblait logique de supposer que la non-inactivation d'un deuxième X intact était

létale et ne pouvait donc être observée dans l'espèce humaine. De même, la disomie uniparentale de l'X (les deux X provenant du même parent) paraissait improbable puisqu'aucun cas n'avait jamais été rapporté. Or, voici que l'équipe de Barbara Migeon (Baltimore, MD, USA), publie un cas d'isodisomie X maternelle, avec absence complète d'inacti-

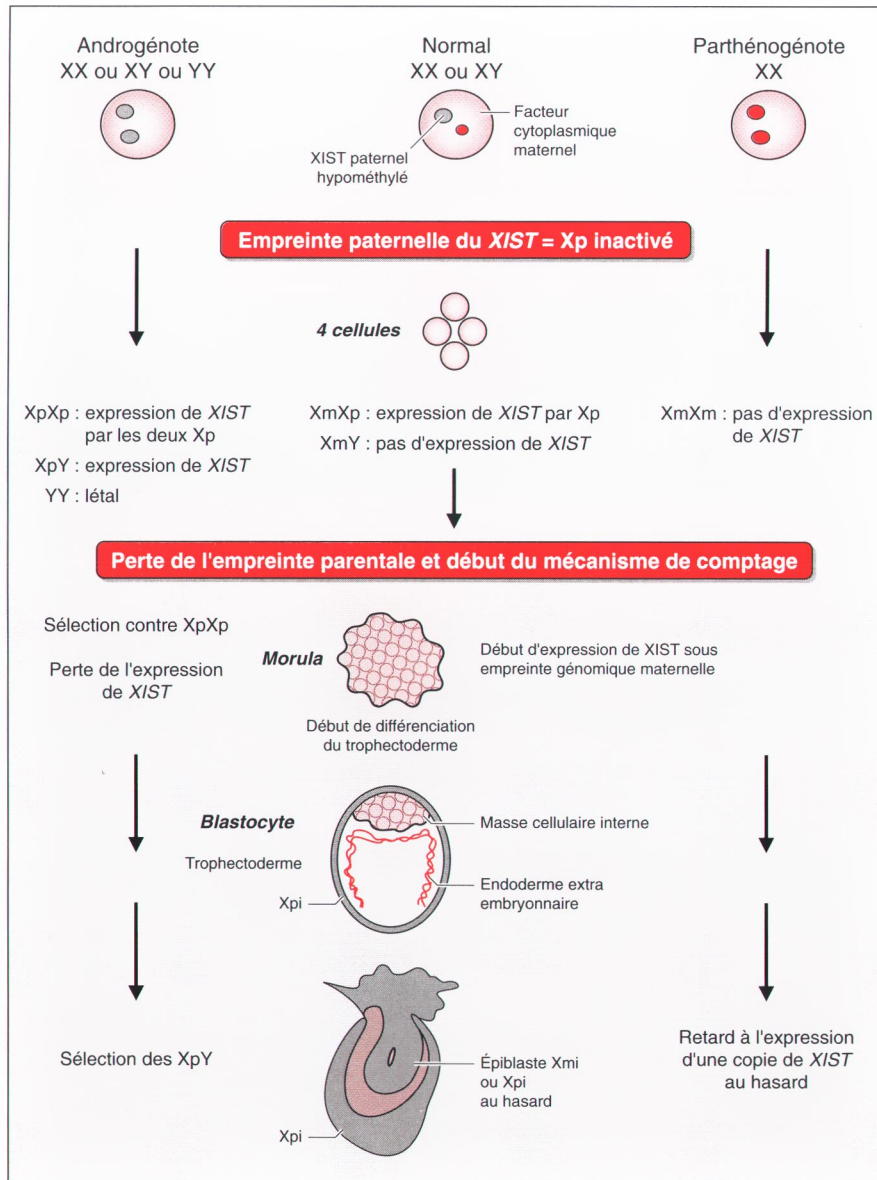


Figure 2. **Mécanisme en deux étapes de l'inactivation de l'X au cours de l'embryogenèse chez la souris.** Au début du développement, l'expression de XIST dépend de l'empreinte parentale qui fait que seul le XIST paternel est exprimé, quel que soit le nombre de chromosomes X. Cette expression du XIST paternel, hypométhylé et donc prêt à être transcrite, dépend d'un facteur d'origine maternelle, présent dans le cytoplasme de l'ovocyte. Au stade morula, un second mécanisme entre en jeu qui compte le nombre de chromosomes X et impose l'expression appropriée de XIST. C'est à peu près à ce stade que toute empreinte parentale est effacée et qu'un allèle est exprimé au hasard, définissant ainsi le futur X actif dans la cellule. Le facteur maternel cytoplasmique présent dans l'ovocyte qui avait permis l'expression du XIST paternel est maintenant dépleté et l'expression nouvelle de XIST dépend de la production de ce facteur par le zygote, à partir du génome d'origine maternelle. Dans les embryons fécondés normalement, XmXp, l'expression du XIST paternel est stabilisée par ce facteur dans le trophectoderme dont dérivent les annexes embryonnaires ; dans le lignage épiblastique, l'empreinte initiale ne s'efface que lorsque le facteur sous empreinte maternelle est à nouveau produit et que les cellules commencent à se différencier. Chez les parthénogénètes XmXm, l'expression de ce facteur dans le lignage du trophectoderme permet l'expression de l'un ou l'autre allèle XIST pour la première fois et au hasard. L'absence de ce facteur chez les androgénètes au stade morula entraîne l'extinction de l'expression de XIST dans les deux sortes d'embryons, XpY et XpXP, ce qui est un facteur de sélection négatif pour XpXp. Xpi : X paternel inactivé, Xmi : X maternel inactivé (d'après [3]).

vation des X [2]. Nous allons voir que cette observation, outre son caractère exceptionnel, a le mérite de faire un peu avancer les connaissances encore très lacunaires des mécanismes présidant à l'inactivation de l'X.

Il s'agissait d'une enfant décédée à l'âge de 11 ans qui présentait de nombreuses malformations congénitales ainsi qu'un retard mental extrêmement sévère, associés à un caryotype 45,X/46,X del(X)(q22). Tous les marqueurs polymorphiques étudiés attestent de l'origine maternelle et de l'identité du matériel génétique porté par les deux X. Pour expliquer cette isodisomie maternelle, les auteurs proposent un mécanisme complexe mais qui semble le seul possible, faisant intervenir deux accidents (figure 1) : d'abord une non disjonction des gonosomes durant la spermatogenèse à la méiose I, donnant un spermatozoïde dépourvu de gonosome ; puis une duplication de l'X maternel avec cassure et délétion survenue après la fécondation, au cours du développement du zygote. La délétion de l'X (del)(q22) n'a emporté ni le centre inactivateur, ni le locus *XIST* qui put être mis en évidence par PCR et par FISH (*fluorescent in situ hybridization*). Pourtant, aucun transcrite spécifique de *XIST* n'est synthétisé et l'absence d'inactivation est confirmée par : (1) une répllication synchrone ; (2) la présence d'histone H4 acétylée (marqueur cytologique de l'activité chromatienne dans les chromosomes en métaphase) ; (3) la transcription des gènes *PHKA1* (sous-unité a de la phosphorylase kinase) et *AR* (récepteur des androgènes). L'X morphologiquement normal et l'X identique mais partiellement délété sont donc tous deux actifs.

Dans cette exceptionnelle isodisomie X maternelle, comment expliquer l'absence d'inactivation d'un des deux X, en particulier de l'X délété, puisque les délétions conduisent habituellement à une inactivation sélective ?

Pour y répondre plus clairement, il faut nous reporter à un travail effectué chez la souris [3] où l'expression du *XIST* fut étudiée chez des embryons possédant deux X d'une même origine : gynogénètes, dont les

deux X sont d'origine maternelle (obtenus par le remplacement du pronucleus mâle par un pronucleus femelle provenant d'un autre embryon) et androgénètes dont les deux X sont d'origine paternelle (obtenus par remplacement du pronucleus femelle par le pronucleus mâle d'un autre embryon), comparativement à des embryons normaux (figure 2) [4].

Initialement, on voit nettement l'empreinte parentale : le *XIST* est exprimé dans tous les X d'origine paternelle et dans aucun des X d'origine maternelle, quel que soit le nombre des chromosomes X présents dans l'embryon. Si l'embryon normal XY n'exprime pas le *XIST*, ce n'est pas parce qu'il n'a qu'un seul X mais parce que son X est d'origine maternelle, et qu'à ce stade, les X maternels n'expriment pas le *XIST*. L'expression du *XIST* des X paternels doit se faire, à partir du stade de quatre cellules, sous l'influence d'un facteur qui était contenu dans le cytoplasme de l'ovocyte. Puis, au stade morula, l'empreinte s'efface et le facteur cytoplasmique maternel cesse d'agir. Un nouveau mécanisme entre alors en jeu, un « comptage des X » qui permettra à un seul X d'être actif, quelle que soit son origine parentale. On ne sait rien sur ce phénomène qui peut, soit bloquer l'expression du *XIST* d'un seul X, soit activer les autres. Il doit être soumis à une empreinte génomique maternelle et se produire pendant plusieurs séries de divisions cellulaires, en même temps que commence une différenciation tissulaire. Il obéit probablement à une chronologie différente selon les tissus, plus précoce dans les lignées du trophoctoderme et de l'endoderme primitif que dans les tissus embryonnaires proprement dits [5].

Seul ce processus à deux étapes : d'abord une empreinte parentale, puis un comptage qui prend le relais, avec expression d'un seul *XIST* par cellule, peut expliquer ce cas d'isodisomie sans inactivation. La duplication de l'X maternel se serait produite après le comptage qui, ne trouvant qu'un seul X, lui a conféré un état actif. Après ce moment, qui devrait se situer entre les stades blastocyste et gastrula, il n'est plus possible d'intervenir sur un X. On le voit, du reste,

lors de l'adjonction d'un X actif dans un hybride somatique (où il restera actif quel que soit le nombre des X déjà présents), ou dans les lignées devenant polyploïdes (où les X actifs se maintiennent en l'état)

Toutes ces incertitudes montrent combien ce mécanisme compensateur, connu depuis plus de quarante ans et qui paraît tout simple *a priori*, est à la fois compliqué et passionnant, et c'est pourquoi les rares observations avec anomalie fonctionnelle de l'X sont si précieuses ■

RÉFÉRENCES

1. Simmler M. L'inactivation du chromosome X chez les mammifères. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 972-8.
2. Migeon B, Jeppesen P, Torchia BS, Fu S, Dunn MA, Axelman J, Schmeckpeper BJ, Fantès J, Zori RT, Driscoll D. Lack of X inactivation associated with maternal X isodisomy: evidence for a counting mechanism prior to X inactivation during human embryogenesis. *Am J Hum Genet* 1996 ; 58 : 161-70.
3. Kay GF, Barton SC, Surani MA, Rastan S. Imprinting and X chromosome counting mechanisms determine *XIST* expression in early mouse development. *Cell* 1994 ; 77 : 639-50.
4. Babinet C. L'empreinte génomique parentale. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 65-70 .
5. Tan SS, Williams EA, Tam PPL. X-chromosome inactivation occurs at different times in different tissues of the post-implantation mouse embryo. *Nature Genet* 1993 ; 3 : 170-4.

Simone Gilgenkrantz

9, rue basse, 54330 Clerey/Brenon, France.

TIRÉS À PART

S. Gilgenkrantz.