

## Synthèse FSH : travaux de 2008-2009 (F. Leterrier 19-10-2009)

Depuis ma précédente synthèse faite en février 2007 et complétée à la suite du workshop ayant eu lieu à l'Institut de Myologie en mai 2007, de nouveaux travaux d'un grand intérêt ont été publiés dans la deuxième moitié de 2008 et surtout en 2009. Le mécanisme moléculaire de la maladie est loin d'être résolu, et il semble même que des résultats considérés comme solides soient remis en question. Voici donc une synthèse de ces travaux (en rappelant certains d'entre eux plus anciennement publiés mais peut-être parfois passés inaperçus).

En conclusion, je propose une hypothèse qui pourrait ouvrir la voie à de nouvelles approches expérimentales.

### **Court rappel clinique.**

La dystrophie facio-scapulo-humérale (FSH en français, FSHD en anglais) est une maladie musculaire assez fréquente (1/20.000 naissances) dont la description clinique a peu évolué depuis celle qu'en ont faite L. Landouzy et J. Déjérine (1) en 1884. Elle est caractérisée par un lent affaiblissement de nombreux groupes musculaires. Le début commence le plus souvent par des muscles de la face. Ces malades dorment souvent les yeux ouverts en raison de l'atrophie des orbiculaires de paupières, c'est souvent le premier signe de la maladie. Ils ne peuvent ni gonfler leurs joues ni sourire. Ensuite sont atteints les muscles de la ceinture scapulaire (fixateurs de l'omoplate et deltoïde : les malades ne peuvent plus lever leurs bras). Les muscles abdominaux sont affectés (les malades présentent une protrusion abdominale). La ceinture pelvienne est moins souvent et toujours plus tardivement atteinte, entraînant des difficultés puis l'impossibilité de la marche. De façon moins constante la jambe est affectée et en particulier le tibial antérieur. Une importante caractéristique est la dissymétrie de ces atteintes musculaires qui n'est pas corrélée avec la latéralité du sujet.

La variabilité clinique est très grande non seulement dans la même famille de sujets atteints et même chez des vrais jumeaux.

Il n'y a pratiquement jamais d'atteinte cardiaque. Les troubles de l'audition (au niveau de la perception) sont fréquents.

L'EMG ne montre aucune anomalie spécifique.

Les anomalies biologiques sont banales (CK élevées).

L'histologie montre des images banales de dystrophie (taille variable des fibres et noyaux centraux).

L'imagerie a été peu pratiquée. Elle révèle l'atrophie. Au niveau de la jambe, le scanner il a quelques années et l'IRM<sup>1</sup> plus récemment montrent une atteinte très spécifique au tibial antérieur.

---

<sup>1</sup> H. Kan et al Neuromuscular Disorders 2009 (accepté 23/6/2009)

## Quelle est la lésion génétique ?

La transmission de la maladie est autosomique dominante.

L'anomalie génétique découverte dès 1990 (2) est localisée à l'extrémité télomérique du chromosome 4. La zone D4Z4 (éléments répétés de 3,3 KB) est raccourcie et il est classique de dire que la maladie n'apparaît que lorsque le nombre des répétitions est inférieur à 11.

Mais des résultats récents remettent cela en question.

L'équipe hollandaise (de Greef -3-) a montré les faits suivants :

- tous les sujets avec 4qter raccourci et symptomatologiquement FSH sont porteurs de l'allèle 4qA161, ils sont appelés *FSHD1*,
- il existe environ 15 % de sujets phénotypiquement FSH avec 4qter non raccourci, mais ils portent l'allèle 4q161 et sont appelés *FSHD2*
- chez tous ces sujets, il existe une hypométhylation de la région D4Z4 (la détermination du niveau de méthylation de cette région serait le meilleur test diagnostique de la maladie).
- enfin, il existe des sujets avec raccourcissement de D4Z4 mais sans symptômes de la maladie ce sont les *FSH asymptomatiques*.

Cependant, l'équipe italienne de R. Tupler (4, 5) a analysé cliniquement et génétiquement 465 sujets appartenant à 238 familles italiennes. Il existe 35 % de sujets avec 4qter raccourci qui sont asymptomatiques et 20 % de sujets à symptomatologie très réduite (score 2 à 4 pour un maximum de 15). Ces sujets sont-ils porteurs de 4q161 ? Ce groupe italien vient de découvrir trois sujets FSH de la même famille porteurs de l'haplotype 4q163 et un autre sujet 4qA161 est porteur du variant C, qui n'avait jamais été observé jusqu'à présent.

***Le raccourcissement de D4Z4 n'est donc ni nécessaire ni suffisant pour que la symptomatologie FSH apparaisse.***

La présence de l'haplotype 4qA161 (quelle que soit la longueur de la région) semble cependant le plus souvent nécessaire. Il faut en plus que l'ADN en D4Z4 soit hypométhylé et que cette hypométhylation porte non seulement sur l'ADN lui-même (sur les cytosines) (De Greef -3-) mais surtout sur la chromatine de l'extrémité télomérique du chromosome 4 (W. Zeng -6-). L'équipe hollandaise trouve chez tous les sujets phénotypiquement FSH examinés une diminution de l'histone méthylée H3K9me3. Ceci est associé à un défaut de présence des protéines HP1 $\gamma$ <sup>2</sup> et cohésine qui jouent un rôle fondamental dans la structuration de la chromatine. Ces phénomènes d'hypométhylation existent chez les sujets FSH1 et FSH2.

---

<sup>2</sup> HP1 $\gamma$ : At the nuclear envelope, the nuclear lamina and heterochromatin are adjacent to the inner nuclear membrane. The protein encoded by this gene binds DNA and is a component of heterochromatin. This protein also can bind lamin B receptor, an integral membrane protein found in the inner nuclear membrane. The dual binding functions of the encoded protein may explain the association of heterochromatin with the inner nuclear membrane. Two transcript variants encoding the same protein but differing in the 5' UTR, have been found for this gene.

**Cette anomalie structurale de la région 4qter s'accompagne-t-elle de variations dans l'expression de gènes situés en particulier sur le chromosome 4, mais aussi ailleurs ?**

De nombreux travaux ont tenté de mettre en évidence des variations d'expression d'ARN et de protéines au moyen de diverses méthodes de criblage (Affymetrix et autres pour les ARN, gels bidimensionnels avec ou sans spectrométrie de masse pour les protéines). *Aucune cohérence n'apparaît dans l'ensemble de ces résultats.*

La première étude est celle R. Tupler (7) qui concluait à une forte dérégulation de l'expression des gènes. Parmi eux ont été indiqués les protéines musculaires suivantes : la myoglobine, la titine, la nébuline, l'histone 4-acétyl transférase, la protéine chromosomique non histone HMG17, les protéines mitochondriales adénine nucléotide translocator (ANT 1) et manganèse superoxyde dismutase 2. ANT1 a été retrouvée par R. Tupler elle-même (8) et par l'équipe de D. Laoudj en protéomique (9), mais son implication dans la maladie n'a pas été confirmée. D'autres publications en provenance de plusieurs équipes trouvent d'autres résultats (10, 11) mais ils n'ont pas été confirmés.

Le très récent travail de Klooster R et al (11 bis, paru le 7 octobre 2009) conclut qu'il n'existe de surexpression d'aucun des « gènes candidats », pour FSH. Ils citent FRG2, CRYM (la  $\mu$ -cristalline cf 11 ter), FRG1, ANT1, ALP (une alcaline proteinase ?), PITX1 (impliquée avec DUX 4), et LRP2BP (protéine impliquée dans le syndrome de Burkitt ?).

Le travail de P. Arashiro et al (12) montre des résultats jusqu'à présent inédits qui ne confirment aucun des résultats plus « classiques ». Ces auteurs ont étudié des sujets normaux et deux types de sujets 4qA161 à zone D4Z4 raccourcie : des malades et des non symptomatiques.

L'expression d'un seul gène est identiquement modifiée chez les malades et les asymptomatiques par rapport aux sujets normaux, il code pour une chaîne lourde d'immunoglobine (IGHA1). Ils n'ont rien observé pour FRG1 et ANT1, ni pour DUX4, mais leurs puces ne ciblent pas DUX4 spécifique du chromosome 4q .

En comparant les expressions des sujets malades et des normaux ; ils trouvent 132 gènes sous-régulés (d'un facteur 0,08 à 0,49) répartis sur tous les chromosomes (sauf le 10 et l'Y, dont 5 en 4q et 1 en 4p) et 20 gènes sur-régulés (d'un facteur 2 à 20 dont 1 en 4q). Aucun de ces gènes parmi ceux fortement sous ou sur exprimés ne semble avoir de lien avec FSH, hormis peut-être SSBP3<sup>3</sup> (en 1p32.3) impliquée dans le développement embryonnaire. De ce travail, on peut conclure qu'une vaste dérégulation de l'expression génique existe dans cette maladie. Mais qu'observerait-on en faisant une semblable étude dans une dystrophie musculaire où l'anomalie génétique causale est parfaitement déterminée, par exemple dans la dystrophie de Duchenne ? Trois résultats nouveaux semblent cependant apparaître de l'étude d'Arashiro :

-La diminution de l'expression des gènes concernés par le système d'ancrage des glycoprotéines impliquant le phosphatidyl inositol (GPI anchor). Sont concernés

---

<sup>3</sup> Single Stranded Binding Protein 3 impliquée dans le développement.

par ce système les cavéoles des membranes. Aucune anomalie des cavéoles n'a été observée histologiquement dans les membranes musculaires de sujets FSH. Il faut citer cependant le travail resté jusqu'à présent isolé de Reed (13)<sup>4</sup>.

-Ils suggèrent que les perturbations qu'ils observent pourraient être impliquées dans l'acétylation des histones : celle-ci ne semble pas altérée chez les malades, c'est leur méthylation qui l'est.

-Ils observent aussi une variation du profil d'expression de miRNAs qui diminuerait l'expression des mRNA codant pour ATG16L1, EPAS1, et PCDH9<sup>5</sup>.

***Beaucoup d'incertitudes et une grande incohérence existent donc en matière d'anomalies dans l'expression de gènes qui pourraient être impliqués dans cette maladie.***

Malgré ces incohérences, deux gènes restent cependant "dans la course". Il s'agit de FRG1, et de DUX4 et sa "famille" de petits ARN. *Ils impliquent une anomalie dans le développement du muscle en particulier au niveau de la transformation myocyte -> myoblaste.*

**1 FRG1** : deux publications récentes apportent des arguments pour l'implication de ce gène.

Hanel et al (14) mesurent chez les têtards de crapaud le taux du mRNA de FRG1 en fonction du stade de leur développement depuis l'œuf jusqu'au 41e stade (S). Après une brève période d'accroissement jusqu'au S9, le taux décroît rapidement (15 fois moins) jusqu'au S16 puis plus faiblement (24 fois moins que le maximum) au stade 41. La présence de cette protéine paraît donc nécessaire au développement musculaire. Pour s'en assurer, les auteurs ont injecté des morpholino antisens dans un seul côté du corps. Ils provoquent alors une dissymétrie de

---

<sup>4</sup> Les rares études histologiques concernant le muscle FSH n'ont en général rien révélé de bien spécifique. Un travail récent de P. Reed et al (Ann Neurol 2006, 59, 289-297) montre cependant en microscopie confocale que certaines structures du sarcolemme ne sont pas correctement alignées en regard de l'appareil contractile adjacent. La microscopie électronique montre une augmentation significative de la distance entre le sarcolemme et les myofibrilles les plus proches, de moins de 100 nm dans les muscles témoins jusqu'à 550 nm dans les muscles FSH. Dans l'état actuel de leur travail, ils ne peuvent faire aucune suggestion concernant l'origine moléculaire de cette observation. Il serait intéressant de la confirmer et d'utiliser la grande variété de techniques histo-chimiques et histo-immunologiques dont on dispose actuellement. *Une protéine du sarcolemme serait-elle impliquée ?*

<sup>5</sup> ATG16 autophagy related 16-like-1 -2q37.1- associated with predisposition to Crohn's disease), EPAS1 (Endothelial PAS domain protein 1 : un facteur induit par l'hypoxie), et PCDH9. This gene belongs to the protocadherin gene family, a subfamily of the cadherin superfamily. The mRNA encodes a cadherin-related neuronal receptor that localizes to synaptic junctions and is putatively involved in specific neuronal connections and signal transduction. Sharing a characteristic with other protocadherin genes, this gene has a notably large exon that encodes six cadherin domains and a transmembrane region. Two alternatively spliced transcript variants encoding distinct isoforms have been found for this gene.

développement du myotome du crapaud. Une diminution significative de PAX3 et de MyoD est observée lorsque l'injection des morpholino est effectuée au stade 20. Elle n'a plus d'effet au stade 34. L'expression de Myf5 n'est pas altérée. La surexpression de FRG1 provoque aussi une altération de la morphologie épiaxiale du muscle, ce que les auteurs montrent en injectant du mRNA de FRG1 au stade 36 : des défauts de segmentation des somites apparaissent. Ces résultats suggèrent que FRG1 joue un rôle dans les transitions mésenchymateuses <—> épithéliales.

Bodega et al (15) ont étudié le niveau d'expression de FRG1 en fonction du temps sur des cultures de myoblastes provenant de sujets normaux et FSH ainsi que la structure de la chromatine et l'interaction tridimensionnelle de la zone D4Z4 avec le promoteur du gène FRG1, lui-même proche de D4Z4. FRG1 est exprimé très précocement au cours de la transformation myogénique (entre J0 et J8) et cette expression est significativement augmentée à J1 et J3 dans les cellules FSH, elle redevient identique à celles des cellules de sujets normaux à partir de J5. La surexpression de FRG1 ne serait donc que transitoire et probablement limitée aux phases de régénération du muscle. Utilisant la belle technique de « chromosome conformation capture » (CCC), ils montrent l'existence d'une boucle chromatinienne stable connectant D4Z4 à TUBB4q (un gène proche de FRG1). Une autre boucle entre D4Z4 et le promoteur de FRG1 est relaxée lors de la différenciation myogénique. Le raccourcissement de D4Z4 contribuerait à la mauvaise régulation de l'expression de FRG1, mais ce ne serait pas la seule cause provoquant l'apparition de la pathologie. Ils ont aussi étudié la méthylation de la région. Enfin, ils utilisent une méthode d'identification de 4qter avec trois marqueurs colorés différents. La structure géométrique de cette extrémité est faiblement mais visiblement modifiée entre les sujets normaux et les sujets FSH, impliquant l'importance du complexe « polycomb <sup>6</sup> ». Enfin, ils n'observent pas de différence dans la méthylation de D4Z4H3K27me3, mais ils ne semblent pas avoir étudié celle de D4Z4H3K9me3.

## 2 La « famille » DUX4

***Il n'y a plus guère de doute actuellement concernant les variations d'expression de DUX4.*** Il s'agit certes de la protéine entière (Bosnakovski et al -17), mais le mRNA entier ainsi que des fragments sens et antisens, seraient encore plus importants que la protéine elle-même (L. Snider et al 19). La protéine DUX4 possède deux homéodomains dont les séquences sont similaires à celles de Pax3 et Pax7. L'expression de DUX4 provoque la répression de MyoD et des gènes cibles, elle diminue la différenciation myogénique et elle réprime l'expression des composants de la voie réductrice liée au glutathion en augmentant ainsi les effets du stress oxydant. La surexpression de Pax3 ou de Pax7 inhibe cet effet de DUX4. Rappelons que la sensibilité des cellules musculaires FSH au stress oxydant a été montrée (18). Très récemment (17 bis), Bosnakowski et al ont construit un système d'induction par la doxycycline du gène DUX4 de la souris (mDUX4). Ils en ont testé l'expression sur plusieurs lignées cellulaires : des myoblastes C2C12, des fibroblastes 3T3 et des

---

<sup>6</sup> Component of the Polycomb group (PcG) multiprotein PRC1 complex, a complex required to maintain the transcriptionally repressive state of many genes, including Hox genes, throughout development. PcG PRC1 complex acts via chromatin remodeling and modification of histones; it mediates monoubiquitination of histone H2A 'Lys-119', rendering chromatin heritably changed in its expressibility. In the PRC1 complex, it is required to stimulate the E3 ubiquitin-protein ligase activity of RNF2/RING2.

cellules ES de souris. La toxicité de DUX4 apparaît pour de faibles concentrations de doxycycline. Elle est aussi observée sur les fibroblastes. Un autre résultat concerne l'effet des antioxydants. Contrairement à ce qu'ils ont observé avec DUX4 de l'homme, ces composés ne diminuent pas la toxicité de mDUX4. Ils montrent aussi qu'un très faible niveau d'expression de mDUX4 diminue l'expression de MyoD.

Dans ce domaine, l'étude de L. Snider et al (19), centrée sur DUX4, concerne l'expression de miRNAs et des protéines produites par les unités D4Z4 dans des cellules musculaires provenant de sujets normaux et FSH. De nombreux RNA sens et antisens ont été identifiés. La protéine DUX4 serait rarement exprimée entièrement, mais des morceaux plus ou moins longs de DUX4 inhibent la myogénèse à une étape comprise entre la transcription de MyoD et l'activation des gènes cibles de MyoD<sup>7</sup>.

La mauvaise reproductibilité des études d'expression de gènes et en particulier de FRG1 et DUX4 pourrait avoir la raison suivante : leurs variations d'expression ne seraient que transitoires et ne concerneraient que des éléments du muscle en régénération. Les résultats dépendraient alors fortement du moment et de la région musculaire où ont été faites les biopsies.

**Il existe un gène DUX4c à environ 42kB de l'extrémité centromérique de la zone D4Z4 (tout près du gène FRG2).** Il avait été jusqu'à présent considéré comme non fonctionnel. Une équipe franco-belge bien connue (26) vient de montrer tout récemment (15/10/2009) que c'est un gène fonctionnel transcrit en un mRNA, et que la protéine correspondante existe dans les cellules musculaires humaines normales. Elle est surexprimée dans les muscles FSH. Cette surexpression pourrait activer la prolifération des myoblastes humains et inhiber leur différenciation in vitro. Cela est probablement dû à une induction excessive de MYF5 par DUX4c.

Les sujets FSH inclus dans cette étude ont tous un nombre d'éléments D4Z4 inférieur à 10. Il serait intéressant de savoir si la surexpression de DUX4c est observée aussi chez des sujets FSD2 (cliniquement malades mais avec plus de 10 éléments D4Z4) et, comme le suggèrent les auteurs, chez les sujets asymptomatiques avec un nombre réduit de D4Z4.

On retrouve à nouveau cette idée qu'il existe un trouble de la transition myoblaste-myocyte dans FSH. La surexpression de DUX4c pourrait ralentir la

---

<sup>7</sup> L'idée que FSH soit au moins en partie liée à un trouble du développement du tissu musculaire a été émise l'équipe d'Eric Hoffman mettant en jeu une démarche expérimentale toute différente (M. Bakay, ..., EP Hoffman : Brain 2006, 129, 996-1013). Les dystrophies liées à l'enveloppe nucléaire ont une signature transcriptionnelle suggérant une altération des voies Rb-MyoD de la régénération musculaire. Ils ont étudié le transcriptome des ARNm de 125 biopsies humaines provenant de 12 groupes de malades et d'un groupe témoin. Une analyse statistique très rigoureuse des résultats regroupe la LGMD1B et la maladie d'Emery Dreiffus liée à l'X (défaut en émerine). Ce groupe est lui-même très proche de celui où se trouvent les sujets FSH (et aussi les sujets témoins). Les gènes impliqués dans le groupe LGMD1B EMD sont CREBBP (une acétylase impliquée dans l'activation de MyoD et dans celle d'histones sur des cibles transcriptionnelles en aval de MyoD), P300, CRI-1 (un inhibiteur de CREBBP), RBL-2 (Retinoblastoma-like 2) et NAP1L1 (Nucleosome Assembly Protein1-Like1, une protéine qui se lie aux histones acétylées et sert de chaperone pour ouvrir la chromatine sur les cibles en aval de MyoD/CREBBP). *La surexpression de ces protéines empêcherait l'activation complète de MyoD et la régénération musculaire. L'article ne cite pas explicitement les gènes impliqués dans le groupe FSH.* D'après le tableau de détermination, il semble qu'ils soient différents. On trouve l'idée qui sera détaillée plus loin dans le présent texte d'une modification de la structure de la chromatine.

production des myocytes au cours des processus de régénération, en interférant avec les variations d'expression de FRG1 (14, 15).

### **Quelles sont les variations de la structure de la chromatine de 4qter ?**

Le premier travail sur ce thème est celui de R. Tam et al (20) montrant que le chromosome 4 est fixé à la membrane interne du noyau par l'extrémité 4qter. Cet attachement est identique dans les cellules musculaires des sujets normaux et des malades FSH. Ce type d'attachement est pratiquement spécifique de ce chromosome ; ce n'est pas le cas en particulier du chromosome 10 dont la structure télomérique ressemble pourtant à celle du 4. Ces auteurs rappellent que dans cette région très riche en hétérochromatine, l'expression d'éventuels gènes est très réprimée.

Ce résultat est confirmé par une publication de PS Masny et al (21) qui montre que cette localisation périphérique se retrouve dans les myoblastes, les myotubes, les fibroblastes et les lymphoblastes des sujets normaux et FSH et qu'elle ne varie pas au cours du cycle cellulaire. Ce ne serait pas la région D4Z4 elle-même qui serait en interaction avec la lamine, mais une séquence voisine (D4S139) plus proche du télomère. De plus, la lamine A/C est nécessaire pour cette localisation ; les auteurs ont observé sur des fibroblastes de malades LGMD1B (déficients en lamine A/C : Emery-Dreyfuss dominant) que la zone 4q ne se trouve plus localisée près de l'enveloppe du noyau<sup>8</sup>.

Petrov et al (22, 23) ont marqué la boucle d'ADN où se trouve la zone de répétition D4Z4 dans des myoblastes primaires humains et dans des hybrides souris-homme. Un site d'attachement à la matrice du noyau est situé dans le voisinage des répétitions. L'affinité de ce site est forte dans les myoblastes normaux et dans les cellules humaines non musculaires, elle est beaucoup plus faible dans les cellules musculaires de malades FSH. Ceci suggère que la zone de répétition D4Z4 et les gènes en amont se trouvent sur deux boucles dans les cellules non musculaires et dans les myoblastes humains normaux mais sur une seule boucle dans les myoblastes FSH. Cela modifie l'accessibilité de la chromatine et l'expression de gènes impliqués dans la genèse de la FSH.

Plus récemment (24), en utilisant la technique de "chromosome conformation capture" (CCC), ils montrent que la diminution du nombre de répétitions en 4q35 est associée à un changement de conformation de cette région du chromosome, laquelle provoquerait une interaction directe entre les promoteurs de FRG1 et de ANT1 dans les cellules musculaires FSH. Un spectaculaire schéma illustre leur hypothèse.

-L'équipe d'Ottaviani, Sacconi, Gilson (25) introduit dans des cellules humaines des constructions portant de 1 à 11 répétitions D4Z4 et utilise la technique d'immunoprécipitation de la chromatine. Ils montrent que D4Z4 agit comme un isolateur dépendant du CTCF<sup>9</sup> et des lamines de type A. Cette action semble perdue lorsque la région est plus courte.

<sup>8</sup> Il y aurait peut-être des aspects de biologie cellulaire communs entre FSHD et EMD ?

<sup>9</sup> CCCTC binding factor, protéine à doigt de zinc. Le CTCF est un facteur de transcription spécifique du DNA qui implique l'action de la cohésine. Il agit à longue distance et contribue à la formation de boucles (par exemple dans l'inactivation de l'X). Le CTCF ne semble pas

- Rappelons les travaux de Zeng (6) : la perte de l'histone H3K9me3 s'accompagne d'une diminution de la présence du CTCF mais surtout de HP1 $\gamma$ <sup>10</sup> et de la cohésine chez les sujets FSH. Chez le sujet normal, la chromatine de 4qter serait très compacte mais par des interactions à longue distance avec des gènes distants, elle en réprimerait l'expression. Dans FSH, la perte de H3K9me3, de HP1 $\gamma$  et de cohésine entraîne la perte de cette interaction chromatinnienne et une dé-repression de gènes distants.

-Les travaux de Bodega cités plus haut (15) complètent cette idée de l'importance des variations de structures de la chromatine dans cette maladie.

-Très récemment (25), il vient d'être montré l'existence d'une hypersensibilité à la Dnase1 dans les régions très pauvres en gènes du chromosome 4 juste en aval de la région D4Z4. Ceci est observé sur des cellules provenant de malades FSH, suggérant une importance fonctionnelle de cette région.

**En conclusion**, tout ce qui a été trouvé jusqu'à présent ne serait que la conséquence d'une anomalie (une modification structurale de l'épigénome) dont la cause reste encore à déterminer, par exemple une enzyme impliquée dans la structure de la chromatine (une méthyltransférase ?) et dont le gène n'a pas encore été identifié. La lésion génétique primaire ne se trouverait donc pas nécessairement en 4qter.

Le raccourcissement de la région D4Z4 n'est pas strictement corrélé à l'apparition de la maladie. Les nombreux gènes voisins suspectés sont inconstamment retrouvés anormalement exprimés. Actuellement, il semble que le facteur le plus fortement corrélé avec la pathologie soit l'hypométhylation de l'histone H3K9me3 liée à la diminution de HP1 $\gamma$  et de la cohésine (est-ce dû au défaut d'accrochage sur cette région hypométhylée, ou bien est ce un défaut d'expression de ces protéines ?).

Imaginons l'absence d'une enzyme impliquée dans cette méthylation spécifique de la structure de type D4Z4 (on sait que l'hypométhylation a lieu aussi bien sur le 4qter que sur 10qter). Cette hypométhylation provoque une modification structurale de la chromatine qui n'est possible que sur le chromosome 4 car il se trouve dans une situation particulière dans le noyau (fixation à la face interne de l'enveloppe nucléaire). Le chromosome 10 ne serait pas concerné car HP1 $\gamma$  est localisée au niveau de la membrane nucléaire. Cette hypométhylation rend la chromatine moins compacte et provoque l'expression de séquences d'ADN normalement réprimées situées dans la zone D4Z4 (la « famille » DUX 4) ou à proximité (FRG1). Cette instabilité structurale peut dépendre du stade de développement des cellules musculaires et les gènes n'être anormalement exprimés

---

se fixer sur D4Z4, mais la cohésine associée à HP1 $\gamma$  peut avoir ce rôle en l'absence de CTCF d'où la répression possible par la formation de boucle.

---

<sup>10</sup>

Dans un travail effectué en 2002-2003, mais non publié, D. Laoudj à Montpellier avait observé l'absence presque complète de HP1 $\gamma$  sur les gels bidimensionnels des protéines extraites de muscles FSH.



que pendant de courtes périodes ce qui permettrait de comprendre la grande variabilité des résultats des études d'expression et en particulier l'inconstance des résultats concernant FRG1 et DUX 4, pourtant impliqués eux-mêmes dans la myogenèse. Cette instabilité structurale aurait *secondairement* pour conséquence la variabilité de la longueur de la région et permettrait de comprendre la mauvaise corrélation qui semble de plus en plus évidente entre cette longueur et l'apparition de la maladie. Il faudrait peut-être moins s'intéresser au chromosome 4 et rechercher ailleurs dans le génome une anomalie qui serait la véritable cause moléculaire de cette pathologie.

## Bibliographie

- 1-Landouzy L et Déjérine J C R : Acad Sc (Paris) 1884 93 53-55
- 2-Wijemenga C, Frants RR et al : Lancet 1990 336 651-653
- 3- de Greef J, Lemmers R.J. et al : Human mutation 2009 30 1-11
  
- 4- Bonifazi E , ... , Tupler R : Unexpected high percentage of asymptomatic subjects carrying the FSHD molecular defect ; which facts contribute to the disease mechanism ?
- 5-Govi M, ..., Tupler R : High variability in european population : the FSHD complex puzzle  
Posters WMS Genève septembre 2009 : N° GP15-08 et GP15-09 Neuromuscular Disorders **2009** 19 pp 649-650.
  
- 6- Zeng W , de Greef J et al : Plos genetic Jul **2009**, issue 7 .e1000559
- 7 Tupler R et al : PNAS 1999 96 12650-12654)
- 8- Gabellini D Green MR, Tupler R : Cell 2002 110 339-348
- 9- Laoudj-Chenivresse D et al : J Mol Med 2005 83 216-24
- 10 - Winokur ST et al : Hum Mol Genet 2003 12 2895-907
- 11- Celegato B et al, Proteomics : 2006 6 5303 - 21
- 11 bis Klooster Eur J Hum Genet : 7 oct **2009** doi : 10.1038/ejhg.2009.62
- 11 ter P. Reed et al : Ann Neurol 2006, 59, 289-297
- 12- Arashiro P et al : PNAS **2009** 106 6220-6225
- 13 P. Reed et al : Ann Neurol 2006, 59, 289-297
- 14- Hanel M, Wuebbles RD and Jones PL : Developmental dynamics **2009** 238 1502-1512
- 15- Bodega B et al : BMC Biology **2009** 7 :41 (16 07 2009) (16 p)
- 16- Bakay M, Wang Z, ..., Hoffman EP : Brain. 2006 Apr;129(Pt 4):996-1013.
- 17- Bosnakovski D et al : Embo J **2008** 27 2766-2779
- 17 bis - Bosnakovski D et al PlosOne September 2009 4, 9 e7003
- 18- Barro M et al : J Cell. Mol. Medicine **2008** (postprint ; 10.1111/j.1582-4934.2008.00368.x
- 19 - L Snider et al : Human Mol genet **2009** 18 2414-2430
- 20- R. Tam et al : J. Cell Biol 2004 167 269-279
- 21- [Masny PS](#), [Bengtsson U](#), [Chung SA](#), [Martin JH](#), [van Engelen B](#), [van der Maarel SM](#), [Winokur ST](#). (Hum.mol. genet 2004 13 1857-71) intitulée « Localization of 4q35.2 to the nuclear periphery : is FSHD a nuclear envelope disease? »
- 22- A. Petrov et al : PNAS 2006, 103, 6982-87.
- 23- A. Petrov et al : Genome res **2008** 18 39-45
- 24- I Pirozhkova et al : Plos One oct **2008** volume 3 issue 10 (e3389)
- 25- X. Xu et al Nucleic Acids Research Advance Access : octobre **2009** : pages 1-13 (doi : 10.1093/nar/gkp833
- 26- E. Anseau, D. Laoudj-Chenivresse, A. Marcowycz, A. Tassin, C. Vanderplanck, S. Sauvage, M. Barro, I. Mahieu, A. Leroy, I. Leclercq, V. Mainfroid, D. Figlewicz, V. Mouly, G. Butler-Browne, A. Belayew, F. Coppée : PloS ONE 15 octobre 2009 volume 4 issue 10 (11 pages).

oooOOOooo