

> Dans les années 1990, des biologistes ont mis en évidence d'autres types de marques épigénétiques et leur fonctionnement. Ils ont découvert que des groupes méthyle, acétyle (CO-CH_3) et d'autres modifications biochimiques marquent des groupes de protéines nommées histones. Dans un chromosome, la molécule d'ADN s'enroule autour de chaque groupe d'histones, formant comme un collier de perles. Les marques épigénétiques contrôlent le degré de resserrement des boucles d'ADN autour des «perles» et l'écart entre chaque perle, ce qui active ou inhibe des ensembles entiers de gènes. Par exemple, les gènes situés dans les endroits très compacts sont réduits au silence, car inaccessibles à la machinerie qui lit les gènes.

Depuis, on a identifié d'autres acteurs épigénétiques tels que la structure tridimensionnelle changeante de l'ADN ou des ARN dits «non codants». Les ARN sont des molécules produites par la cellule lors de la lecture du code ADN. Nombre d'entre eux sont des intermédiaires dans la fabrication des protéines. Mais parmi les ARN non codants (non traduits en protéines), certains modulent les marques épigénétiques de l'ADN et des histones.

Tous ces acteurs épigénétiques régulent l'activité des gènes de façon complexe, sans changement de la séquence d'ADN. L'interaction des gènes et de l'épigénome, l'ensemble des marques épigénétiques, est dynamique et reste encore mystérieuse. On sait que

d'ADN des altérations, la carte des marques épigénétiques varie au cours du développement de l'individu. Ces changements contribuent à déterminer la spécialisation des cellules, c'est-à-dire leur acquisition des caractéristiques de cellules de la peau ou de neurones, par exemple: de légères modulations de l'information épigénétique suffisent à changer la carte des gènes actifs dans tout l'organisme. De même, les substances chimiques dangereuses, les carences nutritives et autres types de stress pourraient entraîner l'apparition ou la disparition de marques épigénétiques, et modifier l'activité des gènes.

Aujourd'hui, le rôle crucial des marques épigénétiques dans le développement, le vieillissement et même le cancer ne fait aucun doute. Mais les biologistes débattent sur la portée de leurs effets: des épimutations anormales peuvent-elles se transmettre sur plusieurs générations de mammifères?

UN HÉRITAGE ACCIDENTEL

Mon premier contact avec cette question a été fortuit. Il y a quelques années, avec des collègues, nous étudions les effets, sur la reproduction des rats, de deux substances chimiques employées dans l'agriculture: le méthoxy-chlore, un pesticide, et la vinclozoline, un fongicide. Ces molécules sont des perturbateurs endocriniens: elles interfèrent avec les signaux hormonaux qui orchestrent la formation des organes de reproduction et leur fonctionnement. Nous les avons injectées à des rates au cours de leur deuxième semaine de gestation – au moment où les gonades de l'embryon se développent. Presque tous les descendants mâles nés de ces mères ont présenté des testicules anormaux, fabriquant des spermatozoïdes médiocres en qualité et en quantité.

Nous ne pensions alors pas à un effet épigénétique, et encore moins à une transmission de ces anomalies par les mères exposées. Aussi n'avions-nous pas prévu de les élever et d'étudier leur descendance. Or un jour, par erreur, on accoupla des rats mâles et femelles issus de cette expérience (sans lien de parenté). Résultat? Plus de 90% des mâles de ces portées arboraient les mêmes anomalies des testicules que leur père, alors que leurs parents étaient des embryons de la taille d'une tête d'épingle lorsque leurs propres mères avaient été exposées aux substances chimiques.

Cela nous surprit. De nombreuses études toxicologiques avaient recherché si des substances répandues dans l'environnement, comme le méthoxy-chlore ou la vinclozoline, provoquaient des mutations de l'ADN. En vain. Ce que confirmait notre étude. De plus, la génétique classique ne pouvait expliquer l'apparition d'un nouveau trait chez 90% de rats issus de différentes familles.

**On lègue
à nos enfants,
petits-enfants...
bien plus qu'un
code génétique
fait d'ADN**

chaque fois qu'une cellule se divise, les marques épigénétiques de ses chromosomes sont copiées et se retrouvent dans ceux des cellules filles. Les événements épigénétiques survenus tôt dans la vie peuvent donc altérer le comportement des cellules à long terme.

De plus, alors que les cellules sont équipées d'une machinerie qui protège la séquence

Cependant, une autre explication était envisageable : l'exposition aux substances chimiques avait eu lieu alors que l'embryon contenait déjà des cellules germinales primordiales – des cellules qui se spécialiseront en spermatozoïdes ou en ovules. La substance chimque aurait pu influencer directement ces cellules, l'effet persister dans les spermatozoïdes ou les ovules qu'elles avaient donnés et, par conséquent, se retrouver dans les fruits de leur fécondation : les petits de la génération suivante, soit la troisième génération depuis les mères exposées. Si tel était le cas, alors la brève exposition aux substances chimiques aurait directement entraîné les anomalies des testicules des petits rats de la troisième génération, mais les générations suivantes devraient être normales.

LES RATS MAUDITS SUR PLUSIEURS GÉNÉRATIONS

Pour le vérifier, nous avons élevé une quatrième génération de rats, puis une cinquième, en accouplant à chaque fois des descendants des rats exposés à l'origine, afin d'éviter la dilution du trait étudié. À chaque fois, les rats souffraient des mêmes problèmes que leurs ascendants. Et tous ces changements résultaient d'une exposition brève (mais à des doses bien plus élevées) à des produits utilisés dans l'agriculture pendant des décennies.

Après plusieurs années d'expériences qui ont confirmé ces résultats, nous avons formulé l'hypothèse suivante : l'exposition aux

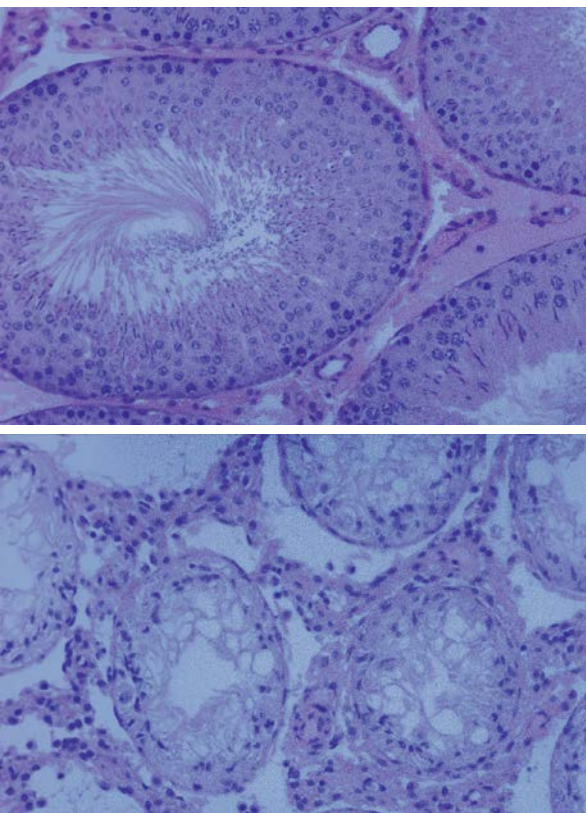
substances avait déclenché l'apparition d'épimutations pathologiques pour le développement des testicules. Au moment de la fécondation, ces épimutations passeraient du spermatozoïde à l'embryon, puis persisteraient dans ses cellules germinales primordiales, et ainsi de suite de génération en génération. En accord avec cette hypothèse, nos études préliminaires suggéraient des défauts de méthylation de l'ADN dans les spermatozoïdes des descendants des mâles exposés au fongicide.

Nos résultats déclenchèrent une tempête de réactions. Notamment, diverses équipes, issues de sociétés commercialisant la vinclozoline ou indépendantes, ont signalé qu'elles n'arrivaient pas à reproduire certains résultats. Ces incompatibilités pourraient être liées à des protocoles expérimentaux différents : administration par ingestion ou par injection, utilisation d'autres lignées de rats, mise en accouplement des mâles anormaux avec des femelles issues d'une lignée non exposée. Néanmoins, nous avons accumulé d'autres preuves suggérant que les épimutations pourraient persister sur plusieurs générations.

Notamment, nous avons mis en évidence des anomalies de méthylation de l'ADN dans les spermatozoïdes, les testicules et les ovaires de la quatrième génération issue des rats exposés au fongicide. L'activité des gènes dans leurs cellules germinales primordiales est aussi perturbée. Ces descendants ont également tendance à grossir et à être sujets au stress ; ils sélectionnent même leurs partenaires différemment.

Dans le même temps, la liste des agents polluants et stressants produisant des effets transgénérationnels s'est allongée. En 2012, nous avons montré que l'exposition de rates gravides à des polluants comme la dioxine, le kérosène, les insecticides ou un mélange de bisphénol A et de phtalates... déclenche des troubles qui persistent chez les rats de la quatrième génération : anomalies de la puberté, obésité, maladies des ovaires, des reins et de la prostate... Dans leurs spermatozoïdes, les profils de méthylation de l'ADN comptent des centaines d'anomalies spécifiques de l'agent auquel leurs ancêtres ont été exposés. De plus, les effets observés ne suivent pas les profils classiques de transmission génétique, ce qui suggère que des épimutations, et non des mutations génétiques, sont la cause de ces troubles.

Les doses utilisées pour ces études sont bien plus importantes que celles auxquelles l'homme ou l'animal sont exposés dans un environnement même fortement contaminé. Cependant, une étude de Jennifer Wolstenholme, de l'université de Virginie, suggère que des effets transgénérationnels sont aussi possibles à des concentrations plus réalistes. Du bisphénol A a été introduit dans l'alimentation de souris à des doses reproduisant des concentrations dans le sang équivalentes à celles ➤



Des arrière-petits bébés de rats exposés à un pesticide, la vinclozoline, se sont révélés peu fertiles, comme certains de leurs ascendants indirects. En témoigne la morphologie de leurs testicules en coupe histologique (*en bas*), anormale par rapport à celle d'un rat sain (*en haut*). Cette malformation serait due à un mécanisme épigénétique.

UNE HÉRÉDITÉ D'UN NOUVEAU GENRE

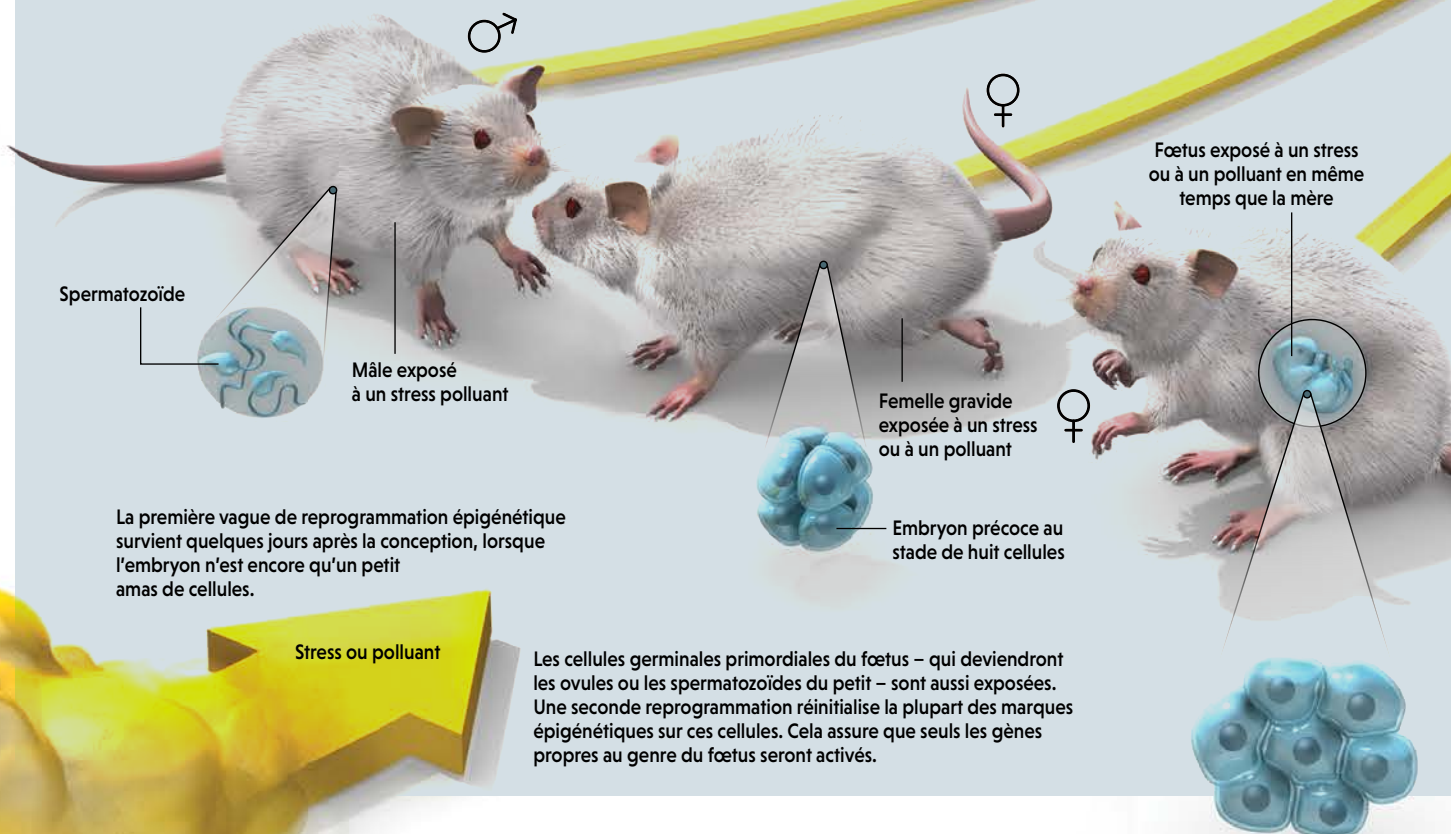
Des biologistes ont découvert que les événements auxquels sont confrontés les animaux et les plantes au cours de leur vie – une exposition à certains polluants ou au stress, par exemple – peuvent influencer la santé de leurs descendants sans causer de mutations dans leur génome. De telles expositions peuvent avoir des conséquences sur les deux premières générations de descendants en agissant sur les spermatozoïdes, les ovules et les autres cellules de la reproduction. On parle d'effet direct intergénérationnel. Les générations suivantes seraient parfois aussi touchées par le biais d'étiquettes chimiques qui se lient à l'ADN dans les cellules. La transmission est alors dite épigénétique transgénérationnelle.

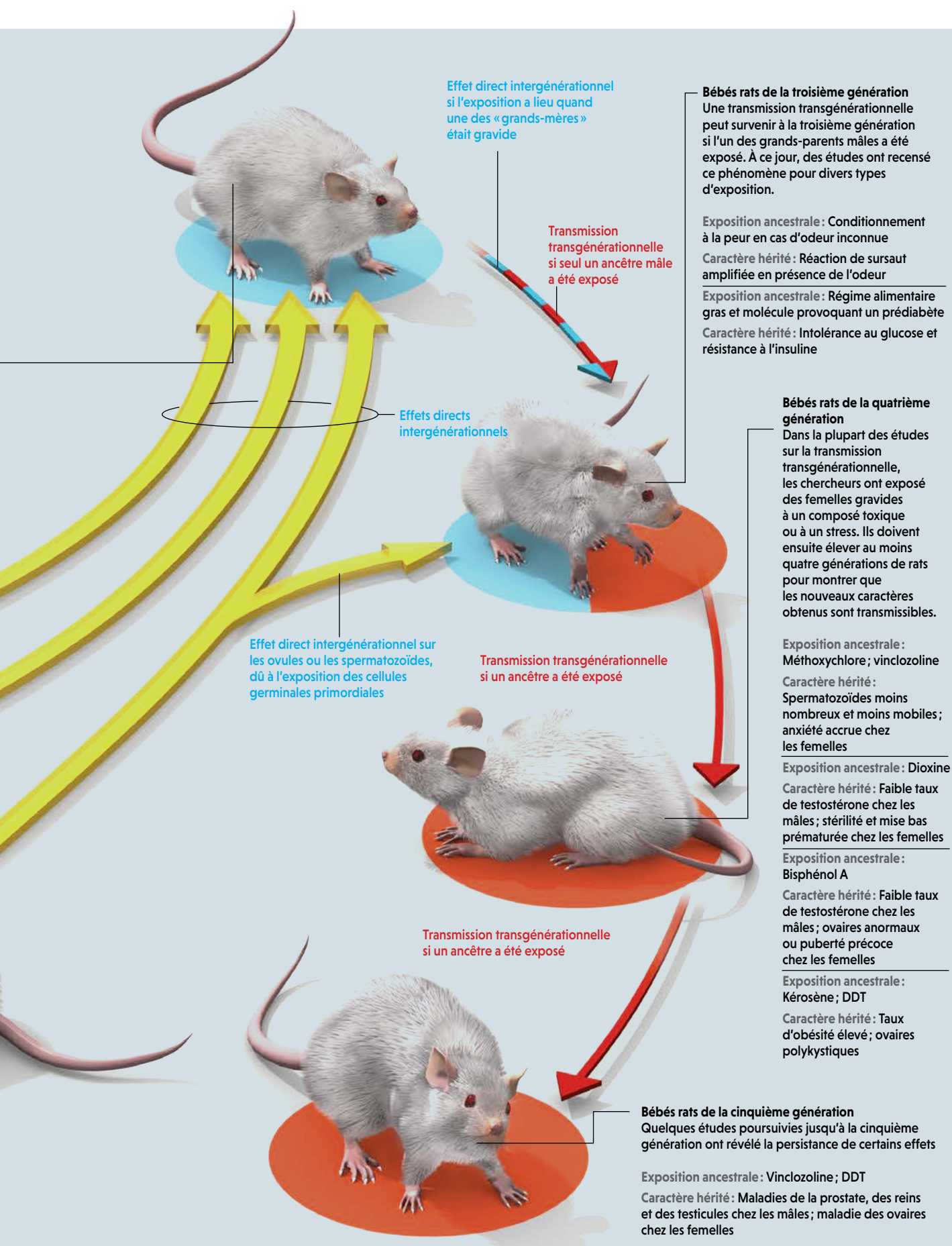
Comment des caractères épigénétiques peuvent persister sur plusieurs générations

L'exposition à un polluant ou à un stress peut faire apparaître des caractères non transmissibles sur deux générations si elle concerne un mâle et son spermatozoïde, ou sur trois générations s'il s'agit d'une femelle gravide et si l'exposition survient à un certain stade de la gestation (*en bleu page ci-contre*). Pour que ce caractère épigénétique soit transmis aux générations suivantes (*en rouge*), le marquage altéré doit résister aux deux vagues de reprogrammation qui, après la conception, « réinitialise » la plupart des étiquettes épigénétiques des chromosomes (*ci-dessous*). Des études sur des rongeurs suggèrent qu'une telle transmission transgénérationnelle existe.

Bébés rats de la deuxième génération

De nouveaux caractères apparus chez les bébés rats pourraient être dus à l'exposition directe des spermatozoïdes de leur père, ou de leur propre fœtus dans le ventre de leur mère. Si les cellules germinales primordiales des bébés rats ont été exposées, alors leurs ovules ou spermatozoïdes ont aussi pu être contaminés directement. Leurs futurs petits (la troisième génération) seraient alors eux aussi contaminés. De tels effets directs, dits intergénérationnels, ne sont pas à proprement parler transmis d'une génération à l'autre.





➤ mesurées chez des femmes enceintes américaines. Les descendants des souris exposées passaient moins de temps à explorer la cage et davantage à interagir avec leurs congénères, et ce, sur cinq générations. Ce changement de comportement serait dû à une altération de la production de deux protéines clés, l'ocytocine et la vasopressine.

Et chez les humains ? Une étude s'est intéressée à la catastrophe de Seveso, en Italie : en 1976, l'explosion d'une usine chimique a exposé les habitants des environs à des taux de dioxine inédits. En suivant la concentration sanguine en dioxine de 1000 femmes exposées et leur bilan de santé, les chercheurs ont établi, en 2010, une corrélation entre le degré d'exposition à la dioxine et la capacité à avoir des enfants. À chaque multiplication par 10 du taux de dioxine, le temps moyen pour tomber enceinte augmente de 25%, et le risque de stérilité est doublé.

En 2013, la même équipe a rapporté que les jeunes filles âgées de moins de 13 ans au moment des faits avaient deux fois plus de risques de développer à l'âge adulte un syndrome métabolique prédisposant au diabète et aux maladies cardiaques. De plus, des anomalies de fonctionnement de la thyroïde ont été signalées chez nombre de petites-filles des femmes exposées.

Comme chez l'animal, les troubles recensés concernent la reproduction et le métabolisme, ce qui suggère que chez les humains aussi, la dioxine favoriserait la survenue d'épimutations.

LA DISETTE EN HÉRITAGE

Une autre étude a été menée en Suède, à partir de données rassemblées sur 317 personnes nées en 1890, 1905 et 1920 à Överkalix, et sur leurs parents et grands-parents. Marcus Pembrey, de l'University College de Londres, Lars Olov Bygren, de l'institut Karolinska de Stockholm, et leurs collègues ont comparé les informations sur le décès de ces personnes avec des estimations des vivres disponibles dans cette commune qui, au XIX^e siècle, a traversé plusieurs périodes où disettes et bonnes récoltes se sont succédé d'une année à l'autre. Il est apparu que les femmes dont la grand-mère paternelle avait connu, enfant, une telle alternance d'abondance et de privation, présentaient un risque plus élevé de mourir d'une maladie cardiovasculaire.

Curieusement, ce risque accru n'a pas été observé chez les hommes, ni chez les femmes dont la grand-mère maternelle ou les grands-pères avaient vécu un tel changement de régime. L'étrangeté de cette transmission suggère qu'elle pourrait être épigénétique. D'autres travaux sur les descendants d'une population hollandaise victime de la famine pendant la Seconde Guerre mondiale ont livré des résultats similaires.

Si l'idée que des épimutations dues à l'environnement puissent s'inscrire dans la lignée

LE SPECTRE DE L'ÉPIGÉNÉTIQUE

Le fantôme de l'épigénétique hantant notre descendance sur plusieurs générations en conséquence de nos mauvaises habitudes est régulièrement sous les feux de l'actualité médiatique et génère de l'anxiété parmi le public. Sur quels fondements scientifiques s'appuie-t-il ?

Selon un nombre croissant d'études, l'exposition d'un individu, homme ou animal, à des conditions adverses – polluants, stress... – peut influencer la survenue de maladies dans sa descendance. Il s'agit là de cas potentiels de transmission intergénérationnelle, dont certains, tels ceux des études de Michael Skinner, semblent concerner plusieurs générations. Quel en est le vecteur ?

Cela revient à s'interroger sur ce que les parents transmettent à leurs enfants : un patrimoine génétique, des facteurs épigénétiques, mais aussi une éducation culturelle. La combinaison de ces héritages influence les traits morphologiques, la susceptibilité aux maladies et les comportements. Déterminer la part de chacun est un défi, quasi inextricable chez l'homme, mais plus accessible dans les modèles animaux, à condition d'appliquer des protocoles adéquats. Dans des populations naturelles, humaines ou animales, le matériel génétique est polymorphe : un gène peut exister sous plusieurs formes, ce qui joue sur son expression. L'exposition à une composante environnementale adverse est à même d'influencer la transmission de tel ou tel variant génique à la génération suivante et, ainsi, la susceptibilité aux maladies. La sélection en laboratoire de populations de souris et de rats sur plusieurs décennies a permis d'obtenir des lignées avec un fond génétique

homogène : tous les individus portent les mêmes variants. Un premier niveau de bonne pratique expérimentale serait d'utiliser de telles lignées de rongeurs. Malheureusement, la plupart des études reposent sur des modèles d'animaux au fond génétique hétérogène. Ensuite, surtout aux doses élevées souvent utilisées, l'exposition à des agents chimiques pourrait produire des mutations génétiques à l'origine de la transmission des maladies observées. Seul un séquençage complet du génome exclurait cette composante génétique, ce qui n'a encore jamais été réalisé. La question de l'héritage culturel se pose dans les cas de transmission de comportements anormaux. Par exemple, l'exposition de souris à une source de stress peut se répercuter par des comportements phobiques à la génération suivante non exposée. Souvent, une composante épigénétique est mise en avant, mais une transmission « culturelle » du stress (la mère stressée néglige ses petits qui deviennent eux-mêmes stressés) est tout aussi envisageable. Elle est de plus aisément testable : le recours à des protocoles de fécondation *in vitro* et de gestation par mères porteuses permet de s'affranchir de tout contact entre la mère stressée et ses petits. Malheureusement, cette procédure expérimentale est peu appliquée dans les études. La démonstration d'une transmission épigénétique est donc possible : des efforts devront être faits pour améliorer les protocoles et s'affranchir des facteurs autres, génétiques ou culturels.

DÉBORAH BOURC'HIS
ET EDITH HEARD
INSTITUT CURIE-CNRS-
INSERM, PARIS

germinale laisse nombre de biologistes sceptiques, c'est parce qu'elle contredit un fait bien établi : à deux reprises durant le développement, la plupart des marques épigénétiques sont effacées de l'ADN, puis réécrites. Ces deux processus gommeraient ainsi toutes les épimutations acquises et limiteraient leur transmission à la génération suivante.

Les marques épigénétiques sont certes effacées, mais jusqu'à quel point ? La première vague de réinitialisation a lieu dans les jours qui suivent la fécondation. Les groupes méthyle sont retirés des chromosomes parentaux, ce qui confère aux cellules souches embryonnaires la possibilité de former tous les types cellulaires. Les étiquettes réapparaissent juste avant que l'embryon forme ses organes. Dans chaque type de cellules, au fil de leurs divisions et spécialisations, l'ADN se dote de divers profils de méthylation, selon leurs futures fonctions.

Or quelques gènes semblent protégés de cette première vague de reprogrammation épigénétique : ces gènes sont soumis à « empreinte parentale », car les marques épigénétiques qu'ils héritent des parents sont sauvegardées, ce qui garantit que seule la copie maternelle ou paternelle du gène sera utilisée pour fabriquer une protéine.

UNE EMPREINTE ÉPIGÉNÉTIQUE ACQUISE ?

La seconde vague de reprogrammation épigénétique intervient plus tard, lorsque le fœtus d'un être humain est de la taille d'un petit pois. C'est à ce moment-là que les cellules germinales primordiales commencent à apparaître au sein des gonades nouvellement formées de l'embryon, et au moment précis où nous avons administré la vinclozoline et d'autres polluants à nos rats. Chez les humains, cette période s'étend de la 6^e à la 18^e semaine de gestation.

Cette seconde vague est considérée comme totale : les marques de méthylation sont retirées même des gènes soumis à empreinte parentale. Cette perte de méthylation est suivie d'une reméthylation, dont la distribution diffère selon le sexe de l'individu : chez les femelles, les chromosomes contenus dans les futurs ovules acquièrent un profil de méthylation maternel, tandis que chez les mâles, les chromosomes contenus dans les futurs spermatozoïdes obtiennent un profil paternel.

Des agressions environnementales pourraient utiliser ce même mécanisme qui établit les étiquettes sur les gènes soumis à empreinte parentale et inscrire ainsi de nouvelles épimutations dans la lignée germinale. Si l'agression a lieu juste avant la vague de perte de méthylation, elle pourrait brouiller les données épigénétiques : des étiquettes qui auraient dû être

effacées à jamais ne le seront pas, et d'autres qui auraient dû être épargnées ou rétablies pourraient être perdues pour toujours.

Si cette hypothèse se vérifiait, ses répercussions seraient considérables en médecine. Plusieurs équipes tentent de savoir si les obésogènes – des substances présentes dans l'environnement qui dérèglent le métabolisme et entraînent une prise de poids – augmentent le risque d'obésité sur plusieurs générations. En 2013, Bruce Blumberg et ses collègues, de l'université de Californie à Irvine, ont montré que des souris gravides qui buvaient de l'eau contenant du tributylétain, utilisé pour empêcher les bernacles de s'accrocher à la coque des bateaux, mettaient bas des petits enclins à développer trop de cellules adipeuses et à avoir un foie gras. Ces modifications ont persisté dans les deux générations suivantes, ce qu'une épimutation expliquerait facilement.

Ainsi, bien que l'abondance de nourriture et les rythmes de vie modernes soient en grande partie responsables de l'augmentation en Occident de l'obésité, du diabète et d'autres maladies depuis une cinquantaine d'années, il est plausible que l'exposition de nos aïeux à certaines substances ait pu accroître notre prédisposition à ces maladies.

La vision classique de l'évolution devrait aussi être élargie. La transmission épigénétique expliquerait pourquoi de nouvelles espèces apparaissent plus souvent qu'on ne le pensait. Les variations épigénétiques sont mille fois plus fréquentes et pourraient contribuer à augmenter la diversité des individus au sein d'une population. La sélection naturelle agirait alors en ne gardant que les plus aptes – avec leur génome, leur épigénome et tout le reste. ■

La transmission épigénétique expliquerait pourquoi de nouvelles espèces apparaissent plus souvent qu'on ne le pensait

BIBLIOGRAPHIE

M. SKINNER ET AL., Transgenerational sperm DNA methylation epimutation developmental origins following ancestral vinclozolin exposure, *Epigenetics*, vol. 14(7), pp. 721-739, 2019.

E. HEARD ET R. MARTIENSSEN, Transgenerational epigenetics inheritance: myths and mechanisms, *Cell*, vol. 157, pp. 95-109, 2014.

D. P. BARLOW ET M. S. BARTOLOMEI, Genomic imprinting in mammals, *Cold Spring Harbor Persp. Biol.*, vol. 6, a018382, 2014.

L. DAXINGER ET E. WHITELAW, Understanding transgenerational epigenetic inheritance via the gametes in mammals, *Nature Rev. Genetics*, vol. 13, pp. 153-162, 2012.

EDITH
HEARDVINCENT
COLOT

« L'épigénétique, en influant sur l'expression des gènes, est un modulateur clé de l'évolution »



Comment définiriez-vous l'épigénétique aujourd'hui ?

Edith Heard : La définition sur laquelle repose mon travail est celle issue des travaux du Britannique Robin Holliday et de l'Américain Arthur Riggs menés dans les années 1970 : l'épigénétique est l'ensemble des changements d'expression des gènes qui sont transmissibles au cours des divisions cellulaires ou à travers les générations et qui n'impliquent pas de changement de la séquence d'ADN.

Mais la définition de Conrad Waddington revient en force depuis une vingtaine d'années. En 1942, ce biologiste britannique a voulu rapprocher deux domaines, la génétique et l'embryologie, afin d'établir un lien entre génotype (le patrimoine héréditaire d'un individu, porté par les gènes) et phénotype (les caractères observables de l'individu). À

BIO EXPRESS

EDITH HEARD est directrice générale du Laboratoire européen de biologie moléculaire (EMBL), à Heidelberg, en Allemagne, et professeuse au Collège de France, titulaire de la chaire Épigénétique et mémoire cellulaire.

VINCENT COLOT est directeur de recherche au CNRS et dirige le groupe Dynamique des génomes et variation épigénétique à l'École normale supérieure, à Paris.

l'époque, on ne savait pas de quoi étaient faits les gènes. Waddington a proposé de nommer épigénétique l'étude des mécanismes du développement par lesquels les gènes déterminent les caractères. Cette définition a pris un sens plus général aujourd'hui, à mesure que l'on s'est intéressé aux variations plus ou moins grandes de phénotypes que peuvent engendrer pour un même génotype des environnements différents.

Vincent Colot : Oui, la définition de Waddington est prévalente de nos jours : pour faire court, elle englobe tous les processus de régulation de l'expression des gènes, soit dans un cadre développemental, soit en réponse à des signaux de l'environnement externe. On sait que chez les eucaryotes (les organismes dont les cellules ont un noyau), cette régulation fait intervenir de nombreux mécanismes agis-