

ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE (ED 414)

Laboratoire de neurosciences cognitives et adaptatives (LNCA)

UMR7364 Université de Strasbourg-CNRS

Equipe 1 : Modulation épigénétique des processus neurodégénératifs

THÈSE présentée par :

Baptiste BRULÉ

soutenue le : **07 juin 2024**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université de Strasbourg**

Discipline/ Spécialité : Neurosciences

**Caractérisation et modulation non pharmacologique
des dérégulations épigénétiques associées à la
maladie de Huntington : vers l'identification de
nouvelles cibles thérapeutiques**

THÈSE dirigée par :

Mme MERIENNE Karine

Directrice de Recherche, Université de Strasbourg

RAPPORTEURS :

Mme BETUING Sandrine

Professeure, Sorbonne Université

M. TRONCHE François

Directeur de Recherche, Sorbonne Université

AUTRES MEMBRES DU JURY :

M. LUTZ Pierre-Eric

Chargé de Recherche, Université de Strasbourg

***** REMERCIEMENTS *****

Je tiens à remercier **Sandrine Betuing** et **François Tronche** d'avoir accepté de prendre de votre temps pour être rapporteur·ice de ma thèse et j'ai hâte d'avoir vos retours et pouvoir échanger avec vous sur ces travaux qui ont occupé mes 4 dernières années. Merci également à **Pierre-Eric Lutz** de compléter ce jury, et pour les discussions que l'on a pu avoir tout au long de cette thèse, merci pour ta disponibilité. Merci également à **Luc Dupuis** et **Jorge Mendoza** d'avoir contistué mon comité de suivi de thèse durant ces 4 années, ce fut un plaisir de pouvoir discuter avec vous de mes résultats mais aussi de mes remises en question et incertitudes sur la poursuite de ma carrière.

Je tiens évidemment à adresser un grand merci à ma directrice de thèse, **Karine Merienne**. Cela fait maintenant près de 6 ans que l'on a commencé à travailler ensemble depuis l'IDSN au début du master, et si je défends cette thèse aujourd'hui c'est sans nul doute grâce à tout ce que tu as pu m'apporter. Le long parcours de la thèse n'a pas été des plus limpides mais c'est aussi ce qui le rend si unique, donc merci d'avoir su rester patiente, à l'écoute de mes remises en question et d'avoir su me motiver quand il l'était nécessaire. Merci également pour ton implication dans mes travaux, pour ta disponibilité et l'énergie que tu as attribuée à toutes ces relectures et entraînements à travers lesquels tu m'as poussé vers le haut. Il est certain que le scientifique que je deviens gardera en lui la rigueur dont tu fais preuve et que tu as su m'inculquer. Enfin, merci pour toutes les discussions que l'on a pu avoir particulièrement sur la fin de la thèse. Merci pour tout.

Un très grand merci également à **Charles Decraene** sans qui la moitié des figures de cette thèse n'auraient pas existées. Je suis conscient et te remercie pour la patience dont tu as fait preuve face à mes questions à répétition pour débugger mes scripts R. On s'est également bien pris la tête sur certains jeux de données mais sans ton aide et nos discussions ça aurait été pire, donc merci d'avoir été là.

I also want to thanks **Rafael Alcala-Vida** a lot. You generated a lot of the datas that I worked on during the last years and are presented in the submitted paper so, this thesis would have litteraly not been the same without your contribution. More than that, you taught me so much things during the 2 years that we shared at the lab. You are a real researcher example

for me and it wasn't easy to manage as good as you all the lab stuff after you left. Thank you to have been such dedicated to explain me all the experimental little -but crucial- details and to always took the time to answer my questions about analyses and theoretical concepts. Thank you for your kindness and availability.

Merci également à tout le reste de l'équipe de Karine avec qui j'ai pu travailler durant cette thèse. **Ali**, we didn't have the opportunity to work together during my PhD but thank you for your smile and your motivating punchlines. Merci à **Noémie Penaud et Jil Scuto** d'avoir contribué à l'avancée des travaux que je présente dans cette thèse. Mais aussi et surtout merci d'avoir rejoint l'équipe avec votre bonne humeur, ça a été un plaisir de partager le bureau et ces heures de manip avec vous. Bon courage pour la suite je n'ai aucun doute que vous allez être à la hauteur pour prendre la relève. Merci également à **Coline Mounier** pour le temps que tu as accordé à me briefer sur le métabolisme. Enfin, merci à **Axelle et Charlotte** qui êtes passées par le labo pour 6 mois ou quelques semaines, c'était un plaisir d'avoir pu travailler avec vous.

Thank you also a lot to **Isabel Paiva** and **Iris Grgurina**. We shared a lot of time at the bench and talking about technical stuff. It was a real honor to be able to share these reflections which such talented people than you. And more than that, thank you for you availability and to always kept the smile even when I asked for the 20th time, where do we stock the antibodys and if you can show me the CUT&Tag.

Un grand merci à **Aminé et Brigitte** pour tout ce que vous faites, tout en discréction et sans qui l'équipe, voire le laboratoire, serait à l'arrêt. Sans vous j'aurais clairement passé la moitié de ma thèse à gérer les lignées de souris, faire du génotypage et des coupes au cryostat. Merci pour votre implication sans faille mais aussi et surtout pour votre pédagogie.

Merci également **Claudine Ebel et Muriel Philipps** pour votre aide au FACS et votre disponibilité à trier nos capricieux noyaux même quand ce n'était pas gagné d'avance. De la même manière, cette thèse n'aurait pas le même aboutissant sans le travail de **Stéphanie Le Gras** et de l'ensemble de la plateforme **GenomEast**, donc un grand merci à vous pour la qualité que vous appliquez à votre travail.

Egalement, je souhaite remercier l'**ITI-NeuroStra** pour la confiance accordée à mes travaux et les financements qui nous ont été attribués pour ceux-ci, à savoir le prolongement

de mon contrat doctoral ainsi que le financement du projet interdisciplinaire attribué à Karine Merienne et Etienne Birmelé et qui a permis l'analyse temporelle des dérégulations épigénétiques.

Merci à **Laurette Boutillier** pour les discussions, l'intérêt que tu as porté à mes travaux et les nombreuses questions qui ont pu m'aider à prendre du recul sur mes données.

Merci aussi à **Jean-Christophe, Chantal, Céline et Marina** pour votre disponibilité, les remises en question (techniques mais pas que) que vous avez su déclencher en moi et les discussions que l'on a pu avoir durant ces 4 années, qui ont élargies mon point de vue et m'ont permis de sortir de ma zone de confort.

Plus globalement, merci à tout·es les **membres du LNCA**, ce fut un réel plaisir que de réaliser cette thèse parmi vous. Merci à Catherine pour tout le travail que tu abats, merci à Alexandra et Monique pour l'aide et la bienveillance dont vous avez fait part à mon égard pour le monitorat, merci à Katia pour les petites discussions du quotidien qui permettent de relativiser et pour ton implication dans la dynamique des neurosciences strasbourgeoises, je te remercie aussi au nom de Doctoneuro, le LNCA a de la chance de t'avoir. Merci à Pascal pour avoir su mettre de l'ambiance au 2^e étage, pour les rigolades et les discussions plus sérieuses au labo et en dehors.

Laurent, tu as également gravité autour de ma thèse sans réel lien scientifique mais tu as toujours été hyper disponible et investi donc je te remercie pour ça. Que ce soit pour l'administratif de mon contrat NeuroStra ou pour les interactions avec Doctoneuro, merci aussi et surtout pour le théâtre et la confiance que tu as su m'accorder en m'incluant dans les deux versions de On Cherche Encore, c'était une excellente parenthèse artistique à cette thèse.

Un grand merci à **l'ensemble des doctorant·es du laboratoire** des générations précédent ou suivant la mienne sans qui le voyage de la thèse aurait eu un goût beaucoup plus amer. Je ne vais pas tous·tes vous citer pour éviter des oubli inopportun mais sachez que je vous remercie tous·tes pour l'esprit de cohésion, les sourires et les rires partagés.

Merci à **tous·tes les ami·es du master, de Doctoneuro, du théâtre, et tous·tes les autres**. Vous avez su me sortir du tunnel que peut parfois constituer la thèse, dans lequel on se dédie corps et âme en délaissant tout le reste. Chaque moments passés à vos côtés ont

contribué à m'aérer un peu l'esprit et, d'une manière ou d'une autre, à l'aboutissement de ces travaux et la construction de la personne que je suis devenue au cours de ces 4 ans. Merci à Abi, Alex, Ammra, Angel, Le Brigadier, Emy, Etienne, Florian, Julien, Karim, Kévin, Matthieu, Mélanie, Les Négligés, Philippe, Robin, Rui Serge, Sarah, Seb, Théo, Valentin, Valod, et tous·tes les autres, (j'ai mis dans l'ordre alphabétique pour ne pas faire de jaloux·ses), merci pour tout.

Merci à toute ma **famille**, celle des champs et celle des lamas. J'espère que cette thèse répondra à tous vos questionnements sur ce que j'ai fait comme recherche et si ça permettra de révolutionner le monde. Vous avez toujours été à mes côtés et c'est ce qui me permet d'en arriver ici aujourd'hui.

Merci à **Coline**. Pour tout. Et tout le reste aussi.

***** TABLE DES MATIERES *****

INTRODUCTION	1
I. LA MALADIE DE HUNTINGTON	3
1. Etiologie	3
1.1. Mutation du gène HTT	3
1.2. Instabilité de l'expansion CAG.....	4
1.3. Epidémiologie et facteurs de risque	6
2. Symptômes comportementaux associés à la MH	7
2.1. Fonction motrice et activité	8
2.2. Psychiatrie	8
2.3. Cognition	9
3. Le striatum dans la MH	10
3.1. Anatomie et fonctions physiologiques du striatum	11
3.2. Atteintes du striatum dans la MH	13
3.3. Autres atteintes cérébrales et atteintes périphériques.....	14
3.4. Vulnérabilité des MSN striataux.....	15
4. Physiopathologie	16
4.1. Fonctions physiologiques de la HTT	17
4.2. Perte de l'homéostasie cellulaire	18
4.3. Altérations métaboliques	20
4.4. Dérégulations transcriptionnelles	21
5. Modèles	24
5.1. Des modèles nombreux et variés.....	24
5.2. Modèles murins transgéniques.....	26
5.3. Modèles murins Knock-in.....	27
6. Approches thérapeutiques.....	27
6.1. Traitements symptomatiques	27
6.2. Thérapies géniques	28
6.3. Thérapies cellulaires et pharmacologiques.....	30
II. EPIGENETIQUE ET MALADIE DE HUNTINGTON	33
1. Mécanismes épigénétiques.....	33
1.1. Conformation de la chromatine.....	33
1.2. Méthylation de l'ADN.....	36
1.3. Modifications d'histone	38
1.4. ARN non codants	45
2. Rôle des régulations épigénétiques.....	46
2.1. Différenciation cellulaire et développement	47
2.2. Horloge épigénétique et vieillissement	50
2.3. Plasticité et apprentissage	52
3. Technologies pour l'étude des signatures épigénétiques	55
3.1. Généralités	55
3.2. Caractérisation des marques d'histone	57
3.3. Perspectives des approches épigénomiques	60

4. Altérations épigénétiques dans la maladie de Huntington	61
4.1. Modifications post-traductionnelles des histones.....	62
4.2. Méthylation de l'ADN.....	65
4.3. ARN non codants.....	66
5. Pistes thérapeutiques par la modulation épigénétique dans la MH.....	67
5.1. Inhibition des HDACs.....	67
5.2. Autres approches et perspectives.....	69
 III. ENRICHISSEMENT ENVIRONNEMENTAL	 71
1. Définition et généralités	71
1.1. Exposome et facteurs de risques	71
1.2. Enrichissement environnemental	73
2. Effets bénéfiques de l'enrichissement environnemental sur les maladies neurodégénératives	74
2.1. EE et maladies neurodégénératives.....	74
2.2. EE et maladie de Huntington.....	76
3. Enrichissement environnemental et épigénétique.....	79
3.1. EE, horloges épigénétiques et vieillissement	80
3.2. EE et régulations épigénétiques de la cognition	81
3.3. EE et miARN.....	82
 OBJECTIFS DE LA THESE / PROJET	 85
 RESULTATS	 91
 Axe 1 : Caractérisation épigénétique du striatum Huntington murin au cours du temps et de façon cellule-spécifique afin d'étudier l'hypothèse d'un vieillissement accéléré.....	 93
Introduction	95
Results	96
Discussion	111
Methods	114
References	130
 Axe 2 : Impact de l'EE sur le comportement et les régulations épigénétiques et transcriptionnelles striatales de souris modèles de la MH	 135
1. Enrichissement environnemental par un hébergement standardisé.....	136
2. L'hébergement en cage Marlau permet de restaurer le phénotype Huntington des modèles R6/1.....	138
2.1. L'EE permet de ralentir la perte de poids des R6/1 mâles.....	139
2.2. L'EE améliore la rythmicité circadienne des souris WT et restaure l'activité des souris R6/1.....	140
2.3. L'EE diminue l'anxiété au profit des comportements exploratoires, et restaure le phénotype de type apathie chez les modèles R6/1	143
2.4. L'EE ne permet pas de restaurer le phénotype apathique des R6/1 mesuré en test de nidification.....	146
2.5. L'EE restaure les capacités cognitives striato-dépendantes dans la MH	148
3. L'hébergement en cage Marlau induit l'expression de gènes protecteurs dans le striatum des souris Huntington.....	154

3.1. Effet de l'EE sur les gènes de l'identité neuronale et les gènes développementaux dans le striatum des souris R6/1.....	154
3.2. Effets de l'EE sur le transcriptome des souris R6/1 modèles de la MH	157
DISCUSSION.....	161
Axe 1 : Caractérisation épigénétique du striatum Huntington murin au cours du temps et de façon cellule-spécifique afin d'étudier l'hypothèse d'un vieillissement accéléré.	163
Axe 2 : Impact de l'EE sur le comportement et les régulations épigénétiques et transcriptionnelles striatales de souris modèles de la MH	167
1. L'EE ralentit l'apparition des symptômes comportementaux des modèles R6/1...168	
2. La caractérisation du transcriptome striatal après hébergement en cage Marlau permet d'identifier des gènes et facteurs de transcription candidats à la neuroprotection du striatum Huntington.....170	
2.1. Modulation du métabolisme lipidique et énergétique.....171	
2.2. Modulation de la voie des glucocorticoïdes	173
Discussion & perspectives générales	177
1. Instabilité somatique de l'expansion CAG, vieillissement épigénétique accéléré et mécanismes de réparation de l'ADN	179
1.1. Hypothèse bi-phasique de la pathogenèse.....179	
1.2. Vieillissement épigénétique et réparation de l'ADN	180
1.3. Entités toxiques et temporalité.....183	
2. Rôle des altérations métaboliques dans la reprogrammation épigénétique et l'instabilité de l'expansion CAG dans les neurones du striatum Huntington	184
3. Perspectives thérapeutiques.....187	
REFERENCES	191
ANNEXES	227

***** LISTE DES FIGURES *****

Introduction

Fig.1 Mutation génétique impliquée dans la maladie de Huntington	3
Fig. 2 La taille de l'expansion CAG dans le gène HTT est directement corrélée au diagnostic et à l'âge des premiers symptômes de la MH	4
Fig. 3 Organisation anatomique des ganglions de la base	11
Fig. 4 Organisation anatomique du striatum chez la souris.....	11
Fig. 5 Connectivité anatomique du striatum	12
Fig. 6 Atrophie striatale dans la maladie de Huntington	13
Fig. 7 Agrégats de HTTm dans le striatum Huntington	18
Fig. 8 Fonctions pathologiques des agrégats de HTTm.....	19
Fig. 9 Dérégulation transcriptionnelle dans le striatum Huntington	22
Fig. 10 Expression des gènes développementaux et d'immunité chez les patient·es Huntington	24
Fig. 11 Modèles murins de la MH	25
Fig. 12 Pistes thérapeutiques à la MH.....	31
Fig. 13 Etats de compaction de la chromatine.....	34
Fig. 14 Conformation tridimensionnelle de la chromatine et domaines d'interactions	36
Fig. 15 Mécanismes de dé/méthylation de l'ADN	37
Fig. 16 Modifications post-traductionnelles d'histones.....	39
Fig. 17 Classification des enzymes Lysines Acétyl transférases (KATs).....	40
Fig. 18 Répression de la chromatine par les protéines du complexe polycomb (PRC1/PRC2)	43
Fig. 19 Gènes bivalents.....	44
Fig. 20 Dynamique de méthylation des histones au cours du cycle cellulaire	44
Fig. 21 Fonctions nucléaires des ARN non codants.....	46
Fig. 22 Différenciation cellulaire et reprogrammation épigénétique	48
Fig. 23 Vieillissement et ex-différenciation cellulaire	52
Fig. 24 Protocoles pour l'étude de l'épigénome	56
Fig. 25 Protocoles de ChIP et CUT&Tag.....	58
Fig. 26 Analyses bioinformatiques post-ChIPseq/CUT&Tag	60
Fig. 27 Altérations épigénétiques dans la maladie de Huntington	62
Fig. 28 Exosome.....	72
Fig. 29 Effets bénéfiques de l'EE dans le contexte de la MH	79

Résultats/Discussion

Fig. 30 / Fig.1 Cellular identity-associated histone marks are specifically altered in striatal neurons of HD mice.....	97
Fig. 31/ Fig.2 Developmental genes are epigenetically de-repressed in striatal neurons of HD mice	100
Fig. 32/Fig.3 Bivalent promoters are de-repressed in striatal neurons of HD mice.....	101
Fig. 33/Fig.4 CBX proteins undergo paralog switch in striatal neurons of HD mice.....	103
Fig. 34/Fig.5 H2AK119ub is depleted at subcluster of bivalent promoters in the striatum of HD mice	105
Fig. 35/Fig.6 De-repression of developmental genes is an aging signature accelerated in striatal neurons of HD mice.....	109

Fig. 36/Fig.7 Epigenetic regulation of stress response during aging is abnormal in HD mouse striatal neurons	110
Fig. 37/Fig S1 Cellular identity-associated histone marks are specifically altered in striatal neurons of HD mice.....	123
Fig. 38/Fig S2 Developmental genes are epigenetically de-repressed in striatal neurons of HD mice	123
Fig. 39/Fig. S3 Bivalent promoters are de-repressed in striatal neurons of HD mice	125
Fig. 40/Fig S4 CBX proteins undergo paralog switch in striatal neurons of HD mice	126
Fig. 41/Fig.S5 H2AK119ub is depleted at subcluster of bivalent promoters in the striatum of HD mice	127
Fig. 42/Fig.S6 De-repression of neurodevelopmental genes is an aging signature accelerated in striatal neurons of HD mice.....	129
Fig. 43/Fig S7 Epigenetic regulation of stress response during aging is abnormal in HD mouse striatal neurons	129
Fig. 44 Cage Marlau.....	136
Fig. 45 Design expérimental.....	138
Fig. 46 Evolution du poids des animaux.....	139
Fig. 47 Niveaux d'activité et des fonctions locomotrices des animaux	143
Fig. 48 Niveaux d'anxiété et comportements exploratoires des animaux	145
Fig. 49 Niveau de motivation et de bien-être des animaux.....	147
Fig. 50 Capacités de mémoire procédurale déterminées par rotarod accélérant	149
Fig. 51 Fonction cognitive de mémoire ego- et allocentrique déterminée par labyrinthe en double-H.....	152
Fig. 52 Caractérisation transcriptomique des gènes d'identité neuronale et développementaux	157
Fig. 53 Caractérisation transcriptomique des gènes dont l'expression est corrigée par l'enrichissement chez les modèles R6/1	159
Fig. 54 Les neurones du striatum Huntington présentent un vieillissement épigénétique accéléré provoqué par une altération du complexe polycomb PRC1	165

***** LISTE DES ABREVIATIONS *****

Nomenclature des marques d'histones

Exemple : H3K27me3 / Tri-méthylation de la lysine 27 de l'histone 3

3-NP : acide 3-nitropropionique	KAT : enzyme Lysine acetyltransferase
5(h)mC : 5-(hydroxy)méthyl-cytosine	KDM6A/B : enzyme Lysine déméthylase A/B
ACLY : ATP-citrate lyase	KI : Knock-in
ACoA : acétyl coenzyme-A	KMT : enzyme lysine méthyltransférase
ACSS2 : Acetyl-CoA synthétase	LADs : Domaines associés à la lamina
AP : Activité physique	IncARN : longs ARN non-codants
ARNi : ARN interférants	MA : maladie d'Alzheimer
ARNm : ARN messager	MH : maladie de Huntington
ASO : Oligonucléotides antisens	miARN : micro ARN
BDNF : facteur neurotrophique dérivé du cerveau (<i>brain-derived neurotrophic factor</i>)	MMR : mécanisme de réparation de mésappariement de l'ADN (<i>mismatch repair</i>)
CBP : protéine liant CREB (<i>CREB-binding protein</i>)	MSN (dMSN/iMSN) : neurones épineux moyens (directs/indirects)
ChIP : Immunoprécipitation de la chromatine	NAc : Noyau Accumbens
CSE : cellules souches embryonnaires	PcG : groupement de protéines polycomb
CUT&Tag : <i>Clivage Under Targets and Tagmentation</i>	PRC1/2 : complexe répresseur polycomb 1/2
DEG : gènes différentiellement exprimés	ROS : espèces réactives de l'oxygène
Drd1/2 : Récepteur D1/D2 à la dopamine	RMT : enzyme arginine-méthyltransférase
DS/VS : Striatum dorsal/ventral	SAHA : acide suberoylanilide hydroxamique
DLS/DMS : Striatum dorso-latéral / dorso-médian	SAM : S-adenyl methionine
DNMT : enzyme ADN méthyltransférase	SE : environnement standard
eARN : ARN non codants issus de régions <i>enhancers</i>	siARN : petits ARN interférants
EE : enrichissement environnemental	snRNAseq : séquençage de l'ARN de cellules uniques (<i>single-nuclei RNAseq</i>)
FANS : tri de noyaux par fluorescence (<i>fluorescently activated nuclei sorting</i>)	TADs : domaines topologiquement associés
FDR : <i>false discovery rate</i>	TRAPseq : Purification et séquençage des ARN en cours de traduction ribosomale (<i>Translating Ribosome Affinity Purification</i>)
GdB : Ganglions de la base	TSS : site de début de transcription
GWAS : étude d'association pangénomique	UPS : système ubiquitine-protéasome
HAT : enzyme histone acétyltransférase	WGCNA : analyses réseaux (<i>weighted correlation network analysis</i>)
HDAC : enzyme histone désacétylase	WT : condition contrôle (<i>sauvage</i>)
HDACi : inhibiteur des enzymes histone désacétylases	
HDM : enzyme histone déméthylase	
HTT/HTT : Huntingtine (<i>gène/protéine</i>)	
HTTm : protéine Huntingtine mutée	
iPSC : cellules souches pluripotentes induites	

..... INTRODUCTION

I. LA MALADIE DE HUNTINGTON

En 1872, le médecin Georges Huntington décrit pour la première fois la chorée de Huntington : une maladie rare à transmission héréditaire, caractérisée par des mouvements choréiques involontaires qui apparaissent à l'âge adulte et progressent jusqu'à la mort des patient·es (Huntington, 2003). Les symptômes de démences associés ainsi que les altérations biologiques, telles qu'une inflammation des structures cérébrales, indiquent que la maladie de Huntington (MH) repose sur une atteinte neurologique.

1. Etiologie

1.1. Mutation du gène HTT

La MH est une pathologie génétique à mutation autosomique dominante (Gusella *et al* 1983). A la fin du XXe siècle, l'évolution des techniques de biologie moléculaire permettent d'identifier que la mutation est localisée sur le bras court du chromosome 4 (4p16.3), dans le gène codant pour la protéine Huntingtine (*HTT*), un gène large, qui s'étend sur 180 kilobases et contient 67 exons. La MH est caractérisée par une répétition anormale de nucléotides CAG (codant pour une Glutamine), située dans l'exon 1 du gène *HTT*, conduisant à la production d'une protéine HTT mutée qui conduit une expansion de polyglutamine toxique (MacDonald *et al* 1993)(Fig.1).

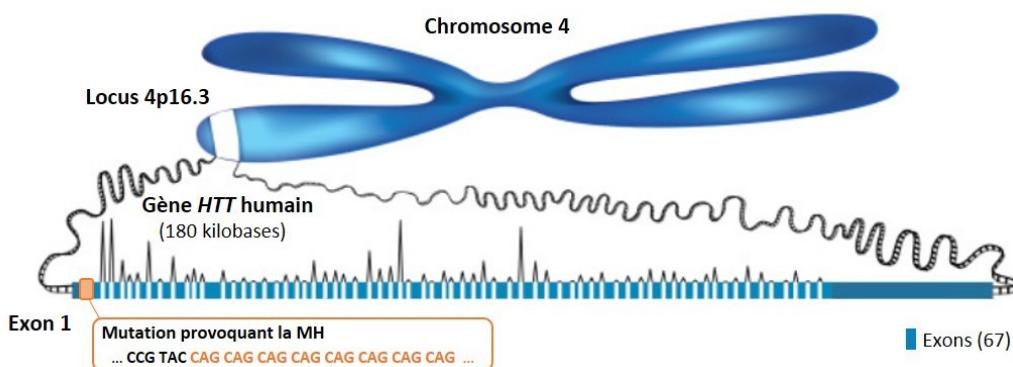


Fig.1 Mutation génétique impliquée dans la maladie de Huntington

La mutation causant la MH est une expansion de triplets CAG dans l'exon 1 du gène HTT, localisée sur le chromosome 4 (d'après Déglon 2017).

La taille de la répétition de la séquence nucléotidique CAG à ce locus est polymorphe dans la population et permet de prédire la pénétrance de la pathologie, et ainsi de distinguer les individus sains des sujets atteints par la MH. Une séquence CAG de 6 à 35 répétitions n'induira pas la pathologie, tandis que des sujets présentant plus de 35 CAG dans l'exon 1 de *HTT* auront un risque de développer les symptômes associés, avec une pénétrance complète dès 40 répétitions (Fig.2) (Rubinsztein *et al* 1996, Bates *et al* 2015). De plus, la taille de la mutation est inversement corrélée à l'âge d'apparition des symptômes comportementaux (Fig.2) (Andrew *et al* 1993, Snell *et al* 1993). Ainsi, les symptômes de la MH apparaissent en moyenne aux alentours de 35-40 ans, bien que 5 à 10% des cas présentent une forme juvénile de la maladie, caractérisée par l'apparition des premiers signes de la maladie avant 21 ans (Bakels *et al* 2022).

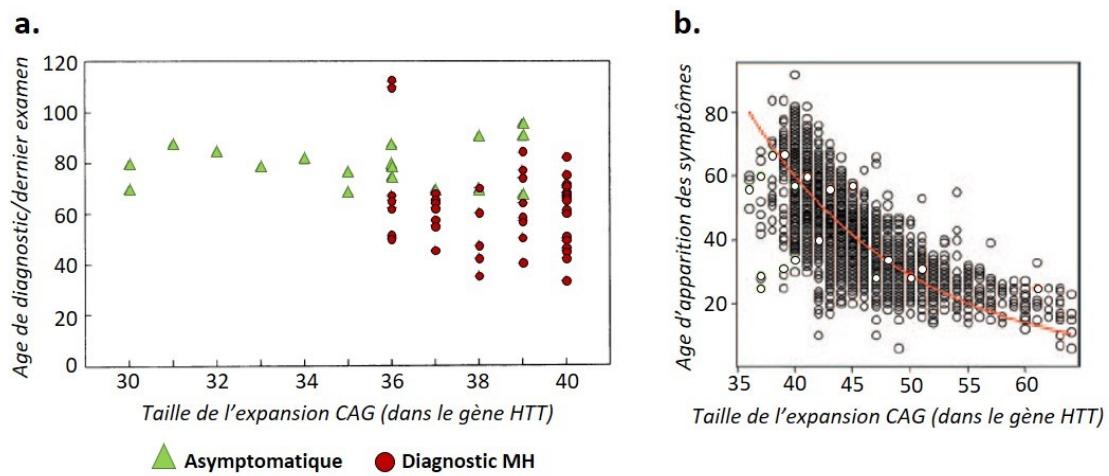


Fig. 2 La taille de l'expansion CAG dans le gène *HTT* est directement corrélée au diagnostic et à l'âge des premiers symptômes de la MH

- a. Une mutation dans le gène *HTT*, d'une taille supérieure à 36 répétitions CAG risque de provoquer le diagnostic de la MH. Le diagnostic est inévitable pour un mutation d'au moins 40 CAG (d'après Rubinsztein *et al* 1996).
- b. L'âge d'apparition des symptômes et du diagnostic de la MH est inversement corrélé à la taille de l'expansion CAG dans le gène *HTT* (d'après Lee *et al* 2012).

1.2. Instabilité de l'expansion CAG

La taille de la mutation Huntington est instable avec le temps, et augmente au cours de la vie des patient·es, chez qui le striatum (structure atteinte de façon primaire) peut présenter jusqu'à 1000 triplets CAG dans le gène *HTT* (Kennedy *et al* 2003).

L'expansion CAG présente dans l'exon 1 du gène *HTT* a tendance à déformer l'ADN et à induire des structures en épingle à cheveux constituées de bases mésappariées (*hairpins*). Ces boucles nucléotidiques sont prises en charge par les processus de réparation de l'ADN, en

particulier par le mécanisme ciblant le mésappariement (MMR, pour *mismatch repair*), qui sectionne l'ADN et corrige les bases mésappariées à l'aide d'une ADN polymérase. Cependant, en présence d'expansion CAG, cette opération est dysfonctionnelle, les MMR n'éliminent pas la boucle nucléotidique et induisent au contraire une synthèse de CAG excédentaire, menant à une expansion somatique de la mutation dans le gène *HTT*, et donc à la production de produits du gène muté plus toxiques (Iyer et Pluciennick 2021). Les enzymes impliquées dans les processus de MMR, telles que Msh2 et Msh3, sont essentielles à ce mécanisme, comme l'attestent les études d'inactivation de ces gènes chez des souris, qui provoque une suppression de l'instabilité somatique de l'expansion CAG (Wheeler *et al* 2003, Dragileva *et al* 2009, Flower *et al* 2019). Des études d'association pangénomique (GWAS), ont permis de confirmer l'importance de ce mécanisme dans la physiopathologie de la MH. Ces travaux ont identifié que les gènes impliqués dans le MMR sont les facteurs de risques génétiques principaux qui déterminent l'âge de début des symptômes ([Introduction-I.1.3](#))(GeMHD 2015, Moss *et al* 2017, Wheeler et Dion 2021, Lee *et al* 2022, Hong *et al* 2024).

Plus particulièrement, des travaux révèlent que la taille de l'expansion CAG est davantage responsable de la pathogenèse de la MH, que la présence de la protéine HTT mutée (HTTm) (GemHD 2019, Handley *et al* 2024). En 2022, Gu et coll. utilisent un modèle murin de la MH présentant une expansion CAG pure, non interrompue par des triplets CAA. Dans cette étude les auteurs observent que le phénotype des animaux est davantage similaire aux sujets atteints de la MH (*e.g* présence d'inclusions nucléaires de HTTm, dérégulation transcriptionnelle) que chez les modèles à expansion CAG-CAA stable, ce qui confirme l'importance de l'instabilité dans la mise en place de la pathologie (Gu *et al* 2022). De plus, des données récentes indiquent que l'instabilité somatique est plus importante dans les tissus et types cellulaires qui dégénèrent le plus tôt dans la maladie. Particulièrement les neurones épineux moyens du striatum, tout comme les neurones pyramidaux de la couche L5a du cortex, vulnérables à la mutation Huntington, démontrent une instabilité accrue de l'expansion CAG (Mätlik *et al* 2024, Pressl *et al* 2024). Cependant, cette corrélation reste imparfaite, suggérant que d'autres facteurs contribuent à la vulnérabilité neuronale dans la MH (Mouro-Pinto *et al* 2020, Pressl *et al* 2024)([Introduction-I.3.4](#)).

Ainsi, l'ensemble de ces études dévoilent que l'instabilité de l'expansion de *HTT* joue un rôle déterminant dans les dérégulations biologiques et la mise en place de la MH. Des

résultats récents apportent un point de vue nouveau sur le seuil de toxicité de l'expansion CAG, en proposant que la pathogenèse de la maladie repose sur deux phases consécutives, dépendantes de l'instabilité somatique (Hong *et al* 2021, Donaldson *et al* 2021). Dans ce modèle, le seuil de 35-40 CAG correspondrait au seuil à partir duquel l'expansion devient somatiquement instable dans les neurones vulnérables. Cette phase serait relativement silencieuse du point de vue de la pathologie -la protéine HTTm serait peu ou pas toxique-jusqu'à un nouveau seuil d'environ 150 CAG, correspondant au seuil de toxicité de la HTT mutée (Aldous *et al* 2024, McCarroll 2023, Handsaker 2024).

De plus, bien que la mutation génétique responsable de la MH se transmette de façon héréditaire il existe pour 5 à 8% des sujets diagnostiqués une apparition *de novo* de la mutation, sans que les parents ne présentent de symptômes de la pathologie (Bates *et al* 2015). Ces cas sont dus à une instabilité intergénérationnelle de la mutation *HTT*. D'après Wheeler et coll., des patient·es atteint·es de la MH présentent une expansion CAG plus longue dans les cellules germinales que les autres cellules (Wheeler *et al* 2007). Cette élongation de la mutation de *HTT*, dépendante de processus de MMR (Dragileva *et al* 2009), est transmise à la descendance et contribue ainsi à l'augmentation de la taille de l'expansion CAG à travers les générations ; un mécanisme partagé dans les différentes maladies à expansion de trinucléotides, qui est à l'origine du phénomène d'anticipation (Wheeler *et al.* 2007, Paulson 2018).

1.3. Epidémiologie et facteurs de risque

Depuis la découverte de la mutation responsable de la maladie de Huntington, le diagnostic génétique est possible. Environ 5 à 10 individus sur 100.000 sont atteints de la MH dans le monde, ce qui en fait l'une des maladies rares les plus fréquentes (Bates *et al* 2015). D'après des études méta-analytiques, une variabilité de prévalence des cas de MH existe entre les pays d'Europe et d'Amérique du Nord (environ 7/100.000) et ceux d'Asie et d'Afrique qui présentent moins de patient·es diagnostiqué·es (environ 1/100.000) (Medina *et al* 2022). Bien que le rôle des inégalités d'outils diagnostics et de la longévité entre les régions du monde ne soit pas à exclure, des études génétiques démontrent que la variabilité de pénétrance de la MH est associée à une différence des haplotypes de *HTT* dans les populations (Warby *et al* 2011, Chao *et al* 2017).

Comme précisé précédemment ([Introduction-I.1.2](#)), des études d'association pangénomique (GWAS) ont été réalisées en vue de définir s'il existe des gènes modificateurs de la maladie, dont la mutation pourrait influencer la pathogenèse et le diagnostic de la MH. Les études menées dans les années 2010 par les consortia GeM-HD et TRACK-HD, complétées par des approches récentes, ont permis d'identifier que des variants des gènes impliqués dans la réparation de l'ADN pouvaient accélérer ou ralentir le décours temporel de la pathologie et des symptômes associés (GeMHD 2015, GeMHD 2019, Moss *et al* 2017, Wheeler et Dion 2021, Lee *et al* 2022, Hong *et al* 2024).

La mutation de *HTT* étant présente sur un chromosome autosomique, elle se retrouve de façon comparable chez les sujets hommes et femmes, cependant la pathogenèse et l'expression de certains symptômes se font de manière différente selon le sexe (Zielonka et Stawinska-Witoszynsk 2020). D'une part, l'instabilité germinale de la mutation est d'avantage masculine, la descendance présente plus de risques de développer la MH si elle hérite du gène paternel (Wheeler *et al* 2007, Aziz *et al* 2011, Neto *et al* 2017). D'autre part, des études réalisées sur de larges cohortes de patient·es mettent en évidence une progression plus rapide et des symptômes comportementaux plus prononcés chez les femmes (*e.g.* troubles moteurs, dépression) (Zielonka *et al* 2013, Hentosh *et al* 2021), ce qui pourrait expliquer que le diagnostic de la MH apparaisse plus élevé chez les femmes dans certaines études (Bruzelius *et al* 2019). A l'inverse, des travaux sur les modèles murins tendent à montrer une sensibilité accrue des mâles au niveau biologique et un effet protecteur des hormones féminines telles que l'œstradiol (Zielonka et Stawinska-Witoszynsk 2020, Bode *et al* 2008). Ainsi la différence hommes/femmes face au diagnostic et à la mise en place des symptômes de la MH reste discutée dans la littérature.

2. Symptômes comportementaux associés à la MH

La neurodégénérence et les dysfonctionnements cellulaires associés à la MH affectent de façon primaire le striatum puis atteignent d'autres structures cérébrales, telles que le cortex, aux stades plus avancés de la pathologie ([Introduction-I.3.3](#)). Ces altérations cérébrales sont à l'origine d'une triade de symptômes moteurs, cognitifs et psychiatriques qui évoluent progressivement jusqu'au décès des patient·es. Le diagnostic clinique de la MH repose sur les

symptômes moteurs les plus caractéristiques de la pathologie que sont les mouvements involontaires et troubles de la coordination, mais des altérations cognitives et psychiatriques subtiles peuvent être mises en évidence à des stades prodromaux, soit 10 à 20 ans avant le diagnostic moteur (Papoutsi *et al* 2014, Bates *et al* 2015).

2.1. Fonction motrice et activité

Les atteintes motrices sont caractérisées par deux phases successives. La première phase est hyperkinétique, caractérisée par une perte de coordination et des mouvements involontaires. Ces troubles progressent des muscles faciaux à l'ensemble de la musculature des patient.es, jusqu'à l'apparition de mouvements choréiques signatures de la MH. Aux stades les plus avancés de la maladie, les mouvements involontaires font place à une phase hypokinétique caractérisée par une bradykinésie (lenteur d'exécution des mouvements) et une rigidité musculaire qui progresse jusqu'à la fin de vie des patient·es (McColgan et Tabrizi 2018). Particulièrement, les sujets présentant un diagnostic avancé de la MH ont des capacités de parole et de déglutition altérées, faisant des complications respiratoires (fausses routes et pneumonies) la cause de décès la plus fréquente dans la maladie de Huntington (Solberg *et al* 2018).

Également, les patient·es présentent une altération de l'activité et des rythmes circadiens. Des études décrivent notamment que les sujets atteints de la MH présentent des troubles du sommeil et une activité anormalement élevée durant la nuit, ce qui atteste d'une dérégulation du contrôle circadien des phases d'activité/repos dans la maladie de Huntington (Morton 2013, Saade-Lemus et Videnovic 2023). De plus, la mutation de *HTT* induit une atrophie et une faiblesse musculaire qui progressent au cours de la pathologie, contribuant à une hypoactivité généralisée des patient·es (Bozzi et Sciandra 2020).

2.2. Psychiatrie

Au cours de la progression de la MH, les patient·es sont sujets à des troubles psychiatriques dont les symptômes sont nombreux et variés. Près de 40% des sujets sont atteints d'apathie (perte de motivation, indifférence à l'émotion) (Van Duijn *et al* 2014, Heath *et al* 2019, Clark *et al* 2023). Plus particulièrement, les travaux de McLauchlan et coll. présentent une perte de motivation des sujets face à des situations aversives/de perte, tandis

que les éléments récompensant ne sont pas associés à une baisse de motivation dans la MH (McLauchlan *et al* 2019). Cette apathie progressant avec la pathologie laisse suggérer qu'elle pourrait être directement provoquée par la mutation de *HTT* et la neurodégénérescence qui en découle.

D'autres symptômes psychiatriques sont également associés à la MH, tels que la dépression, l'irritabilité, l'impulsivité ou encore l'anxiété (15 à 70% des sujets présentent des troubles anxieux selon les études) (Van Duijn *et al* 2014, Dale et Van Duijn 2015). Particulièrement, la méta-analyse de Clark et coll. en 2023 met en évidence une prévalence accrue des symptômes dépressifs chez les sujets porteurs de la mutation de *HTT*. En effet, 40% des patient.es sont atteint.es de dépression contre 5% des adultes dans la population générale (Clark *et al* 2023).

L'atrophie des structures cérébrales, l'évolution progressive et fatale de la pathologie face à laquelle les patient·es n'ont actuellement aucune alternative thérapeutique ou encore la perte de contrôle des mouvements de leur corps sont autant de facteurs pouvant jouer un rôle sur la santé mentale et la mise en place des troubles psychiatriques des patient.es de la MH. Ces facteurs, associés à la dépression, l'anxiété et l'impulsivité expliquent que le suicide constitue la seconde cause de décès des patient·es Huntington, avec près de 10% des sujets ayant déjà fait une tentative de suicide et 30% l'ayant envisagé (Honrath *et al* 2018).

2.3. Cognition

Les symptômes cognitifs associés à la MH apparaissent dès les stades précoces de la pathologie et sont responsables d'une perte d'autonomie des patient·es. Bien que des mécanismes de compensation existent pour prendre le relais des structures cérébrales atteintes, les sujets Huntington présentent des déficits dans les tâches de planification, un ralentissement cognitif et des altérations dans les fonctions exécutives, rendant la prise de décisions et la flexibilité cognitive difficiles (Papoutsi *et al* 2014, Dumas *et al* 2013). Notamment, les fonctions exécutives et de planification, impliquant le cortex préfrontal mais également les structures temporales et occipitales dans la MH, sont altérées dès les stades prodromaux, et s'aggravent au cours de la progression de la pathologie (Mörkl *et al* 2016, Calderon-Villalon *et al* 2021).

De plus, la mutation de *HTT* impacte la qualité des interactions sociales des sujets atteints. Dès les stades prodromaux, les patient·es présentent des déficits de théorie de l'esprit (aptitude à attribuer des états mentaux inobservables à soi-même ou à d'autres individus), d'empathie, des capacités de perception sociale et de reconnaissance des émotions à travers les expressions faciales et verbales (Turner *et al* 2022, Dumas *et al* 2013).

Les processus impliqués dans l'attention, l'apprentissage et la mémoire sont également perturbés dans la MH. Les patient·es présentent notamment des difficultés à l'apprentissage et au rappel de la mémoire procédurale ; une composante de la mémoire, dépendante du striatum, qui se base sur un référentiel égocentrique (interne) et l'apprentissage d'automatismes moteurs et cognitifs, tels que ceux impliqués par exemple dans l'apprentissage à tenir en équilibre sur un vélo (Possin *et al* 2017). Les sujets porteurs de la mutation de *HTT* développent également des déficits et un ralentissement cognitif dans des tâches de mémoire de travail, qui corrèlent avec une altération de la connectivité du cortex préfrontal dès les stades prodromaux de la pathologie (Lahr *et al* 2018).

Ainsi, la triade de symptômes comportementaux observée dans la MH s'explique par l'atteinte progressive et la perte de fonction du striatum et des boucles cortico-striatales associées (*e.g* contrôle des mouvements, apathie et hypoactivité, apprentissage procédural et planification).

3. Le striatum dans la MH

Bien que la protéine HTT soit exprimée de façon ubiquitaire dans l'organisme, toutes les régions et cellules de l'organisme ne présentent pas des altérations biologiques et un niveau d'instabilité de l'expansion CAG comparables. La MH est une maladie neurodégénérative caractérisée par une atteinte primaire du noyau caudé et du putamen (néo striatum), et plus particulièrement des neurones épineux moyens (MSN) de cette structure. D'autres structures cérébrales et populations neuronales (*e.g.* sous-populations de neurones corticaux) sont également vulnérables à la pathogenèse induite par la mutation de *HTT* (Pressl *et al* 2024).

3.1. Anatomie et fonctions physiologiques du striatum

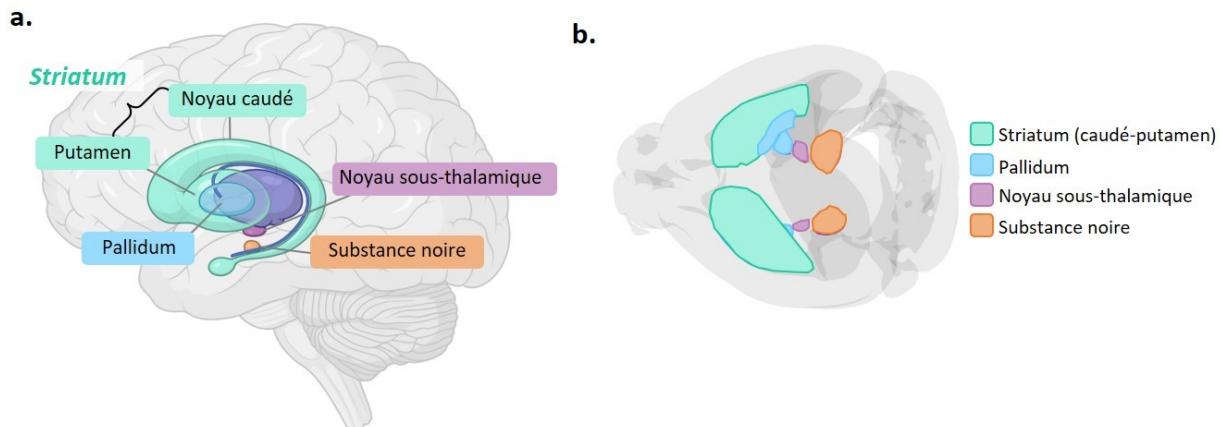


Fig. 3 Organisation anatomique des ganglions de la base

a. Représentation schématique en vue latérale des GdB dans le cerveau humain. Le striatum, voie d'entrée dans les GdB entoure la structure et est à proximité des voies afférentes que sont le cortex et le thalamus.
b. Représentation en vue crâniale des GdB dans le cerveau de souris (d'après Humanbrainproject.eu).

Les ganglions de la base (GdB), ou complexe striato-pallidal, sont un groupement de régions cérébrales interconnectées, localisées dans la région ventrale du cerveau, à proximité des ventricules latéraux. Parmi les GdB figurent le striatum, le pallidum, les noyaux subthalamiques, ou encore la substance noire (Fig.3).

Voie d'entrée principale dans les GdB en recevant les afférences glutamatergiques du cortex et du thalamus, le striatum est divisé en deux régions : le striatum dorsal (DS) et ventral (VS). Le DS est subdivisé en striatum dorsomédian et dorsolatéral (DMS et DLS) constitué respectivement du putamen et du noyau caudé, ces structures étant regroupées en un unique noyau caudé-putamen chez les rongeurs, tandis que le VS est majoritairement constitué du noyau accumbens (NAc) (Fig.4).

Fonctionnellement, le striatum murin est hétérogène. Le VS joue un rôle majeur dans le circuit de la récompense et la motivation, tandis que le DS est davantage responsable du contrôle et de l'apprentissage moteur, des comportements liés aux habitudes (e.g. mémoire procédurale, planification) et aux prises de décisions (Graybiel *et al* 1994, Balleine *et al* 2007, Burton *et al* 2015).

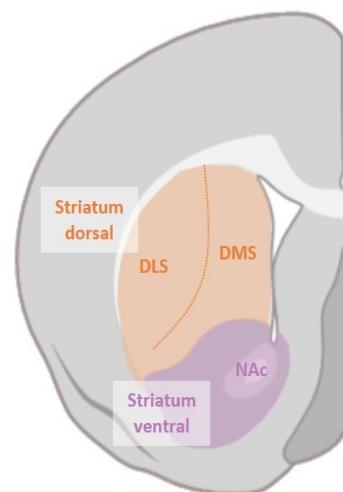


Fig. 4 Organisation anatomique du striatum chez la souris
Représentation schématique d'une hémi coupe frontale de cerveau de souris au niveau du striatum. DLS, striatum dorso-latéral ; DMS, striatum dorso-médian ; NAc, noyau accumbens.

D'un point de vue cellulaire, le striatum contient environ 50% de neurones, lesquels sont à 90-95% des MSNs (Gokce *et al* 2016, Kreitzer et Malenka 2008). Ces neurones sont GABAergiques et impliqués dans des voies anatomiques différentes. Les MSNs exprimant les récepteurs à la dopamine D1 constituent la voie directe de sortie du striatum (dMSN), projetant vers la substance noire et le pallidum interne, tandis que les MSNs présentant les récepteurs D2 à la dopamine composent la voie indirecte (iMSN) projetant au pallidum externe ([Fig.5](#)). Du fait de leurs connections anatomiques et des boucles d'inhibition/activation dans lesquelles ils sont intégrés, les dMSN sont impliqués dans l'initiation du mouvement et des comportements dirigés vers un but, tandis que les iMSN inhibent ces fonctions (Kravitz *et al* 2010, Durieux *et al* 2012, Blumenstock et Dudanova 2020). Des interneurones cholinergiques ou GABAergiques couplés à la parvalbumine, la somatostatine ou la calrétinine sont également présents en minorité dans le striatum et apparaissent davantage préservés face à la mutation de *HTT* (Massouh *et al* 2008, Mätki *et al* 2024).

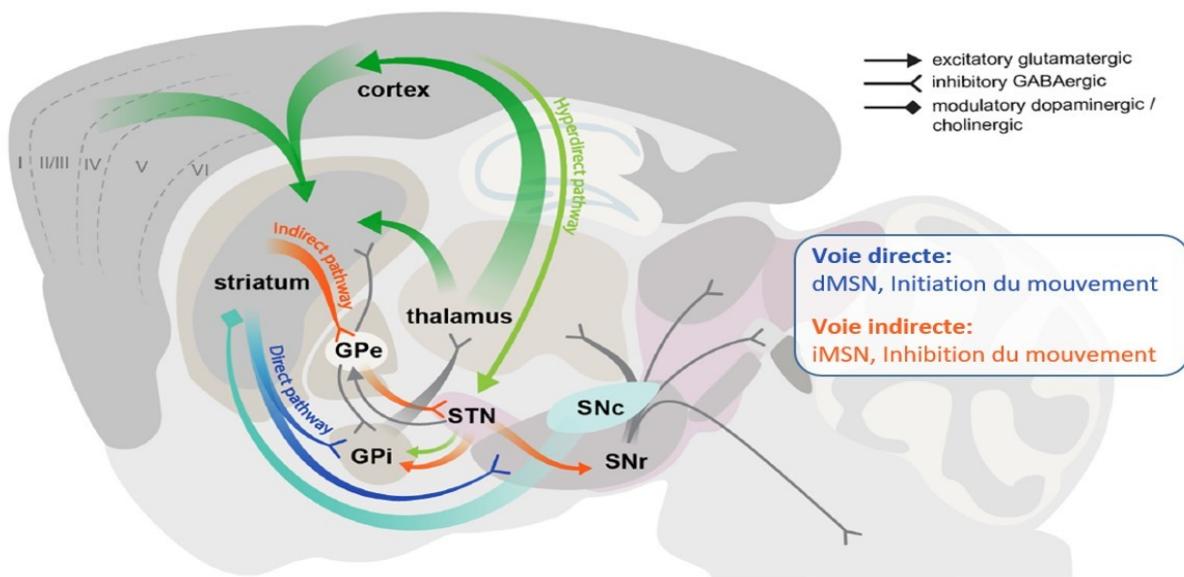


Fig. 5 Connectivité anatomique du striatum

Les voies directe et indirecte de projection du striatum sont impliquées dans des boucles inhibitrices et activatrices successives. Via sa projection inhibitrice sur le pallidum interne, la voie directe constituée d'efférences des dMSN joue un rôle facilitateur-initiateur du mouvement, tandis que la voie des iMSN, projette de façon indirecte au pallidum interne, ce qui *in fine* inhibe le thalamus et le mouvement (d'après Blumenstock et Dudanova 2020). *GPe, pallidum externe ; GPi, pallidum interne ; STN, noyau sous-thalamique ; SNr/SNc, substance noire réticulée/pars compacta.*

3.2. Atteintes du striatum dans la MH

Au cours de la MH, la neurodégénérescence affecte principalement les noyaux caudé et putamen induisant une perte de volume striatal drastique chez les patient·es (Tabrizi *et al.* 2013)(Fig.6). Cette atrophie se caractérise dès les stades présymptomatiques par une perte précoce des iMSN, suivie plus tardivement par la dégénérescence des dMSN, ce qui corrèle avec l'apparition progressive des symptômes moteurs de la MH. La perte dans un premier temps de la voie inhibitrice explique la perte de coordination et les mouvements choréiques, puis l'atteinte des dMSN qui initient les comportements et mouvements conduit à une bradykinésie (Reiner *et al* 1988, Niccolini *et al* 2018, Reiner et Deng 2018).

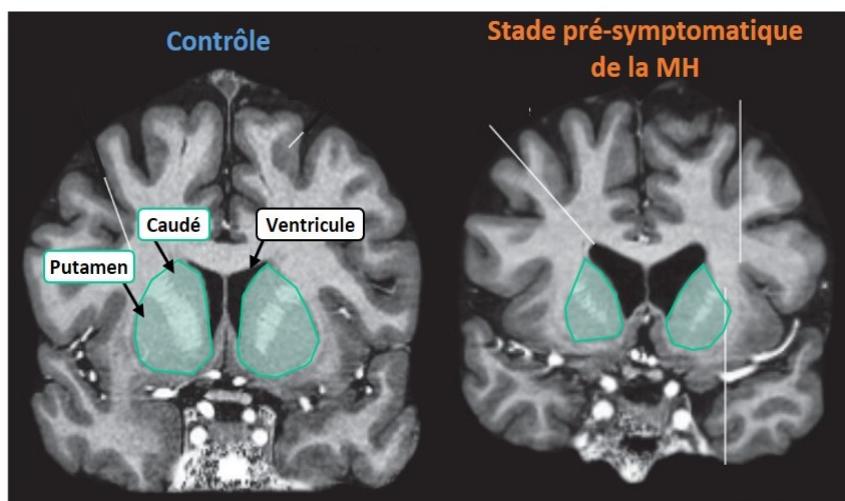


Fig. 6 Atrophie striatale dans la maladie de Huntington

La dégénérescence des MSNs du striatum résulte en une atrophie du striatum et une augmentation de la taille de ventricules latéraux. Les images présentées correspondent à l'imagerie IRM en coupe frontale de sujet contrôle et d'un·e patient·e au stade prodromal de la MH, pour lequel le diagnostic ne peut être clairement établi d'après les symptômes comportementaux (d'après Bates *et al* 2015).

Dans la MH, les MSNs sont atteints de façon primaire. Cependant, une atteinte des cellules gliales contribue aussi à l'atrophie striatale (Wilton et Stevens 2020). Bien que les données transcriptomiques et l'étude des inclusions de HTTm révèlent que l'atteinte gliale est secondaire comparativement aux neurones (Lee *et al* 2020, Jansen *et al* 2017), les patient·es Huntington présentent une astrogliose et des dérégulations gliales dans les structures cérébrales atteintes par la MH (Saba *et al* 2022). Les cellules astrocytaires présentent notamment une altération de leurs capacités neuroprotectrices et une baisse d'expression des récepteurs au glutamate dans le striatum de patient·es, dépendamment de l'avancement de la pathologie (Faideau *et al* 2010, Paryani *et al* 2023). Tandis que les travaux réalisés sur les modèles murins démontrent un impact de la mutation de *HTT* sur la production de métabolites neuronaux, la signalisation calcique ou encore le métabolisme du cholestérol dans les astrocytes (Khakh et Goldman 2023). A l'image des travaux de Boussicault et coll. qui

indiquent que le dysfonctionnement et l'activation astrocytaire participe au stress oxydatif des MSNs (Boussicault *et al* 2014), les données de la littérature indiquent que la dérégulation gliale contribue aux atteintes neuronales dans le striatum Huntington (Benraiss *et al* 2016).

La microglie est également davantage active en présence de HTTm, produisant une quantité importante de facteurs pro-inflammatoires et une inflammation accrue qui participe à l'atrophie du striatum et aux atteintes corticostriatales (Silvestroni *et al* 2009, Crotti *et al* 2014, Wilton *et al* 2023). Enfin, les oligodendrocytes dans la MH sont déficients, entraînant entre autres une baisse de myélinisation et un déficit de production de facteurs de croissance dans le striatum, impliqués dans la perte de fonctions neuronales (Huang *et al* 2015, Novak *et al* 2014).

3.3. Autres atteintes cérébrales et atteintes périphériques

D'autres régions cérébrales, telles que le cortex sont vulnérables à la mutation de *HTT* et impliquées dans la symptomatologie de la MH (Pressl *et al* 2024, Blumenstock et Dudanova 2020). Notamment, l'atrophie et le dysfonctionnement des cortex moteur et cingulaire, tout comme l'altération de connectivité du cortex préfrontal au striatum corrèlent avec la mise en place de symptômes comportementaux de la maladie (Thu *et al* 2010, Lahr *et al* 2018).

La mutation de *HTT* étant ubiquitaire dans chaque cellule de l'organisme des sujets atteints, il existe des effets périphériques et globaux de la MH. Notamment, les patient·es présentent une perte de poids dépendante de la taille de mutation de *HTT* (Ogilvie *et al* 2021). Les sujets porteurs de cette mutation à un stade présymptomatique présentent une diminution de l'indice de masse corporelle bien que leur apport calorique soit augmenté, ce qui suggère une altération du métabolisme général (Marder *et al* 2009). Le métabolisme périphérique est largement dérégulé dans la MH (Carroll *et al* 2015). Chez les sujets diagnostiqués ou porteurs de la mutation à des stades prodromaux, le métabolisme glucidique est notamment impacté par une réduction du catabolisme hépatique (Stüwe *et al* 2013), tandis que l'altération des chaînes respiratoires mitochondrielles perturbe la production d'ATP dans les cellules musculaires (Saft *et al* 2005, Ciampola *et al* 2011). De plus, l'étude du sérum de patient·es à différents stades de la pathologie a permis d'identifier une perturbation du métabolisme du tryptophane, induisant notamment une augmentation des cytokines circulantes et une inflammation périphérique (Forrest *et al* 2010).

En complément des changements métaboliques majeurs qu'ils subissent, les muscles sont plus globalement affectés dans la MH. Chez les modèles murins, les muscles squelettiques sont atrophiés et perdent une partie de leurs propriétés contractiles, pouvant expliquer la faiblesse musculaire observée chez les patient·es (Mielcarek *et al* 2015, Busse *et al* 2008, Bozzi et Sciandra, 2020).

3.4. Vulnérabilité des MSNs striataux

Le profil d'expression de la HTT, protéine exprimée de façon ubiquitaire dans l'organisme, n'explique pas la vulnérabilité sélective de certaines populations neuronales face à la mutation Huntington. Ainsi différentes hypothèses tendent à définir les mécanismes responsables de la vulnérabilité des MSNs striataux.

D'après les connections anatomiques et la neurochimie du striatum, des études suggèrent que les MSNs striataux sont sensibilisés à une excitotoxicité glutamatergique des afférences corticales. Landwehrmeyer et coll. ont pu mettre en évidence que les MSNs expriment des sous-unités du récepteur NMDA plus affines au glutamate que les interneurones striataux, suggérant une sensibilité plus importante au glutamate (Landwehrmeyer *et al* 1995). De plus, au cours de la MH, l'activité des récepteurs NMDA est perturbée dans le striatum, ce qui a tendance à sensibiliser les neurones épineux moyens à un stress cellulaire et pourrait contribuer aux dysfonctionnements neuronaux (Fan et Raymond 2007).

Des travaux ont suggéré le rôle que pourrait également jouer le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF pour *brain-derived neurotrophic factor*) dans la vulnérabilité striatale. Les neurones striataux sont appauvris en ARN messagers (ARNm) du BDNF, un facteur neurotrophique impliqué dans la survie neuronale et la plasticité synaptique, ainsi, son apport au striatum est dépendant des interactions cortico-striatales (Schmidt-kastner *et al* 1996). Or l'axe cortico-striatal étant altéré chez les patient·es (Poudel *et al* 2014), et le transport axonal du BDNF perturbé dans les cellules issues de modèles murins de la MH (Gauthier *et al* 2004), l'apport de BDNF au striatum est drastiquement diminué dans le cerveau Huntington. De plus, l'apport expérimental de BDNF à des neurones issus de souris modèles de la MH, permet de restaurer l'homéostase de synapses cortico-striatales (Lenoir *et al* 2022). L'ensemble de ces résultats suggère ainsi une vulnérabilité des neurones striataux, *via* leur dépendance au BDNF cortical, dont l'homéostase est altérée dans la maladie de Huntington.

Une caractéristique des MSNs du striatum est également leur dépendance métabolique. L'administration systémique d'acide 3-nitropropionique (3-NP), un inhibiteur du complexe II de la chaîne respiratoire, à différents rongeurs et primates non-humains provoque une dégénérescence quasi-exclusivement striatale et l'apparition de symptômes moteurs et cognitifs similaires à ceux de la MH (Brouillet 2014). Ces données suggèrent ainsi une forte dépendance des MSNs striataux au métabolisme mitochondrial, qui pourrait expliquer pourquoi ils sont les premiers à dégénérer dans la pathologie.

Enfin, l'instabilité somatique de l'expansion CAG décrite précédemment ([Introduction-1.1.2](#)) présente une spécificité tissulaire, et est particulièrement élevée dans le tissu cérébral, tel que dans les MSNs et certains neurones du cortex, et plus particulièrement dans les neurones striataux sensibles à la dégénérescence (Mätlik *et al* 2024, Wheeler *et al* 2003, Gonitel *et al* 2008). Des travaux suggèrent que dans la MH, l'altération du métabolisme énergétique spécifique aux MSNs striataux pourrait augmenter la production de radicaux libres qui vont oxyder l'ADN, et ainsi stimuler excessivement les enzymes de réparation et augmenter l'instabilité somatique de la mutation de *HTT* (Kovtun *et al* 2007, Maiuri *et al* 2019). De plus, les études GWAS identifiant les mutations de gènes des MMR comme facteurs de risque pour la MH, couplés aux travaux de Mätlik et coll. qui ont récemment définis que les protéines de réparation de l'ADN MSH2 et MSH3 sont anormalement élevées dans les MSNs en comparaison aux autres types cellulaires striataux (Mätlik *et al* 2024), suggèrent l'importance des enzymes de réparation de l'ADN et de l'instabilité de l'expansion CAG dans la vulnérabilité des MSNs striataux. Malgré tout, la corrélation entre instabilité somatique et vulnérabilité cellulaire n'est pas parfaite et n'exclue pas que d'autres facteurs soient impliqués (Mouro-Pinto *et al* 2020, Pressl *et al* 2014, Mätlik *et al* 2024).

4. Physiopathologie

La mutation qui cause la MH conduit à des dérégulations biologiques multiples qui jouent un rôle *in fine* dans la perte de fonctions et la dégénérescence des MSN du striatum. Actuellement, la nature des entités toxiques et essentielles à la pathogenèse (ADN, ARN ou protéine mutés) reste discutée.

4.1. Fonctions physiologiques de la HTT

La protéine HTT a pour particularité d'être constituée de séquences protéiques HEAT, qui forment deux hélices alpha reliées par une boucle. Ces domaines HEAT étant impliqués dans l'élaboration de complexes protéiques, différentes régions de la HTT peuvent interagir ensemble et/ou intégrer d'autres complexes, ce qui fait de la HTT une « plateforme » moléculaire facilitant et régulant la formation de complexes protéiques impliqués dans diverses fonctions cellulaires (Saudou et Humbert 2016).

Par exemple, la HTT non mutée interagit avec la protéine HAP1 (*Huntingtin associated protein 1*), toutes deux impliquées dans l'architecture du cytosquelette et le transport intracellulaire (Liu.L et al 2023). Le complexe protéique impliquant la HTT et HAP1 intègre notamment la dynéine et joue un rôle dans le trafic vésiculaire le long des axones ou l'elongation du cytosquelette lors de la mitose (Wu et Zhou 2009, Saudou et Humbert 2016). Une étude de 2020 a montré que la déplétion de Hap1 chez des modèles murins ou primates non-humains de la MH induit la mort des MSNs spécifiquement dans le striatum, suggérant que l'interaction HTT-HAP1 est protective contre la neurodégénérescence et peut être altérée dans la MH (Liu et al 2020, Chen et al 2022).

De plus, la HTT est impliquée dans le développement embryonnaire, notamment dans la neurogenèse corticale et striatale (Reiner et al 2003). En 2020, Barnat et coll. déterminent que l'expansion polyQ confère à la HTTm une perte de fonction dans le processus de développement embryonnaire des foetus humains, *via* une mauvaise localisation cellulaire de la HTT dans les couches corticales. Cette altération de la fonction de HTT conduit notamment à un déficit de différenciation des progéniteurs neuronaux, et à une perturbation des cycles cellulaires et de mitose (Barnat et al 2020). Ces observations, couplées au constat que le cortex de souris modèles de la MH est transitoirement altéré lors de la première semaine post-natale, suggèrent une composante neurodéveloppementale dans la MH (Braz et al 2022).

Bien que largement retrouvée dans le compartiment cytoplasmique, les études sur modèles animaux indiquent que la HTT peut-être localisée dans les noyaux cellulaires où elle interagit avec les complexes protéiques présents. La HTT interagit avec de nombreux facteurs de transcription, tels que CBP (CREB-binding protein), NFkB ou encore p53 (Steffan et al. 2000, Takano et Gusella 2002), des régulateurs épigénétiques et transcriptionnels tels que PRC2 et REST (Seong et al 2010, Zuccato et al 2003) ou encore des récepteurs nucléaires comme PPAR γ

et LXR α (Futter *et al* 2009). L'ensemble de ces interactions nucléaires confère à la HTT un rôle dans le contrôle de la transcription. Notamment, Zuccato et coll. ont démontré que la HTT favorise la production de BDNF, tandis que la forme mutée de la protéine perd cette fonction et résulte en une production amoindrie de BDNF, ce qui pourrait contribuer à la sensibilité accrue des MSNs striataux à la neurodégénérescence dans la MH (Zuccato *et al* 2001).

Avec notamment un rôle bénéfique dans la production de facteurs pro-survie, dans le trafic vésiculaire ou encore le neurodéveloppement, la HTT physiologique est nécessaire au fonctionnement neuronal. Ainsi, la mutation Huntington peut altérer ces fonctions et contribuer à la mort des MSNs striataux *via* une perte de fonction partielle des neurones. Cependant, l'inactivation expérimentale de la protéine HTT saine ne permet pas de modéliser l'ensemble des symptômes moléculaires et comportementaux de la MH, ce qui indique que la pathologie ne repose pas uniquement sur une perte de fonction de la HTT (Zhang *et al* 2009, Duyao *et al* 1995, Regio *et al* 2023).

4.2. Perte de l'homéostasie cellulaire

La répétition de triplets CAG dans l'exon 1 que constitue la mutation du gène *HTT* confère à la protéine une expansion polyQ qui affecte sa structure tridimensionnelle. La forme mutée de HTT a une forte propension à l'agrégation formant ainsi des agrégats cytoplasmiques et nucléaires constitués de la forme complète de la HTTm ou de fragments issus de clivages protéolytiques ou d'épissage alternatif du gène muté. Les agrégats sont les principaux marqueurs biologiques de la MH (Fig.7) et contribuent à la dérégulation de plusieurs fonctions biologiques telles que le fonctionnement synaptique, le transport axonal, la transcription et les systèmes protéolytiques (Fig.8)(Li *et al* 1999, Li *et al* 2016, Bates *et al* 2015).

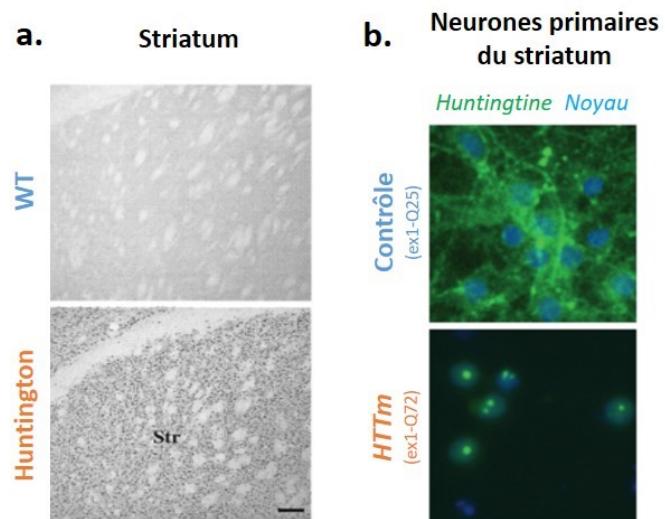


Fig. 7 Agrégats de HTTm dans le striatum Huntington
a. Immunomarquage des agrégats de huntingtine dans le striatum de souris contrôles et modèles de la MH (R6/2) âgées de 12 semaines (Li *et al* 1999).
b. Immunomarquage de la huntingtine dans des neurones striataux transfectés par l'exon 1 de *HTT* possédant une expansion de 25 (contrôle) ou 72 glutamines (HTTm). Contrairement à la HTT-Q25 qui est ubiquitaire dans la cellule, la HTTm forme des agrégats dans les noyaux des neurones (Weiss *et al* 2008).

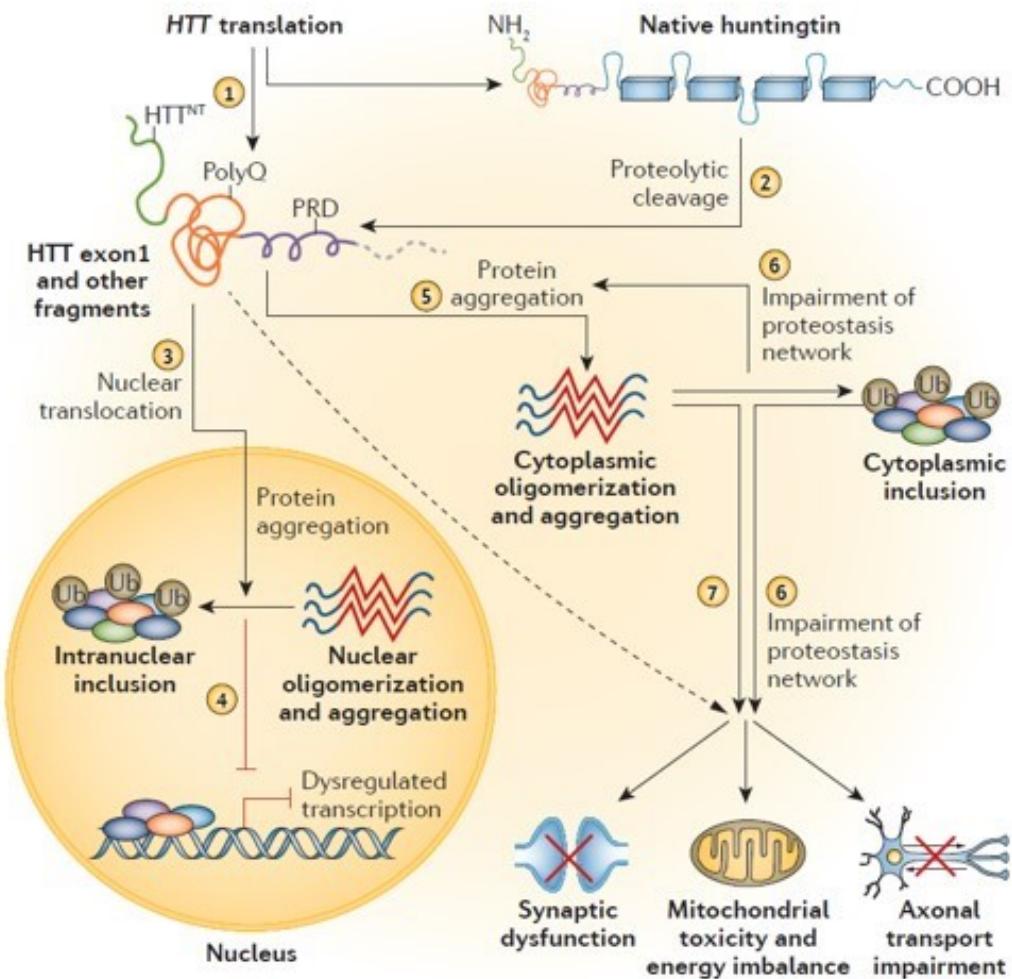


Fig. 8 Fonctions pathologiques des agrégats de HTTm

La HTTm complète (1) ou les fragments issus de clivage protéolytique (2) sont retrouvés dans les différents compartiments cellulaires. Dans les noyaux (3), la HTTm s'agrège et induit une dérégulation de la transcription (4). Dans le compartiment cytoplasmique, les agrégats de HTTm saturent les mécanismes de protéolyse (6), et induisent des dysfonctionnements cellulaires au niveau des synapses, des mitochondries et du transport axonal (7)(Bates *et al* 2015).

Dans les noyaux, les agrégats de HTTm interagissent avec, et séquestrent, des facteurs protéiques impliqués dans la régulation de la transcription. En 2001, Nucifora et coll. démontrent que la protéine liant CREB (CBP pour *CREB binding protein*), une histone acétyltransférase, est retrouvée dans les agrégats de HTTm de modèles murins et les tissus *post-mortem* de patient·es de la MH (Nucifora *et al* 2001). Cependant, bien que les inclusions nucléaires apparaissent corrélées avec les dérégulations transcriptionnelles -voire épigénétiques- observées dans la MH, la relation de cause à effet reste à démontrer (Li *et al* 2016, Francelle *et al* 2017).

Dans le compartiment cytoplasmique, les agrégats de HTTm sont cytotoxiques et entretiennent l'activation excessive des voies de dégradation protéique. La voie de protéolyse

par autophagie est dérégulée, les autophagosomes s'accumulent dans les neurones striataux de souris modèles et de patient·es de la MH mais ne sont pas fonctionnels et ne permettent pas l'élimination de la HTTm (Martinez-Vicente *et al* 2010). De même, les mécanismes de protéostase, impliqués dans la clairance des protéines mal repliées, assurés par le système ubiquitine-protéasome (UPS), sont déficients car une partie des facteurs protéiques impliqués dans ces systèmes sont séquestrés dans les agrégats de HTTm (Park *et al* 2013). Ainsi, bien que les astrocytes semblent préservés de ces altérations et prennent en partie le relais des neurones pour la protéostase des agrégats (Abjean *et al* 2023), la dégradation des fragments de HTTm mal-conformés et agrégés n'est pas fonctionnelle dans les MSNs du striatum Huntington, ce qui dérègle l'homéostasie et le fonctionnement des neurones.

Enfin, Riguet et coll. ont observé la présence de mitochondries et de compartiments du réticulum endoplasmique à proximité des agrégats de HTTm, suggérant une dérégulation de l'homéostasie cellulaire en présence de fragments de HTT-polyQ. Plus précisément leurs travaux ont permis de définir que ces mitochondries présentent des changements morphologiques et des altérations fonctionnelles quant à la respiration métabolique, suggérant que la présence d'agrégats altère l'intégrité mitochondriale et contribue aux dérégulations métaboliques (Riguet *et al* 2021, Song *et al* 2011).

4.3. Altérations métaboliques

De nombreux travaux ont caractérisé les atteintes du métabolisme dans la MH, bien que les mécanismes biologiques responsables restent mal déterminés. Des études *post-mortem* de tissus Huntington, ou des modèles murins, ont notamment démontré que les complexes II, III et IV de la chaîne respiratoire mitochondriale sont drastiquement diminués dans la MH, spécifiquement dans les noyaux caudé et putamen (Damiano *et al* 2010). Il en est de même pour d'autres enzymes du métabolisme oxydatif pouvant justifier d'une production anormalement élevée de ROS (espèces réactives de l'oxygène) toxiques pour les neurones Huntington (Sorolla *et al* 2008).

Le métabolisme du glucose est également affecté dans la MH. Dans le système nerveux central, l'apport de glucides aux neurones est dépendant des astrocytes, qui captent le glucose dans le compartiment sanguin et le métabolisent en lactate et pyruvate qui seront utilisés par les neurones. Dans la MH, les études d'imagerie témoignent d'un hypométabolisme du

glucose chez des modèles primates non-humains (Weiss *et al* 2023). D'après les travaux de Boussicault et coll., ce constat est dû à une diminution du transport du glucose, associé à un stress oxydatif important dans les astrocytes, dès les stades précoce de la pathologie (Boussicault *et al* 2014).

Également, les neurones et les cellules gliales du striatum subissent des perturbations du métabolisme lipidique. Dans le système nerveux central, le cholestérol est majoritairement produit par les astrocytes, à partir d'Acetyl-CoA. L'expression gliale des enzymes de synthèse du cholestérol, ainsi que l'enzyme neuronale CYP46A1 du catabolisme du cholestérol sont diminuées dans le striatum Huntington (Valenza *et al* 2010, Boussicault *et al* 2016). Le métabolisme lipidique étant essentiel aux fonctions neuronales, l'apport expérimental de cholestérol ou la surexpression de CYP46A1 chez des modèles murins de la MH permettent de restaurer le métabolisme lipidique mais également de rétablir une partie des phénotypes moléculaires (atrophie des neurones, agrégats) et comportementaux (Valenza *et al* 2015, Boussicault *et al* 2016).

L'ensemble de ces études témoignent de l'importance du lien neurones-astrocytes et de l'intégrité du métabolisme énergétique dans le maintien des fonctions et de la survie neuronale. Bien que les mécanismes moléculaires responsable de ces atteintes métaboliques ne soient pas clairement identifiés, elles apparaissent précocement dans le décours de la maladie suggérant un rôle crucial du métabolisme dans la physiopathologie de la MH.

4.4. Dérégulations transcriptionnelles

L'expression de gènes est également modifiée de façon précoce dans le striatum Huntington et conduit à un changement de fonction et d'identité des cellules striatales qui corrèle avec la progression des symptômes comportementaux (Francelle *et al* 2017).

En 2016, Langfelder et coll. caractérisent le transcriptome du striatum, du cortex et du foie de modèles murins de la MH présentant une taille progressive d'expansion CAG, à différents âges et stades de la pathologie. Ces travaux ont notamment pu établir que la dérégulation transcriptionnelle induite par la HTT mutée est progressive et la plus massive dans le striatum, et est corrélée à la taille de l'expansion CAG ([Fig.9](#)) (Langfelder *et al* 2016). Les auteur·ices ont également pu mettre en évidence, par des analyses réseaux (WGCNA pour *weighted correlation network analysis*), différents groupes de gènes qui sont modifiés de

manière comparable dans la condition Huntington. Notamment, cette étude tout comme celles d'autres groupes, dont le laboratoire d'accueil, indiquent que les gènes dont l'expression est diminuée dans le striatum de modèles murins sont très significativement enrichis en marqueurs de l'identité des MSNs, comme par exemple les gènes codant pour les récepteurs à la dopamine D1 et D2 (*Drd1*, *Drd2*), le régulateur de signalisation des protéines G (*Rgs9*), ou encore la phosphodiesterase 10a (*Pde10a*) (Fig.9) (Hodges *et al* 2008, Vashishtha *et al* 2013, Achour *et al* 2015, Langfelder *et al* 2016).

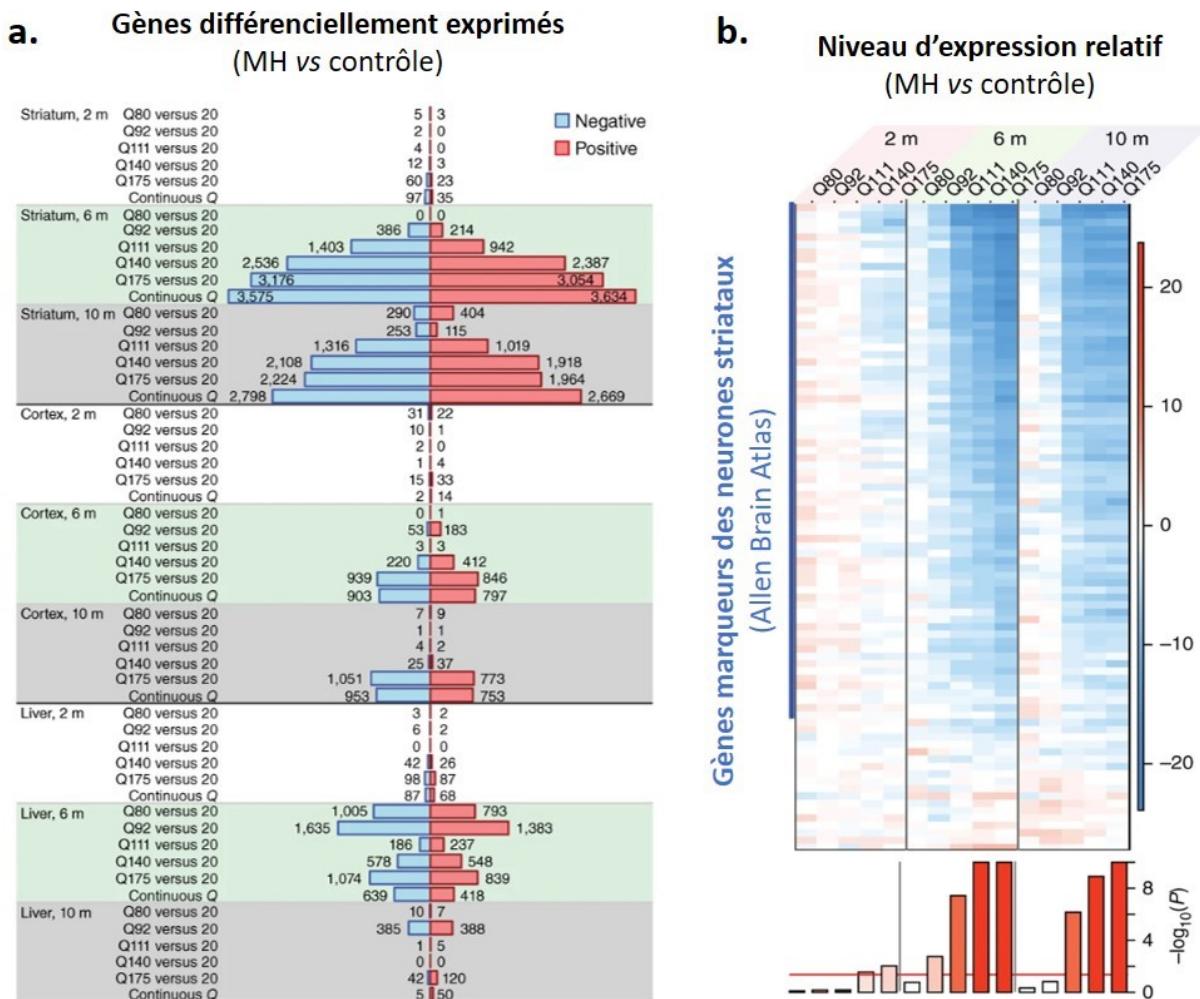


Fig. 9 Dérégulation transcriptionnelle dans le striatum Huntington

a. Nombre de gènes différemment exprimés entre les modèles de MH présentant différentes tailles de mutation de *HTT*, dans le striatum, cortex et foie de souris âgées de 2 à 10 mois. La dérégulation transcriptionnelle provoquée par la mutation de *HTT* apparaît majoritairement et précocement dans le striatum, de façon dépendante de la taille de la mutation (Langfelder *et al* 2016).

b. Niveau d'expression relatif (MH vs contrôle) des gènes marqueurs des neurones striataux, dans le striatum de souris possédant une HTTm constituée de 80 à 175 glutamines, âgées de 2 à 10 mois. Les gènes d'identité des MSNs sont significativement hypo-exprimés dans le striatum des modèles de la MH, dès 6 mois, dépendamment de la taille de la mutation (Langfelder *et al* 2016).

En 2020, Lee et coll. utilisent des approches de séquençage sur cellules uniques (snRNAseq) et des constructions génétiques de marquage ribosomal (TRAPseq) dépendantes du type cellulaire de manière à caractériser le transcriptome des types cellulaires striataux dans différents modèles murins Huntington et tissus *post-mortem* (Lee et al 2020). D'autres études transcriptomiques sur cellules uniques ou populations cellulaires spécifiques ont été réalisées pour davantage décrypter la signature des cellules dans le cerveau Huntington (Merienne et al 2019, Malaiya et al 2021, Matsushima et al 2023, Mätlik et al 2024, Pressl et al 2024). Les données indiquent que la dérégulation transcriptionnelle est la plus importante dans les iMSN, ainsi l'ampleur de la dérégulation transcriptionnelle corrèle avec la vulnérabilité neuronale. De plus, les travaux confirment une dérégulation majeure des gènes d'identité dans les neurones et identifient des signatures additionnelles. Notamment, les gènes impliqués dans la phosphorylation oxydative des mitochondries sont déplétés dans les MSNs Huntington suggérant que la dérégulation transcriptionnelle des MSNs, dépendante de la taille de l'expansion CAG, participe à la perte de fonction mitochondriale et aux atteintes métaboliques du striatum (Lee et al 2020). De plus, les données de Lee et coll. mettent en évidence l'induction d'une réponse immunitaire innée dans les MSNs, induite par l'altération métabolique et la libération d'ARN mitochondriaux (Lee et al 2020).

Les gènes associés à l'adhésion cellulaire (Langfelder et al 2016, Achour et al 2015), à la réponse immunitaire et au neurodéveloppement sont davantage exprimés dans le cortex et le striatum de patient·es et modèles de la MH (Labadorf et al. 2015, Legras et al 2017) ([Fig.10](#)). Les approches récentes permettant d'étudier la signature spécifique des types cellulaires tendent à consolider l'hypothèse selon laquelle les gènes d'identité des cellules sont réprimés dans leur type cellulaire d'origine et dé-réprimés dans d'autres cellules du striatum Huntington (Merienne et al. 2019, Malaiya et al 2021, Alcalá-Vida et al 2021b). Particulièrement, les études transcriptomiques suggèrent un rôle du complexe répresseur polycomb 2 (PRC2) dans ce déficit du maintien de l'identité cellulaire dans le striatum des modèles de la MH (Malaiya et al 2021).

Actuellement, les mécanismes expliquant comment la mutation Huntington induit ces perturbations transcriptionnelles ne sont pas clairement identifiés. L'étude de Gu et coll. en 2022, où les auteur·ices ont cherché à décrypter le rôle de l'instabilité somatique dans la dérégulation transcriptionnelle, indique que l'instabilité de l'expansion CAG est nécessaire

chez un modèle murin de la MH ([Introduction-I.1.2](#)) (Gu *et al* 2022), tandis que ces résultats paraissent confirmés chez les patient·es (McCarroll 2023, Handsaker 2024). Également, la transcription étant régulée par des facteurs épigénétiques, des travaux, dont ceux de l'équipe d'accueil, cherchent à caractériser le rôle que jouent les dérégulations épigénétiques dans le striatum Huntington et la perte précoce d'identité cellulaire. Ces études sont détaillées dans la [partie II](#), après contextualisation des mécanismes épigénétiques.

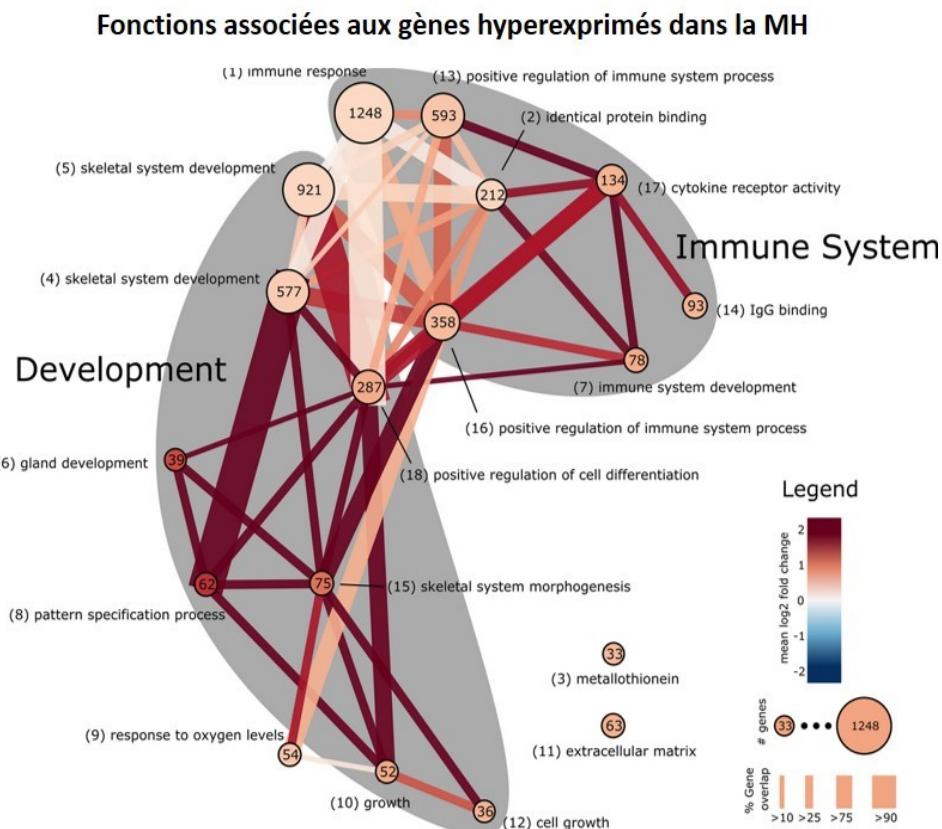


Fig. 10 Expression des gènes développementaux et d'immunité chez les patient·es Huntington
Analyse fonctionnelle en réseau des gènes hyper-exprimés dans le cortex préfrontal de sujets atteints de la MH (vs contrôles). Les gènes impliqués dans le développement et le système immunitaire sont anormalement hyper-exprimés dans le cerveau Huntington (Labadorf *et al* 2015).

5. Modèles

5.1. Des modèles nombreux et variés

Historiquement, la MH a été étudiée et modélisée chez le rongeur par des lésions striatales ou l'administration de toxines, dans le but de reproduire les atteintes des MSNs et les symptômes comportementaux retrouvés dans la pathologie (Beal *et al.* 1986, Brouillet 2014). La MH étant une pathologie génétique dont la seule cause est une mutation du gène

HTT, elle a l'avantage de pouvoir être modélisée par l'introduction d'une expansion CAG dans l'exon 1 du gène *HTT*. Les modèles animaux de la MH sont nombreux et choisis selon les questions biologiques posées, allant des vers *c.elegans* aux primates non-humains (Snyder et Chan 2018) en passant par des modèles de drosophiles, poisson-zèbre, moutons ou porcs (Pouladi *et al* 2013). Malgré cette variété, les modèles les mieux caractérisés et utilisés notamment pour leur facilité de manipulation, de reproduction et leur proximité relative avec les humains (mammifères) sont les rongeurs. Les modèles souris ont particulièrement été développés dû à leur facilité de manipulation génétique (Fig.11). Depuis le projet du consortium HD iPSC (HD iPSC Consortium 2012) de nouvelles approches utilisant des cellules souches pluripotentes induites (iPSC) ou des organoïdes provenant de patient·es ouvrent la voie à l'utilisation d'approches alternatives (Kaye *et al* 2022).

Modèles transgéniques R6

Modèles Knock-in

Promoteur + exon 1 Gène HTT humain

116 CAG (R6/1)
144 CAG (R6/2)

Expansion (n)CAG

Intégration dans le gène Htt murin

Model	Life span	Behavioral Alterations				Neuronal Alterations			
		Memory	Mood	Sleep quality	Motor activity	Number of Neurons	Neuronal inclusion	Brain volume	Neurotransmitter
Nongenetic rodent models									
Excitotoxicity			↓						
Mitochondrial impairment			↓	↓		↓			
Transgenic animal models									
N-terminal fragment length mouse model	R6/2	↓	↓	↓	↓	↓	↑	↓	
	R6/1	↓	↓	↓	↓	↓	↑		↓
	N171-SQ	↓	↓	↓	↓	↓	↑	↓	=
	N586-SQ	↓	↓		↓	↓	↑	↓	
N-terminal fragment length rat model	Tg100	↓							
	TgHD	↓	↓	↑		↓	↑	↓	
	BACHD-Sprague-Dawley rats	↓		↑		↓			
Full length mouse model	YAC128, BAC97, YAC18(Hu97/18), YAC128, BAC21(Hu128/21)	↓		↓		↓	↑		
	BACHD-FVB/NJ	=	↓			↓	=	↑	↓
	BAC22Q	=	↓	↓		↓			↓
	BACHD-Sprague-Dawley rats	=				↓		↑	
Knock-in animal models									
Well characterized congenic lines of C57BL/6 and CBA	CAG140	=	↓	↓		↓	↑	↓	
	ZQ175	↓	↓	↓		↓	↑	↓	↓
	HDhQ 92, HDhQ 111, HDhQ 20, HDhQ 50, HDhQ 80	=	↓	↓		↓	↑		=
Inconsistent CAG repeat transmission	HDhQ 50, HDhQ 100, HDhQ 150, HDhQ 200, HDhQ 250, HDhQ 315, HDhQ 365	=	↓			↓	↑	↓	

Fig. 11 Modèles murins de la MH

Différents modèles murins de la MH existent, principalement basés sur la mutation génétique de *Htt* chez la souris. Les souris transgéniques R6 présentent l'exon 1 de *HTT* humaine muté sous contrôle de son promoteur, qui s'exprime en complément de la *Htt* murine. Les modèles Knock-in présentent une expansion CAG de différentes tailles selon les modèles, directement intégrée dans le gène *Htt*. Les différents modèles murins illustrent plus ou moins bien les altérations comportementales et biologiques retrouvées dans la MH (d'après Nittari *et al* 2023).

5.2. Modèles murins transgéniques

Les modèles de souris transgéniques R6/1 et R6/2 ont été les premiers modèles murins génétiques générés qui récapitulent des aspects majeurs de la MH. Ces modèles reposent sur l'intégration dans le génome du promoteur et de l'exon 1 du *HTT* humain contenant une expansion d'environ 130 répétitions CAG (Mangiarini *et al* 1996)([Fig.11](#)). En plus de présenter une forte homologie pour la MH (expression de l'exon 1 humain), ces modèles témoignent d'un important isomorphisme avec les patient·es Huntington. Malgré une mort neuronale limitée, les modèles présentent une atrophie striatale (Rattray *et al* 2013a et 2013b) et le phénotype des souris transgéniques est similaire à celui retrouvé chez l'humain avec une baisse de l'espérance de vie, des symptômes comportementaux caractéristiques, la présence d'agrégats de HTTm ou encore des altérations épigénétiques, transcriptionnelles, métaboliques... (Nittari *et al* 2023, Morton 2023, Alcala-Vida *et al* 2021, Lee *et al* 2020, Merienne *et al* 2019, Burtscher *et al* 2020). Bien que basés sur la même mutation génétique, les deux modèles diffèrent par leur sévérité et la vitesse d'apparition des symptômes. En effet, les souris R6/2 présentent une durée de vie plus courte que les R6/1 (10-13 semaines contre 30-40 semaines), et une atteinte comportementale plus précoce, caractérisée notamment par des symptômes moteurs progressifs dès 5-6 semaines contre 11-12 semaines pour les R6/1 (Nittari *et al* 2023)([Fig.11](#)).

Malgré ces fortes homologies et isomorphisme des modèles R6, seul l'exon 1 de la HTTm y est exprimé. Ainsi, des modèles exprimant un exemplaire du gène *HTT* humain complet ont été développés (transgène transféré dans un chromosome de levure (YAC128) ou de bactérie (BACHD) (Pouladi *et al* 2012). Cependant, l'isomorphisme ne reste pas total, et bien que ces modèles présentent une atrophie striatale et plusieurs symptômes de type Huntington, les souris BACHD sont dépourvues d'agrégats de HTTm (Pouladi *et al* 2012). Récemment, Gu et coll. ont proposé un nouveau modèle BAC-CAG reposant sur une expansion CAG pure, non interrompue par des triplets CAA, qui modélise l'instabilité somatique de la mutation. Chez ce modèle, les agrégats de HTTm sont observés et la pathologie est aggravée (Gu *et al* 2022).

5.3. Modèles murins Knock-in

Les modèles de souris *Knock-in* (KI) ont été développés pour reproduire l'effet de la mutation dans l'ensemble du gène *HTT*, non pas en supplément de l'expression du gène murin non muté comme chez les modèles transgéniques, mais à sa place, comme c'est le cas chez les patient·es qui expriment un allèle muté. Dans ces modèles, l'expansion de triplets CAG est directement intégrée au gène murin de la *Htt* ([Fig.11](#)). De façon à reproduire la variété des séries allélique et pour modéliser différents niveaux de gravité de la pathologie, différents modèles existent selon la taille de la répétition : *e.g.* Q111 (Trettel *et al* 2000), Q140 (Menalled *et al* 2003), zQ175 (Menalled *et al* 2012). Du fait notamment de la différence de longévité entre les espèces, une taille de mutation similaire à celle retrouvée chez l'humain (inférieur à 60 CAG) n'induit pas de phénotype Huntington chez la souris ; espèce chez laquelle les symptômes de la MH sont retrouvés en présence d'une expansion instable et supérieure à 100 triplets CAG. Globalement, les souris KI présentent les altérations biologiques caractéristiques de la MH similaires aux modèles transgéniques mais l'apparition des symptômes est plus progressive et corrèle avec la taille de la mutation, ce qui permet notamment l'étude longitudinale des mécanismes physiopathologiques (Langfelder *et al* 2016, Nittari *et al* 2023).

6. Approches thérapeutiques

6.1. Traitements symptomatiques

Les symptômes de la MH décrits précédemment ([Introduction-I.2](#)) affectent grandement la qualité de vie et l'autonomie des patient·es. A l'heure actuelle, aucun traitement curatif permettant d'empêcher ou de ralentir la mise en place de la MH n'est mis sur le marché. Seuls des traitements symptomatiques et des thérapies comportementales, non spécifiques, existent, mais leur efficacité reste limitée ([Fig.12](#)). Par exemple, des inhibiteurs de la recapture des monoamines (*e.g.* tetrabenazine) peuvent être administrés pour atténuer les mouvements choréiques, mais ils induisent une sédation et des troubles dépressifs (Saft *et al* 2023). Il existe des traitements variés et non limités à la MH contre les troubles psychiatriques associés (psychoses, apathie, dépression, ...), cependant leurs effets secondaires ne sont pas négligeables et la balance bénéfice/risque ne justifie leur usage qu'à

des stades avancés de la pathologie, pour une posologie adaptée au cas par cas à chaque patient·e (Saft *et al* 2023).

A l'inverse, des approches moins lourdes telles que les traitements à base de cannabinoïdes, prometteuses pour leur tolérabilité et effets sur le phénotype moteur, se sont avérées sans bénéfice significatif (López-Sendón Moreno *et al* 2016). Pour traiter les mouvements choréiques, des approches préliminaires de stimulation profonde du pallidum ont montré des premiers signes bénéfiques mais sont actuellement toujours en cours de caractérisation sur des cohortes plus importantes (Wojtecki *et al* 2015, Saft *et al* 2023).

Enfin, une prise en charge et un accompagnement non médicamenteux des patient·es, tels que l'activité physique, des thérapies orthophoniques, des entraînements cognitifs ou des soins psychosociaux permettent d'améliorer la confiance en eux des sujets atteints par la MH, et de ralentir l'apparition des symptômes comportementaux (Saft *et al* 2023) ([Fig.12](#))([Introduction-III.2](#)).

6.2. Thérapies géniques

La MH est causée par une expansion CAG instable dans le gène *HTT* et la production d'ARNm et d'une protéine HTTm qui en découlent, ce qui en fait des cibles thérapeutiques de choix pour couper-court à leurs effets pathogéniques. Une stratégie majeure consiste à diminuer l'expression de la HTT pour empêcher l'expression de la mutation (Wang *et al* 2014, Tabrizi *et al* 2019). Cependant bien qu'une diminution de 50% de la HTT non mutée paraisse acceptable, les effets à long terme de telles approches chez des sujets Huntington restent inconnus (Tabrizi *et al* 2022). Ainsi, il est important de chercher à cibler le plus tôt et spécifiquement le gène et les ARN messagers (ARNm) de la HTT mutée.

Différentes approches d'atténuation de la HTT (*HTT-lowering*) ont été développées chez les modèles murins et les cellules issues de patient·es. Garriga-Canut et coll. ont utilisé des protéines en doigts de zinc pour cibler spécifiquement et réprimer les gènes à longue expansion de CAG. Les auteur·ices ont observé que l'injection virale de ces protéines dans le striatum de modèles murins de la MH permet une répression dose-dépendante de la HTTm, réduit les agrégats et améliore le phénotype comportemental des animaux (Garriga-Canut *et al* 2012). D'autres approches plus récentes utilisant la technologie CRISPR pour cibler le gène *HTT* total ou uniquement l'allèle muté confirment également l'effet bénéfique d'une telle

atténuation de la HTT, tant chez les modèles murins que dans les cellules issues de patient·es Huntington, ouvrant de nouvelles perspectives thérapeutiques (Yang *et al* 2017, Shin *et al* 2016, Xu *et al* 2017).

Egalement, de nombreuses études cherchent à cibler les ARNm de la HTT mutée. Le principe d'interférence à l'ARN repose sur l'utilisation de séquences nucléotidiques conçues pour reconnaître et se fixer spécifiquement sur les ARNm de la HTT. Le complexe ainsi formé ne pouvant être transcrit, il sera dégradé ce qui empêche l'expression de la protéine mutée. L'interférence des ARNm peut se faire par différents moyens : en administrant des ARN interférants (ARNi) par injection stéréotaxique dans le striatum de modèles et patient·es de la maladie, ou par administration intrathécale d'oligonucléotides antisens (ASO) (Tabrizi *et al* 2019). Différents essais cliniques basés sur ces approches sont actuellement en cours (Estevez-Fraga *et al* 2024). Les essais précliniques d'administration d'ARNi par vecteur viral ont confirmé la possibilité et la viabilité d'inhiber à long-terme la production d'HTT dans le striatum de modèles animaux de la MH (Evers *et al* 2018, Vallès *et al* 2021), ouvrant la perspective aux essais cliniques de phase I/II actuellement en cours chez les patient·es Huntington sur l'AMT130-UniQure (UniQure Biopharma 2023). Egalement, l'ARNi par administration intrathécale d'ASO a donné lieu à plusieurs essais cliniques. Bien que les études préliminaires chez les rongeurs se soient avérées bénéfiques, l'essai clinique d'administration de l'ASO tominersen par Ionis-Roche a été stoppé en phase III car il ne présentait aucun bénéfice voire une aggravation des symptômes (Schobel 2021). L'approche par ASO dans cet essai n'étant pas spécifique de la forme non mutée de HTT, et l'administration requérant des injections intra-thécales chroniques lourdes peuvent expliquer la toxicité observée dans cet essai. Il reste donc nécessaire d'optimiser ce type d'approches thérapeutiques. Actuellement, un nouvel essai du tominersen est en cours sur la cohorte de patient·es à des stades moins avancés en vue de déterminer la tolérance et l'efficacité de l'ASO (GENERATION HD2, Hoffman-LaRoche 2024).

De façon générale, ces approches cherchent à limiter les effets de la HTTm mais ne ciblent pas l'expansion CAG et son instabilité. Ainsi, si le modèle en deux phases proposé par le groupe de S.McCarroll s'avère vrai, ces approches pourraient être insuffisantes, car elles ne préviennent pas la phase silencieuse d'instabilité somatique qui conduit à la production d'une protéine HTT mutée très toxique ([Introduction-I.1.2](#)). Ainsi, de nouvelles pistes thérapeutiques

cherchent à cibler les complexes de réparation de l'ADN (*e.g.* ASO ciblant l'enzyme MSH3, développement de petites molécules) de manière à limiter, voire à bloquer l'instabilité de l'expansion CAG (O'reilly *et al* 2023, Tabrizi *et al* 2022, Iyer et Pluciennik 2021).

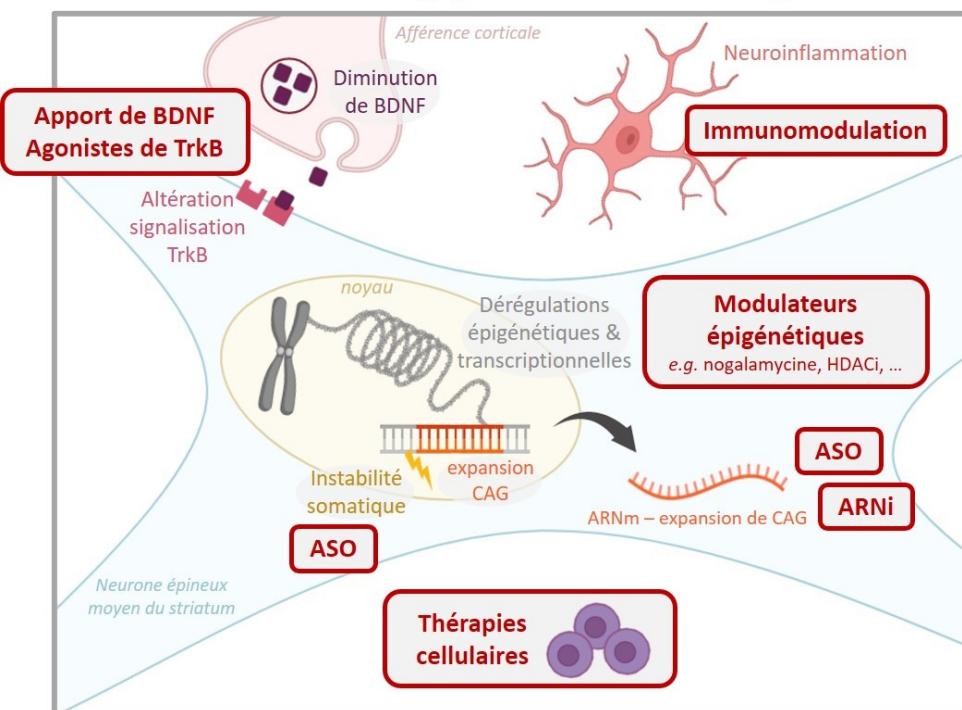
6.3. Thérapies cellulaires et pharmacologiques

Afin de pallier à la neurodégénérescence du striatum Huntington, des pistes de thérapies cellulaires sont en cours d'étude. Il a notamment été démontré que l'implantation de précurseurs neuronaux fœtaux permettait de restaurer la connectivité et les fonctions synaptiques dans le striatum de modèles animaux de la MH (Nicoleau *et al* 2011, Björklund et Parmar 2020), de la même manière que les progéniteurs gliaux peuvent restaurer la signalisation et le fonctionnement des astrocytes et oligodendrocytes (Benzaïss *et al* 2016). A l'image des essais cliniques basés sur des thérapies cellulaires en cours, de nouvelles approches cherchent dorénavant à surmonter les limites techniques d'obtention de cellules humaines non différenciées, et les problèmes de rejet de greffons, par exemple *via* l'utilisation d'iPSC (Bachoud-Lévy *et al* 2021, Tabrizi *et al* 2022, Estevez-Fraga *et al* 2024).

Des approches pharmacologiques sont également développées pour agir directement sur les mécanismes biologiques dérégulés dans les cellules striatales. Notamment, des traitements pharmacologiques permettent de diminuer les agrégats de HTTm, d'atténuer les réponses inflammatoires ou encore de moduler la signalisation dopaminergique de manière à limiter l'excitotoxicité striatale (Tabrizi *et al* 2022). Récemment, Naia et coll. ont démontré l'effet bénéfique de l'administration de pridopidine pour restaurer la signalisation calcique, les altérations mitochondrielles et les symptômes moteurs associés à la MH (Naia *et al* 2021), conduisant la molécule actuellement en essai clinique de phase III (Proof-HD). Enfin, d'autres molécules pharmacologiques ont été développées dans le but d'agir de façon précoce sur les dérégulations épigénétiques associées à la MH mais ces pistes restent limitées notamment du fait de leur toxicité et manque de spécificité ([Introduction-II.5](#))([Fig.12](#)).

Bien que prometteuses, ces nouvelles pistes thérapeutiques sont encore actuellement au stade d'étude et la priorité de la recherche actuelle tend à cibler l'instabilité somatique pour empêcher l'apparition d'une expansion supérieure au seuil toxique d'environ 150 CAG ([Introduction-I.1.2](#)). Ainsi, il reste nécessaire de comprendre les mécanismes physiopathologiques mis en place dans la MH, et plus particulièrement ceux établis de manière précoce, avant la dérégulation biologique globale des MSN striataux.

Altérations biologiques – striatum Huntington



Symptômes comportementaux



Fig. 12 Pistes thérapeutiques à la MH

Pour pallier aux dérégulations biologiques et comportementales associées à la MH, différentes pistes thérapeutiques sont en cours de développement. Actuellement, la prise en charge des patient·es n'a qu'une visée de ralentissement des symptômes comportementaux (cadres verts). D'autres pistes thérapeutiques (cadres rouges) cherchent à bloquer l'action de la HTTm directement au niveau de la mutation génétique ou des composants biologiques dérégulés dans la MH (inspiré de Tabrizi et al 2022).

II. EPIGENETIQUE ET MALADIE DE HUNTINGTON

En 1942, le biologiste Conrad H. Waddington utilise pour la première fois le terme « épigénétique » pour définir les mécanismes biologiques qui font le lien entre les gènes (génotype) et leur expression protéique (phénotype) (Waddington 1942). Bien que toutes les cellules d'un organisme vivant partagent le même héritage génétique, ces gènes ne sont pas exprimés de la même manière partout dans l'organisme, conférant à chaque type cellulaire une identité et des fonctions propres. En 1957, Waddington établit le concept de profils épigénétiques, qui dictent le devenir développemental des précurseurs cellulaires, et sont ainsi à la base de la variété d'expression des gènes dans les organismes complexes (Waddington 1957). Ainsi, l'épigénétique est définie comme la discipline étudiant les mécanismes qui contrôlent l'expression des gènes et résultent en des modifications du phénotype sans altérations de la séquence d'ADN (Berger *et al* 2009).

Les régulations épigénétiques comprennent différents types de mécanismes qui sont impliqués lors du développement, dans le vieillissement, ou encore dans les conditions requérant une adaptation des cellules (*e.g* apprentissage, plasticité cellulaire, pathologies). Les mécanismes épigénétiques ont pour caractéristique d'être dynamiques, ils peuvent être notamment modulés par l'expérience ou dans des conditions pathologiques, conduisant à des changements d'expression des gènes au cours de la vie et sous l'influence de nombreux facteurs environnementaux (Lacal et Ventura 2018, Cavali et Heard 2019).

1. Mécanismes épigénétiques

1.1. Conformation de la chromatine

La structure en double-hélice constitue la conformation primaire de l'ADN, dans les noyaux cellulaires elle est enroulée autour d'octamères d'histones, formant des nucléosomes. Ces nucléosomes, par leur enroulement et compaction forment eux-mêmes une ultrastructure : la chromatine ([Fig.13a](#)). Le niveau de compaction de la chromatine permet de la classer en deux états principaux, selon qu'elle soit décondensée et répartie dans l'ensemble du noyau, il s'agit de l'euchromatine ; tandis que l'hétérochromatine correspond à un état compact (Felsenfeld 1978, Xu.J et Liu 2021).

Avant même la création du concept d'épigénétique, Muller et Altenburg ont observé que la position d'un gène sur l'ADN et son environnement déterminent son niveau d'expression (Muller et Altenburg 1930). Plus globalement, il s'avère que le niveau de compaction de la chromatine influence et module les mécanismes cellulaires impliquant l'ADN tels que la transcription des gènes, la réPLICATION ou encore la réparation de l'ADN (Hansen et Ausio 1992, Goldstein *et al* 2013). Notamment, l'euchromatine, via son état décondensé, rend l'ADN accessible à la machinerie cellulaire responsable de la transcription (facteurs de transcription et ARN polymérase), tandis que l'hétérochromatine, par sa densité empêche l'expression des gènes (Fig.13b).

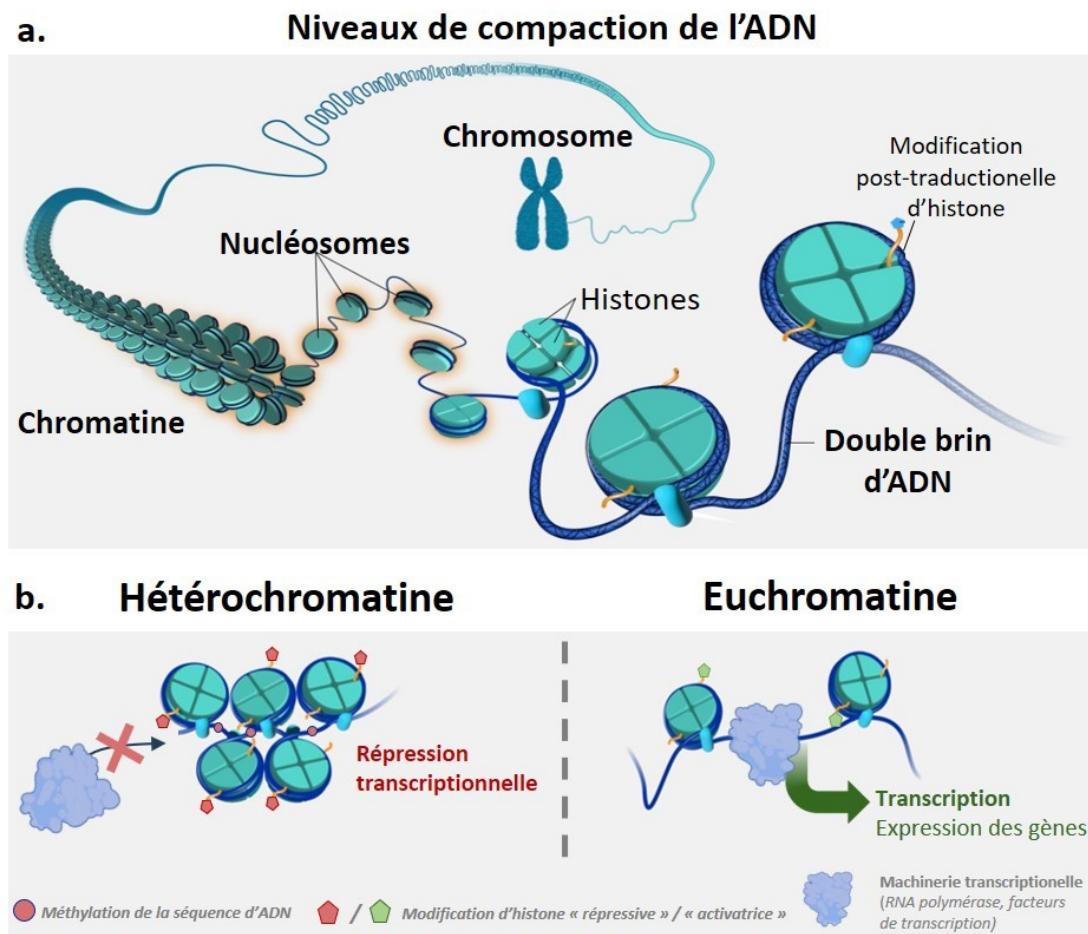


Fig. 13 Etats de compaction de la chromatine

Dans le noyau, l'ADN est enroulé autour d'octamères d'histones, formant les nucléosomes. La chromatine, formée de nucléosomes successifs peut-être ouverte, il s'agit de l'euchromatine associée à la transcription. La chromatine condensée, ou hétérochromatine, présente notamment dans la forme la plus condensée qu'est l'ADN empêche la fixation de la machinerie cellulaire pour la transcription. D'après l'illustration de National Human Genome Research Institute (www.genome.gov).

De plus, l'euchromatine possède une conformation tri-dimensionnelle particulière, définissant des territoires chromosomiques dans le noyau, qui assure un contrôle précis de l'expression des gènes. Ainsi, les domaines associés à la lamina (LADs) sont en contact avec la membrane nucléaire et y attachent la chromatine tandis que les domaines topologiquement associés (TADs) rapprochent physiquement de vastes régions du génome *via* un repliement contrôlé de la chromatine, qui facilite les mécanismes de co-régulation. Au sein des TADs existent des boucles chromatiniennes qui constituent l'unité minimale de régulation de l'expression des gènes. Celles-ci permettent de rapprocher les régions régulatrices situées à distance des gènes –régions *enhancers*- et de leur promoteur ([Fig.14](#))(Pope *et al* 2014). La formation des boucles chromatiniennes repose sur la présence et la fonction des protéines CTCF et cohésine (Nora *et al* 2017, Rao *et al* 2017). CTCF est capable d'interagir avec des motifs nucléotidiques présents le long de l'ADN. Cette fixation de CTCF sur l'ADN en position sens et antisens est responsable d'un rapprochement des protéines et ainsi d'un repliement de la chromatine. La boucle ainsi formée est entourée par la protéine circulaire cohésine qui permet le renforcement et le maintien à sa base de la boucle chromatinnienne ([Fig.14](#))(Rowley et Corces 2018). Également, d'autres mécanismes peuvent moduler l'architecture tri-dimensionnelle de la chromatine, tels que les processus de séparation de phase. De la même manière qu'une goutte d'huile est immiscible dans l'eau, la condensation de la chromatine dans le compartiment nucléaire -dépendante des propriétés physico-chimiques des modifications d'histones et des protéines en interaction avec la chromatine- peut acquérir des propriétés physiques qui vont impacter son niveau de compaction par séparation de phases liquide-liquide ou liquide-solide (Hansen *et al* 2021, Shakya *et al* 2020, Ng *et al* 2022). Ainsi, les régulations épigénétiques, en modulant la conformation tri-dimensionnelle et le niveau de compaction de la chromatine, sont essentielles au contrôle dynamique de la transcription dans les cellules (Hansen *et al* 2018, Pope *et al* 2014).

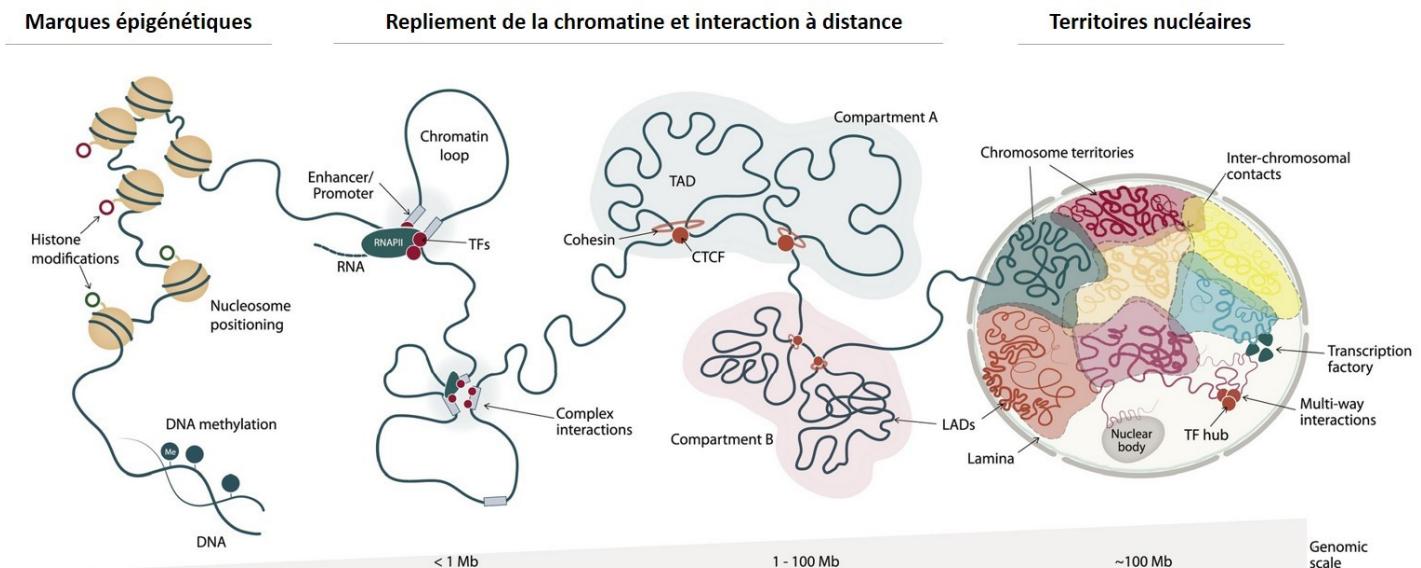


Fig. 14 Conformation tridimensionnelle de la chromatine et domaines d'interactions

Selon les modifications épigénétiques présentes le long de la chromatine, celle-ci peut changer de conformation dans l'espace nucléaire, rendant possible l'interaction entre des régions distantes sur la séquence nucléotidique. Les boucles de chromatine ainsi formées sont intégrées dans les domaines topologiquement associés (TAD). Les domaines associés à la chromatine (LAD) permettent l'adhésion de la chromatine à la membrane nucléaire, déterminant ainsi des territoires nucléaires associés à chaque chromosomes (Harabula et Pombo 2021). RNAPII: ARN polymérase II, TF: facteur de transcription

1.2. Méthylation de l'ADN

La méthylation de la séquence nucléotidique d'ADN constitue le mécanisme le plus étudié et la modification épigénétique la plus stable (Moore *et al* 2013). Les enzymes ADN méthyltransférases (DNMT) sont responsables de la méthylation *de novo* (DNMT3a et 3b) ou de la maintenance des profils de méthylation de l'ADN (DNMT1). Ces enzymes catalysent le groupement méthyl de la S-adenyl méthionine (SAM) vers le carbone 5 d'une cytosine. Dans la plupart des cas, la 5méthyl-cytosine (5mC) ainsi formée est située à côté d'une base guanine, ce qui fait des îlots CpG -larges régions d'ADN enrichies en séquence cytosine/guanine- les régions les plus méthylées de l'ADN (Moore *et al* 2013). La déméthylation de l'ADN peut se faire de manière passive, par perte de fonction de DNMT1 dans le maintien des niveaux de 5mC, ou de façon active par une succession de réactions chimiques. Notamment, les enzymes TET (TET1, 2 et 3) peuvent utiliser la 5mC comme substrat pour générer des formes alternatives de cytosines (*e.g* 5-hydroxy-méthyl-cytosine, 5-formyl-cytosine, 5-carboxy-cytosine) qui seront ensuite reconnues et catalysées par la Thymine-ADN-glycosylase et une enzyme de réparation de l'ADN par excision de base, formant *in fine* une cytosine non modifiée (Bayraktar et Kreutz 2018) (Fig.15).

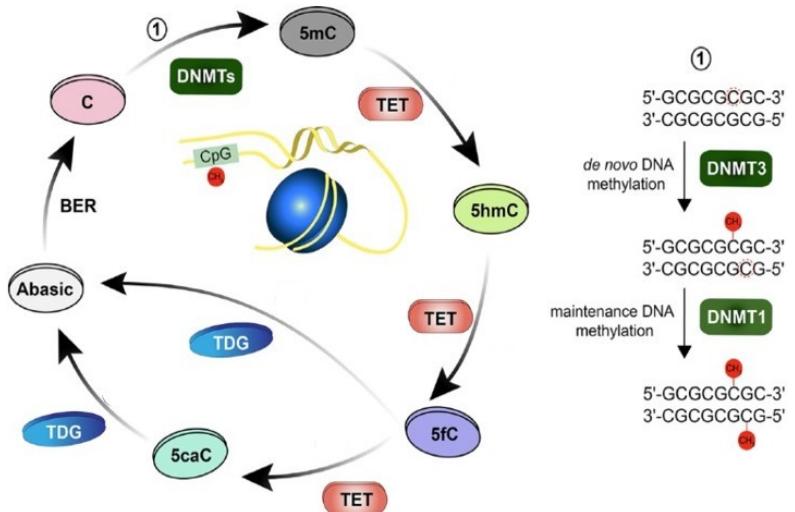


Fig. 15 Mécanismes de dé/méthylation de l'ADN

La méthylation de *novo* des cytosines implique l'enzyme DNMT3, puis DNMT1 consolide cette méthylation dans les îlots CpG (1). La déméthylation consiste en des réactions successives impliquant les enzymes TET, TDG et le mécanisme de réparation de l'ADN par excision de base de manière à générer une cytosine dépourvue de groupement chimique excédentaire (Bayraktar et Kreutz 2018).

C: cytosine, 5mC: 5-methyl-cytosine,
5hmC: 5-hydroxy-methyl-cytosine,
5fC: 5-formyl-cytosine,
5caC: 5-carboxy-cytosine,
TDG: Thymine-ADN-glycosylase,
BER: réparation par excision de base

Des études réalisées sur des cellules souches embryonnaires murines ont identifié que dans le système nerveux central, la présence des DNMT varie selon les stades de développement ce qui permet un contrôle temporel de la différenciation cellulaire. Notamment, l'expression séquentielle des DNMT contrôle l'entrée en neuro- ou astro-genèse en modulant le niveau de méthylation de l'ADN du gène *Gfap* (Fan *et al* 2005, Nguyen *et al* 2007, Moore *et al* 2013). Dans le cerveau à l'âge adulte, le niveau d'expression des DNMT varie selon les conditions. Des travaux indiquent que les niveaux d'ARNm et de protéine DNMT3A sont transitoirement modulés (augmentés puis diminués) suite à une tâche de mémoire ou à la dépolarisation de neurones *in vitro* (Mitchnick *et al* 2015, Morris et Monteggia 2014, Bayraktar et Kreutz 2018). Cela suggère ainsi le rôle essentiel de la dynamique d'expression des DNMT dans le système nerveux central, permettant le contrôle de la méthylation de l'ADN et des fonctions neuronales associées.

Dans le cerveau, les profils de méthylation de l'ADN sont différents des autres tissus. Notamment, près de la moitié des cytosines méthylées dans les neurones sont présentes sur des séquences non-CG (Lister *et al* 2013). De plus, l'hydroxy méthylation des cytosines (5hmC), qui peut recruter des régulateurs de transcription (Spruijt *et al* 2013), joue un rôle important dans le contrôle de l'expression des gènes dans les neurones en développement et à l'âge adulte (Lister *et al* 2013, Kozlenkov *et al* 2018, Mellén *et al* 2012). Notamment, Marion-Poll et coll. ont constaté que les profils de 5hmC dans les dMSN et iMSN du striatum murin participent à la différence de recrutement des facteurs de transcription, et donc des signatures transcriptionnelles, dans ces deux populations neuronales (Marion-Poll *et al* 2022).

De plus, bien que la méthylation de l'ADN induise la répression transcriptionnelle, des travaux ont pu démontrer que la présence de 5hmC est associée à l'euchromatine dans les neurones de modèles murins (Mellén *et al* 2012), suggérant un rôle spécifique de cette modification épigénétique dans le système nerveux central.

La méthylation des cytosines, associée à l'hétérochromatinisation et à la répression transcriptionnelle, agit de plusieurs manières sur le contrôle de la transcription. La présence de groupements 5mC peut empêcher la fixation de facteurs de transcription, tels que CTCF qui ne se peut se fixer sur l'ADN méthylé, empêchant ainsi la formation de boucles chromatiniennes et rendant inactives des régions *enhancer* (Bell et Felsenfeld 2000). D'autre part, dans le cerveau la méthylation de l'ADN peut recruter la protéine MeCP2, responsable d'activation ou de répression transcriptionnelle selon qu'elle recrute des facteurs de transcription et l'ARN polymérase, ou des enzymes histones désacétylases suite à la détection de 5hmC ou 5mC respectivement (Vuu *et al* 2023).

1.3. Modifications d'histone

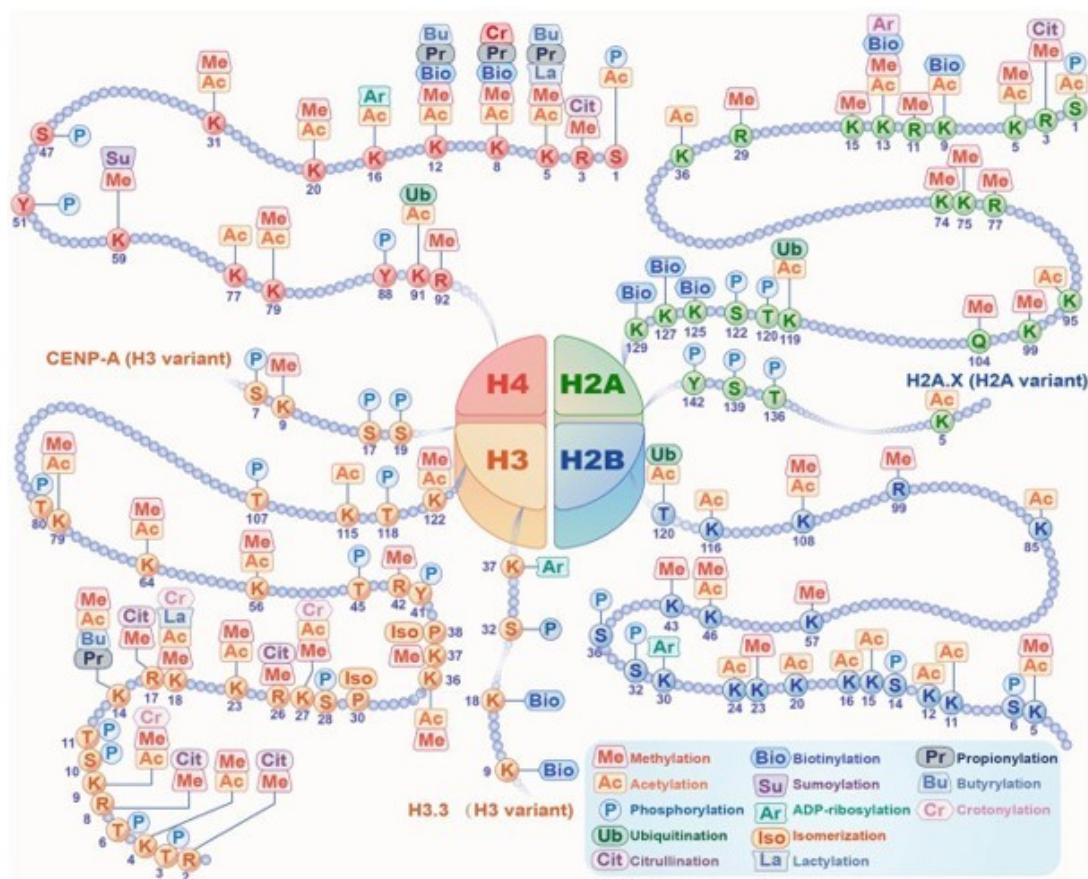
1.3.1. Généralités

La modification post-traductionnelle des histones est un processus de régulation épigénétique varié (de nombreux types de modifications et d'acides-aminés sont concernés) qui influence l'état de compaction de la chromatine de manière dynamique. Ce mécanisme épigénétique est retrouvé dans les processus d'adaptation de l'ensemble du vivant, de la réponse au stress des plantes, à la cancérogenèse en passant par les mécanismes de plasticité cérébrale des mammifères (Zhao *et al* 2020, Yang *et al* 2022, Coda et Gräff 2020).

Les nucléosomes sont constitués de 147 bases nucléotidiques enroulées autour d'un octamère d'histone, composé de deux exemplaires de chaque histone H2A, H2B, H3 et H4 (Zhou *et al* 2019). Ces histones peuvent subir différentes modifications post-traductionnelles, à l'origine du concept de « code histone » selon lequel chaque modification d'histone constitue un langage moléculaire unique, qui en combinaison avec les autres modifications avoisinantes, dicte la structure de la chromatine et l'expression des gènes (Strahl et Allis 2000, Jenuwein et Allis 2001). Par exemple, l'acétylation de la lysine 27 de l'histone 3 (H3K27ac) possède des propriétés physico-chimiques qui vont favoriser l'ouverture de la chromatine,

tandis que la tri-méthylation de cette même lysine (H3K27me3) tend à compacter la chromatine et ainsi à favoriser la répression transcriptionnelle, ce qui amène à définir la marque H3K27ac comme « activatrice » de la transcription et H3K27me3 comme « répressive ».

Si acétylation et méthylation des histones sont les modifications les plus étudiées et parmi les plus abondantes, d'autres marques sont essentielles et continuent d'être découvertes. Notamment, phosphorylation, sumoylation, ubiquitinylation, butyrylation, crotonylation, lactylation, glycosylation et serotonylation comptent parmi les modifications d'histones identifiées à ce jour (Chan et Maze 2020, Yang *et al* 2022) (Fig.16). Bien que dans la majorité des cas, l'ajout de groupements se fasse sur une lysine, d'autres acides-aminés tels que des arginine, sérine, thréonine ou tyrosine peuvent présenter des modifications post-traductionnelles (Yang *et al* 2022) (Fig.16).



1.3.2.Acétylation des histones

L’acétylation des histones consiste en un ajout de groupement acétyl (-COCH₃) sur la queue d’un résidu lysine des histones, résultant en un affaiblissement de l’interaction histone-ADN et une décondensation de la chromatine. Les enzymes responsables sont des histones acétyltransférases (HATs) qui utilisent l’acétyl coenzyme-A nucléaire (ACoA) comme substrat (Alexander *et al* 2022). Les HATs sont nombreuses (17 Lysines acétyltransférases (KAT)) et peuvent être classées en différentes familles selon leurs homologies de séquences ou de fonctions (Wapenaar et Dekker 2016, Marmorstein et Zhou 2014)(Fig.17).

Par exemple la famille GNAT (pour *Gcn5-related-N-acetyltransferases*) comprend la KAT Gcn5 qui acétyle spécifiquement les marques H3K9ac, H3K18ac ou encore H3K14ac, et qui est moins affine pour l’ACoA que les autres KATs, suggérant une sensibilité accrue de Gcn5 aux niveaux d’ACoA cellulaires (Albaugh et Denu 2021). D’autre part, la famille des KAT CBP/p300, contenant la protéine fixant CREB (CBP pour *CREB binding protein*) et le facteur p300, peut acétyler l’ensemble des 4 sous-types d’histones, et notamment les lysines 18 et 27 de l’histone 3 (H3K18ac et H3K27ac). Ces HATs CBP/p300 sont parmi les plus étudiées et possèdent des propriétés leur conférant la possibilité d’agir au-delà de la décondensation de la chromatine par l’ajout d’une marque d’acétylation. Notamment, elles présentent de nombreux domaines d’interaction protéique, leur conférant la capacité d’interagir avec des dizaines de protéines et de structurer l’architecture tri-dimensionnelle de la chromatine. La présence de CBP/p300 à proximité du site de début de transcription des gènes (TSS) permet entre autres le recrutement de cofacteurs de la machinerie cellulaire de la transcription tel que le complexe ARN polymérase II (Lipinski *et al* 2019).

Family	Subtype	Other names frequently used
Cytoplasmic	KAT1	HAT1
	HAT4	NAA60
GNAT	KAT2A	Gcn5
	KAT2B	PCAF
MYST	KAT5	TIP60
	KAT6A	MOZ, MYST3
	KAT6B	MORF, MYST4
	KAT7	HBO1, MYST2
	KAT8	MOE, MYST1
p300/CBP	KAT3B	p300
	KAT3A	CBP
Transcription co-activators	KAT4	TAF1, TBP
	KAT12	TIF1IC90
Steroid receptor co-activators	KAT13A	SRC1
	KAT13B	SCR3, AIB1, ACTR
	KAT13C	p600
	KAT13D	CLOCK

Fig. 17 Classification des enzymes Lysines Acétyl transférases (KATs)

Les KATs peuvent se classifier en 2 familles, selon qu’elles soient nucléaires ou cytoplasmiques. 5 classes existent selon les homologies et différences de séquences et de fonctions (Wappenaar et Dekker 2016).

La désacétylation des histones qui induit une compaction de la chromatine est réalisées par les enzymes histones désacétylases (HDACs), qui sont au nombre de 18 chez l'humain et s'organisent en 2 familles et 5 classes. Par comparaison aux autres HDACs, celles de la classe III, nommées sirtuines, ont la particularité de requérir le NAD comme cofacteur pour leur activation catalytique (Park et Kim 2020).

Globalement, l'acétylation des histones est un des mécanismes de modifications post-traductionnelles les plus rapides et dynamiques (Kori *et al* 2017). Cela peut expliquer qu'elle joue un rôle dans de nombreux mécanismes biologique tels que la réplication, la transcription ou encore la réparation de l'ADN (Choudhary *et al* 2009), et se retrouve impliquée dans de nombreuses fonctions d'adaptation des neurones à leur environnement (Gräff et Tsai 2013, Sun *et al* 2013, Renthal et Nestler 2009, Park *et al* 2022, Coda et Gräff 2020).

1.3.3. Méthylation des histones

La méthylation des histones consiste en un transfert d'un ou plusieurs groupements méthyls issus de SAM, vers la lysine ou l'arginine des histones H3 ou H4 par les lysine- ou arginine- méthyltransférases (KMTs ou RMTs respectivement), tandis que les histones déméthylases (HDMs) suppriment les marques de méthylation. Selon les acides aminés et histones sur lesquels la méthylation est présente, celle-ci peut être associée à de l'activation ou de la répression transcriptionnelle. Par exemple, la présence de H3K4 tri-méthylé (H3K4me3) dans le promoteur de gènes, recrute des facteurs de transcription et empêche la fixation de complexes protéiques répresseurs des désacétylases et de remodelage des nucléosomes (*e.g* NuRD), ce qui attribue à la marque H3K4me3 des propriétés activatrices de la transcription (Gong *et al* 2017, Yang *et al* 2022). A l'inverse, la méthylation de H3K9 ou H3K27 induit le recrutement de protéines chromodomaines, telles que HP1 ou CBX, qui modulent et renforce l'architecture chromatinienne sous forme d'hétérochromatine, induisant une répression transcriptionnelle (Watanabe *et al* 2018, Guo *et al* 2021, Yang *et al* 2022). Particulièrement, la fixation de HP1 sur la marque H3K9me3 induit la formation d'hétérochromatine constitutive, une conformation de chromatine compacte, retrouvée de façon comparable dans les différents types cellulaires de l'organisme, tandis que H3K27me3 participe à l'établissement d'hétérochromatine facultative dont la modulation est plus dynamique (Saksouk *et al* 2015).

Parmi la dizaine d'HDMs existantes, les enzymes UTX et JMJD3 (KDM6A et KDM6B) déméthyilent plus spécifiquement H3K27me3 et contribuent ainsi à l'euchromatinisation et l'activation transcriptionnelle (Black *et al* 2012).

La trentaine d'histone méthyltransférases connues sont classées en trois catégories, selon qu'elles méthyilent une lysine ou une arginine (classe I et II vs classe III), et d'après les domaines protéiques qu'elles possèdent (Black *et al* 2012). Parmi les KMT les plus étudiées, le complexe répresseur polycomb 2 (PRC2), constitué de sous-unités enzymatiques (telles que EED, EZH2, SUZ12) est responsable de la méthylation de H3K27. PRC2 joue un rôle répresseur de la chromatine en agissant en synergie avec le complexe PRC1 responsable de l'ubiquitylation de H2AK119 (H2AK119ub). Selon le cofacteur protéique associé aux sous-unités RNF-PCGF de PRC1, celui-ci peut être divisé en une voie non-canonical -impliquant RYBP- qui permet le recrutement de PRC2, et une voie canonical -impliquant CBX- qui permet l'hétérochromatinisation de régions riches en H3K27me3. Particulièrement, l'activité de la voie non canonical de PRC1 induit le dépôt de la marque H2AK119ub sur la chromatine, qui est ensuite détectée par les sous-unités de PRC2 et permet une synthèse locale de H3K27me3. Puis, les sous-unités CBX de PRC1, ayant la propriété de lier la marque H3K27me3, permettent dans un second temps de recruter la voie canonical de PRC1 et de condenser davantage la chromatine par ajout de marque H2AK119ub et par leurs propriétés intrinsèques de séparation de phase ([Fig.18](#)) (Gao *et al* 2012, Laugesen *et al* 2019, Kim et Kingston 2022, Plys *et al* 2019, Brown *et al* 2023). Ces mécanismes des groupements protéiques polycomb (PcG) permettent ainsi la propagation de la répression chromatiniennes sur une large région.

Également, les travaux de Kraft et coll. réalisés sur des cellules souches embryonnaires de souris et des iPSC humaines démontrent que PRC2 possède un rôle propre sur l'architecture chromatinienne. Les auteurs ont observé que l'altération de la fixation de PRC2 à la chromatine, induite par la perte de fonction de la sous-unité EZH2 à fixer les ARN, est responsable d'une modification de l'architecture des boucles chromatiniennes et une atténuation de la diffusion de H3K27me3 sur de larges régions (Kraft *et al* 2022). De plus, PRC1, via ses sous-unités CBX possède des propriétés de séparation de phase, qui participent à la modulation de l'architecture chromatinienne lors du recrutement des PcG (Plys *et al* 2019, Guo *et al* 2021, Brown *et al* 2023). Enfin, ces mécanismes de répression de la chromatine sont impliqués dans la réponse cellulaire suite à une lésion de l'ADN (Barbour *et al* 2020).

Notamment, les travaux de Ismail et coll. ont permis de déterminer que dans les cellules embryonnaires humaines, lors d'un dommage à l'ADN, H2AK119ub est localement augmenté suite au recrutement de PRC1 dépendant de sa sous-unité CBX4, un mécanisme nécessaire au déclenchement des processus de réparation de l'ADN (Ismail *et al* 2010, Ismail *et al* 2012).

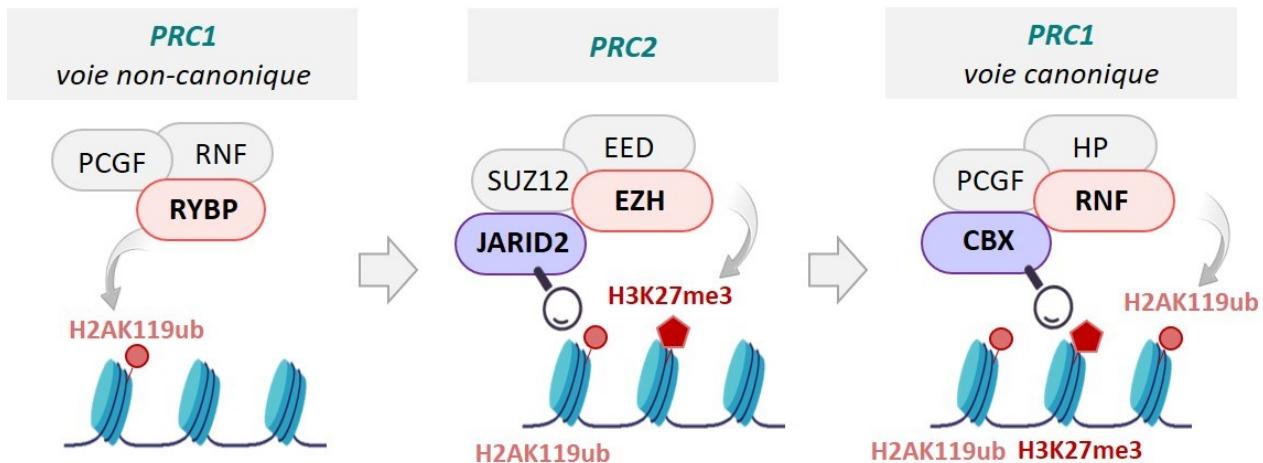


Fig. 18 Répression de la chromatine par les protéines du complexe polycomb (PRC1/PRC2)

Les enzymes du complexe polycomb sont responsables de la répression épigénétique de la chromatine par des mécanismes successifs. PRC1, dépose la marque H2AK119ub, qui sera détectée par la sous-unité JARID2 de PRC2, puis la protéine EZH du complexe PRC2 induit la méthylation de H3K27. Dans un dernier temps, H3K27me3 peut être reconnu par CBX, induisant le dépôt d'une marque supplémentaire H2AK119ub à proximité qui contribue à l'expansion de la répression chromatinienne.

1.3.4. Dynamique des modifications post-traductionnelles d'histones

Que ce soit par leur dynamique de recrutement ou les fonctions et processus dans lesquels elles sont impliquées, chaque marque d'histone présente des spécificités. Notamment, les acétylations d'histone, bien que toutes associées à de l'activation transcriptionnelle ne sont pas équivalentes. Par exemple, la marque H3K27ac est particulièrement enrichie au niveau des *enhancers* actifs des gènes, y compris les « *super-enhancers* » qui correspondent aux vastes régions contrôlant l'expression des gènes d'identité cellulaire (Hnisz *et al* 2013, Whyte *et al* 2013, Heinz *et al* 2015) ([Introduction-II.2.1](#)). En revanche, H3K9ac est fortement enrichie au niveau des promoteurs actifs des gènes, et H4K16ac, impliquée dans les processus de sénescence, marque les régions télomériques d'une façon dépendante de l'âge (Dang *et al* 2009) ([IntroductionII.2.2](#)).

Les marques de méthylation présentent également des profils spécifiques des différents stades de la différenciation et du cycle cellulaire. Dans les cellules souches embryonnaires (CSE), de nombreux promoteurs présentent une signature épigénétique

spécifique caractérisée par la présence commune de la marque d'histone activatrice H3K4me3 et la marque répressive de la transcription H3K27me3. Les gènes présentant cette signature épigénétique particulière sont définis comme bivalents. Cette bivalence induit un faible niveau d'expression des gènes mais ils peuvent être rapidement dé-réprimés ou inhibés, par la perte de H3K27me3 ou de H3K4me3 respectivement. Ce mécanisme dynamique permet en particulier une régulation fine de l'expression des gènes développmentaux au cours des étapes de la différenciation cellulaire (Bernstein *et al* 2006, Voigt *et al* 2013)(Fig.19)(Introduction-II.2.1). Également, l'expression dynamique de KMTs et KDMs au cours du cycle cellulaire est responsable de l'établissement de profils de méthylation des histones propres à chaque phase du cycle, permettant un contrôle précis de l'expression des gènes (*e.g* présence de H3K27me3 limitée à la phase S)(Fig.20)(Black *et al.* 2012).

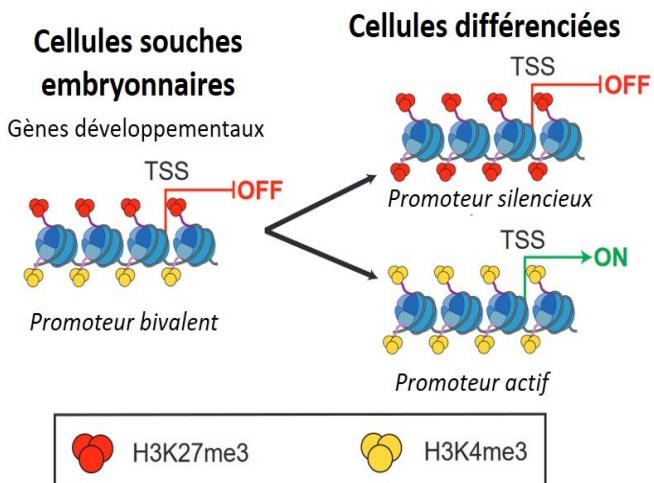


Fig. 19 Gènes bivalents

Les gènes bivalents présentent les marques épigénétiques H3K27me3 et H3K4me3 respectivement répressives et activatrices de la transcription dans les cellules souches embryonnaires. Cette bivalence rend la chromatine rapidement dé-réprimable lors de la perte de H3K27me3, ce qui permet un contrôle dynamique de l'expression des gènes impliqués dans la différenciation cellulaire (Blanco *et al* 2020).

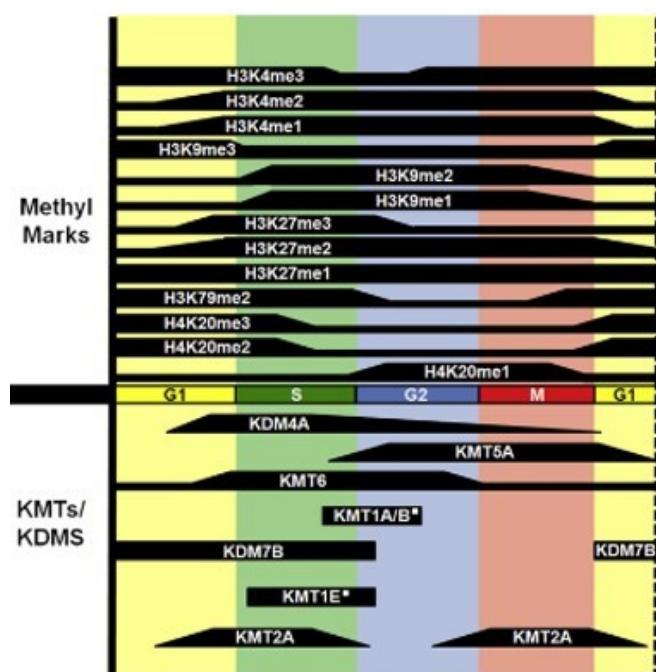


Fig. 20 Dynamique de méthylation des histones au cours du cycle cellulaire

L'expression des enzymes lysines méthyltransférases (KMT) et déméthylases (KDM) varie au cours du cycle cellulaire. Cela résulte en une fluctuation de présence des modifications post-traductionnelles d'histones selon les phases du cycle cellulaire. Par exemple, H3K4me3 est relativement présente tout au long du cycle tandis que la présence de H3K27me3 est limitée à la phase S (Black *et al* 2012).

Enfin, les modifications post-traductionnelles d'histones sont dépendantes de la présence de substrats dans les noyaux cellulaires. Par exemple, la synthèse et la présence d'ACoA est nécessaire au fonctionnement des HATs. Notamment, les travaux ayant inhibé les enzymes Acetyl-CoA synthétase (Acss2) et ATP-citrate lyase (Acly), de synthèse d'ACoA nucléaire chez des modèles cellulaires et murins, ont observé une baisse d'acétylation des histones (Wellen *et al* 2009, Mews *et al* 2017). Particulièrement, Mews et coll. ont pu déterminer que l'acétylation de H3K27ac et H3K9ac dans les neurones hippocampiques est dépendante de Acss2, et est essentielle aux processus d'apprentissage et de mémoire (Mews *et al* 2017, Alexander *et al* 2022). Ainsi, la présence de modifications d'histones et la régulation de l'expression des gènes et de leurs fonctions varient dépendamment du métabolisme cellulaire et de la production de métabolites (Jo *et al* 2020, Etchegaray et Mostoslavsky 2016).

1.4. ARN non codants

Les petits ARN non codants ou micro ARN (miARN) sont impliqués dans la régulation de l'expression des gènes. Par un processus d'interférence en se fixant à d'autres séquences nucléotidiques, les miARN peuvent se fixer à des ARN messagers, interagir avec les protéines argonautes et recruter des complexes de dégradation pouvant *in fine* dégrader les ARNm et affecter le mécanisme de traduction (Meister *et al* 2004). De plus, les miARN peuvent cibler la chromatine et impacter son architecture notamment en induisant la méthylation des histones (Volpe *et al* 2002). Enfin, des études ont démontré que la présence de petits ARN interférants (siARN) peut déclencher le recrutement de facteurs protéiques impliqués dans l'inhibition du complexe ARN polymérase II (Guang *et al* 2010). Ces travaux indiquent que les petits ARN, en interagissant avec les ARN et ADN, agissent au travers de mécanismes multiples (Holoch et Moazed 2015)(Fig.21).

Les longs ARN non codants (lncARN) ont la capacité d'interagir avec les complexes polycomb PRC2/PRC1, modulant ainsi le niveau de méthylation des histones, la conformation de la chromatine et l'expression des gènes (Yap *et al* 2010, Beltran *et al* 2016). Ils régulent également l'ultrastructure et la compartmentalisation de la chromatine, en interagissant avec la protéine CTCF ou en modifiant son niveau d'expression (Kuang et Wang 2020, Isoda *et al* 2017). De plus, les lncARN peuvent agir au niveau transcriptionnel par le recrutement de l'ARN polymérase II (Li *et al* 2015), ou via leur implication dans les processus d'épissage des ARN en entrant en compétition avec les ARN pré-messagers (Liang *et al* 2017). Plus globalement, les

IncARN jouent un rôle à l'échelle supra génomique, en modulant l'organisation de la chromatine, les facteurs transcriptionnels ou encore l'export nucléaire (Herman *et al* 2022) (Fig.21).

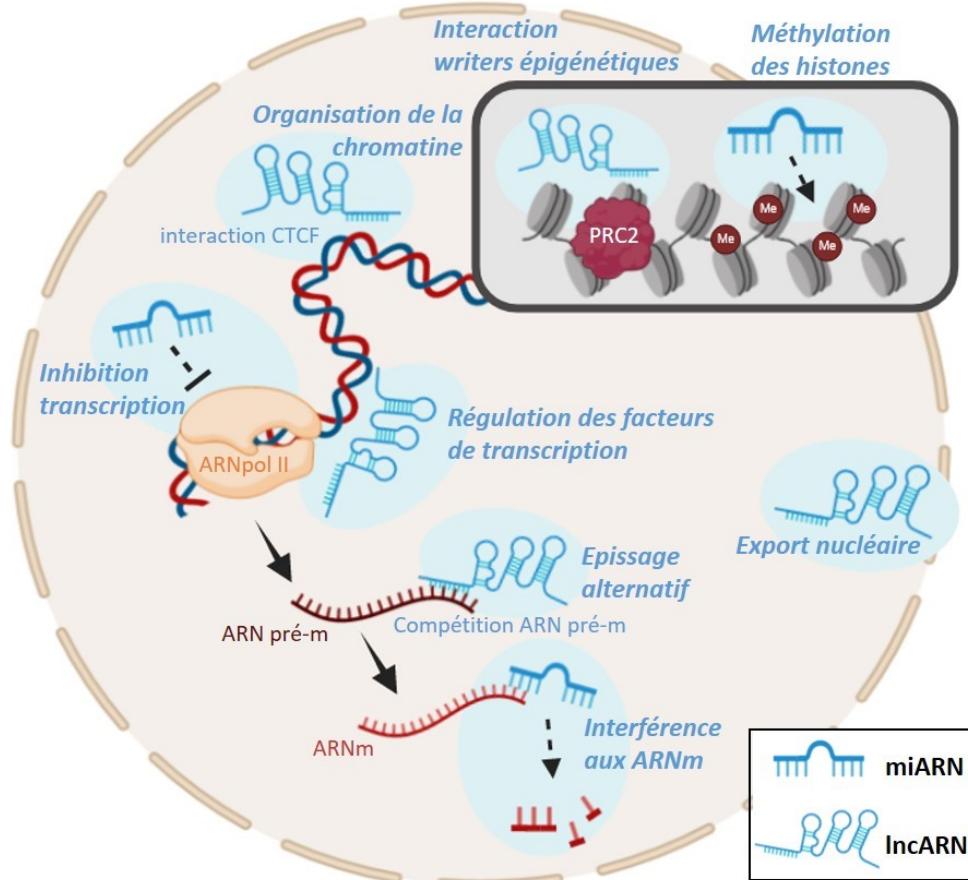


Fig. 21 Fonctions nucléaires des ARN non codants

Les ARN non codants, miARN et IncARN, sont des éléments de régulation épigénétique possédant de nombreuses fonctions nucléaires. Leur présence permet un contrôle de la transcription à différents niveaux, du dépôt des modifications d'histones jusqu'à la dégradation des ARNm.

2. Rôle des régulations épigénétiques

Les mécanismes de régulation épigénétique sont variés (modifications de l'ADN, des histones ou ARN non codants) et peuvent agir à différents niveaux, de la compaction et compartmentalisation de la chromatine à la dégradation des ARNm en passant par le recrutement de la machinerie transcriptionnelle. L'ensemble de ces mécanismes ont pour caractéristiques d'être dynamiques et sensibles à l'environnement des cellules et de l'organisme, et jouent un rôle dans de nombreuses fonctions physiologiques.

2.1. Différenciation cellulaire et développement

Confirmant l'intuition de Conrad Waddington en 1957, l'établissement de profils épigénétiques est essentiel à l'acquisition d'une identité cellulaire. Un précurseur cellulaire évolue vers une cellule différenciée par l'activation de gènes propres à sa fonction et la répression des gènes d'identité d'autres types cellulaires, sous l'influence des régulations épigénétiques. Ainsi, chaque cellule différenciée d'un organisme possède un profil épigénétique qui lui est propre et qui détermine son identité cellulaire, lui permettant d'assurer des fonctions cellulaires spécifiques *via* un contrôle précis du programme d'expression des gènes (Waddington 1957, Bhattacharya *et al* 2011). Au cours de la différenciation cellulaire, les cellules pluripotentes perdent l'expression de gènes développementaux et acquièrent un nouveau programme d'expression génique leur conférant *in fine* une signature transcriptomique et un phénotype caractéristique d'un type cellulaire donné. Par exemple, les cellules souches neurales qui au cours du processus de différenciation cellulaire activent des gènes spécifiquement exprimés dans les neurones -tels que des récepteurs aux neurotransmetteurs ou d'autres protéines exclusivement neuronales (*e.g* Drd1, Drd2, NeuN)- acquièrent une identité neuronale, tandis que si ces mêmes progéniteurs expriment par exemple des marqueurs astrocytaires ou oligodendrocytaires (*e.g* Gfap, Olig2, MBP) ils généreront des cellules gliales (Fig.22) (Sullivan 2023).

Cette évolution du phénotype de cellules souches aux cellules différenciées est possible par une reprogrammation épigénétique au cours de la différenciation cellulaire (Fig.22)(Sullivan 2023). Les cellules progénitrices ont pour caractéristique de présenter une forte acétylation et euchromatinisation des gènes développementaux associés à leur pluripotence, tandis que les gènes d'identité des différents types cellulaires sont hétérochromatinisés et méthylés (Fig.22)(Zhang.Y *et al* 2018, Sullivan 2023). Puis, à l'état différencié, les gènes développementaux deviennent réprimés par une condensation de la chromatine (Xie *et al* 2013), tandis que les gènes d'identité cellulaire sont dé-réprimés *via* un mécanisme impliquant une déplétion de la marque répressive H3K27me3 et un enrichissement en H3K27ac (Xie *et al* 2013, Hnisz *et al* 2013, Heinz *et al* 2015)(Fig.22).

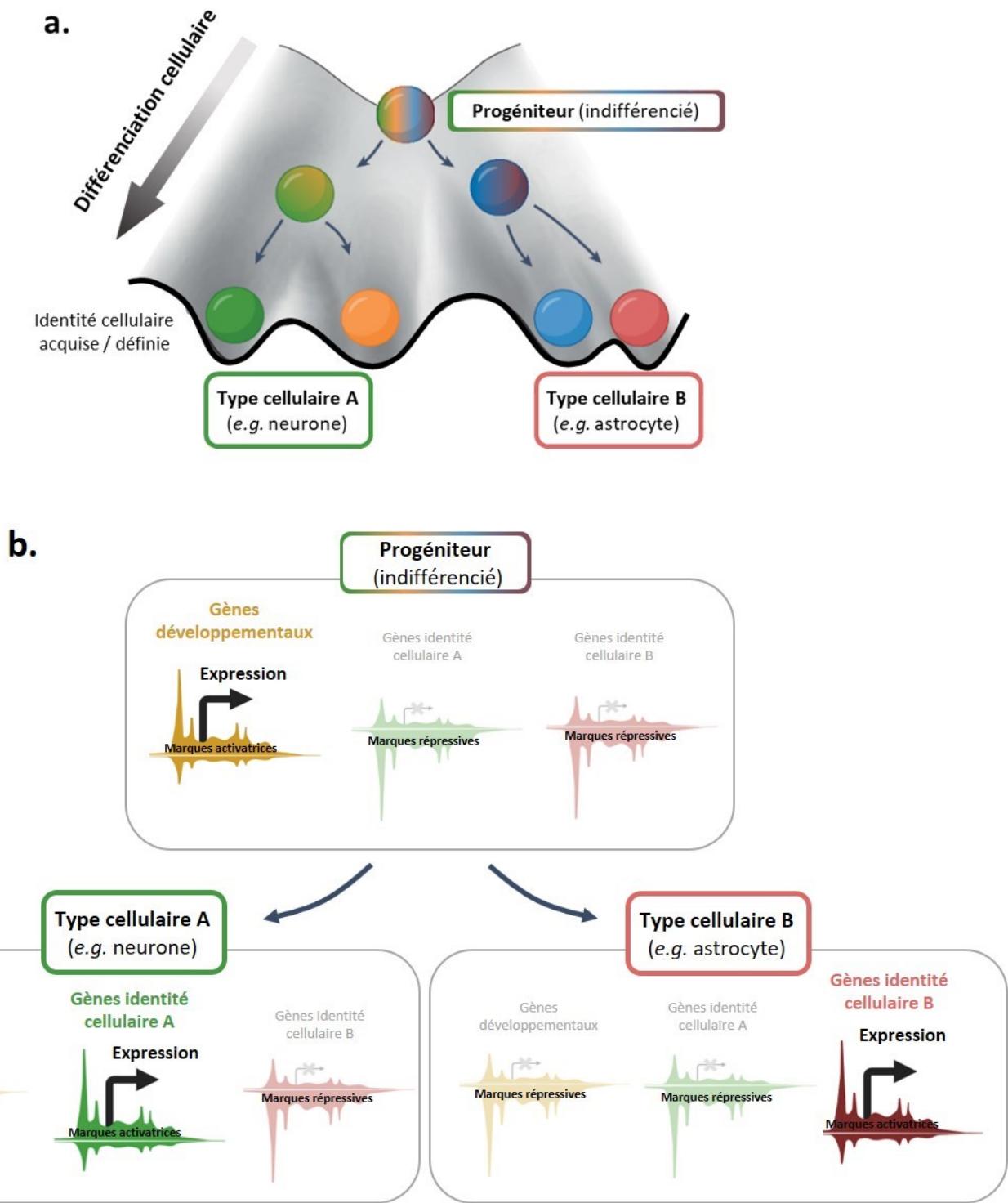


Fig. 22 Différenciation cellulaire et reprogrammation épigénétique

- Au cours de la différenciation cellulaire, les cellules progénitrices acquièrent, sous l'influence des profils épigénétiques, une identité cellulaire via l'expression de gènes spécifiques attribuant les fonctions propres à chacun des types cellulaires (d'après Lu *et al* 2023).
- L'acquisition de l'identité cellulaire au cours de la différenciation repose sur une reprogrammation épigénétique. Les gènes développementaux sont réprimés tandis que les gènes d'identité cellulaire présentent une hétérochromatine responsable de leur transcription (inspiré d'après Sullivan 2023).

Ainsi, à l'image des travaux de Dixon et coll. démontrant que la compartmentalisation et la configuration tri-dimensionnelle de la chromatine sont différentes selon les lignées cellulaires issues de cellules souches embryonnaires (Dixon *et al* 2015), de nombreux mécanismes épigénétiques sont impliqués dans le contrôle temporel de la différenciation cellulaire (Atlasi et Stunnenberg 2017). Dans le développement cérébral, tout comme pour les autres tissus, les mécanismes d'acétylation des histones sont nécessaires *via* leur rôle dans le contrôle de la prolifération des progéniteurs neuronaux, de l'expression des gènes d'identité ou encore les processus de migration et de synaptogenèse (Tapias et Wang 2017). Egalement, des travaux basés sur l'inhibition expérimentale des composants de PRC1 et PRC2, ont permis de conclure que l'altération de ces complexes empêche la répression des gènes de pluripotence dans les cellules différencierées, ce qui démontre le rôle essentiel des PcG et de la méthylation des histones dans le contrôle de la différenciation cellulaire (Leeb et Wurtz 2007, Pasini *et al* 2007, Endoh *et al* 2008, Leeb *et al* 2010, Loubiere *et al* 2019). De plus, la méthylation dynamique de l'ADN est impliquée dans le contrôle temporel de la différenciation cellulaire (Xie *et al* 2013). Fan et coll. ont notamment démontré que l'enzyme DNMT1 est essentielle pour l'inhibition des gènes gliaux au profit des gènes neuronaux lors de la différenciation des cellules progénitrices neurales (Fan *et al* 2005, Moore *et al* 2013).

Une altération de ces mécanismes épigénétiques peut être retrouvée dans de nombreuses pathologies développementales (Park *et al* 2022). Par exemple, la mutation du gène de la KAT6A, induisant un défaut d'acétylation de H3K9 et H3K18, est responsable chez les patient·es de microcéphalias et de retards développementaux (Arboleda *et al* 2015), tout comme le diagnostic du syndrome de retard mental et de brachydactylie corrèle avec une altération de l'enzyme HDAC4 (Williams *et al* 2010). Egalement, dans le syndrome de Rubinstein-Taybi -une maladie développementale associée à une déficience intellectuelle- une mutation de CBP ou p300 est responsable d'un défaut du programme transcriptionnel permettant la différenciation neuronale (Calzari *et al* 2020). De nombreuses pathologies neurodéveloppementales reposent également sur des mutations dans les gènes codants pour les KMTs et KDMs, à l'image de la mutation de KDM6B qui induit un délai neurodéveloppemental corrélant notamment avec un retard des capacités motrices et de parole (Stolerman *et al* 2019, Rots *et al* 2023). Enfin, les protéines se liant à l'ADN méthylé sont également impliquées dans la mise en place de pathologies développementales : MeCP2

est muté dans plus de 95% des diagnostics de syndrome de Rett, une maladie associée à des altérations du neurodéveloppement et de nombreux symptômes comportementaux (Einspieler et Marschik 2019, Good *et al* 2021).

2.2. Horloge épigénétique et vieillissement

Les marques épigénétiques évoluent dans les organismes et cellules différenciées au cours du vieillissement (Kane et Sinclair 2019). Notamment, la sénescence est associée à une perte d'histones (Sen *et al* 2016) et implique certaines modifications post-traductionnelles d'histones. En 2009 Dang et coll. mettent en évidence une perte des sirtuines (HDACs), et une augmentation de H4K16ac qui corrèle avec l'âge ; tandis que l'inhibition de l'enzyme HAT Sas2, responsable de H4K16ac chez des levures, permet de ralentir la sénescence et le raccourcissement des télomères (Dang *et al* 2009, Kozak *et al* 2010). Egalement, des travaux ont mis en évidence que la conformation tri-dimensionnelle de la chromatine, *via* les lamines et les LADs, est perturbée avec l'âge, induisant une altération des fonctions cellulaires (Scaffidi et Misteli 2006, Freund *et al* 2012, Cenni *et al* 2020).

En 2013, S. Horvath analyse le niveau de méthylation de l'ADN de différents tissus au cours de la vie, d'échantillons pré-nataux à des tissus centenaires, et développe la première horloge épigénétique. Il s'agit d'une méthode permettant d'estimer l'âge de tissus d'après le profil de méthylation de l'ADN sur plus de 350 sites CpG : plus ces gènes sont méthylés, plus les tissus sont âgés (Horvath 2013). Différents modèles d'horloge épigénétique basés sur la méthylation de l'ADN ont été développés et ont permis d'établir que les niveaux de méthylation de ces sites CpG sont en partie héréditaires, permettent de prédire le risque de mortalité des sujets, et sont communs à de nombreux mammifères (Marioni *et al* 2015, Petkovich *et al* 2017, Horvath et Raj 2018, AT.Lu *et al* 2023). En 2020, Lu et coll. administrent un cocktail de facteurs de transcription embryonnaires -les facteurs de Yamanaka : Oct4, Sox2, Klf4- à des neurones âgés et observent une amélioration des fonctions neuronales, associées à un « rajeunissement » des profils épigénétiques, de façon dépendante des ADN déméthylases TETs. Cette étude suggère donc un lien direct entre la méthylation de l'ADN, le vieillissement et la perte de fonction des tissus (Lu.Y *et al.* 2020). L'étude des profils de méthylation CpG a permis d'identifier que les sites les plus sensibles au vieillissement, dont l'expression des gènes augmente avec l'âge, sont des régions reconnues par PRC2, à proximité de gènes impliqués dans les processus développementaux (AT.Lu *et al* 2023).

Le vieillissement est caractérisé par l'accumulation de dommages à l'ADN (Madabhushi et al 2014, Schumacher et al 2021), notamment l'induction de cassures double-brins suffit à induire un phénotype de sénescence dans le foie murin (White et al 2015). Les travaux réalisés au début des années 2000, sur des levures et cellules eucaryotes, ont permis d'identifier que les enzymes histones désacétylases Sir et SIRT qui répriment la transcription et stabilisent les séquences d'ADN, sont relocalisées sur le génome de manière à corriger les cassures d'ADN associées au vieillissement (Kennedy et al 1995, Imai et al 2000, Oberdoerffer et al 2008). En 2023 JH.Yang et coll. ont utilisé un modèle murin basé sur l'induction de cassures d'ADN pour déterminer les processus épigénétiques associés au vieillissement. A l'aide de ce modèle, ils démontrent notamment que les marques H3K27ac et H3K56ac associées à de l'activation transcriptionnelle sont enrichies, tandis que la marque répressive H3K27me3 est déplétée, au niveau des gènes développementaux dans les fibroblastes des animaux. Ainsi, les gènes développementaux sont dé-réprimés dans les cellules différenciées au cours du vieillissement. Tandis que les gènes liés à la réponse au stress, impliqués dans le maintien de l'homéostasie cellulaire, sont déplétés en acétylation et réprimés avec l'âge. De plus, les auteur·ices ont observé que cette signature biologique associée au vieillissement pouvait être corrigée par l'administration aux animaux de facteurs de Yamanaka (JH.Yang et al 2023). Le vieillissement cellulaire, induit par des lésions de l'ADN, est donc responsable d'une reprogrammation épigénétique -impliquant notamment H3K27ac et H3K27me3- et conduisant à une perte progressive de l'identité et à un dysfonctionnement des cellules, que les auteur·ices nomment exdifférenciation cellulaire (Fig.23).

A l'image de cette étude, avec le vieillissement les profils épigénétiques de H3K27me3 sont largement modulés dans les cellules hépatiques murines et humaines. N.Yang et coll. ont notamment observé une augmentation globale de H3K27me3 sur de larges régions (*broad domains*) avec l'âge. Cependant, localement des gènes associés au développement neuronal (e.g. *Hox*, *Neurog1*, *Sox2*) sont déplétées en H3K27me3 et présentent une euchromatine, renforçant les observations JH.Yang et coll. (N.Yang et al 2023b).

Ainsi, face à ces constats, Lu, Tian et Sinclair proposent la théorie de l'information du vieillissement (pour *Information Theory of Aging*) selon laquelle les altérations cellulaires induites avec l'âge provoquent une érosion de l'information épigénétique et transcriptionnelle. Au cours du vieillissement, en réponse notamment aux dommages de

l'ADN, les modulateurs épigénétiques sont transloqués le long de la chromatine ce qui a pour conséquence de modifier les signatures épigénétiques et transcriptionnelles, à l'image de la relocalisation des HDAC SIRT (Oberdoerffer *et al* 2008) et de l'euchromatinisation de gènes développementaux (YR.Lu *et al* 2023, JH.Yang *et al* 2023, N.Yang *et al* 2023b). Avec le temps, les régulateurs épigénétiques perdent progressivement leur capacité à retourner à leur localisation initiale, ce qui provoque une altération durable des profils épigénétiques et induit une exdifférenciation cellulaire (YR.Lu *et al* 2023) (Fig.23).

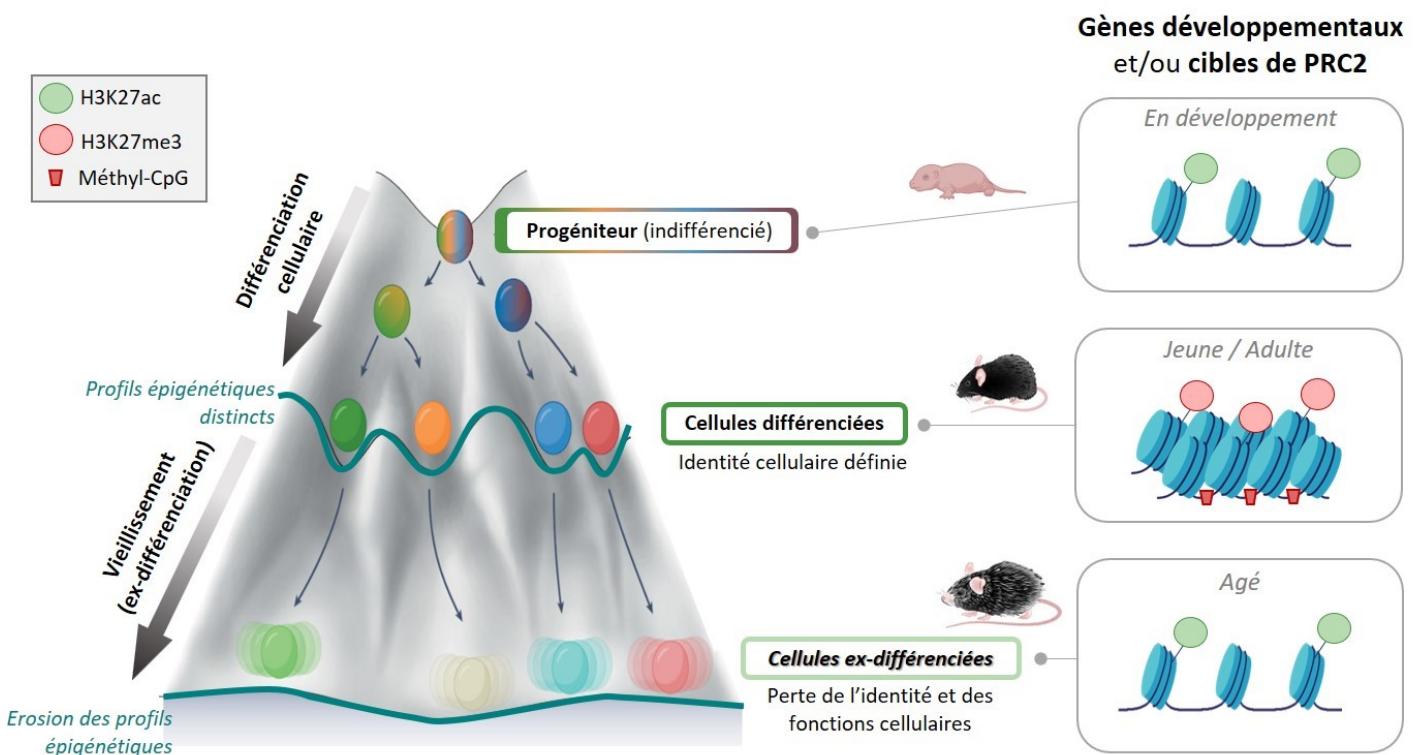


Fig. 23 Vieillissement et ex-différenciation cellulaire

Au cours de la différenciation cellulaire, les gènes d'identité s'expriment et les gènes développementaux et cibles de PRC2 deviennent réprimés par une signature épigénétique distincte qui dicte une identité cellulaire définie et précise. Avec le vieillissement, les signatures épigénétiques tendent à être modifiées, rendant la chromatine des gènes développementaux plus accessibles. Cette érosion des profils épigénétiques induit ainsi une perte de l'identité cellulaire à l'origine d'un état exdifférencié des cellules (d'après Lu *et al* 2023).

2.3. Plasticité et apprentissage

Du fait de leur propriété dynamique et sensible à l'environnement, les régulations épigénétiques sont essentielles au fonctionnement du système nerveux central et aux mécanismes cellulaires impliqués dans l'adaptation comportementale tels que la plasticité cérébrale et l'apprentissage (Campbell et Wood 2019, Coda et Gräff 2020, Azrate-mejia et Mansuy 2023).

En 2001, Swank et Sweat ont observé que l'apprentissage d'un nouveau goût induit l'activation bi-phasiqe de KATs suite à l'activation des kinases ERK/MAPK dans le cortex insulaire, suggérant que l'activité neuronale dans cette tâche induit une reprogrammation épigénétique partielle et un changement des signatures transcriptionnelles (Swank et Sweat 2001). D'autres travaux ont permis de déterminer que les enzymes responsables des modifications post-traductionnelles d'histones (*e.g.* CBP, HDAC4, HDAC2) ainsi que les marques épigénétiques associées, présentent une modulation dans le cortex et l'hippocampe à la suite de l'activation neuronale, qui est nécessaire aux capacités d'apprentissage et de mémorisation (Levenson *et al* 2004, Sando *et al* 2012, Guan *et al* 2009, Miller *et al* 2008, Alarcón *et al* 2004, Zovkic *et al* 2014). Egalement, à l'image des travaux de Lubin et coll. déterminant que l'apprentissage dans une tâche de conditionnement de peur induit une déméthylation de l'ADN sur le gène codant pour le BDNF, de façon dépendante de l'activation du récepteur NMDA (Lubin *et al* 2008), de nombreuses études ont pu mettre en évidence que les profils de méthylation de l'ADN sont rapidement modifiés dans le cerveau adulte suite à l'activation neuronale (Miller et Sweatt 2007, Miller *et al* 2010, Halder *et al* 2016).

La capacité d'apprentissage et de mémoire repose sur l'existence d'engrammes, les substrats cellulaires de la mémoire caractérisés comme un ensemble de neurones interconnectés qui sont activés de façon commune lors d'un apprentissage, dont l'activation simultanée renforce la connexion synaptique et permet l'établissement d'une mémoire à long-terme (Josselyn *et al* 2017, Liu *et al* 2012, Roy *et al* 2016). Durant les 10 dernières années, un développement technologique important a permis d'étudier spécifiquement les neurones de l'engramme. Ainsi, l'utilisation de constructions génétiques permettant de marquer puis d'isoler des cellules exprimant des gènes précoce immédiats (*e.g.* Fos, Arc), couplée à l'essor des approches épigénétiques et de séquençage du génome entier, ont permis de décrypter davantage les processus épigénétiques impliqués dans les mécanismes de mémoire (DeNardo et Luo 2017, Yap et Greenberg 2018, Fuentes-Ramos *et al* 2021).

Les données de la littérature démontrent que suite à leur activation, les neurones de l'engramme subissent un amorçage épigénétique (*epigenetic priming*) (Gräff et Tsai 2013, Burns et Gräff 2021, Azrate-mejia et Mansuy 2023). En réponse à un stimulus et à l'activation neuronale, certaines régions génomiques deviennent plus accessibles et le restent après l'arrêt du stimulus (Marco *et al* 2020, Fernandez-Albert *et al* 2019, Su *et al* 2017). Ce

mécanisme d'euchromatinisation permet qu'une activation neuronale subséquente induise une réponse transcriptionnelle accélérée et plus importante, ce qui facilite ainsi la signalisation cellulaire et la réactivation des neurones, qui fonctionnellement peut se traduire par un renforcement synaptique entre les neurones de l'engramme et des capacités mnésiques (Azrate-mejia et Mansuy 2023, Campbell et Wood 2019). Notamment, Marco et coll. ont pu caractériser que les neurones Arc-positifs impliqués dans une tâche de mémoire présentent une remodulation tri-dimensionnelle de la chromatine responsable d'une euchromatinisation de régions *enhancers*, à l'origine de nouvelles interactions promoteurs-*enhancers* suite à la tâche d'acquisition. Dans un second temps, cet amorçage épigénétique permet, au moment du rappel, l'établissement d'un profil transcriptomique différent dans les neurones de l'engramme, favorisant notamment la traduction protéique dans le compartiment synaptique (Marco *et al* 2020). Quant à eux, Fernandez-Albert et coll. ont identifié l'enrichissement durable du facteur de transcription AP1 sur la chromatine suite à l'activation neuronale, ainsi que la création de nouvelles boucles chromatiniennes (Fernandez-Albert *et al* 2019).

L'expression des gènes de plasticité et de mémoire s'avère, à travers l'amorçage épigénétique, dépendante de l'acétylation des histones. En effet, CBP est essentielle à l'acétylation des histones nécessaire aux processus mnésiques (Lipinski *et al* 2022), tandis que la désacétylation excessive des histones est délétère pour la mémoire et l'apprentissage, et l'inhibition des HDACs permet de restaurer les capacités cognitives (Coda et Gräff 2024). En 2022, Alexander et coll. ont mis en évidence le rôle de l'ACoA dans les mécanismes épigénétiques d'apprentissage. Le *knock-out* de l'enzyme de synthèse d'ACoA -Accs2- par technologie CRISPR, est responsable d'une baisse d'acétylation des histones, et permet de réduire l'anxiété et la mémoire de peur liée au contexte de modèles murins sans altérer le comportement basal des animaux (Alexander *et al* 2022). L'ensemble de ces études tendent ainsi à définir l'acétylation des histones comme un support mnésique dynamique et nécessaire.

D'autres facteurs épigénétiques jouent également un rôle dans les mécanismes de plasticité. Par exemple, l'inhibition expérimentale des enzymes DNMT dans les neurones excitateurs du cerveau antérieur induit une altération de la plasticité synaptique et des performances mnésiques (Feng *et al* 2010), tandis que la protéine MeCP2 liant l'ADN méthylé

est impliquée dans la modulation de la synaptogenèse hippocampique et les tâches cognitives (Li *et al* 2011). Les données de la littérature indiquent donc un rôle de la méthylation de l'ADN dans les mécanismes de plasticité et d'apprentissage.

3. Technologies pour l'étude des signatures épigénétiques

3.1. Généralités

Les régulations épigénétiques étant variées (méthylation de l'ADN, modifications d'histones, conformation de l'ADN, ARN non codants), de nombreuses techniques et protocoles ont été -et continuent d'être- développés pour la caractérisation des signatures épigénétiques en condition physiologique et pathologique. Durant les 15 dernières années, le passage d'un séquençage *microarray* à des technologies de séquençage *next generation* plus sensibles, spécifiques et rapides a rendu possible un séquençage complet du génome. Ces développements constituent une révolution technologique qui a permis des avancées majeures dans le domaine de l'épigénétique. En effet, les techniques actuelles décryptant les signatures épigénétiques reposent sur une étape finale de séquençage, permettant de définir l'état de la régulation épigénétique étudiée sur l'ensemble du génome, et favorisant ainsi l'identification de signatures précises, sans à priori sur les gènes et régions génomiques concernées.

Selon les questions biologiques, les protocoles utilisés sont variés (Li 2021, Fuentes-Ramos *et al* 2021)([Fig.24](#)). Par exemple, l'étude des ARN non codants est rendue possible par un séquençage et des analyses bioinformatiques ciblant spécifiquement les ARN non messagers, tels que les lncARN, miARN, les ARN mitochondriaux ou en encore les ARN ribosomaux (Li 2021).

Egalement, le niveau de compaction de la chromatine et sa configuration tridimensionnelle peuvent être étudiés par différentes approches. Les techniques de DNase-, MNase- ou ATAC-seq qui consistent en l'application de complexes protéiques capables de se fixer et ligaturer spécifiquement les régions ouvertes de la chromatine, suivies d'un séquençage des fragments ainsi générés, permettent la caractérisation de l'euchromatine le long du génome (Klemm *et al* 2019). Enfin, les approches de capture de la conformation de chromatine (*e.g.* 3C, 4C, Hi-C, ...), qui reposent sur une fixation des interactions protéiques et

des boucles chromatiniennes, permettent le séquençage des régions génomiques qui interagissent entre elles, et informent ainsi sur la conformation tri-dimensionnelle et les interactions entre les différentes régions de la chromatine (McCord *et al* 2020).

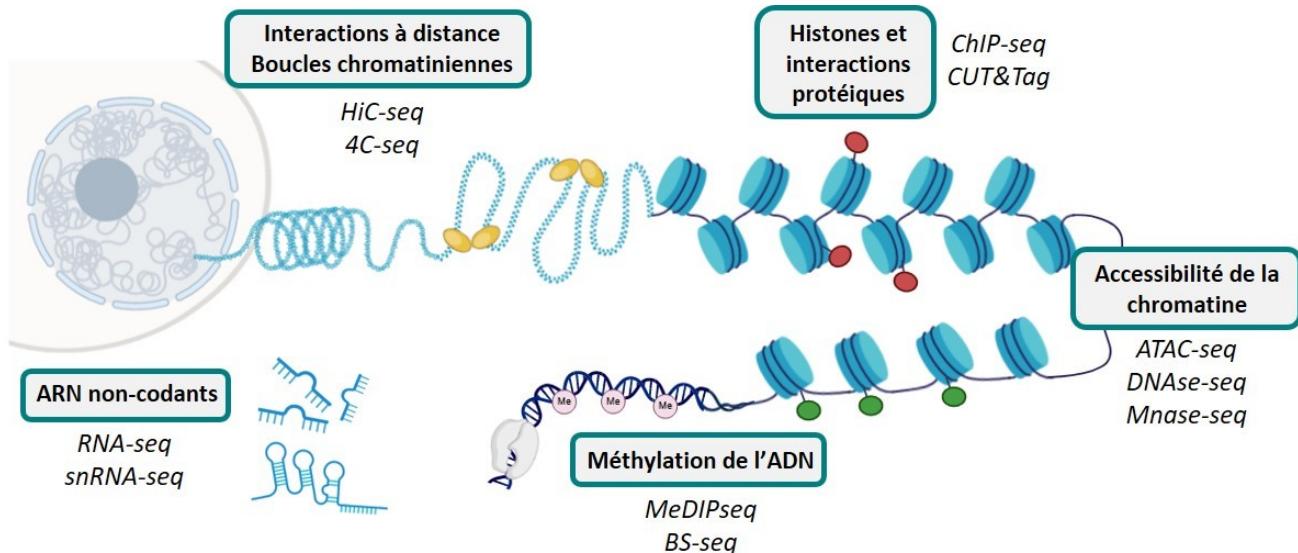


Fig. 24 Protocoles pour l'étude de l'épigénome

Selon les modifications d'histones étudiées, différentes techniques peuvent être utilisées, couplées à des protocoles de séquençage nouvelle génération pour établir leur profil sur l'ensemble du génome, sans à priori (d'après Fuentes-Ramos *et al* 2021). BS: bisulfite

Comme c'est le cas pour les protocoles de MeDIP (pour *Methyl-DNA immunoprecipitation*) et MDP (pour *Methyl-CpG binding domain*), les profils de méthylation de l'ADN peuvent être étudiés par immunoprécipitation puis séquençage des régions présentant des cytosines méthyliées (Singer 2019). Cependant ces approches ne permettent pas d'avoir une résolution de chaque cytosine individuellement, et requièrent des adaptations techniques et bio-informatiques selon la densité de CpG dans les régions étudiées (Laird 2010). Ainsi, d'autres protocoles reposent sur un séquençage à la suite du traitement de l'ADN par le bisulfite de sodium. Ce protocole, historiquement le premier développé pour l'étude de la méthylation, repose sur le fait qu'en présence de bisulfite, les cytosines non méthyliées sont converties en uraciles, ainsi le séquençage permet d'identifier précisément quelles bases nucléotidiques sont méthyliées (Laird 2010).

Enfin, les modifications d'histones et les interactions de protéines (*e.g* facteurs de transcription) avec la chromatine sont étudiées par des protocoles basés sur l'immunoprécipitation des modifications post-traductionnelles d'histones ou des protéines d'intérêt, suivie d'un séquençage de l'ADN présentant ses marqueurs épigénétiques.

Ces techniques permettant la caractérisation des modifications d'histones ayant été utilisées et optimisées au laboratoire au cours des travaux de thèse, celles-ci sont spécifiquement détaillées dans le paragraphe suivant.

3.2. Caractérisation des marques d'histone

L'étude des marques d'histones présentes dans la chromatine peut se faire de différentes manières, allant de la technique de Western Blot à un screening des marques d'histones par analyse protéomique (*e.g.* spectrométrie de masse) (El Kennani *et al* 2018). Cependant, ces approches ne sont pas informatives sur la localisation des marques le long du génome, ainsi d'autres techniques pouvant être couplées à un séquençage complet du génome sont utilisées pour répondre à ces questions.

La technique d'immunoprecipitation de la chromatine (ChIP) permet une caractérisation sur l'ensemble du génome du niveau de présence (qualitatif et quantitatif) d'une marque d'histone ou d'un facteur transcriptionnel d'intérêt (Park 2009). Dans la technique de ChIP, les tissus étudiés sont préalablement incubés avec du formaldéhyde, ce qui permet la fixation et la stabilisation des protéines, dont notamment celles en contact avec les histones. Après des étapes de purification de la chromatine, celle-ci est fractionnée par sonication de manière à isoler des petits fragments de chromatine. Un anticorps ciblant la marque d'histone d'intérêt puis des billes d'immunoprecipitation sont incubées de manière à isoler le complexe ADN-histone présentant la marque d'intérêt-anticorps. L'ADN ainsi isolé est ensuite purifié et peut être étudié par PCR, pour déterminer le niveau de présence de la marque d'histone sur un locus précis, ou par un séquençage complet du génome (Fig.25a).

Récemment, l'équipe de S. Henikoff a mis au point une approche épigénomique alternative au ChIP. Le CUT&Tag, pour « *Clavage Under Targets and Tagmentation* », est une approche dérivée de l'ATACseq, qui repose sur une coupure enzymatique de l'ADN par l'enzyme transposase Tn5. Par comparaison à l'ATACseq où la coupure de l'ADN se fait sur les régions ouvertes de la chromatine, le protocole de CUT&Tag repose sur une coupure de la chromatine spécifiquement à proximité des histones présentant la marque d'intérêt. Dans ce protocole, la chromatine isolée des tissus est directement incubée avec un anticorps primaire puis secondaire ciblant la marque d'histone étudiée. Une protéine de fusion, constituée d'une protéine A et d'une transposase Tn5 est ensuite incubée de manière à ce qu'elle fixe, par sa fonction protéine A, le complexe ADN-histone-anticorps primaire et secondaire. Puis,

l'activation de la fonction transposase de la protéine de fusion permet une ligature précise de l'ADN autour de l'histone sur lequel s'est fixé le complexe d'anticorps. Au moment de la coupure, des séquences nucléotidiques adaptatrices sont intégrées aux extrémités des fragments d'ADN. Ainsi, après purification de l'ADN, seuls les fragments ayant été transposés et présentant les amorces vont être amplifiés par PCR puis séquencés (Fig.25b)(Kaya-Okur *et al* 2019, Kaya-Okur *et al* 2020).

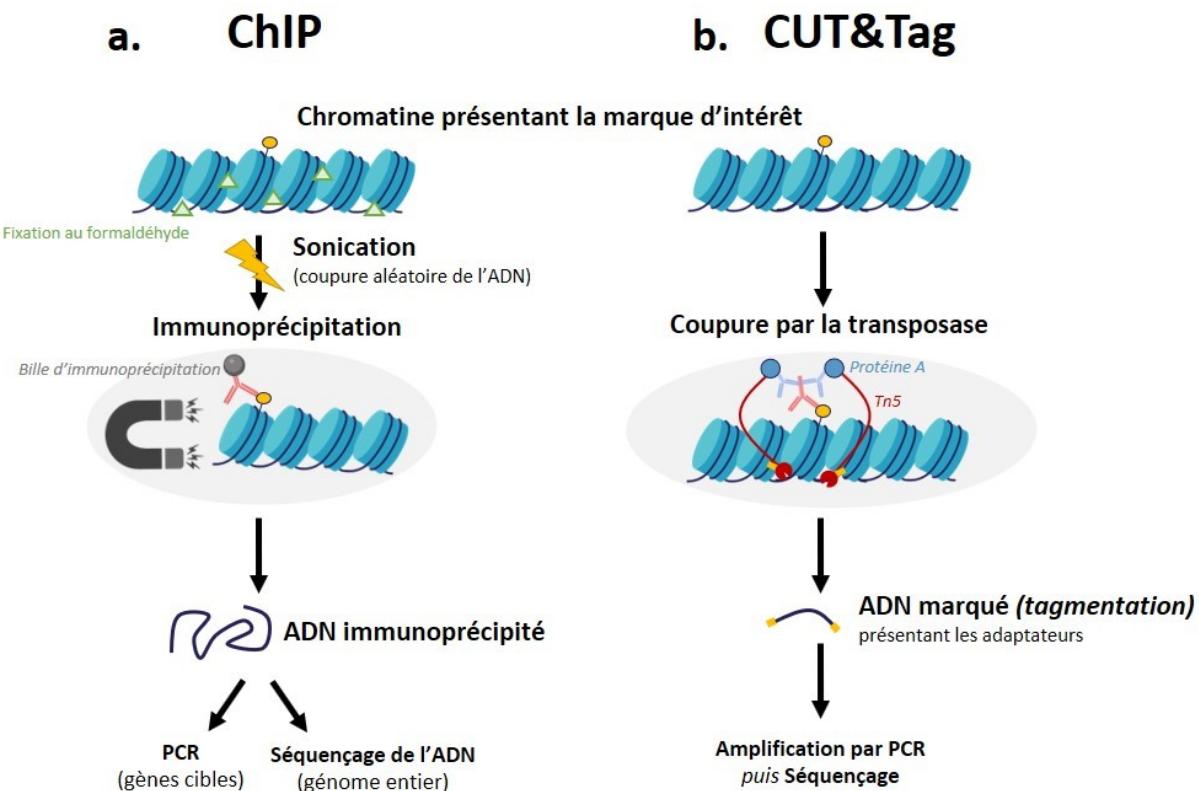


Fig. 25 Protocoles de ChIP et CUT&Tag

a. Le protocole de ChIP repose sur l'immunoprécipitation de la chromatine présentant la marque d'intérêt après sonication et coupure aléatoire de l'ADN

b. Le CUT&Tag consiste en la coupure précise de l'ADN présentant la marque épigénétique d'intérêt par la transposase. La coupure par la Tn5 ajoute des adaptateurs aux extrémités des fragments d'ADN, permettant leur amplification selective par PCR puis séquençage.

Ainsi, le ChIP et le CUT&Tag diffèrent par leur méthode de fragmentation de l'ADN. Le ChIP repose sur une sonication donnant lieu à la formation de fragments de chromatine de taille variable et relativement longue, en comparaison avec les fragments obtenus par CUT&Tag, où la Tn5 coupe précisément autour des nucléosomes présentant la marque épigénétique étudiée. Cette ligation plus précise de l'ADN et l'ajout d'adaptateurs aux extrémités des séquences -permettant de ne séquencer que les fragments présentant les marques d'intérêt- dans l'approche de CUT&Tag, permet d'améliorer le ratio signal/bruit, et

ainsi diminuer la profondeur de séquençage des échantillons pour obtenir une information similaire à celle du ChIP. De fait, l'approche par CUT&Tag est moins coûteuse, plus rapide et nécessite moins de tissus que le ChIP, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives technologiques (*e.g.* CUT&Tag sur cellules triées voire uniques). Cependant, bien que de premières études démontrent la possibilité d'utiliser le CUT&Tag pour déterminer les sites et niveaux de fixation de facteurs de transcription (Kaya-Okur *et al* 2019, Bartosovic *et al* 2021), l'absence de fixation forte des échantillons au formaldéhyde est limitante et empêche, à l'heure actuelle, d'étudier la fixation de protéine n'ayant qu'une faible interaction avec l'ADN. De plus, malgré les avantages d'une coupure précise de l'ADN par la Tn5, cette approche ne permet pas d'étudier les signatures épigénétiques qui se répartissent sur de larges domaines génomiques (N.Yang *et al* 2023b).

Dans le cas d'un séquençage de l'ADN post ChIP (ChIPseq) ou CUT&Tag, différentes étapes d'analyses bio-informatiques sont nécessaires à l'exploitation et à l'interprétation des données. Les fragments d'ADN séquencés (*reads*) sont tout d'abord alignés sur le génome de manière à déterminer à quelle région chaque fragment correspond (alignement des *reads*). Le profil de distribution des *reads* permet ensuite de définir ou non la présence d'un « *peak* », qui se traduit par la présence à un locus donné de la marque d'histone ou du facteur transcriptionnel étudié (annotation des *peaks*). Enfin, les régions dans lesquelles se trouvent les *peaks* sont caractérisées de manière à définir à proximité de quels gènes ils se situent et si ceux-ci ont des fonctions particulières (analyses fonctionnelles), ou encore si les marques sont présentes sur des séquences de l'ADN contenant des motifs nucléotidiques précis (analyses motifs)([Fig.26](#))(Nakato et Sakata 2021).

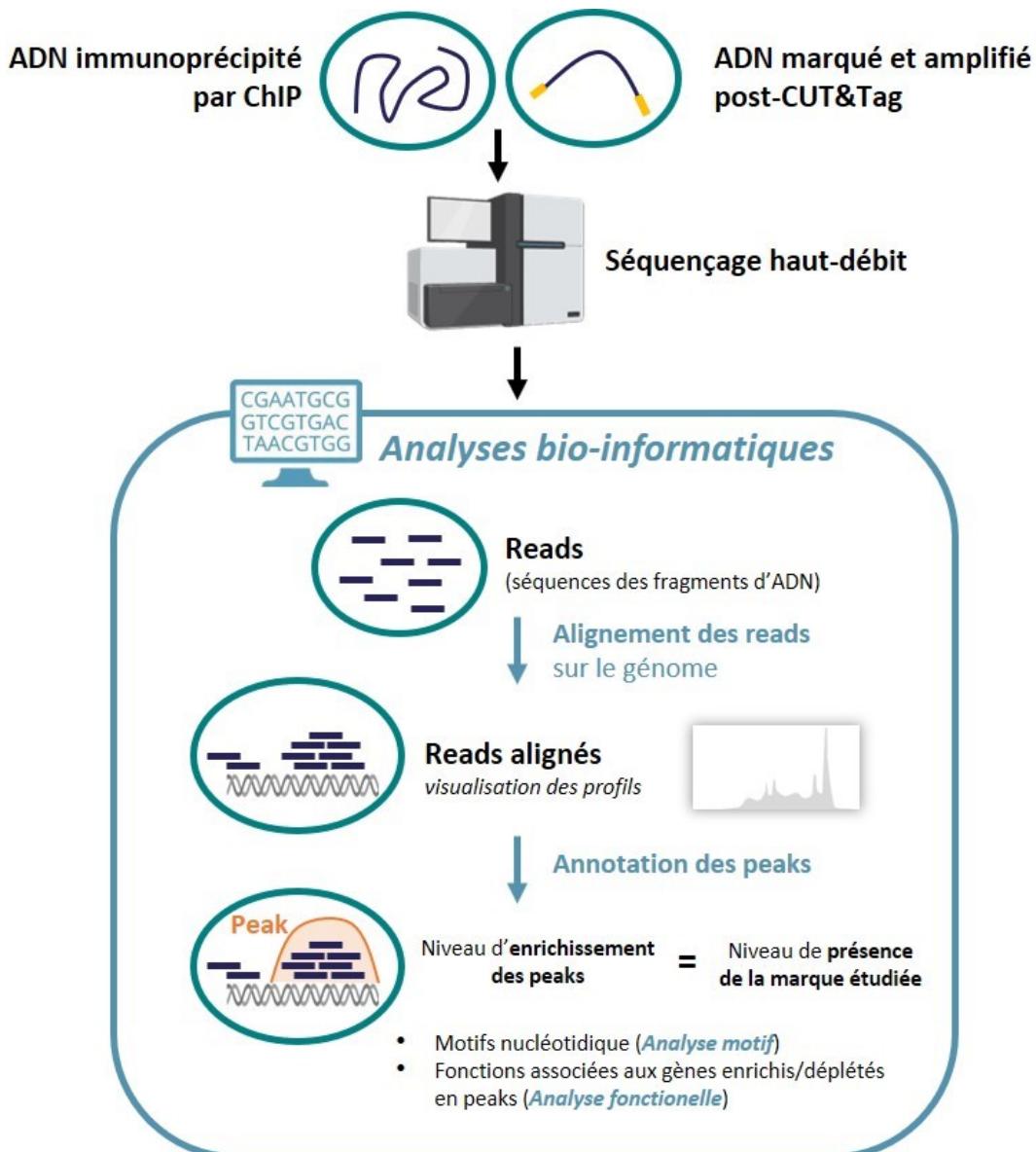


Fig. 26 Analyses bioinformatiques post-ChIPseq/CUT&Tag

Après séquençage de l'ADN présentant la marque d'intérêt, les fragments séquencés (reads) sont alignés sur le génome pour définir, via le taux d'enrichissement des peaks, le niveau de présence de la marque épigénétique étudiée. Des analyses des motifs nucléotidiques ou des fonctions associées aux gènes enrichis en peaks peuvent être réalisées pour définir le rôle biologique de la marque d'intérêt (inspiré d'après Nakato et Sakata 2021).

3.3. Perspectives des approches épigénomiques

Pendant de nombreuses années, les analyses épigénomiques et transcriptomiques ont été réalisées sur des tissus entiers, notamment à cause de limites techniques ne permettant pas d'appliquer les méthodes développées sur de petites populations cellulaires d'une part, et par la difficulté de séparer ces populations d'autre part. Cependant, à l'image des avancées technologiques réalisées en transcriptomique, l'émergence continue de nouvelles techniques permet d'améliorer la résolution cellulaire et spatiale des approches -omiques. Concernant la

MH, depuis les 5 dernières années, différentes approches ont permis de caractériser le striatum Huntington de façon cellule-spécifique, voire sur cellules uniques. Lee et coll. ont caractérisé le transcriptome striatal de modèles murins et de tissus provenant de patient·es atteint·es de la MH par le séquençage de cellules uniques (snRNAseq) et de types cellulaires définis par une approche de TRAPseq (Lee *et al* 2020), tandis que d'autres études ont définies les profils cellulaires striataux par séquençage d'ARN après microdissection LASER des types cellulaires (Merienne *et al* 2019), ou après la séparation des noyaux cellulaires triés selon la présence de protéines marqueurs (Mätlik *et al* 2024).

Au niveau épigénétique, bien que des études aient réussi à effectuer des approches d'ATACseq et de ChIPseq sur des noyaux de populations cellulaires triés par fluorescence (FANS)(Bai *et al* 2015, Dong *et al* 2015, Finegersh et Homanics 2016, Alcalá-Vida *et al* 2021b), l'émergence de nouvelles technologies comme le CUT&Tag permet des études plus complètes et précises. Notamment, des laboratoires travaillent actuellement à développer des approches de CUT&Tag sur des cellules uniques ou par approches histologiques sur des tranches de cerveaux de manière à améliorer encore la sensibilité et résolution des études et à les cumuler avec des techniques de séquençage des ARN, ouvrant la voie à de nouvelles questions scientifiques (Bartosovic *et al* 2021, Deng *et al* 2022, Zhang *et al* 2023).

4. Altérations épigénétiques dans la maladie de Huntington

La maladie de Huntington est caractérisée par des altérations transcriptionnelles responsables notamment d'une baisse d'expression des gènes d'identité des neurones ([Introduction-I.4.4](#)). Bien que le mécanisme par lequel la mutation de *HTT* induit ces dérégulations demeure inconnu, les données de la littérature montrent que les régulations épigénétiques sont modifiées dans la MH suggérant leur rôle dans la physiopathologie de la maladie (Francelle *et al* 2017, Alcala-Vida *et al* 2021a, Hyeon *et al* 2021)([Fig.27](#)).

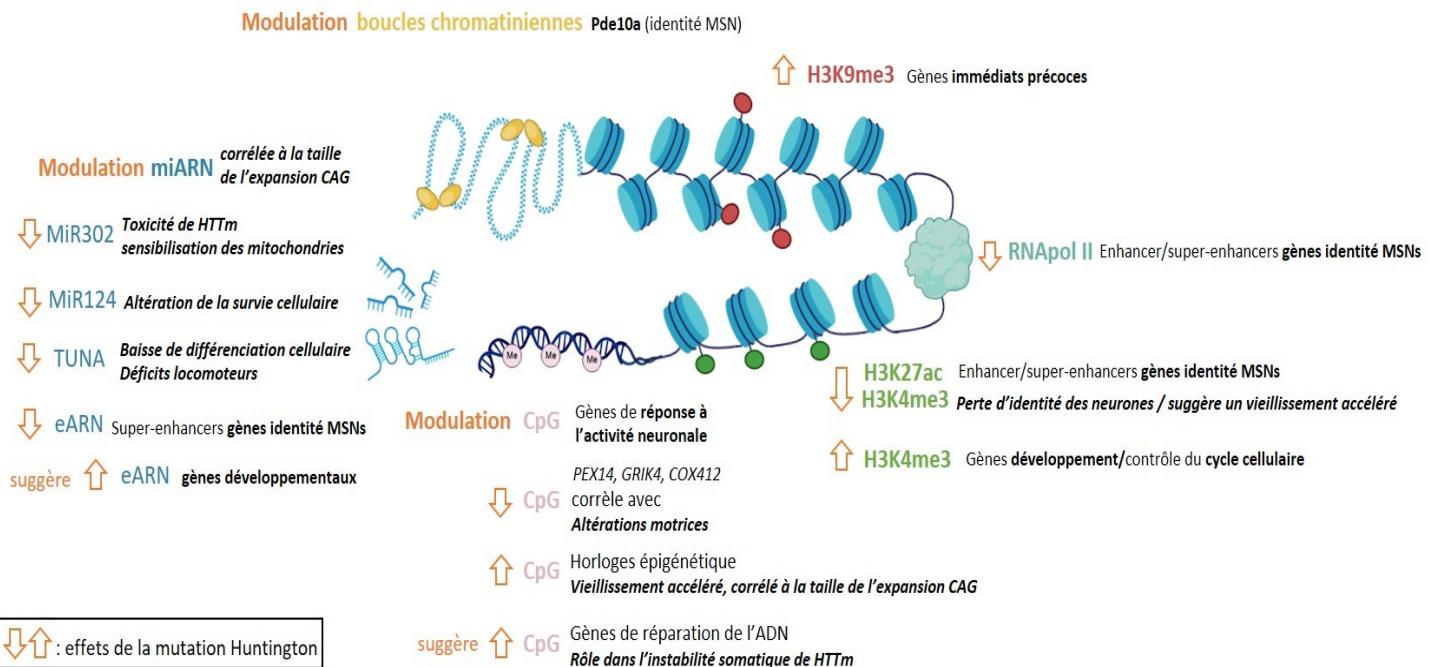


Fig. 27 Altérations épigénétiques dans la maladie de Huntington

Les cultures cellulaires exprimant la HTTm ou le striatum de modèles murins et de patient·es de la MH témoignent d'altérations épigénétiques nombreuses et variées. Principalement, ces dérégulations sont responsables d'une perte d'identité des neurones striataux, d'une baisse de la survie et des fonctions neuronales, et suggèrent un vieillissement accéléré des cellules du striatum Huntington. La couleur orange représente la direction que prennent les marques épigénétiques en condition Huntington. Les annotations en italique gras indiquent le phénotype résultant de ces dérégulations.

4.1. Modifications post-traductionnelles des histones

4.1.1. Acétylation des histones

Les études initiales de ChIPseq ont montré des changements d'acétylation des histones H3K9ac, H3K14ac, H3K27ac et H4K12ac limités dans les tissus cérébraux du modèle murin N171-82Q de la MH, ne corrélant pas avec les altérations transcriptionnelles (Valor *et al* 2013).

Cependant, les études plus récentes dont notamment celles de l'équipe d'accueil ont montré par des analyses de ChIPseq que le striatum de modèles murins de la MH -souris R6/1-présente une déplétion en H3K27ac au niveau des régions *enhancers* qui contrôlent l'identité des MSNs striataux (régions *super-enhancers*) (Achour *et al* 2015, Alcalá-Vida *et al* 2021b). Cette diminution d'acétylation s'accompagne d'une baisse du recrutement de l'ARN polymérase II et d'une diminution des ARNm cibles (Achour *et al* 2015). De plus, l'analyse des boucles chromatiniennes par 4Cseq a permis de déterminer que la conformation spatiale de

la chromatine est altérée au niveau de certains gènes de l'identité striatale, comme par exemple *Pde10a*, un gène fortement dérégulé dans le striatum Huntington (Alcala-Vida *et al* 2021b). Enfin, les données ChIPseq générées à partir de cerveaux *post-mortem* suggèrent que ce mécanisme est conservé chez les patient·es (Merienne *et al* 2019). Ainsi, ces résultats indiquent que la baisse d'expression des gènes d'identité dans les neurones striataux affectés par la mutation Huntington implique une perte d'acétylation des histones.

En 2021, une caractérisation épigénétique par ChIPseq réalisée par l'équipe d'accueil sur le striatum de modèle KI Q140 à différents stades de la pathologie (à 2 et 6 mois) suggère que la mutation de *HTT* induit une accélération de la dérégulation épigénétique et transcriptionnelle au niveau des gènes de l'identité cellulaire. Dans cette étude, des données ChIPseq ciblant H3K27ac et H3K27me3 ont été générées à partir de tissu striatal, puis intégrées à des données permettant de distinguer les *enhancers* neuronaux et gliaux. Les résultats montrent que la déplétion en H3K27ac au niveau des gènes d'identité des neurones striataux est progressive et commence dès les stades prodromaux chez les souris Huntington (Alcala-Vida *et al* 2021b). Cependant, cette étude intégrative réalisée sur du striatum entier ne permet de différencier clairement la signature épigénétique des neurones et des cellules gliales.

4.1.2. Méthylation des histones

Les méthylations d'histones sont également impactées dans la MH. En 2013, Vashishtha et coll. caractérisent la marque transcriptionnellement active H3K4me3 à partir de tissus cérébraux de souris R6/2. Ils observent une diminution de H3K4me3 au niveau des promoteurs des gènes d'identité neuronale dans le striatum des modèles murins, qui corrèle avec une baisse de transcription de ces gènes. Ces résultats indiquent que H3K4me3, comme H3K27ac, est impliqué dans la perte d'identité des neurones striataux (Vashishtha *et al* 2013, Achour *et al* 2015). De plus, l'inhibition de Jarid1c -enzyme démethylase de H3K4me3-améliore le phénotype de modèles drosophiles Huntington et permet de restaurer l'expression de gènes protecteurs et d'identité cellulaire, suggérant que la déplétion de H3K4me3 est impliquée dans les processus physiopathologiques de la MH (Vashishtha *et al* 2013). La caractérisation de H3K4me3 dans des neurones corticaux *post-mortem* de sujets Huntington, isolés par FANS, a également permis de montrer l'implication de cette marque dans le contrôle des gènes associés au développement neuronal et à la neurodégénérescence

(Bai *et al* 2015, Dong *et al* 2015). Enfin, Smith-Geater et coll. ont identifié, qu'à l'image de *OCT4*, les gènes enrichis en H3K4me3 et hyper-exprimés dans les neurones en culture issus d'iPSC de patient·es, assurent des fonctions liées au développement et au contrôle du cycle cellulaire, témoignant d'un défaut de différenciation cellulaire en présence de HTTm (Smith-Geater *et al* 2020).

En 2017, Lee et coll. ont également constaté que dans le striatum de souris R6/2, la marque H3K9me3 -associée à l'hétérochromatine constitutive- est anormalement élevée à proximité des gènes immédiats précoces essentiels à l'activation neuronale (e.g. *Egr1*, *Fos*, *Arc*) (Lee *et al* 2017), suggérant un rôle de la dérégulation épigénétique dans les défauts de plasticité cérébrale retrouvés dans la MH.

4.1.3. Etiologie

Les mécanismes sous-jacents à ces dérégulations épigénétiques restent actuellement mal connus bien que plusieurs hypothèses aient été avancées (Francelle *et al* 2017, Alcalá-Vida *et al* 2021a). Par exemple, le défaut d'acétylation des histones pourrait reposer en partie sur la capacité des agrégats de HTTm à interagir et séquestrer la protéine histone acétyltransférase CBP (Nucifora *et al* 2001, Steffan *et al* 2000). Des études ont notamment montré que l'administration de HTTm à des cultures primaires de neurones induit une dégradation de CBP, accompagnée d'une hypo-acétylation des histones et d'une toxicité cellulaire (Cong *et al* 2005, Jiang *et al* 2006). Cependant, la formation des agrégats de HTTm apparaissant être un processus temporellement postérieur aux dérégulations épigénétiques, et CBP n'étant pas l'HAT responsable de toutes les modifications d'histones dérégulées dans le striatum Huntington, cette hypothèse ne semble pas, à elle seule, suffire à expliquer l'ensemble des dérégulations épigénétiques observées dans la MH.

De plus, comme suggéré plus tôt ([Introduction-II.1.3.4](#)), le métabolisme énergétique est directement relié aux régulations épigénétiques. Notamment l'acétylation des histones est en grande partie dépendante de la production d'ACoA (Etchegaray et Mostoslavsky 2016, Jo *et al* 2020). Or, la HTTm étant à la base de nombreuses dysfonctions mitochondrielles, il est envisageable que les déficits métaboliques puissent être en partie responsables des atteintes épigénétiques et transcriptionnelles dans la MH (Xu.S *et al* 2021).

Egalement, la protéine HTT est capable d'interagir avec le complexe polycomb PRC2, responsable du dépôt de la marque H3K27me3 (Seong *et al* 2010, Biagioli *et al* 2015), ce qui suggère que PRC2 puisse être un élément clé de la dérégulation épigénétique associée à la MH (Alcala-Vida *et al* 2021a). De plus, l'inhibition de PRC2 dans les MSNs de souris sauvages induit une signature transcriptionnelle comparable à celles observées dans le striatum Huntington, à savoir une répression spécifique de gènes de l'identité striatale (Von Schimmelmann *et al* 2016). L'inhibition de PRC2 dans l'étude de Von Schimmelmann et coll. corrèle avec l'apparition de troubles moteurs comparables à ceux observés en condition Huntington, ce qui suggère qu'une perte de fonction de PRC2 serait impliquée dans la physiopathologie de la MH. Enfin, à l'image des travaux de Viré et coll. démontrant que la sous-unité EZH2 de PRC2 peut recruter des enzymes DNMT, ou de ceux de Van der Vlag et Otte indiquant que EED interagit avec des HDACSs, le rôle de PRC2 n'est pas limité au contrôle de la marque d'histone H3K27me3, mais peut également influencer le niveau de méthylation de l'ADN et d'acétylation des histones (Viré *et al* 2006, Schlesinger *et al* 2007, Van der Vlag et Otte 1999).

4.2. Méthylation de l'ADN

En 2013, Ng et coll. ont montré que les neurones striataux en culture exprimant la HTTm -STHdhQ111- présentent des changements locaux de méthylation de l'ADN qui corrèlent avec la transcription. Particulièrement, plus de 80% des dérégulations de CpG sont retrouvées dans des régions faiblement méthylées, impliquées dans la réponse à l'activité neuronale, ce qui suggère que la dérégulation de la méthylation de l'ADN contribue au dysfonctionnement des neurones striataux dans la MH (Ng *et al* 2013). De plus, les profils de méthylation de l'ADN à certains loci (*e.g.* *PEX14*, *GRIK4*, *COX412*) sont directement corrélés aux symptômes moteurs chez les patient·es et modèles Huntington (Lu.A.T *et al* 2020). En 2016, Pan et coll. démontrent que l'inhibition expérimentale de DNMTs dans des neurones corticaux et striataux murins exprimant la mutation de *HTT*, permet de réduire la toxicité de la HTTm et restaure l'expression du facteur neurotrophique BDNF. De plus, les analyses en qRT-PCR du striatum de souris R6/2 ayant reçu une administration d'inhibiteur des DNMTs, démontrent que le traitement permet de restaurer l'expression des gènes d'identité des neurones striataux tels que *Drd2* et *Ppp1r1rb* (Pan *et al* 2016). Ces données confirment l'importance de la méthylation de l'ADN dans la dérégulation transcriptionnelle Huntington.

Par ailleurs, les travaux menés par Horvath et coll. montrent qu'il existe une accélération de l'horloge épigénétique d'en moyenne 3 ans, dans différentes régions cérébrales des patient·es atteint·es de la MH (*e.g.* cortex pariétal et frontal). Ces modifications de méthylation de l'ADN sont inversement corrélées à la taille de l'expansion CAG indiquant un lien direct entre la taille de l'expansion et le vieillissement épigénétique (Horvath *et al* 2016).

Enfin, les fibroblastes issus de sujets atteints de la MH présentent une inhibition de certains gènes impliqués dans la réparation de l'ADN. L'hypo-méthylation expérimentale de ces gènes par administration de 5-azacytidine permet de restaurer leur expression et de stabiliser l'expansion CAG. Ainsi, la méthylation de CpG, notamment *via* une hyperméthylation des gènes de réparation de l'ADN dans la MH, pourrait être impliquée dans le contrôle de l'instabilité somatique de la mutation de *HTT* (Mollica *et al* 2016).

4.3. ARN non codants

Langfelder et coll. ont observé une dérégulation transcriptomique des miARN dans le striatum de modèles KI de la MH, corrélant avec la taille de la mutation et l'âge des animaux (Langfelder *et al* 2018). A partir des années 2010, de nombreuses études ont cherché à caractériser le rôle de l'expression de certains miARN dans la physiopathologie de la MH (Ghafouri-Fard *et al* 2022). Par exemple, Chang et coll. ont démontré que la baisse du microARN-302 (MiR302) dans les modèles cellulaires de la maladie est impliquée dans la formation et la cytotoxicité des agrégats de HTTm ainsi que dans la sensibilisation des fonctions mitochondrielles (Chang *et al* 2021). De plus, MiR124 est sous-exprimé dans le striatum Huntington. Or son rôle dans la neurogenèse et le fait que sa ré-expression expérimentale chez des modèles de la MH ralentisse les symptômes moteurs et augmente la synthèse de BDNF et d'autres protéines impliquées dans la différenciation et la survie cellulaire, suggèrent que ces miARN sont impliqués dans la dérégulation des fonctions biologiques dans la maladie de Huntington (Liu *et al* 2015).

Les IncARN sont également impliqués dans la physiopathologie (Tan *et al* 2021). Notamment, l'expression de l'ARN non codant TUNA diminue dans le striatum au cours de la progression de la MH (Hodges *et al* 2006, Lin *et al* 2014). Or l'inhibition expérimentale de TUNA inhibe la différenciation neuronale et induit l'apparition de déficits locomoteurs chez des modèles zebrafish, suggérant un rôle de la dérégulation de cet ARN non codant dans la

mise en place des symptômes transcriptionnels et comportementaux dans le MH (Lin *et al* 2014). A l'inverse, le lncARN NEAT1 est surexprimé dans le cerveau de patient·es et modèles de Huntington, de façon dépendante de la HTTm. NEAT1, probablement *via* son implication dans le contrôle des systèmes de réparation de l'ADN (Taiana *et al* 2020), y joue ainsi un rôle protecteur en diminuant la toxicité induite par la mutation de HTT (Cheng *et al* 2018).

En 2017, LeGras et coll. étudient le profil des ARN non codants issus de régions enhancers (eARN) dans le striatum de modèles murins de la MH. Les eARN ont pour propriété d'influencer la conformation de la chromatine et de contrôler l'expression des gènes qu'ils ciblent. L'analyse réalisée sur le striatum de souris transgéniques R6/1 montre que les eARN dont l'expression est diminuée proviennent de *super-enhancer* régulant les gènes d'identité des MSN, tandis que les eARN qui contrôlent l'expression de gènes développementaux ou associés à la prolifération de cellules souches sont augmentés (LeGras *et al* 2017). Ces résultats suggèrent que la dérégulation des eARN est impliquée dans les mécanismes épigénétiques et transcriptionnels responsables de la perte d'identité et de fonction des MSNs du striatum Huntington.

5. Pistes thérapeutiques par la modulation épigénétique dans la MH

L'implication de la dérégulation épigénétique dans le processus physiopathologique de la MH a pu être mise en évidence par des approches expérimentales visant à moduler les régulations épigénétiques afin de contrer ou aggraver les symptômes. Ainsi, ces travaux ont conduit au développement de plusieurs pistes thérapeutiques (Valor 2015).

5.1. Inhibition des HDACs

L'acétylation des histones étant perturbée et impliquée dans la dérégulation transcriptionnelle et comportementale de la MH, de nombreuses études ont évalué les effets de l'administration d'inhibiteurs de HDAC (HDACi) sur différents modèles Huntington (Francelle *et al* 2017, Alcala-Vida *et al* 2021a). L'application des HDACi -acide suberoylanilide hydroxamique (SAHA) ou butyrate de sodium- dans des cellules exprimant la HTTm permet de compenser la désacétylation de H3 et H4 et se traduit dans les modèles drosophiles de la MH par un ralentissement de la mort neuronale et une baisse de la létalité (Steffan *et al* 2001).

A l'image de la capacité du SAHA à traverser la barrière hématoencéphalique et restaurer les capacités motrices et les niveaux d'acétylation des histones dans le cerveau de souris R6/2 (Hockly *et al* 2003), plusieurs travaux effectués sur des modèles murins de la MH ont confirmé le rôle bénéfique des HDACi. Notamment les modèles R6/2 traités avec du butyrate de sodium présentent un gain de poids, une amélioration des performances motrices et de la phosphorylation oxydative chez les modèles R6/2 (Ferrante *et al* 2003), tandis que le phénylbutyrate induit une restauration des profils transcriptomiques des gènes associés au système ubiquitine-protéasome et corrige l'expression excessive des caspases apoptotiques dans le striatum de souris N171-82Q (Gardian *et al* 2005). Egalement, les inhibiteurs de HDAC3 restaurent l'expression du gène d'identité striatale *Ppp1r1b* codant pour la protéine Darpp-32 chez les souris R6/2 (Jia *et al* 2012), et l'HDACi LBH589 préserve les propriétés de différenciation des neurones Huntington *in vitro* et *in vivo* (Siebzehnrübl *et al* 2018), suggérant l'efficacité de ces approches pour restaurer l'identité des MSNs, bien qu'aucune étude épigénomique n'ait validé l'effet d'un traitement par HDACi sur l'acétylation des *super-enhancers* neuronaux.

Des constructions génétiques ont également été employées pour étudier l'effet des Knock-Out de HDACs dans les modèles murins Huntington, cependant les effets bénéfiques paraissent moins clairs par ces approches, et les améliorations du phénotype Huntington varient selon les études et les HDACs ciblées (Bobrowska *et al* 2011, Moumné *et al* 2012, Mielcarek *et al* 2013, Ragot *et al* 2015, Bryant *et al* 2017, Kovalenko *et al* 2020). Par exemple, les travaux de Mielcarek et coll. démontrent que le KO de HDAC4 chez les modèles R6/2 et HdhQ150 permet d'atténuer la formation d'agrégats de HTTm, la perte de fonction des synapses cortico-striatales et les altérations motrices, cependant ces effets ne corrèlent pas avec le sauvetage des signatures transcriptionnelles de la MH (Mielcarek *et al* 2013).

Les approches modulant les HDACs ont également longtemps été étudiées car ces enzymes sont impliquées dans le contrôle d'expression de gènes liés à la réparation de l'ADN et l'instabilité de l'expansion CAG (Williams *et al* 2020) et pourraient permettre entre autres de ralentir le déclin cognitif associé à la pathologie (Burns et Gräff 2021). Cependant, bien que, chez la souris, l'inhibition des HDACs ait des effets bénéfiques sur certains phénotypes de la MH, l'impact translationnel de ces approches reste limité. En effet, les inhibiteurs de HDACs sont relativement toxiques et peu spécifiques (Mielcarek *et al* 2015). De plus, l'administration

de HDACi peut présenter des effets transgénérationnels *via* leur rôle dans la méthylation de l'ADN (Jia *et al* 2015). Ainsi, à l'heure actuelle ces approches thérapeutiques ne sont pas privilégiées, les essais cliniques n'ayant pas dépassé la phase II (PHEND-HD 2012).

5.2. Autres approches et perspectives

Une stratégie alternative aux HDACi consiste à augmenter l'acétylation des histones en stimulant l'activation des enzymes acétyltransférases. Dans le contexte de lésions du système nerveux et des pathologies neurodégénératives, l'utilisation de CSPTK-21, un activateur pharmacologique de CBP/p300, montre des bénéfices. Son administration dans un modèle de lésion de la moelle épinière permet de promouvoir la régénération axonale et la plasticité neuronale (Hutson *et al* 2019), tandis que les travaux de Chatterjee et coll. ont montré par des approches de ChIPseq et RNAseq que CSPTK-21 permet de restaurer l'acétylation de H2B dans l'hippocampe de souris tauopathiques modèles de la maladie d'Alzheimer, améliorant *in fine* la plasticité synaptique et les capacités de mémoire spatiale des animaux (Chatterjee *et al* 2018). Des travaux de l'équipe d'accueil indiquent des effets bénéfiques de CSPTK-21 chez un modèle murin Huntington (Lotz-Tavernier 2019).

Enfin, des travaux réalisés dans les années 2000 ont montré au travers d'analyses par Western Blot, que l'administration de l'antibiotique mythramycine à des souris R6/2 modifie l'équilibre d'acétylation/méthylation de H3K9, ce qui permet une déplétion de H3K9me3, la restauration de l'expression des gènes impliqués dans la survie neuronale et une amélioration des performances motrices de souris Huntington (Ferrante *et al* 2004, Stack *et al* 2007). Plus récemment, Lee et coll. ont démontré que l'administration de nogalamycine, un antibiotique capable d'interagir avec la chromatine (Ganguli *et al* 1983), restaure les profils de H3K9me3 dans les MSNs, diminue la formation d'inclusions nucléaires de HTTm et ralentit l'apparition de symptômes moteurs de modèles murins Huntington (Lee *et al* 2017).

L'ensemble de ces approches, bien que présentant des bénéfices sur les modèles murins, ne restaurent le phénotype que de manière partielle et ne permettent pas de corriger complètement les pertes d'acétylation et d'expression des gènes de l'identité striatale. De plus, ces approches présentent une toxicité et des effets secondaires non négligeables. Ainsi, il reste nécessaire de mieux comprendre les mécanismes qui sous-tendent la dérégulation épigénétique associée à la MH afin de développer des épi-thérapies efficaces et ciblées. Les mécanismes épigénétiques étant dynamiques et sensibles aux modifications

environnementales, l'exploitation des mécanismes épigénétiques induits par un enrichissement de l'environnement pourrait constituer une base pour développer de nouvelles stratégies d'épi-thérapies.

III. ENRICHISSEMENT ENVIRONNEMENTAL

1. Définition et généralités

1.1. Exposome et facteurs de risques

Au cours de leur vie, les organismes vivants sont exposés à une multitude de facteurs environnementaux tels que des facteurs biologiques (virus, microbiote, inflammation), physico-chimiques (pesticides, pollution, radiations), liés au mode de vie (tabac, alcool, rythme circadien et exposition aux écrans, régime alimentaire, activité physique) ou encore au contexte social (relations et pressions sociales, crises économiques, politiques ou climatiques). En 2005, Christopher Wild propose le terme d'«exposome» pour se référer à l'ensemble des facteurs internes, externes et liés au mode de vie auxquels les organismes sont exposés tout au long de la vie (Wild 2005)([Fig.28](#)). Depuis l'établissement de ce concept, des travaux à l'image de celui du consortium EXPOsOMICS cherchent à caractériser l'exposome des individus et à faire le lien avec le diagnostic et l'épidémiologie de pathologies dont la cause n'est pas exclusivement génétique (*e.g* cancers, pathologies cardio-vasculaires, maladie d'Alzheimer) (Wild 2012, Vineis *et al* 2017, Rappaport et Smith 2010, Lloyd *et al* 2024).

Des composantes de l'exposome peuvent perturber le fonctionnement physiologique de l'organisme et ainsi constituer des facteurs de risques ou préventifs pour certaines pathologies (Chin-Chan *et al* 2015, Riggs *et al* 2018, Gubert *et al* 2020, Liu.J *et al* 2023). Par exemple, des facteurs chimiques externes comme les plastiques ou des pesticides peuvent altérer les fonctions du système nerveux central (Nabi et Tabassum 2022). L'exposition prénatale au bisphénol A perturbe les systèmes de dégradation des protéines et réduit la prolifération des cellules souches neurales dans l'hippocampe (Singh *et al* 2023), tandis que l'exposition de rats modèles de la maladie d'Alzheimer (MA) à des pesticides est responsable d'une accélération de la neurodégénérescence et des symptômes cognitifs associés (Voorhees *et al* 2019).

Chez les sujets humains, le contexte psycho-social occupe également une part importante de l'exposome. Il est évident que l'environnement social et psychologique de patient·es est corrélé au diagnostic des pathologies psychiatriques, comme pour le syndrome d'épuisement professionnel (*burn-out*) ou la dépression. Le stress chronique constitue

également un élément important de l'exposome et un facteur de risque pour une variété de maladies comme les pathologies cardio-vasculaires, ou encore les maladies neurodégénératives (Osborne *et al* 2020, Caruso *et al* 2018). Des études suggèrent notamment qu'un stress chronique et la production excessive de glucocorticoïdes associée altèrent les fonctions gliales et synaptiques, et augmentent la production des biomarqueurs de la MA (Vyas *et al* 2016, Caruso *et al* 2018, Dolotov *et al* 2022).

En complément du contexte psycho-social, le mode de vie peut plus globalement constituer un facteur environnemental ayant une forte influence sur le fonctionnement physiologique des organismes. Par exemple, une altération du rythme circadien module la production hormonale, la prise alimentaire et les fonctions métaboliques, augmentant le risque d'obésité (Chaput *et al* 2023), tandis qu'une perturbation des séquences de sommeil constitue un facteur de risques pour le développement de démences telles que la maladie d'Alzheimer (Shi *et al* 2018).

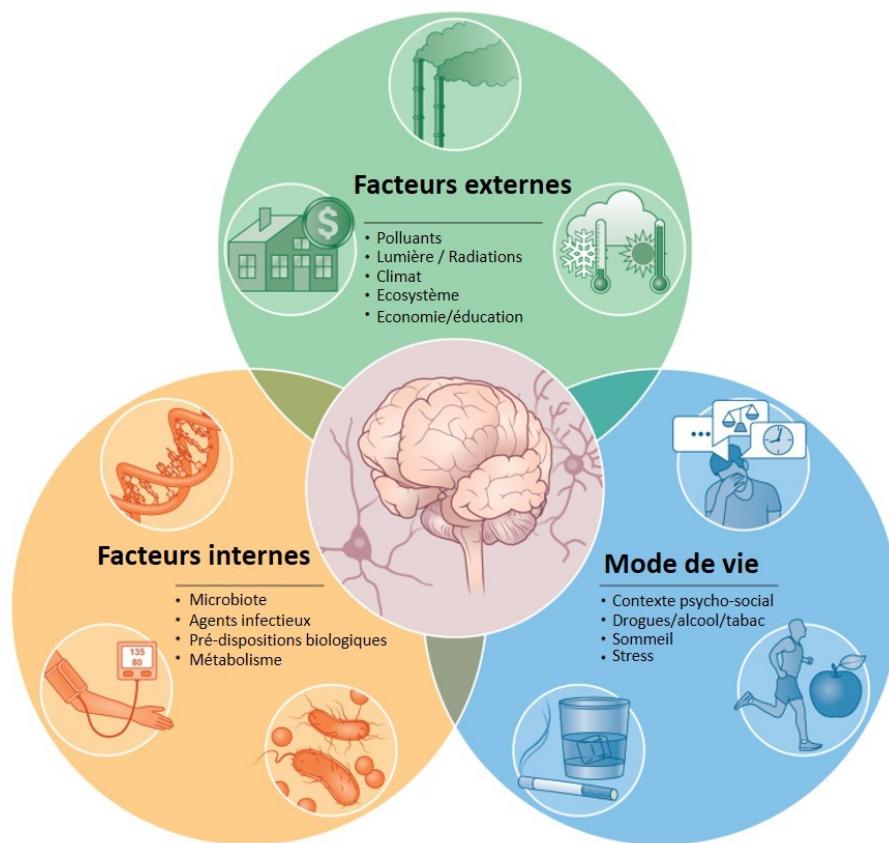


Fig. 28 Exposome

Les facteurs externes, internes et liés au mode de vie constituent l'exposome et influencent l'état biologique des sujets (Tamiz *et al* 2022).

Ainsi, ces exemples illustrent le fait que l'exposome -qu'il soit interne, externe ou lié au mode de vie- a un effet direct sur la constitution biologique et le fonctionnement physiologique des organismes ([Fig.28](#)). Tout un pan de la recherche travaille à définir le rôle joué par chaque facteur environnemental en vue de faire évoluer les modes de vie et diminuer les conduites et expositions à risque. A l'inverse, ce constat des effets de l'exposome sur la santé a également permis l'émergence de travaux cherchant à promouvoir l'exposition à des facteurs environnementaux bénéfiques, par un enrichissement environnemental.

1.2. Enrichissement environnemental

Chez les sujets humains, l'enrichissement environnemental (EE) se traduit par une modification des modes de vie. Qu'il prenne en compte une amélioration de l'environnement de vie (*e.g.* diminuer l'usage et l'exposition aux polluants), l'implémentation de nouvelles mœurs (*e.g.* diminuer les comportements sédentaires au profit de l'activité physique) ou un accompagnement psycho-social (*e.g.* diminuer les interactions néfastes avec le personnel soignant), l'EE permet de réguler les fonctions biologiques, compenser certaines prédispositions, et ralentir le développement de pathologies ([Yang.N et al 2023a](#), [Wang et al 2022](#), [Papadimitriou et al 2020](#), [Köhler et al 2020](#)).

Chez les modèles animaux de laboratoire, l'EE a dans un premier temps été développé pour des raisons éthiques de bien-être animal, de reproductibilité et de consistance des résultats scientifiques ([Smith et Corrow 2005](#)). Rapidement, les conditions d'hébergement d'animaux sains ou modèles de pathologies ont été modulées pour déterminer le potentiel thérapeutique de l'EE et les mécanismes biologiques sous-jacents. Notamment, Lores-Arnaiz et coll. en 2007 ont observé que l'hébergement de rats en environnement enrichi améliore les performances cognitives des animaux et module l'activité enzymatique mitochondriale suggérant un lien entre EE, métabolisme et cognition ([Lores-Arnaiz et al 2007](#)). Egalement, Liu et coll. ont défini un effet anti-tumoral de l'EE chez des souris modèles de cancer. Plus précisément, les auteur·ices ont décrypté les mécanismes moléculaires responsables des effets bénéfiques de l'EE, impliquant l'activation du système nerveux sympathique et la signalisation des récepteurs adrénergiques β ([Liu et al 2021](#)). Ainsi, l'établissement d'un design expérimental basé sur l'EE permet la compréhension des mécanismes pathogéniques et la mise en évidence de nouvelles pistes thérapeutiques ([Bayne 2018](#)).

Cependant, tout comme les conditions d'hébergement des animaux en animalerie ne sont pas strictement similaires entre chaque étude (nombre d'animaux par cage, luminosité, ambiance sonore, différents matériels de nidification), la définition de l'EE n'est pas constante dans la littérature. Certains travaux nomment EE la mise à disposition de matériel d'enrichissement (tunnels, roues) (Renoir *et al* 2013), d'autres considèrent également l'augmentation de la taille du groupe social mais chaque étude utilise un nombre variable d'animaux par cage enrichie, ou d'autres études encore considèrent l'exposition à un EE en soumettant les rongeurs à une course sur tapis roulant durant 1 heure, 3 fois par semaine (Cadilwell *et al* 2020). Ainsi, pour pallier à cette variabilité des protocoles et des conclusions scientifiques associées, des modèles standardisés d'EE émergent depuis les dix dernières années (Fares *et al* 2012, Bialiotti et Conti 2022).

2. Effets bénéfiques de l'enrichissement environnemental sur les maladies neurodégénératives

2.1. EE et maladies neurodégénératives

De nombreuses études ont cherché à utiliser l'EE comme facteur pouvant moduler la mise en place des symptômes de maladies neurodégénératives. L'activité physique (AP) est décrite pour ses nombreux effets biologiques (Sujkowski *et al* 2022). Chez les rongeurs de laboratoire ou les sujets humains, l'AP module le métabolisme en favorisant la biogénèse mitochondriale et la production d'enzymes anti-oxydantes (Wright *et al* 2007, Azizbeigi *et al* 2014), ce qui suggère un effet protecteur dans les pathologies neurodégénératives où le métabolisme énergétique périphérique et central est drastiquement altéré (Islam 2017). La méta-analyse réalisée par Dauwan et coll. chez des sujets atteints de maladies neurodégénératives et de démences (Alzheimer, Huntington, Parkinson, schizophrénie), confirme cette hypothèse des effets bénéfiques de l'AP sur la qualité de vie et les symptômes cognitifs et de dépression des patient·es (Dauwan *et al* 2021). De plus, les études effectuées sur des modèles murins confirment cette observation et permettent de décrypter les mécanismes biologiques sous-jacents. Notamment, Zhang et coll. ont constaté que l'exposition régulière de modèles murins de la MA à une course sur tapis roulant permet de réduire significativement le dépôt de plaques amyloïdes dans l'hippocampe, en suggérant un

rôle du métabolisme du cholestérol dans cet effet (Zhang *et al* 2019). Tandis que d'autres approches similaires démontrent que l'EE restaure la production du facteur neurotrophique BDNF et la potentialisation à long terme dans l'hippocampe de souris modèles de la MA, améliorant *in fine* les performances d'apprentissage et de mémoire des animaux (Liu *et al* 2011). Ainsi, ces études illustrent les effets bénéfiques pouvant être attribués à l'activité physique, capable de moduler les signatures pathogéniques et les symptômes comportementaux associés aux maladies neurodégénératives (Sujkowski *et al* 2022).

L'enrichissement environnemental, n'impliquant pas d'activité physique particulière présente également des effets bénéfiques sur le système nerveux et les pathologies associées. L'EE à long terme modifie les signatures biologiques cérébrales et le comportement des rongeurs. Notamment, après hébergement en milieu enrichi, des souris présentent une neurogenèse accrue dans le gyrus denté, corrélant avec une augmentation du volume hippocampique, de l'expression de gènes impliqués dans la plasticité synaptique, et une amélioration des performances cognitives, des comportements exploratoires, et une diminution de l'anxiété (Hüttenrauch *et al* 2016, Mohd Sahini *et al* 2024). En 2022, Tapias et coll. hébergent des rats modélisant des traumatismes crâniens de différentes sévérités en environnement enrichi. Dans cette étude, l'EE est constitué d'une cage de superficie importante (trois étages), avec des objets d'enrichissement changés de façon journalière, dans lesquelles les animaux sont hébergés par groupe de 10-12. Dans ce contexte, les auteur·ices observent un rôle neuroprotecteur de l'EE qui permet d'atténuer le stress oxydatif et l'activation microgliale dans le cerveau des animaux, tout en améliorant leurs capacités motrices et cognitives d'apprentissage et de mémoire spatiale (Tapias *et al* 2022), suggérant un rôle de l'enrichissement environnemental sans qu'il n'y ait nécessairement besoin d'une activité physique intense.

2.2. EE et maladie de Huntington

L'environnement, et son enrichissement, peut également moduler la pathogenèse de la maladie de Huntington (Mo *et al* 2015, Novati *et al* 2022)([Fig.29](#)).

2.2.1. Activité physique

De nombreuses études, aux protocoles variés, favorisant l'activité physique chez des modèles murins et des sujets atteints par la MH ont montré un ralentissement de l'apparition des symptômes (Mo *et al* 2015, Novati *et al* 2022). Bien qu'une activité physique intense et régulière ne soit pas bénéfique dans le contexte Huntington (Altschuler 2006), les programmes développés dans un cadre thérapeutique, tels qu'une rééducation physique, des exercices respiratoires ou une pratique régulière de danse contemporaine, permettent de ralentir la mise en place des symptômes moteurs et améliorer la qualité de vie des patient·es (Ciancarelli *et al* 2013, Mirek *et al* 2018, Trinkler *et al* 2019, Novati *et al* 2022), *via* notamment la restauration du métabolisme mitochondrial musculaire (Mueller *et al* 2017).

De plus, l'exposition à l'activité physique de modèles murins de la MH, par des sessions de course sur tapis roulant ou l'accès continu à des roues d'activité, a permis de caractériser davantage ses effets bénéfiques. La stimulation précoce de l'AP promeut notamment une amélioration du métabolisme striatal (augmentation de la glycolyse, préservation de la chaîne respiratoire mitochondriale) associée à une amélioration des performances motrices, conservées chez les modèles murins à des stades avancés de la pathologie (*e.g.* R6/1 à 27 semaines, KI âgés de 13-15 mois)(Herbst et Holloway 2015, Caldwell *et al* 2020). Toutefois, cette amélioration métabolique chez les modèles Huntington n'est pas totale. En effet, l'étude de Herbst et Holloway n'a pas permis de mettre en évidence un sauvetage des profils d'expression d'ARN mitochondriaux après l'AP (Herbst et Holloway 2015), et les animaux présentent toujours une perte de poids caractéristique de la MH comparément aux contrôles après exposition à l'EE (Caldwell *et al* 2020, Stefanko *et al* 2017, van Dellen *et al* 2008, Novati *et al* 2022).

L'activité physique permet également de restaurer les fonctions cognitives de mémoire et d'apprentissage spatial ainsi que le phénotype de type dépression observé chez différents modèles rongeurs (Ji *et al* 2015, Renoir *et al* 2012, Stefanko *et al* 2017). De plus

l'exposition à des roues d'activité en libre accès est suffisante pour corriger les déficits de la rythmicité circadienne observés chez des souris Huntington (Cuesta *et al* 2014).

Les données retrouvées dans la littérature proposent différents mécanismes moléculaires sous-jacents, allant d'une réduction de l'apoptose hippocampique (Ji *et al* 2015) à une restauration des niveaux de BDNF (Zajac *et al* 2010). En 2017, Stefanko et coll. observent que l'activité physique régulière de KI Q140 dès le sevrage jusqu'à 6 mois, permet de restaurer les niveaux d'expression des neurotransmetteurs dopaminergiques et du récepteur striatal à la dopamine Drd2 (Stefanko *et al* 2017). Ces résultats, associés au constat d'une diminution des agrégats intra-nucléaires de HTTm chez les animaux entraînés (Stefanko *et al* 2017), témoignent d'une correction partielle du phénotype transcriptionnel et moléculaire de la MH par l'activité physique, qui corrèle avec une atténuation des symptômes comportementaux.

Malgré tout, bien que les effets bénéfiques de l'AP sur la physiopathologie de la MH soient avérés, l'efficacité à restaurer tout ou partie des phénotypes varient selon les études (Novati *et al* 2022). Par exemple, l'exposition de souris R6/1 à des roues d'activité dès le sevrage, permet d'améliorer les comportements locomoteurs et exploratoires des animaux mais ne semble pas préserver de l'atrophie striatale et de l'aggrégation protéique à 36 semaines (van Dellen *et al* 2008). Les travaux de Potter et coll. montrent que la stimulation de l'AP de souris N171-82Q à partir de stades pré-symptomatiques ne permet pas de ralentir les symptômes de la MH, voire même accélère les phénotypes comportementaux et moléculaires de la maladie (Potter *et al* 2010). Ainsi il semblerait que la temporalité d'une stimulation de l'AP et son niveau d'intensité importent, et que les modèles et sujets de la MH puissent à partir d'un certain stade pathologique ne plus être biologiquement capables de répondre à l'AP (Potter *et al* 2010, Altschuler 2006).

2.2.2. Stimulation cognitive et sociale

L'EE par la stimulation cognitive et l'augmentation de la taille du groupe social montre également des effets bénéfiques sur le phénotype Huntington. Un tel EE chez les rongeurs, impliquant selon les études l'ajout d'objets dans la cage d'hébergement et l'exposition régulière à une arène enrichie, ou la stimulation par des labyrinthes et tâches cognitives (*e.g.* OX maze (Wood *et al* 2011)) est responsable d'une réduction des niveaux d'anxiété au profit

des comportements exploratoires, et tend à augmenter la survie des modèles de la MH (Renoir *et al* 2013, Wood *et al* 2011).

Chez les patient·es Huntington, des programmes thérapeutiques incluant notamment des approches orthophoniques, des exercices de réhabilitation cognitive ou encore des exercices de reconnaissance d'expressions faciales permettent d'améliorer significativement le bien-être, l'activité et les performance cognitives des sujets (Zinzi *et al* 2007, Kempnich *et al* 2017). En 2019, Garcia-Gorro et coll. ont pu déterminer qu'un niveau d'engagement cognitif élevé chez des sujets porteurs de la mutation Huntington est corrélé avec une préservation des fonctions exécutives, un retardement de l'apparition des symptômes comportementaux ou encore une atténuation partielle de l'atrophie striatale, indiquant le rôle neuroprotecteur de la stimulation cognitive et son importance dans la prise en charge des patient·es (Garcia-Gorro *et al* 2019).

L'EE impacte également les biomarqueurs de la MH. De la même manière que Stefanko et coll. l'ont observé chez des souris soumises à une activité physique (Stefanko *et al* 2017), Benn et coll. ont démontré que l'EE induit une baisse significative des inclusions intranucléaires de HTTm, sans observer cependant d'effets transcriptomiques majeurs (Benn *et al* 2010). Une étude réalisée sur des rats BACHD (présentant une dérégulation transcriptionnelle minime) a néanmoins établi que l'exposition des modèles Huntington à un environnement enrichi restaure l'expression de gènes impliqués dans la croissance des neurites et la signalisation glutamatergiques (Novati *et al* 2018). Enfin, des travaux ont déterminé que le microbiote intestinal qui est différent entre les souris sauvages et R6/1 modèles de la MH, est modifié suite à l'exposition à un environnement enrichi, laissant suggérer son implication dans les effets bénéfiques de l'EE (Gubert *et al* 2022).

2.2.3. Etiologie des effets bénéfiques de l'environnement

Les mécanismes impliqués dans la réponse des organismes aux modifications de l'environnement et son enrichissement ne sont pas complètement définis, plusieurs hypothèses et constats co-existent. Tout d'abord, l'activité physique modifie le métabolisme périphérique et central (Caldwell *et al* 2020, Sujkowski *et al* 2022). De plus, l'étude d'un modèle d'hypoperfusion cérébrale a permis d'observer que l'EE restaure les oscillations cérébrales et les niveaux de neuro-transmetteurs dans l'hippocampe, suggérant que le rôle

neuroprotecteur de l'EE puisse s'effectuer *via* le contrôle du flux de liquide céphalo-rachidien et des oscillations cérébrales (Zheng *et al* 2023). D'autres travaux suggèrent l'implication des rythmes circadiens ou encore du microbiote intestinal dans les effets neuroprotecteurs apportés par un environnement enrichi (Cuesta *et al* 2014, Gubert *et al* 2022, Gubert *et al* 2020). Enfin, une autre piste majeure suggère que les effets biologiques de l'EE passent par une modulation des mécanismes épigénétiques, définis comme des processus dynamiques et sensibles à l'environnement.

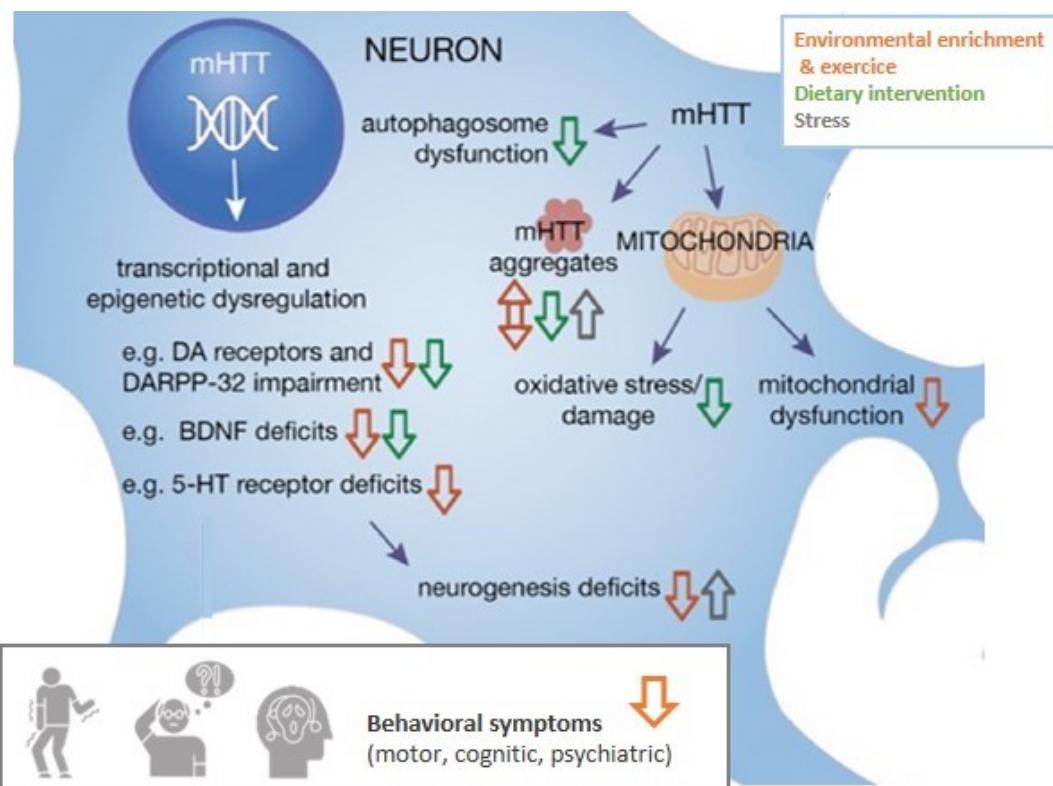


Fig. 29 Effets bénéfiques de l'EE dans le contexte de la MH

La modulation de l'exposome par l'activité physique, l'enrichissement environnemental ou l'intervention diététique permettent de diminuer la mise en place de marqueurs pathogéniques et symptômes comportementaux de la MH (Novati *et al* 2022).

3. Enrichissement environnemental et épigénétique

Les éléments de l'exposome, tels que l'activité physique, l'exposition à des polluants, le tabagisme ou encore le régime alimentaire influencent et modulent les mécanismes épigénétiques (Alegria-Torres *et al* 2011). Par exemple, la consommation d'un régime alimentaire à haute teneur lipidique ou le jeûne sont responsables d'une modification d'expression d'HDAC dans l'hypothalamus, résultant en des profils différents d'acétylation des histones selon le régime adopté (Funato *et al* 2011). Ainsi, de nombreuses études ont cherché

à définir si les effets bénéfiques de l'EE sur les mécanismes biologiques (*e.g* vieillissement) ou pathologiques (*e.g* maladies neurodégénératives) impliquent des régulations épigénétiques.

3.1. EE, horloges épigénétiques et vieillissement

Les horloges épigénétiques, basées sur le niveau de méthylation de l'ADN de certains gènes ([Introduction-II.2.2](#)), sont sensibles aux facteurs environnementaux. Le vieillissement peut être modulé selon les modes de vie et le contexte pathologique des sujets ; par exemple le tabagisme, l'activité physique, le niveau d'éducation ou encore le statut socio-économique sont autant de facteurs corrélant avec l'accélération ou le ralentissement de l'horloge épigénétique (Quach *et al* 2017, Oblak *et al* 2021, Duan *et al* 2022). Dans ces études, le statut de l'horloge épigénétique a été déterminé à partir de prélèvements sanguins des sujets, ce qui laisse de nombreuses questions ouvertes, à savoir notamment si tous les organes et types cellulaires répondent de façon comparable à l'exposome et au vieillissement associé.

Dès les années 2000, des études ont démontré l'effet anti-âge de la restriction calorique, qui permet de modifier le métabolisme et les profils d'expression des gènes associés au vieillissement (Lee *et al* 1999). Plus récemment, des travaux ont déterminé que la restriction calorique module le vieillissement cérébral. En effet, l'hippocampe de souris exposées une restriction alimentaire témoigne d'une modification des niveaux de méthylation de l'ADN, d'un rajeunissement des horloges épigénétiques, et des modifications transcriptionnelles associées (Yin *et al* 2022). Maegawa et coll. ont notamment observé que suite à une restriction calorique, les marqueurs sanguins de méthylation de l'ADN confèrent à des macaques rhesus, un âge épigénétique de 7 ans inférieur à leur véritable âge biologique (Maegawa *et al* 2017).

L'EE, hors régime alimentaire, possède également des effets sur le vieillissement. En 2021, Zocher et coll. définissent les profils de méthylation de l'ADN dans le gyrus denté de souris ayant été hébergées en environnement enrichi. Les auteur·ices concluent que l'EE ralentit le vieillissement et les horloges épigénétiques en préservant la méthylation de l'ADN sur des sites cibles de Mecp2, et sur des gènes associés à la plasticité neuronale et la neurogenèse adulte dont l'expression est normalement dérégulée avec l'âge (Zocher *et al* 2021).

Enfin, cet effet anti-âge de l'EE n'est pas limité aux modèles animaux. Plusieurs études utilisant des protocoles d'enrichissement complets constitués notamment d'un contrôle du régime alimentaire et du sommeil, d'une augmentation de l'activité physique, de sessions de relaxation guidée, ou encore d'aliments probiotiques, ont été réalisées sur des cohortes de sujets humains. Ces travaux confirment qu'un tel enrichissement environnemental permet de ralentir la méthylation des gènes de l'horloge épigénétique et le vieillissement cellulaire (Fiorito *et al* 2021, Fitzgerald *et al* 2021).

3.2. EE et régulations épigénétiques de la cognition

Les mécanismes de plasticité cérébrale et les performances cognitives sont également sensibles à l'environnement. L'activité physique est notamment responsable d'une modulation de la méthylation de l'ADN et de l'acétylation des histones dans l'hippocampe, du contrôle épigénétique de l'expression de BDNF, ou encore de la production de miARN impliqués dans les processus de mémoire (Fernandes *et al* 2017). Notamment, l'exposition régulière de souris à une tâche de nage augmente l'expression de l'enzyme acétyl-transférase CBP et l'acétylation des histones dans l'hippocampe. De plus, lors d'un test de conditionnement de peur au contexte, ces animaux présentent une augmentation de l'acétylation des marques d'histones H3K9ac, H4K5ac et H4K12ac et de l'expression de c-Fos dans l'hippocampe, signifiant que la modulation épigénétique par l'EE participe à l'activation accrue des neurones, qui corrèle avec une amélioration des performances mnésiques (Zhong *et al* 2016).

L'étude de modèles animaux lésionnels ou pathologiques a permis de mettre en évidence le rôle central des régulations épigénétiques dans les processus moléculaires de l'enrichissement. En 2007, Fischer et coll. déterminent que l'EE permet de restaurer des comportements d'apprentissage et de mémoire chez des animaux ayant subi une perte neuronale et une atrophie cérébrale. Ces effets de l'environnement impliquent une augmentation de l'acétylation des histones H3K14, H3K9 et H4K5 -définie par western blot-dans le cortex et l'hippocampe. De plus, ils peuvent être reproduits par l'administration d'inhibiteurs de HDAC, qui induisent une arborisation dendritique, une augmentation du nombre de synapses et un sauvetage des performances cognitives, suggérant le rôle central de l'acétylation des histones dans les effets biologiques de l'enrichissement environnemental (Fischer *et al* 2007).

Par conséquent, des travaux ont cherché à davantage définir les enzymes et facteurs de transcription jouant un rôle clé dans cette adaptation épigénétique à l'environnement. Lopez-Atalaya et coll. ont étudié -par puce à ADN- la signature transcriptomique d'un modèle murin déficient pour CBP, et ont pu conclure que cette enzyme HAT est essentielle aux bénéfices cognitifs et moléculaires de l'EE. CBP est notamment nécessaire aux processus de neurogenèse induite par l'environnement enrichi (Lopez-Atalaya *et al* 2011). Des études épigénétiques -par ChIP-PCR- réalisées sur les rats âgés ont également observé que l'EE permet de moduler l'acétylation des histones au niveau de gènes cibles du facteur de transcription NF- κ B, impliqués dans les processus de plasticité et de mémoire hippocampo-dépendante (Neidl *et al* 2016).

L'ensemble de ces travaux basés sur des approches de puces à ADN et ChIP-PCR ont permis de cibler des voies et mécanismes moléculaire précis, cependant des approches à l'échelle du génome entier par les technologies de séquençage actuelles, en différenciant les régions cérébrales et les types cellulaires, sont nécessaires pour décrypter les effets épigénétiques et transcriptionnelles de l'EE sur la cognition. Par exemple, Zhang et coll. ont déterminé que l'EE module la méthylation de l'ADN et la transcription de gènes tels que NeuroD1, impliqués dans la neurogenèse hippocampique, ce qui suggère leur rôle dans les effets comportementaux bénéfique de l'EE (Zhang *et al* 2018). Egalement, l'analyse par ATAC-seq des régions de la chromatine rendues accessibles par l'EE dans les neurones corticaux de souris -isolés par FANS- a permis d'identifier le rôle du facteur de transcription Mef2 dans la résilience cognitive induite par l'enrichissement, suggérant son rôle biomarqueur pour l'étude du vieillissement et des pathologies neurodégénératives (Barker *et al* 2021).

3.3. EE et miARN

Les effets épigénétiques de l'environnement enrichi affectent également les miARN (Ferrante et Conti 2017). Notamment, l'activité physique permettant de restaurer les déficits cognitifs induits par des traumatismes crâniens, restaure l'expression de miARN dans l'hippocampe, laissant suggérer leur rôle dans les mécanismes de récupération (Bao *et al* 2014). Pan-vazquez et coll. ont également démontré que l'hébergement en milieu enrichi et l'activité physique réduisent, dans l'hippocampe, la production du miARN miR-124, induisent une baisse de méthylation de l'ADN et une augmentation de l'expression du gène codant pour le récepteur aux glucocorticoïdes Nr3c1. Les auteur·ices de cette étude suggèrent ainsi que

l'EE, via les modifications épigénétiques sous-jacentes permet d'améliorer la résilience au stress des animaux (Pan-vazquez *et al* 2015).

Enfin, les miARN sont impliqués dans la transmission intergénérationnelle des effets de l'EE. En 2018, Benito et coll. démontrent que l'amélioration des performances cognitives et de la plasticité synaptique induite par l'environnement enrichi, se transmet à la descendance, ceci *via* une modification des miARN présents dans les cellules germinales (Benito *et al* 2018).

Bien que l'EE permette de ralentir l'apparition et la progression des symptômes associés à la MH, peu d'études ont exploré son rôle sur les dérégulations épigénétiques et transcriptionnelles. L'étude de Dubois et coll. a permis la caractérisation de petits ARN non codants dans le striatum complet de souris R6/1 à des stades précoce et avancés de la pathologie, après un enrichissement multiple : hébergement dans de grandes cages, présentant des objets changés régulièrement, et un groupe social de 4 à 8 animaux. Bien que l'EE permette de limiter en partie les altérations motrices des animaux, les auteurs n'ont pu mettre en évidence aucun effet sur l'expression des ARN non codants dans le striatum Huntington, suggérant que cette composante de la dérégulation épigénétique Huntington n'est pas corrigée par l'EE (Dubois *et al* 2021).

Ainsi, le développement de nouvelles approches épigénomiques ([Introduction-II.3.3](#)) est nécessaire pour caractériser davantage les effets épigénétiques de l'EE dans le contexte Huntington, et ceci avec une meilleure précision. L'enjeu, par l'utilisation de ces approches non biaisées qui interrogent l'ensemble du génome, est de décrypter les mécanismes impliqués dans la résilience cellulaire, de manière à identifier de nouvelles pistes thérapeutiques pour la MH.

.... OBJECTIFS DE LA THESE / PROJET

La MH est une pathologie neurodégénérative génétique rare qui reste à l'heure actuelle incurable. Malgré des efforts importants mis en œuvre pour développer des thérapies efficaces et les nombreux essais cliniques en cours (Estevez-Fraga *et al* 2024), les innovations technologiques pour ralentir la mise en place de la pathologie s'avèrent pour le moment insuffisantes, notamment par leur manque de spécificité. Dans ce contexte, il reste essentiel de comprendre davantage les mécanismes biologiques impliqués dans la physiopathologie de la MH, de façon à identifier de nouveaux facteurs et voies moléculaires clés dans la pathogenèse qui permettraient d'identifier des cibles thérapeutiques.

Les dérégulations biologiques sont nombreuses dans la MH, aboutissant à la dégénérescence des neurones épineux moyens du striatum. Parmi celles-ci, les mécanismes épigénétiques et transcriptionnels comptent parmi les processus très précocement dérégulés qui contribuent à la perte de fonction des neurones du striatum ([Introduction-II.4](#)). Les études épigénétiques réalisées notamment dans l'équipe d'accueil, couplées aux études transcriptomiques, ont permis de montrer une baisse progressive de l'expression des gènes de l'identité neuronale, couplée à une perte d'acétylation des histones (notamment H3K27ac) dans le striatum de souris modèles de la MH (Hodges *et al* 2008, Vashishtha *et al* 2013, Achour *et al* 2015, Langfelder *et al* 2017, Alcala-Vida *et al* 2021). Ces travaux suggèrent que dans la MH une reprogrammation épigénétique et transcriptionnelle est responsable d'une perte d'identité des MSNs, conduisant *in fine* à leur dysfonctionnement et à leur dégénérescence. Egalement, les profils de méthylation de l'ADN des horloges épigénétiques témoignent d'une dérégulation épigénétique au cours du vieillissement cérébral plus importante en condition Huntington que contrôle (Horvath *et al* 2016). Ces résultats suggèrent que les tissus cérébraux vulnérables à la mutation Huntington présentent un vieillissement épigénétique accéléré.

Comme détaillé plus tôt ([Introduction-II.2.2](#)), les travaux récents du groupe de D. Sinclair montrent que le vieillissement cellulaire est causé par une perte d'identité des cellules due à une reprogrammation épigénétique. Ce mécanisme, à l'origine du concept d'exdifférenciation, se traduit par une perte d'expression des gènes d'identité cellulaire, associée à une dérépression de gènes développementaux normalement réprimés dans les cellules différenciées (JH.Yang *et al* 2023). Compte tenu de la nature des signatures épigénétiques et transcriptionnelles identifiées dans le contexte Huntington, nous avançons l'hypothèse qu'un mécanisme d'accélération du processus d'exdifférenciation pourrait être à

l'origine de la vulnérabilité neuronale dans la MH, en particulier de la vulnérabilité des MSNs du striatum. Nos analyses précédentes manquant de précision, notamment cellulaire et temporelle, afin d'explorer cette hypothèse, nous avons générée de nouvelles données épigénomiques ciblant les populations neuronales et non neuronales du striatum de souris modèles de la MH et couvrant plus largement les différents stades de la pathologie chez la souris.

De nombreuses études ont démontré un effet bénéfique de l'enrichissement environnemental (EE) sur les symptômes comportementaux des patient·es et des modèles murins de la MH (Novati *et al* 2022). Par ailleurs, il est documenté que l'EE peut ralentir le vieillissement cellulaire et permet de moduler certains mécanismes de régulation épigénétique essentiels aux fonctions cognitives (*e.g.* activation de CBP essentielle à la neurogenèse et aux processus de plasticité synaptique)(Fiorito *et al* 2021, Fitzgerald *et al* 2021, Fischer *et al* 2007, Lopez-Atalaya *et al* 2011, Zhang *et al* 2018). Ainsi, nous avons fait l'hypothèse que l'EE permet de contrer les altérations épigénétiques et transcriptionnelles des neurones vulnérables dans la MH et permet ainsi de ralentir leur vieillissement, en activant possiblement des mécanismes de résilience cellulaire et/ou de neuroprotection, qui pourraient constituer de nouvelles cibles thérapeutiques.

Ainsi, pour décrypter plus spécifiquement les signatures épigénétiques du striatum Huntington, explorer l'hypothèse d'un vieillissement accéléré, et identifier les facteurs moléculaires clés pour la dérégulation épigénétique Huntington -constituant des cibles thérapeutiques d'intérêt, pouvant être modulées par l'EE- mon projet de thèse s'est divisé en 2 axes principaux.

Axe 1 : Caractérisation épigénétique du striatum Huntington murin au cours du temps et de façon cellule-spécifique afin d'étudier l'hypothèse d'un vieillissement accéléré.

Pour décrypter spécifiquement l'épigénome des neurones, et des autres types cellulaires du striatum Huntington, nous avons établi un protocole permettant de trier les noyaux striataux par FANS (*fluorescently activated nuclei sorting*) -selon la présence/absence du marqueur neuronal NeuN- suivi d'approche épigénétique d'immunoprécipitation de la

chromatine (ChIPseq)(Alcala-Vida *et al* 2021). En parallèle, nous avons implémenté et optimisé le protocole récent de CUT&Tag pour le rendre compatible avec le tri de neurones par FANS.

Ce premier projet a consisté en la caractérisation de plusieurs modifications post-traductionnelles d'histones (H3K27ac, H3K9ac, H3K18ac, H3K27me3) dans les neurones (NeuN+) et la glie (NeuN-) du striatum de modèles murins Huntington (R6/1 et *knock-in* Q140), à différents stades de la pathologie de manière à définir la cinétique de la dérégulation épigénétique associée à la MH. Cette analyse temporelle a été effectuée à l'aide du modèle *knock-in* Q140, chez qui l'évolution de la pathologie est très progressive en comparaison aux souris transgéniques R6/1 ([Introduction-I.5](#)). Trois âges ont été étudiés (2, 6 et 10mois), correspondant respectivement à des stades prodromal, symptomatique précoce et symptomatique avancé. Les marques épigénétiques ciblées ont été choisies d'après leur rôle dans le contrôle de l'identité cellulaire et leur implication dans la signature épigénétique du vieillissement (H3K27ac et H3K27me3, Achour *et al* 2017, Alcala-Vida *et al* 2021, JH.Yang *et al* 2023), dans la mise en place des déficits cognitifs dans le striatum Huntington (H3K9ac, Alcala-Vida, Lotz *et al* [annexe2](#)) ou par leur sensibilité au métabolisme cellulaire (H3K18ac, Lee *et al* 2014, Lee *et al* 2021).

A travers cette étude il s'est agi de définir si les neurones striataux exprimant la mutation Huntington subissent un vieillissement épigénétique accéléré. Nous avons également cherché à déterminer quels en sont les mécanismes sous-jacents.

Axe 2 : Impact de l'EE sur le comportement et les régulations épigénétiques et transcriptionnelles striatales de souris modèles de la MH.

Afin d'étudier le rôle des mécanismes épigénétiques dans le bénéfice associé à un enrichissement de l'environnement chez des souris modèles de la MH, nous avons intégré au laboratoire le dispositif de cage MARLAU (Fares *et al* 2012). Cet EE permet de pallier à la variabilité des protocoles d'enrichissement, et constitue un environnement standardisé dans lequel les animaux sont stimulés cognitivement, sont impliqués dans un groupe social large et ont un accès continu à des roues d'activité de façon à stimuler leur activité physique (AP). Différentes composantes comportementales des souris R6/1 ont été testées après un hébergement de 9 semaines dans la cage Marlauf afin de valider le protocole et d'évaluer

l'impact de cet EE sur la progression des phénotype comportementaux. Une batterie de tests évaluant le bien-être et la motivation (test de nidification, préférence à la saccharine), l'anxiété et les fonctions exploratoires (boite claire/obscur, champ ouvert), l'activité et les capacités motrices (actimétrie, champ ouvert, test de la barre) et les capacités cognitives de mémoire procédurale (Rotarod accélérant et labyrinthe en double-H) ont été réalisés. Les tissus des animaux enrichis et contrôles ont été étudiés par RNAseq de manière à définir l'impact de l'EE sur les signatures transcriptionnelles du striatum Huntington. Des analyses épigénomiques (FANS-CUT&Tag) ciblant les marques H3K27ac et H3K9ac dans les neurones striataux sont actuellement en cours.

En complément de ces 2 axes principaux, j'ai pu contribuer au cours de cette thèse à la caractérisation épigénétique de striatum Huntington de façon plus globale. J'ai notamment participé à l'analyse de données générées dans le laboratoire avant mon arrivée et à la rédaction d'un article qui en a découlé, où l'étude consistait à déchiffrer le rôle des mécanismes épigénétiques dans les altérations cognitives associées à la MH, chez des souris modèles de la maladie. Particulièrement, nous avons étudié le striatum de souris exposées à une tâche de mémoire dépendant du striatum (mémoire égocentrique spatiale). Les données montrent que le déficit de mémoire égocentrique observé chez les souris R6/1 corrèle avec des altérations épigénétiques -impliquant notamment H3K9ac- et transcriptionnelles majeures, régulant l'expression de gènes impliqués dans la plasticité cérébrale (Alcala-Vida, Lotz *et al*, [annexe2](#)).

..... **RESULTATS**

Axe 1 :

Caractérisation épigénétique du striatum Huntington murin au cours du temps et de façon cellule-spécifique afin d'étudier l'hypothèse d'un vieillissement accéléré.

L'acquisition et l'analyse des données obtenues dans cet axe ont été compilées sous la forme d'un article qui a été récemment soumis pour révision.

Accelerated epigenetic aging in Huntington's disease involves polycomb repressive complex 1

Baptiste Brulé¹⁻³, Rafael Alcalá-Vida^{1-3,4}, Noémie Penaud¹⁻³, Jil Scuto¹⁻³, Jonathan Seguin¹⁻³, Sina Vincent Khodaverdian^{3,5}, Brigitte Cosquer¹⁻³, Etienne Birmelé^{3,5}, Stephanie Le Gras^{3,6-8}, Charles Decraene¹⁻³, Anne-Laurence Boutillier¹⁻³, Karine Merienne^{1-3,*}

¹ Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives (LNCA), Strasbourg 67000, France

² Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS, UMR 7364), Strasbourg 67000, France

³ University of Strasbourg, France

⁴ Current address: Instituto de Neurociencias (Universidad Miguel Hernandez - Consejo Superior de Investigaciones Científicas). Av. Santiago Ramón y Cajal s/n. Sant Joan d'Alacant, 03550 Alicante, Spain.

⁵ SIRMA, Strasbourg, France

⁶ Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Strasbourg, France

⁷ CNRS UMR7104, Strasbourg, France

⁸ INSERM U1258, Strasbourg, France

* Corresponding author: karine.merienne@unistra.fr

Summary

Loss of epigenetic information during physiological aging compromises cellular identity, triggering derepression of developmental genes. Here we assessed the epigenomic landscape of vulnerable neurons in two reference mouse models of Huntington neurodegenerative disease (HD), through celltype-specific multi-omics, including temporal analysis at three disease stages using FANS -CUT&Tag. We show accelerated de-repression of developmental genes in HD striatal neurons, which involves general histone re-acetylation and depletion of H2AK119 ubiquitination and H3K27 trimethylation marks, catalyzed by polycomb repressive complexes 1 and 2 (PRC1 and PRC2), respectively. We further identify PRC1-dependent subcluster of bivalent developmental transcription factors that is more selectively re-activated in HD striatal neurons. The mechanism might implicate progressive paralog switching between PRC1-CBX genes, which promotes upregulation of normally lowly expressed PRC1-CBX2/4/8 isoforms in striatal neurons together with down-regulation of predominant PRC1-CBX isoforms in those cells (e.g. CBX6/7). Collectively, our data provide evidence for PRC1-dependent accelerated epigenetic aging in HD vulnerable neurons.

Keywords: Huntington's disease, epigenetic, histone, aging, PRC1 PRC2

Introduction

Huntington's disease (HD) is a genetic, progressive neurodegenerative disease, which manifests with characteristic motor, cognitive and psychiatric symptoms that arise generally at midlife and progress during 10 to 15 years, with subtle signs that can appear decades earlier. The disease is caused by an abnormal expansion of CAG trinucleotide repeats in the Huntington (*HTT*) gene, which produces mutant HTT with polyglutamine expansion (polyQ)^{1,2}. Specific neurons, particularly direct and indirect spiny projection neurons (dSPN and iSPN, respectively) in the striatum, representing >95% of striatal neurons, are highly vulnerable to the HD mutation^{3,4}. Molecular underpinning of striatal neuron vulnerability in HD remains elusive.

Epigenetic alteration is a key hallmark of cellular aging^{5,6}. Recent study shows that cellular aging is caused by loss of cellular identity resulting from erosion of epigenetic information, so-called exdifferentiation⁷. Histone modifications, including the active mark H3K27 acetylation (H3K27ac) and the repressive mark H3K27 trimethylation (H3K27me3), were used as proxy to assess exdifferentiation, which is characterized by de-repression of non-lineage-specific genes, particularly developmental genes, and repression of cellular identity genes, both mechanisms contributing to cellular identity loss⁷.

Epigenomic analyses in bulk HD striatal tissue show early loss of H3K27ac at striatal superenhancers -broad enhancers regulating cellular identity genes, which results in transcriptional downregulation of their targets, striatal identity genes⁸⁻¹². However, due to lack of cellular and temporal resolutions of earlier analyses, it was unclear whether HD vulnerable neurons undergo accelerated epigenetic aging, including accelerated de-repression of developmental genes.

Here, we investigated HD striatal epigenetic landscape using fluorescence-activated nuclei sorting (FANS) coupled to ChIPseq or CUT&Tag. We profiled neuronal and non-neuronal striatal cells in two reference HD mouse models, R6/1 transgenic and Q140 knockin (KI) mice, showing distinct disease progressions. Additionally, we performed temporal analysis at 3 ages, corresponding to prodromal, early and advanced pathological stages in HD Q140 mice. We targeted H3K27me3, histone acetylation marks (e.g. H3K27ac, H3K9ac, H3K18ac) as well as H2AK119ub, since our analyses highlighted altered regulation of PRC1 subunits in HD striatal

neurons. Our data show that the HD mutation accelerates loss of epigenetic information associated with cellular aging in striatal neurons of HD mice. Particularly, epigenetic de-repression of developmental genes is dramatically accelerated and our data indicate that the mechanism involves PRC1 through paralog switching among PRC1-CBX genes. Together, our data support the view that PRC1-mediated accelerated epigenetic aging is a key mechanism underlying striatal neuron vulnerability in HD.

Results

Developmental genes are de-repressed in HD striatal neurons

To investigate the epigenetic status of developmental genes in HD striatal cells, we generated ChIPseq or CUT&Tag data on NeuN+ and NeuN- nuclei prepared from striatal tissue of symptomatic HD R6/1 transgenic and control mice (Fig. 1a and Extended data Fig. 1a,b). We first focused on cellular identity-associated marks (i.e. H3K27ac and H3K27me3), which were recently used to assess epigenetic aging⁷. Consistent with earlier bulk H3K27ac ChIPseq analyses, in R6/1 mice, H3K27ac signals in striatal neurons was reduced at neuronal-specific enhancers and striatal neuron identity genes, under the control of super-enhancers, which associated with limited H3K27me3 changes (Fig. 1b and Extended Data Fig. 1b). Remarkably, loss of H3K27ac at cellular identity genes/super-enhancers, a feature of cellular aging, was specific to R6/1 striatal neurons, since it was not observed in R6/1 NeuN- samples at glial-specific enhancers or glial identity genes, suggesting neuronal-specific mechanism (Fig. 1b and Extended Data Fig. 1b).

Further, differential analysis showed thousands of H3K27ac differentially enriched regions (DER) in R6/1 vs WT neurons (NeuN+), including both depleted and enriched regions, whereas few DER were identified (<100) between R6/1 and WT non-neuronal cells (NeuN-) (Fig. 1c and Supplementary Table 1). H3K27me3 ChIPseq data revealed similar pattern, with hundreds of DER in R6/1 vs WT neurons, and almost no change in NeuN- cells (Fig. 1c and Supplementary Table 1). These data show that epigenetic dysregulation is greater in neurons compared to non-neuronal cells (e.g. glial cells) in HD mouse striatum. Integration with transcriptomic data generated in dSPN and iSPN of R6/2 line¹¹, a sister model to R6/1 mouse¹³, showed that down-regulated genes in dSPN and iSPN expressing the HD gene were

depleted in H3K27ac and enriched in H3K27me3, while up-regulated genes were enriched in H3K27ac and depleted in H3K27me3 (Fig. 1d). Thus, as expected, H3K27ac and RNA changes in HD mouse striatal neurons were positively correlated, whereas H3K27me3 and RNA changes were anti-correlated.

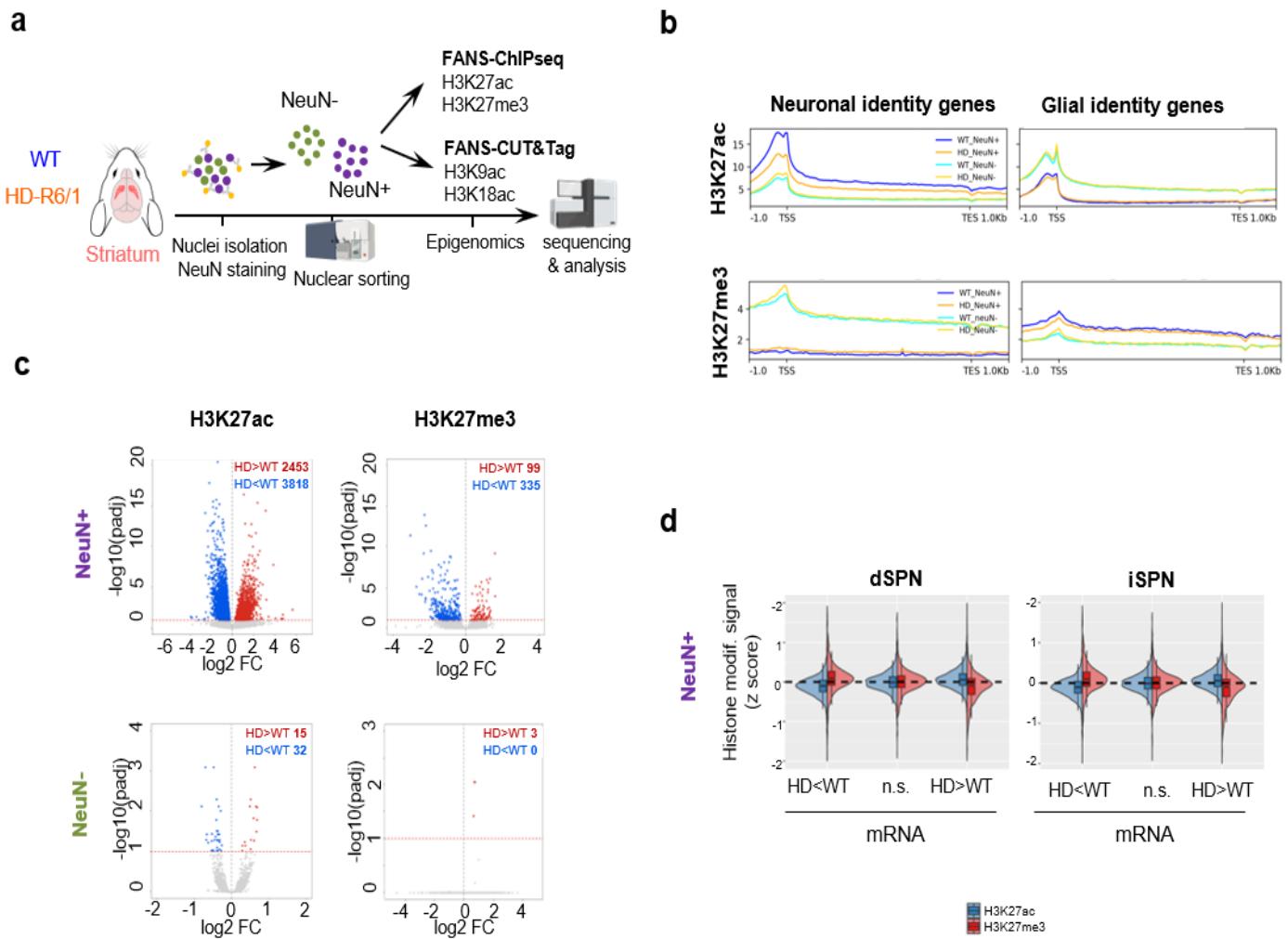


Fig. 30 / Fig.1 Cellular identity-associated histone marks are specifically altered in striatal neurons of HD mice.

a. Scheme illustrating FANS-ChIPseq and FANS-CUT&Tag experiments conducted on R6/1 and WT mice. **b.** Metaprofiles showing H3K27ac and H3K27me3 mean signals in WT and R6/1 NeuN+ and NeuN- nuclei, along neuronal (left) and glial (right) identity genes in mouse striatum. Striatal neuron and glial identity genes by 9. **c.** Volcano plots showing H3K27ac (left) and H3K27me3 (right) differentially enriched regions in R6/1 vs WT for NeuN+ (top) and NeuN- (bottom) samples. Decreased and increased regions in R6/1 vs WT are represented in blue and red, respectively (DESeq2 method, adj. Pval<0.1). **d.** R6/1 NeuN+ H3K27ac (blue) and H3K27me3 (red) ChIPseq signals in down-regulated(HD<WT), Non-significantly changed (n.s.) or up-regulated (HD>WT) genes in dSPN (left) and iSPN (right) of HD R6/2 mice. Integration with RNAseq data by ¹¹.

We then performed functional enrichment analysis, which revealed that H3K27me3-depleted genes in R6/1 vs WT striatal neurons were particularly enriched in biological processes (GO BP) related to neuronal development and differentiation, including “generation of neurons”, “neuron differentiation” and “nervous system development” (Fig. 2a). Analyses using transcription factor (ChEA) and HD-related signature (HDsigDB) databases further indicated that H3K27me3-depleted genes were regulated by PRC1 (e.g. RNF2, RING1B) and PRC2 (e.g. SUZ12, JARID2) and presented bivalent signature (i.e. enriched in both H3K27me3 and H3K4me3) (Fig. 2b and Extended Data Fig. 2a). H3K27ac-increased genes in HD neurons also showed developmental signature (Extended Data Fig. 2b). Further, 42% of H3K27me3-depleted genes in HD neurons also gained H3K27ac (Fig. 2c), identifying subset of 125 euchromatinized genes linked to neurodevelopment (Fig. 2d,e and Extended Data Fig. 2c). Those 125 genes were significantly up-regulated in dPSN and iSPN of HD mice (Fig. 2f).

We further defined histone acetylation landscape of striatal neurons in R6/1 mice, generating H3K9ac and H3K18ac FANS-CUT&Tag data (Fig. 1a, Extended Data Fig. 2d,e,f and Supplementary Table 1). The CUT&Tag protocol¹⁴ was optimized to enable sample processing after FANS (Methods). The data showed that H3K9ac and H3K18ac, in addition to H3K27ac, were increased at the 125 neurodevelopment-related genes in HD mice, suggesting general histone re-acetylation and decreased H3K27me3 contributes to their transcriptional de-repression (Fig. 2f,g). Moreover, functional enrichment analysis supported strong overlap between development-related genes showing increased H3K9ac, H3K18ac and H3K27ac in R6/1 vs WT striatal neurons (Fig. 2h). Epigenetic de-repression of developmental genes in R6/1 mouse striatal neurons is exemplified with the developmental transcription factor *Onecut1* and its upstream regulator *Pax6*¹⁵ (Fig. 2i and Extended data Fig. 2g). Supporting the results, *Onecut1* and *Pax6* were transcriptionally increased in the striatum of HD mice, particularly in iSPN (Fig. 2j and Extended data Fig. 2h). Interestingly, *ONECUT1* and *PAX6* were also upregulated in dSPN and iSPN of HD patients and in vulnerable cortical neurons in Layer 5a, in contrast to resilient Betz cells in layer 5 (Fig. 2k)^{16,17}. Together, our data indicate that the HD gene leads to heterochromatinization of identity genes and euchromatinization of developmental genes in vulnerable neurons, suggesting the HD gene triggers aging-like loss of epigenetic information.

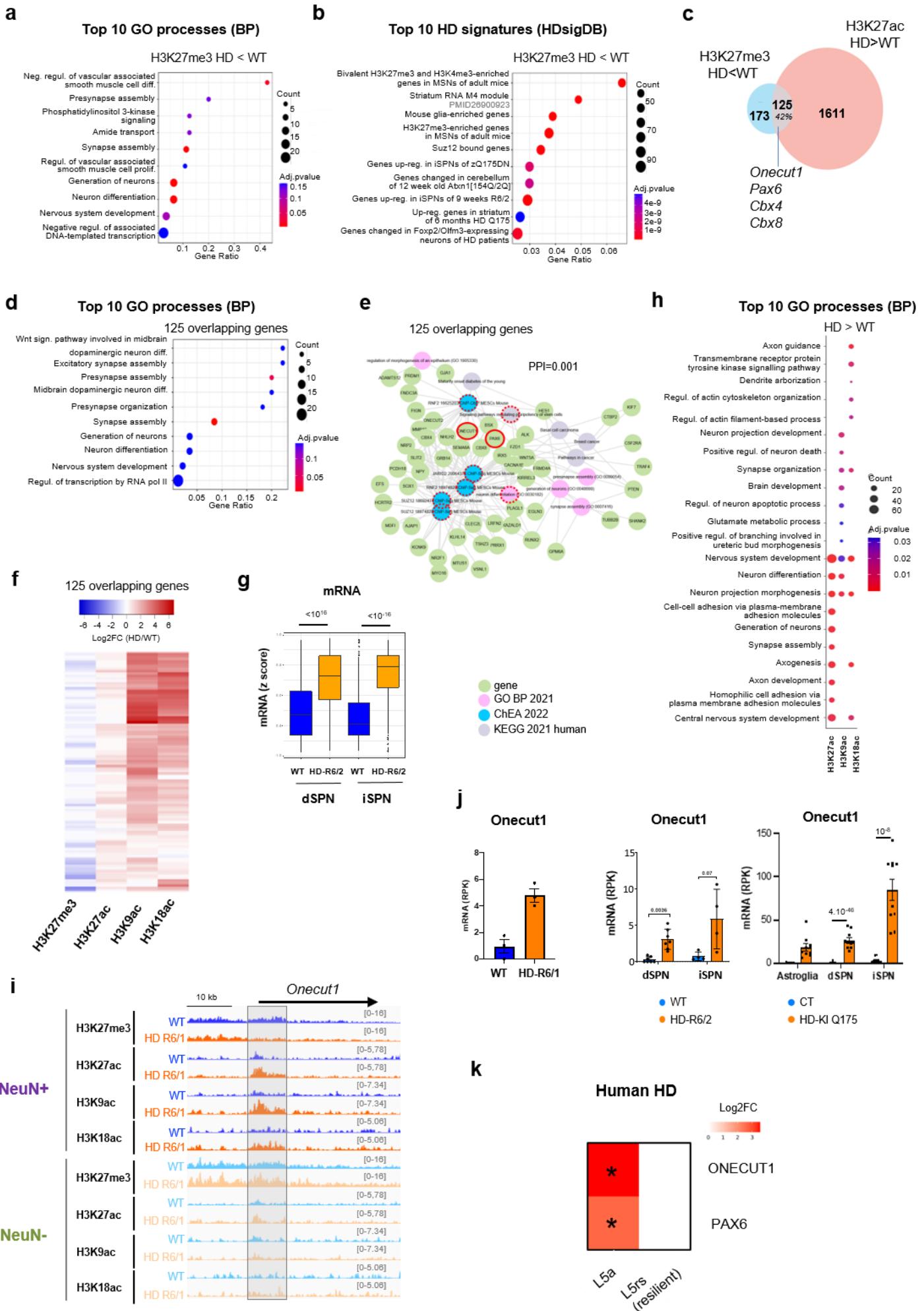


Fig.31/ Fig.2 Developmental genes are epigenetically de-repressed in striatal neurons of HD mice

a. Top 10 gene ontology (GO) processes (biological processes, BP) enriched in H3K27me3-depleted regions in R6/1 vs WT NeuN+ samples. **b.** Top 10 HD-related signatures (HDSigDB database) enriched in H3K27me3-depleted regions in R6/1 vs WT NeuN+ samples. **c.** Overlap between H3K27me3-depleted (HD<WT, blue) and H3K27ac-enriched (HD>WT, red) genes in R6/1 NeuN+ samples. 125 genes, representing 42% of H3K27me3-depleted genes, are enriched in H3K27ac. Overlapping genes include *Onecut1*, *Pax6*, *Cbx4* and *Cbx8*. **d.** Top 10 gene ontology (GO) processes (biological processes, BP) enriched in 125 overlapping genes. **e.** Network functional analysis of 125 overlapping genes. Green dots represent the 125 genes, blue dots, enriched regulatory transcription factors identified by ChEA analysis, pink dots, enriched BP and grey dots, enriched KEGG pathways. PPI (protein protein interaction), statistics showing the strength of the network. Dot-circled terms are related to *Onecut1* and *Pax6*. **f.** Boxplots showing z-scores of expression values for the 125 overlapping genes in dSPN (left) and iSPN (right) in WT and HD R6/2 mice. RNAseq data in 11. Statistical analysis was performed using Kruskal-Wallis test and Bonferroni correction for multiple testing. **g.** Heatmap representing R6/1 vs WT log2FC in H3K27me3, H3K27ac, H3K9ac and H3K18ac NeuN+ samples at the 125 H3K27me3-depleted and H3K27ac-enriched overlapping genes. **h.** Top 10 gene ontology (GO) processes (biological processes, BP) enriched in H3K27ac, H3K9ac and H3K18ac-increased regions in R6/1 vs WT NeuN+ samples. **i.** IGV genome browser capture showing H3K27me3, H3K27ac, H3K9ac and H3K18ac signals in R6/1 and WT NeuN+ and NeuN- samples at *Onecut1* gene locus. The grey box highlights *Onecut1* promoter. **j.** mRNA levels of *Onecut1* in bulk striatal tissue of R6/1 and WT mice (left, RNAseq data by ⁷⁰), in dSPN and iSPN of R6/2 and WT mice (middle, RNAseq data by ¹¹) and in striatal astroglia, dSPN and iSPN of Q175 knockin (HD-KI-Q175) and control (CT) mice (right, RNAseq data by ¹¹). mRNA levels, reads per kilobases (RPK). Statistics show adj. Pval, multiple testing correction was performed using the Benjamini-Hochberg method. **k.** Heatmap showing *ONECUT1* and *PAX6* log2FC in cortical L5a vulnerable (L5a) and L5 resilient Betz cells (L5rs) of HD patients vs control individuals. *, adj. Pval <0.05 (RNAseq data and statistics by ¹⁶).

Bivalent promoters are de-repressed in HD striatal neurons

Above analyses predict that genes susceptible to euchromatinization in HD striatal neurons are regulated by bivalent promoters. To test the hypothesis, we carried out kmeans clustering analysis using striatal H3K4me3 and H3K27me3 ChIPseq data, which allowed the identification of bivalent cluster strongly enriched in PRC1/PRC2-regulated developmental genes, including *Onecut1* and *Pax6* (Fig. 3a-c, Extended Data Fig. 3a and Supplementary Table 2). The result is consistent with studies showing that PRC2 and PRC1 frequently overlap at promoters of developmental genes that need to be repressed in mature differentiated cells¹⁸. Further, metaprofile analysis focused on bivalent gene promoters showed selective decrease in H3K27me3 and increase in histone acetylation in R6/1 vs WT striatal neurons, supporting specific euchromatinization of bivalent genes in HD vulnerable neurons (Fig. 3d and Extended Data Fig.3b). Integration with transcriptomic data strengthened the conclusion, showing transcriptional de-repression of bivalent genes, particularly in iSPN of HD mice (Fig. 3e,f and Extended Data Fig.3c). The mechanism underlying epigenetic de-repression of bivalent genes was specific to HD neurons, since non-neuronal cells showed an opposite tendency, i.e. increased H3K27me3 and reduced histone acetylation (Fig. 3d).

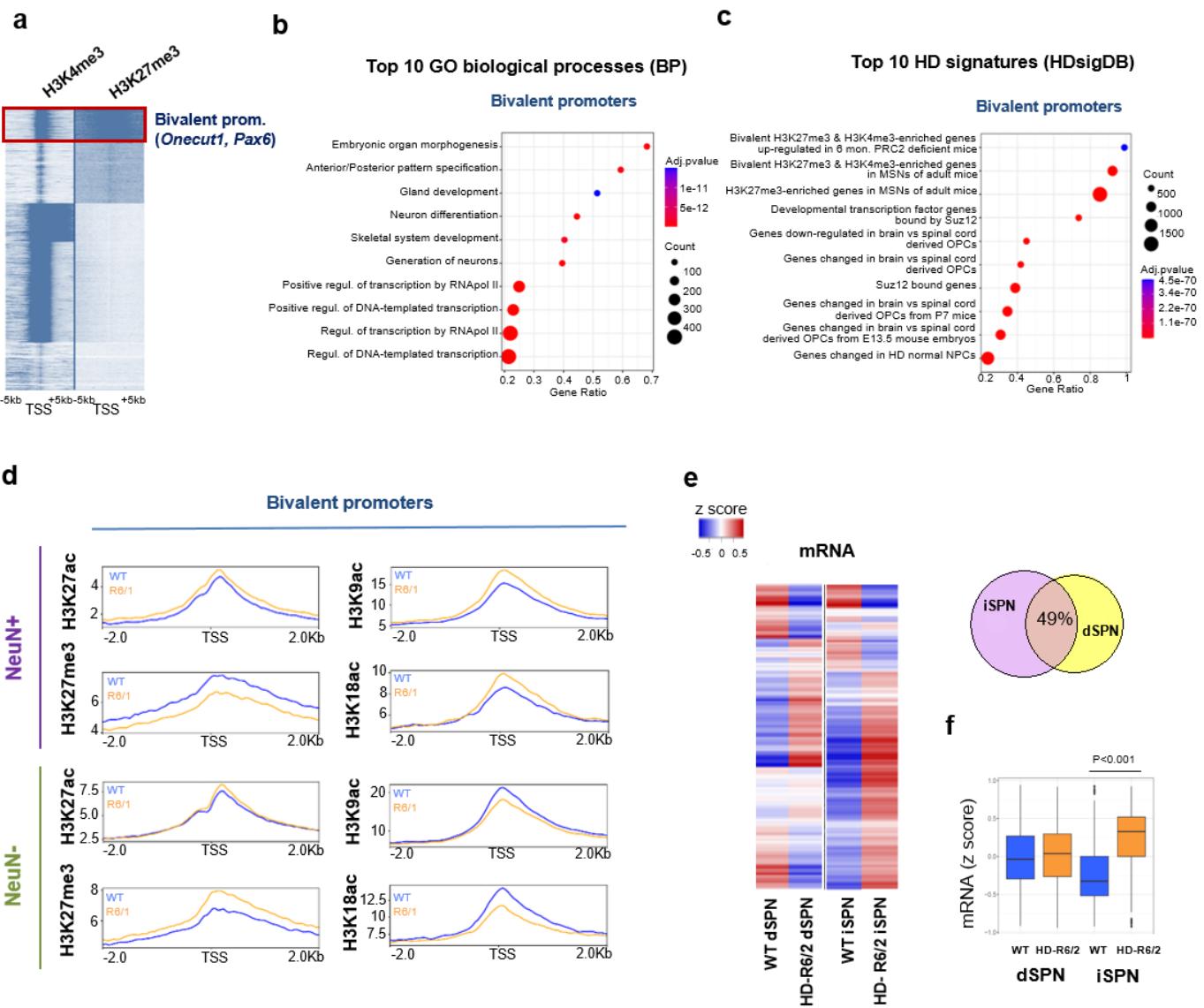


Fig. 32/Fig.3 Bivalent promoters are de-repressed in striatal neurons of HD mice

a. Heatmap of the 36,873 annotated mm10 RefSeq gene transcripts, integrating H3K4me3 and H3K27me3 gene profiles from striatal ChIPseq data, showing five distinct epigenetic profiles generated by kmeans clustering. TSS, transcription start site; TTS, transcription termination site. The red box highlights the cluster containing bivalent promoters, including *Onecut1* and *Pax6*. **b.** Top 10 gene ontology (GO) processes (biological processes, BP) enriched in the cluster of bivalent promoters. **c.** Top 10 HD-related signatures (HDsigDB database) enriched in the cluster of bivalent promoters. **d.** Metaprofiles showing H3K27ac, H3K27me3, H3K9ac and H3K18ac mean signals in WT (blue) and R6/1 (orange) NeuN+ and NeuN- samples at bivalent promoters. **e.** Left, Heatmap of z-score expression values of bivalent genes in R6/2 and WT dSPN and iSPN (RNAseq data by 11). Right, overlap between upregulated bivalent genes in R6/2 vs WT in iSPN and dSPN. 49% of increased bivalent genes in R6/2 dSPN are increased in R6/2 iSPN. **f.** Boxplot showing z-scores of expression values for bivalent genes in dSPN and iSPN in R6/2 and WT. RNAseq data by 11. Statistical analysis was performed using Kruskal-Wallis test and Bonferroni correction for multiple testing.

PRC1-CBX genes undergo paralog switch in striatal neurons of HD mice

Altered regulation of polycomb group (PcG) proteins, which are subunits of PRC1 and PRC2, might underlie euchromatinization of bivalent genes in HD striatal neurons. EZH1, the predominant enzymatic subunit catalyzing H3K27me3 in striatal neurons, was slightly reduced in HD mouse striatum, both at protein and mRNA levels (Extended Data Fig. 4a), suggesting impaired PRC2 activity might contribute to bivalent gene de-repression in HD vulnerable neurons. However, the other PRC2 subunits were not consistently changed (Extended Data

Fig. 4a). Additionally, although H3K27me3 is strongly correlated with low transcriptional activity, this PRC2-mediated histone modification alone is not sufficient for gene repression, in contrast to PRC1¹⁸.

Interestingly, we found that the top euchromatinized region in R6/1 vs WT striatal neurons, with most significant adjusted p-values for both depletion in H3K27me3 and enrichment in H3K27ac, was an enhancer located in the genomic region that contains PRC1 *Cbx2/4/8* paralogous genes, between *Cbx4* and *Cbx8* (Fig. 4a). Additional significant euchromatinized region was an enhancer located upstream of *Cbx4* promoter (Fig. 4a). *Cbx2*, *Cbx4* and *Cbx8* are substantially expressed in differentiating cells, including neural progenitor cells (NPC), and become down-regulated in differentiated cells¹⁹. Consistently, *Cbx2*, *Cbx4* and *Cbx8* expression was low in mature striatal neurons (Fig. 4b,c and Extended Data Fig. 4c). Euchromatinization of *Cbx2/4/8* enhancers in HD mouse vulnerable neurons correlated with transcriptional de-repression of *Cbx2*, *Cbx4* and *Cbx8* (Fig. 4b and Extended Data Fig. 4c). Supporting those results, CBX4 and CBX8 protein levels were increased in the striatum of HD mice (Fig. 4d). Further, IHF experiment showed that CBX8 was increased in striatal neurons of R6/1 vs WT mice (Fig. 4e). In contrast, we found that *Cbx6* and *Cbx7*, particularly *Cbx6*, are highly expressed in mature SPN and are thus predominant PRC1 CBX proteins in these neurons (Fig. 4b and Extended Data Fig. 4c). Strikingly, *Cbx6/7* are located in distinct genomic region compared to *Cbx2/4/8*, suggesting different regulatory mechanisms. In support to this hypothesis, CBX6 was reduced in the striatum of HD mice, essentially due to down-regulation in SPN, and CBX7 showed similar tendency (Fig. 4b,c,d and Extended Data Fig. 4c). Furthermore, *Cbx6* was depleted in H3K27ac in R6/1 striatal neurons (Extended Data Fig. 4d). Together, this indicates that PRC1-CBX genes undergo paralog switch in HD SPN, promoting stoichiometry observed in immature neurons.

Finally, temporal transcriptomic data generated on striatal tissue of HD knockin (KI) mice, including Q140 and Q175 lines¹⁰, showed progressive increased *Cbx4* and *Cbx8* and reduced *Cbx6* and *Cbx7* in HD mice, suggesting progressive PRC1-CBX paralog switch (Extended Data Fig. 4e). The mechanism appeared attenuated in the cortex, a tissue that is less affected than the striatum (Extended Data Fig. 4e). Collectively, those data indicate that PRC1-CBX paralog switch is implicated in developmental gene de-repression in HD striatal neurons.

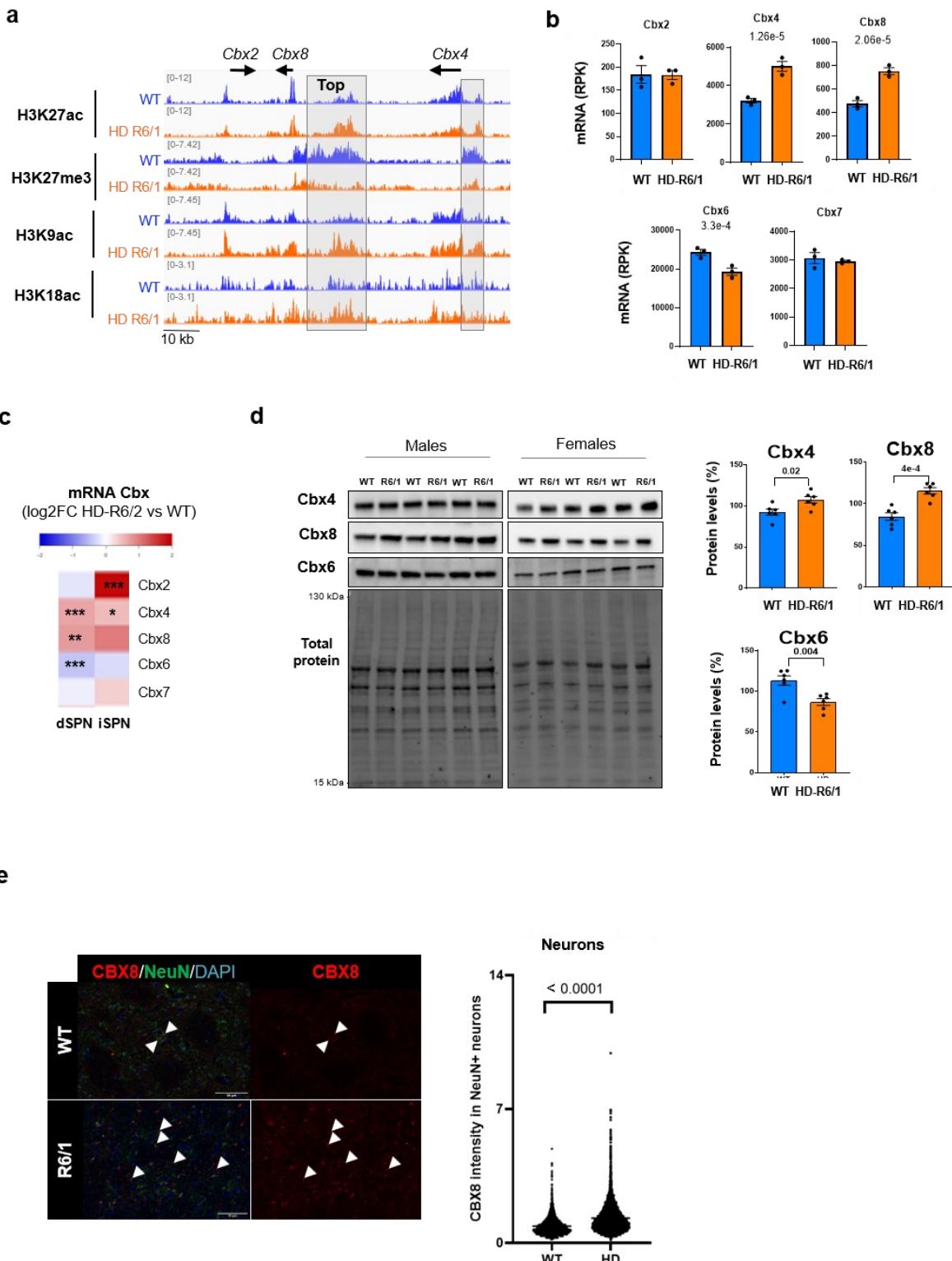


Fig.33/Fig.4 CBX proteins undergo paralog switch in striatal neurons of HD mice

a. IGV genome browser capture showing H3K27ac, H3K27me3, H3K9ac and H3K18ac signals in R6/1 and WT NeuN+ and NeuN- samples at *Cbx2/4/8* genomic locus. The grey boxes highlight significantly H3K27me3-depleted and H3K27ac-enriched regions in R6/1 vs WT NeuN+ samples. The enhancer region between *Cbx4* and *Cbx8* was top significantly H3K27me3-depleted and H3K27ac-enriched region. **b.** mRNA levels of *Cbx2/4/6/7/8* in bulk striatal tissue of R6/1 and WT mice (RNAseq data and statistics by ⁷⁰). mRNA levels, reads per kilobases (RPK). Statistics show adj. Pval, multiple testing correction was performed using the Benjamini-Hochberg method. **c.** Heatmap of Log2FC (R6/2 / WT) expression values of PRC1 Cbx paralogs in dSPN and iSPN (RNaseq data by 11). Statistics show adj. Pval, multiple testing correction was performed using the Benjamini-Hochberg method. *, adj. Pval <0.05; **, adj. Pval <0.01; ***, adj. Pval <0.001. **d.** Left, Immunoblots showing CBX4, CBX6, CBX8 and total proteins levels in the striatum of R6/1 and WT mice. Male and female samples are specified. Right, bar graphs showing CBX4, CBX6 and CBX8 protein levels. Values were normalized to total protein (± sem). Statistical analysis was performed using unpaired t-test. **e.** Left panel, representative images of CBX8 co-stained with NeuN neuronal marker and DAPI in the striatum of R6/1 and WT. Arrows indicate double-positive cells. Right, quantification of CBX8 intensity fluorescence. N = 5 mice per genotype, >4900 neurons were analyzed per genotype. Statistical analysis was performed using unpaired t-test.

H2AK119ub is depleted at subcluster of bivalent promoters in the striatum of HD mice

PRC1 mediates chromatin repression catalyzing H2AK119ub²⁰. We generated H2AK119ub ChIPseq data, showing that H2AK119ub was dysregulated in the striatum of HD R6/1 mice (Extended Data Fig.5a,b and Supplementary Table 1). Remarkably, H2AK119ub-depleted regions were greater than H2AK119ub-enriched regions in R6/1 vs WT mice (i.e. 2274 vs 636, Extended Data Fig. 5a). H2AK119ub was increased at genes related to TGFb signaling and developmental processes associated with nonneuronal lineage specification in R6/1 striatal tissue (Extended Data Fig. 5c). In contrast, genes associated with depleted H2AK119ub in R6/1 striatal tissue were enriched in neurodevelopmental genes (Extended Data Fig. 5c). To specify the signature of genes depleted in H2AK119ub in R6/1 striatum, we investigated H2AK119ub at bivalent promoters. Kmeans clustering analysis identified 2 clusters, clusters 1 and 2, characterized by high and low H2AK119ub levels, respectively (Fig. 5a and Supplementary Table 2). Cluster 1 was strongly enriched in neurodevelopmental transcription factors (e.g. “Neuron differentiation”, “Generation of neurons”, “Regulation of transcription by RNA PolII”), whereas cluster 2 was enriched in GO terms related to neuronal plasticity (e.g. “synapse pruning”) (Fig.5b and Extended data Fig. 5d). H3K27me3 was also higher in cluster 1 than cluster 2, while histone acetylation levels were similar in both clusters (Fig. 5c). H2AK119ub was specifically reduced at cluster 1 promoters in R6/1 vs WT striatal samples, in contrast to H3K27me3, reduced to lesser extent in the two clusters (Fig. 5c,d and Extended data Fig. 5e). Further, integration with transcriptomic data showed that cluster 1 genes were specifically up-regulated in iSPN of HD mice (Fig. 5e and Extended data Fig.5f). Thus, impaired activity of PRC1 might drive de-repression of developmental genes in HD vulnerable neurons, promoting de-repression of neurodevelopmental transcription factors in cluster 1 that control neuronal fate.

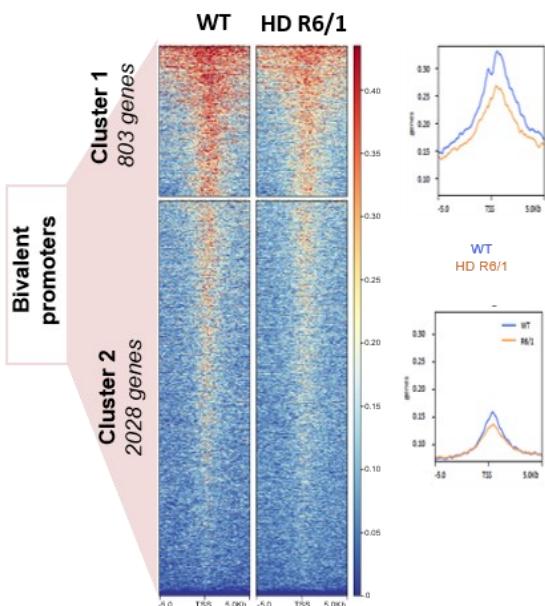
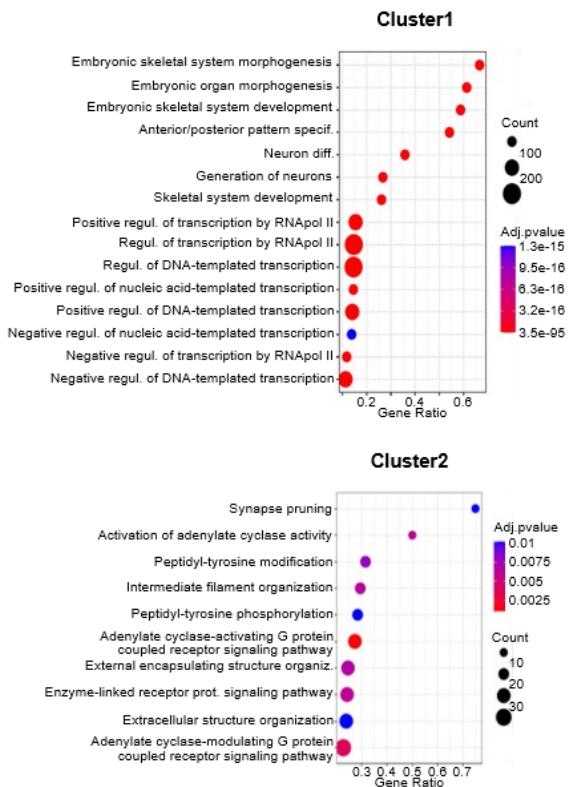
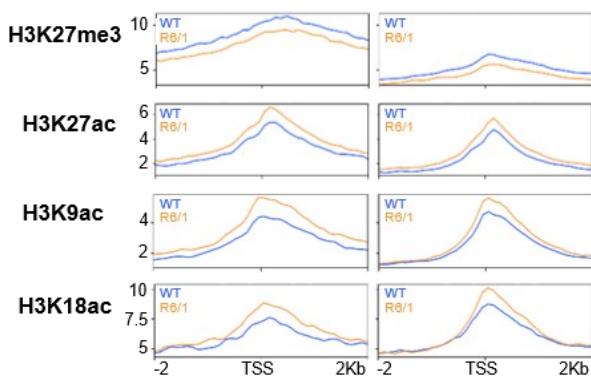
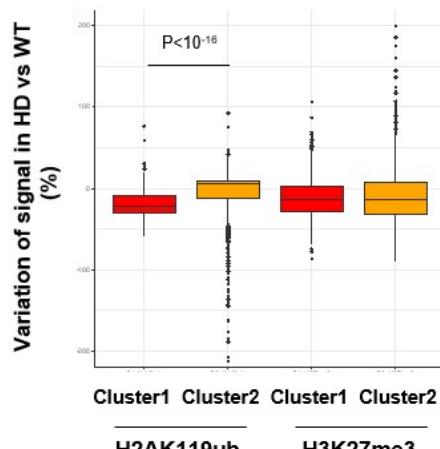
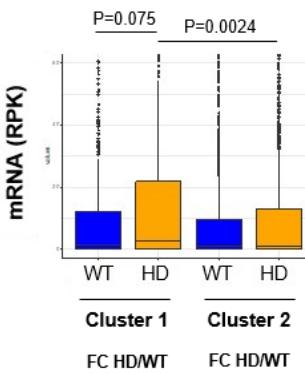
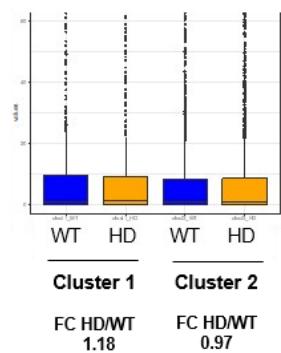
a**H2AK119ub****b****Top 15 GO biological processes (BP)****c****Cluster 1 Cluster 2****d****e****iSPN****dSPN**

Fig.34/Fig.5 H2AK119ub is depleted at subcluster of bivalent promoters in the striatum of HD mice

a. Left, kmeans clustering analysis of bivalent promoters using striatal H2AK119ub ChIPseq data identified H2AK119ub-high subcluster (cluster 1) and H2KA119ub-low subcluster cluster 2). Right, metaprofile showing H2AK119ub signals in R6/1 and WT samples at genes in cluster 1 and cluster 2. b. Top 15 gene ontology (GO) processes (biological processes, BP) enriched in cluster 1 and cluster 2. c. Metaprofiles showing H3K27me3, H3K27ac, H3K9ac and H3K18ac mean signals in WT (blue) and R6/1 (orange) NeuN+ samples at gene promoters of cluster1 and cluster 2. d. Boxplots showing H2AK119ub and H3K27ac signal variations in R6/1 vs WT at promoter regions of genes in cluster 1 and cluster 2. Statistical analysis was performed using Kruskal-Wallis test and Bonferroni correction for multiple testing. e. Boxplots showing mRNA levels of genes in cluster 1 and cluster 2 in iSPN and dSPN of R6/2 and WT mice (RNAseq data by 11). Fold change (FC) of HD/WT values are shown. mRNA levels, reads per kilobases (RPK). Statistical analysis was performed using Kruskal-Wallis test and Bonferroni correction for multiple testing.

De-repression of developmental genes is an aging signature that is accelerated in striatal neurons of HD mice.

We then explored whether PRC1-mediated de-repression of developmental transcription factors in HD vulnerable neurons might reflect acceleration of epigenetic aging. To address this question, we generated H3K27ac and H3K27me3 CUT&Tag data using striatal neuronal nuclei of HD Q140 KI and WT mice (Fig. 6a). Q140 KI mouse is a slowly progressing model compared to R6/1 mice, which is particularly suitable for temporal analysis. Epigenomic data were produced at 2-, 6- and 10-month-old, corresponding to prodromal, early symptomatic and more advanced symptomatic stages. Principal component analysis (PCA) analysis showed that H3K27ac and H3K27me3 samples clustered according⁷ to genotype and age (Extended Data Fig. 6a). The quality of the data is further illustrated in Fig. 6b, representing snapshot of H3K27ac and H3K27me3 profiles at *Onecut1* locus. Differential analysis showed that DER increased over time, however particularly at 10 months for H3K27ac and from 6 months for H3K27me3 (Extended Data Fig. 6b and Supplementary Table 3). Consistent with R6/1 ChIPseq data, functional enrichment analyses showed that H3K27ac-enriched regions and H3K27me3-depleted regions in HD KI vs WT mice both displayed significant developmental signatures, particularly at 10 months (Extended Data Fig. 6c,d). Remarkably, H3K27ac and H3K27me3 in HD KI striatal neurons were progressively increased and decreased at *Onecut1* locus, respectively (Fig. 6c).

Computing euchromatin score that combines H3K27ac and H3K27me3 signals showed accelerated euchromatinization of *Onecut1*, which correlated with accelerated transcriptional activation (Fig. 6c,d). Developmental transcription factors in cluster 1 above identified also showed accelerated euchromatinization using euchromatin score (Fig. 6e). In fact, using cluster 1 euchromatin score as an epigenetic clock permitted precise measurement of epigenetic age in HD Q140 striatal neurons. Specifically, their epigenetic age was 3 month-older than chronological age in 6-month-old mice (Fig. 6e). Our data suggest stronger contribution of H3K27me3 than H3K27ac to epigenetic aging in HD striatal neurons (Fig. 6f), further supporting critical role for PcG proteins. Interestingly, euchromatin score at *Cbx4* and *Cbx8* genes were dramatically increased with age in HD KI mice, and not in WT animals, which might suggest specific role of PRC1-CBX paralog switch in accelerated epigenetic erosion in HD (Fig. 6g,h and Extended Data Fig. 6e,f). Metaprofile analyses further showed that gene

promoters in cluster 1 were subject to accelerated euchromatinization in HD mouse striatal neurons (Fig. 6i,j). Thus, euchromatinization rate of developmental transcription factors could be used as an epigenetic clock to show acceleration of epigenetic age in HD vulnerable neurons. The data also suggest specific role for PRC1-CBX proteins in the mechanism.

To further investigate aging-associated chromatin changes in HD KI and WT mouse striatal neurons, we ran co-expression module analysis using euchromatin score, which identified 4 modules of co-regulated genes (Fig. 6k and Supplementary Table 2). Whereas the 4 modules were age-dependent, M2 and M4 modules also appeared related to genotype (Fig. 6k). Euchromatinization increased over time in M2 genes, however faster in HD KI mice (Fig. 6k). M2 genes, including *Onecut1*, significantly overlapped with genes in cluster 1 and were enriched in bivalent, developmental transcription factors and developmental genes (Fig. 6l and Extended Data Fig. 6h). Additionally, they were transcriptionally up-regulated in HD vulnerable neurons (Extended Data Fig. 6g). Thus, co-expression module analysis using euchromatin score confirmed strong accelerated de-repression of developmental transcription factors in HD vulnerable neurons.

Epigenetic regulation of stress response is abnormal in HD mouse striatal neurons

M4 genes displayed different pattern than M2 genes. Euchromatin score in M4 progressively decreased with age in HD KI striatal neurons, whereas it peaked at 6 months of age in WT mice (Fig. 6k). Functionally, M4 genes were related to stress response (Fig. 7a,b and Extended Data Fig. 7a). Specifically, enriched GO BP terms comprised “response to chemokine” and processes related to cell signaling such as “Rac protein signal transduction” (Fig. 7b and Extended Data Fig. 7a). Moreover, top transcriptional regulators of M4 genes were major drivers of stress response, including NR3C1 and STAT3, which were transcriptionally deregulated in HD mouse striatal neurons (Fig. 7a,b and Extended Data Fig. 7b). This suggests that epigenetic mechanism triggers early stress response in HD striatal neurons, which is then reduced upon aging, possibly triggering entry into symptomatic phase. Supporting the conclusion, M4 genes were down-regulated in striatal tissue of symptomatic HD KI mice (e.g. at 6 and 10 months) (Fig. 7c and Extended Data Fig. 7a). At 2 months, corresponding to prodromal phase, M4 genes did not appear up-regulated in the striatum of HD KI mice, possibly due to bulk analysis of striatal tissue, masking cell-type-specific effects (Fig. 7c).

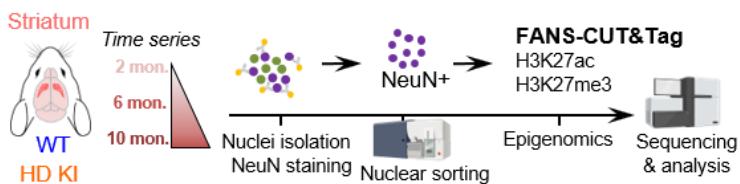
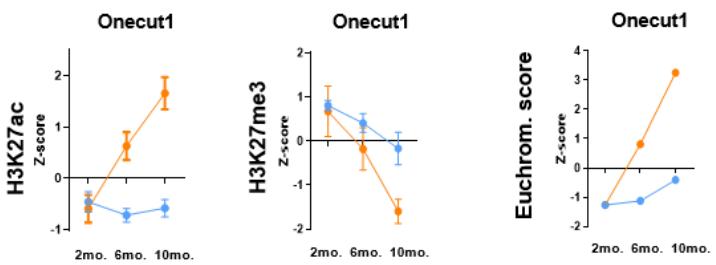
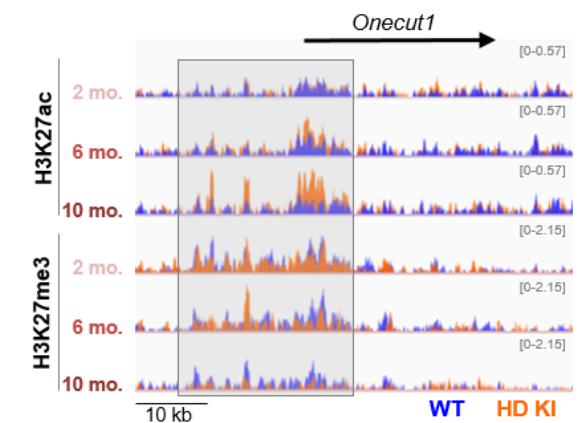
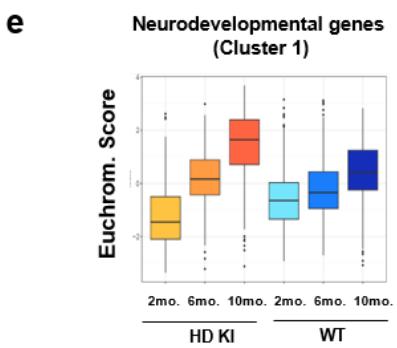
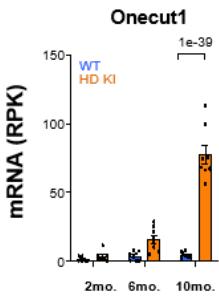
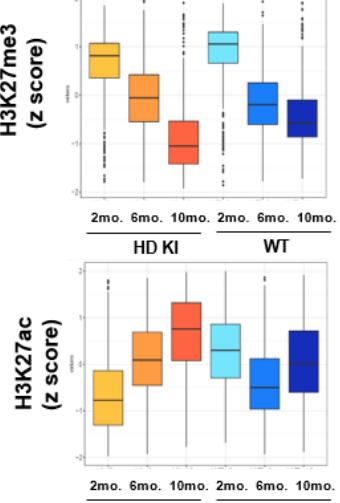
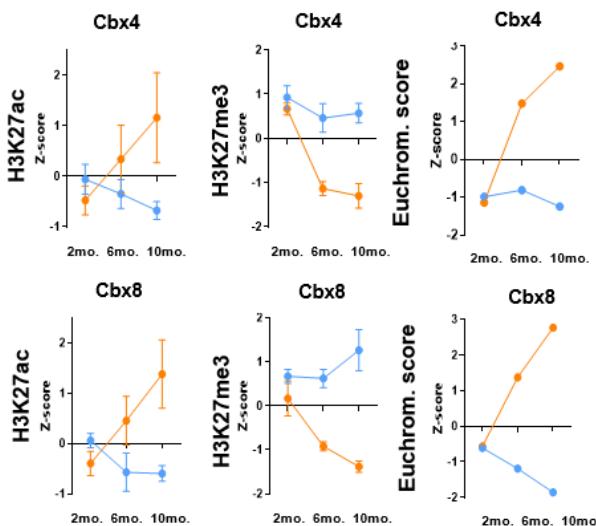
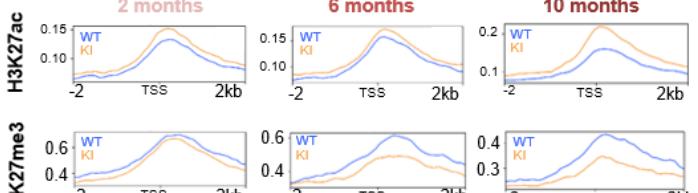
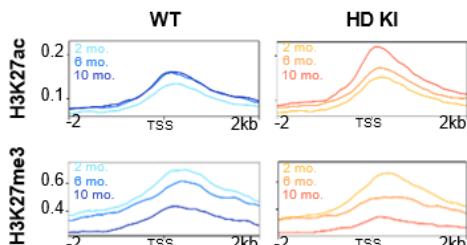
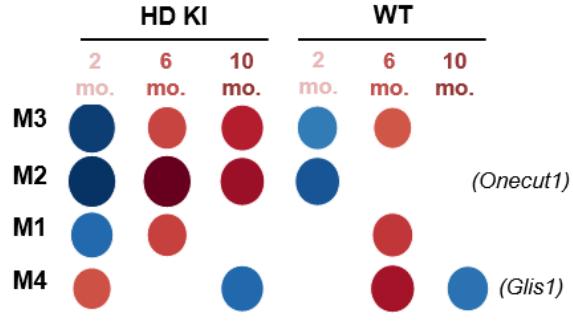
a**c****d****f****g****i****j****k**

Fig.35/Fig.6 De-repression of developmental genes is an aging signature accelerated in striatal neurons of HD mice

a. Scheme illustrating temporal FANS-CUT&Tag experiments conducted on HD Q140 knockin (HD KI) mice and WT mice. **b.** IGV genome browser capture showing H3K27ac and H3K27me3 signals at *Onecut1* locus in HD KI and WT NeuN+ samples produced using 2, 6 and 10 month-old mice. **c.** Plots showing H3K27ac, H3K27me3 and euchromatinization z-scores for *Onecut1* gene, in 2, 6 and 10 month-old HD KI and WT NeuN+ samples. **d.** mRNA levels of *Onecut1* in bulk striatal tissue of 2, 6 and 10 month-old HD Q140 KI and WT mice (RNAseq data by 10). mRNA levels, reads per kilobases (RPK). Statistics show adj. Pval, multiple testing correction was performed using the Benjamini-Hochberg method. **e.** Left, Boxplot showing euchromatinization score of cluster 1 genes (i.e. developmental transcription factors) in HD KI and WT NeuN+ samples that were generated using 2, 6 and 10 monthold mice (left). Right, linear regression computed using cluster 1 mean euchromatinization score (used as an epigenetic clock) shows distortion between chronological and epigenetic ages in striatal neurons of HD KI mice (green area), which reflects accelerated epigenetic aging. **f.** Boxplots showing H3K27ac (top) and H3K27me3 (bottom) z-scores for cluster 1 genes in HD KI and WT NeuN+ samples generated using 2, 6 and 10 month-old mice. **g.** Plots showing H3K27ac, H3K27me3 and euchromatinization zscores for *Cbx4* and *Cbx8* gene, in 2, 6 and 10 month-old HD KI and WT NeuN+ samples. **h.** mRNA levels of *Cbx4* and *Cbx8* in bulk striatal tissue of 2, 6 and 10 month-old HD Q140 KI and WT mice (RNAseq data by 10). mRNA levels, reads per kilobases (RPK). Statistics show adj. Pval, multiple testing correction was performed using the Benjamini-Hochberg method. **i.** Metaprofiles showing H3K27ac and H3K27me3 mean signals at cluster 1 gene promoters in HD KI vs WT NeuN+ samples prepared using 2, 6 and 10 month-old mice. **j.** Above H3K27ac and H3K27me3 metaprofiles were grouped according to age. **k.** Gene set enrichment analysis showing showing module normalized enrichment score (NES)identified by CEMiTTool analysis using euchromatinization index. M2 and M4 modules include *Onecut1* and *Glis1*, respectively. **l.** Overlap between M2 (green) and cluster1 (blue) genes. Statistics of overlap (*P*) was assessed using a binomial test.

Down-regulation of M4 genes was specific to dSPN, at least in 6-month-old HD KI mice, suggesting greater contribution of dSPN to loss of homeostatic response in HD (Extended Data Fig. 6g and Fig. 7d).

Interestingly, the anti-senescence transcription factor *Glis1*²¹ was among M4 genes (Fig. 7b). In WT striatal neurons, *Glis1* was derepressed over time, primarily due to reduction of H3K27me3, particularly between 2 and 6 months of age (Fig. 7e,f). Age-dependent de-repression of *Glis1* was suppressed in HD KI mice, resulting in decreased expression of *Glis1* when compared to WT upon aging (Fig. 7e,f), indicating *Glis1*-mediated anti-aging response is attenuated as HD striatal neurons age. *Glis1* is lowly expressed in differentiated cells. Interestingly, it is particularly low in SPN vs astrocytes and, within SPN, it is reduced in iSPN vs dSPN (Fig. 7g). Thus, there is a degree of correlation between *Glis1* cellular levels and vulnerability to the HD gene. Further, *Glis1* was specifically down-regulated in dSPN of HD mice (Fig. 7g,h), and GLIS1 protein was significantly decreased in HD mouse striatum (Fig. 7i). Together, this raises the intriguing possibility that low physiological levels of *Glis1* (lower in iSPN vs dSPN) and suppression of *Glis1* derepression during aging (greater in dPSN vs iSPN) contribute to high vulnerability of iSPN and dSPN to the HD gene, respectively, notably preventing efficient anti-aging response. Collectively, our networkbased analysis identifies stress response module, including the anti-aging *Glis1* gene, that is abnormally regulated in HD vulnerable neurons.

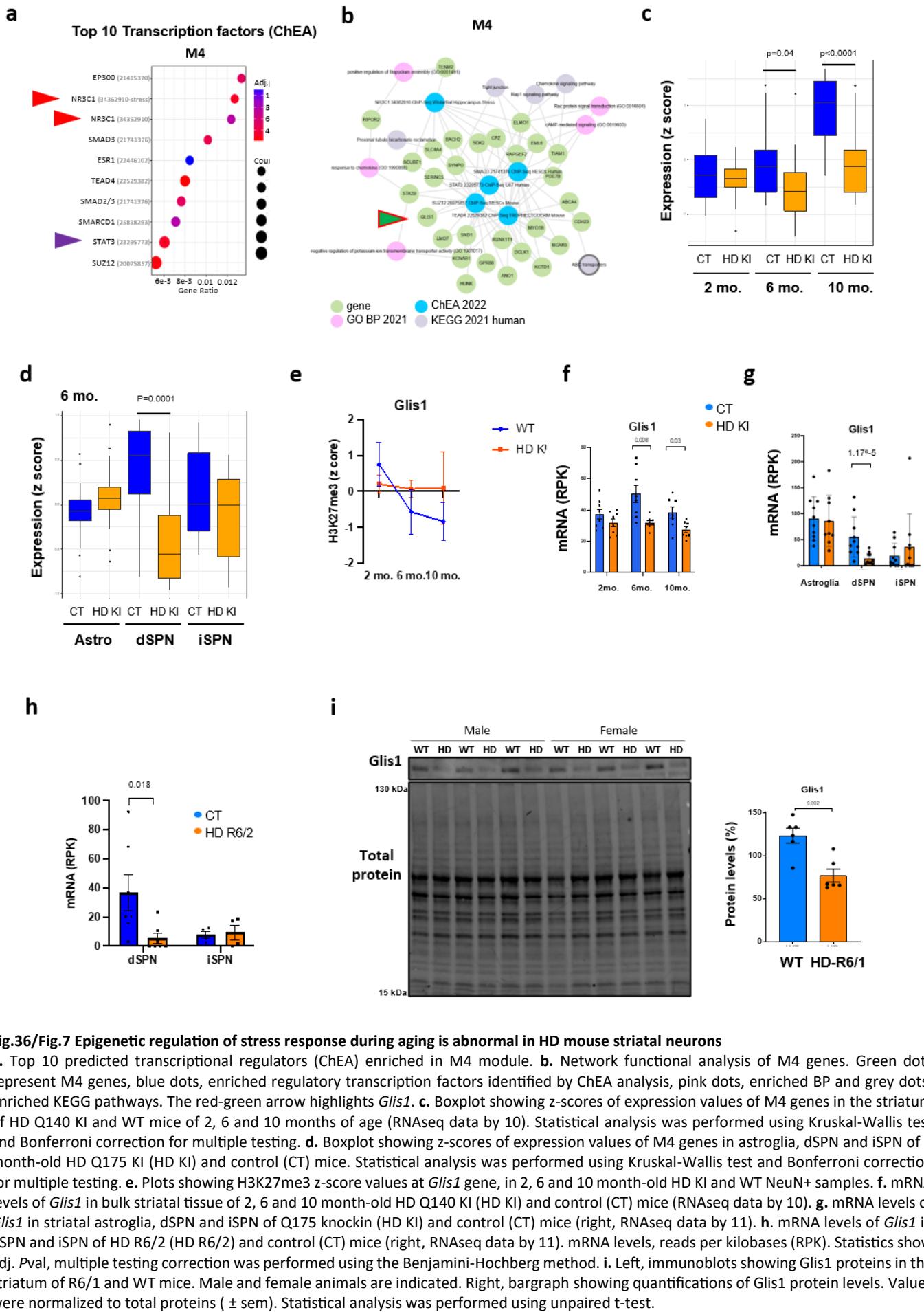


Fig.36/Fig.7 Epigenetic regulation of stress response during aging is abnormal in HD mouse striatal neurons

a. Top 10 predicted transcriptional regulators (ChEA) enriched in M4 module. **b.** Network functional analysis of M4 genes. Green dots represent M4 genes, blue dots, enriched regulatory transcription factors identified by ChEA analysis, pink dots, enriched BP and grey dots, enriched KEGG pathways. The red-green arrow highlights *Gli1*. **c.** Boxplot showing z-scores of expression values of M4 genes in the striatum of HD Q140 KI and WT mice of 2, 6 and 10 months of age (RNAseq data by 10). Statistical analysis was performed using Kruskal-Wallis test and Bonferroni correction for multiple testing. **d.** Boxplot showing z-scores of expression values of M4 genes in astroglia, dSPN and iSPN of 6 month-old HD Q175 KI (HD KI) and control (CT) mice. Statistical analysis was performed using Kruskal-Wallis test and Bonferroni correction for multiple testing. **e.** Plots showing H3K27me3 z-score values at *Gli1* gene, in 2, 6 and 10 month-old HD KI and WT NeuN+ samples. **f.** mRNA levels of *Gli1* in bulk striatal tissue of 2, 6 and 10 month-old HD Q140 KI (HD KI) and control (CT) mice (RNAseq data by 10). **g.** mRNA levels of *Gli1* in striatal astroglia, dSPN and iSPN of Q175 knockin (HD KI) and control (CT) mice (right, RNAseq data by 11). **h.** mRNA levels of *Gli1* in dSPN and iSPN of HD R6/2 (HD R6/2) and control (CT) mice (right, RNAseq data by 11). mRNA levels, reads per kilobases (RPK). Statistics show adj. *P*val, multiple testing correction was performed using the Benjamini-Hochberg method. **i.** Left, immunoblots showing *Gli1* proteins in the striatum of R6/1 and WT mice. Male and female animals are indicated. Right, bargraph showing quantifications of *Gli1* protein levels. Values were normalized to total proteins (± sem). Statistical analysis was performed using unpaired t-test.

Discussion

Here we have performed cell-type-specific and temporal histone modification profiling in HD mice. Our data show accelerated erosion of epigenetic information in HD vulnerable neurons, promoting a loss of cellular identity. Particularly, developmental genes undergo accelerated de-repression in HD striatal neurons, which results from depletion of P^cG protein-mediated histone marks (e.g. H3K27me3 and H2AK119ub) and gain of histone acetylation (e.g. H3K9ac, H3K18ac, H3K27ac). Our data provide additional insight into the mechanism underlying accelerated de-repression of developmental genes in HD striatal neurons, showing paralog switching between PRC1-CBX genes that promotes PRC1-CBX stoichiometry characteristic of immature neurons. Noticeably, this is the first study implicating PRC1 in epigenetic aging. Furthermore, we defined H3K27ac/H3K27me3-based euchromatin score, which applied to subcluster of bivalent developmental transcription factors can be used as a neuronal epigenetic clock. Euchromatin score further revealed abnormal trajectory of stress response genes over time in HD striatal neurons, and identified anti-aging GLIS1 factor that might contribute to both intrinsic and HD gene-mediated vulnerability of SPN. Thus, we propose that altered regulation of stress response in HD vulnerable neurons triggers their accelerated epigenetic aging and dysfunction.

Previous transcriptomic studies showed that down-regulated genes in the striatum of HD patients and mouse models are enriched in SPN identity genes, suggesting cellular identity of vulnerable neurons is compromised in HD^{10-12,22-24}. Epigenomic studies supported epigenetically driven mechanism, since H3K27ac was depleted at SPN identity genes^{8,9}. Here, our cell-type-specific and temporal profiling showing that developmental genes are progressively euchromatinized and transcriptionally activated in HD mouse striatal neurons support the view that loss of identity of HD SPN results from both repression of identity genes and de-repression of developmental genes. Due to the scarcity of human data, particularly the lack of temporal epigenomic and transcriptomic data, it is difficult to extend the results to humans. Nonetheless, it is striking that strongly up-regulated genes in SPN of HD patients includes *ONECUT1*¹⁷, suggesting de-repression of developmental genes also occurs in humans. Cellular aging leads to erosion of epigenetic information, which is characterized by derepression of developmental genes and repression of cellular identity genes, resulting in a loss of cellular identity and function^{7,25}. This raises the exciting hypothesis that the propensity

for epigenetic erosion of HD SPN underlies their vulnerability. The conclusion might somehow extend to vulnerable cortical neurons, since transcriptomic study shows that developmental genes, including *ONECUT1* and *PAX6*, are up-regulated in vulnerable neurons of layer 5a but not in the resilient Betz cells in postmortem brains of HD patients¹⁶. Strikingly, similar mechanism might occur in Alzheimer disease (AD). Transcriptomic and chromatin accessibility changes associated with AD showed epigenetic erosion and loss of cellular identity in AD affected brain cells²⁶. Particularly, chromatin accessibility and expression of developmental genes was increased in AD cortical neurons²⁶. Though time course analysis is lacking with those human data, this suggests AD vulnerable neurons undergo accelerated epigenetic aging, and that perhaps common epigenetic underpinning contribute to neuronal vulnerability in HD and AD.

The quantification of cellular aging using epigenetic clocks essentially relies on bulk tissue analysis of few DNA methylation sites²⁷. Such a DNA clock was used to show that epigenetic aging is accelerated in the cortex of HD patients²⁸. However, DNA clocks are universal clocks, which do not capture cell-type-specific changes. Moreover, they lack functional readout, which limits the understanding of the biology of aging. Recently, cell-type-specific transcriptomic clocks were developed to measure the contribution of different brain cells to brain aging²⁹. Here we show that cell-type-specific histone modifications (i.e. H3K27ac and H3K27me3) can also be used as cell-type specific epigenetic clocks. Specifically, we show that euchromatin score at developmental transcription factors, which takes into consideration H3K27ac and H3K27me3 signals, can precisely measure acceleration of epigenetic aging in HD striatal neurons. Future studies might determine whether the approach could be extended to additional cell-types and pathologies.

It is believed that bivalent chromatin state, defined as the simultaneous presence of H3K4me3 and H3K27me3, poises important regulatory genes for expression or repression during cell-lineage specification^{30,31}. Gene bivalency is also observed in differentiated cells, including striatal neurons, though functional relevance of bivalent chromatin state in mature cells remains elusive^{31,32}. Consistent with our results, PRC2 deficiency in mouse striatal neurons led to de-repression of bivalent developmental transcription factors as well as progressive neurodegeneration, which is reminiscent to HD³². Together, these results support

the view that preserving bivalent chromatin state at developmental genes is critical to maintaining cellular identity and preventing cellular aging.

HTT interacts with PRC2 and was found to control bivalent gene regulation during neural differentiation³³. Thus, it is possible that mutant HTT enhances accelerated de-repression of developmental genes via direct mechanism. However, de-repressed developmental transcription factors in HD striatal neurons also showed PRC1-dependency. This is consistent with results showing that up to 40% of bivalent genes are marked with both H3K27me3 and H2AK119ub in embryonic stem cells and other cells, and that co-marked genes are enriched in genes encoding developmental transcription factors^{31,34}. Supporting critical implication of PRC1 in accelerated loss of cellular identity of HD striatal neurons, we provide evidence for progressive *Cbx6/7* to *Cbx2/4/8* paralog switching, resulting in PRC1-CBX stoichiometry associated with neural differentiation^{18,19}. PRC1-CBX proteins bind H3K27me3 and induce chromatin compaction, promoting phase separation-driven molecular condensates, thanks to intrinsically disordered region (IDR)^{18,35-38}. However, PRC1-CBX stoichiometry determines condensate formation, due to distinct phase separation capacities of the different PRC1-CBX proteins. In cells, CBX2/4/7/8 appear as defined condensates, though CBX7, lacking IDR, shows low chromatin compaction activity³⁹⁻⁴¹. In contrast CBX6 does not form condensates in cells^{18,38}. Further, in vitro study supports a model where PRC1-CBX2 acts as a scaffold initiating PRC1 condensate formation, which can then recruit PRC1-CBX4/7/8 but not PRC1-CBX6³⁸. CBX6 is the predominant PRC1-CBX isoform in SPN. Thus, an attractive hypothesis is that changes in PRC1-CBX stoichiometry in HD vulnerable neurons affects phase separation and chromatin compaction activities, which triggers epigenetic reprogramming that promotes loss of cellular identity.

The information theory of aging posits that DNA repair mechanism is the driving force^{6,7}. However, the mechanism that links DNA repair and epigenetic aging is unknown. PRC1, which coordinates DNA repair and transcriptional machineries, might be a missing link^{42,43}. Specifically, PRC1 promotes chromatin compaction and transcriptional silencing at damaged genes and promotes DNA repair^{43,44}. Interestingly, human and mice studies have linked DNA repair and HD⁴⁵⁻⁵⁰. First, GWAS studies show that HD modifiers are enriched in DNA repair genes, notably genes that modulate somatic CAG instability⁴⁷. Second, Huntingtin (HTT), the protein mutated in HD, is implicated in DNA damage response (DDR) and mutated HTT impairs

DDR^{51,52}. Third, mutated HTT progressively forms toxic nuclear aggregates, which can recruit chromatin regulators and modify their activities, though it is yet unclear whether this includes PRC1⁵³⁻⁵⁶. Nonetheless, PRC1 is a good candidate to convey HD-associated DNA damage/repair mechanisms to erosion of epigenetic information in vulnerable neurons.

Finally, we identified module enriched in stress response genes euchromatinized at prodromal disease stage and then epigenetically repressed at symptomatic stage in striatal neurons of HD mice. This is in line with studies showing that neurodegenerative conditions lead to impaired stress response and homeostasis regulation⁷. Further, shape deformation analysis support loss of transcriptional regulation of homeostatic responses over time in HD striatal neurons⁵⁷. Our data suggest epigenetic underpinning. Noticeably, the stress response module comprised the anti-aging gene *Glis1*. GLIS1 enhances somatic cell reprogramming when expressed with the Yamanaka factors OCT4, SOX2 and KLF4 (OSK)⁵⁸. Interestingly, GLIS1 was sufficient to reprogram senescent cells into pluripotent cells, and transient expression of OSK factors could rejuvenate aged cells, reverting epigenetic erosion and loss of cellular identity^{7,21,59}. Thus, it is likely that GLIS1 counteracts epigenetic erosion in aging cells. HD transcriptomic data support a role for GLIS1 in SPN vulnerability: *Glis1* was moderately expressed in dSPN and reduced in HD vs WT conditions, while it was low expressed in both HD and WT iSPN, suggesting that GLIS1 contributes to both disease-associated and intrinsic vulnerability mechanisms. Collectively, our data provide new conceptual frame to fight HD, highlighting major role of epigenetic aging in the disease.

Methods

Animals

Heterozygous Q140 KI mice and heterozygous R6/1 mice were maintained on C57BL/6J genetic background. All animal studies were conducted in accordance with French regulations (EU Directive 2010/63/UE–French Act Rural Code R 214-87 to 126). The animal facility was approved by veterinary inspectors (authorization no. E6748213) and complies with the Standards for Human Care and Use of Laboratory Animals of the Office of Laboratory Animal Welfare. All procedures were approved by local ethics committee (CREMEAS) and French Research Ministry (no.APAFIS#31527_2021051713407251v3, APAFIS#11532-

2017092618102093v7 and no. APAFIS#504-2015042011568820_v3). Mice were housed in a controlled-temperature room maintained on a 12 h light/dark cycle. Food and water were available ad libitum. Genotyping was performed by PCR, using ear-skin DNA obtained from 1-month-old mice with primers amplifying the CAG repeat region within the exon 1 of the Huntington gene. For molecular analyses, mice were killed by cervical dislocation and their striata were rapidly dissected, snap frozen and stored at -80 °C. Both male and female animals were used in the experiments, and WT littermates were used as controls.

Fluorescence activated nuclear sorting - crosslinked nuclei (ChIP)

Cell-type specific nuclear purification was performed using fluorescent activated nuclear sorting, as described⁹. Briefly, frozen striatal tissue from WT and R6/1 animals was homogenized in ice-cold PBS supplemented with 1× Protease Inhibitors Cocktail (PIC, cOmplete EDTA free, Roche) and cross-linked in 1% formaldehyde for 15min at room temperature. Cross-linking was stopped by the addition of glycine to final concentration 0.125M and tissue was washed using ice-cold PBS. Cells were then lysed in Cell Lysis Buffer (10mM Hepes pH8; 85mM KCl; 0.5% NP-40) and nuclei were collected after treatment with Nuclear Extraction Buffer (0.5% SDS, 10mM EDTA pH8, 50mM Tris). Purified nuclei were then resuspended in PBTB (PBS 1×, 5% BSA, 0.5% Tween-20) + 1× PIC, 3% Normal Horse Serum (NHS) and stained using NeuN antibody (1:1000, Merck Millipore). After washing, nuclei were labelled with Alexa Fluor 488 donkey anti-mouse IgG antibody (1:1500) and washed with ice-cold PBS. Immunostained nuclei were sorted using BD Aria Fusion flow cytometer, recovered in ice-cold 1× PBS, pelleted and stored at -80 °C for posterior ChIP-seq experiments.

Fluorescence activated nuclear sorting - non crosslinked nuclei (CUT&Tag)

Briefly, frozen striata were pulverized using a grinder and pestle settle on dry ice and reconstituted in PBS 1× supplemented with 1× PIC. Cell lysis and nuclear extraction were performed by a 10-min incubation in LB1 buffer (50mM HEPES pH7.5, 140mM NaCl, 1mM EDTA pH8, 10% glycerol, 0.5% NP-40, 0.25% Triton X-100, 1× PIC) and mechanical dissociation in a glass douncer. Nuclei were then filtered with a 50-µm pore size cell strainer (Sysmex Celltrics) and stained using NeuN antibody conjugated to AlexaFluor 405 (Novus Biologicals, 1B7 AF405) or AlexaFluor 467 (Abcam, EPR12763, AF647 (Ab190565)). Nuclear suspension was then sorted using BD FACS ARIA II flow cytometer.

Chromatin Immunoprecipitation (ChIP)

FANS-ChIPseq. NeuN+ and NeuN- sorted nuclei from 15-20-week-old R6/1 mice and WT littermates were used. Chromatin was extracted from nuclei by sonication and divided to allow immunoprecipitation of the same extract with H3K27ac, H3K27me3 antibodies and Input controls (1 million nuclei per ChIP was used). ChIPseq data were replicated through two independent experiments. ChIPseq was performed as described⁹ using antibodies targeting H3K27ac (ab4729, Abcam) and H3K27me3ac (C15410195, diagenode). Briefly, nuclei were suspended in Sonication buffer (50mM HEPES pH7.9, 140mM NaCl, 1mM EDTA, 1% Triton X-100, 0.1% NaDOC, 0.1% SDS, 1x PIC) and sonicated to obtain DNA fragments < 500 bp using Covaris E220Ultrasonicator (Covaris). The soluble chromatin fraction was pretreated with protein A Agarose/Salmon Sperm DNA (16-157, Sigma-Aldrich) for 45 min at 4 °C. Subsequently, samples were incubated overnight at 4 °C with corresponding primary antibodies. Protein A Agarose/Salmon Sperm DNA was then added and the mixture was incubated for 3h at 4 °C in a shaker. Agarose beads were washed, protein–DNA complexes were eluted from the beads and de-crosslinked overnight with RNase A at 65 °C. Proteins were eliminated by 2 h incubation at 45 °C with Proteinase K, and DNA recovered using Qiagen MiniElute PCR Purification Kit.

Bulk ChIPseq. Striatal tissues from 15-20-week-old R6/1 mice and WT littermates were used. Two biological replicates were generated. ChIPseq was performed as described⁹ using antibody targeting H2AK119ub (8240, cell signaling). Briefly, pooled tissues were cut into small fragments, fixed in 1% formaldehyde and incubated for 15 min at room temperature. Cross-linking was stopped by the addition of glycine to final concentration 0.125 M. Tissue fragments were washed with cold PBS supplemented with protease inhibitors. The tissues were then mechanically homogenized in sonication buffer to obtain a homogeneous solution, then the protocol was the same as the one described for sorted nuclei, starting by sonication using Covaris E220 Ultrasonicator (Covaris).

FANS-CUT&Tag

NeuN+ and NeuN- sorted nuclei from 15-20 week-old R6/1 mice and WT littermates were used (NeuN+ samples: n=2 biological replicates). Sorted nuclei preparation was divided to allow immunoprecipitation of the same extract with H3K9ac (Ab4441, Abcam), H3K18ac (C15410139, Diagenode) and IgG control (C15410206, Diagenode) with 50 000 nuclei/CUT&Tag. For temporal CUT&Tag experiment on Q140 KI mice and WT littermates, NeuN+ sorted nuclei from 2, 6, 10 monthold mice were used. Three biological replicates were generated. Sorted nuclei preparations were divided to allow immunoprecipitation of the same extract with H3K27ac (ab4729, Abcam), H3K27me3 (C15410195, diagenode) and IgG control (C15410206, Diagenode), using 50 000 nuclei/CUT&Tag. CUT&Tag was essentially performed as described¹⁴. Briefly, concanavalinA-coated beads (93569S, Cell signaling) were added to nuclei suspension at room temperature under rotation to attach nuclei. Then

corresponding primary antibodies were incubated overnight at 4 °C. Beads-nuclei complex were washed and incubated 1h at RT with proteinA-Transposase5 complex (C01070001, Diagenode) to a final concentration of 1:250. Tagmentation was done by incubating samples 1h in MgCl₂ at 37°C, then proteins were eliminated by 1h incubation in SDS and Proteinase K at 55°C. DNA was recovered using Qiagen MinElute PCR Purification Kit.

Library preparation & sequencing

ChiPseq. ChIP samples were purified using Agencourt AMPure XP beads (Beckman Coulter) and quantified with Qubit (Invitrogen). ChIP-seq libraries were prepared from 2 ng of double-stranded purified DNA using the MicroPlex Library Preparation kit v2 (C05010014, Diagenode), according to manufacturer's instructions. Illumina compatible indexes were added through PCR amplification (7 cycles). Amplified libraries were purified and size-selected using Agencourt AMPureR XP beads (Beckman Coulter) to remove unincorporated primers and other reagents. Prior to analyses, DNA libraries were checked for quality and quantified using a 2100 Bioanalyzer (Agilent). Libraries were sequenced on Illumina Hiseq 4000 sequencer as paired-end or single-end 50 base reads following Illumina's instructions. Image analysis and base calling were performed using RTA 2.7.3 and bcl2fastq 2.17.1.14.

CUT&Tag. CUT&Tag libraries were prepared from the eluted double-strand DNA using NEBNext HiFi 2x PCR master mix (BioLabs) and Illuminas compatible indexes (20091654,

Illumina Nextera) (13 cycles). Amplified libraries were purified and size-selected using SPRI select beads (B23317, Beckmann Coulter) at 1.3 time, two times consecutively. Prior to sequencing, DNA libraries were checked for quality and quantified using a 2100 Bioanalyzer by Agilent high sensitivity DNA kit. Libraries were sequenced on an Illumina NextSeq 2000 sequencer as paired-end 50 base reads. Image analysis and base calling were performed using RTA version 2.7.7 and BCL Convert version 3.8.4.

Sequence alignment, peak detection and annotation, differential analysis

ChIPseq. Reads were mapped onto mouse reference assembly GRCm38/mm10 using Bowtie2 v2.4.3. aligner 60. Reads which mapping quality is below 10 were removed using samtools v1.15.1 61. Prior to peak calling, biological replicates were pooled using samtools merge v1.15.1. Then, peak calling was done using SICER v1.1 62 with the following parameters: window size: 200; FDR controlling significance: 1e-2, Gap size parameters were determined according to the score value estimated by SICER: selected values of gap sizes are 1000 for H3K27ac and 1400 for H2AK119ub and H3K27me3. Peak were annotated relative to genomic features using Homer v4.11. Differential enrichment analysis of H2AK119ub ChIPseq data was done using SICER v1.1 with the following parameters: Species: mm10;

Effective genome size as a fraction of reference genome: 0.74; Threshold for redundancy allowed for treated reads: 1; Threshold for redundancy allowed for WT reads: 1; Window size: 200 bps; Fragment size: 200 bps. The shift for reads is half of 200. Detected peaks were combined to get the union of all peaks using the tool Bedtools merge v2.30.0 63. Differential enrichment analysis (H3K27ac and H3K27me3 ChIPseq) was done with DESeq2 bioconductor library (DESeq2 v1.34.0) using R_v3.3.2, and data were normalized using the method proposed by Anders and Huber⁶⁴ using read counts per peaks. Then, comparisons of interest were performed using the method proposed by ⁶⁵. Resulting p-values were adjusted for multiple testing using the Benjamini and Hochberg method. Enriched and depleted peaks were defined using adj p-value < 10e-5 (SICER) and < 0.1 (DESeq2).

CUT&Tag. Data were preprocessed with Cutadapt v4.0 to trim adapter sequences (Nextera Transposase Sequence) from 3' end of reads. Cutadapt was used with the following parameters '-aCTGTCTTATA -A CTGTCTTATA -m 25:25'. Reads were mapped to Mus musculus genome (assembly mm10) using Bowtie2 (Langmead and Salzberg 2012) v2.5.0 with

default parameters except for “–end-to-end –very-sensitive –no-mixed –no-discordant -l 10 -X 700”. The following table shows the number of reads aligned to the *Mus musculus* genome. Prior to peak calling, biological replicates were pooled using samtools merge. Then, peak calling was done with SICER with the following parameters: window size: 200; FDR controlling significance: 1e-2. Gap size parameters were determined according to the score value estimated by SICER: selected values of gap size are 600, 400, 800 and 1200 for H3K18ac, H3K9ac H3K27ac and H3K27me3, respectively. Differential enrichment analysis performed using the SICER, similar to ChIPseq analysis.

Data analysis and visualization

Browser views of gene tracks, ChIP-seq data and peaks were shown using Integrated Genomics Viewer (IGV; broadinstitute.org/igv). Principal Component Analysis (PCA), volcano plots, correlative heatmaps, boxplots, venn diagrams and scatter plots were generated using R for global comparison of samples and replicate analyses. Clustering analysis were performed with seqMINER v1.3.3g⁶⁶ using Refseq genes of mouse mm10 genome as reference coordinates or using Galaxy (Version 3.5.1.0.0). Metaprofiles were generated using Galaxy⁶⁷. Reference regions were used as defined in results, blacklisted regions were removed, and signals were centered on Transcription start site or gene bodies. Functional enrichment analyses were performed with EnrichR (<https://maayanlab.cloud/Enrichr/>) using GO Biological Process 2023, ChEA 2022, and HDsigDB Mouse 2021 databases, and visualized with ggplot2 v3.5.0 using R 68. Euchromatinization score was computed using DESeq2 analysis. H3K27ac and H3K27me3 normalized read count per gene was calculated, as described⁹, and z score values were calculated for each gene. Euchromatinization score per gene corresponds to H3K27ac – H3K27me3 zscore values. Co-expression analysis using co-expression modules identification tool (CEMiTool)⁶⁹(<https://cemitool.sysbio.tools/>) was performed using euchromatinization index calculated subtracting H3K27me3 to H3K27ac normalized read count per gene values (variance filter (*P*-value): 0.2; Variance stabilizing transformation: ON). Integrations were performed with published and accessible data in gene expression omnibus database: GSE6577410, GSE152058 11, GSE157099⁷⁰.

RNAseq analysis. RNAseq datasets generated in the striatal bulk tissues and cells (dSPN, iSPN, astroglia) of HD KI mice and R6/2 (GSE6577410, GSE152058 11) were re-analyzed as described⁷⁰ starting from fastq files. STAR v2.7.10b was used to map reads and count the

number of *reads* per gene using mm10 genome assembly⁷¹ and Ensembl GRCm38 release 102⁷². Read counts were normalized across libraries with the method proposed by Anders and Huber⁶⁴. The method implemented in DESeq2 was used to identify significantly differentially expressed genes between different mouse genotypes⁶⁵. Resulting *P*-values were adjusted for multiple testing by using the Benjamini and Hochberg method.

Protein expression analyses

One striatum per mouse was lysed and homogenized by pipetting in Laemmli buffer (BioRad), containing β-mercaptoethanol (1/40 of total volume). Samples were sonicated for 2x10 s (Bioblock Scientific Vibra Cell 75041, power 30%), heated 10min at 70°C, 5 min at 100 °C, centrifuged (13,000 rpm, 5 min), and supernatant frozen at – 20 °C. Protein concentration was measured using the Qubit Protein Assay Kit (ThermoFisher). Protein samples were diluted for achieving equal protein concentrations and electrophoretic protein separation was carried out using 4–20% polyacrylamide gels (Criterion 500, BioRad) in TG-SDS buffer (Euromedex). Proteins were blotted onto nitrocellulose (Midi-Size Nitrocellulose, TransBlot Turbo, BioRad) using the TransBlot Turbo Transfer System (BioRad). Blots were blocked in 1% milk powder, then antibody against CBX4 (Cell signaling - 30559), CBX6 (Clinisciences – SC-393040), CBX8 (Cell signaling - 14696), Ezh1 (LS bio – B13973), Ezh2 (Diagenode – C15410039), Suz12 (Cell signaling – 3737S) and Glis1 (ThermoFisher, 23138-1-AP) were incubated overnight at 4 °C with 1% milk powder in washing buffer (Tris pH 7,4, NaCl 5 M, Tween 20%, distillated water). Blots were washed in washing buffer and secondary antibodies were added (horseradish peroxidase-conjugated whole-goat anti-rabbit/anti-mouse IgG (Jackson Laboratories). After 1h incubation at room temperature and washes, blots were revealed with ECL (Clarity Western ECL Substrate, BioRad) and exposed with ChemiDoc Touch Imaging System (BioRad). The results were quantified using the ImageLab software (BioRad). All the present quantifications are relative to total protein levels.

Immunohistological analysis

Mice were deeply anesthetized with ketamine/xylazine (100 mg/kg ketamine, 30 mg/kg xylazine) and intracardially perfused with saline (5 min) and 4% paraformaldehyde (10 min). Brains were extracted then stored in 20% sucrose in phosphate buffer during 48 h before freezing them in isopentane. Floating coronal sections (30 μm) were cut using a cryostat (CM3050S, Leica) in serial sections within a block of tissue extending from + 1.34 to + 0.02

from Bregma for the dorsal striatum. Sections were stored at – 20 °C in tissue cryoprotective solution (30% glycerol, 30% ethyleneglycol, 40% phosphate buffer 0.1 M). Upon use, the sections were washed three times with PBS and incubated with blocking buffer (0.1% Triton-X-100 and 5% goat serum in PBS) for 1.5 h at room temperature, followed by incubation with primary antibodies overnight at 4°C. Primary antibodies used were: rabbit anti-CBX8 (#PA5-109483, Invitrogen), mouse anti-NeuN (MAB377, Millipore), Alexa Fluor 488 AffiniPure antimouse (#A32723, Invitrogen), Alexa Fluor 594 AffiniPure anti-mouse (#A32754, Invitrogen). The images were acquired using a microscope Apotome (Apotome.2 Zeiss) and analyzed using Zen Blue (Zeiss). Counting was performed manually, and the data were blinded to the assessor to avoid any bias. Where multiple sections from one sample were assessed, the average of the counts per animal was used. Data are expressed as mean ± standard error of the mean (sem). Statistical analyses were performed using GraphPad Prism software (version 8.0) and the significance of differences was assessed by two tail unpaired Student's t test. The statistical parameters can be found in the figures and figure legends. For better visual representation, the fluorescence background was subtracted from 50 and a median filter of 0.1 was applied to the red and green channels (CBX8 and NeuN) using FIJI software. These corrections were not applied to quantified images.

Statistics

For bar plots, centered regions indicate the mean + /-sem, for boxplots, centered regions indicate the median, box limits, upper and lower quartiles and whiskers, 1.5x interquartile range. All measurements were taken from distinct samples. For pairwise comparisons of average, data were tested for normality using the Shapiro's test. Statistical analyses included one-sample or two-tailed unpaired Student's t test, two-way analysis of variance and two-ways analysis of variance with repeated measures. In case the samples were significantly non-normal, non-parametric tests, including Kruskal-Wallis, one-sample Wilcoxon and binomial tests were performed. For multiple comparisons, the Bonferroni correction was applied. *P* values < 0.05 were considered to be statistically significant, except when otherwise indicated. No statistical method was used to predetermine sample size, but our sample sizes are based on similar, previously established, experimental designs.

Data and code availability

Datasets generated in the study are available under GEO accession number GSE262075 (FANS-ChIPseq R6/1 mice), GSE26076 (FANS-CUT&Tag R6/1 mice), GSE26078 (ChIPseq R6/1 mice) and GSE26077 (FANS-CUT&Tag temporal analysis HD Q140 KI mice). Custom codes are available from the corresponding author upon reasonable request.

Author contributions

B.B. and R.A.V. performed epigenomic experiments, analysed the data and wrote the manuscript; N.P. performed epigenomic, immunohistological and western-blotting experiments, analysed the data and wrote the manuscript; J. Sc. performed immunohistological data; J.Se. and S.V.K. analysed epigenomic data; B.C. collected mouse tissues; S.L., CD and EB analysed epigenomic data and wrote the manuscript; A.L.B discussed the data and wrote the manuscript; K.M. designed and coordinated experiments, analysed the data, wrote the manuscript and secured funding.

Competing interests

The authors declare no competing of interest.

Acknowledgements

We thank O. Bildstein, D. Egesi, G. Edomwonyi and A. Isik (LNCA UMR7364) for assistance in animal care. Sequencing was performed by the GenomEast Platform, a member of the ‘France Génomique’ consortium (ANR-10-INSN-0009), nuclei sorting was performed by the Flow Cytometry Platform at IGBMC. This study was supported by the Agence Nationale de la Recherche (ANR-2017-CE12-0027 and ANR-2022-CE12-0033 to K.M), the Fondation de la Recherche Medicale (FRM; Duban price to K.M.), the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), the University of Strasbourg and the Interdisciplinary Thematic Institute NeuroStra (Strasbourg Uni, to KM and EB, as part of the ITI 2021-2028 program of the University of Strasbourg, CNRS and Inserm, supported by IdEx Unistra (ANR-10-IDEX-0002) and under the framework of the French Program “Investments for the Future”). R.A.V. was supported by post-doctoral fellowship from the IdEx fellowship program (Strasbourg Uni). J.Se. was supported by postdoctoral fellowship from the ANR (ANR-2017-CE12-0027). B.B. and J.Sc were recipients of doctoral fellowship from the French government. B.B. received PhD

extension funded by NeuroStra (Strasbourg Uni). N.P. was supported by doctoral fellowship from the ANR (ANR-2022-CE12-0033).

Supplementary figures

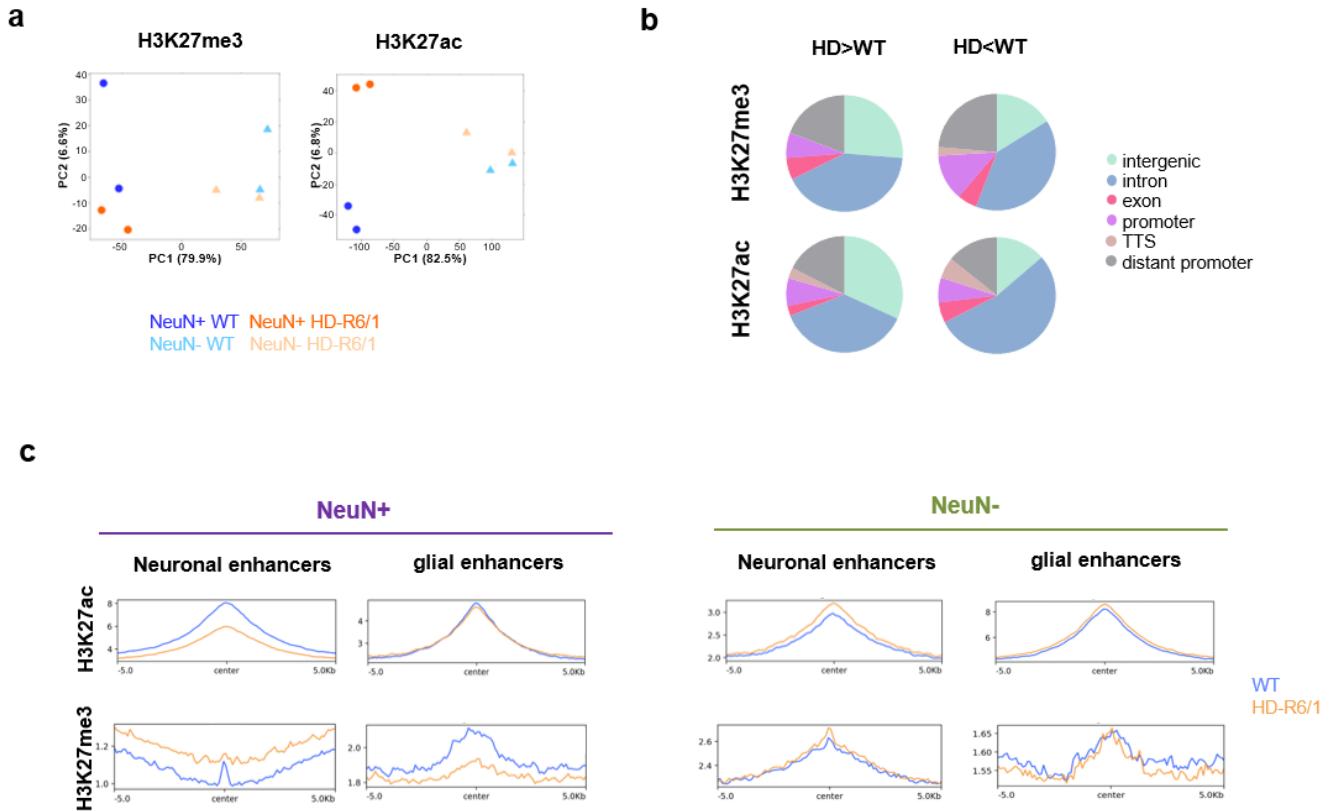
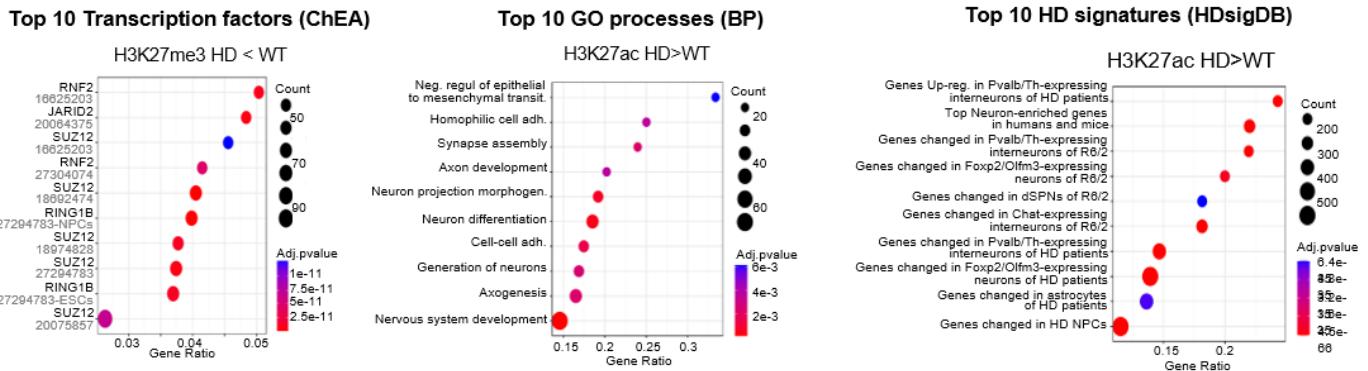


Fig. 37/Fig S1 Cellular identity-associated histone marks are specifically altered in striatal neurons of HD mice.

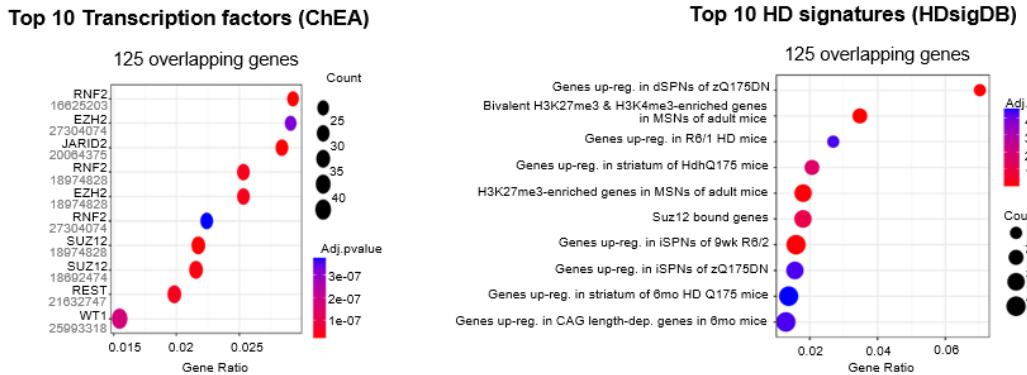
a. Principal component analyses computed from H3K27ac and H3K27me3 FANS-ChIPseq data generated on R6/1 and WT mice. **b.** Genomic distribution of H3K27me3 (up) and H3K27ac (bottom) increased (left, HD>WT) and decreased (right, HD<WT) regions in R6/1 vs WT NeuN+ ChIPseq data. **c.** Metaprofiles showing H3K27ac and H3K27me3 mean signals in WT and R6/1 NeuN+ (left) and NeuN- (right) samples, at neuronal-specific and glial-specific striatal enhancers. Neuronal-specific and glial-specific striatal enhancers by ⁹.

Fig.38/Fig S2 Developmental genes are epigenetically de-repressed in striatal neurons of HD mice (page 124)

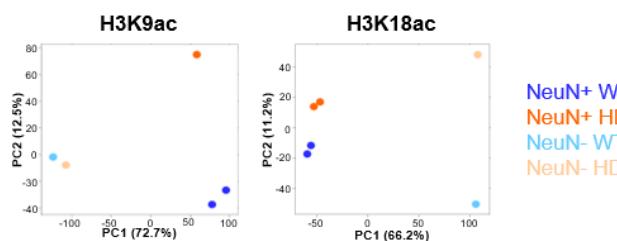
a. Top 10 predicted transcriptional regulators (ChEA database) enriched in H3K27me3-depleted regions in R6/1 vs WT NeuN+ samples. **b.** Left, Top 10 gene ontology (GO) processes (biological processes, BP) enriched in H3K27ac-increased regions in R6/1 vs WT NeuN+ samples. Right, Top 10 HD23 related signatures (HDSigDB database) enriched in H3K27ac-enriched regions in R6/1 vs WT NeuN+ samples. **c.** Left, Top 10 predicted transcriptional regulators (ChEA database) enriched in 125 overlapping genes. Right, Top 10 HD-related signatures (HDSigDB database) enriched in 125 overlapping genes. **d.** Principal component analyses computed from H3K9ac NeuN+ FANS-CUT&Tag (left) and H3K18ac NeuN+ CUT&Tag (right) data generated in R6/1 and WT mice. **e.** Volcano plots showing H3K9ac (up) and H3K18ac (bottom) differentially enriched regions in R6/1 vs WT NeuN+ samples. Decreased and increased regions in HD_R6/1 are shown in blue and red, respectively (SICER method, adj. Pval<10-5). **f.** Genomic distribution of H3K9ac (up) and H3K18ac (bottom) increased (left, HD>WT) and decreased (right, HD<WT) regions in R6/1 vs WT NeuN+ ChIPseq data. **g.** IGV genome browser capture showing H3K27me3, H3K27ac, H3K9ac and H3K18ac signals in R6/1 and WT NeuN+ and NeuN- samples at *Pax6* gene locus. **j.** mRNA levels of *Pax6* in dSPN and iSPN of R6/2 and WT mice (middle, RNAseq data by 11) and in striatal astroglia, dSPN and iSPN of Q175 knockin (HD-KI-Q175) and control (CT) mice (right, RNAseq data by 11). mRNA levels, reads per kilobases (RPK). Statistics show adj. Pval, multiple testing correction was performed using the Benjamini-Hochberg method.



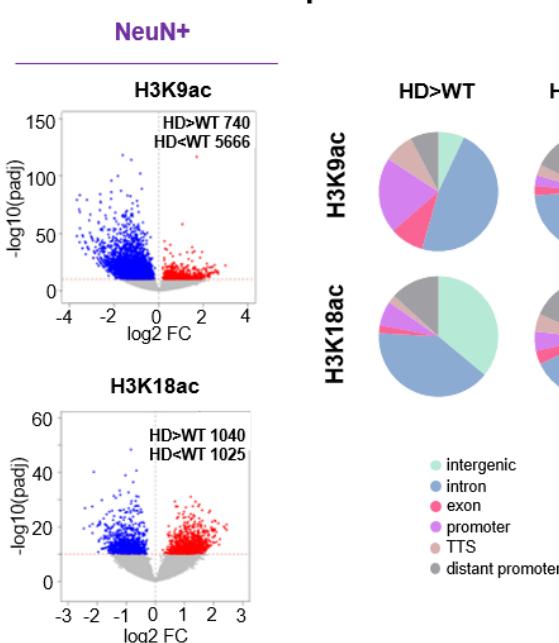
c



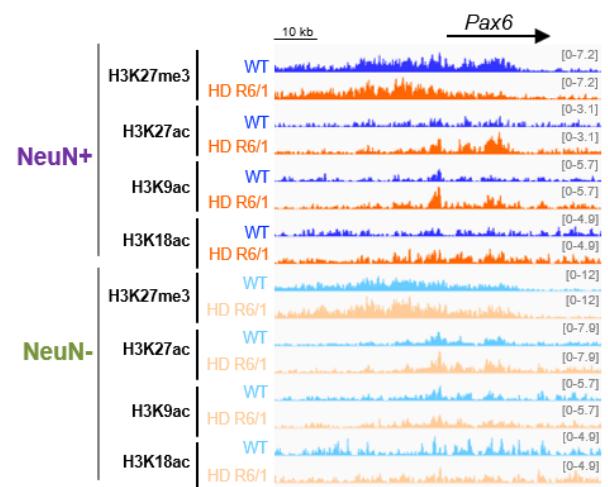
d



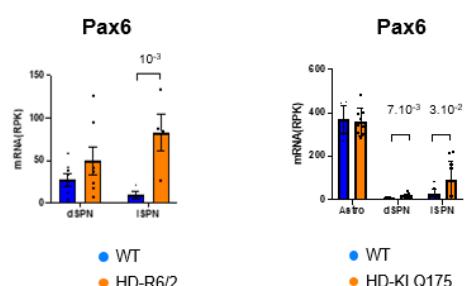
e

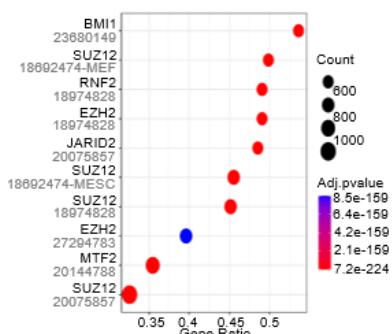
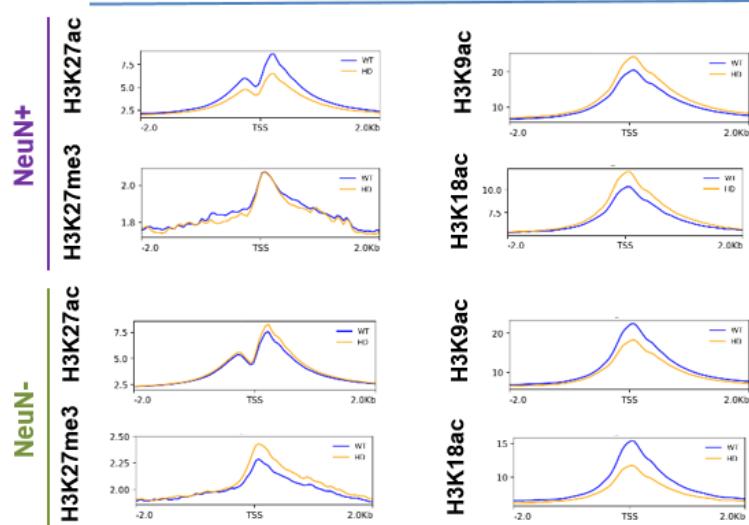
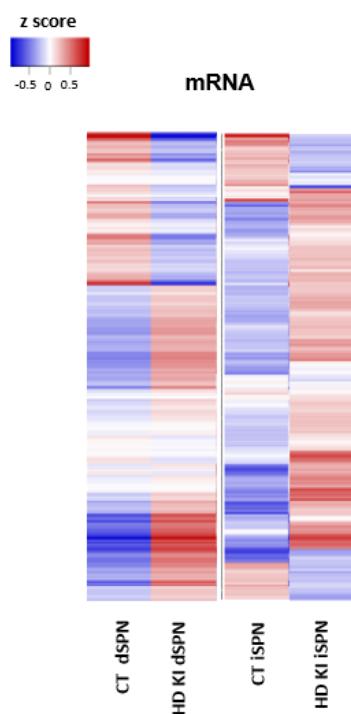
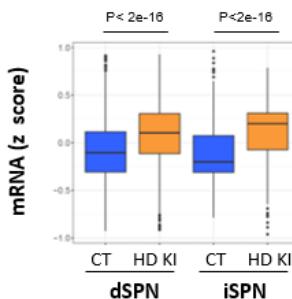


g



h



a**Top 10 Transcription factors (ChEA)****Bivalent promoters****b****ALL promoters****c****d****Fig. 39/Fig. S3 Bivalent promoters are de-repressed in striatal neurons of HD mice**

a. Top 10 predicted transcriptional regulators (ChEA database) enriched in the cluster of bivalent promoters. **b.** Metaprofiles showing H3K27ac, H3K27me3, H3K9ac and H3K18ac mean signals in WT (blue) and R6/1 (orange) NeuN+ and NeuN- samples at all promoters. **c.** Heatmap of z-score expression values of bivalent genes in HD Q175 knockin (HD KI) and WT dSPN and iSPN (RNAseq data by ¹¹).

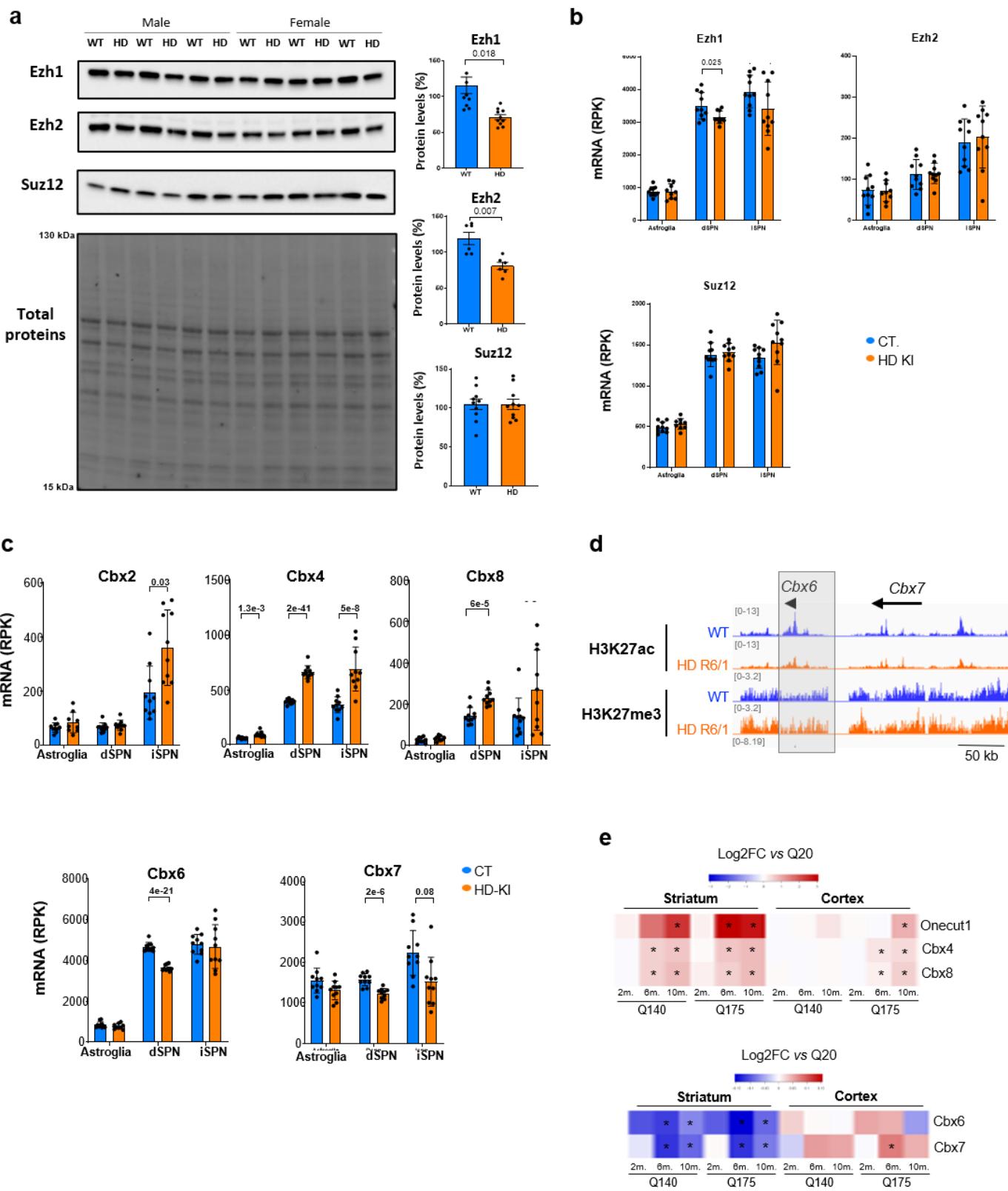


Fig.40/Fig S4 CBX proteins undergo paralog switch in striatal neurons of HD mice

a. Left, Immunoblots showing EZH1, EZH2, SUZ12 and total proteins levels in the striatum of R6/1 and WT mice. Male and female samples are specified. Right, bar graphs showing EZH1, EZH2, SUZ12 protein levels. Values were normalized to total protein (\pm sem). Statistical analysis was performed using unpaired t-test. **b.** mRNA levels of *Ezh1*, *Ezh2* and *Suz12* in striatal astroglia, dSPN and iSPN of HD Q175 knockin (HD KI) and control (Q20) mice (RNAseq data by 11). mRNA levels, reads per kilobases (RPK). Statistics show adj. Pval, multiple testing correction was performed using the Benjamini-Hochberg method. **c.** mRNA levels of *Cbx2*, *Cbx4*, *Cbx8*, *Cbx6* and *Cbx7* in striatal astroglia, dSPN and iSPN of HD Q175 knockin (HD KI) and control (CT) mice (RNAseq data by 11). mRNA levels, reads per kilobases (RPK). Statistics show adj. Pval, multiple testing correction was performed using the Benjamini-Hochberg method. **d.** IGV genome browser capture showing H3K27ac and H3K27me3 signals in R6/1 and WT NeuN+ samples at *Cbx6/Cbx7* genomic locus. **e.** Heatmap of Log2FC (HD / CT) expression values of PRC1 Cbx paralogs and *Onecut1* in bulk striatal and cortical tissues of HD mice (Q140 and Q175 lines) and control mice (CT) at 2, 6 and 10 months of age (2m, 6m and 10m) (RNAseq data by 10). Statistics show adj. Pval, multiple testing correction was performed using the Benjamini-Hochberg method. *, adj. Pval <0.05.

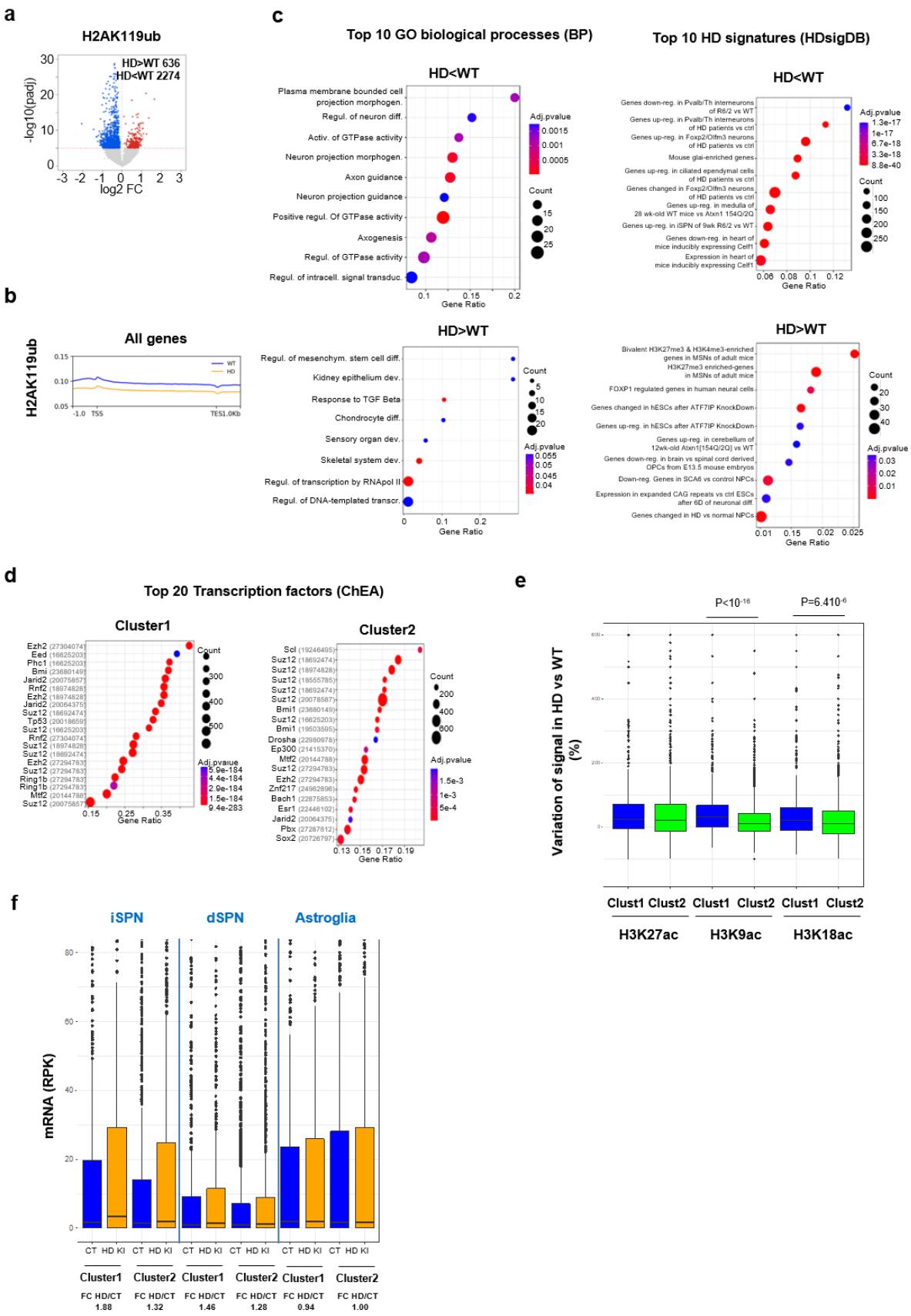


Fig.41/Fig.S5 H2AK119ub is depleted at subcluster of bivalent promoters in the striatum of HD mice

a. Volcano plots showing H2AK119ub differentially enriched regions in R6/1 vs WT striatal tissue. Decreased and increased regions in R6/1 are represented in blue and red, respectively (SICER method, FDR<10-5). **b.** Metaprofiles showing H2AK119ub mean signal in WT (blue) and R6/1 (orange) striatum for all genes and from gene start (TSS) to gene end (TES) +/-1kb. **c.** Top 10 gene ontology (GO) processes (biological processes, BP) enriched in H2AK119ub-depleted regions (left) and H2AK119ub-increased regions (right). **d.** Top 20 predicted transcriptional regulators (ChEA) enriched in cluster 1 and cluster 2. **e.** Boxplot showing H3K27ac, H3K9ac and H3K18ac signal variations in R6/1 vs at cluster 1 and cluster 2 gene promoters. Statistical analysis was performed using Kruskal-Wallis test and Bonferroni correction for multiple testing. **f.** Boxplots showing mRNA levels of genes in cluster 1 and cluster 2 in striatal astroglia, iSPN and dSPN of HD Q175 knockin mice (HD KI) and control mice (CT) (RNAseq data by 11). Fold change (FC) of HD/WT values are shown. mRNA levels, reads per kilobases (RPK).

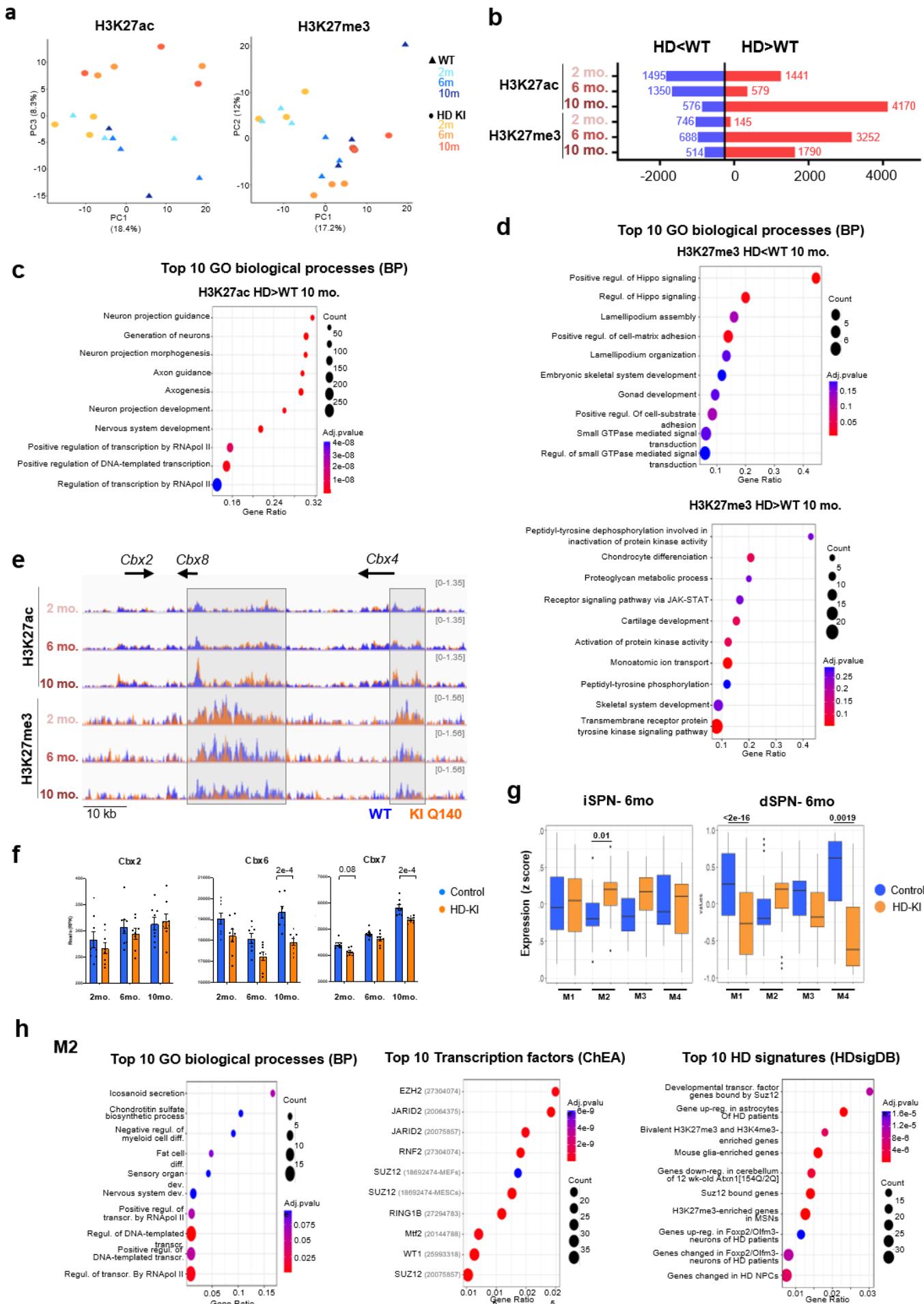
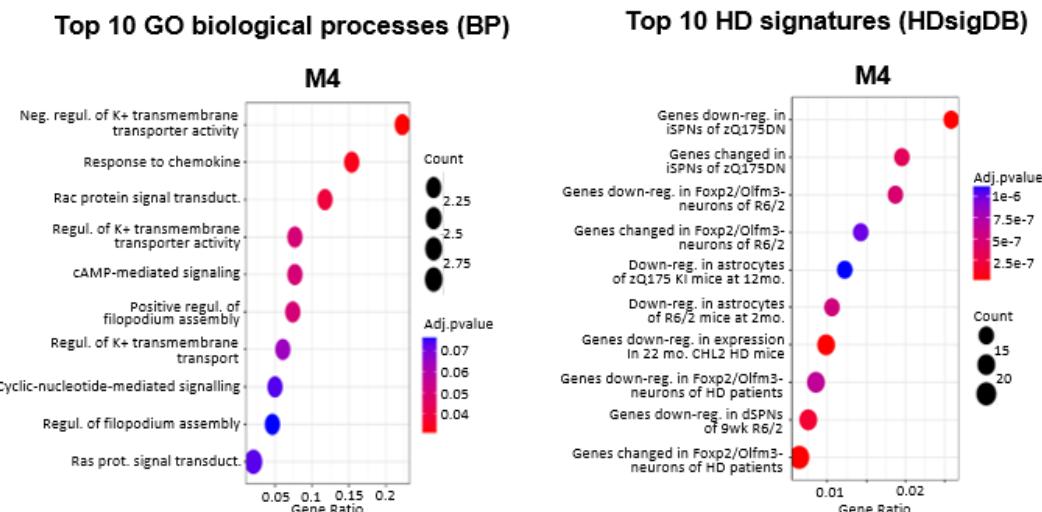


Fig.42/Fig.S6 De-repression of neurodevelopmental genes is an aging signature accelerated in striatal neurons of HD mice

a. Principal component analyses computed from H3K27ac and H3K27me3 NeuN+ FANS-CUT&Tag data generated on HD Q140 KI (HD KI) and WT mice of 2, 6 and 10 month-old. b. H3K27ac and H3K27me3 differentially enriched regions HD Q140 KI (HD) vs WT samples. c. Top 10 gene ontology (GO) processes (biological processes, BP) enriched in H3K27ac-increased regions in HD KI vs WT NeuN+ samples at 10 months of age. d. Top 10 gene ontology (GO) processes (biological processes, BP) enriched in H3K27me3-depleted (top) and H3K27me3-increased (bottom) regions in HD KI vs WT NeuN+ samples at 10 months of age. e. IGV genome browser capture showing H3K27ac and H3K27me3 signals at Cbx2/4/8 genomic locus, in HD KI and WT NeuN+ samples at 2, 6 and 10 months. f. mRNA levels of *Cbx2*, *Cbx6* and *Cbx7* in bulk striatal tissue of 2, 6 and 10 month-old HD Q140 KI and WT mice (RNAseq data by 10). mRNA levels, reads per kilobases (RPK). Statistics show adj. Pval, multiple testing correction was performed using the Benjamini-Hochberg method. g. Boxplot showing z-score expression values of M1,M2, M3 and M4 genes generated using co-expression module analysis on euchromatinization index in iSPN and dSPN of 6 month-old HD KI Q175 and control (CT) mice. RNAseq data by 11. Statistical analysis was performed using Kruskal-Wallis test and Bonferroni correction for multiple testing. h. Top 10 gene ontology (GO) processes (biological processes, BP), predicted transcriptional regulators (ChEA) and HD signatures (HDSigDB) enriched in M2 module.

a



b

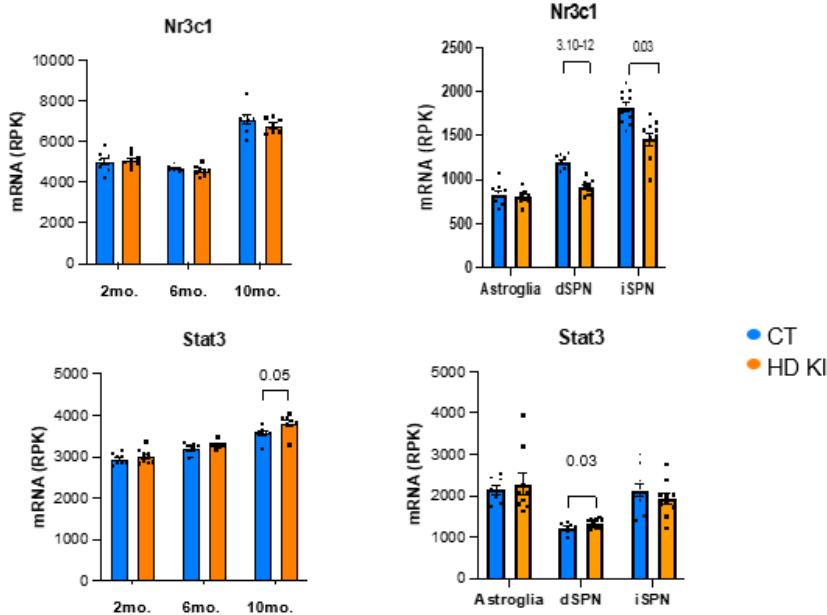


Fig.43/Fig S7 Epigenetic regulation of stress response during aging is abnormal in HD mouse striatal neurons

a. Top 10 gene ontology (GO) processes (biological processes, BP) and HD signatures (HDSigDB) enriched in M4 module. b. Left, mRNA levels of *Nr3c1* (top) and *Stat3* (bottom) in bulk striatal tissue of 2, 6 and 10 month-old HD Q140 KI (HD KI) and control (CT) mice (RNAseq data by 10). Right, mRNA levels of *Nr3c1* (top) and *Stat3* (bottom) in striatal astroglia, dSPN and iSPN of Q175 knockin (HD KI) and control (CT) mice (right, RNAseq data by 11). mRNA levels, reads per kilobases (RPK). Statistics show adj. Pval, multiple testing correction was performed using the Benjamini-Hochberg method.

References

- 1 Bates, G. P. *et al.* Huntington disease. *Nat Rev Dis Primers* 1, 15005, doi:10.1038/nrdp.2015.5 (2015).
- 2 Gusella, J. F., Lee, J. M. & MacDonald, M. E. Huntington's disease: nearly four decades of human molecular genetics. *Hum Mol Genet* 30, R254-R263, doi:10.1093/hmg/ddab170 (2021).
- 3 Vonsattel, J. P., Keller, C. & Cortes Ramirez, E. P. Huntington's disease - neuropathology. *Handb Clin Neurol* 100, 83-100, doi:10.1016/B978-0-444-52014-2.00004-5 (2011).
- 4 Heinsen, H. *et al.* Cortical and striatal neurone number in Huntington's disease. *Acta Neuropathol* 88, 320-333, doi:10.1007/BF00310376 (1994).
- 5 Lopez-Otin, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M. & Kroemer, G. Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell* 186, 243-278, doi:10.1016/j.cell.2022.11.001 (2023).
- 6 Lu, Y. R., Tian, X. & Sinclair, D. A. The Information Theory of Aging. *Nat Aging* 3, 1486-1499, doi:10.1038/s43587-023-00527-6 (2023).
- 7 Yang, J. H. *et al.* Loss of epigenetic information as a cause of mammalian aging. *Cell* 186, 305-326 e327, doi:10.1016/j.cell.2022.12.027 (2023).
- 8 Achour, M. *et al.* Neuronal identity genes regulated by super-enhancers are preferentially down-regulated in the striatum of Huntington's disease mice. *Hum Mol Genet* 24, 3481-3496, doi:10.1093/hmg/ddv099 (2015).
- 9 Alcala-Vida, R. *et al.* Age-related and disease locus-specific mechanisms contribute to early remodelling of chromatin structure in Huntington's disease mice. *Nat Commun* 12, 364, doi:10.1038/s41467-020-20605-2 (2021).
- 10 Langfelder, P. *et al.* Integrated genomics and proteomics define huntingtin CAG lengthdependent networks in mice. *Nat Neurosci* 19, 623-633, doi:10.1038/nn.4256 (2016).
- 11 Lee, H. *et al.* Cell Type-Specific Transcriptomics Reveals that Mutant Huntingtin Leads to Mitochondrial RNA Release and Neuronal Innate Immune Activation. *Neuron* 107, 891-908 e898, doi:10.1016/j.neuron.2020.06.021 (2020).
- 12 Malaiya, S. *et al.* Single-Nucleus RNA-Seq Reveals Dysregulation of Striatal Cell Identity Due to Huntington's Disease Mutations. *J Neurosci* 41, 5534-5552, doi:10.1523/JNEUROSCI.2074-20.2021 (2021).
- 13 Mangiarini, L. *et al.* Exon 1 of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice. *Cell* 87, 493-506 (1996).
- 14 Kaya-Okur, H. S., Janssens, D. H., Henikoff, J. G., Ahmad, K. & Henikoff, S. Efficient low-cost chromatin profiling with CUT&Tag. *Nat Protoc* 15, 3264-3283, doi:10.1038/s41596-020-0373-x (2020).
- 26
- 15 Klimova, L., Antosova, B., Kuzelova, A., Strnad, H. & Kozmik, Z. Onecut1 and Onecut2 transcription factors operate downstream of Pax6 to regulate horizontal cell development. *Dev Biol* 402, 48-60, doi:10.1016/j.ydbio.2015.02.023 (2015).
- 16 Pressl, C. *et al.* Selective vulnerability of layer 5a corticostriatal neurons in Huntington's disease. *Neuron*, doi:10.1016/j.neuron.2023.12.009 (2024).
- 17 Matlik, K. *et al.* Cell Type Specific CAG Repeat Expansions and Toxicity of Mutant Huntingtin in Human Striatum and Cerebellum. *bioRxiv*, doi:10.1101/2023.04.24.538082 (2023).
- 18 Kim, J. J. & Kingston, R. E. Context-specific Polycomb mechanisms in development. *Nat Rev Genet* 23, 680-695, doi:10.1038/s41576-022-00499-0 (2022).
- 19 Kloet, S. L. *et al.* The dynamic interactome and genomic targets of Polycomb complexes during stem-cell differentiation. *Nat Struct Mol Biol* 23, 682-690, doi:10.1038/nsmb.3248 (2016).
- 20 Blackledge, N. P. *et al.* Variant PRC1 complex-dependent H2A ubiquitylation drives PRC2 recruitment and polycomb domain formation. *Cell* 157, 1445-1459,

- doi:10.1016/j.cell.2014.05.004 (2014).
- 21 Li, L. *et al.* Glis1 facilitates induction of pluripotency via an epigenome-metabolomeepigenome signalling cascade. *Nat Metab* 2, 882-892, doi:10.1038/s42255-020-0267-9 (2020).
- 22 Hodges, A. *et al.* Regional and cellular gene expression changes in human Huntington's disease brain. *Hum Mol Genet* 15, 965-977, doi:10.1093/hmg/ddl013 (2006).
- 23 Merienne, N. *et al.* Cell-Type-Specific Gene Expression Profiling in Adult Mouse Brain Reveals Normal and Disease-State Signatures. *Cell Rep* 26, 2477-2493 e2479, doi:10.1016/j.celrep.2019.02.003 (2019).
- 24 Vashishtha, M. *et al.* Targeting H3K4 trimethylation in Huntington disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 110, E3027-3036, doi:10.1073/pnas.1311323110 (2013).
- 25 Yang, N. *et al.* A hyper-quiescent chromatin state formed during aging is reversed by regeneration. *Mol Cell* 83, 1659-1676 e1611, doi:10.1016/j.molcel.2023.04.005 (2023).
- 26 Xiong, X. *et al.* Epigenomic dissection of Alzheimer's disease pinpoints causal variants and reveals epigenome erosion. *Cell* 186, 4422-4437 e4421, doi:10.1016/j.cell.2023.08.040 (2023).
- 27 Horvath, S. & Raj, K. DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. *Nat Rev Genet* 19, 371-384, doi:10.1038/s41576-018-0004-3 (2018).
- 28 Horvath, S. *et al.* Huntington's disease accelerates epigenetic aging of human brain and disrupts DNA methylation levels. *Aging (Albany NY)* 8, 1485-1512, doi:10.18632/aging.101005 (2016).
- 29 Buckley, M. T. *et al.* Cell-type-specific aging clocks to quantify aging and rejuvenation in neurogenic regions of the brain. *Nat Aging* 3, 121-137, doi:10.1038/s43587-022-00335-4 (2023).
- 30 Barski, A. *et al.* High-resolution profiling of histone methylations in the human genome. *Cell* 129, 823-837, doi:10.1016/j.cell.2007.05.009 (2007).
- 31 Macrae, T. A., Fothergill-Robinson, J. & Ramalho-Santos, M. Regulation, functions and transmission of bivalent chromatin during mammalian development. *Nat Rev Mol Cell Biol* 24, 6-26, doi:10.1038/s41580-022-00518-2 (2023).
- 32 von Schimmelmann, M. *et al.* Polycomb repressive complex 2 (PRC2) silences genes responsible for neurodegeneration. *Nat Neurosci* 19, 1321-1330, doi:10.1038/nn.4360 (2016).
- 33 Seong, I. S. *et al.* Huntingtin facilitates polycomb repressive complex 2. *Hum Mol Genet* 19, 573-583, doi:10.1093/hmg/ddp524 (2010).
- 34 Ku, M. *et al.* Genomewide analysis of PRC1 and PRC2 occupancy identifies two classes of bivalent domains. *PLoS Genet* 4, e1000242, doi:10.1371/journal.pgen.1000242 (2008).
- 35 Plys, A. J. *et al.* Phase separation of Polycomb-repressive complex 1 is governed by a charged disordered region of CBX2. *Genes Dev* 33, 799-813, doi:10.1101/gad.326488.119 (2019).
- 36 Tatavosian, R. *et al.* Nuclear condensates of the Polycomb protein chromobox 2 (CBX2) assemble through phase separation. *J Biol Chem* 294, 1451-1463, doi:10.1074/jbc.RA118.006620 (2019).
- 37 Guo, Y., Zhao, S. & Wang, G. G. Polycomb Gene Silencing Mechanisms: PRC2 Chromatin Targeting, H3K27me3 'Readout', and Phase Separation-Based Compaction. *Trends Genet* 37, 547-565, doi:10.1016/j.tig.2020.12.006 (2021).
- 38 Brown, K. *et al.* Principles of assembly and regulation of condensates of Polycomb repressive complex 1 through phase separation. *Cell Rep* 42, 113136, doi:10.1016/j.celrep.2023.113136 (2023).
- 39 Vandamme, J., Volkel, P., Rosnoblet, C., Le Faou, P. & Angrand, P. O. Interaction proteomics analysis of polycomb proteins defines distinct PRC1 complexes in mammalian cells. *Mol Cell Proteomics* 10, M110 002642, doi:10.1074/mcp.M110.002642 (2011).
- 40 Ren, X., Vincenz, C. & Kerppola, T. K. Changes in the distributions and dynamics of polycomb repressive complexes during embryonic stem cell differentiation. *Mol Cell Biol* 28, 2884-2895,

- doi:10.1128/MCB.00949-07 (2008).
- 41 Jaensch, E. S. *et al.* A Polycomb domain found in committed cells impairs differentiation when introduced into PRC1 in pluripotent cells. *Mol Cell* 81, 4677-4691 e4678, doi:10.1016/j.molcel.2021.09.018 (2021).
- 42 Ui, A., Nagaura, Y. & Yasui, A. Transcriptional elongation factor ENL phosphorylated by ATM recruits polycomb and switches off transcription for DSB repair. *Mol Cell* 58, 468-482, doi:10.1016/j.molcel.2015.03.023 (2015).
- 43 Barbour, H., Daou, S., Hendzel, M. & Affar, E. B. Polycomb group-mediated histone H2A monoubiquitination in epigenome regulation and nuclear processes. *Nat Commun* 11, 5947, doi:10.1038/s41467-020-19722-9 (2020).
- 44 Fitieh, A. *et al.* BMI-1 regulates DNA end resection and homologous recombination repair. *Cell Rep* 38, 110536, doi:10.1016/j.celrep.2022.110536 (2022).
- 45 Gu, X. *et al.* Uninterrupted CAG repeat drives striatum-selective transcriptionopathy and nuclear pathogenesis in human Huntington BAC mice. *Neuron* 110, 1173-1192 e1177, doi:10.1016/j.neuron.2022.01.006 (2022).
- 46 Tabrizi, S. J., Flower, M. D., Ross, C. A. & Wild, E. J. Huntington disease: new insights into molecular pathogenesis and therapeutic opportunities. *Nat Rev Neuro*l 16, 529-546, doi:10.1038/s41582-020-0389-4 (2020).
- 47 Genetic Modifiers of Huntington's Disease Consortium. Electronic address, g. h. m. h. e. & Genetic Modifiers of Huntington's Disease, C. CAG Repeat Not Polyglutamine Length Determines Timing of Huntington's Disease Onset. *Cell* 178, 887-900 e814, doi:10.1016/j.cell.2019.06.036 (2019).
- 48 Matlik, K. *et al.* Cell-type-specific CAG repeat expansions and toxicity of mutant Huntingtin in human striatum and cerebellum. *Nat Genet*, doi:10.1038/s41588-024-01653-6 (2024).
- 49 Gall-Duncan, T. *et al.* Antagonistic roles of canonical and Alternative-RPA in diseaseassociated tandem CAG repeat instability. *Cell* 186, 4898-4919 e4825, doi:10.1016/j.cell.2023.09.008 (2023).
- 50 Maiuri, T. *et al.* DNA Damage Repair in Huntington's Disease and Other Neurodegenerative Diseases. *Neurotherapeutics* 16, 948-956, doi:10.1007/s13311-019-00768-7 (2019).
- 51 Morozko, E. L. *et al.* PIAS1 modulates striatal transcription, DNA damage repair, and SUMOylation with relevance to Huntington's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 118, doi:10.1073/pnas.2021836118 (2021).
- 52 Maiuri, T. *et al.* Huntingtin is a scaffolding protein in the ATM oxidative DNA damage response complex. *Hum Mol Genet* 26, 395-406, doi:10.1093/hmg/ddw395 (2017).
- 53 Peskett, T. R. *et al.* A Liquid to Solid Phase Transition Underlying Pathological Huntingtin Exon1 Aggregation. *Mol Cell* 70, 588-601 e586, doi:10.1016/j.molcel.2018.04.007 (2018).
- 54 Smith, E. J. *et al.* Early detection of exon 1 huntingtin aggregation in zQ175 brains by molecular and histological approaches. *Brain Commun* 5, fcad010, doi:10.1093/braincomms/fcad010 (2023).
- 55 Steffan, J. S. *et al.* Histone deacetylase inhibitors arrest polyglutamine-dependent neurodegeneration in Drosophila. *Nature* 413, 739-743, doi:10.1038/35099568 (2001).
- 56 Nucifora, F. C., Jr. *et al.* Interference by huntingtin and atrophin-1 with cbp-mediated transcription leading to cellular toxicity. *Science* 291, 2423-2428, doi:10.1126/science.1056784 (2001).
- 57 Megret, L. *et al.* Shape deformation analysis reveals the temporal dynamics of cell-typespecific homeostatic and pathogenic responses to mutant huntingtin. *eLife* 10, doi:10.7554/eLife.64984 (2021).
- 58 Maekawa, M. *et al.* Direct reprogramming of somatic cells is promoted by maternal transcription factor Glis1. *Nature* 474, 225-229, doi:10.1038/nature10106 (2011).
- 59 Cipriano, A. *et al.* Mechanisms, pathways and strategies for rejuvenation through epigenetic reprogramming. *Nat Aging* 4, 14-26, doi:10.1038/s43587-023-00539-2 (2024).
- 60 Langmead, B., Trapnell, C., Pop, M. & Salzberg, S. L. Ultrafast and memory-efficient alignment

- of short DNA sequences to the human genome. *Genome Biol* 10, R25, doi:10.1186/gb-2009- 10-3-r25 (2009).
- 61 Li, H. *et al.* The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics* 25, 2078- 2079, doi:10.1093/bioinformatics/btp352 (2009).
- 62 Zang, C. *et al.* A clustering approach for identification of enriched domains from histone modification ChIP-Seq data. *Bioinformatics* 25, 1952-1958, doi:10.1093/bioinformatics/btp340 (2009).
- 63 Quinlan, A. R. & Hall, I. M. BEDTools: a flexible suite of utilities for comparing genomic features. *Bioinformatics* 26, 841-842, doi:10.1093/bioinformatics/btq033 (2010).
- 64 Anders, S. & Huber, W. Differential expression analysis for sequence count data. *Genome Biol* 11, R106, doi:10.1186/gb-2010-11-10-r106 (2010).
- 65 Love, M. I., Huber, W. & Anders, S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol* 15, 550, doi:10.1186/s13059-014-0550-8 (2014).
- 66 Ye, T., Ravens, S., Krebs, A. R. & Tora, L. Interpreting and visualizing ChIP-seq data with the seqMINER software. *Methods Mol Biol* 1150, 141-152, doi:10.1007/978-1-4939-0512-6_8 (2014).
- 67 Ramirez, F. *et al.* deepTools2: a next generation web server for deep-sequencing data analysis. *Nucleic Acids Res* 44, W160-165, doi:10.1093/nar/gkw257 (2016).
- 68 Chen, E. Y. *et al.* Enrichr: interactive and collaborative HTML5 gene list enrichment analysis tool. *BMC Bioinformatics* 14, 128, doi:10.1186/1471-2105-14-128 (2013).
- 69 Russo, P. S. T. *et al.* CEMiTool: a Bioconductor package for performing comprehensive modular co-expression analyses. *BMC Bioinformatics* 19, 56, doi:10.1186/s12859-018-2053-1 (2018).
- 70 Alcala-Vida, R. *et al.* Altered activity-regulated H3K9 acetylation at TGF-beta signaling genes during egocentric memory in Huntington's disease. *Prog Neurobiol* 219, 102363, doi:10.1016/j.pneurobio.2022.102363 (2022).
- 71 Kim, D. *et al.* TopHat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions. *Genome Biol* 14, R36, doi:10.1186/gb-2013-14-4-r36 (2013).
- 72 Anders, S., Pyl, P. T. & Huber, W. HTSeq--a Python framework to work with high-throughput sequencing data. *Bioinformatics* 31, 166-169, doi:10.1093/bioinformatics/btu638 (2015).

Axe 2 :

Impact de l'EE sur le comportement et les régulations
épigénétiques et transcriptionnelles striatales de souris
modèles de la MH

1. Enrichissement environnemental par un hébergement standardisé

Pour identifier les mécanismes biologiques impliqués dans la résilience des neurones striataux dans le contexte Huntington -plus particulièrement les mécanismes épigénétiques et transcriptionnels- nous avons eu recours à un EE, démontré dans de nombreuses études comme protecteur des symptômes biologiques et comportementaux de la MH (Novati *et al* 2022). Pour pallier à la variété des protocoles d'enrichissement existants dans la littérature, nous avons utilisé une cage d'enrichissement standardisée (Fares *et al* 2012)([Fig.44](#)).

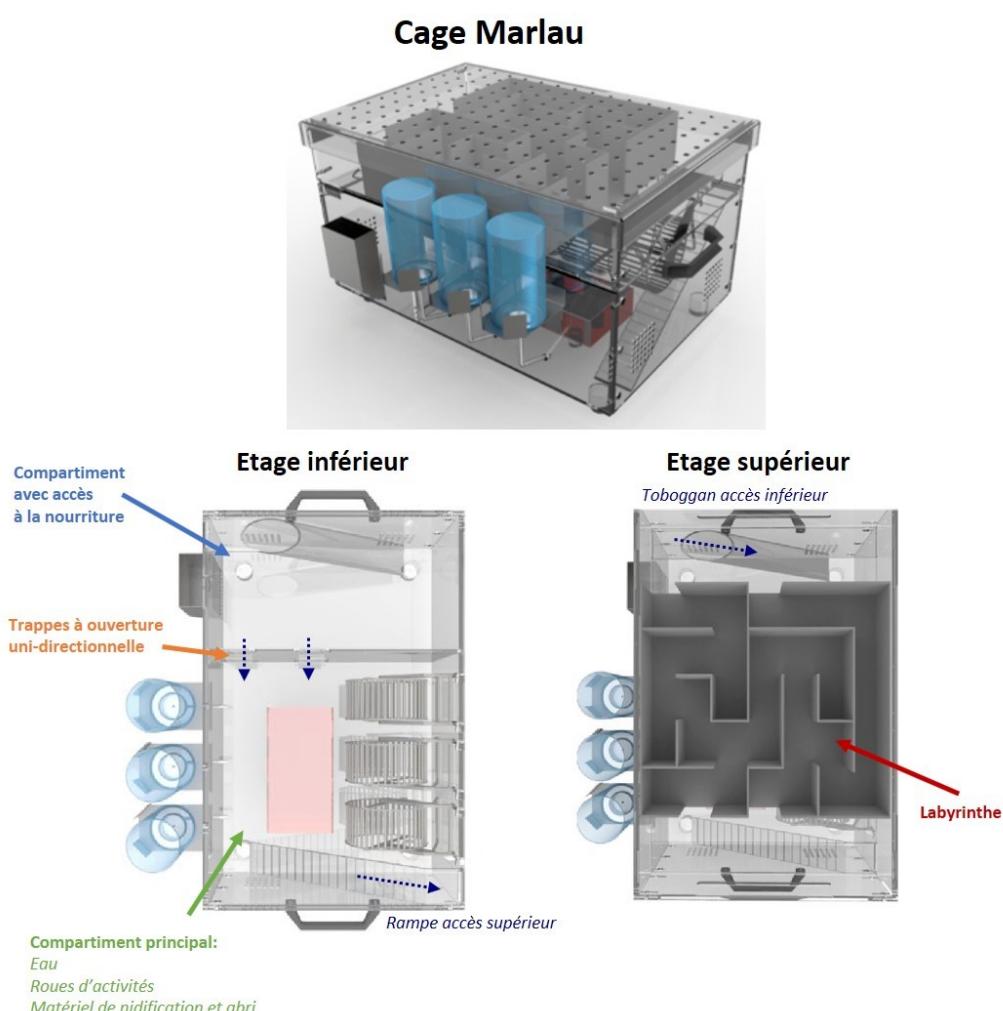


Fig. 44 Cage Marlau

La cage Marlau utilisée pour héberger les animaux en EE est une cage à 2 étages partagée en plusieurs compartiments. Le compartiment principal contient des roues d'activité en libre accès, du matériel de nidification et un abri ainsi que l'accès à la boisson. Pour accéder au compartiment avec l'accès à la nourriture, les animaux doivent passer par le compartiment supérieur et traverser un labyrinthe. (Fares *et al* 2012).

Des souris R6/1 et contrôles (WT, issues des mêmes fratries que les R6/1), mâles et femelles, ont été placées dès la séparation maternelle (à l'âge de 4 semaines) et pendant 9 semaines, en environnement enrichi (EE) ou standard (SE), de manière à influer sur l'évolution de la pathogenèse le plus préocurement possible, à un stade présymptomatique de la MH. L'EE a consisté en un hébergement en cage Marlau : ces cages permettent un enrichissement multiple, en favorisant à la fois l'activité physique par une superficie importante et la présence de roues d'activité en libre accès, en stimulant la cognition par la présence d'un labyrinthe - changé 2 fois par semaines- que les animaux doivent traverser pour accéder au compartiment avec accès à la nourriture, et en permettant des interactions sociales, les animaux étant hébergés par 16 dans la cage (Fares *et al* 2012). En parallèle, les souris hébergées en SE ont été maintenues par 2 ou 3 dans des cages d'hébergement standard avec du matériel de nidification pour seul enrichissement ([Fig.45](#)). Pour éviter toute variabilité dans les résultats, les animaux en EE et SE ont été répartis dans les cages de façon équilibrée selon leur génotype. Durant cet hébergement, les animaux ont été pesés toutes les 2 semaines.

A l'âge de 13 semaines, les animaux ont été testés avec une batterie de tests comportementaux en vue de définir le bénéfice comportemental de l'EE. Cet âge a été choisi, d'après les résultats préalables de l'équipe ayant défini un phénotype comportemental modéré des souris R6/1 à cet âge. Les tests comportementaux ont été réalisés en aveugle, durant la phase diurne, et partagés sur 3 cohortes d'animaux. La cohorte 1 a effectué des tests visant à évaluer la balance anxiété-exploration (boîte claire/obscur et champ ouvert), l'activité locomotrice, les capacités motrices et l'apprentissage moteur procédural (actimétrie, champ ouvert, test de la barre et rotarod accélérant), et la motivation (nidification et préférence à la saccharine). La deuxième cohorte a subi un test comportemental s'étalant sur 6 jours et visant à évaluer la mémoire égocentrique spatiale des animaux. A cette fin, le test du double-H qui permet la discrimination entre l'acquisition d'une mémoire allocentrique -qui dépend de l'hippocampe- vs egocentrique -qui dépend du striatum- a été utilisé (Pol-Bodetto *et al* 2011, Cassel *et al* 2012, Alcala-Vida, Lotz *et al* [annexe2](#)). La réalisation de ce test a été partagée entre deux expérimentateurs, une partie des animaux ayant été testée par J.Scuto (stage de master 2), et l'autre par moi-même. Les animaux de cette cohorte ont été mis à mort à l'âge de 14 semaines, 1h après la tâche de rappel. Les données préalables de l'équipe ont montré que dans ces conditions, les régulations transcriptionnelles et épigénétiques striatales

associées au processus de mémoire égocentrique sont altérées chez les souris R6/1 (Alcalá-Vida, Lotz *et al* [annexe2](#)). Les striata ont été disséqués sur glace et congelés à -80°C en attendant d'être utilisés pour les analyses moléculaires omiques (RNAseq et CUT&Tag) ([Fig.45](#), [annexe1](#)).

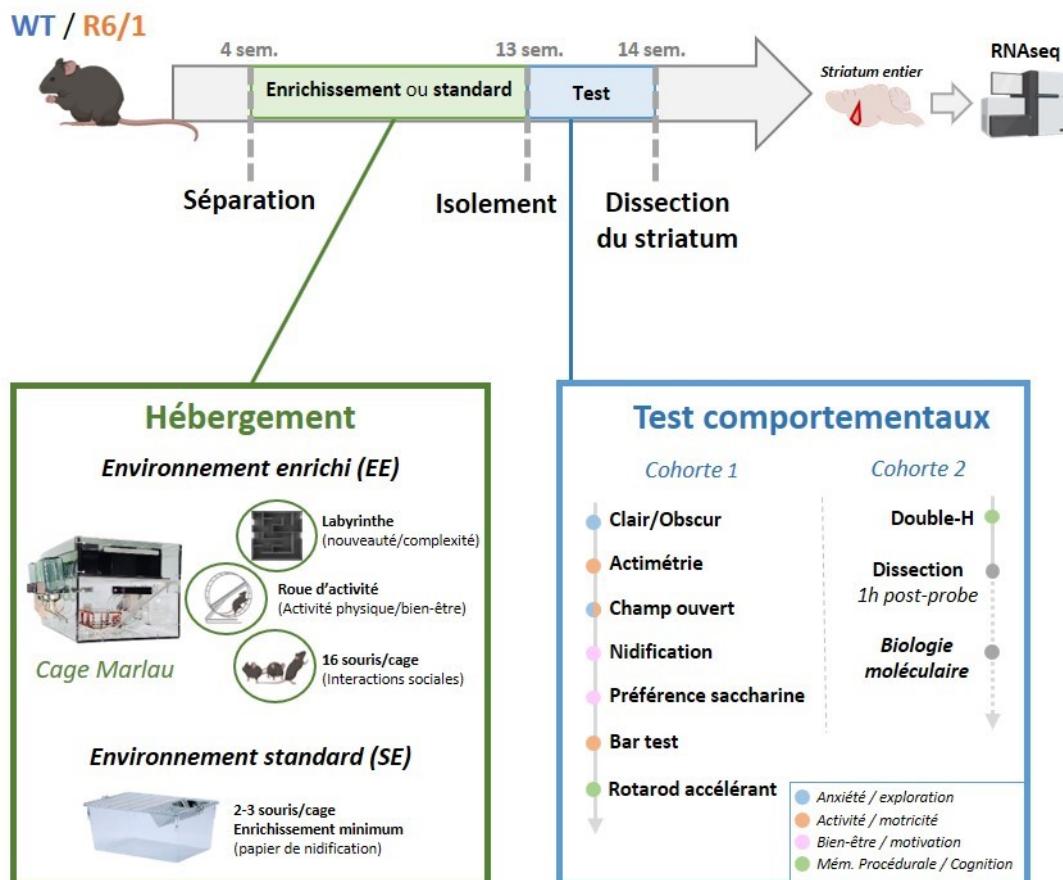


Fig. 45 Design expérimental

Pour étudier les effets comportementaux et moléculaires d'un EE, des animaux R6/1 et WT ont été hébergés en cage Marlau (un EE stimulant l'activité physique, les interactions sociales et la cognition), ou en condition standard, de l'âge de 4 à 13 semaines. Les souris ont ensuite été isolées pour passer une batterie de tests comportementaux mesurant les niveaux d'anxiété, d'activité, de motivation et de capacités cognitives des animaux. La cohorte ayant été testée par le test de doubleH a été mise à mort 1h après le probe et le striatum a été prélevé pour la réalisation d'études moléculaires telle que le séquençage des ARN.

2. L'hébergement en cage Marlau permet de restaurer le phénotype Huntington des modèles R6/1

L'ensemble des tests comportementaux ont été réalisés sur des animaux mâles et femelles (détails en [annexe1](#)). Par souci de clarté, les différences comportementales liées au sexe ne sont présentées que lorsqu'elles sont significatives.

2.1 L'EE permet de ralentir la perte de poids des R6/1 mâles

La moyenne de pesée de l'ensemble des animaux, effectuée tout au long de l'hébergement en EE et SE ne permet pas de conclure d'un impact de l'enrichissement sur le poids (Fig.46a). L'évolution au cours du temps démontre une différence des profils selon les sexes. Les femelles gagnent du poids au fur et à mesure du temps quel que soit la condition expérimentale, tandis que l'ANOVA à 3 facteurs démontre des différences liées au génotype et à l'enrichissement chez les mâles. Particulièrement, les mâles R6/1 ont une prise de poids significativement diminuée à partir de 7 semaines en SE -soit 11 semaines d'âge- par rapport aux R6 EE et aux WT SE (Fig.46b). Ainsi, il apparaît que l'EE induit une prise de poids chez les souris mâles contrôles et R6/1, ce qui chez les souris R6/1 permet de restaurer une normalisation du poids. Le fait que les mâles R6 EE aient tendance à être plus lourds dès la première pesée pourrait atténuer cette conclusion, mais la comparaison des poids des R6 démontrant une différence significative à 9 semaines ($p\text{-valeur}=0.027$) non existante à 1 semaine ($p\text{-valeur}=0.15$)(Fig.46c) suggère que l'EE permet de ralentir la perte de poids des souris mâles R6/1.

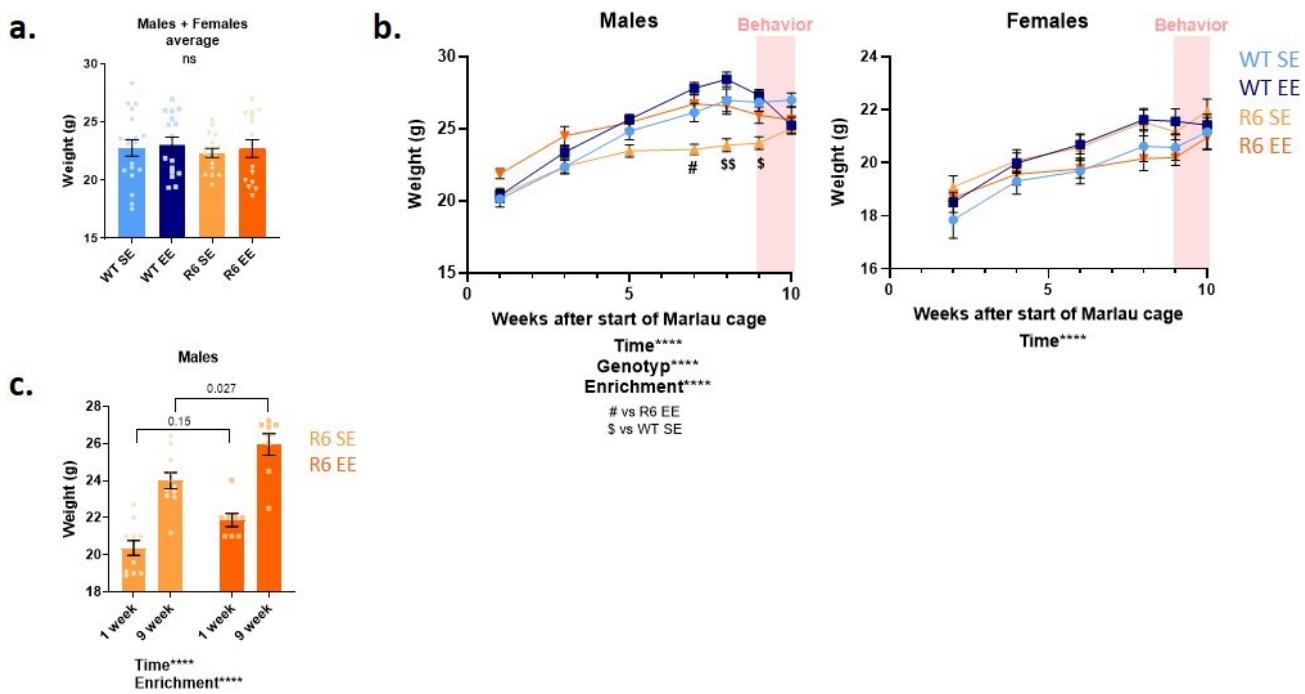


Fig. 46 Evolution du poids des animaux

a. Poids moyen de l'ensemble des animaux du début à la fin de leur hébergement en EE/SE. Statistiques: ANOVA à 2 facteurs, aucune différence significative entre les conditions (ns). b. Evolution du poids des animaux mâles (gauche) et femelles (droite) au cours de l'hébergement en EE/SE et lors de la période de tests comportementaux. Statistiques: ANOVA à 3 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni. # comparaison vs R6 EE; \$ comparaison vs WT SE. c. Comparaison de la prise de poids des souris R6 mâles entre la pesée au début et à la fin de l'hébergement en EE/SE. Statistiques: ANOVA à 2 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni.

2.2 L'EE améliore la rythmicité circadienne des souris WT et restaure l'activité des souris R6/1

2.2.1. Actimétrie

Le niveau d'activité et les capacités locomotrices des animaux ont été étudiés par différentes approches. Un enregistrement d'actimétrie a été appliqué pour définir le niveau d'activité spontanée et la régulation circadienne des souris, cependant bien qu'une tendance à la baisse d'activité globale se dégage pour les souris R6/1, les analyses statistiques ne permettent pas dans cette étude et à cet âge, d'identifier la baisse d'activité et l'altération du contrôle circadien (ratio activité nuit/jour) des souris modèles de la MH, décrites dans la littérature chez les modèles murins et patient·es et retrouvées dans des études préliminaires menées au laboratoire (Morton 2013, Saade-Lemus et Videnovic 2023, Lotz-tavernier 2019, Awada 2021)([Fig.47a](#)). L'analyse en détail des enregistrements actimétriques met cependant en évidence des effets significatifs de l'enrichissement et du génotype sur l'activité des animaux. Particulièrement, les souris R6/1 présentent une baisse d'activité par rapport aux WT, avec ou sans enrichissement, en fin de période nocturne. De façon surprenante, des profils similaires sont observés en comparant les souris EE et SE respectivement, quel que soit leur génotype, suggérant que l'activité des animaux de fin de période nocturne est diminuée avec l'enrichissement ([Fig.47b](#)). Aux vues des profils d'activité et des différences observées en fin de période nocturne, nous avons étudié plus précisément les phases de transition entre période diurne et nocturne. L'étude de la transition jour-nuit met en évidence une augmentation de l'activité des WT EE (vs WT SE) quelques minutes avant le changement d'heure, tandis que le profil inverse est observé à la transition nuit-jour, ce qui pourrait traduire un phénomène d'anticipation des animaux enrichis qui témoignerait d'une cyclicité circadienne améliorée ([Fig.47c](#)). Toutefois, ces variations ne sont pas statistiquement retrouvées chez les souris R6/1 ([Fig.47c](#)). Ainsi, le phénotype d'hypoactivité et d'altération de la régulation circadienne Huntington n'étant pas flagrant, il est difficile d'identifier l'impact de l'enrichissement sur celui-ci. Malgré tout, il semble que l'EE améliore la rythmicité des souris WT.

2.2.2. Exploration et locomotion

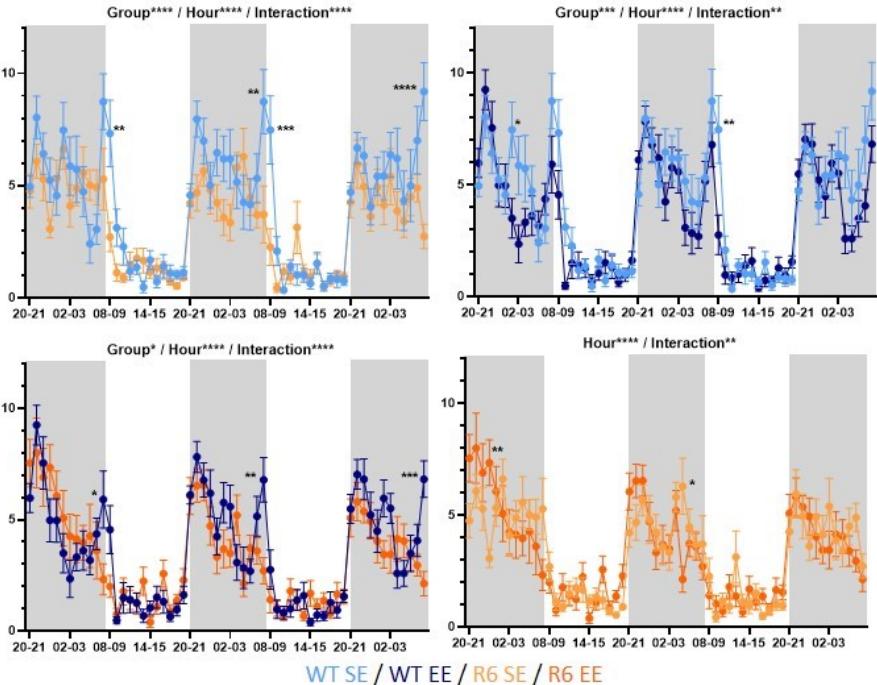
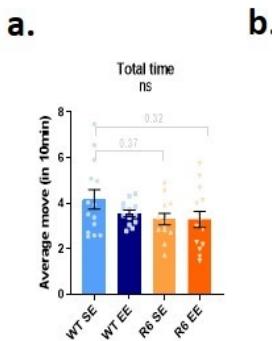
L'activité a également été mesurée lors du test de champ ouvert, dans lequel les animaux ont été placés durant 5 min. De façon intéressante, les données montrent que les souris R6 SE sont significativement plus immobiles que toutes les autres conditions, et particulièrement, ce phénotype est inversé par l'EE ([Fig.47d](#)). La mesure du nombre de redressements confirme que les animaux enrichis (WT et R6/1) sont plus actifs qu'en SE, et bien que les souris R6 EE se redressent moins que les souris WT EE, elles présentent un nombre de redressement similaire aux WT SE, ce qui démontre que l'enrichissement permet de restaurer le phénotype d'hypo-activité des modèles Huntington dans ce contexte ([Fig.47d](#)). L'étude de la distance totale parcourue et la vitesse moyenne de déplacement ont également permis de conclure que les animaux enrichis présentent des capacités locomotrices améliorées, ce qui permet notamment de restaurer le phénotype de lenteur de déplacements des souris R6/1 dans le champ ouvert ([Fig.47e](#)).

Pour confirmer cette observation, nous avons soumis les animaux au test de la barre, consistant en la traversée d'une barre de 1cm de large, 80 cm de long (8 segments de 10cm) à une hauteur d'environ 1m du sol. Les animaux sont déposés à une extrémité de la barre et le temps nécessaire à leur traversée pour rejoindre leur cage d'hébergement -située à l'autre extrémité- est mesuré. Différentes variables sont étudiées : la motivation/anxiété des animaux par la mesure du délai de traversée du 1^{er} segment et la fonction locomotrice par la mesure du temps de traversée des 7 derniers segments. Les données démontrent que, bien que les animaux traversent la barre plus rapidement au cours des essais consécutifs, les souris R6/1 sont plus lentes que les WT, et l'enrichissement ne permet pas d'améliorer ce phénotype. Toutefois, les souris contrôles enrichies sont plus rapides que les SE dès le premier essai, laissant suggérer que comme observé en champ ouvert, l'EE améliore les capacités locomotrices des animaux contrôles ([Fig.47f](#)).

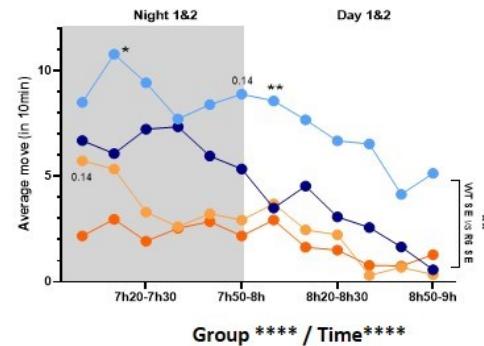
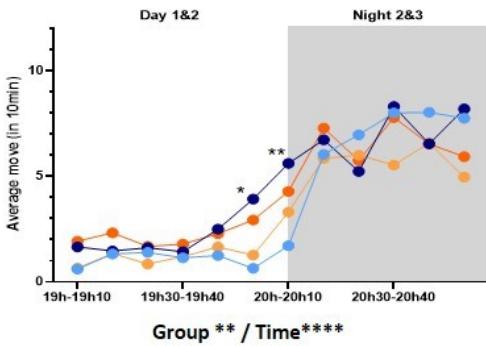
Ainsi, bien que l'altération de l'activité circadienne des souris Huntington paraisse modérée dans notre étude, il apparaît que chez les souris WT l'EE permet d'améliorer la rythmicité circadienne. De plus, les mesures faites en champ ouvert démontrent que l'EE permet de restaurer les déficits de mobilité et de locomotion des souris R6/1, tandis qu'il ne module pas les capacités des modèles Huntington dans une tâche locomotrice plus complexe telle que le test de la barre.



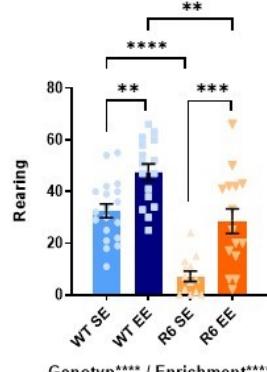
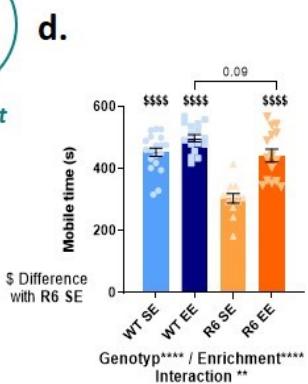
Actimétrie
2 jours- 3 nuits



C.



Champ ouvert



e.

Genotype	Enrichment Condition	Total distance (m)
WT	SE	~35
WT	EE	~45
R6	SE	~15
R6	EE	~35

Significance levels: ** p < 0.01, *** p < 0.001, **** p < 0.0001.

Genotype	Enrichment***
WT SE	~0.055
WT EE	~0.075
R6 SE	~0.035
R6 EE	~0.065

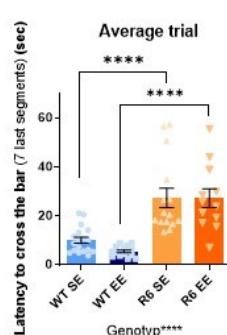
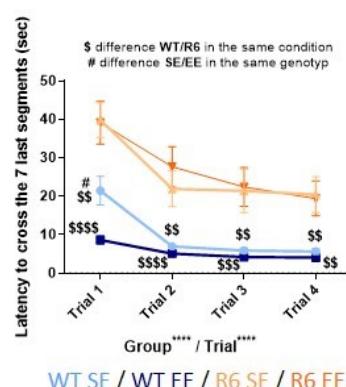


Fig. 47 Niveau d'activité et des fonctions locomotrices des animaux

a-c. Résultats du test d'actimétrie réalisé sur une période de 2 jours et 3 nuits. **a.** (Haut) Niveau d'activité moyen des animaux, mesuré par nombre de mouvements par tranche de 10min, sur l'ensemble des 3 nuits et 2 jours d'enregistrement. (Bas) Différence moyenne de l'activité des animaux entre les phases nocturnes et les phases diurnes. Statistiques: ANOVA à 2 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni, moyenne \pm sem. **b.** Evolution de l'activité des animaux par heure sur l'ensemble des 3 nuits et 2 jours d'enregistrement. Comparaison des conditions expérimentales 2 à 2. Statistiques: ANOVA à 2 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni, moyenne \pm sem. **c.** Détail de l'activité des animaux, par tranche de 10min, aux périodes d'extinction et d'allumage des lumières. Statistiques: Les différences statistiques représentées sur le graphique représentent la comparaison EEVsSE intra-génotype. ANOVA à 3 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni, moyenne. **d-e.** Résultats du test de champ ouvert dans lequel les animaux ont été placés 5 min. **d.** Activité des animaux durant l'exposition au champ ouvert, quantifiée par la durée de mobilité (gauche) et nombre de redressements (droite). Statistiques: ANOVA à 2 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni, moyenne \pm sem. **e.** Capacités locomotrices des animaux, mesurées par la distance totale parcourue (gauche) et la vitesse moyenne de déplacement (droite) dans le champ ouvert. Statistiques: ANOVA à 2 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni, moyenne \pm sem. **f.** Capacités locomotrices des animaux mesurées en bar test. Temps de traversée de la barre (derniers 70cm de la barre), détaillé par essai (gauche) ou moyen (droite). Statistiques: ANOVA à 3 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni (gauche) ANOVA à 2 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni (droite), moyenne \pm sem. **g.** comparaison WTvsR6 du même hébergement, # comparaison SEvsEE du même génotype.

2.3. L'EE diminue l'anxiété au profit des comportements exploratoires, et restaure le phénotype de type apathie chez les modèles R6/1

La mesure de la latence de traversée du 1^{er} segment dans le test de la barre permet de relever le niveau d'anxiété et de motivation des animaux ; plus le départ est lent, plus cela représente un *freezing* associé à de l'anxiété et/ou à une apathie des animaux à traverser la barre, qui constitue un environnement relativement aversif du fait de sa hauteur, sa largeur et l'absence de protection face aux prédateurs. Les résultats démontrant une augmentation significative du délai de traversée du 1^{er} segment chez les R6 SE au 1^{er} essai, ainsi qu'une tendance à l'augmentation de ce temps sur l'ensemble de la session (*p-valeur*=0.068), par rapport aux souris contrôles, témoignent d'une anxiété et/ou une perte de motivation des animaux. De façon intéressante, ce phénotype a tendance à être restauré par l'EE chez les souris R6/1 (*p-valeur de l'effet de l'enrichissement par ANOVA* = 0.09)(Fig.48a).

Les tests de la boîte claire/obscur ou du champ ouvert permettent également d'étudier la balance entre l'anxiété et l'aversion induites par une lumière forte et un espace ouvert d'une part, et le comportement naturel des rongeurs à explorer la nouveauté d'autre part. Ainsi, le temps passé dans le compartiment lumineux du test clair/obscur éclairé à 1000 lux, ou le temps passé au centre du champ ouvert (52.5x52.5cm) permettent de définir le niveau d'anxiété et de comportement exploratoire des animaux. Les paramètres mesurés en test clair/obscur démontrent un effet principalement attribué à l'enrichissement dans nos conditions expérimentales. Les animaux enrichis -qu'ils soient WT ou R6/1- entrent plus tôt, plus souvent et passent plus de temps dans le compartiment lumineux, sans différence significative entre les génotypes (Fig.48b). Ces résultats démontrent une baisse de l'anxiété et/ou un gain des comportements exploratoires des animaux enrichis. Nos observations (non quantifiées) faites pendant le test indiquaient que certains animaux semblaient non-anxieux et se toiletaient dans le compartiment lumineux censé être aversif. Afin d'objectiver des

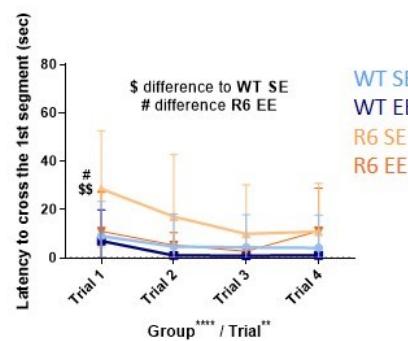
données, nous avons calculé le temps moyen passé par les animaux par entrée dans le compartiment lumineux. Cette analyse permet de mettre en évidence le fait que les souris R6/1 SE passent significativement plus de temps par entrée dans le compartiment anxiogène ([Fig.48c](#)). Ainsi, cela pourrait signifier que les souris R6/1 sont apathiques envers l'aversion que constitue la lumière. Cette hypothèse est d'autant plus plausible qu'un phénotype d'apathie envers les situations aversives est un symptôme caractéristique des patient·es de la MH (McLauchlan *et al* 2019). De façon très intéressante, ce phénotype particulier est restauré par l'EE ([Fig.48c](#)). De plus, un comportement comparable est observé en champ ouvert. Bien qu'il n'y ait pas de différence significative du temps passé dans la zone centrale selon les groupes expérimentaux, les souris R6 SE ont tendance à passer plus de temps au centre que les autres groupes (p -valeur vs WTSE=0.053 ; p -valeur vs R6EE=0.1) ([Fig.48d](#)). De plus, le temps moyen par visite de la région centrale est statistiquement plus élevé chez les R6 SE que WT SE, et ce phénotype est restauré par l'enrichissement ([Fig.48e](#)). L'observation de la carte de densité de présence des animaux montre que les R6 SE se déplacent de façon différente des autres groupes, en délaissant en partie les bords au profit du centre du champ ouvert. Ainsi, cela suggère que l'augmentation du temps passé au centre du champ ouvert n'est pas due à un ralentissement de la vitesse de déplacement des animaux mais bien à un changement de pattern qui laisse suggérer une diminution de l'aversion chez les R6 SE ([Fig.48d](#)).

Ainsi, l'EE diminue l'anxiété et/ou augmente le comportement exploratoire des animaux qu'ils soient modèles de la MH ou contrôles. De plus, nos analyses suggèrent que les souris R6/1 présentent un phénotype de type apathique envers les situations aversives, qui est restauré par l'enrichissement.



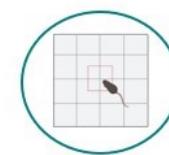
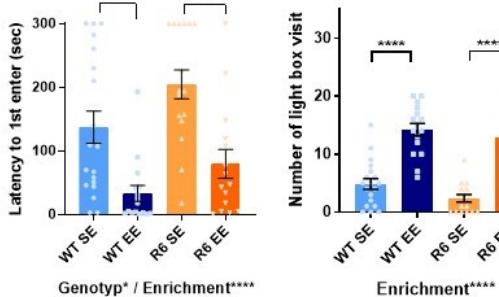
Bar Test
4 essais
1 min max.

a.



Clair/obscur
5 min

b.

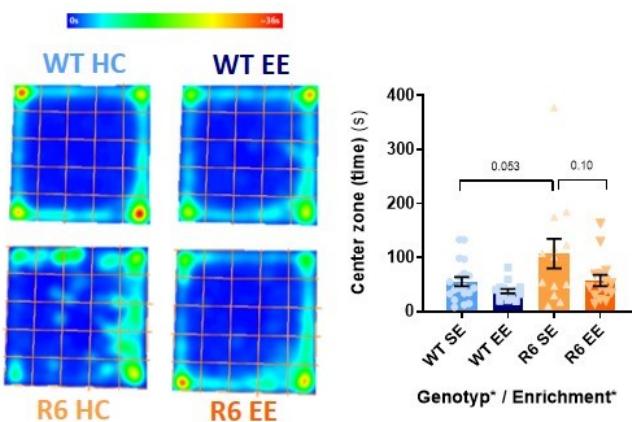


Champ ouvert
5 min



Center
Border

d.



e.

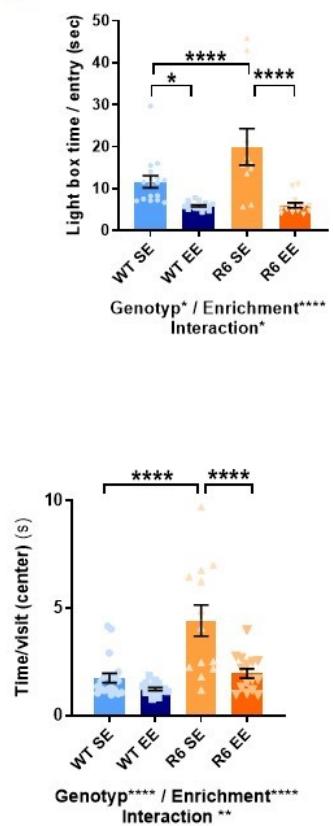


Fig. 48 Niveau d'anxiété et comportements exploratoires des animaux

a. Anxiété/motivation des animaux mesurée en bar test. Temps de traversée du premier segment de la barre après le début du test (premiers 10cm de la barre), détaillé par essai (gauche) ou moyen (droite). Statistiques: ANOVA à 3 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni (gauche) ANOVA à 2 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni (droite), moyenne \pm sem. \$ comparaison vs WTSE, # comparaison vs R6EE. b-c. Résultats du test de boîte claire/obscur, comportement mesuré durant les 5min après dépôt des animaux dans le compartiment obscur. b. Niveau d'anxiété/exploration des animaux mesuré par la latence d'entrée dans le compartiment clair (gauche), le nombre moyen de visite du compartiment clair (centre) et le temps total passé dans le compartiment clair (droite). Statistiques: ANOVA à 2 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni, moyenne \pm sem. c. Temps moyen passé par entrée dans le compartiment clair. Statistiques: ANOVA à 2 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni, moyenne \pm sem. d-e. Résultats des composantes liées à l'anxiété et aux comportements exploratoires en test de champ ouvert. d. Représentation par heatmap de la position des animaux dans le champ ouvert durant les 5min de test (gauche). Quantification du temps passé au centre du champ ouvert (9 carrées centraux) pendant le test (droite). Statistiques: ANOVA à 2 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni, moyenne \pm sem. e. Temps moyen passé par passage au centre du champ ouvert. Statistiques: ANOVA à 2 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni, moyenne \pm sem.

2.4. L'EE ne permet pas de restaurer le phénotype apathique des R6/1 mesuré en test de nidification

Pour compléter l'analyse du phénotype d'apathie chez les modèles R6/1 et l'effet bénéfique de l'enrichissement, nous avons réalisé les tests de préférence à la saccharine et le test de nidification.

Le test de préférence à la saccharine consiste à proposer aux animaux, durant une nuit entière, deux biberons, l'un rempli d'eau et l'autre de saccharine (concentrée à 0.1%), et à quantifier leur consommation le lendemain matin. Naturellement, les animaux non-apathiques ont tendance à préférer et à boire davantage la solution sucrée. Ici nous avons utilisé de la saccharine pour ne pas interférer avec les potentielles modifications métaboliques qu'auraient pu constituer l'administration de saccharose, et pour laquelle des études ont déjà pu mettre en évidence un phénotype d'anhédonie chez les souris R6/1 (Renoir *et al* 2013). Nos mesures ne rapportent aucune différence de préférence à la saccharine entre les différentes conditions expérimentales, suggérant que les souris R6/1 ne présentent pas de phénotype apathique dans un paradigme récompensant ([Fig.49a](#)). Ce test nous a également renseigné sur la consommation hydrique des animaux. Notamment, les femelles R6/1 SE consomment significativement plus de liquide que les mâles de la même condition, et que les souris WT ([Fig.49b](#)). Cette augmentation de la consommation hydrique, retrouvée chez les modèles R6/2, pourrait refléter la dérégulation métabolique en place chez ces animaux (Wood *et al* 2008, [Introduction-I.4.3](#)). Toutefois, il est important de relever que les femelles R6/1 enrichies ne consomment pas plus de liquide que les WT ([Fig.49b](#)), ce qui suggère que l'EE pourrait, en modulant le métabolisme énergétique notamment *via* l'activité physique, atténuer les troubles métaboliques Huntington.

Pour étudier le bien-être et la motivation des animaux, nous avons également effectué un test de nidification. Dans ce test, les souris sont placées dans des cages avec pour seul matériel de nidification une feuille de papier (matériel de nidification habituel) découpée en 6 morceaux, pliés et répartis sur les bords de la cage. Le niveau de complexité du nid construit est ensuite mesuré 3, 5 et 24h après le début du test, la mesure à 5h correspondant à l'heure précédant l'extinction des lumières ([Fig.49c](#)). La quantification du degré de complexité du nid est établie d'après les critères de Gaskill et coll., permettant de classer les nids en 4 catégories : absence de nids ou nids plats / coupe / dôme incomplet / dôme complet

(Fig.49d)(Gaskill *et al* 2013). Nos résultats montrent que les nids des souris R6/1 sont moins complexes que ceux des animaux contrôles, à chaque mesure, et sans effet de l'EE (Fig.49d). Cela suggère une baisse de motivation/une apathie des modèles de la MH associée à cette tâche.

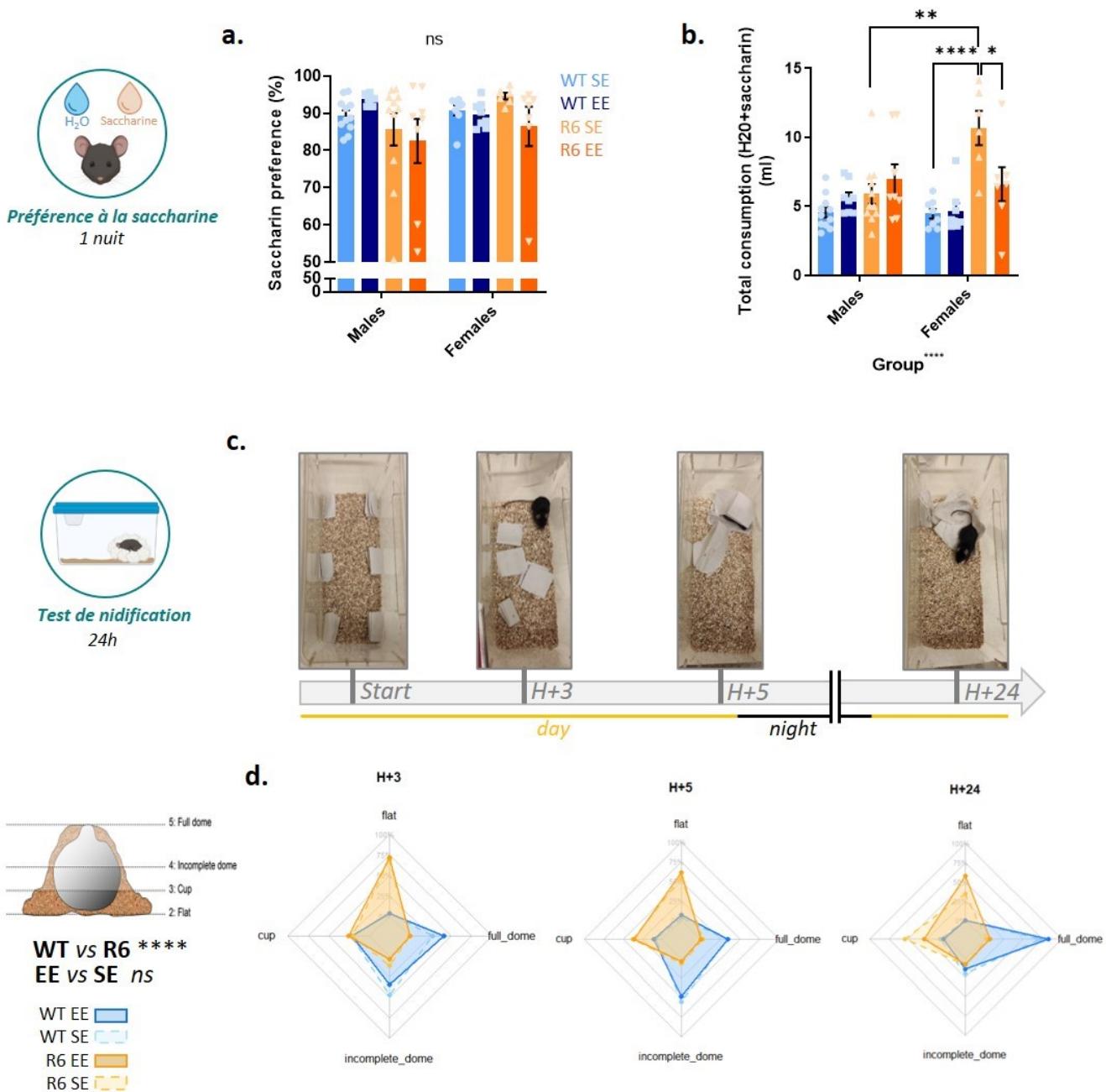


Fig. 49 Niveau de motivation et de bien-être des animaux

a-b. Résultats obtenus lors du test de préférence à la saccharine lors duquel les animaux ont le choix de boire de l'eau ou de l'eau à goût sucré. **a.** Préférence des animaux à la solution de saccharine déterminée par le pourcentage que représente la solution « sucrée » dans la prise hydrique totale. Statistiques: ANOVA à 2 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni, moyenne \pm sem. **b.** Volume hydrique total consommé (eau + eau-saccharine) durant la nuit de test. Statistiques: ANOVA à 2 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni, moyenne \pm sem. **c.** Protocole du test de nidification utilisé pour déterminer la motivation et le bien-être des animaux. Des morceaux de papier sont placés dans la cage puis un scorage du degré de complexité du nid est réalisé 3, 5 et 24h plus tard. **d.** Distribution des animaux selon le degré de complexité du nid mesuré aux différents points de scorage (d'après Gaskill et al 2013). Statistiques: comparaison de la distribution des conditions expérimentales 2 à 2 à chaque timepoint, par Chi 2. La distribution WT vs R6 est toujours significativement différente quelque-soit l'enrichissement.

Ainsi, l'EE n'a pas d'effet sur la baisse de motivation des animaux modèles de la MH quand elle est mesurée avec le test de nidification. De plus dans notre étude, le test de préférence à la saccharine -basé sur un paradigme motivationnel récompensant- ne permet pas de mettre en évidence d'effet du génotype Huntington. Toutefois, le fait que la consommation hydrique excessive des femelles R6/1 soit restaurée par l'EE suggère un effet de l'enrichissement sur le métabolisme des animaux.

2.5. L'EE restaure les capacités cognitives striato-dépendantes dans la MH

Les symptômes de la MH chez l'humain se traduisent également par une atteinte précoce des fonctions cognitives et notamment des fonctions dépendantes du striatum telles que l'apprentissage procédural et la mémoire égocentrique (Papoutsi *et al* 2014, Possin *et al* 2017, Alcala-Vida, Lotz *et al* 2022 [annexe2](#)).

2.5.1 Rotarod accélérant

Généralement le test de rotarod, accélérant ou non, est utilisé pour évaluer la fonction motrice par la mesure de temps de latence avant la chute des animaux. Dans cette étude, nous avons appliqué un protocole de rotarod accélérant composé d'essais successifs s'étalant sur 3 jours, de manière à étudier les capacités d'apprentissage procédural des animaux (Giordano *et al* 2018, Sommer *et al* 2014, Yin *et al* 2009). Le protocole consiste en trois essais par jour durant trois jours, durant lesquels les animaux sont placés sur le rotarod qui accélère progressivement durant 5min, passant de 4 à 40 tours par minute (rpm). Le protocole est précédé d'une phase d'habituation le premier jour (1 min sur le rotarod à une vitesse constante de 4 rpm) de manière à s'assurer que les souris ne soient pas anxieuses et ont la capacité de rester sur le rotarod à une vitesse faible. Chaque essai est séparé du précédent de 45 min de manière à éviter tout épuisement des animaux ([Fig.50a](#)). La latence de chute moyenne mesurée sur l'ensemble des essais, ou par jour, permet de mettre en évidence un effet du génotype, mais sans distinction significative entre les différentes conditions indiquant un déficit moteur modéré chez les souris R6/1 à cet âge ([Fig.50b](#)). Nous avons également calculé un index d'apprentissage procédural des animaux, basé sur la pente de la latence de chute entre les jours 1 et 3. Un index, donc une pente, de 0 signifie qu'au cours des jours et des essais les animaux n'améliorent pas leur performance, ce qui traduit un déficit d'apprentissage procédural. De façon intéressante, toutes les conditions testées présentent

un index supérieur à 0, à l'exception des animaux R6 SE, ce qui signifie que les souris modèles de la MH présentent un déficit d'apprentissage procédural qui est partiellement restauré par l'enrichissement (Fig.50c).

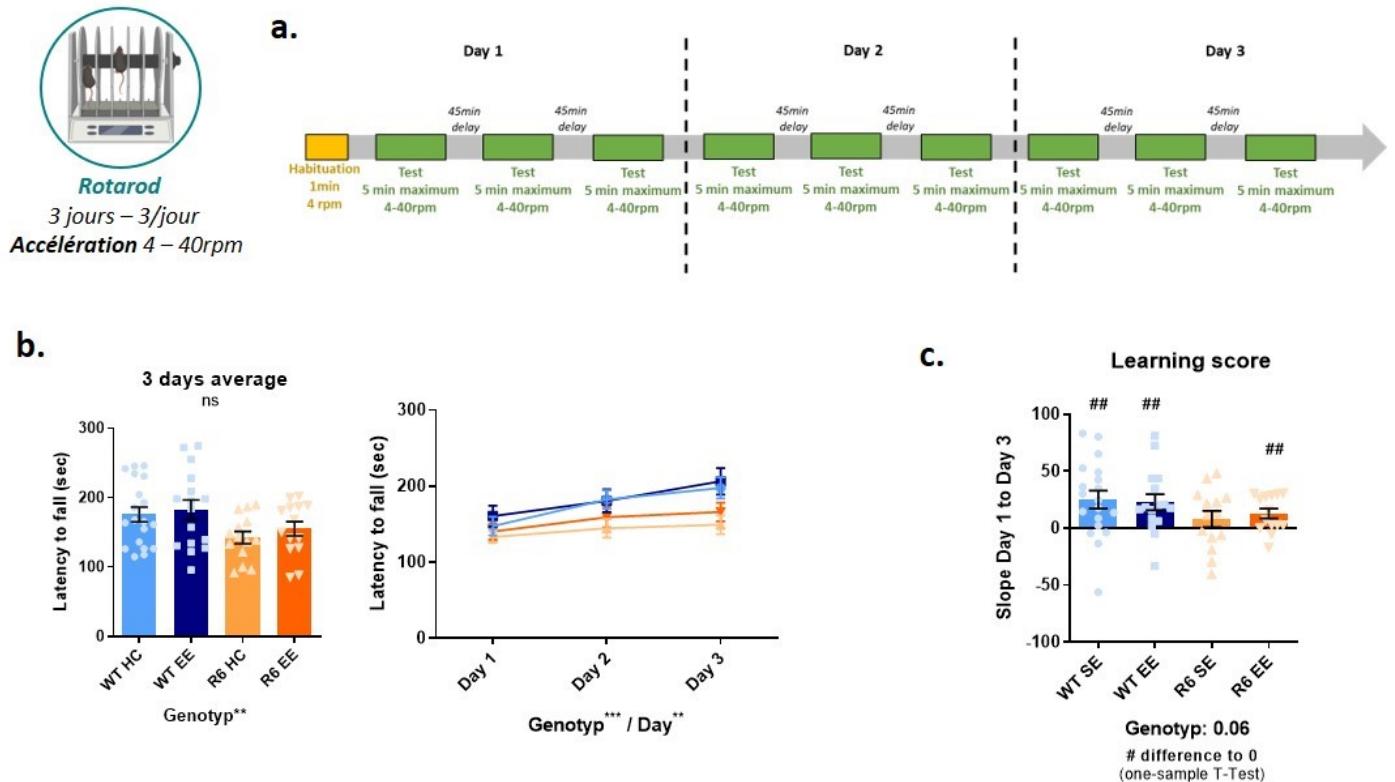


Fig. 50 Capacités de mémoire procédurale déterminées par rotarod accélérant

a. Protocole de rotarod accélérant utilisé pour déterminer les capacités de mémoire procédurale des animaux. Après une session d'habituuation pour que les animaux s'acclimatent à la marche sur le rotarod à allure faible et constante, les animaux sont exposés à des sessions de 5 minutes au cours desquelles la vitesse du rotarod augmente progressivement de 5 à 40 tours par minutes (rpm). **b.** Quantification de la latence de chute des animaux du rotarod. Latence moyenne sur les 9 essais, soit 3 jours (gauche), et par jour (droite). Statistiques: ANOVA à 2 facteurs (gauche), ANOVA à 3 facteurs (droite), comparaison multiple de Bonferroni, moyenne ± sem. **c.** Index d'apprentissage, calculé d'après la pente de latence de chute entre le jour 1 et jour 3. Un index non différent de 0 représente une pente d'apprentissage plate et l'absence d'apprentissage. Statistiques: ANOVA à 2 facteurs pour l'étude comparative des conditions entre elles. *, différence significative de 0, T-test à 1 échantillon. Moyenne ± sem.

2.5.2 Test du labyrinthe en double H

Pour évaluer l'impact de l'EE sur les performances cognitives des animaux, et particulièrement sur la mémoire égocentrique spatiale, qui dépend du striatum, nous avons utilisé le test du labyrinthe aquatique du double H, développé initialement chez le rat et adapté récemment pour la souris au laboratoire (Pol-Bodetto *et al* 2011, Cassel *et al* 2012, Alcala-Vida, Lotz *et al* annexe2, Lotz-Tavernier 2019). L'eau étant aversive, les souris cherchent et apprennent la position d'une échappatoire (plateforme) au cours des sessions d'apprentissage.

Le protocole consiste en 3 phases distinctes (Fig.51a). Le premier jour repose sur l'habituation des animaux à la nage dans le labyrinthe, les souris sont (à 4 reprises) déposées dans le bras sud-ouest (SO) et ont accès uniquement au bras nord-ouest (NO) où se situe une plateforme rendue visible par l'eau transparente.

Les quatre jours suivants constituent la période d'acquisition durant laquelle les souris sont déposées dans le bras sud (S) et doivent apprendre la position de la plateforme (placée en nord-est (NE)) en naviguant dans le labyrinthe. Seul le bras nord (N) est inaccessible pour empêcher les souris d'aller tout droit dès la sortie du bras S, et forcer à l'exploration ou à l'automatisme procédural en se dirigeant à gauche ou à droite à la sortie du bras S. Les sessions de 4 essais sont réparties en une session/jour les deux premiers jours, et deux/jour les jours 4 et 5. Chaque essai a une durée de 1 min maximum à l'issue de laquelle les animaux sont guidés jusqu'à la plateforme s'ils ne l'atteignent d'eux-mêmes, de manière à ce qu'ils intègrent sa position grâce aux indices spatiaux (Fig.51a). Bien que l'eau soit opacifiée, la pièce est indiquée pour que les souris se repèrent et qu'au fur et à mesure des essais elles apprennent la position de la plateforme. Le point de lâcher et le bras d'échappatoire étant toujours les mêmes au cours de l'acquisition, le protocole est établi de manière à favoriser une stratégie d'apprentissage égocentrique des animaux (striato-dépendante) plutôt qu'allocentrique (hippocampo-dépendant). En effet, en reproduisant toujours les mêmes séquences de mouvements pour se rendre à la plateforme (*e.g.* droite/gauche), les animaux vont intégrer des automatismes procéduraux basés sur un référentiel égocentrique.

Puis le jour 6, les souris sont exposées une seule fois, pour 1 min, au labyrinthe lors de la tâche de rappel (*probe*). Les animaux sont déposés dans le bras SO (le bras NO étant fermé), et la plateforme est retirée du labyrinthe. Les souris vont alors chercher une échappatoire et naviguer dans le double H de manière différente selon la stratégie développée pendant la phase d'acquisition (Fig.51a). Une souris utilisant une stratégie égocentrique se dirigera dans un premier temps dans le bras N, basé sur la séquence de mouvements droite/gauche apprise au préalable, tandis qu'une souris adoptant une stratégie allocentrique privilégiera le bras NE, qui d'après les indices spatiaux, est le bras dans lequel la plateforme devrait se trouver. Les travaux antérieurs du laboratoire montrent que les animaux R6/1, dès 11 semaines, utilisent préférentiellement une stratégie allocentrique pour résoudre la tâche du double-H, à la différence des animaux WT, utilisant majoritairement une stratégie égocentrique. Les

données histologiques et moléculaires effectuées sur le striatum et l'hippocampe des souris R6/1 appuient ces résultats, en montrant une atteinte importante du striatum des souris R6/1, et une atteinte minime de leur hippocampe (Alcalá-Vida, Lotz *et al* annexe2, Lotz-Tavernier 2019).

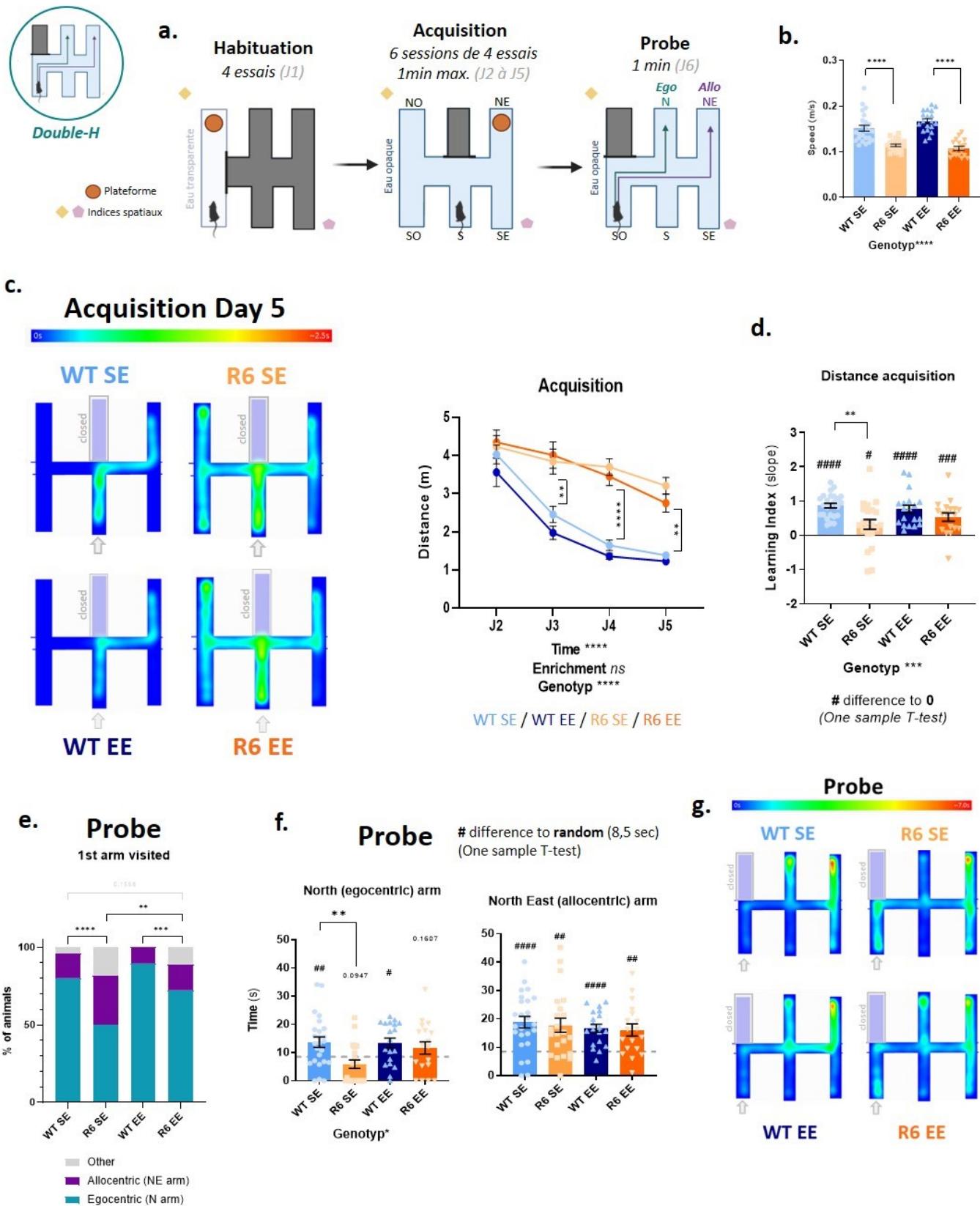


Fig. 51 Fonction cognitive de mémoire ego- et allocentrique déterminée par labyrinthe en double-H

a. Protocole d'étude de la distinction de la mémoire ego- ou allocentrique par double-H. Après une session d'habituation, le premier jour, où la plateforme d'échappement est rendue visible, l'eau est opacifiée et la tâche d'apprentissage s'étend jusqu'au jour 5, divisée en 6 sessions. Durant chaque session, les animaux sont déposés à 4 reprises dans le bras S et ont 1 min pour atteindre la plateforme d'échappement située dans le bras NE. A la fin des sessions d'acquisition, les animaux sont exposés le jour 6 au probe, qui consiste au dépôt des animaux dans le bras SO, et leur trajet est enregistré pendant 1 min. Un animal se rendant dans le bras N en première intention traduira d'une stratégie de mémoire égocentrique basée sur la séquence de mouvement droite-gauche, tandis que si les animaux passent significativement plus de temps dans le bras NE que le hasard, cela signifie qu'ils ont appris la position de la plateforme de manière allocentrique, d'après les indices spatiaux. **b.** Vitesse moyenne de déplacement des animaux dans le double-H du début de l'acquisition à la fin du probe. Statistiques: ANOVA à 2 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni, moyenne ± sem. **c.** (Gauche) Localisation des animaux dans le double-H lors du dernier jour d'acquisition (jour 5), jusqu'à l'atteinte de la plateforme située dans le bras NE. (Droite) Distance moyenne parcourue par jour d'acquisition (droite). Statistiques: ANOVA à 3 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni, moyenne ± sem. **d.** Index d'apprentissage, calculé d'après la pente de distance parcourue entre le jour 2 et le jour 5. Un index non différent de 0 représente une pente d'apprentissage plate et l'absence d'apprentissage. Statistiques: ANOVA à 2 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni pour l'étude comparative des conditions entre elles. #, différence significative de 0, T-test à un échantillon. Moyenne ± sem. **e.** Distribution des animaux selon le bras visité en première intention lors du probe. Statistiques: comparaison de la distribution des conditions expérimentales 2 à 2, par Chi 2. **f.** (Gauche) Temps passé dans le bras N lors du probe. (Droite) Temps passé dans le bras NE lors du probe. Des animaux ayant appris la localisation de manière allocentrique d'après les indices présents dans la pièce passent significativement plus de temps dans le bras cible (NE) que le hasard (8,5 sec). Statistiques: ANOVA à 2 facteurs, comparaison multiple de Bonferroni pour l'étude comparative des conditions entre elles. #, différence significative de 8,5, T-test à un échantillon. Moyenne ± sem. **g.** Localisation des animaux dans le double-H lors de la tâche de rappel (1 min).

2.5.3 Double H et mémoire égo/allo-centrique

De manière comparable aux observations faites avec le test de la barre, la mesure de la vitesse moyenne de déplacement des souris dans le double H met en évidence un déficit de locomotion des animaux R6/1, non impacté par l'EE ([Fig.51b](#)). Ainsi, pour pallier à tout effet de la vitesse de déplacement sur les paramètres étudiés, nous avons quantifié les distances parcourues par les animaux, plutôt que la vitesse d'atteinte de la plateforme. Cette analyse de la distance parcourue pour atteindre la plateforme durant la période d'acquisition met en évidence un effet du temps et du génotype suggérant que bien que tous les animaux apprennent la position de la plateforme, les WT l'apprennent plus rapidement, sans effet significatif de l'enrichissement. Particulièrement, les cartes de densité présentant la position des animaux durant l'acquisition montrent que les R6/1 passent un temps non négligeable dans les bras SO et NO, ce dernier étant le bras où se situait la plateforme lors de la phase d'habituation ([Fig.51c](#)). Pour évaluer la capacité des souris R6/1 à apprendre la position de la plateforme nous avons calculé un index d'apprentissage basé sur la pente de la courbe de distance. Cette mesure montre que tous les groupes expérimentaux présentent un index supérieur à 0, suggérant que les animaux apprennent la position de la plateforme. Toutefois, les souris R6 SE paraissent significativement moins performantes lors de l'acquisition que les WT ([Fig.51d](#)).

La mesure du premier bras visité par les animaux lors du probe permet d'interpréter la stratégie de mémoire engagée. En condition contrôle, environ 85% des animaux se dirigent en première intention dans le bras N, témoignant d'une stratégie égocentrique basée sur la

séquence de mouvements droite-gauche. Seulement 50% des animaux du groupe R6 SE adoptent cette stratégie, et près de 30% des autres se dirigent vers le bras NE, ce qui traduit un apprentissage allocentrique ([Fig.51e](#)). Ainsi, en accord avec l'étude publiée précédemment (Alcalá-Vida, Lotz *et al* [annexe2](#)), les données indiquent que les souris WT utilisent préférentiellement une mémoire égocentrique spatiale pour résoudre la tâche, à la différence des souris R6 SE qui se basent davantage sur une stratégie allocentrique. Bien que la différence WT/R6 soit préservée avec l'enrichissement, les R6 EE vont significativement plus que les R6 SE dans le bras egocentrique en première intention (75% vs 50% des animaux), ce qui suggère une amélioration de leur mémoire égocentrique spatiale ([Fig.51e](#)).

De plus, la quantification du temps passé par chaque groupe expérimental dans le bras N « égocentrique » et NE « allocentrique », tout comme la carte de densité présentant la position des animaux dans le labyrinthe lors du probe tendent confirmer ces observations ([Fig.51f,g](#)). L'analyse statistique démontre que les souris R6/1 passent moins de temps dans le bras égocentrique que les animaux contrôles, plus particulièrement la différence WT/R6 apparaît significative uniquement en condition SE. Sachant que les souris R6/1 ne visitent pas le bras égocentrique de manière différente du hasard, cela confirme les observations précédentes indiquant un déficit de stratégie égocentrique chez les animaux modèles de la MH, qui est en partie restauré en condition EE ([Fig.51f](#)). Toutefois, la mesure du temps passé lors du probe dans le bras allocentrique NE montre qu'il n'y a aucune différence entre les groupes et qu'ils diffèrent tous du hasard, ce qui atteste que les souris WT et R6, enrichies ou non, insistent dans le bras NE ([Fig.51f](#)). Ainsi, cela démontre que par opposition à la stratégie égocentrique, la mémoire allocentrique spatiale des animaux est intègre en condition Huntington et n'est pas impactée par l'enrichissement. De plus, cela nous informe sur le fait que les animaux R6/1 n'explorent pas aléatoirement le labyrinthe mais insistent davantage dans le bras NE ce qui indique que l'apprentissage des animaux R6/1 lors de la phase d'acquisition a été efficace.

Ainsi, l'EE permet d'améliorer modestement les fonctions cognitives impliquant le striatum chez les modèles R6/1. Les animaux modèles de la MH présentent des troubles de l'apprentissage procédural modérés en rotarod accélérant, que l'EE tend à restaurer. Et les résultats du double H rapportent un effet bénéfique de l'enrichissement sur la mémoire égocentrique spatiale des souris R6/1.

3. L'hébergement en cage Marlau induit l'expression de gènes protecteurs dans le striatum des souris Huntington.

Afin d'étudier les mécanismes moléculaires qui sous-tendent les bénéfices comportementaux de l'EE chez les souris R6/1, nous avons effectué une analyse transcriptomique à partir du striatum des animaux. Les ARN ont été extraits à partir de striatum entier, au préalable disséqué 1h *post-probe* sur les animaux ayant réalisé le test de double H ([Fig.45, annexe1](#)). Le kit d'extraction (RNeasy lipid tissue mini kit, Qiagen) ainsi que la méthode utilisée (Library prep stranded total RNA Ribozero Plus Ligation (Illumina) séquencée sur Illumina NextSeq 2000) ont permis un séquençage des ARN totaux. Le pré-traitement des données a été réalisé par Stéphanie Le Gras de la plateforme GenomEast (Illkirch-Graffenstaden) avec les critères et méthodes suivantes : alignement des *reads* sur le génome mm10 de souris par STAR (Dobin *et al* 2013), quantification des niveaux d'expression des gènes par htseq-count (Anders *et al* 2015), analyse d'expression différentielle par DESeq2 (Love *et al* 2014). Seules des données préliminaires, issues du séquençage des ARNm sont présentées ici, mais des analyses complémentaires sont en cours pour affiner les conclusions et également définir le profil des ARN non codants, dont les signatures pourraient être informatives sur les effets épigénétiques de l'EE.

3.1. Effet de l'EE sur les gènes de l'identité neuronale et les gènes développementaux dans le striatum des souris R6/1.

Les analyses du niveau global de similarité entre les différents échantillons montrent un effet limité de l'enrichissement. Comme l'illustre l'analyse en composante principale, les échantillons se différencient principalement par leur phénotype et l'impact de l'enrichissement ne permet pas de distinguer clairement les populations SE et EE ([Fig.52a](#)). Le nombre de gènes différentiellement exprimés entre les différentes conditions confirme ce constat. À un seuil de FDR (*False Discovery Rate*) de 0.05 dans l'analyse DESeq2, près de 5000 gènes sont différentiellement exprimés (DEG) entre les conditions R6 et WT (environ à part égale de gènes UP- et DOWN- exprimés chez les R6) tandis que 48 gènes paraissent modulés par l'EE chez les R6/1, et aucun gène ne passe le seuil de significativité pour les WT ([Fig.52b](#)).

Une analyse fonctionnelle des DEG a été effectué grâce à l'outil EnrichR (Xie *et al* 2021). Comme attendu et retrouvé dans la littérature, les gènes dont l'expression est diminuée dans

le striatum des R6 SE sont associés à des fonctions impliquées dans les cascades intracellulaires et la transmission synaptique ce qui atteste de la perte de fonction neuronale dans le striatum Huntington ([Fig.52c](#))(Hodges *et al* 2008, Vashishtha *et al* 2013, Achour *et al* 2015, Langfelder *et al* 2017). Les profils obtenus pour la comparaison R6 EE vs WT EE présentent les mêmes termes fonctionnels ce qui suggère une absence d'effet majeur de l'EE sur la perte d'expression des gènes neuronaux ([Fig.52c](#)), ce qui est confirmé par le fait que l'EE ne restaure pas l'expression des gènes d'identité des MSNs (*e.g.* *Ddr1*, *Drd2*, *Pde10a*, *Ppp1r1b*) ([Fig.52d,g](#)). Également les gènes liés aux processus de mort cellulaire et à la dégradation protéique (*e.g.* apoptose, lysosomes, catabolisme dépendant de l'ubiquitine) sont surexprimés dans le striatum Huntington que les animaux furent hébergés en SE ou en EE, ce qui suggère une absence d'effet de l'EE sur la dérégulation de l'homéostasie et la mort cellulaire dans le striatum Huntington ([Fig.52e](#)).

L'analyse sur l'ensemble des gènes surexprimés ne met pas en évidence la signature développementale décrite précédemment dans le striatum Huntington ([résultats-Axe1](#)) associée à l'accélération du vieillissement neuronal, probablement car elle a été réalisée sur striatum entier et non pas sur la population neuronale. Néanmoins, nous avons analysé l'expression des gènes développementaux, tels que définis par le cluster 1 établi par l'étude de la marque H2AK119ub dans les [résultats-Axe1](#)([Fig.34](#)). Plus précisément, la sous-population de ces gènes qui est surexprimée en condition R6 SE vs WT SE dans nos données, reste anormalement exprimée chez les R6 EE mais à un moindre niveau, ce qui suggère que l'EE réduit, modestement, la dérépression des gènes développementaux ([Fig.52f](#)). Toutefois, le gène développemental *Onecut1* ainsi que les gènes codants pour les différentes protéines Cbx, constituants de PRC1, ont une expression dérégulée chez les souris R6/1 hébergés en SE qui ne paraît pas restaurée dans le striatum des animaux enrichis ([Fig.52h](#)).

Ainsi, ces premières analyses indiquent que l'effet transcriptomique de l'EE est modéré. Notamment, la signature associée au vieillissement accéléré des MSNs apparaît peu ou pas modifiée par l'EE. Cependant, l'analyse a été effectuée sur tissu striatal entier, contenant une diversité de populations cellulaires. Il est ainsi possible que des effets de l'EE induits dans des populations cellulaires spécifiques (*e.g.* dans les MSNs) soient ainsi masqués ou dilués.

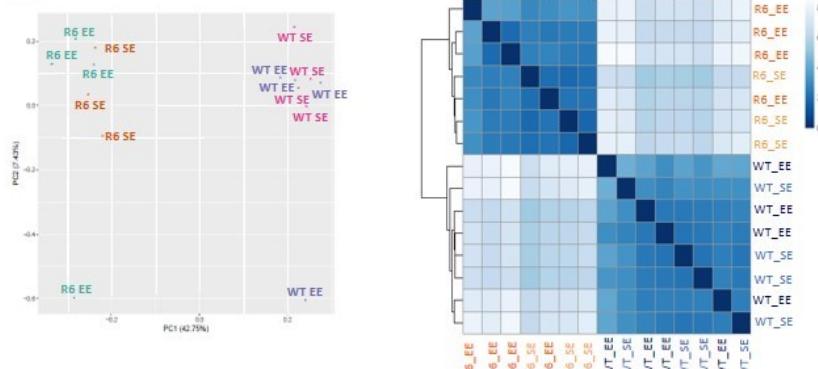
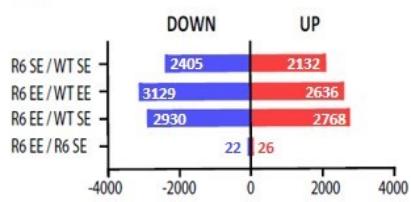
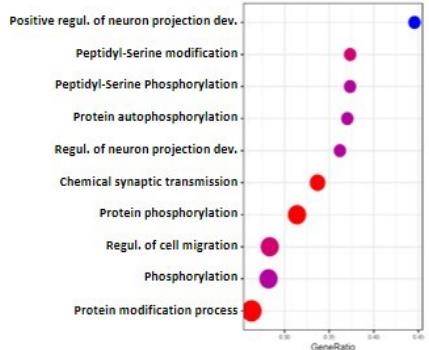
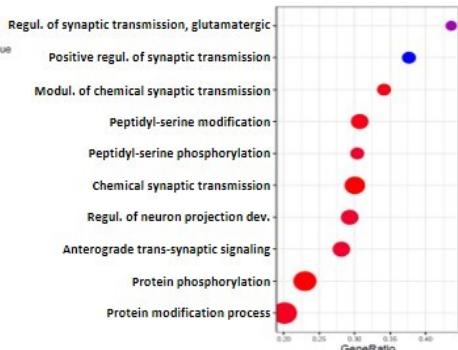
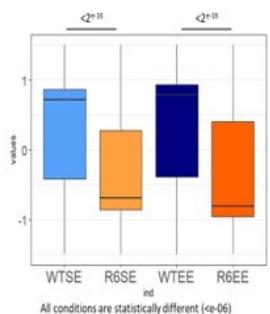
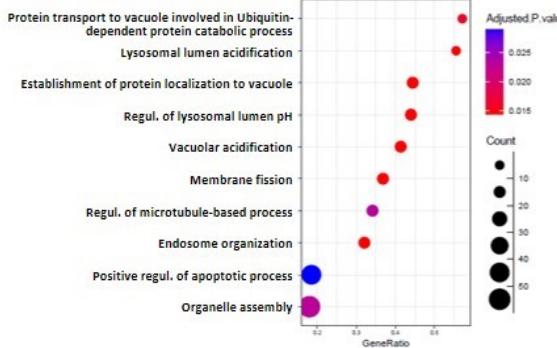
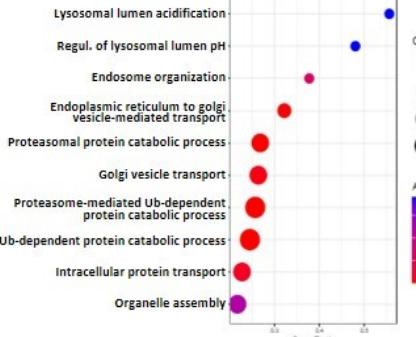
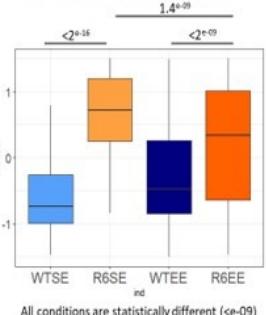
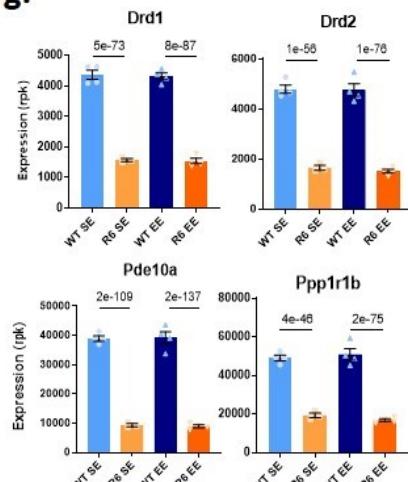
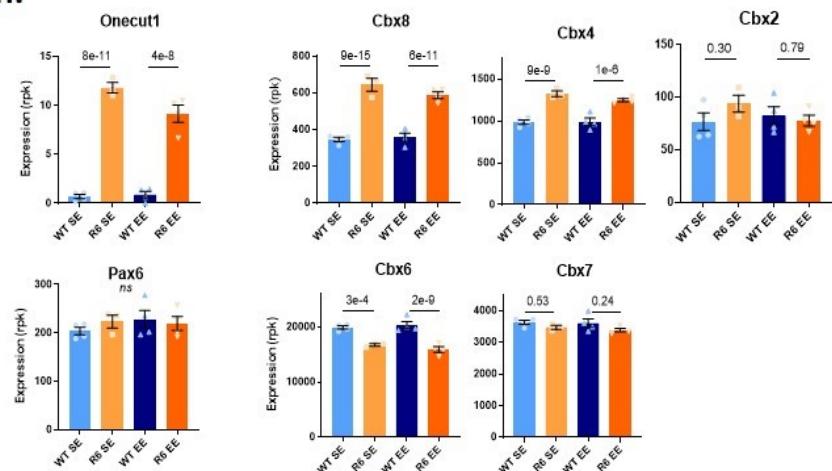
a.**b.****c.****R6 SE < WT SE****R6 EE < WT EE****d.****Neuronal identity genes****e.****R6 SE > WT SE****R6 EE > WT EE****f.****Developmental de-repressed genes****g.****h.**

Fig. 52 Caractérisation transcriptomique des gènes d'identité neuronale et développementaux

a. Analyse par composante principale (PCA) (gauche) et clustering de corrélation (coefficient SERE, Schulze et al 2012) (droite) des échantillons selon leur niveau de similarité. Plus les échantillons sont similaires moins ils sont éloignés en PCA et plus leur niveau de corrélation est élevé. **b.** Répartition du nombre de gènes hypo (down) et hyper (up) –exprimés selon les conditions d'après l'analyse d'expression différentielle DESEQ2, réalisée ave un seuil de p-valeur ajustée de 0,05. **c.** Analyses fonctionnelles des gènes hypo-exprimés chez les R6/1 vs WT en condition SE (gauche) et EE (droite). Les figures représentent les 10 fonctions statistiquement les plus enrichies, associées aux gènes concernés. Annotation fonctionnelle d'après GeneOntology_BiologicalProcess_2023. **d.** Boxplot représentant le niveau relatif (z-score) d'expression des gènes d'identité neuronale, tels que définis par Alcala-Vida et al 2021, dans les différentes conditions expérimentales. Statistiques: Test non-paramétrique de Kruskall-Wallis comparaison multiple de Bonferroni, médiane ± min-max. **e.** Analyses fonctionnelles des gènes hyper-exprimés chez les R6/1 vs WT en condition SE (gauche) et EE (droite). Les figures représentent les 10 fonctions statistiquement les plus enrichies, associées aux gènes concernés. Annotation fonctionnelle d'après GeneOntology_BiologicalProcess_2023. **f.** Boxplot représentant le niveau relatif (z-score) d'expression des gènes développementaux déréprimés, sous-population des gènes du cluster 1 H2AK119ub de l'article «Accelerated epigenetic aging in Huntington's disease involves polycomb repressive complex 1» pour lesquels R6SE>WTSE. Statistiques: Test non-paramétrique de Kruskall-Wallis comparaison multiple de Bonferroni, médiane ± min-max. **g.** Niveau d'expression de gènes d'identité neuronale dans les différentes conditions expérimentales. Statistiques: p-valeur ajustée issue de l'analyse différentielle DESEQ2. **h.** Niveau d'expression de gènes du développement et des CBX composants de PRC1, impliqués dans le vieillissement accéléré détaillé dans l'article «Accelerated epigenetic aging in Huntington's disease involves polycomb repressive complex 1». Statistiques: p-valeur ajustée issue de l'analyse différentielle DESEQ2.

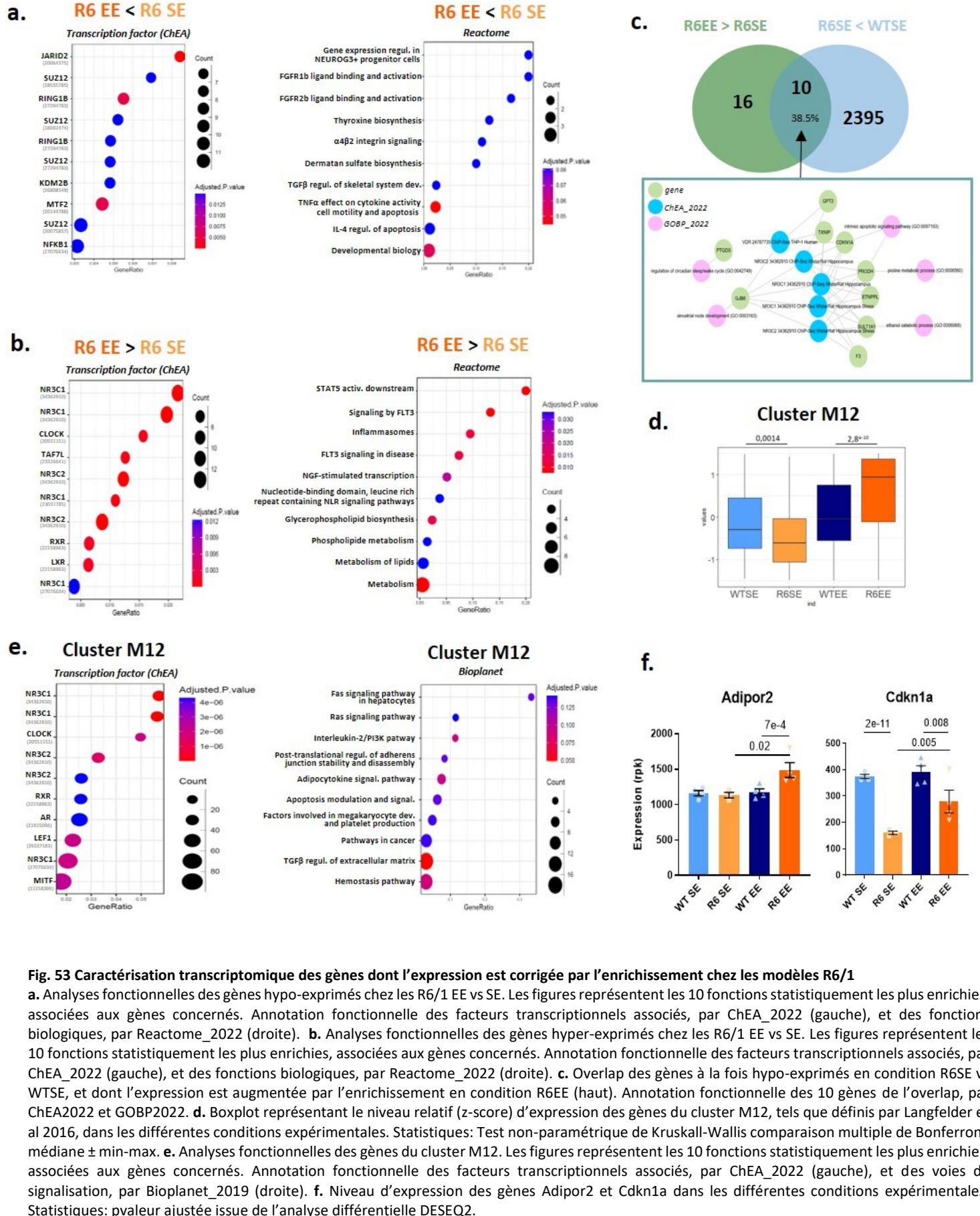
3.2. Effets de l'EE sur le transcriptome des souris R6/1 modèles de la MH

Pour compléter l'analyse, nous avons étudié les quelques gènes différemment exprimés avec chez les souris R6 EE vs R6 SE. L'analyse ChEA montre que les gènes dont l'expression est diminuée chez les R6 EE sont enrichis en gènes cibles de PRC2 et PRC1 (*e.g.* JARID2, SUZ12, MTF2 et RING1B), ce qui suggère que la dérégulation des protéines PcG est atténuée par l'enrichissement dans le striatum Huntington ([Fig.53a](#)). Particulièrement, ces gènes dont l'expression est corrigée par l'EE sont associés à des voies de signalisation développementales (*e.g.* NEUROG3, FGFR, *developmental biology*), et liées à l'apoptose et à l'inflammation (*e.g.* TNF α , IL-4). Ces résultats suggèrent un effet neuroprotecteur de l'EE ([Fig.53a](#)). A l'inverse, les gènes dont l'expression est restaurée par l'enrichissement dans le striatum Huntington sont des cibles de récepteurs aux glucocorticoïdes (*e.g.* NR3C1, NR3C2) et des récepteurs LXR-RXR impliqués dans le métabolisme lipidique ([Fig.53b](#)). Cette signature transcriptionnelle suggère une reconfiguration du métabolisme striatal en condition environnementale enrichie.

Pour identifier les voies de signalisation et facteurs moléculaires impliqués dans le mécanisme de neuroprotection/résilience du striatum Huntington induit par l'EE, nous avons déterminé les gènes qui sont à la fois déplétés dans le striatum des R6 SE (vs WT SE), et dont l'expression est ré-augmentée par l'enrichissement. Bien que peu de gènes passent le seuil de significativité, l'analyse fonctionnelle montre que 8 de ces 10 gènes sont des cibles de NR3C1/2, ce qui suggère un rôle essentiel du récepteur aux glucocorticoïdes dans l'effet bénéfique comportemental et biologique de l'EE ([Fig.53c](#)).

Egalement, les analyses fonctionnelles des gènes surexprimés chez les souris R6 EE ont montré qu'ils correspondent à une liste de gènes co-régulés qui ont été identifiés par analyse réseaux (WGCNA) dans les travaux de Langfelder et coll. (Langfelder *et al* 2016). De façon intéressante l'intégration de nos données à l'ensemble de cette liste de gène (cluster M12-206 gènes) montre qu'ils sont sous-exprimés dans le striatum des animaux R6 SE et que l'enrichissement environnemental inverse ces profils d'expression et permet la surexpression des gènes ([Fig.53d](#)). L'analyse fonctionnelle des gènes de ce cluster indique qu'ils sont cibles de NR3C1 ou des facteurs transcriptionnels CLOCK et RXR, et qu'ils sont associés à des voies de signalisation impliquées dans la survie cellulaire et la réponse au stress (*Ras signaling, IL2/PI3K, TGFβ*)([Fig.53e](#)). Particulièrement, parmi les gènes surexprimés chez les souris R6 EE, le gène Adipor2 apparaît spécifiquement augmenté en condition enrichie dans le striatum des modèles Huntington, tandis que la sousexpression de Cdkn1a en condition R6 SE est en partie restaurée par l'EE ([Fig.53f](#)). Adipor2 étant un gène codant pour le récepteur à l'adiponectine - une molécule dont l'administration permet de ralentir le déclin cognitif de modèles murins de la MA (Bloemer *et al* 2019, Yan *et al* 2022)- et Cdkn1a possédant des propriétés anti-apoptotiques et anti-sénescence (Abbas et Dutta 2009, Papismadov *et al* 2017, Yosef *et al* 2017), ils constituent ainsi des cibles de choix à moduler pour tenter de ralentir la mise en place des symptômes comportementaux dans la MH.

Ainsi, l'EE, en favorisant la répression des gènes cibles de PRC2, pourrait permettre de limiter la perte de fonction des complexes polycomb dans le striatum Huntington. De plus, l'enrichissement de l'environnement est responsable d'une modulation du métabolisme *via* une augmentation de l'expression de gènes cibles de LXR-RXR. Enfin, cette étude transcriptomique, bien que préliminaire et incomplète, et menée sur du striatum entier sans distinction des types cellulaires, suggère un rôle central des récepteurs aux glucocorticoïdes et du gène Adipor2 dans les effets neuroprotecteurs de l'EE chez les souris R6/1, ce qui ouvre de nouvelles pistes thérapeutiques pour la MH.



..... **DISCUSSION**

Axe 1 :

Caractérisation épigénétique du striatum Huntington murin
au cours du temps et de façon cellule-spécifique afin
d'étudier l'hypothèse d'un vieillissement accéléré.

Dans le premier axe de cette thèse, nous avons caractérisé le profil épigénétique des marques d'histones dans le striatum de souris modèles de la MH en distinguant les types cellulaires et en précisant la dynamique temporelle. Les résultats obtenus par ces travaux ont permis de mettre en évidence que les neurones vulnérables à la mutation de *HTT* présentent une accélération de l'érosion épigénétique associée au vieillissement cellulaire ([Fig.54](#)).

Particulièrement, les gènes développementaux présentent une dérépression qui est accélérée dans les neurones Huntington, en comparaison aux tissus sains, suite à une déplétion des marques d'histones répressives induites par les complexes polycomb (H3K27me3 et H2AK119ub), ainsi qu'une hyper acétylation de H3K27ac, H3K9ac et H3K18ac. Pour la première fois, notre étude a permis d'identifier l'implication de PRC1 dans les mécanismes de vieillissement épigénétique, ce vieillissement accéléré étant associé à un réarrangement des sous-unités CBX de PRC1 entre les conditions contrôles et Huntington. En considérant ces résultats et les travaux publiés montrant une dérépression des gènes développementaux avec l'âge ([JH.Yang et al 2023](#)), nous avons proposé le concept d'une horloge épigénétique basée sur le niveau d'euchromatinisation des gènes développementaux. L'étude de l'évolution du niveau d'euchromatinisation des gènes au cours du vieillissement chez les souris KI Q140 âgées de 2, 6 et 10 mois a également permis d'identifier des groupes de gènes régulés différemment au cours du temps en condition Huntington *vs* contrôle. Notamment, le gène *Glis1* codant pour un facteur anti-sénescence, tout comme d'autres gènes de réponse au stress, est anormalement euchromatinisé à 2 mois chez les modèles de la MH puis réprimé jusqu'à 10 mois tandis qu'il est le plus accessible à 6 mois en condition contrôle. Le niveau d'expression de *Glis1* étant corrélé avec le niveau de vulnérabilité des cellules striatales, cela tend à confirmer que l'altération de la réponse au stress des neurones du striatum Huntington participe à leur vieillissement accéléré et à leur perte de fonction.

Une discussion approfondie de ces données est présentée dans l'article soumis ([page 111](#)). Elle est mise en perspective dans un contexte plus global dans une partie suivante ([Discussion et perspectives générales](#)).

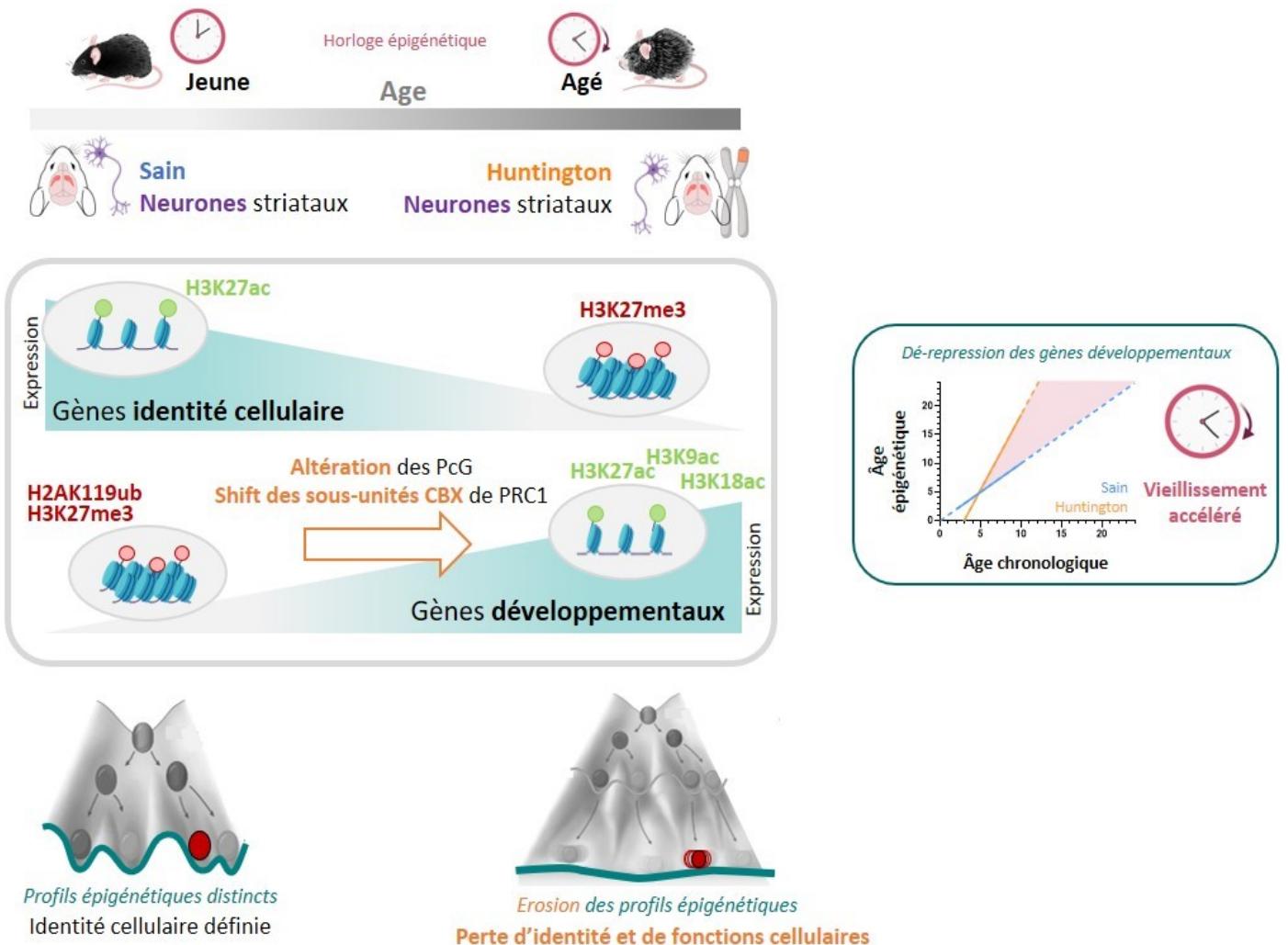


Fig. 54 Les neurones du striatum Huntington présentent un vieillissement épigénétique accéléré provoqué par une altération du complexe polycomb PRC1

Les neurones du striatum de modèles murins de la MH présentent une signature épigénétique comparable à celle d'animaux âgés. En condition pathologique, les gènes d'identité des neurones deviennent réprimés tandis que les gènes développementaux sont déréprimés par l'enrichissement en acétylation d'histones et la perte de H3K27me3 et H2AK119ub induite par une perte de fonction des PcG et un shift des sous-unités CBX de PRC1. Ce processus de vieillissement accéléré induit une érosion des profils épigénétiques qui est responsable d'une perte d'identité et de fonctions cellulaires.

Axe 2 :

Impact de l'EE sur le comportement et les régulations
épigénétiques et transcriptionnelles striatales de souris
modèles de la MH

1. L'EE ralentit l'apparition des symptômes comportementaux des modèles R6/1

Le phénotypage comportemental des animaux montre un bénéfice de l'hébergement en cage Marlau. Particulièrement, les modèles R6/1 hébergés dans cet EE sont plus mobiles, présentent une augmentation des comportements exploratoires et l'enrichissement améliore les performances cognitives striato-dépendantes des animaux. Des effets bénéfiques d'un EE ont pu être précédemment observés chez les modèles R6/1 et KI Q140 pour lesquels l'activité physique permet de ralentir l'apparition d'un phénotype de type dépression (Renoir *et al* 2012, Stefanko *et al* 2017). Egalement, un EE impliquant une stimulation cognitive et une augmentation de la taille du groupe social permet de réduire l'anxiété au profit de comportements exploratoires, et tend à augmenter la survie de modèles transgéniques de la MH (Renoir *et al* 2013, Wood *et al* 2011). Ainsi, l'EE standardisé et complexe que constitue la cage Marlau (Fares *et al* 2012), en stimulant à la fois l'activité physique, la cognition et les interactions sociales des animaux permet de ralentir la mise en place des symptômes comportementaux de la MH.

Les analyses réalisées ont notamment permis de mettre en évidence le comportement apathique des souris R6/1 et un effet bénéfique de l'EE sur celui-ci. Particulièrement, les modèles de la MH présentent une perte de motivation face aux stimuli aversifs (*e.g.* champ ouvert, boîte claire-obscur), une composante semblable à l'insensibilité à la perte retrouvée chez les patient·es (McLauchlan *et al* 2019) et qui est restaurée par l'EE dans notre étude. Cependant, les souris R6/1 ne présentent pas de déficit dans un paradigme récompensant tel que le test de préférence à la saccharine, bien que d'autres études rapportent une anhédonie de ce modèle murin restaurée par l'EE (Renoir *et al* 2013). Ainsi, pour comprendre davantage l'impact de l'enrichissement sur les composantes de motivation et d'apathie des animaux, il pourrait être envisagé de réaliser des tests opérants de motivation (Heath *et al* 2019), des tests impliquant un stimulus aversif (*e.g.* Splash test) ou encore des tests évaluant la qualité des interactions sociales des animaux, telle que l'étude réalisée par Wood et Morton ayant conclu à une apathie sociale et à une altération des comportements sociaux des modèles R6/2 (Wood et Morton 2015).

L'EE par cage Marlau a permis dans cette étude de ralentir la mise en place de symptômes comportementaux chez le modèle R6/1. Toutefois quelques limites demeurent concernant les approches expérimentales utilisées dans cette étude.

Tout d'abord, le test du double H utilisé pour déterminer la stratégie de mémoire spatiale mise en place par les animaux implique de nombreuses composantes comportementales ce qui complexifie les conclusions pouvant être apportées. Par exemple, nous avons identifié que lors de la phase d'acquisition, les souris R6/1 retournent davantage dans le bras d'habituation ce qui pourrait signifier qu'elles restent sur l'idée que la plateforme se situe en NO, traduisant un manque de flexibilité cognitive des animaux qui est une composante altérée dans la MH (Papoutsi *et al* 2014). Également, si les souris R6/1 sont davantage apathiques envers les situations aversives, comme identifié en boîte claire/obscure et en champ ouvert, peut-être qu'elles sont moins motivées à trouver la localisation de l'échappatoire dans la piscine, ce qui expliquerait la différence d'apprentissage entre les conditions R6 SE et WT SE. Ainsi, il est possible que les performances des souris R6/1 en double H ne reflètent pas uniquement un défaut de mémoire spatiale égocentrique. Toutefois les données antérieures du laboratoire ont pu corrélérer le phénotype des souris R6/1 dans ce test à une atteinte biologique spécifique du striatum, en déterminant notamment un défaut d'expression du gène immédiat précoce *Egr1* ainsi qu'un déficit de réarrangement de la chromatine au niveau de gènes de plasticité cérébrale, dans le striatum Huntington (Alcalá-Vida, Lotz *et al* [annexe2](#)). Également, quelle que soit la composante comportementale impliquée, nos données montrent une amélioration des performances des souris R6 EE lors du probe qui confirme l'effet bénéfique de l'hébergement en cage Marlau sur la cognition des animaux. Pour rendre les résultats plus limpides, des tests supplémentaires pourraient être envisagés comme le design d'un protocole évaluant la flexibilité cognitive des animaux. De plus, il serait judicieux à l'avenir de modifier le design expérimental de sorte que la phase d'habituation des animaux en jour 1 se fasse dans une configuration du double-H qui n'existe plus lors de l'acquisition et du probe, voire idéalement dans un autre labyrinthe différent du double-H, de manière à ce que les animaux ne retrouvent pas le bras d'habituation lors de la suite du protocole.

A l'image des résultats obtenus dans le champ ouvert, les fonctions motrices des animaux paraissent dérégulées dans la MH et en partie restaurées avec l'EE. Ainsi, il n'est pas à exclure qu'une partie des comportements observés dans les différents tests (*e.g.* temps passé au centre du champ ouvert, latence de chute du rotarod) reposent sur un effet bénéfique de l'enrichissement, et de l'activité physique associée, sur les fonctions motrices.

Toutefois, les composantes cognitives déterminées en double H, le temps de traversée du premier segment au test de la barre et les profils de localisation des animaux dans le champ ouvert déterminé par carte de densité, sont des paramètres indépendants des performances locomotrices et démontrent que l'effet bénéfique de l'EE en condition Huntington n'est pas uniquement moteur.

Des optimisations de protocoles et la réalisation de tests complémentaires pourraient compléter ces données. Néanmoins, nos résultats indiquant un bénéfice de l'hébergement en cage Marlau sur les symptômes comportementaux des souris R6/1, nous avons ainsi poursuivi l'expérimentation et effectué les études moléculaires avec ce dispositif d'hébergement enrichi.

2. La caractérisation du transcriptome striatal après hébergement en cage Marlau permet d'identifier des gènes et facteurs de transcription candidats à la neuroprotection du striatum Huntington

L'analyse des profils transcriptomiques du striatum des animaux par RNAseq n'a pas révélé d'amélioration du niveau d'expression des gènes de l'identité neuronale par l'EE chez les souris R6/1. Les animaux enrichis présentant toutefois une amélioration comportementale, cela suggère que d'autres mécanismes moléculaires pathogéniques sont corrigés dans le striatum des souris enrichies. Ces résultats sont cohérents avec les travaux de van Dellen et coll. qui ont mis en évidence une amélioration des comportements moteurs et exploratoires des souris R6/1 à 36 semaines, sans restauration de l'atrophie striatale et de l'agrégation protéique (van Dellen *et al* 2008). De façon surprenante, une activité physique régulière permet de restaurer les niveaux d'expression des neurotransmetteurs dopaminergiques et de Drd2, et induit une diminution des agrégats de HTTm dans le striatum des modèles KI Q140 exposés à l'activité physique du sevrage à l'âge de 6 mois (Stefanko *et al* 2017). Ainsi, les différences de signatures transcriptomiques entre les études pourraient être dues aux modèles murins utilisés et/ou aux stades pathologiques étudiés ; les mécanismes neuroprotecteurs induits par l'EE pouvant être bénéfiques jusqu'à un certain degré d'altération cellulaire dans le striatum, à partir duquel l'EE n'est plus suffisant.

La signature de réexpression des gènes développementaux et le *shift* des sous-unités CBX de PRC1, décrites précédemment ([Discussion article-axe1](#)) et traduisant un vieillissement épigénétique accéléré dans les neurones Huntington, ont été retrouvées dans cette étude menée sur du striatum entier. Les résultats suggèrent que l'enrichissement permet d'atténuer l'expression des gènes développementaux et cibles de PRC2, toutefois les profils d'expression des gènes *Cbx* et *Onecut1* ne montrent aucun effet de l'EE. Il est possible que cette signature ne soit pas visible dans nos données car elles sont obtenues à partir d'un mélange de toutes les cellules striatales, donc la signature propre aux neurones pourrait être masquée. Ainsi, il sera essentiel à l'avenir de caractériser les effets moléculaires de l'EE, en améliorant la résolution des approches et en distinguant les types cellulaires (*e.g.* FANS-RNAseq, TRAPseq, snRNAseq).

2.1. Modulation du métabolisme lipidique et énergétique

Néanmoins, les analyses réalisées ont permis de mettre en évidence plusieurs voies de signalisation et facteurs de transcription dont l'expression est augmentée avec l'EE chez les souris R6/1. Particulièrement, plusieurs gènes associés au métabolisme lipidique sont modulés par l'EE. En effet, une partie des gènes dont l'expression est restaurée chez les R6/1 EE sont des cibles des récepteurs des oxystéroïdes LXR-RXR, et possèdent des fonctions associées au métabolisme des lipides. Sachant que les facteurs de transcription LXR induisent l'expression de gènes impliqués dans le transport du cholestérol et la lipogenèse (Lund *et al* 2006), et que leur déplétion expérimentale induit des altérations du système nerveux central telles qu'une perte neuronale et une désorganisation de la myéline (Wang *et al* 2002), il est possible que l'activation de certains gènes cibles de LXR par l'EE soit bénéfique, en permettant d'atténuer les atteintes du métabolisme lipidique retrouvées dans le striatum Huntington (Kacher *et al* 2022). Notamment, plusieurs études ont pu démontrer que l'administration de cholestérol à des modèles R6/2 et zQ175 de la MH, tout comme la modulation de l'enzyme CYP46A1 qui contrôle la métabolisation du cholestérol, permettent d'améliorer la connectivité synaptique et de ralentir le déclin cognitif et la formation d'agrégats de HTTm (Birolini *et al* 2020, 2023, Kacher *et al* 2019). Ainsi les effets bénéfiques de l'EE pourraient passer *via* une modulation du métabolisme lipidique et de la connectivité synaptique associée.

Toutefois, il est également envisageable que l'EE en modulant le métabolisme lipidique accélère la pathologie bien que cela ne transparaisse pas au niveau du comportement des animaux. En effet, parmi les gènes surexprimés en condition R6 EE vs R6 SE se trouve le gène *Pla2g3*, codant pour l'expression d'une phospholipase dont le rôle est essentiel au stress oxydatif. *Pla2g3* est en effet surexprimé chez des modèles de stress oxydatif neuronal, à l'origine d'une apoptose (Martinez-Garcia *et al* 2010). Il apparaît également augmenté dans le cortex de patient·es de la maladie d'Alzheimer et sa surexpression dans des cultures cellulaires induit une baisse des enzymes de dégradation de l'insuline (Yui *et al* 2015). Ainsi, ces résultats indiquent que *Pla2g3* joue un rôle dans la dérégulation métabolique (*via* la modulation des ROS et du glucose) en condition pathologique, qui relativiserait l'effet bénéfique associé à l'EE et pourrait aggraver les troubles métaboliques chez les modèles Huntington.

Cependant, des travaux ont pu montrer que la stimulation précoce de l'activité physique, associée à une amélioration des performances motrices des animaux, permet de moduler la glycolyse et de préserver la chaîne respiratoire mitochondriale dans le cerveau des souris R6/1 et Q140 (Herbst et Holloway 2015, Caldwell *et al* 2020). Enfin, l'expression du gène *Adipor2* codant pour le récepteur à l'adiponectine, une adipocytokine, est spécifiquement induite dans le striatum des souris R6/1 hébergées en EE. Ce récepteur, activant les voies de PPAR α et impliqué dans l'oxydation des acides-gras, la capture du glucose et le contrôle de l'insulinémie, pourrait constituer une cible moléculaire prometteuse dans la résilience cellulaire induite par l'EE (Yamauchi *et al* 2003, Iwabu *et al* 2021, Khandelwal *et al* 2022). En effet, plusieurs études ont démontré que l'administration d'AdipoRon -équivalent synthétique de l'adiponectine- améliore les performances cognitives dépendantes de l'hippocampe, limite l'hyperactivation microgliale et la neuroinflammation et prévient la perte neuronale chez des modèles murins d'ischémie et de maladie d'Alzheimer (Miao *et al* 2021, Yan *et al* 2022). Notamment, Khandelwal et coll. ont démontré que l'amélioration cognitive des modèles APP/PS1 de la MA dépendante de l'administration d'AdipoRon, corrèle avec une augmentation du métabolisme du glucose, passant par une augmentation de l'expression des récepteurs GLUT et de la recapture du glucose (Khandelwal *et al* 2022). Ainsi, il serait intéressant de doser le niveau d'adiponectine dans les différents compartiments de l'organisme (*e.g.* sang et liquide céphalo-rachidien) de manière à définir l'impact de l'EE sur

les niveaux d'adiponectine cérébrale. De plus, au vu des altérations du métabolisme du glucose dans la MH, et du fait que l'induction d'*Apidor2* dans le striatum des animaux R6 EE corrèle avec une amélioration du phénotype comportemental, il pourrait être envisagé de moduler la voie de signalisation de l'adiponectine pour ralentir la mise en place des symptômes moléculaires et comportementaux de la MH.

Globalement, l'ensemble de nos résultats et associé aux données de la littérature semblent mettre en évidence une modulation du métabolisme striatal par l'EE, bien que l'amélioration ou l'aggravation de celui-ci ne soit pas clair. Ainsi, il serait pertinent d'étudier davantage les signatures transcriptomiques et métabolomiques des différents types cellulaires du striatum des animaux hébergés en cage Marlau (*e.g* profils transcriptomiques des gènes de la chaîne respiratoire mitochondriale, dosage des métabolites), de manière à définir la capacité de l'EE à restaurer l'état métabolique des souris R6/1.

2.2. Modulation de la voie des glucocorticoïdes

Une fraction importante des gènes dont l'expression est restaurée chez les souris R6/1 hébergées en cage Marlau sont des gènes cibles des récepteurs au glucocorticoïde NR3C1 et NR3C2. Ces facteurs de transcription sont en particulier impliqués dans la régulation de l'activité du système hypothalamo-hypophysio-surrénalien en réponse à la fixation de glucocorticoïdes (Gass *et al* 2001). Particulièrement, l'inhibition de ces récepteurs dans le système nerveux central et périphérique par système Cre/Lox est responsable d'une diminution des glucocorticoïdes circulants et du comportement d'anxiété des animaux (Tronche *et al* 1999). En 2015, Pan-vazquez et coll. ont démontré que chez des animaux isolés, la mise à disposition en libre accès de roues d'activité permet d'augmenter le niveau d'expression de NR3C1 dans l'hippocampe et de diminuer la présence de l'ARN non codant miR-124 réprimant NR3C1. Cette modulation du récepteur aux glucocorticoïdes corrèle avec une augmentation du comportement d'étirement (*stretching*) des animaux en labyrinthe en croix surélevé, que les auteur·ices interprètent comme une augmentation de la résilience au stress (Pan-Vazquez *et al* 2015). Ainsi, il est possible que l'hébergement des modèles de la MH et animaux contrôles en cage Marlau, module l'activité de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien, ce qui régularait le niveau d'anxiété des animaux comme observé dans les tests comportementaux.

De plus, parmi les gènes cibles de NR3C1 dont l'expression est restaurée avec l'EE dans le striatum, figure le gène *Cdkn1a* codant pour la protéine p21, un inhibiteur de kinase connu pour ses fonctions anti-apoptotiques et son rôle de contrôle du cycle cellulaire (Abbas et Dutta 2009, Papismadov *et al* 2017). De façon intéressante p21 *via* son interaction au domaine répresseur de la chromatine CRD1 peut activer le facteur transcriptionnel p300 (Snowden *et al* 2000). De plus, Yosef et coll. ont montré que dans des modèles cellulaires de sénescence induite par des dommages à l'ADN, le *knock-down* de p21 augmente l'altération de l'ADN et diminue la survie des cellules en activant la voie des caspases et des kinases junk. Ainsi, les auteures ont démontré que l'expression de p21 joue un rôle anti-apoptotique protecteur lors du vieillissement (Yosef *et al* 2017). De ce fait, il est possible que l'EE en augmentant l'expression de *Cdkn1a*, potentiellement par un contrôle de Nr3c1, joue un rôle neuroprotecteur chez les souris R6/1 en restaurant les fonctions de l'HAT p300 et/ou en atténuant les mécanismes de sénescence induits par des dommages à l'ADN. Des expériences de ChIPseq ciblant *Cdkn1a* ou *Nr3c1* dans le striatum, ainsi qu'un dosage des glucocorticoïdes, pourraient nous informer sur l'effet de la modulation des glucocorticoïdes dans le striatum des souris R6/1 induite par l'EE. De plus, nos travaux récents ayant identifié un vieillissement accéléré dans le striatum Huntington, il semble d'autant plus intéressant de cibler la voie de *Cdkn1a*, par exemple par une modulation de son expression dans le striatum de modèles murins de la MH et caractérisation comportementale et moléculaire (*e.g* état de l'érosion épigénétique Huntington, dommages à l'ADN et niveau d'instabilité de la mutation de *HTT*) des animaux.

L'ensemble de nos résultats ont permis de confirmer le bénéfice apporté par l'hébergement en cage Marlau sur les modèles R6/1 de la MH. L'analyse préliminaire des données RNAseq a également permis d'identifier des voies de signalisation qui apparaissent modulées par l'EE (métabolisme lipidique, glucocorticoïdes) et certains facteurs protéiques tels que Adipor2 et *Cdkn1a*, qui pourraient constituer des cibles d'intérêt à moduler par des études pré-cliniques. Toutefois, cette analyse de RNAseq reste préliminaire et des analyses complémentaires sont en cours. Notamment, bien que les travaux de Dubois et coll. n'aient pas mis en évidence d'effet de l'EE sur les petits ARN non codants dans le striatum de souris R6/1 (Dubois *et al* 2021), il serait judicieux de confirmer ou infirmer cette observation après hébergement en cage Marlau (une analyse des IncARN est en cours au laboratoire).

Egalement, l'hypothèse de ce projet repose sur le fait que l'EE soit bénéfique dans le contexte Huntington par une modulation des régulations épigénétiques, ainsi il est essentiel d'étudier l'impact de l'EE sur les régulations épigénétiques dans les striatum des souris R6/1. Particulièrement, une caractérisation des marques H3K27ac et H3K9ac par CUT&Tag sur noyaux neuronaux triés par FANS est actuellement en cours au laboratoire. Il serait également judicieux d'établir les profils épigénétiques d'autres marques d'histones dérégulées dans la maladie (*e.g* H3K18ac, H3K27me3, H2AK119ub...). Plus largement, Zocher et coll. ont pu démontrer que l'EE tend à rajeunir les horloges épigénétiques sur les gènes de plasticité neuronale dans l'hippocampe de souris âgées (Zocher *et al* 2021). Ainsi il serait intéressant de caractériser également le méthylome des animaux après hébergement en cage Marlau ou lors de la modulation des voies susceptibles de ralentir la physiopathologie (*e.g* administration de AdipoRon). Plus globalement, il serait intéressant de caractériser l'évolution de la pathologie par des biomarqueurs tels que le niveau d'agrégation de HTT mutée, ou encore par l'étude de l'instabilité de l'expansion CAG et des fonctions des mécanismes de réparation de l'ADN post-EE, ce qui pourrait être informatif sur les mécanismes moléculaires responsables de la résilience des animaux induite par l'EE.

Discussion & perspectives générales

Des perspectives thérapeutiques émergent pour ralentir la maladie voire inactiver la protéine HTTm (Saft *et al* 2023, UniQure Biopharma 2023, Hoffman-LaRoche 2024, Estevez-Fraga *et al* 2024), mais il n'existe aujourd'hui aucun traitement de la MH et il est essentiel de comprendre le décours temporel et les mécanismes pathologiques impliqués dans la spécificité de l'atteinte neuronale pour identifier des cibles thérapeutiques précises. Parmi les mécanismes altérés dans la MH, il est établi que les neurones striataux vulnérables présentent une dérégulation épigénétique et transcriptionnelle caractérisée notamment par une perte d'expression des gènes d'identité (Vashishtha *et al* 2013, Achour *et al* 2015, Francelle *et al* 2017, Alcalá-Vida *et al* 2021b, Langfelder *et al* 2016, Merienne *et al* 2019, Malaiya *et al* 2021, Mätlik *et al* 2024, Pressl *et al* 2024), et que le striatum Huntington est la cible de déficits métaboliques variés allant d'un stress oxydatif à des pertes de fonctions du métabolisme du glucose et des lipides (Damiano *et al* 2010, Sorolla *et al* 2008, Weiss *et al* 2023, Boussicault *et al* 2014, Valenza et 2010). Ainsi les travaux réalisés durant cette thèse ont eu pour but de décrypter les mécanismes épigénétiques impliqués dans la pathogenèse de la MH dans les neurones du striatum de modèles murins, et de déterminer l'impact d'une intervention non pharmacologique (enrichissement environnemental) sur la pathogenèse, de manière à identifier des cibles d'intérêt thérapeutique.

Bien que l'étiologie de la MH soit connue -la maladie est causée par une mutation unique (une expansion de CAG supérieure à 35-40 répétitions) dans l'exon1 du gène *HTT*- les mécanismes par lesquels cette mutation induit l'ensemble des dérégulations cellulaires associées, et plus particulièrement les atteintes épigénétiques et métaboliques précoce, restent mal compris. La nature des entités toxiques (ADN muté (expansion CAG), ARN HTT muté, protéine HTT mutée), ainsi que les liens de causalité et de temporalité entre les différentes dérégulations cellulaires, reste aujourd'hui incertains. Dans ce contexte, nos travaux ont permis d'ajouter une pierre à l'édifice en consolidant certaines hypothèses qui ont émergé récemment, et en proposant de nouvelles.

1. Instabilité somatique de l'expansion CAG, vieillissement épigénétique accéléré et mécanismes de réparation de l'ADN

1.1. Hypothèse bi-phasique de la pathogenèse

Les travaux récents du laboratoire de S.McCarroll suggèrent que l'instabilité de la mutation CAG est un mécanisme nécessaire et qui précède la toxicité induite par la HTTm (McCarroll 2023, Handsaker 2024), ce qui en fait un mécanisme essentiel qu'il est nécessaire de caractériser pour comprendre les mécanismes impliqués de façon la plus précoce dans la pathogenèse de la MH. Notamment, une théorie émergente propose qu'il existe une dynamique du processus pathogénique de la MH en deux phases majeures, dont la transition est déterminée par un nouveau seuil de l'expansion CAG dans le gène *HTT* (Hong et al 2021, McCarroll 2023, Handsaker 2024). Plus précisément, McCarroll et coll. ont cherché à corrélérer le niveau d'instabilité somatique de l'expansion CAG avec la dérégulation transcriptionnelle, en étudiant l'instabilité somatique et le transcriptome de cellules uniques provenant de cerveau *post-mortem* de patient·es Huntington. L'analyse des données met en évidence une première phase relativement asymptomatique et associée à une altération minime du transcriptome au cours de laquelle le nombre de répétitions CAG s'allonge *via* le mécanisme d'instabilité somatique décrit précédemment ([Introduction-I.1.2](#)). A l'image des MSNs du striatum, les cellules les plus vulnérables à la MH sont particulièrement affectées par ce mécanisme d'instabilité et atteignent plus rapidement le seuil de 150 CAG à l'origine de la deuxième phase (Handley et al 2024). Les données de McCarroll et coll. montrent que le transcriptome des neurones striataux dont l'expansion CAG dépasse le seuil de 150 répétitions est fortement dérégulé. En particulier, les gènes d'identité sont diminués et les gènes développementaux apparaissent augmentés. Ainsi, cette seconde phase serait la plus importante pour le dysfonctionnement des neurones et leur dégénérescence (McCarroll 2023, Handsaker 2024). Ce nouveau modèle bouscule le dogme des maladies à expansion de polyglutamine, puisqu'il propose deux seuils déterminants des répétitions CAG : un premier seuil de l'ordre de 35-40 CAG qui correspond au seuil à partir duquel la mutation devient somatiquement instable, en particulier dans les neurones vulnérables, et un second seuil de l'ordre de 150 CAG qui correspond à la limite à partir de laquelle les produits du gène muté, notamment la protéine HTTm, deviennent toxiques.

De façon intéressante, la signature transcriptionnelle de perte d'identité cellulaire observée dans le striatum *post-mortem* de patient·es est comparable à celle retrouvée dans les modèles murins transgéniques R6/1 et *knock-in* Q140 ([Résultats article-axe1](#)) ce qui renforce nos résultats et confirme la pertinence de ces modèles murins pour étudier les processus pathogéniques de la MH. De plus, les souris R6/1 et Q140 expriment une HTT mutée, instable somatiquement, et proche du seuil de 150 CAG à la naissance. Ainsi, il est vraisemblable que la phase toxique du processus pathogénique -la seconde phase- démarre très rapidement chez les modèles murins de la MH exprimant une expansion CAG proche de ce seuil. A l'inverse, ce dogme basé sur l'expansion de la mutation et le seuil à 150 CAG remet en question les modèles murins dépourvus d'instabilité somatique tels que les BACHD où la séquence CAG est interrompue par des triplets CAA (Pouladi *et al* 2012), ainsi que les cultures cellulaires issues d'iPSC générées à partir de fibroblastes de patient·es Huntington où la mutation est relativement stable et où le temps d'expérimentation ne permet pas d'atteindre le seuil de 150 CAG.

1.2. Vieillissement épigénétique et réparation de l'ADN

La signature transcriptionnelle observée dans le cerveau de patient·es de la MH par McCarroll et coll., qui est déclenchée lors de cette seconde phase, est similaire à l'érosion de l'identité neuronale provoquée par une accélération du vieillissement épigénétique que l'on a identifié chez les modèles murins Huntington ([Résultats article-axe1](#)). Or, selon la théorie de l'information du vieillissement développée par Sinclair et coll., ce sont des mécanismes de réparation de l'ADN qui sont à l'origine de l'érosion épigénétique et transcriptionnelle associée au vieillissement cellulaire (Lu *et al* 2023, JH.Yang *et al* 2023, N.Yang *et al* 2023). Toutefois, la nature de ces mécanismes reste à déterminer chez les mammifères.

Nos données suggèrent que PRC1 contribue à l'accélération de l'érosion épigénétique des neurones striataux chez les souris modèles de la MH. En effet, nous avons montré une dérégulation de H2AK119ub dans le striatum Huntington. Or, cette marque épigénétique est impliquée dans le recrutement de protéines impliquées dans la réparation de l'ADN. Notamment, lors d'une cassure de l'ADN double brin, le recrutement de PRC1 à la chromatine, induit le dépôt de la marque H2AK119ub qui maintient localement la chromatine dans un état de répression transcriptionnelle. De plus la sous-unité BMI1 de PRC1 recrute la protéine CtIP qui est alors sumoylée par Cbx4 et qui permet le recrutement des mécanismes de réparation

de l'ADN (Fitieh et al 2022, Soria-Bretones 2017, Ismail et al 2010, Ismail et al 2012). Egalement, nous avons identifié qu'en condition pathologique il existe un réarrangement des sous-unités CBX de PRC1 qui pourrait être à l'origine -par une augmentation de CBX4 notamment- d'une modification des propriétés de réparation de l'ADN induite par PRC1, et également d'une perturbation des mécanismes de séparation de phase dans le compartiment nucléaire. En effet, à l'image de CBX2, les sous-unités CBX4/7/8 de PRC1 possèdent des propriétés physico-chimiques de séparation de phase qui leur permettent de stimuler les activités enzymatiques de PRC1 via la formation de consensats moléculaires (Brown et al 2023). Ainsi, le réarrangement des sous-unités CBX en condition Huntington pourrait modifier ce mécanisme, d'autant plus que CBX6, la sous-unité principalement exprimée dans les MSNs et diminuée par la mutation Huntington (au profit de CBX2/4/8), est dépourvue de la propriété de séparation de phase. PRC1 pourrait donc être un mécanisme clé du processus d'érosion épigénétique impliqué dans le vieillissement cellulaire en faisant le lien entre réparation de l'ADN et reprogrammation épigénétique. Il serait intéressant de décrypter l'impact du *shift* de CBX sur les processus de séparation de phase. Également, il est envisageable que PRC1 soit recruté différemment le long de la chromatine selon les sous-unités qui le compose, ainsi, des expériences de ChIPseq ciblant les protéines CBX et/ou PRC1 pourraient être envisagées dans le striatum Huntington. Plus largement, il est décrit que l'ubiquitinylation de H2A sur d'autres lysines (e.g. H2AK15ub, H2AK127ub) participe aux mécanismes de réparation de l'ADN (Uckelmann et Sixma 2017). De plus, des données obtenues chez le ver *c.elegans* montrent qu'avec l'âge les protéines présentent une déplétion globale en ubiquitinylation (Koyuncu et al 2021). Ainsi il est possible que les processus d'ubiquitinylation soient largement altérés chez les modèles de la MH, et il serait judicieux de définir les profils d'ubiquitinylation des histones en condition Huntington afin de déterminer si la dérégulation est globale ou limitée à la marque H2AK119ub dépendante de PRC1.

D'après le rôle essentiel que jouent les MMR dans l'instabilité somatique de la mutation Huntington dans les cellules les plus vulnérables ([Introduction-I.1.2](#)), la première phase pathogénique décrite par McCarroll et coll. semblerait être en lien direct avec les mécanismes de réparation de l'ADN. Ainsi, il est envisageable que cette première phase puisse contribuer à une altération plus globale de la réparation de l'ADN, ce qui déterminerait l'entrée dans la seconde phase pathogénique d'érosion épigénétique. Notamment nous

pouvons émettre l'hypothèse que la dérégulation de PRC1 est progressive durant la phase asymptomatique et aboutit au bout d'un certain niveau de dérégulation et/ou de réarrangement de ses sous-unités CBX, à une telle perte de fonction qu'elle serait responsable de la dérépression des gènes développementaux. Pour étudier cette hypothèse ou tout du moins explorer la dynamique temporelle des altérations de PRC1, il pourrait être envisagé, de la même manière que McCarroll et coll. ont déterminé les signatures transcriptionnelles dans les cellules uniques selon la taille de leur mutation, de définir le degré de corrélation entre l'atteinte épigénétique (notamment de H2AK119ub) et la taille de la mutation de *HTT*.

Concernant le 2^e axe de cette thèse, bien que nos données transcriptomiques soient préliminaires, elles montrent qu'un hébergement en milieu enrichi tend à atténuer la surexpression des gènes développementaux dans le striatum Huntington. Or l'exercice est bénéfique pour ralentir les mécanismes de vieillissement en garantissant la maintenance de la stabilité génomique, par un maintien entre autres de l'homéostasie mitochondriale (Rebelo-Marques *et al* 2018, Fiorito *et al* 2021, Fitzgerald *et al* 2021, Sujkowski *et al* 2022). Particulièrement, nos données ont permis d'identifier que cet effet protecteur de l'EE sur l'érosion épigénétique Huntington pourrait passer par la régulation de l'expression du gène *Cdkn1a* (Papismadov *et al* 2017). En effet *Cdkn1a* apparaît dans nos résultats sous-exprimé dans le striatum des souris R6/1 en condition basale, et ce profil est en partie restauré par l'EE. De façon intéressante, Yosef et coll. ont étudié les effets du *knock-down* de la protéine p21 -codée par le gène *Cdkn1a*- dans des modèles cellulaires (fibroblastes) de sénescence induite par des dommages à l'ADN (Yosef *et al* 2017). Les auteur·ices ont montré que dans ce modèle l'interférence d'expression de p21 -par siARN- augmente la mortalité cellulaire, en activant la voie des caspases et des kinases JUNK. Les données montrent également que le *knock-down* de p21 augmente l'altération de l'ADN : l'expression des gènes de dommage à l'ADN étant augmentée, tout comme les marqueurs des mécanismes de réparation de l'ADN (γ H2AX et p53BP1)(Yosef *et al* 2017). Ainsi, il est possible que l'hébergement par cage Marlau, en restaurant l'expression de *Cdkn1a*, favorise la survie cellulaire et atténue les dommages à l'ADN dans le striatum Huntington présentant un vieillissement accéléré. Egalement, il est envisageable que l'EE en améliorant la stabilité génomique et diminuant l'instabilité de la mutation de *HTT*, puisse ralentir ainsi l'évolution vers la seconde phase du processus pathogénique. Il serait alors judicieux de mesurer l'impact de l'EE sur l'instabilité somatique

de la mutation de *HTT* ainsi que l'activité de réparation de l'ADN dans le striatum des animaux en condition basale et après EE (e.g. par étude de la marque d'histone γH2AX associée aux sites de coupure de l'ADN). De plus, il serait intéressant de définir l'effet d'une surexpression expérimentale de *Cdkn1a* dans le striatum Huntington de façon à déterminer son rôle sur l'instabilité de la mutation de *HTT* et sur la perte d'identité accélérée des cellules vulnérables.

1.3. Entités toxiques et temporalité

Bien que nos données suggèrent des pistes explicatives, les mécanismes qui lient l'instabilité somatique de la mutation de HTT à l'accélération de l'érosion épigénétique dans les neurones vulnérables restent à déterminer. Pour ce faire, il sera important de préciser la temporalité de ces événements ainsi que les entités toxiques impliquées quand le seuil de la mutation atteint environ 150 CAG. Il est possible que la protéine HTTm devienne extrêmement毒ique à partir de ce seuil, notamment en formant des agrégats nucléaires, les données de McCarroll et coll. montrant une présence accrue des agrégats dans les noyaux possédant plus de 250 CAG supportent une telle hypothèse (Handsaker 2024). La formation de ces agrégats dans le compartiment nucléaire pourrait perturber l'activité des facteurs protéiques, notamment des régulateurs chromatiniens, transcriptionnels et/ou impliqués dans la réparation de l'ADN, comme par exemple CBP qui est retrouvé dans les agrégats de HTTm (Nucifora et al 2011). Également, la présence de ces agrégats, tout comme la présence d'une longue expansion CAG le long de l'ADN, peut potentiellement altérer la compartmentalisation de la chromatine qui se fait en l'absence de membranes via les mécanismes de séparation de phase (Shakya et al 2020, Ng et al 2022), ce qui pourrait être à l'origine d'un changement drastique des signatures épigénétiques et transcriptionnelles dans les neurones vulnérables. Enfin, il n'est pas exclu que l'ARN issu de la transcription du gène HTTm présente des fonctions pathologiques propres, comme c'est le cas dans la myotonie dystrophique de type 1 où l'expression d'ARN-polyCUG est toxique et séquestre des facteurs d'épissage (Jiang et al 2004).

Egalement, il n'est pas totalement à exclure que la mutation de *HTT* induise des perturbations et/ou que des mécanismes de compensation se mettent en place avant même l'atteinte du seuil de 150 CAG. En effet, les travaux de Humbert et coll. montrent des dysfonctionnements cellulaires dès les stades développementaux dans le cortex d'embryons humain âgés de 13 jours, stade auquel il est inenvisageable de retrouver une expansion de

CAG supérieure à 150 pour les formes adultes de la maladie, qui représentent les formes prédominantes (Barnat *et al* 2020, Ratié et Humbert 2024). De plus, nos données générées chez les souris Q140 montrent une dérégulation de *Onecut1* dès l'âge de 2 mois. Ainsi bien qu'il ne soit pas à exclure que le seuil de 150 CAG soit déjà dépassé à cet âge dans la majorité des MSNs, cela pourrait suggérer une dérégulation précoce de ce gène impliqué dans le développement. Ainsi, il serait essentiel d'élargir la fenêtre temporelle des analyses en commençant dès les stades les plus précoces de la pathologie et/ou en travaillant sur des modèles à cinétique plus lente (*e.g.* KI Q111), pour lesquels on peut espérer ne pas encore avoir atteint le seuil de toxicité de la HTT.

2. Rôle des altérations métaboliques dans la reprogrammation épigénétique et l'instabilité de l'expansion CAG dans les neurones du striatum Huntington

Au cours du vieillissement cellulaire, les fonctions métaboliques sont également massivement atteintes, et la stimulation et/ou le dysfonctionnement du métabolisme énergétique au cours de la vie influence la vitesse de vieillissement cérébral (Mattson et Arumugam 2018, Stillman *et al* 2017). Notamment, avec l'âge le système nerveux central présente une altération de l'intégrité des mitochondries, une augmentation du stress oxydatif, une diminution de la respiration mitochondriale ou encore une baisse de la glycolyse qui tend à être remplacée par une utilisation de l'ACoA hors du cycle de Krebs pour produire des corps cétoniques (Stahon *et al* 2016, Santos *et al* 2013, Pandya *et al* 2015, Yao *et al* 2010). Ainsi, bien qu'on ne sache pas encore si les altérations épigénétiques précèdent et causent les altérations métaboliques associées au vieillissement cellulaire physiologique ou accéléré dans le cas de la MH, ou si au contraire les atteintes métaboliques sont responsables de l'érosion épigénétique, il est vraisemblable que ces deux mécanismes majeurs du vieillissement cellulaire soient étroitement liés et associés au dysfonctionnement et à la dégénérescence des neurones vulnérables à la MH.

Tout d'abord, il est décrit que les ROS peuvent influencer les processus de réparation de l'ADN (Srinivas *et al* 2019). Ainsi les altérations métaboliques à l'origine d'un stress oxydatif dans la MH peuvent induire le recrutement des mécanismes de réparation de l'ADN ce qui peut contribuer à l'instabilité de l'expansion CAG et pourrait favoriser une dégradation plus globale de la réparation de l'ADN dans les neurones vulnérables, entraînant *in fine* une érosion épigénétique (Budworth *et al* 2015, Kovtun *et al* 2007).

Plus globalement, les MSNs qui expriment la HTTm présentent une atteinte précoce du métabolisme énergétique et lipidique et la présence de HTTm altère l'intégrité des mitochondries à l'origine d'une augmentation du stress oxydatif (Damiano *et al* 2010, Sorolla *et al* 2008, Weiss *et al* 2023, Boussicault *et al* 2014, Valenza *et al* 2010, [Introduction-I.4.3](#)). Or de nombreuses études montrent que la fonction mitochondriale et le métabolisme du glucose ont un impact direct sur les régulations épigénétiques. En effet l'acétyl-CoA (ACoA) nucléaire, substrat nécessaire à l'acétylation des histones, est produit essentiellement à partir de la glycolyse, du cycle de Krebs ou du métabolisme lipidique par les enzymes Pyruvate déshydrogénase, ACSS2 et ACLY respectivement (Sutendra *et al* 2014, Wellen *et al* 2009, Mews *et al* 2017, Sivanand *et al* 2018, Jo *et al* 2020, Etchegaray et Mostoslavsky 2016). Ainsi, il est envisageable que l'altération métabolique des MSNs striataux Huntington soit à l'origine d'un *shift* des enzymes de synthèse voire d'une production insuffisante d'ACoA nucléaire. De ce fait, de la même manière que l'inhibition d'Acss2 dans le système nerveux central de souris induit un déficit cognitif par manque de disponibilité de l'ACoA et une baisse de H3K9ac (Alexander *et al* 2022, Mews *et al* 2017), les atteintes métaboliques des neurones du striatum Huntington pourraient être à l'origine d'un défaut d'acétylation des histones et contribuer à la perte de fonction neuronale.

Par ailleurs, nos résultats suggèrent que le facteur de transcription anti-sénescence Glis1 est impliqué dans la réponse au stress des MSNs, et que cette réponse est diminuée dans les MSNs exprimant la HTTm. De manière intéressante, les effets anti-vieillissement de ce facteur de transcription passent par l'activation d'une cascade de signalisation épigénomé-méabolome-épigénomé qui implique une coordination de la régulation de l'acétylation et de la lactylation des histones par la glycolyse (Li *et al* 2020). Plus précisément, cette étude montre que Glis1 permet de reprogrammer les cellules sénescentes en cellules pluripotentes, tout en améliorant la stabilité du génome. Pour ce faire, Glis1 se lie et ouvre la chromatine au niveau des gènes glycolytiques, et ferme la chromatine au niveau de gènes somatiques afin d'activer la glycolyse. Le flux glycolytique élevé entraîne alors une augmentation de l'ACoA et du lactate, ce qui permet dans un second temps d'acétyler et de lactyler les histones au niveau de gènes de pluripotence, et ainsi d'activer la transcription de ces gènes (Li *et al* 2020). Ainsi, il est possible que Glis1 joue un rôle clé dans l'interfaçage des régulations métaboliques et épigénétiques, et que la dérégulation de Glis1 dans les MSNs Huntington soit à l'origine d'un

découplage des deux mécanismes, qui précipiterait l'érosion épigénétique et le vieillissement des MSNs. Cette hypothèse pourrait être étudiée en surexprimant Glis1 dans les neurones striataux de modèles murins de la MH, par exemple à l'aide de vecteur viraux de type AAV. De plus, si l'hypothèse est exacte, la lactylation des histones pourrait être affectée dans le striatum Huntington, ce qui pourrait également être évalué par des approches de ChIPseq ou CUT&Tag avec des anticorps dirigés contre la lactylation des histones (Xie *et al* 2022, Merkuri *et al* 2024). Enfin, le métabolisme énergétique fournissant de nombreux substrats pour les modifications épigénétiques autres que l'acétylation (*e.g.* lactylation, succinylation, crotonylation), il reste essentiel d'identifier par des approches protéomiques de nouvelles marques d'histones dérégulées dans la MH, impliquées dans l'altération du couplage entre régulations métaboliques et épigénétiques dans les neurones Huntington (El Kennani *et al* 2018).

Enfin, les effets bénéfiques de l'EE sur le comportement des souris R6/1 sont associés à la surexpression de gènes liés au métabolisme lipidique dans le striatum Huntington, tel qu'*Adipor2*, codant pour le récepteur à l'adiponectine et impliqué dans l'oxydation des acides-gras, la capture du glucose et le contrôle de l'insulinémie (Yamauchi *et al* 2003, Khandelwal *et al* 2022). Egalement, la stimulation précoce de l'activité physique, associée à une amélioration des performances motrices des animaux, permet de moduler la glycolyse et de préserver la chaîne respiratoire mitochondriale dans le cerveau des souris R6/1 et Q140 (Herbst et Holloway 2015, Caldwell *et al* 2020). Ainsi, de la même manière que l'inhibition de OGG1 -une enzyme glycosylase impliquée dans l'excision de base induite par les ROS- améliore la stabilité de l'expansion CAG et retarde l'apparition des symptômes moteurs chez des modèles murins de la MH (Budworth *et al* 2015, Kovtun *et al* 2007), l'EE pourrait limiter l'instabilité somatique de l'expansion CAG des souris R6/1. L'activité de réparation de l'ADN par excision de base étant plus importante dans le striatum Huntington là où l'instabilité somatique est plus élevée (Goula *et al* 2009), il serait intéressant d'étudier cette hypothèse en évaluant l'activité de réparation par excision de base chez les animaux hébergés en EE. De plus, les effets bénéfiques de l'EE sur l'expression anormale de gènes développementaux dans le striatum Huntington pourraient passer *via* une atténuation de la dérégulation épigénétique et transcriptionnelle par le contrôle de la synthèse glycolytique d'ACoA. Pour tester cette hypothèse il serait intéressant de moduler, par des approches virales, les voies de synthèse d'ACoA nucléaire (*e.g.*

Acss2, Acly, PdhB) dans les neurones du striatum de modèles murins de la MH, et étudier les phénotypes comportementaux et moléculaires (notamment épigénétiques) associés.

Ainsi, il est vraisemblable qu'un lien fonctionnel unisse les différents mécanismes altérés dans les neurones vulnérables à la MH, c'est-à-dire l'instabilité de la mutation de *HTT*, les atteintes métaboliques et l'érosion épigénétique accélérée. Pour décrypter ce lien il serait intéressant de compléter les expériences par des analyses métabolomiques avec ou sans EE. De plus, les analyses transcriptomiques effectuées au laboratoire indiquent que les enzymes impliquées dans la production d'ACoA nucléaire sont dérégulées dans le striatum des souris modèles de la MH, tandis que nos données épigénomiques suggèrent une altération générale de l'acétylation des histones (Penaud, Brulé, Merienne données non publiées).

3. Perspectives thérapeutiques

Les travaux effectués au cours de cette thèse à partir de modèles murins de la MH ont permis d'identifier de nouveaux mécanismes moléculaires associés à la pathogenèse, qui ouvrent ainsi de nouvelles perspectives thérapeutiques. Tout d'abord, nos résultats suggérant un rôle central de l'érosion épigénétique accélérée dans les neurones vulnérables à la MH, il serait judicieux de chercher à l'atténuer en ciblant potentiellement PRC1 et ses sous-unités CBX et/ou en limitant l'instabilité somatique. Egalement, par la caractérisation temporelle des altérations épigénétiques et l'hébergement des animaux modèles de la MH en EE, nous avons pu identifier des cibles moléculaires qu'il pourrait être intéressant de moduler pour booster les mécanismes de neuroprotection et de résilience cellulaire. Par exemple, la surexpression de facteur d'anti-sénescence tel que *Glis1* pourrait permettre de corriger le vieillissement épigénétique accéléré. Il serait aussi possible d'agir sur la voie des glucocorticoïdes et de chercher à restaurer l'expression de *Cdkn1a* qui a un rôle anti-apoptotique et protège l'intégrité de l'ADN durant le processus de vieillissement. Enfin, nos données suggèrent l'intérêt de moduler la voie des adipocytokines et *Adipor2* dont la surexpression pourrait permettre d'améliorer le métabolisme énergétique et lipidique et *in fine* de ralentir les atteintes cognitives dans le contexte Huntington.

Nos travaux ont permis de montrer que les gènes associés à la réponse au stress cellulaire et anti-sénescence sont dérégulés dans les neurones du striatum Huntington. Particulièrement, comme détaillé précédemment ([Discussion générale-1.2](#)), nous avons

identifié Glis1 comme étant une cible d'intérêt : ce facteur de transcription pourrait faire le lien entre les altérations métaboliques et épigénétiques de la MH (Li *et al* 2020). De plus, de façon intéressante nos analyses montrent que la perte d'expression de Glis1 corrèle avec la vulnérabilité des différents types cellulaires du striatum Huntington. Ainsi, nos observations mettant l'érosion épigénétique et le vieillissement accéléré au centre de la physiopathologie de la MH, il serait intéressant de définir le potentiel thérapeutique de l'administration de facteurs de réjuvénation chez les modèles murins Huntington (Cipriano *et al* 2024). Dans ce contexte, Glis1 constitue d'autant plus une cible de choix, son expression associée aux facteurs de Yamanaka permettant la reprogrammation épigénétique des cellules sénescentes (Maekawa *et al* 2011, Li *et al* 2020). De plus, à l'image des travaux de Smeath-Geater et coll. ayant montré que l'administration d'un inhibiteur du facteur développemental WNT permet de préserver l'identité des neurones Huntington en culture, nos résultats ouvrent de nouvelles perspectives thérapeutiques par la modulation des mécanismes impliqués dans l'acquisition et le maintien de l'identité cellulaire.

Egalement, les études réalisées sur les modèles murins d'ischémie et de MA, ayant pour but d'activer la voie d'Adipor2 par administration d'adiponectine ou de l'agoniste AdipoRon ont montré des bénéfices pour ralentir les altérations cognitives des animaux (Miao *et al* 2021, Yan *et al* 2022, Khandelwal *et al* 2022). La stimulation de cette voie chez les souris APP/PS1 modèles de la MA améliore la mémoire et la cognition des animaux et réduit les biomarqueurs de la maladie tels que les agrégats de plaques A β et la phosphorylation de tau. Cet effet bénéfique de la stimulation d'Adipor2 semble vraisemblablement passer par une amélioration du métabolisme énergétique en augmentant la capture du glucose et l'expression des récepteurs à l'insuline (Khandelwal *et al* 2022). De plus, l'activation des AdipoR par l'adiponectine est à l'origine de la phosphorylation de l'AMP kinase alpha, connue pour être impliquée dans le maintien de l'homéostasie cellulaire dans la réponse au stress en régulant notamment la production de ROS, l'apoptose cellulaire, les dysfonctionnements mitochondriaux ou encore les processus de réparation de l'ADN (Wang *et al* 2012). Nos données RNAseq montrent une augmentation spécifique d'Adipor2 par l'EE chez les souris R6/1, qui corrèle avec des bénéfices comportementaux. Ainsi, l'activation des AdipoR par enrichissement de l'environnement et/ou par approche pharmacologique pourrait constituer une piste thérapeutique commune à différentes maladies neurodégénératives. Pour explorer

cette hypothèse, il serait pertinent d'effectuer une étude préclinique en administrant AdipoRon de façon chronique à des souris modèles de la MH, et d'étudier l'effet de ce traitement sur le décours de la pathologie.

De plus, nos travaux pourraient conduire à l'identification de biomarqueurs de la MH. Par exemple, il serait intéressant de définir si les niveaux d'adipocytokines dans le sang et/ou le liquide cérébro-spinal corrèlent avec le niveau d'enrichissement ou l'avancée de la pathologie. Egalement, à l'image des travaux de Wagner et coll. qui ont identifié que la présence de certains ARN non codants dans le plasma peut constituer un marqueur sanguin du vieillissement (Wagner *et al* 2023), il serait intéressant de définir si le vieillissement accéléré Huntington peut se retranscrire à travers les ARN non codants présents dans le compartiment sanguin, de manière à informer précisément sur l'état d'avancement de la pathologie, ce qui pourrait ouvrir le champ à des approches de médecine de précision

Par ailleurs, il est vraisemblable que les mécanismes identifiés par nos travaux soient également activés dans d'autres maladies neurodégénératives, telles que les autres maladies à expansion de CAG (e.g. SCA1, DRPLA, SBAM, ...), voire des maladies neurodégénératives plus fréquentes telles que la maladie d'Alzheimer (MA), dont l'étiologie est complexe. En ce sens, l'étude de Xiong et coll. est remarquable (Xiong *et al* 2023). En effet, à partir de tissus cérébraux *post-mortem*, les auteur·ices observent des altérations épigénétiques et transcriptionnelles chez des patient·es de la MA, qui se traduisent par une perte de l'identité cellulaire et ressemblent à celles observées chez les modèles murins de la MH retrouvées dans nos résultats, et retrouvées par McCarroll et coll. dans le striatum de patient·es de la MH ([résultats-axe1](#), McCarroll 2023, Handsaker 2024). Ainsi, par la compréhension des mécanismes de perte de l'identité cellulaire qui semblent communs à la neurodégénérescence induite dans différentes pathologies, nous données contribuent à l'identification de cibles thérapeutiques qui pourraient être modulées au-delà de la maladie de Huntington.

..... REFERENCES

A

- Abbas, T. & Dutta, A. (2009) p21 in cancer: intricate networks and multiple activities. *Nat Rev Cancer*, 9, 400–414.
- Abjean, L., Ben Haim, L., Riquelme-Perez, M., Gipchtein, P., Derbois, C., Palomares, M.-A., Petit, F., Hérard, A.-S., Gaillard, M.-C., Guillermier, M., Gaudin-Guérif, M., Aurégan, G., Sagar, N., Héry, C., Dufour, N., Robil, N., Kabani, M., Melki, R., De la Grange, P., Bemelmans, A.P., Bonvento, G., Deleuze, J.-F., Hantraye, P., Flament, J., Bonnet, E., Brohard, S., Olaso, R., Brouillet, E., Carrillo-de Sauvage, M.-A., & Escartin, C. (2023) Reactive astrocytes promote proteostasis in Huntington's disease through the JAK2-STAT3 pathway. *Brain: A Journal of Neurology*, 146, 149–166.
- Achour, M., Le Gras, S., Keime, C., Parmentier, F., Lejeune, F.-X., Boutillier, A.-L., Néri, C., Davidson, I., & Merienne, K. (2015) Neuronal identity genes regulated by super-enhancers are preferentially down-regulated in the striatum of Huntington's disease mice. *Human Molecular Genetics*, 24, 3481–3496.
- Alarcón, J.M., Malleret, G., Touzani, K., Vronskaya, S., Ishii, S., Kandel, E.R., & Barco, A. (2004) Chromatin acetylation, memory, and LTP are impaired in CBP+/- mice: a model for the cognitive deficit in Rubinstein-Taybi syndrome and its amelioration. *Neuron*, 42, 947–959.
- Albaugh, B.N. & Denu, J.M. (2021) Catalysis by protein acetyltransferase Gcn5. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 1864, 194627.
- Alcalà-Vida, R., Awada, A., Boutillier, A.-L., & Merienne, K. (2021a) Epigenetic mechanisms underlying enhancer modulation of neuronal identity, neuronal activity and neurodegeneration. *Neurobiology of Disease*, 147, 105155.
- Alcalà-Vida, R., Seguin, J., Lotz, C., Molitor, A.M., Irastorza-Azcarate, I., Awada, A., Karasu, N., Bombardier, A., Cosquer, B., Skarmeta, J.L.G., Cassel, J.-C., Boutillier, A.-L., Sexton, T., & Merienne, K. (2021b) Age-related and disease locus-specific mechanisms contribute to early remodelling of chromatin structure in Huntington's disease mice. *Nature Communications*, 12, 364.
- Aldous, S.G., Smith, E.J., Landles, C., Osborne, G.F., Cañibano-Pico, M., Nita, I.M., Phillips, J., Zhang, Y., Jin, B., Hirst, M.B., Benn, C.L., Bond, B.C., Edelmann, W., Greene, J.R., & Bates, G.P. (2024) A CAG repeat threshold for therapeutics targeting somatic instability in Huntington's disease. *Brain: A Journal of Neurology*, awae063.
- Alegría-Torres, J.A., Baccarelli, A., & Bollati, V. (2011) Epigenetics and lifestyle. *Epigenomics*, 3, 267–277.
- Alexander, D.C., Corman, T., Mendoza, M., Glass, A., Belity, T., Wu, R., Campbell, R.R., Han, J., Keiser, A.A., Winkler, J., Wood, M.A., Kim, T., Garcia, B.A., Cohen, H., Mews, P., Egervari, G., & Berger, S.L. (2022) Targeting acetyl-CoA metabolism attenuates the formation of fear memories through reduced activity-dependent histone acetylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119, e2114758119.
- Altschuler, E.L. (2006) Strenuous, intensive, long-term exercise does not prevent or delay the onset of Huntington's disease. *Medical Hypotheses*, 67, 1429–1430.
- Anders, S., Pyl, P.T., & Huber, W. (2015) HTSeq—a Python framework to work with high-throughput sequencing data. *Bioinformatics*, 31, 166–169.
- Andrew, S.E., Goldberg, Y.P., Kremer, B., Telenius, H., Theilmann, J., Adam, S., Starr, E., Squitieri, F., Lin, B., & Kalchman, M.A. (1993) The relationship between trinucleotide (CAG) repeat length and clinical features of Huntington's disease. *Nature Genetics*, 4, 398–403.
- Arboleda, V.A., Lee, H., Dorrani, N., Zadeh, N., Willis, M., Macmurdo, C.F., Manning, M.A., Kwan, A., Hudgins, L., Barthelemy, F., Miceli, M.C., Quintero-Rivera, F., Kantarci, S., Strom, S.P., Deignan, J.L., UCLA Clinical Genomics Center, Grody, W.W., Vilain, E., & Nelson, S.F. (2015) De novo nonsense mutations in KAT6A, a lysine acetyl-transferase gene, cause a syndrome including microcephaly and global developmental delay. *American Journal of Human Genetics*, 96, 498–506.
- Arzate-Mejia, R.G. & Mansuy, I.M. (2023) Remembering through the genome: the role of chromatin states in brain functions and diseases. *Transl Psychiatry*, 13, 122.
- Atlasi, Y. & Stunnenberg, H.G. (2017) The interplay of epigenetic marks during stem cell differentiation and development. *Nature Reviews Genetics*, 18, 643–658.

Awada, A. (2021) The role of the serum response factor in the pathogenesis of Huntington's disease (Thèse de doctorat).

Aziz, N.A., van Belzen, M.J., Coops, I.D., Belfroid, R.D.M., & Roos, R.A.C. (2011) Parent-of-origin differences of mutant HTT CAG repeat instability in Huntington's disease. *European Journal of Medical Genetics*, 54, e413–e418.

Azizbeigi, K., Stannard, S.R., Atashak, S., & Mosalman Haghghi, M. (2014) Antioxidant enzymes and oxidative stress adaptation to exercise training: Comparison of endurance, resistance, and concurrent training in untrained males. *Journal of Exercise Science & Fitness*, 12, 1–6.

B

Bachoud-Lévi, A.-C., Massart, R., & Rosser, A. (2021) Cell therapy in Huntington's disease: Taking stock of past studies to move the field forward. *Stem Cells*, 39, 144–155.

Bai, G., Cheung, I., Shulha, H.P., Coelho, J.E., Li, P., Dong, X., Jakovcevski, M., Wang, Y., Grigorenko, A., Jiang, Y., Hoss, A., Patel, K., Zheng, M., Rogaev, E., Myers, R.H., Weng, Z., Akbarian, S., & Chen, J.-F. (2015) Epigenetic dysregulation of hairy and enhancer of split 4 (HES4) is associated with striatal degeneration in postmortem Huntington brains. *Human Molecular Genetics*, 24, 1441–1456.

Bakels, H.S., Roos, R.A.C., van Roon-Mom, W.M.C., & de Bot, S.T. (2022) Juvenile-Onset Huntington Disease Pathophysiology and Neurodevelopment: A Review. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 37, 16–24.

Baletti, M. & Conti, F. (2022) Environmental enrichment and the aging brain: is it time for standardization? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 139, 104728.

Balleine, B.W., Delgado, M.R., & Hikosaka, O. (2007) The role of the dorsal striatum in reward and decision-making. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27, 8161–8165.

Bao, T., Miao, W., Han, J., Yin, M., Yan, Y., Wang, W., & Zhu, Y. (2014) Spontaneous running wheel improves cognitive functions of mouse associated with miRNA expressional alteration in hippocampus following traumatic brain injury. *Journal of molecular neuroscience: MN*, 54, 622–629.

Barbour, H., Daou, S., Hendzel, M., & Affar, E.B. (2020) Polycomb group-mediated histone H2A monoubiquitination in epigenome regulation and nuclear processes. *Nat Commun*, 11, 5947.

Barker, S.J., Raju, R.M., Milman, N.E.P., Wang, J., Davila-Velderrain, J., Gunter-Rahman, F., Parro, C.C., Bozzelli, P.L., Abdurrob, F., Abdelaal, K., Bennett, D.A., Kellis, M., & Tsai, L.-H. (2021) MEF2 is a key regulator of cognitive potential and confers resilience to neurodegeneration. *Science Translational Medicine*, 13, eabd7695.

Barnat, M., Capizzi, M., Aparicio, E., Boluda, S., Wennagel, D., Kacher, R., Kassem, R., Lenoir, S., Agasse, F., Braz, B.Y., Liu, J.-P., Ighil, J., Tessier, A., Zeitlin, S.O., Duyckaerts, C., Dommergues, M., Durr, A., & Humbert, S. (2020) Huntington's disease alters human neurodevelopment. *Science*, 369, 787–793.

Bartosovic, M., Kabbe, M., & Castelo-Branco, G. (2021) Single-cell CUT&Tag profiles histone modifications and transcription factors in complex tissues. *Nature Biotechnology*, 39, 825–835.

Bates, G.P., Dorsey, R., Gusella, J.F., Hayden, M.R., Kay, C., Leavitt, B.R., Nance, M., Ross, C.A., Scahill, R.I., Wetzel, R., Wild, E.J., & Tabrizi, S.J. (2015) Huntington disease. *Nature Reviews. Disease Primers*, 1, 15005.

Bayne, K. (2018) Environmental enrichment and mouse models: Current perspectives. *Animal Models and Experimental Medicine*, 1, 82–90.

Bayraktar, G. & Kreutz, M.R. (2018) Neuronal DNA Methyltransferases: Epigenetic Mediators between Synaptic Activity and Gene Expression? *Neuroscientist*, 24, 171–185.

Beal, M.F., Kowall, N.W., Ellison, D.W., Mazurek, M.F., Swartz, K.J., & Martin, J.B. (1986) Replication of the neurochemical characteristics of Huntington's disease by quinolinic acid. *Nature*, 321, 168–171.

Bell, A.C. & Felsenfeld, G. (2000) Methylation of a CTCF-dependent boundary controls imprinted expression of the Igf2 gene. *Nature*, 405, 482–485.

Beltran, M., Yates, C.M., Skalska, L., Dawson, M., Reis, F.P., Viiri, K., Fisher, C.L., Sibley, C.R., Foster, B.M., Bartke, T., Ule, J., & Jenner, R.G. (2016) The interaction of PRC2 with RNA or chromatin is mutually antagonistic. *Genome Research*, 26, 896–907.

- Benito, E., Kerimoglu, C., Ramachandran, B., Pena-Centeno, T., Jain, G., Stilling, R.M., Islam, M.R., Capece, V., Zhou, Q., Edbauer, D., Dean, C., & Fischer, A. (2018) RNA-Dependent Intergenerational Inheritance of Enhanced Synaptic Plasticity after Environmental Enrichment. *Cell Reports*, 23, 546–554.
- Benn, C.L., Luthi-Carter, R., Kuhn, A., Sadri-Vakili, G., Blankson, K.L., Dalai, S.C., Goldstein, D.R., Spires, T.L., Pritchard, J., Olson, J.M., van Dellen, A., Hannan, A.J., & Cha, J.-H.J. (2010) Environmental Enrichment Reduces Neuronal Intranuclear Inclusion Load But Has No Effect on Messenger RNA Expression in a Mouse Model of Huntington Disease. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 69, 817–827.
- Benraiss, A., Wang, S., Herrlinger, S., Li, X., Chandler-Militello, D., Mauceri, J., Burm, H.B., Toner, M., Osipovitch, M., Jim Xu, Q., Ding, F., Wang, F., Kang, N., Kang, J., Curtin, P.C., Brunner, D., Windrem, M.S., Munoz-Sanjuan, I., Nedergaard, M., & Goldman, S.A. (2016) Human glia can both induce and rescue aspects of disease phenotype in Huntington disease. *Nature Communications*, 7, 11758.
- Berger, S.L., Kouzarides, T., Shiekhattar, R., & Shilatifard, A. (2009) An operational definition of epigenetics. *Genes & Development*, 23, 781–783.
- Bernstein, B.E., Mikkelsen, T.S., Xie, X., Kamal, M., Huebert, D.J., Cuff, J., Fry, B., Meissner, A., Wernig, M., Plath, K., Jaenisch, R., Wagschal, A., Feil, R., Schreiber, S.L., & Lander, E.S. (2006) A Bivalent Chromatin Structure Marks Key Developmental Genes in Embryonic Stem Cells. *Cell*, 125, 315–326.
- Bhattacharya, S., Zhang, Q., & Andersen, M.E. (2011) A deterministic map of Waddington's epigenetic landscape for cell fate specification. *BMC Syst Biol*, 5, 85.
- Biagioli, M., Ferrari, F., Mendenhall, E.M., Zhang, Y., Erdin, S., Vijayvargia, R., Vallabh, S.M., Solomos, N., Manavalan, P., Ragavendran, A., Ozsolak, F., Lee, J.M., Talkowski, M.E., Gusella, J.F., Macdonald, M.E., Park, P.J., & Seong, I.S. (2015) Htt CAG repeat expansion confers pleiotropic gains of mutant huntingtin function in chromatin regulation. *Hum Mol Genet*, 24, 2442–2457.
- Biroliini, G., Valenza, M., Di Paolo, E., Vezzoli, E., Talpo, F., Maniezzi, C., Caccia, C., Leoni, V., Taroni, F., Bocchi, V.D., Conforti, P., Sogne, E., Petricca, L., Cariulo, C., Verani, M., Caricasole, A., Falqui, A., Biella, G., & Cattaneo, E. (2020) Striatal infusion of cholesterol promotes dose-dependent behavioral benefits and exerts disease-modifying effects in Huntington's disease mice. *EMBO Mol Med*, 12, e12519.
- Biroliini, G., Valenza, M., Ottonelli, I., Talpo, F., Minoli, L., Cappelleri, A., Bombaci, M., Caccia, C., Canevari, C., Trucco, A., Leoni, V., Passoni, A., Favagrossa, M., Nucera, M.R., Colombo, L., Paltrinieri, S., Bagnati, R., Duskey, J.T., Caraffi, R., Vandelli, M.A., Taroni, F., Salmona, M., Scanziani, E., Biella, G., Ruozzi, B., Tosi, G., & Cattaneo, E. (2023) Chronic cholesterol administration to the brain supports complete and long-lasting cognitive and motor amelioration in Huntington's disease. *Pharmacol Res*, 194, 106823.
- Björklund, A. & Parmar, M. (2020) Neuronal Replacement as a Tool for Basal Ganglia Circuitry Repair: 40 Years in Perspective. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14, 146.
- Black, J.C., Van Rechem, C., & Whetstine, J.R. (2012) Histone Lysine Methylation Dynamics: Establishment, Regulation, and Biological Impact. *Molecular Cell*, 48, 491–507.
- Bloemer, J., Pinky, P.D., Smith, W.D., Bhattacharya, D., Chauhan, A., Govindarajulu, M., Hong, H., Dhanasekaran, M., Judd, R., Amin, R.H., Reed, M.N., & Suppiramaniam, V. (2019) Adiponectin Knockout Mice Display Cognitive and Synaptic Deficits. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 10, 819.
- Blumenstock, S. & Dudanova, I. (2020) Cortical and Striatal Circuits in Huntington's Disease. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 82.
- Bobrowska, A., Paganetti, P., Matthias, P., & Bates, G.P. (2011) Hdac6 knock-out increases tubulin acetylation but does not modify disease progression in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *PLoS One*, 6, e20696.
- Bode, F.J., Stephan, M., Suhling, H., Pabst, R., Straub, R.H., Raber, K.A., Bonin, M., Nguyen, H.P., Riess, O., Bauer, A., Sjoberg, C., Petersén, A., & von Hörsten, S. (2008) Sex differences in a transgenic rat model of Huntington's disease: decreased 17beta-estradiol levels correlate with reduced numbers of DARPP32+ neurons in males. *Human Molecular Genetics*, 17, 2595–2609.
- Boussicault, L., Alves, S., Lamazière, A., Planques, A., Heck, N., Moumné, L., Despres, G., Bolte, S., Hu, A., Pagès, C., Galvan, L., Piguet, F., Aubourg, P., Cartier, N., Caboche, J., & Betuing, S. (2016) CYP46A1, the rate-limiting

enzyme for cholesterol degradation, is neuroprotective in Huntington's disease. *Brain: A Journal of Neurology*, 139, 953–970.

Boussicault, L., Hérard, A.-S., Calingasan, N., Petit, F., Malgorn, C., Merienne, N., Jan, C., Gaillard, M.-C., Lerchundi, R., Barros, L.F., Escartin, C., Delzescaux, T., Mariani, J., Hantraye, P., Beal, M.F., Brouillet, E., Véga, C., & Bonvento, G. (2014) Impaired brain energy metabolism in the BACHD mouse model of Huntington's disease: critical role of astrocyte-neuron interactions. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 34, 1500–1510.

Bozzi, M. & Sciandra, F. (2020) Molecular Mechanisms Underlying Muscle Wasting in Huntington's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 8314.

Braz, B.Y., Wennagel, D., Ratié, L., de Souza, D.A.R., Deloulme, J.C., Barbier, E.L., Buisson, A., Lanté, F., & Humbert, S. (2022) Treating early postnatal circuit defect delays Huntington's disease onset and pathology in mice. *Science (New York, N.Y.)*, 377, eabq5011.

Brouillet, E. (2014) The 3-NP Model of Striatal Neurodegeneration. *Current Protocols in Neuroscience*, 67, 9.48.1–9.48.14.

Brown, K., Chew, P.Y., Ingersoll, S., Espinosa, J.R., Aguirre, A., Espinoza, A., Wen, J., Astatike, K., Kutateladze, T.G., Collepardo-Guevara, R., & Ren, X. (2023) Principles of assembly and regulation of condensates of Polycomb repressive complex 1 through phase separation. *Cell Rep*, 42, 113136.

Bruzelius, E., Scarpa, J., Zhao, Y., Basu, S., Faghmous, J.H., & Baum, A. (2019) Huntington's disease in the United States: Variation by demographic and socioeconomic factors. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 34, 858–865.

Bryant, D.T., Landles, C., Papadopoulou, A.S., Benjamin, A.C., Duckworth, J.K., Rosahl, T., Benn, C.L., & Bates, G.P. (2017) Disruption to schizophrenia-associated gene Fez1 in the hippocampus of HDAC11 knockout mice. *Sci Rep*, 7, 11900.

Budworth, H., Harris, F.R., Williams, P., Lee, D.Y., Holt, A., Pahnke, J., Szczesny, B., Acevedo-Torres, K., Ayala-Peña, S., & McMurray, C.T. (2015) Suppression of Somatic Expansion Delays the Onset of Pathophysiology in a Mouse Model of Huntington's Disease. *PLOS Genetics*, 11, e1005267.

Burns, A.M. & Gräff, J. (2021) Cognitive epigenetic priming: leveraging histone acetylation for memory amelioration. *Current Opinion in Neurobiology*, 67, 75–84.

Burton, A.C., Nakamura, K., & Roesch, M.R. (2015) From ventral-medial to dorsal-lateral striatum: Neural correlates of reward-guided decision-making. *Neurobiology of learning and memory*, 0, 51–59.

Burtscher, J., Di Pardo, A., Maglione, V., Schwarzer, C., & Squitieri, F. (2020) Mitochondrial Respiration Changes in R6/2 Huntington's Disease Model Mice during Aging in a Brain Region Specific Manner. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 5412.

Busse, M.E., Hughes, G., Wiles, C.M., & Rosser, A.E. (2008) Use of hand-held dynamometry in the evaluation of lower limb muscle strength in people with Huntington's disease. *Journal of Neurology*, 255, 1534–1540.

C

Calderon-Villalon, J., Ramirez-Garcia, G., Fernandez-Ruiz, J., Sangri-Gil, F., Campos-Romo, A., & Galvez, V. (2021) Planning deficits in Huntington's disease: A brain structural correlation by voxel-based morphometry. *PLoS ONE*, 16, e0249144.

Caldwell, C.C., Petzinger, G.M., Jakowec, M.W., & Cadena, E. (2020) Treadmill exercise rescues mitochondrial function and motor behavior in the CAG140 knock-in mouse model of Huntington's disease. *Chemico-Biological Interactions*, 315, 108907.

Calzari, L., Barcella, M., Alari, V., Braga, D., Muñoz-Viana, R., Barlassina, C., Finelli, P., Gervasini, C., Barco, A., Russo, S., & Larizza, L. (2020) Transcriptome Analysis of iPSC-Derived Neurons from Rubinstein-Taybi Patients Reveals Deficits in Neuronal Differentiation. *Mol Neurobiol*, 57, 3685–3701.

Campbell, R.R. & Wood, M.A. (2019) How the epigenome integrates information and reshapes the synapse. *Nature Reviews. Neuroscience*, 20, 133–147.

- Carroll, J.B., Bates, G.P., Steffan, J., Saft, C., & Tabrizi, S.J. (2015) Treating the whole body in Huntington's disease. *The Lancet. Neurology*, 14, 1135–1142.
- Caruso, A., Nicoletti, F., Mango, D., Saidi, A., Orlando, R., & Scaccianoce, S. (2018) Stress as risk factor for Alzheimer's disease. *Pharmacological Research*, 132, 130–134.
- Cassel, R., Kelche, C., Lecourtier, L., & Cassel, J.-C. (2012) The match/mismatch of visuo-spatial cues between acquisition and retrieval contexts influences the expression of response vs. place memory in rats. *Behavioural Brain Research*, 230, 333–342.
- Cavalli, G. & Heard, E. (2019) Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease. *Nature*, 571, 489–499.
- Cenni, V., Capanni, C., Mattioli, E., Schena, E., Squarzoni, S., Bacalini, M.G., Garagnani, P., Salvioli, S., Franceschi, C., & Lattanzi, G. (2020) Lamin A involvement in ageing processes. *Ageing Res Rev*, 62, 101073.
- Chan, J.C. & Maze, I. (2020) Nothing Is Yet Set in (Hi)stone: Novel Post-Translational Modifications Regulating Chromatin Function. *Trends Biochem Sci*, 45, 829–844.
- Chang, C.-C., Tsou, S.-H., Chen, W.-J., Ho, Y.-J., Hung, H.-C., Liu, G.-Y., Singh, S.K., Li, H.-H., & Lin, C.-L. (2021) miR-302 Attenuates Mutant Huntingtin-Induced Cytotoxicity through Restoration of Autophagy and Insulin Sensitivity. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 8424.
- Chao, M.J., Gillis, T., Atwal, R.S., Mysore, J.S., Arjomand, J., Harold, D., Holmans, P., Jones, L., Orth, M., Myers, R.H., Kwak, S., Wheeler, V.C., MacDonald, M.E., Gusella, J.F., & Lee, J.-M. (2017) Haplotype-based stratification of Huntington's disease. *European journal of human genetics: EJHG*, 25, 1202–1209.
- Chaput, J.-P., McHill, A.W., Cox, R.C., Broussard, J.L., Dutil, C., da Costa, B.G.G., Sampasa-Kanyainga, H., & Wright, K.P. (2023) The role of insufficient sleep and circadian misalignment in obesity. *Nat Rev Endocrinol*, 19, 82–97.
- Chatterjee, S., Cassel, R., Schneider-Anthony, A., Merienne, K., Cosquer, B., Tzeplaeff, L., Halder Sinha, S., Kumar, M., Chaturbedy, P., Eswaramoorthy, M., Le Gras, S., Keime, C., Bousiges, O., Dutar, P., Petsophonsakul, P., Rampon, C., Cassel, J.-C., Buée, L., Blum, D., Kundu, T.K., & Boutillier, A.-L. (2018) Reinstating plasticity and memory in a tauopathy mouse model with an acetyltransferase activator. *EMBO molecular medicine*, 10, e8587.
- Chen, X., Sun, Y., Chen, L., Chen, X.-S., Pan, M., Zhang, Y., Wang, Q., Yang, W., Yin, P., He, D., Guo, X., Yang, S., Zeng, Y., Yan, S., Li, X.-J., & Li, S. (2022) Differential expression and roles of Huntingtin and Huntingtin-associated protein 1 in the mouse and primate brains. *Cellular and molecular life sciences: CMS*, 79, 554.
- Cheng, C., Spengler, R.M., Keiser, M.S., Monteys, A.M., Rieders, J.M., Ramachandran, S., & Davidson, B.L. (2018) The long non-coding RNA NEAT1 is elevated in polyglutamine repeat expansion diseases and protects from disease gene-dependent toxicities. *Human Molecular Genetics*, 27, 4303–4314.
- Chin-Chan, M., Navarro-Yepes, J., & Quintanilla-Vega, B. (2015) Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: Alzheimer and Parkinson diseases. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9, 124.
- Choudhary, C., Kumar, C., Gnad, F., Nielsen, M.L., Rehman, M., Walther, T.C., Olsen, J.V., & Mann, M. (2009) Lysine acetylation targets protein complexes and co-regulates major cellular functions. *Science*, 325, 834–840.
- Ciammola, A., Sassone, J., Sciacco, M., Mencacci, N.E., Ripolone, M., Bizzi, C., Colciago, C., Moggio, M., Parati, G., Silani, V., & Malfatto, G. (2011) Low anaerobic threshold and increased skeletal muscle lactate production in subjects with Huntington's disease. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 26, 130–137.
- Ciancarelli, I., Tozzi Ciancarelli, M.G., & Carolei, A. (2013) Effectiveness of intensive neurorehabilitation in patients with Huntington's disease. *European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine*, 49, 189–195.
- Cipriano, A., Moqri, M., Maybury-Lewis, S.Y., Rogers-Hammond, R., de Jong, T.A., Parker, A., Rasouli, S., Schöler, H.R., Sinclair, D.A., & Sebastian, V. (2024) Mechanisms, pathways and strategies for rejuvenation through epigenetic reprogramming. *Nat Aging*, 4, 14–26.
- Clark, M.L., Abimanyi-Ochom, J., Le, H., Long, B., Orr, C., & Khanh-Dao Le, L. (2023) A systematic review and meta-analysis of depression and apathy frequency in adult-onset Huntington's disease. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 149, 105166.

Coda, D.M. & Gräff, J. (2020) Neurogenetic and Neuroepigenetic Mechanisms in Cognitive Health and Disease. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 13, 205.

Coda, D.M. & Gräff, J. (2024) From cellular to fear memory: An epigenetic toolbox to remember. *Current Opinion in Neurobiology*, 84, 102829.

Cong, S.-Y., Pepers, B.A., Evert, B.O., Rubinsztein, D.C., Roos, R.A.C., van Ommen, G.-J.B., & Dorsman, J.C. (2005) Mutant huntingtin represses CBP, but not p300, by binding and protein degradation. *Mol Cell Neurosci*, 30, 12–23.

Crott, A., Benner, C., Kerman, B.E., Gosselin, D., Lagier-Tourenne, C., Zuccato, C., Cattaneo, E., Gage, F.H., Cleveland, D.W., & Glass, C.K. (2014) Mutant Huntingtin promotes autonomous microglia activation via myeloid lineage-determining factors. *Nature Neuroscience*, 17, 513–521.

Cuesta, M., Aungier, J., & Morton, A.J. (2014) Behavioral therapy reverses circadian deficits in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Neurobiology of Disease*, 63, 85–91.

D

Dale, M. & van Duijn, E. (2015) Anxiety in Huntington's Disease. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 27, 262–271.

Damiano, M., Galvan, L., Déglon, N., & Brouillet, E. (2010) Mitochondria in Huntington's disease. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1802, 52–61.

Dang, W., Steffen, K.K., Perry, R., Dorsey, J.A., Johnson, F.B., Shilatifard, A., Kaeberlein, M., Kennedy, B.K., & Berger, S.L. (2009) Histone H4 lysine 16 acetylation regulates cellular lifespan. *Nature*, 459, 802–807.

Dauwan, M., Begemann, M.J.H., Slot, M.I.E., Lee, E.H.M., Scheltens, P., & Sommer, I.E.C. (2021) Physical exercise improves quality of life, depressive symptoms, and cognition across chronic brain disorders: a transdiagnostic systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Neurology*, 268, 1222–1246.

Déglon, N. (2017) Chapter 9 - From huntingtin gene to Huntington's disease-altering strategies. In Baekelandt, V. & Lobbestael, E. (eds), *Disease-Modifying Targets in Neurodegenerative Disorders*. Academic Press, pp. 251–276.

DeNardo, L. & Luo, L. (2017) Genetic strategies to access activated neurons. *Curr Opin Neurobiol*, 45, 121–129.

Deng, Y., Bartosovic, M., Kukanja, P., Zhang, D., Liu, Y., Su, G., Enninful, A., Bai, Z., Castelo-Branco, G., & Fan, R. (2022) Spatial-CUT&Tag: Spatially resolved chromatin modification profiling at the cellular level. *Science (New York, N.Y.)*, 375, 681–686.

Dixon, J.R., Jung, I., Selvaraj, S., Shen, Y., Antosiewicz-Bourget, J.E., Lee, A.Y., Ye, Z., Kim, A., Rajagopal, N., Xie, W., Diao, Y., Liang, J., Zhao, H., Lobanenkov, V.V., Ecker, J.R., Thomson, J.A., & Ren, B. (2015) Chromatin architecture reorganization during stem cell differentiation. *Nature*, 518, 331–336.

Dobin, A., Davis, C.A., Schlesinger, F., Drenkow, J., Zaleski, C., Jha, S., Batut, P., Chaisson, M., & Gingeras, T.R. (2013) STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics*, 29, 15–21.

Dolotov, O.V., Inozemtseva, L.S., Myasoedov, N.F., & Grivennikov, I.A. (2022) Stress-Induced Depression and Alzheimer's Disease: Focus on Astrocytes. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 4999.

Donaldson, J., Powell, S., Rickards, N., Holmans, P., & Jones, L. (2021) What is the Pathogenic CAG Expansion Length in Huntington's Disease? *Journal of Huntington's Disease*, 10, 175–202.

Dong, X., Tsuji, J., Labadorf, A., Roussos, P., Chen, J.-F., Myers, R.H., Akbarian, S., & Weng, Z. (2015) The Role of H3K4me3 in Transcriptional Regulation Is Altered in Huntington's Disease. *PLoS One*, 10, e0144398.

Dragileva, E., Hendricks, A., Teed, A., Gillis, T., Lopez, E.T., Friedberg, E.C., Kucherlapati, R., Edelmann, W., Lunetta, K.L., MacDonald, M.E., & Wheeler, V.C. (2009) Intergenerational and striatal CAG repeat instability in Huntington's disease knock-in mice involve different DNA repair genes. *Neurobiology of Disease*, 33, 37–47.

Duan, R., Fu, Q., Sun, Y., & Li, Q. (2022) Epigenetic clock: A promising biomarker and practical tool in aging. *Ageing Research Reviews*, 81, 101743.

Dubois, C., Kong, G., Tran, H., Li, S., Pang, T.Y., Hannan, A.J., & Renoir, T. (2021) Small Non-coding RNAs Are Dysregulated in Huntington's Disease Transgenic Mice Independently of the Therapeutic Effects of an Environmental Intervention. *Molecular Neurobiology*, 58, 3308–3318.

Dumas, E.M., van den Bogaard, S.J.A., Middelkoop, H.A.M., & Roos, R.A.C. (2013) A review of cognition in Huntington's disease. *Frontiers in Bioscience (Scholar Edition)*, 5, 1–18.

Durieux, P.F., Schiffmann, S.N., & de Kerchove d'Exaerde, A. (2012) Differential regulation of motor control and response to dopaminergic drugs by D1R and D2R neurons in distinct dorsal striatum subregions. *The EMBO journal*, 31, 640–653.

Duyao, M.P., Auerbach, A.B., Ryan, A., Persichetti, F., Barnes, G.T., McNeil, S.M., Ge, P., Vonsattel, J.P., Gusella, J.F., & Joyner, A.L. (1995) Inactivation of the mouse Huntington's disease gene homolog Hdh. *Science (New York, N.Y.)*, 269, 407–410.

E

Einspieler, C. & Marschik, P.B. (2019) Regression in Rett syndrome: Developmental pathways to its onset. *Neurosci Biobehav Rev*, 98, 320–332.

El Kennani, S., Crespo, M., Govin, J., & Pflieger, D. (2018) Proteomic Analysis of Histone Variants and Their PTMs: Strategies and Pitfalls. *Proteomes*, 6, 29.

Endoh, M., Endo, T.A., Endoh, T., Fujimura, Y., Ohara, O., Toyoda, T., Otte, A.P., Okano, M., Brockdorff, N., Vidal, M., & Koseki, H. (2008) Polycomb group proteins Ring1A/B are functionally linked to the core transcriptional regulatory circuitry to maintain ES cell identity. *Development*, 135, 1513–1524.

Estevez-Fraga, C., Tabrizi, S.J., & Wild, E.J. (2024) Huntington's Disease Clinical Trials Corner: March 2024. *J Huntingtons Dis*, 13, 1–14.

Etchegaray, J.-P. & Mostoslavsky, R. (2016) Interplay between metabolism and epigenetics: a nuclear adaptation to environmental changes. *Mol Cell*, 62, 695–711.

Evers, M.M., Miniarikova, J., Juhas, S., Vallès, A., Bohuslavova, B., Juhasova, J., Skalnikova, H.K., Vodicka, P., Valekova, I., Brouwers, C., Blits, B., Lubelski, J., Kovarova, H., Ellederova, Z., van Deventer, S.J., Petry, H., Motlik, J., & Konstantinova, P. (2018) AAV5-miHTT Gene Therapy Demonstrates Broad Distribution and Strong Human Mutant Huntingtin Lowering in a Huntington's Disease Minipig Model. *Mol Ther*, 26, 2163–2177.

F

Faideau, M., Kim, J., Cormier, K., Gilmore, R., Welch, M., Auregan, G., Dufour, N., Guillermier, M., Brouillet, E., Hantraye, P., Déglon, N., Ferrante, R.J., & Bonvento, G. (2010) In vivo expression of polyglutamine-expanded huntingtin by mouse striatal astrocytes impairs glutamate transport: a correlation with Huntington's disease subjects. *Human Molecular Genetics*, 19, 3053–3067.

Fan, G., Martinowich, K., Chin, M.H., He, F., Fouse, S.D., Hutnick, L., Hattori, D., Ge, W., Shen, Y., Wu, H., ten Hoeve, J., Shuai, K., & Sun, Y.E. (2005) DNA methylation controls the timing of astrogliogenesis through regulation of JAK-STAT signaling. *Development (Cambridge, England)*, 132, 3345–3356.

Fan, M.M.Y. & Raymond, L.A. (2007) N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor function and excitotoxicity in Huntington's disease. *Progress in Neurobiology*, 81, 272–293.

Fares, Raafat.P., Fares, Raafat.P., Kouchi, H., & Bezin, L. (2012) Standardized environmental enrichment for rodents in Marlau cage. *Protocol Exchange*.

Felsenfeld, G. (1978) Chromatin. *Nature*, 271, 115–122.

Feng, J., Zhou, Y., Campbell, S.L., Le, T., Li, E., Sweatt, J.D., Silva, A.J., & G. (2010) Dnmt1 and Dnmt3a maintain DNA methylation and regulate synaptic function in adult forebrain neurons. *Nature Neuroscience*, 13, 423–430.

Fernandes, J., Arida, R.M., & Gomez-Pinilla, F. (2017) Physical exercise as an epigenetic modulator of brain plasticity and cognition. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 80, 443–456.

Fernandez-Albert, J., Lipinski, M., Lopez-Cascales, M.T., Rowley, M.J., Martin-Gonzalez, A.M., Del Blanco, B., Corces, V.G., & Barco, A. (2019) Immediate and deferred epigenomic signatures of in vivo neuronal activation in mouse hippocampus. *Nat Neurosci*, 22, 1718–1730.

Ferrante, M. & Conti, G.O. (2017) Environment and Neurodegenerative Diseases: An Update on miRNA Role. *MicroRNA (Shariqah, United Arab Emirates)*, 6, 157–165.

Ferrante, R.J., Kubilus, J.K., Lee, J., Ryu, H., Beesen, A., Zucker, B., Smith, K., Kowall, N.W., Ratan, R.R., Luthi-Carter, R., & Hersch, S.M. (2003) Histone Deacetylase Inhibition by Sodium Butyrate Chemotherapy Ameliorates the Neurodegenerative Phenotype in Huntington's Disease Mice. *J. Neurosci.*, 23, 9418–9427.

Ferrante, R.J., Ryu, H., Kubilus, J.K., D'Mello, S., Sugars, K.L., Lee, J., Lu, P., Smith, K., Browne, S., Beal, M.F., Kristal, B.S., Stavrovskaya, I.G., Hewett, S., Rubinsztein, D.C., Langley, B., & Ratan, R.R. (2004) Chemotherapy for the brain: the antitumor antibiotic mithramycin prolongs survival in a mouse model of Huntington's disease. *J Neurosci*, 24, 10335–10342.

Finegersh, A. & Homanics, G.E. (2016) Chromatin immunoprecipitation and gene expression analysis of neuronal subtypes after fluorescence activated cell sorting. *Journal of neuroscience methods*, 263, 81.

Fiorito, G., Caini, S., Palli, D., Bendinelli, B., Saieva, C., Ermini, I., Valentini, V., Assedi, M., Rizzolo, P., Ambrogetti, D., Ottini, L., & Masala, G. (2021) DNA methylation-based biomarkers of aging were slowed down in a two-year diet and physical activity intervention trial: the DAMA study. *Aging Cell*, 20, e13439.

Fischer, A., Sananbenesi, F., Wang, X., Dobbin, M., & Tsai, L.-H. (2007) Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodelling. *Nature*, 447, 178–182.

Fitieh, A., Locke, A.J., Mashayekhi, F., Khaliqdinia, F., Sharma, A.K., & Ismail, I.H. (2022) BMI-1 regulates DNA end resection and homologous recombination repair. *Cell Reports*, 38, 110536.

Fitzgerald, K.N., Hodges, R., Hanes, D., Stack, E., Cheishvili, D., Szyf, M., Henkel, J., Twedt, M.W., Giannopoulou, D., Herdell, J., Logan, S., & Bradley, R. (2021) Potential reversal of epigenetic age using a diet and lifestyle intervention: a pilot randomized clinical trial. *Aging*, 13, 9419–9432.

Flower, M., Lomeikaite, V., Ciosi, M., Cumming, S., Morales, F., Lo, K., Hensman Moss, D., Jones, L., Holmans, P., TRACK-HD Investigators, OPTIMISTIC Consortium, Monckton, D.G., & Tabrizi, S.J. (2019) MSH3 modifies somatic instability and disease severity in Huntington's and myotonic dystrophy type 1. *Brain: A Journal of Neurology*, 142, 1876–1886.

Forrest, C.M., Mackay, G.M., Stoy, N., Spiden, S.L., Taylor, R., Stone, T.W., & Darlington, L.G. (2010) Blood levels of kynurenines, interleukin-23 and soluble human leucocyte antigen-G at different stages of Huntington's disease. *Journal of Neurochemistry*, 112, 112–122.

Francelle, L., Lotz, C., Outeiro, T., Brouillet, E., & Merienne, K. (2017) Contribution of Neuroepigenetics to Huntington's Disease. *Frontiers in Human Neuroscience*, 11, 17.

Freund, A., Laberge, R.-M., Demaria, M., & Campisi, J. (2012) Lamin B1 loss is a senescence-associated biomarker. *Mol Biol Cell*, 23, 2066–2075.

Fuentes-Ramos, M., Alaiz-Noya, M., & Barco, A. (2021) Transcriptome and epigenome analysis of engram cells: Next-generation sequencing technologies in memory research. *Neurosci Biobehav Rev*, 127, 865–875.

Funato, H., Oda, S., Yokofujita, J., Igarashi, H., & Kuroda, M. (2011) Fasting and High-Fat Diet Alter Histone Deacetylase Expression in the Medial Hypothalamus. *PLoS ONE*, 6, e18950.

Futter, M., Diekmann, H., Schoenmakers, E., Sadiq, O., Chatterjee, K., & Rubinsztein, D.C. (2009) Wild-type but not mutant huntingtin modulates the transcriptional activity of liver X receptors. *J Med Genet*, 46, 438–446.

G

Ganguli, R., Chowdhury, K., Chakraborty, B., & Neogy, R.K. (1983) Interaction of nogalamycin with chromatin. *Chemico-Biological Interactions*, 46, 347–352.

Gao, Z., Zhang, J., Bonasio, R., Strino, F., Sawai, A., Parisi, F., Kluger, Y., & Reinberg, D. (2012) PCGF homologs, CBX proteins, and RYBP define functionally distinct PRC1 family complexes. *Mol Cell*, 45, 344–356.

- Garcia-Gorro, C., Garau-Rolandi, M., Escrichs, A., Rodriguez-Dechicha, N., Vaquer, I., Subira, S., Calopa, M., Martínez-Horta, S., Perez-Perez, J., Kulisevsky, J., Muñoz, E., Santacruz, P., Ruiz-Idiago, J., Mareca, C., de Diego-Balaguer, R., & Camara, E. (2019) An active cognitive lifestyle as a potential neuroprotective factor in Huntington's disease. *Neuropsychologia*, 122, 116–124.
- Gardian, G., Browne, S.E., Choi, D.-K., Klivenyi, P., Gregorio, J., Kubilus, J.K., Ryu, H., Langley, B., Ratan, R.R., Ferrante, R.J., & Beal, M.F. (2005) Neuroprotective Effects of Phenylbutyrate in the N171-82Q Transgenic Mouse Model of Huntington's Disease*. *Journal of Biological Chemistry*, 280, 556–563.
- Garriga-Canut, M., Agustín-Pavón, C., Herrmann, F., Sánchez, A., Dierssen, M., Fillat, C., & Isalan, M. (2012) Synthetic zinc finger repressors reduce mutant huntingtin expression in the brain of R6/2 mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109, E3136–3145.
- Gaskill, B.N., Karas, A.Z., Garner, J.P., & Pritchett-Corning, K.R. (2013) Nest Building as an Indicator of Health and Welfare in Laboratory Mice. *J Vis Exp*, 51012.
- Gass, P., Reichardt, H.M., Strekalova, T., Henn, F., & Tronche, F. (2001) Mice with targeted mutations of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors: Models for depression and anxiety? *Physiology & Behavior*, Molecular Behavior Genetics of the Mouse, 73, 811–825.
- Gauthier, L.R., Charrin, B.C., Borrell-Pagès, M., Dompierre, J.P., Rangone, H., Cordelières, F.P., De Mey, J., MacDonald, M.E., Lessmann, V., Humbert, S., & Saudou, F. (2004) Huntingtin controls neurotrophic support and survival of neurons by enhancing BDNF vesicular transport along microtubules. *Cell*, 118, 127–138.
- Genetic Modifiers of Huntington's Disease (GeM-HD) Consortium (2015) Identification of Genetic Factors that Modify Clinical Onset of Huntington's Disease. *Cell*, 162, 516–526.
- Genetic Modifiers of Huntington's Disease (GeM-HD) Consortium (2019) CAG Repeat Not Polyglutamine Length Determines Timing of Huntington's Disease Onset. *Cell*, 178, 887–900.e14.
- Ghafoori-Fard, S., Khoshbakht, T., Hussen, B.M., Taheri, M., Ebrahimzadeh, K., & Noroozi, R. (2022) The emerging role of long non-coding RNAs, microRNAs, and an accelerated epigenetic age in Huntington's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14.
- Giordano, N., Iemolo, A., Mancini, M., Cacace, F., De Risi, M., Latagliata, E.C., Ghiglieri, V., Bellenchi, G.C., Puglisi-Allegra, S., Calabresi, P., Picconi, B., & De Leonibus, E. (2018) Motor learning and metaplasticity in striatal neurons: relevance for Parkinson's disease. *Brain*, 141, 505–520.
- Gokce, O., Stanley, G.M., Treutlein, B., Neff, N.F., Camp, J.G., Malenka, R.C., Rothwell, P.E., Fuccillo, M.V., Südhof, T.C., & Quake, S.R. (2016) Cellular Taxonomy of the Mouse Striatum as Revealed by Single-Cell RNA-Seq. *Cell Reports*, 16, 1126–1137.
- Goldstein, M., Derheimer, F.A., Tait-Mulder, J., & Kastan, M.B. (2013) Nucleolin mediates nucleosome disruption critical for DNA double-strand break repair. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 110, 16874–16879.
- Gong, F., Clouaire, T., Aguirrebengoa, M., Legube, G., & Miller, K.M. (2017) Histone demethylase KDM5A regulates the ZMYND8-NuRD chromatin remodeler to promote DNA repair. *J Cell Biol*, 216, 1959–1974.
- Gonitel, R., Moffitt, H., Sathasivam, K., Woodman, B., Detloff, P.J., Faull, R.L.M., & Bates, G.P. (2008) DNA instability in postmitotic neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105, 3467–3472.
- Good, K.V., Vincent, J.B., & Ausiò, J. (2021) MeCP2: The Genetic Driver of Rett Syndrome Epigenetics. *Front. Genet.*, 12.
- Goula, A.-V., Berquist, B.R., Wilson, D.M., Wheeler, V.C., Trottier, Y., & Merienne, K. (2009) Stoichiometry of base excision repair proteins correlates with increased somatic CAG instability in striatum over cerebellum in Huntington's disease transgenic mice. *PLoS genetics*, 5, e1000749.
- Gräff, J. & Tsai, L.-H. (2013) Histone acetylation: molecular mnemonics on the chromatin. *Nat Rev Neurosci*, 14, 97–111.
- Graybiel, A.M., Aosaki, T., Flaherty, A.W., & Kimura, M. (1994) The basal ganglia and adaptive motor control. *Science (New York, N.Y.)*, 265, 1826–1831.

Gu, X., Richman, J., Langfelder, P., Wang, N., Zhang, S., Bañez-Coronel, M., Wang, H.-B., Yang, L., Ramanathan, L., Deng, L., Park, C.S., Choi, C.R., Cantle, J.P., Gao, F., Gray, M., Coppola, G., Bates, G.P., Ranum, L.P.W., Horvath, S., Colwell, C.S., & Yang, X.W. (2022) Uninterrupted CAG repeat drives striatum-selective transcriptionopathy and nuclear pathogenesis in human Huntington BAC mice. *Neuron*, 110, 1173-1192.e7.

Guan, J.-S., Haggarty, S.J., Giacometti, E., Dannenberg, J.-H., Joseph, N., Gao, J., Nieland, T.J.F., Zhou, Y., Wang, X., Mazitschek, R., Bradner, J.E., DePinho, R.A., Jaenisch, R., & Tsai, L.-H. (2009) HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity. *Nature*, 459, 55–60.

Guang, S., Bochner, A.F., Burkhardt, K.B., Burton, N., Pavlec, D.M., & Kennedy, S. (2010) Small regulatory RNAs inhibit RNA polymerase II during the elongation phase of transcription. *Nature*, 465, 1097–1101.

Gubert, C., Kong, G., Renoir, T., & Hannan, A.J. (2020) Exercise, diet and stress as modulators of gut microbiota: Implications for neurodegenerative diseases. *Neurobiology of Disease*, 134, 104621.

Gubert, C., Love, C.J., Kodikara, S., Mei Liew, J.J., Renoir, T., Lê Cao, K.-A., & Hannan, A.J. (2022) Gene-environment-gut interactions in Huntington’s disease mice are associated with environmental modulation of the gut microbiome. *iScience*, 25, 103687.

Guo, Y., Zhao, S., & Wang, G.G. (2021) Polycomb Gene Silencing Mechanisms: PRC2 Chromatin Targeting, H3K27me3 “Readout”, and Phase Separation-Based Compaction. *Trends Genet*, 37, 547–565.

Gusella, J.F., Wexler, N.S., Conneally, P.M., Naylor, S.L., Anderson, M.A., Tanzi, R.E., Watkins, P.C., Ottina, K., Wallace, M.R., & Sakaguchi, A.Y. (1983) A polymorphic DNA marker genetically linked to Huntington’s disease. *Nature*, 306, 234–238.

H

Halder, R., Hennion, M., Vidal, R.O., Shomroni, O., Rahman, R.-U., Rajput, A., Centeno, T.P., van Bebber, F., Capece, V., Garcia Vizcaino, J.C., Schuetz, A.-L., Burkhardt, S., Benito, E., Navarro Sala, M., Javan, S.B., Haass, C., Schmid, B., Fischer, A., & Bonn, S. (2016) DNA methylation changes in plasticity genes accompany the formation and maintenance of memory. *Nat Neurosci*, 19, 102–110.

Handley, R.R., Reid, S.J., Burch, Z., Jacobsen, J.C., Gillis, T., Correia, K., Rudiger, S.R., McLaughlin, C.J., Bawden, C.S., MacDonald, M.E., Wheeler, V.C., & Snell, R.G. (2024) Somatic CAG Repeat Stability in a Transgenic Sheep Model of Huntington’s Disease. *Journal of Huntington’s Disease*,.

Handsaker, B. (2024) Neuronal mHTT toxicity is asynchronous and results from very long somatic CAG repeats: evidence from diverse sources. CHDI conference. McCarroll Lab, URL <https://chdifoundation.org/2024-conference/>

Hansen, A.S., Cattoglio, C., Darzacq, X., & Tjian, R. (2018) Recent evidence that TADs and chromatin loops are dynamic structures. *Nucleus (Austin, Tex.)*, 9, 20–32.

Hansen, J.C. & Ausio, J. (1992) Chromatin dynamics and the modulation of genetic activity. *Trends in Biochemical Sciences*, 17, 187–191.

Hansen, J.C., Maeshima, K., & Hendzel, M.J. (2021) The solid and liquid states of chromatin. *Epigenetics & Chromatin*, 14, 50.

HD iPSC Consortium (2012) Induced pluripotent stem cells from patients with Huntington’s disease show CAG-repeat-expansion-associated phenotypes. *Cell Stem Cell*, 11, 264–278.

Heath, C.J., O’Callaghan, C., Mason, S.L., Phillips, B.U., Saksida, L.M., Robbins, T.W., Barker, R.A., Bussey, T.J., & Sahakian, B.J. (2019) A Touchscreen Motivation Assessment Evaluated in Huntington’s Disease Patients and R6/1 Model Mice. *Frontiers in Neurology*, 10, 858.

Heinz, S., Romanoski, C.E., Benner, C., & Glass, C.K. (2015) The selection and function of cell type-specific enhancers. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 16, 144–154.

Hentosh, S., Zhu, L., Patino, J., Furr, J.W., Rocha, N.P., & Furr Stimming, E. (2021) Sex Differences in Huntington’s Disease: Evaluating the Enroll-HD Database. *Movement Disorders Clinical Practice*, 8, 420–426.

- Herbst, E. a. F. & Holloway, G.P. (2015) Exercise training normalizes mitochondrial respiratory capacity within the striatum of the R6/1 model of Huntington's disease. *Neuroscience*, 303, 515–523.
- Herman, A.B., Tsitsipatis, D., & Gorospe, M. (2022) Integrated lncRNA function upon genomic and epigenomic regulation. *Molecular Cell*, 82, 2252–2266.
- Hnisz, D., Abraham, B.J., Lee, T.I., Lau, A., Saint-André, V., Sigova, A.A., Hoke, H.A., & Young, R.A. (2013) Super-enhancers in the control of cell identity and disease. *Cell*, 155, 934–947.
- Hockly, E., Richon, V.M., Woodman, B., Smith, D.L., Zhou, X., Rosa, E., Sathasivam, K., Ghazi-Noori, S., Mahal, A., Lowden, P.A.S., Steffan, J.S., Marsh, J.L., Thompson, L.M., Lewis, C.M., Marks, P.A., & Bates, G.P. (2003) Suberoylanilide hydroxamic acid, a histone deacetylase inhibitor, ameliorates motor deficits in a mouse model of Huntington's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, 2041–2046.
- Hodges, A., Hughes, G., Brooks, S., Elliston, L., Holmans, P., Dunnett, S.B., & Jones, L. (2008) Brain gene expression correlates with changes in behavior in the R6/1 mouse model of Huntington's disease. *Genes, Brain, and Behavior*, 7, 288–299.
- Hodges, A., Strand, A.D., Aragaki, A.K., Kuhn, A., Sengstag, T., Hughes, G., Elliston, L.A., Hartog, C., Goldstein, D.R., Thu, D., Hollingsworth, Z.R., Collin, F., Synek, B., Holmans, P.A., Young, A.B., Wexler, N.S., Delorenzi, M., Kooperberg, C., Augood, S.J., Faull, R.L.M., Olson, J.M., Jones, L., & Luthi-Carter, R. (2006) Regional and cellular gene expression changes in human Huntington's disease brain. *Human Molecular Genetics*, 15, 965–977.
- Hoffmann-La Roche (2024) A Phase II, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Dose-Finding Study to Evaluate the Safety, Biomarkers, and Efficacy of Tominersen in Individuals With Prodromal and Early Manifest Huntington's Disease (Clinical trial registration No. NCT05686551). clinicaltrials.gov.
- Holoch, D. & Moazed, D. (2015) RNA-mediated epigenetic regulation of gene expression. *Nature reviews. Genetics*, 16, 71–84.
- Hong, E.P., MacDonald, M.E., Wheeler, V.C., Jones, L., Holmans, P., Orth, M., Monckton, D.G., Long, J.D., Kwak, S., Gusella, J.F., & Lee, J.-M. (2021) Huntington's Disease Pathogenesis: Two Sequential Components. *J Huntingtons Dis*, 10, 35–51.
- Hong, E.P., Ramos, E.M., Aziz, N.A., Massey, T.H., McAllister, B., Lobanov, S., Jones, L., Holmans, P., Kwak, S., Orth, M., Ciosi, M., Lomeikaite, V., Monckton, D.G., Long, J.D., Luente, D., Wheeler, V.C., Gillis, T., MacDonald, M.E., Sequeiros, J., Gusella, J.F., & Lee, J.-M. (2024) Modification of Huntington's disease by short tandem repeats. *Brain Communications*, 6, fcae016.
- Honrath, P., Dogan, I., Wudarczyk, O., Görlich, K.S., Votinov, M., Werner, C.J., Schumann, B., Overbeck, R.T., Schulz, J.B., Landwehrmeyer, B.G., Gur, R.E., Habel, U., Reetz, K., & Enroll-HD investigators (2018) Risk factors of suicidal ideation in Huntington's disease: literature review and data from Enroll-HD. *Journal of Neurology*, 265, 2548–2561.
- Horvath, S. (2013) DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biology*, 14, R115.
- Horvath, S., Langfelder, P., Kwak, S., Aaronson, J., Rosinski, J., Vogt, T.F., Eszes, M., Faull, R.L.M., Curtis, M.A., Waldvogel, H.J., Choi, O.-W., Tung, S., Vinters, H.V., Coppola, G., & Yang, X.W. (2016) Huntington's disease accelerates epigenetic aging of human brain and disrupts DNA methylation levels. *Aging*, 8, 1485–1512.
- Horvath, S. & Raj, K. (2018) DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. *Nature Reviews Genetics*, 19, 371–384.
- Huang, B., Wei, W., Wang, G., Gaertig, M.A., Feng, Y., Wang, W., Li, X.-J., & Li, S. (2015) Mutant huntingtin downregulates myelin regulatory factor-mediated myelin gene expression and affects mature oligodendrocytes. *Neuron*, 85, 1212–1226.
- Huntington, G. (2003) On chorea. George Huntington, M.D. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 15, 109–112.
- Hutson, T.H., Kathe, C., Palmisano, I., Bartholdi, K., Hervera, A., De Virgiliis, F., McLachlan, E., Zhou, L., Kong, G., Barraud, Q., Danzi, M.C., Medrano-Fernandez, A., Lopez-Atalaya, J.P., Boutillier, A.L., Sinha, S.H., Singh, A.K., Chaturbedy, P., Moon, L.D.F., Kundu, T.K., Bixby, J.L., Lemmon, V.P., Barco, A., Courtine, G., & Di Giovanni, S. (2019) Cbp-dependent histone acetylation mediates axon regeneration induced by environmental enrichment in rodent spinal cord injury models. *Science Translational Medicine*, 11, eaaw2064.

Hüttenrauch, M., Salinas, G., & Wirths, O. (2016) Effects of Long-Term Environmental Enrichment on Anxiety, Memory, Hippocampal Plasticity and Overall Brain Gene Expression in C57BL6 Mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 9, 62.

Hyeon, J.W., Kim, A.H., & Yano, H. (2021) Epigenetic regulation in Huntington's disease. *Neurochemistry International*, 148, 105074.

I

Imai, S., Armstrong, C.M., Kaeberlein, M., & Guarente, L. (2000) Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature*, 403, 795–800.

Islam, M.T. (2017) Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders. *Neurological Research*, 39, 73–82.

Ismail, I.H., Andrin, C., McDonald, D., & Hendzel, M.J. (2010) BMI1-mediated histone ubiquitylation promotes DNA double-strand break repair. *J Cell Biol*, 191, 45–60.

Ismail, I.H., Gagné, J.-P., Caron, M.-C., McDonald, D., Xu, Z., Masson, J.-Y., Poirier, G.G., & Hendzel, M.J. (2012) CBX4-mediated SUMO modification regulates BMI1 recruitment at sites of DNA damage. *Nucleic Acids Res*, 40, 5497–5510.

Isoda, T., Moore, A.J., He, Z., Chandra, V., Aida, M., Denholtz, M., Piet van Hamburg, J., Fisch, K.M., Chang, A.N., Fahl, S.P., Wiest, D.L., & Murre, C. (2017) Non-coding Transcription Instructs Chromatin Folding and Compartmentalization to Dictate Enhancer-Promoter Communication and T Cell Fate. *Cell*, 171, 103-119.e18.

Iwabu, M., Okada-Iwabu, M., Tanabe, H., Ohuchi, N., Miyata, K., Kobori, T., Odawara, S., Kadokawa, Y., Yokoyama, S., Yamauchi, T., & Kadokawa, T. (2021) AdipoR agonist increases insulin sensitivity and exercise endurance in AdipoR-humanized mice. *Commun Biol*, 4, 1–11.

Iyer, R.R. & Pluciennik, A. (2021) DNA Mismatch Repair and its Role in Huntington's Disease. *Journal of Huntington's Disease*, 10, 75–94.

J

Jansen, A.H.P., van Hal, M., Op den Kelder, I.C., Meier, R.T., de Ruiter, A.-A., Schut, M.H., Smith, D.L., Grit, C., Brouwer, N., Kamphuis, W., Boddeke, H.W.G.M., den Dunnen, W.F.A., van Roon, W.M.C., Bates, G.P., Hol, E.M., & Reits, E.A. (2017) Frequency of nuclear mutant huntingtin inclusion formation in neurons and glia is cell-type-specific. *Glia*, 65, 50–61.

Jenuwein, T. & Allis, C.D. (2001) Translating the histone code. *Science*, 293, 1074–1080.

Ji, E.-S., Kim, Y.-M., Shin, M.-S., Kim, C.-J., Lee, K.-S., Kim, K., Ha, J., & Chung, Y.-R. (2015) Treadmill exercise enhances spatial learning ability through suppressing hippocampal apoptosis in Huntington's disease rats. *J Exerc Rehabil*, 11, 133–139.

Jia, H., Morris, C.D., Williams, R.M., Loring, J.F., & Thomas, E.A. (2015) HDAC inhibition imparts beneficial transgenerational effects in Huntington's disease mice via altered DNA and histone methylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112, E56-64.

Jia, H., Pallos, J., Jacques, V., Lau, A., Tang, B., Cooper, A., Syed, A., Purcell, J., Chen, Y., Sharma, S., Sangrey, G.R., Darnell, S.B., Plasterer, H., Sadri-Vakili, G., Gottesfeld, J.M., Thompson, L.M., Rusche, J.R., Marsh, J.L., & Thomas, E.A. (2012) Histone deacetylase (HDAC) inhibitors targeting HDAC3 and HDAC1 ameliorate polyglutamine-elicted phenotypes in model systems of Huntington's disease. *Neurobiology of Disease*, 46, 351–361.

Jiang, H., Mankodi, A., Swanson, M.S., Moxley, R.T., & Thornton, C.A. (2004) Myotonic dystrophy type 1 is associated with nuclear foci of mutant RNA, sequestration of muscleblind proteins and deregulated alternative splicing in neurons. *Hum Mol Genet*, 13, 3079–3088.

Jiang, H., Poirier, M.A., Liang, Y., Pei, Z., Weiskittel, C.E., Smith, W.W., DeFranco, D.B., & Ross, C.A. (2006) Depletion of CBP is directly linked with cellular toxicity caused by mutant huntingtin. *Neurobiology of Disease*, 23, 543–551.

Jo, C., Park, S., Oh, S., Choi, J., Kim, E.-K., Youn, H.-D., & Cho, E.-J. (2020) Histone acylation marks respond to metabolic perturbations and enable cellular adaptation. *Experimental & Molecular Medicine*, 52, 2005–2019.

Josselyn, S.A., Köhler, S., & Frankland, P.W. (2017) Heroes of the Engram. *J Neurosci*, 37, 4647–4657.

K

Kacher, R., Lamazière, A., Heck, N., Kappes, V., Mounier, C., Despres, G., Dembitskaya, Y., Perrin, E., Christaller, W., Sasidharan Nair, S., Messent, V., Cartier, N., Vanhoutte, P., Venance, L., Saudou, F., Néri, C., Caboche, J., & Betuing, S. (2019) CYP46A1 gene therapy deciphers the role of brain cholesterol metabolism in Huntington's disease. *Brain*, 142, 2432–2450.

Kacher, R., Mounier, C., Caboche, J., & Betuing, S. (2022) Altered Cholesterol Homeostasis in Huntington's Disease. *Front. Aging Neurosci.*, 14.

Kane, A.E. & Sinclair, D.A. (2019) Epigenetic changes during aging and their reprogramming potential. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 54, 61–83.

Kaya-Okur, H.S., Janssens, D.H., Henikoff, J.G., Ahmad, K., & Henikoff, S. (2020) Efficient low-cost chromatin profiling with CUT&Tag. *Nature Protocols*, 15, 3264–3283.

Kaya-Okur, H.S., Wu, S.J., Codomo, C.A., Pledger, E.S., Bryson, T.D., Henikoff, J.G., Ahmad, K., & Henikoff, S. (2019) CUT&Tag for efficient epigenomic profiling of small samples and single cells. *Nature Communications*, 10, 1930.

Kaye, J., Reisine, T., & Finkbeiner, S. (2022) Huntington's disease iPSC models-using human patient cells to understand the pathology caused by expanded CAG repeats. *Faculty Reviews*, 11, 16.

Kempnich, C.L., Wong, D., Georgiou-Karistianis, N., & Stout, J.C. (2017) Feasibility and Efficacy of Brief Computerized Training to Improve Emotion Recognition in Premanifest and Early-Symptomatic Huntington's Disease. *Journal of the International Neuropsychological Society: JINS*, 23, 314–321.

Kennedy, B.K., Austriaco, N.R., Zhang, J., & Guarente, L. (1995) Mutation in the silencing gene SIR4 can delay aging in *S. cerevisiae*. *Cell*, 80, 485–496.

Kennedy, L., Evans, E., Chen, C.-M., Craven, L., Detloff, P.J., Ennis, M., & Shelbourne, P.F. (2003) Dramatic tissue-specific mutation length increases are an early molecular event in Huntington disease pathogenesis. *Hum Mol Genet*, 12, 3359–3367.

Khakh, B.S. & Goldman, S.A. (2023) Astrocytic contributions to Huntington's disease pathophysiology. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1522, 42–59.

Khandelwal, M., Manglani, K., Upadhyay, P., Azad, M., & Gupta, S. (2022) AdipoRon induces AMPK activation and ameliorates Alzheimer's like pathologies and associated cognitive impairment in APP/PS1 mice. *Neurobiology of Disease*, 174, 105876.

Kim, J.J. & Kingston, R.E. (2022) Context-specific Polycomb mechanisms in development. *Nat Rev Genet*, 23, 680–695.

Klemm, S.L., Shipony, Z., & Greenleaf, W.J. (2019) Chromatin accessibility and the regulatory epigenome. *Nat Rev Genet*, 20, 207–220.

Köhler, M., Steinmann, E., Maximilian Mehdorn, H., Pedersen, A., & Goebel, S. (2020) The importance of social relationships for brain tumor patients' quality of life: A case for the inclusion of the concept of disclosure in psycho-oncological care. *Journal of Psychosocial Oncology*, 38, 310–327.

Kori, Y., Sidoli, S., Yuan, Z.-F., Lund, P.J., Zhao, X., & Garcia, B.A. (2017) Proteome-wide acetylation dynamics in human cells. *Sci Rep*, 7, 10296.

Kovalenko, M., Erdin, S., Andrew, M.A., St Claire, J., Shaughnessey, M., Hubert, L., Neto, J.L., Stortchevoi, A., Fass, D.M., Mouro Pinto, R., Haggarty, S.J., Wilson, J.H., Talkowski, M.E., & Wheeler, V.C. (2020) Histone deacetylase knockouts modify transcription, CAG instability and nuclear pathology in Huntington disease mice. *eLife*, 9, e55911.

Kovtun, I.V., Liu, Y., Bjoras, M., Klungland, A., Wilson, S.H., & McMurray, C.T. (2007) OGG1 initiates age-dependent CAG trinucleotide expansion in somatic cells. *Nature*, 447, 447–452.

Koyuncu, S., Loureiro, R., Lee, H.J., Wagle, P., Krueger, M., & Vilchez, D. (2021) Rewiring of the ubiquitinated proteome determines ageing in *C. elegans*. *Nature*, 596, 285–290.

Kozak, M.L., Chavez, A., Dang, W., Berger, S.L., Ashok, A., Guo, X., & Johnson, F.B. (2010) Inactivation of the Sas2 histone acetyltransferase delays senescence driven by telomere dysfunction. *The EMBO journal*, 29, 158–170.

Kozlenkov, A., Li, J., Apontes, P., Hurd, Y.L., Byne, W.M., Koonin, E.V., Wegner, M., Mukamel, E.A., & Dracheva, S. (2018) A unique role for DNA (hydroxy)methylation in epigenetic regulation of human inhibitory neurons. *Science Advances*, 4, eaau6190.

Kraft, K., Yost, K.E., Murphy, S.E., Magg, A., Long, Y., Corces, M.R., Granja, J.M., Wittler, L., Mundlos, S., Cech, T.R., Boettiger, A.N., & Chang, H.Y. (2022) Polycomb-mediated genome architecture enables long-range spreading of H3K27 methylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119, e2201883119.

Kravitz, A.V., Freeze, B.S., Parker, P.R.L., Kay, K., Thwin, M.T., Deisseroth, K., & Kreitzer, A.C. (2010) Regulation of parkinsonian motor behaviours by optogenetic control of basal ganglia circuitry. *Nature*, 466, 622–626.

Kreitzer, A.C. & Malenka, R.C. (2008) Striatal plasticity and basal ganglia circuit function. *Neuron*, 60, 543–554.

Kuang, S. & Wang, L. (2020) Identification and analysis of consensus RNA motifs binding to the genome regulator CTCF. *NAR genomics and bioinformatics*, 2, lqaa031.

L

Labadorf, A., Hoss, A.G., Lagomarsino, V., Latourelle, J.C., Hadzi, T.C., Bregu, J., MacDonald, M.E., Gusella, J.F., Chen, J.-F., Akbarian, S., Weng, Z., & Myers, R.H. (2015) RNA Sequence Analysis of Human Huntington Disease Brain Reveals an Extensive Increase in Inflammatory and Developmental Gene Expression. *PloS One*, 10, e0143563.

Lacal, I. & Ventura, R. (2018) Epigenetic Inheritance: Concepts, Mechanisms and Perspectives. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11, 292.

Lahr, J., Minkova, L., Tabrizi, S.J., Stout, J.C., Klöppel, S., Scheller, E., & TrackOn-HD Investigators (2018) Working Memory-Related Effective Connectivity in Huntington's Disease Patients. *Frontiers in Neurology*, 9, 370.

Laird, P.W. (2010) Principles and challenges of genome-wide DNA methylation analysis. *Nat Rev Genet*, 11, 191–203.

Landwehrmeyer, G.B., Standaert, D.G., Testa, C.M., Penney, J.B., & Young, A.B. (1995) NMDA receptor subunit mRNA expression by projection neurons and interneurons in rat striatum. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 15, 5297–5307.

Langfelder, P., Cantle, J.P., Chatzopoulou, D., Wang, N., Gao, F., Al-Ramahi, I., Lu, X.-H., Ramos, E.M., El-Zein, K., Zhao, Y., Deverasetty, S., Tebbe, A., Schaab, C., Lavery, D.J., Howland, D., Kwak, S., Botas, J., Aaronson, J.S., Rosinski, J., Coppola, G., Horvath, S., & Yang, X.W. (2016) Integrated genomics and proteomics define huntingtin CAG length-dependent networks in mice. *Nature Neuroscience*, 19, 623–633.

Langfelder, P., Gao, F., Wang, N., Howland, D., Kwak, S., Vogt, T.F., Aaronson, J.S., Rosinski, J., Coppola, G., Horvath, S., & Yang, X.W. (2018) MicroRNA signatures of endogenous Huntingtin CAG repeat expansion in mice. *PloS One*, 13, e0190550.

Laugesen, A., Højfeldt, J.W., & Helin, K. (2019) Molecular Mechanisms Directing PRC2 Recruitment and H3K27 Methylation. *Molecular Cell*, 74, 8–18.

Le Gras, S., Keime, C., Anthony, A., Lotz, C., De Longprez, L., Brouillet, E., Cassel, J.-C., Boutillier, A.-L., & Merienne, K. (2017) Altered enhancer transcription underlies Huntington's disease striatal transcriptional signature. *Sci Rep*, 7, 42875.

Lee, C.K., Klopp, R.G., Weindruch, R., & Prolla, T.A. (1999) Gene expression profile of aging and its retardation by caloric restriction. *Science (New York, N.Y.)*, 285, 1390–1393.

Lee, H., Fenster, R.J., Pineda, S.S., Gibbs, W.S., Mohammadi, S., Davila-Velderrain, J., Garcia, F.J., Therrien, M., Novis, H.S., Gao, F., Wilkinson, H., Vogt, T., Kellis, M., LaVoie, M.J., & Heiman, M. (2020) Cell Type-Specific

Transcriptomics Reveals that Mutant Huntingtin Leads to Mitochondrial RNA Release and Neuronal Innate Immune Activation. *Neuron*, 107, 891–908.e8.

Lee, J., Hwang, Y.J., Kim, Y., Lee, M.Y., Hyeon, S.J., Lee, S., Kim, D.H., Jang, S.J., Im, H., Min, S.-J., Choo, H., Pae, A.N., Kim, D.J., Cho, K.S., Kowall, N.W., & Ryu, H. (2017) Remodeling of heterochromatin structure slows neuropathological progression and prolongs survival in an animal model of Huntington's disease. *Acta Neuropathologica*, 134, 729–748.

Lee, J.-M., Huang, Y., Orth, M., Gillis, T., Siciliano, J., Hong, E., Mysore, J.S., Lucente, D., Wheeler, V.C., Seong, I.S., McLean, Z.L., Mills, J.A., McAllister, B., Lobanov, S.V., Massey, T.H., Ciosi, M., Landwehrmeyer, G.B., Paulsen, J.S., Dorsey, E.R., Shoulson, I., Sampaio, C., Monckton, D.G., Kwak, S., Holmans, P., Jones, L., MacDonald, M.E., Long, J.D., & Gusella, J.F. (2022) Genetic modifiers of Huntington disease differentially influence motor and cognitive domains. *American Journal of Human Genetics*, 109, 885–899.

Leeb, M., Pasini, D., Novatchkova, M., Jaritz, M., Helin, K., & Wutz, A. (2010) Polycomb complexes act redundantly to repress genomic repeats and genes. *Genes Dev.*, 24, 265–276.

Leeb, M. & Wutz, A. (2007) Ring1B is crucial for the regulation of developmental control genes and PRC1 proteins but not X inactivation in embryonic cells. *Journal of Cell Biology*, 178, 219–229.

Lenoir, S., Lahaye, R.A., Vitet, H., Scaramuzzino, C., Virlogeux, A., Capellano, L., Genoux, A., Gershoni-Emek, N., Geva, M., Hayden, M.R., & Saudou, F. (2022) Pridopidine rescues BDNF/TrkB trafficking dynamics and synapse homeostasis in a Huntington disease brain-on-a-chip model. *Neurobiology of Disease*, 173, 105857.

Levenson, J.M., O'Riordan, K.J., Brown, K.D., Trinh, M.A., Molfese, D.L., & Sweatt, J.D. (2004) Regulation of histone acetylation during memory formation in the hippocampus. *J Biol Chem*, 279, 40545–40559.

Li, H., Li, S.-H., Cheng, A.L., Mangiarini, L., Bates, G.P., & Li, X.-J. (1999) Ultrastructural Localization and Progressive Formation of Neuropil Aggregates in Huntington's Disease Transgenic Mice. *Human Molecular Genetics*, 8, 1227–1236.

Li, H., Zhong, X., Chau, K.F., Williams, E.C., & Chang, Q. (2011) Loss of activity-induced phosphorylation of MeCP2 enhances synaptogenesis, LTP and spatial memory. *Nature Neuroscience*, 14, 1001–1008.

Li, L., Liu, H., Dong, P., Li, D., Legant, W.R., Grimm, J.B., Lavis, L.D., Betzig, E., Tjian, R., & Liu, Z. (2016) Real-time imaging of Huntingtin aggregates diverting target search and gene transcription. *eLife*, 5, e17056.

Li, Y. (2021) Modern Epigenetics Methods in Biological Research. *Methods*, 187, 104–113.

Li, Z., Huang, C., Bao, C., Chen, L., Lin, M., Wang, X., Zhong, G., Yu, B., Hu, W., Dai, L., Zhu, P., Chang, Z., Wu, Q., Zhao, Y., Jia, Y., Xu, P., Liu, H., & Shan, G. (2015) Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus. *Nature Structural & Molecular Biology*, 22, 256–264.

Liang, D., Tatomer, D.C., Luo, Z., Wu, H., Yang, L., Chen, L.-L., Cherry, S., & Wilusz, J.E. (2017) The Output of Protein-Coding Genes Shifts to Circular RNAs When the Pre-mRNA Processing Machinery Is Limiting. *Molecular Cell*, 68, 940–954.e3.

Li, L., Chen, K., Wang, T., Wu, Y., Xing, G., Chen, M., Hao, Z., Zhang, C., Zhang, J., Ma, B., Liu, Z., Yuan, H., Liu, Z., Long, Q., Zhou, Y., Qi, J., Zhao, D., Gao, M., Pei, D., Nie, J., Ye, D., Pan, G., & Liu, X. (2020) Glis1 facilitates induction of pluripotency via an epigenome-metabolome-epigenome signalling cascade. *Nat Metab*, 2, 882–892.

Lin, N., Chang, K.-Y., Li, Z., Gates, K., Rana, Z.A., Dang, J., Zhang, D., Han, T., Yang, C.-S., Cunningham, T.J., Head, S.R., Duester, G., Dong, P.D.S., & Rana, T.M. (2014) An evolutionarily conserved long noncoding RNA TUNA controls pluripotency and neural lineage commitment. *Mol Cell*, 53, 1005–1019.

Lipinski, M., del Blanco, B., & Barco, A. (2019) CBP/p300 in brain development and plasticity: disentangling the KAT's cradle. *Current Opinion in Neurobiology*, Neural Epigenetics, 59, 1–8.

Lipinski, M., Niñerola, S., Fuentes-Ramos, M., Valor, L.M., Del Blanco, B., López-Atalaya, J.P., & Barco, A. (2022) CBP Is Required for Establishing Adaptive Gene Programs in the Adult Mouse Brain. *The Journal of Neuroscience*, 42, 7984–8001.

Lister, R., Mukamel, E.A., Nery, J.R., Urich, M., Puddifoot, C.A., Johnson, N.D., Lucero, J., Huang, Y., Dwork, A.J., Schultz, M.D., Yu, M., Tonti-Filippini, J., Heyn, H., Hu, S., Wu, J.C., Rao, A., Esteller, M., He, C., Haghghi, F.G., Sejnowski, T.J., Behrens, M.M., & Ecker, J.R. (2013) Global epigenomic reconfiguration during mammalian brain development. *Science*, 341, 1237905.

- Liu, C., Yang, Y., Chen, C., Li, L., Li, J., Wang, X., Chu, Q., Qiu, L., Ba, Q., Li, X., & Wang, H. (2021) Environmental eustress modulates β -ARs/CCL2 axis to induce anti-tumor immunity and sensitize immunotherapy against liver cancer in mice. *Nature Communications*, 12, 5725.
- Liu, H., Zhao, G., Cai, K., Zhao, H., & Shi, L. (2011) Treadmill exercise prevents decline in spatial learning and memory in APP/PS1 transgenic mice through improvement of hippocampal long-term potentiation. *Behavioural Brain Research*, 218, 308–314.
- Liu, J., Huang, B., Ding, F., & Li, Y. (2023) Environment factors, DNA methylation, and cancer. *Environmental Geochemistry and Health*, 45, 7543–7568.
- Liu, L., Tong, H., Sun, Y., Chen, X., Yang, T., Zhou, G., Li, X.-J., & Li, S. (2023) Huntington Interacting Proteins and Pathological Implications. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 13060.
- Liu, Q., Cheng, S., Yang, H., Zhu, L., Pan, Y., Jing, L., Tang, B., Li, S., & Li, X.-J. (2020) Loss of Hap1 selectively promotes striatal degeneration in Huntington disease mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117, 20265–20273.
- Liu, T., Im, W., Mook-Jung, I., & Kim, M. (2015) MicroRNA-124 slows down the progression of Huntington's disease by promoting neurogenesis in the striatum. *Neural Regeneration Research*, 10, 786–791.
- Liu, X., Ramirez, S., Pang, P.T., Puryear, C.B., Govindarajan, A., Deisseroth, K., & Tonegawa, S. (2012) Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature*, 484, 381–385.
- Lloyd, D., House, J.S., Akhtari, F.S., Schmitt, C.P., Fargo, D.C., Scholl, E.H., Phillips, J., Choksi, S., Shah, R., Hall, J.E., & Motsinger-Reif, A.A. (2024) Interactive data sharing for multiple questionnaire-based exposome-wide association studies and exposome correlations in the Personalized Environment and Genes Study. *Exposome*, 4, osae003.
- Lopez-Atalaya, J.P., Ciccarelli, A., Viosca, J., Valor, L.M., Jimenez-Minchan, M., Canals, S., Giustetto, M., & Barco, A. (2011) CBP is required for environmental enrichment-induced neurogenesis and cognitive enhancement. *The EMBO journal*, 30, 4287–4298.
- López-Sendón Moreno, J.L., García Caldentey, J., Trigo Cubillo, P., Ruiz Romero, C., García Ribas, G., Alonso Arias, M.A.A., García de Yébenes, M.J., Tolón, R.M., Galve-Roperh, I., Sagredo, O., Valdeolivas, S., Resel, E., Ortega-Gutierrez, S., García-Bermejo, M.L., Fernández Ruiz, J., Guzmán, M., & García de Yébenes Prous, J. (2016) A double-blind, randomized, cross-over, placebo-controlled, pilot trial with Sativex in Huntington's disease. *Journal of Neurology*, 263, 1390–1400.
- Lores-Arnaiz, S., Bustamante, J., Czernizyniec, A., Galeano, P., González Gervasoni, M., Rodil Martínez, A., Paglia, N., Cores, V., & Lores-Arnaiz, M.R. (2007) Exposure to enriched environments increases brain nitric oxide synthase and improves cognitive performance in prepubertal but not in young rats. *Behavioural Brain Research*, 184, 117–123.
- Lotz-Tavernier, C. (2019) Rôle des altérations transcriptionnelles et épigénétiques dans les déficits comportementaux de la maladie de Huntington (Thèse de doctorat).
- Loubiere, V., Martinez, A.-M., & Cavalli, G. (2019) Cell Fate and Developmental Regulation Dynamics by Polycomb Proteins and 3D Genome Architecture. *BioEssays*, 41, 1800222.
- Love, M.I., Huber, W., & Anders, S. (2014) Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*, 15, 550.
- Lu, A.T., Fei, Z., Haghani, A., Robeck, T.R., Zoller, J.A., Li, C.Z., Lowe, R., Yan, Q., Zhang, J., Vu, H., Ablaeva, J., Acosta-Rodriguez, V.A., Adams, D.M., Almunia, J., Aloysius, A., Ardehali, R., Arneson, A., Baker, C.S., Banks, G., Belov, K., Bennett, N.C., Black, P., Blumstein, D.T., Bors, E.K., Breeze, C.E., Brooke, R.T., Brown, J.L., Carter, G.G., Caulton, A., Cavin, J.M., Chakrabarti, L., Chatzistamou, I., Chen, H., Cheng, K., Chiavellini, P., Choi, O.W., Clarke, S.M., Cooper, L.N., Cossette, M.L., Day, J., DeYoung, J., DiRocco, S., Dold, C., Ehmke, E.E., Emmons, C.K., Emmrich, S., Erbay, E., Erlacher-Reid, C., Faulkes, C.G., Ferguson, S.H., Finno, C.J., Flower, J.E., Gaillard, J.M., Garde, E., Gerber, L., Gladyshev, V.N., Gorbunova, V., Goya, R.G., Grant, M.J., Green, C.B., Hales, E.N., Hanson, M.B., Hart, D.W., Haulena, M., Herrick, K., Hogan, A.N., Hogg, C.J., Hore, T.A., Huang, T., Izpisua Belmonte, J.C., Jasinska, A.J., Jones, G., Jourdain, E., Kashpur, O., Katcher, H., Katsumata, E., Kaza, V., Kiaris, H., Kobor, M.S., Kordowitzki, P., Koski, W.R., Krützen, M., Kwon, S.B., Larison, B., Lee, S.G., Lehmann, M., Lemaitre, J.F., Levine, A.J., Li, C., Li, X., Lim, A.R., Lin, D.T.S., Lindemann, D.M., Little, T.J., Macoretta, N., Maddox, D., Matkin, C.O., Mattison, J.A.,

McClure, M., Mergl, J., Meudt, J.J., Montano, G.A., Mozhui, K., Munshi-South, J., Naderi, A., Nagy, M., Narayan, P., Nathanielsz, P.W., Nguyen, N.B., Niehrs, C., O'Brien, J.K., O'Tierney Ginn, P., Odom, D.T., Ophir, A.G., Osborn, S., Ostrander, E.A., Parsons, K.M., Paul, K.C., Pellegrini, M., Peters, K.J., Pedersen, A.B., Petersen, J.L., Pietersen, D.W., Pinho, G.M., Plassais, J., Poganik, J.R., Prado, N.A., Reddy, P., Rey, B., Ritz, B.R., Robbins, J., Rodriguez, M., Russell, J., Rydkina, E., Sailer, L.L., Salmon, A.B., Sanghavi, A., Schachtschneider, K.M., Schmitt, D., Schmitt, T., Schomacher, L., Schook, L.B., Sears, K.E., Seifert, A.W., Seluanov, A., Shafer, A.B.A., Shanmuganayagam, D., Shindyapina, A.V., Simmons, M., Singh, K., Sinha, I., Slone, J., Snell, R.G., Soltanmaohammadi, E., Spangler, M.L., Spriggs, M.C., Staggs, L., Stedman, N., Steinman, K.J., Stewart, D.T., Sugrue, V.J., Szladovits, B., Takahashi, J.S., Takasugi, M., Teeling, E.C., Thompson, M.J., Van Bonn, B., Vernes, S.C., Villar, D., Vinters, H.V., Wallingford, M.C., Wang, N., Wayne, R.K., Wilkinson, G.S., Williams, C.K., Williams, R.W., Yang, X.W., Yao, M., Young, B.G., Zhang, B., Zhang, Z., Zhao, P., Zhao, Y., Zhou, W., Zimmermann, J., Ernst, J., Raj, K., & Horvath, S. (2023) Universal DNA methylation age across mammalian tissues. *Nat Aging*, 3, 1144–1166.

Lu, A.T., Narayan, P., Grant, M.J., Langfelder, P., Wang, N., Kwak, S., Wilkinson, H., Chen, R.Z., Chen, J., Simon Bawden, C., Rudiger, S.R., Ciosi, M., Chatzi, A., Maxwell, A., Hore, T.A., Aaronson, J., Rosinski, J., Preiss, A., Vogt, T.F., Coppola, G., Monckton, D., Snell, R.G., William Yang, X., & Horvath, S. (2020) DNA methylation study of Huntington's disease and motor progression in patients and in animal models. *Nature Communications*, 11, 4529.

Lu, Y., Brommer, B., Tian, X., Krishnan, A., Meer, M., Wang, C., Vera, D.L., Zeng, Q., Yu, D., Bonkowski, M.S., Yang, J.-H., Zhou, S., Hoffmann, E.M., Karg, M.M., Schultz, M.B., Kane, A.E., Davidsohn, N., Korobkina, E., Chwalek, K., Rajman, L.A., Church, G.M., Hochedlinger, K., Gladyshev, V.N., Horvath, S., Levine, M.E., Gregory-Ksander, M.S., Ksander, B.R., He, Z., & Sinclair, D.A. (2020) Reprogramming to recover youthful epigenetic information and restore vision. *Nature*, 588, 124–129.

Lu, Y.R., Tian, X., & Sinclair, D.A. (2023) The Information Theory of Aging. *Nat Aging*, 3, 1486–1499.

Lubin, F.D., Roth, T.L., & Sweatt, J.D. (2008) Epigenetic regulation of BDNF gene transcription in the consolidation of fear memory. *J Neurosci*, 28, 10576–10586.

Lund, E.G., Peterson, L.B., Adams, A.D., Lam, M.-H.N., Burton, C.A., Chin, J., Guo, Q., Huang, S., Latham, M., Lopez, J.C., Menke, J.G., Milot, D.P., Mitnaul, L.J., Rex-Rabe, S.E., Rosa, R.L., Tian, J.Y., Wright, S.D., & Sparrow, C.P. (2006) Different roles of liver X receptor α and β in lipid metabolism: Effects of an α -selective and a dual agonist in mice deficient in each subtype. *Biochemical Pharmacology*, 71, 453–463.

M

MacDonald, M.E., Ambrose, C.M., Duyao, M.P., Myers, R.H., Lin, C., Srinidhi, L., Barnes, G., Taylor, S.A., James, M., Groot, N., MacFarlane, H., Jenkins, B., Anderson, M.A., Wexler, N.S., Gusella, J.F., Bates, G.P., Baxendale, S., Hummerich, H., Kirby, S., North, M., Youngman, S., Mott, R., Zehetner, G., Sedlacek, Z., Poustka, A., Frischauf, A.-M., Lehrach, H., Buckler, A.J., Church, D., Doucette-Stamm, L., O'Donovan, M.C., Riba-Ramirez, L., Shah, M., Stanton, V.P., Strobel, S.A., Draths, K.M., Wales, J.L., Dervan, P., Housman, D.E., Altherr, M., Shiang, R., Thompson, L., Fielder, T., Wasmuth, J.J., Tagle, D., Valdes, J., Elmer, L., Allard, M., Castilla, L., Swaroop, M., Blanchard, K., Collins, F.S., Snell, R., Holloway, T., Gillespie, K., Datson, N., Shaw, D., & Harper, P.S. (1993) A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell*, 72, 971–983.

Maegawa, S., Lu, Y., Tahara, T., Lee, J.T., Madzo, J., Liang, S., Jelinek, J., Colman, R.J., & Issa, J.-P.J. (2017) Caloric restriction delays age-related methylation drift. *Nature Communications*, 8, 539.

Maekawa, M., Yamaguchi, K., Nakamura, T., Shibukawa, R., Kodanaka, I., Ichisaka, T., Kawamura, Y., Mochizuki, H., Goshima, N., & Yamanaka, S. (2011) Direct reprogramming of somatic cells is promoted by maternal transcription factor Glis1. *Nature*, 474, 225–229.

Maiuri, T., Suart, C.E., Hung, C.L.K., Graham, K.J., Barba Bazan, C.A., & Truant, R. (2019) DNA Damage Repair in Huntington's Disease and Other Neurodegenerative Diseases. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 16, 948–956.

Malaiya, S., Cortes-Gutierrez, M., Herb, B.R., Coffey, S.R., Legg, S.R.W., Cantle, J.P., Colantuoni, C., Carroll, J.B., & Ament, S.A. (2021) Single-Nucleus RNA-Seq Reveals Dysregulation of Striatal Cell Identity Due to Huntington's

Disease Mutations. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 41, 5534–5552.

Mangiarini, L., Sathasivam, K., Seller, M., Cozens, B., Harper, A., Hetherington, C., Lawton, M., Trottier, Y., Lehrach, H., Davies, S.W., & Bates, G.P. (1996) Exon 1 of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice. *Cell*, 87, 493–506.

Marco, A., Meharena, H.S., Dileep, V., Raju, R.M., Davila-Velderrain, J., Zhang, A.L., Adaikkan, C., Young, J.Z., Gao, F., Kellis, M., & Tsai, L.-H. (2020) Mapping the epigenomic and transcriptomic interplay during memory formation and recall in the hippocampal engram ensemble. *Nat Neurosci*, 23, 1606–1617.

Marder, K., Zhao, H., Eberly, S., Tanner, C.M., Oakes, D., & Shoulson, I. (2009) Dietary intake in adults at risk for Huntington disease. *Neurology*, 73, 385–392.

Marioni, R.E., Shah, S., McRae, A.F., Chen, B.H., Colicino, E., Harris, S.E., Gibson, J., Henders, A.K., Redmond, P., Cox, S.R., Pattie, A., Corley, J., Murphy, L., Martin, N.G., Montgomery, G.W., Feinberg, A.P., Fallin, M.D., Multhaup, M.L., Jaffe, A.E., Joehanes, R., Schwartz, J., Just, A.C., Lunetta, K.L., Murabito, J.M., Starr, J.M., Horvath, S., Baccarelli, A.A., Levy, D., Visscher, P.M., Wray, N.R., & Deary, I.J. (2015) DNA methylation age of blood predicts all-cause mortality in later life. *Genome Biology*, 16, 25.

Marion-Poll, L., Roussarie, J.-P., Taing, L., Dard-Dascot, C., Servant, N., Jaszczyzyn, Y., Jordi, E., Mulugeta, E., Hervé, D., Bourc'his, D., Greengard, P., Thermes, C., & Girault, J.-A. (2022) DNA methylation and hydroxymethylation characterize the identity of D1 and D2 striatal projection neurons. *Commun Biol*, 5, 1321.

Marmorstein, R. & Zhou, M.-M. (2014) Writers and Readers of Histone Acetylation: Structure, Mechanism, and Inhibition. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 6, a018762.

Martínez-García, A., Sastre, I., Recuero, M., Aldudo, J., Vilella, E., Mateo, I., Sánchez-Juan, P., Vargas, T., Carro, E., Bermejo-Pareja, F., Rodríguez-Rodríguez, E., Combarros, O., Rosich-Estrago, M., Frank, A., Valdivieso, F., & Bullido, M.J. (2010) PLA2G3, a gene involved in oxidative stress induced death, is associated with Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 22, 1181–1187.

Martinez-Vicente, M., Talloczy, Z., Wong, E., Tang, G., Koga, H., Kaushik, S., de Vries, R., Arias, E., Harris, S., Sulzer, D., & Cuervo, A.M. (2010) Cargo recognition failure is responsible for inefficient autophagy in Huntington's disease. *Nature Neuroscience*, 13, 567–576.

Massouh, M., Wallman, M.-J., Pourcher, E., & Parent, A. (2008) The fate of the large striatal interneurons expressing calretinin in Huntington's disease. *Neuroscience Research*, 62, 216–224.

Mätlik, K., Baffuto, M., Kus, L., Deshmukh, A.L., Davis, D.A., Paul, M.R., Carroll, T.S., Caron, M.-C., Masson, J.-Y., Pearson, C.E., & Heintz, N. (2024) Cell-type-specific CAG repeat expansions and toxicity of mutant Huntingtin in human striatum and cerebellum. *Nature Genetics*.

Mattson, M.P. & Arumugam, T.V. (2018) Hallmarks of Brain Aging: Adaptive and Pathological Modification by Metabolic States. *Cell Metab*, 27, 1176–1199.

McCarroll, S. (2023) Expansion of the huntingtin CAG repeat and its direct biological effects. CHDI conference. *McCarroll Lab*, URL <https://mccarrolllab.org/research/>

McColgan, P. & Tabrizi, S.J. (2018) Huntington's disease: a clinical review. *European Journal of Neurology*, 25, 24–34.

McCord, R.P., Kaplan, N., & Giorgetti, L. (2020) Chromosome Conformation Capture and Beyond: Toward an Integrative View of Chromosome Structure and Function. *Molecular Cell*, 77, 688–708.

McLauchlan, D.J., Lancaster, T., Craufurd, D., Linden, D.E.J., & Rosser, A.E. (2019) Insensitivity to loss predicts apathy in huntington's disease. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 34, 1381–1391.

Medina, A., Mahjoub, Y., Shaver, L., & Pringsheim, T. (2022) Prevalence and Incidence of Huntington's Disease: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 37, 2327–2335.

Meister, G., Landthaler, M., Patkaniowska, A., Dorsett, Y., Teng, G., & Tuschl, T. (2004) Human Argonaute2 mediates RNA cleavage targeted by miRNAs and siRNAs. *Molecular Cell*, 15, 185–197.

- Mellén, M., Ayata, P., Dewell, S., Kriaucionis, S., & Heintz, N. (2012) MeCP2 binds to 5hmC enriched within active genes and accessible chromatin in the nervous system. *Cell*, 151, 1417–1430.
- Menalled, L.B., Kudwa, A.E., Miller, S., Fitzpatrick, J., Watson-Johnson, J., Keating, N., Ruiz, M., Mushlin, R., Alosio, W., McConnell, K., Connor, D., Murphy, C., Oakeshott, S., Kwan, M., Beltran, J., Ghavami, A., Brunner, D., Park, L.C., Ramboz, S., & Howland, D. (2012) Comprehensive behavioral and molecular characterization of a new knock-in mouse model of Huntington's disease: zQ175. *PloS One*, 7, e49838.
- Menalled, L.B., Sison, J.D., Dragatsis, I., Zeitlin, S., & Chesselet, M.-F. (2003) Time course of early motor and neuropathological anomalies in a knock-in mouse model of Huntington's disease with 140 CAG repeats. *The Journal of Comparative Neurology*, 465, 11–26.
- Merienne, N., Meunier, C., Schneider, A., Seguin, J., Nair, S.S., Rocher, A.B., Le Gras, S., Keime, C., Faull, R., Pellerin, L., Chatton, J.-Y., Neri, C., Merienne, K., & Déglon, N. (2019) Cell-Type-Specific Gene Expression Profiling in Adult Mouse Brain Reveals Normal and Disease-State Signatures. *Cell Reports*, 26, 2477–2493.e9.
- Merkuri, F., Rothstein, M., & Simoes-Costa, M. (2024) Histone lactylation couples cellular metabolism with developmental gene regulatory networks. *Nat Commun*, 15, 90.
- Mews, P., Donahue, G., Drake, A.M., Luczak, V., Abel, T., & Berger, S.L. (2017) Acetyl-CoA synthetase regulates histone acetylation and hippocampal memory. *Nature*, 546, 381–386.
- Miao, W., Jiang, L., Xu, F., Lyu, J., Jiang, X., He, M., Liu, Y., Yang, T., Leak, R.K., Stetler, R.A., Chen, J., & Hu, X. (2021) Adiponectin ameliorates hypoperfusive cognitive deficits by boosting a neuroprotective microglial response. *Prog Neurobiol*, 205, 102125.
- Mielcarek, M., Landles, C., Weiss, A., Bradaia, A., Seredenina, T., Inuabasi, L., Osborne, G.F., Wadel, K., Touller, C., Butler, R., Robertson, J., Franklin, S.A., Smith, D.L., Park, L., Marks, P.A., Wanker, E.E., Olson, E.N., Luthi-Carter, R., Putten, H. van der, Beaumont, V., & Bates, G.P. (2013) HDAC4 Reduction: A Novel Therapeutic Strategy to Target Cytoplasmic Huntingtin and Ameliorate Neurodegeneration. *PLOS Biology*, 11, e1001717.
- Mielcarek, M., Toczek, M., Smeets, C.J.L.M., Franklin, S.A., Bondulich, M.K., Jolinon, N., Muller, T., Ahmed, M., Dick, J.R.T., Piotrowska, I., Greensmith, L., Smolenski, R.T., & Bates, G.P. (2015) HDAC4-myogenin axis as an important marker of HD-related skeletal muscle atrophy. *PLoS genetics*, 11, e1005021.
- Miller, C.A., Campbell, S.L., & Sweatt, J.D. (2008) DNA methylation and histone acetylation work in concert to regulate memory formation and synaptic plasticity. *Neurobiol Learn Mem*, 89, 599–603.
- Miller, C.A., Gavin, C.F., White, J.A., Parrish, R.R., Honasoge, A., Yancey, C.R., Rivera, I.M., Rubio, M.D., Rumbaugh, G., & Sweatt, J.D. (2010) Cortical DNA methylation maintains remote memory. *Nat Neurosci*, 13, 664–666.
- Miller, C.A. & Sweatt, J.D. (2007) Covalent modification of DNA regulates memory formation. *Neuron*, 53, 857–869.
- Mirek, E., Filip, M., Chwała, W., Szymura, J., Pasiut, S., Banaszkiewicz, K., Bar, M.R., & Szczudlik, A. (2018) The influence of motor ability rehabilitation on temporal-spatial parameters of gait in Huntington's disease patients on the basis of a three-dimensional motion analysis system: An experimental trial. *Neurologia i Neurochirurgia Polska*, 52, 575–580.
- Mitchnick, K.A., Creighton, S., O'Hara, M., Kalisch, B.E., & Winters, B.D. (2015) Differential contributions of de novo and maintenance DNA methyltransferases to object memory processing in the rat hippocampus and perirhinal cortex – a double dissociation. *European Journal of Neuroscience*, 41, 773–786.
- Mo, C., Hannan, A.J., & Renoir, T. (2015) Environmental factors as modulators of neurodegeneration: insights from gene-environment interactions in Huntington's disease. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 52, 178–192.
- Mohd Sahini, S.N., Mohd Nor Hazalin, N.A., Sri Kumar, B.N., Jayasingh Chellammal, H.S., & Surindar Singh, G.K. (2024) Environmental enrichment improves cognitive function, learning, memory and anxiety-related behaviours in rodent models of dementia: Implications for future study. *Neurobiology of Learning and Memory*, 208, 107880.
- Mollica, P.A., Reid, J.A., Ogle, R.C., Sachs, P.C., & Bruno, R.D. (2016) DNA Methylation Leads to DNA Repair Gene Down-Regulation and Trinucleotide Repeat Expansion in Patient-Derived Huntington Disease Cells. *The American Journal of Pathology*, 186, 1967–1976.
- Moore, L.D., Le, T., & Fan, G. (2013) DNA Methylation and Its Basic Function. *Neuropsychopharmacol*, 38, 23–38.

Mörkl, S., Müller, N.J., Blesl, C., Wilkinson, L., Tmava, A., Wurm, W., Holl, A.K., & Painold, A. (2016) Problem solving, impulse control and planning in patients with early- and late-stage Huntington's disease. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 266, 663–671.

Morris, M.J. & Monteggia, L.M. (2014) Role of DNA methylation and the DNA methyltransferases in learning and memory. *Dialogues Clin Neurosci*, 16, 359–371.

Morton, A.J. (2013) Circadian and sleep disorder in Huntington's disease. *Experimental Neurology*, 243, 34–44.

Morton, A.J. (2023) Sleep and Circadian Rhythm Dysfunction in Animal Models of Huntington's Disease. *Journal of Huntington's Disease*, 12, 133–148.

Moss, D.J.H., Pardiñas, A.F., Langbehn, D., Lo, K., Leavitt, B.R., Roos, R., Durr, A., Mead, S., TRACK-HD investigators, REGISTRY investigators, Holmans, P., Jones, L., & Tabrizi, S.J. (2017) Identification of genetic variants associated with Huntington's disease progression: a genome-wide association study. *The Lancet. Neurology*, 16, 701–711.

Moumné, L., Campbell, K., Howland, D., Ouyang, Y., & Bates, G.P. (2012) Genetic knock-down of HDAC3 does not modify disease-related phenotypes in a mouse model of Huntington's disease. *PLoS One*, 7, e31080.

Mouro Pinto, R., Arning, L., Giordano, J.V., Razghandi, P., Andrew, M.A., Gillis, T., Correia, K., Mysore, J.S., Grote Urtubey, D.-M., Parwez, C.R., von Hein, S.M., Clark, H.B., Nguyen, H.P., Förster, E., Beller, A., Jayadaev, S., Keene, C.D., Bird, T.D., Luente, D., Vonsattel, J.-P., Orr, H., Saft, C., Petrasch-Parwez, E., & Wheeler, V.C. (2020) Patterns of CAG repeat instability in the central nervous system and periphery in Huntington's disease and in spinocerebellar ataxia type 1. *Hum Mol Genet*, 29, 2551–2567.

Mueller, S.M., Gehrig, S.M., Petersen, J.A., Frese, S., Mihaylova, V., Ligon-Auer, M., Khmara, N., Nuoffer, J.-M., Schaller, A., Lundby, C., Toigo, M., & Jung, H.H. (2017) Effects of endurance training on skeletal muscle mitochondrial function in Huntington disease patients. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 12, 184.

Muller, H.J. & Altenburg, E. (1930) The Frequency of Translocations Produced by X-Rays in Drosophila. *Genetics*, 15, 283–311.

Nabi, M. & Tabassum, N. (2022) Role of Environmental Toxicants on Neurodegenerative Disorders. *Frontiers in Toxicology*, 4, 837579.

Naia, L., Ly, P., Mota, S.I., Lopes, C., Maranga, C., Coelho, P., Gershoni-Emek, N., Ankarcrona, M., Geva, M., Hayden, M.R., & Rego, A.C. (2021) The Sigma-1 Receptor Mediates Pridopidine Rescue of Mitochondrial Function in Huntington Disease Models. *Neurotherapeutics*, 18, 1017–1038.

N

Nakato, R. & Sakata, T. (2021) Methods for ChIP-seq analysis: A practical workflow and advanced applications. *Methods (San Diego, Calif.)*, 187, 44–53.

Neidl, R., Schneider, A., Bousiges, O., Majchrzak, M., Barbelivien, A., de Vasconcelos, A.P., Dorgans, K., Doussau, F., Loeffler, J.-P., Cassel, J.-C., & Boutillier, A.-L. (2016) Late-Life Environmental Enrichment Induces Acetylation Events and Nuclear Factor κB-Dependent Regulations in the Hippocampus of Aged Rats Showing Improved Plasticity and Learning. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 36, 4351–4361.

Neto, J.L., Lee, J.-M., Afridi, A., Gillis, T., Guide, J.R., Dempsey, S., Lager, B., Alonso, I., Wheeler, V.C., & Pinto, R.M. (2017) Genetic Contributors to Intergenerational CAG Repeat Instability in Huntington's Disease Knock-In Mice. *Genetics*, 205, 503–516.

Ng, C.W., Yildirim, F., Yap, Y.S., Dalin, S., Matthews, B.J., Velez, P.J., Labadorf, A., Housman, D.E., & Fraenkel, E. (2013) Extensive changes in DNA methylation are associated with expression of mutant huntingtin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110, 2354–2359.

Ng, W.S., Sielaff, H., & Zhao, Z.W. (2022) Phase Separation-Mediated Chromatin Organization and Dynamics: From Imaging-Based Quantitative Characterizations to Functional Implications. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 8039.

- Nguyen, S., Meletis, K., Fu, D., Jhaveri, S., & Jaenisch, R. (2007) Ablation of de novo DNA methyltransferase Dnmt3a in the nervous system leads to neuromuscular defects and shortened lifespan. *Dev Dyn*, 236, 1663–1676.
- Niccolini, F., Pagano, G., Fusar-Poli, P., Wood, A., Mrzljak, L., Sampaio, C., & Politis, M. (2018) Striatal molecular alterations in HD gene carriers: a systematic review and meta-analysis of PET studies. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 89, 185–196.
- Nicoleau, C., Viegas, P., Peschanski, M., & Perrier, A.L. (2011) Human pluripotent stem cell therapy for Huntington's disease: technical, immunological, and safety challenges human pluripotent stem cell therapy for Huntington's disease: technical, immunological, and safety challenges. *Neurotherapeutics*, 8, 562–576.
- Nittari, G., Roy, P., Martinelli, I., Bellitto, V., Tomassoni, D., Traini, E., Tayebati, S.K., & Amenta, F. (2023) Rodent Models of Huntington's Disease: An Overview. *Biomedicines*, 11, 3331.
- Nora, E.P., Goloborodko, A., Valton, A.-L., Gibcus, J.H., Uebersohn, A., Abdennur, N., Dekker, J., Mirny, L.A., & Brunneau, B.G. (2017) Targeted Degradation of CTCF Decouples Local Insulation of Chromosome Domains from Genomic Compartmentalization. *Cell*, 169, 930-944.e22.
- Novak, M.J.U., Seunarine, K.K., Gibbard, C.R., Hobbs, N.Z., Scahill, R.I., Clark, C.A., & Tabrizi, S.J. (2014) White matter integrity in premanifest and early Huntington's disease is related to caudate loss and disease progression. *Cortex; a Journal Devoted to the Study of the Nervous System and Behavior*, 52, 98–112.
- Novati, A., Henrich, T., Wassouf, Z., Weber, J.J., Yu-Taeger, L., Déglon, N., Nguyen, H.P., & Schulze-Henrich, J.M. (2018) Environment-dependent striatal gene expression in the BACHD rat model for Huntington disease. *Sci Rep*, 8, 5803.
- Novati, A., Nguyen, H.P., & Schulze-Henrich, J. (2022) Environmental stimulation in Huntington disease patients and animal models. *Neurobiology of Disease*, 171, 105725.
- Nucifora, F.C., Sasaki, M., Peters, M.F., Huang, H., Cooper, J.K., Yamada, M., Takahashi, H., Tsuji, S., Troncoso, J., Dawson, V.L., Dawson, T.M., & Ross, C.A. (2001) Interference by huntingtin and atrophin-1 with cbp-mediated transcription leading to cellular toxicity. *Science (New York, N.Y.)*, 291, 2423–2428.

O

- Oberdoerffer, P., Michan, S., McVay, M., Mostoslavsky, R., Vann, J., Park, S.-K., Hartlerode, A., Stegmuller, J., Hafner, A., Loerch, P., Wright, S.M., Mills, K.D., Bonni, A., Yankner, B.A., Scully, R., Prolla, T.A., Alt, F.W., & Sinclair, D.A. (2008) SIRT1 Redistribution on Chromatin Promotes Genomic Stability but Alters Gene Expression during Aging. *Cell*, 135, 907–918.
- Oblak, L., van der Zaag, J., Higgins-Chen, A.T., Levine, M.E., & Boks, M.P. (2021) A systematic review of biological, social and environmental factors associated with epigenetic clock acceleration. *Ageing Research Reviews*, 69, 101348.
- Ogilvie, A.C., Nopoulos, P.C., & Schultz, J.L. (2021) Quantifying the Onset of Unintended Weight Loss in Huntington's Disease: A Retrospective Analysis of Enroll-HD. *Journal of Huntington's disease*, 10, 485–492.
- O'Reilly, D., Belgrad, J., Ferguson, C., Summers, A., Sapp, E., McHugh, C., Mathews, E., Boudi, A., Buchwald, J., Ly, S., Moreno, D., Furgal, R., Luu, E., Kennedy, Z., Hariharan, V., Monopoli, K., Yang, X.W., Carroll, J., DiFiglia, M., Aronin, N., & Khvorova, A. (2023) Di-valent siRNA-mediated silencing of MSH3 blocks somatic repeat expansion in mouse models of Huntington's disease. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 31, 3355–3356.
- Osborne, M.T., Shin, L.M., Mehta, N.N., Pitman, R.K., Fayad, Z.A., & Tawakol, A. (2020) Disentangling the Links Between Psychosocial Stress and Cardiovascular Disease. *Circ Cardiovasc Imaging*, 13, e010931.

P

- Pan, Y., Daito, T., Sasaki, Y., Chung, Y.H., Xing, X., Pondugula, S., Swamidass, S.J., Wang, T., Kim, A.H., & Yano, H. (2016) Inhibition of DNA Methyltransferases Blocks Mutant Huntingtin-Induced Neurotoxicity. *Scientific Reports*, 6, 31022.

Pandya, J.D., Grondin, R., Yonutas, H.M., Haghnazari, H., Gash, D.M., Zhang, Z., & Sullivan, P.G. (2015) Decreased mitochondrial bioenergetics and calcium buffering capacity in the basal ganglia correlates with motor deficits in a nonhuman primate model of aging. *Neurobiol Aging*, 36, 1903–1913.

Pan-Vazquez, A., Rye, N., Ameri, M., McSparron, B., Smallwood, G., Bickerdyke, J., Rathbone, A., Dajas-Bailador, F., & Toledo-Rodriguez, M. (2015) Impact of voluntary exercise and housing conditions on hippocampal glucocorticoid receptor, miR-124 and anxiety. *Molecular Brain*, 8, 40.

Papadimitriou, N., Dimou, N., Tsilidis, K.K., Banbury, B., Martin, R.M., Lewis, S.J., Kazmi, N., Robinson, T.M., Albanes, D., Aleksandrova, K., Berndt, S.I., Timothy Bishop, D., Brenner, H., Buchanan, D.D., Bueno-de-Mesquita, B., Campbell, P.T., Castellví-Bel, S., Chan, A.T., Chang-Claude, J., Ellingjord-Dale, M., Figueiredo, J.C., Gallinger, S.J., Giles, G.G., Giovannucci, E., Gruber, S.B., Gsur, A., Hampe, J., Hampel, H., Harlid, S., Harrison, T.A., Hoffmeister, M., Hopper, J.L., Hsu, L., María Huerta, J., Huyghe, J.R., Jenkins, M.A., Keku, T.O., Kühn, T., La Vecchia, C., Le Marchand, L., Li, C.I., Li, L., Lindblom, A., Lindor, N.M., Lynch, B., Markowitz, S.D., Masala, G., May, A.M., Milne, R., Monninkhof, E., Moreno, L., Moreno, V., Newcomb, P.A., Offit, K., Perduca, V., Pharoah, P.D.P., Platz, E.A., Potter, J.D., Rennert, G., Riboli, E., Sánchez, M.-J., Schmit, S.L., Schoen, R.E., Severi, G., Sieri, S., Slattery, M.L., Song, M., Tangen, C.M., Thibodeau, S.N., Travis, R.C., Trichopoulou, A., Ulrich, C.M., van Duijnoven, F.J.B., Van Guelpen, B., Vodicka, P., White, E., Wolk, A., Woods, M.O., Wu, A.H., Peters, U., Gunter, M.J., & Murphy, N. (2020) Physical activity and risks of breast and colorectal cancer: a Mendelian randomisation analysis. *Nature Communications*, 11, 597.

Papismadov, N., Gal, H., & Krizhanovsky, V. (2017) The anti-aging promise of p21. *Cell Cycle*, 16, 1997–1998.

Papoutsis, M., Labuschagne, I., Tabrizi, S.J., & Stout, J.C. (2014) The cognitive burden in Huntington's disease: pathology, phenotype, and mechanisms of compensation. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 29, 673–683.

Park, J., Lee, K., Kim, K., & Yi, S.-J. (2022) The role of histone modifications: from neurodevelopment to neurodiseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7, 1–23.

Park, P.J. (2009) ChIP-seq: advantages and challenges of a maturing technology. *Nature Reviews Genetics*, 10, 669–680.

Park, S.-H., Kukushkin, Y., Gupta, R., Chen, T., Konagai, A., Hipp, M.S., Hayer-Hartl, M., & Hartl, F.U. (2013) PolyQ proteins interfere with nuclear degradation of cytosolic proteins by sequestering the Sis1p chaperone. *Cell*, 154, 134–145.

Park, S.-Y. & Kim, J.-S. (2020) A short guide to histone deacetylases including recent progress on class II enzymes. *Exp Mol Med*, 52, 204–212.

Paryani, F., Kwon, J.-S., Ng, C.W., Madden, N., Ofori, K., Tang, A., Lu, H., Li, J., Mahajan, A., Davidson, S.M., Basile, A., McHugh, C., Vonsattel, J.P., Hickman, R., Zody, M., Houseman, D.E., Goldman, J.E., Yoo, A.S., Menon, V., & Al-Dalahmah, O. (2023) Multi-OMIC analysis of Huntington disease reveals a neuroprotective astrocyte state. *bioRxiv*, 2023.09.08.556867.

Pasini, D., Bracken, A.P., Hansen, J.B., Capillo, M., & Helin, K. (2007) The polycomb group protein Suz12 is required for embryonic stem cell differentiation. *Molecular and Cellular Biology*, 27, 3769–3779.

Paulson, H. (2018) Repeat expansion diseases. *Handb Clin Neurol*, 147, 105–123.

Petkovich, D.A., Podolskiy, D.I., Lobanov, A.V., Lee, S.-G., Miller, R.A., & Gladyshev, V.N. (2017) Using DNA Methylation Profiling to Evaluate Biological Age and Longevity Interventions. *Cell Metabolism*, 25, 954-960.e6.

Phenylbutyrate Development for Huntington's Disease (PHEND-HD), 2012: A Multi-Center, Double-Blind, Placebo-Controlled Study With Open-Label Follow-Up to Determine the Safety and Tolerability of Phenylbutyrate in Subjects With Huntington's Disease (Clinical trial registration No. NCT00212316). clinicaltrials.gov.

Plys, A.J., Davis, C.P., Kim, J., Rizki, G., Keenen, M.M., Marr, S.K., & Kingston, R.E. (2019) Phase separation of Polycomb-repressive complex 1 is governed by a charged disordered region of CBX2. *Genes Dev*, 33, 799–813.

Pol-Bodette, S., Jeltsch-David, H., Lecourtier, L., Rusnac, N., Mam-Lam-Fook, C., Cosquer, B., Geiger, K., & Cassel, J.-C. (2011) The double-H maze test, a novel, simple, water-escape memory task: acquisition, recall of recent and remote memory, and effects of systemic muscarinic or NMDA receptor blockade during training. *Behav Brain Res*, 218, 138–151.

Pope, B.D., Ryba, T., Dileep, V., Yue, F., Wu, W., Denas, O., Vera, D.L., Wang, Y., Hansen, R.S., Canfield, T.K., Thurman, R.E., Cheng, Y., Gülsøy, G., Dennis, J.H., Snyder, M.P., Stamatoyannopoulos, J.A., Taylor, J., Hardison, R.C., Kahveci, T., Ren, B., & Gilbert, D.M. (2014) Topologically associating domains are stable units of replication-timing regulation. *Nature*, 515, 402–405.

Possin, K.L., Kim, H., Geschwind, M.D., Moskowitz, T., Johnson, E.T., Sha, S.J., Apple, A., Xu, D., Miller, B.L., Finkbeiner, S., Hess, C.P., & Kramer, J.H. (2017) Egocentric and allocentric visuospatial working memory in premotor Huntington's disease: A double dissociation with caudate and hippocampal volumes. *Neuropsychologia*, 101, 57–64.

Potter, M.C., Yuan, C., Ottenritter, C., Mughal, M., & van Praag, H. (2010) Exercise is not beneficial and may accelerate symptom onset in a mouse model of Huntington's disease. *PLoS Curr*, 2, RRN1201.

Poudel, G.R., Stout, J.C., Domínguez D, J.F., Salmon, L., Churchyard, A., Chua, P., Georgiou-Karistianis, N., & Egan, G.F. (2014) White matter connectivity reflects clinical and cognitive status in Huntington's disease. *Neurobiology of Disease*, 65, 180–187.

Pouladi, M.A., Morton, A.J., & Hayden, M.R. (2013) Choosing an animal model for the study of Huntington's disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 14, 708–721.

Pouladi, M.A., Stanek, L.M., Xie, Y., Franciosi, S., Southwell, A.L., Deng, Y., Butland, S., Zhang, W., Cheng, S.H., Shihabuddin, L.S., & Hayden, M.R. (2012) Marked differences in neurochemistry and aggregates despite similar behavioural and neuropathological features of Huntington disease in the full-length BACHD and YAC128 mice. *Human Molecular Genetics*, 21, 2219–2232.

Pressl, C., Mätlik, K., Kus, L., Darnell, P., Luo, J.-D., Paul, M.R., Weiss, A.R., Liguore, W., Carroll, T.S., Davis, D.A., McBride, J., & Heintz, N. (2024) Selective vulnerability of layer 5a corticostriatal neurons in Huntington's disease. *Neuron*.

Q

Quach, A., Levine, M.E., Tanaka, T., Lu, A.T., Chen, B.H., Ferrucci, L., Ritz, B., Bandinelli, S., Neuhouser, M.L., Beasley, J.M., Snetselaar, L., Wallace, R.B., Tsao, P.S., Absher, D., Assimes, T.L., Stewart, J.D., Li, Y., Hou, L., Baccarelli, A.A., Whitsel, E.A., & Horvath, S. (2017) Epigenetic clock analysis of diet, exercise, education, and lifestyle factors. *Aging (Albany NY)*, 9, 419–446.

R

Ragot, A., Pietropaolo, S., Vincent, J., Delage, P., Zhang, H., Allinquant, B., Leinekugel, X., Fischer, A., & Cho, Y.H. (2015) Genetic deletion of the Histone Deacetylase 6 exacerbates selected behavioral deficits in the R6/1 mouse model for Huntington's disease. *Brain Behav*, 5, e00361.

Rao, S.S.P., Huang, S.-C., Glenn St Hilaire, B., Engreitz, J.M., Perez, E.M., Kieffer-Kwon, K.-R., Sanborn, A.L., Johnstone, S.E., Bascom, G.D., Bochkov, I.D., Huang, X., Shamim, M.S., Shin, J., Turner, D., Ye, Z., Omer, A.D., Robinson, J.T., Schlick, T., Bernstein, B.E., Casellas, R., Lander, E.S., & Aiden, E.L. (2017) Cohesin Loss Eliminates All Loop Domains. *Cell*, 171, 305-320.e24.

Rappaport, S.M. & Smith, M.T. (2010) Epidemiology. Environment and disease risks. *Science (New York, N.Y.)*, 330, 460–461.

Ratié, L. & Humbert, S. (2024) A developmental component to Huntington's disease. *Rev Neurol (Paris)*, S0035-3787(24)00487-9.

Rattray, I., Smith, E., Gale, R., Matsumoto, K., Bates, G.P., & Modo, M. (2013a) Correlations of behavioral deficits with brain pathology assessed through longitudinal MRI and histopathology in the R6/2 mouse model of HD. *PLoS One*, 8, e60012.

Rattray, I., Smith, E.J., Crum, W.R., Walker, T.A., Gale, R., Bates, G.P., & Modo, M. (2013b) Correlations of behavioral deficits with brain pathology assessed through longitudinal MRI and histopathology in the R6/1 mouse model of Huntington's disease. *PLoS One*, 8, e84726.

- Rebelo-Marques, A., De Sousa Lages, A., Andrade, R., Ribeiro, C.F., Mota-Pinto, A., Carrilho, F., & Espregueira-Mendes, J. (2018) Aging Hallmarks: The Benefits of Physical Exercise. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 9, 258.
- Regio, S., Vachey, G., Goñi, E., Duarte, F., Rybarikova, M., Sipion, M., Rey, M., Huarte, M., & Déglon, N. (2023) Revisiting the outcome of adult wild-type Htt inactivation in the context of HTT-lowering strategies for Huntington's disease. *Brain Communications*, 5, fcad344.
- Reiner, A., Albin, R.L., Anderson, K.D., D'Amato, C.J., Penney, J.B., & Young, A.B. (1988) Differential loss of striatal projection neurons in Huntington disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85, 5733–5737.
- Reiner, A., Dragatsis, I., Zeitlin, S., & Goldowitz, D. (2003) Wild-type huntingtin plays a role in brain development and neuronal survival. *Molecular Neurobiology*, 28, 259–275.
- Reiner, A. & Deng, Y. (2018) Disrupted striatal neuron inputs and outputs in Huntington's disease. *CNS Neurosci Ther*, 24, 250–280.
- Renoir, T., Pang, T.Y.C., Mo, C., Chan, G., Chevarin, C., Lanfumey, L., & Hannan, A.J. (2013) Differential effects of early environmental enrichment on emotionality related behaviours in Huntington's disease transgenic mice. *The Journal of Physiology*, 591, 41–55.
- Renoir, T., Pang, T.Y.C., Zajac, M.S., Chan, G., Du, X., Leang, L., Chevarin, C., Lanfumey, L., & Hannan, A.J. (2012) Treatment of depressive-like behaviour in Huntington's disease mice by chronic sertraline and exercise. *British Journal of Pharmacology*, 165, 1375–1389.
- Renthal, W. & Nestler, E.J. (2009) Histone acetylation in drug addiction. *Semin Cell Dev Biol*, 20, 387–394.
- Riggs, D.W., Yeager, R.A., & Bhatnagar, A. (2018) Defining the Human Envirome: An Omics Approach for Assessing the Environmental Risk of Cardiovascular Disease. *Circulation Research*, 122, 1259–1275.
- Riguet, N., Mahul-Mellier, A.-L., Maharjan, N., Burtscher, J., Croisier, M., Knott, G., Hastings, J., Patin, A., Reiterer, V., Farhan, H., Nasarov, S., & Lashuel, H.A. (2021) Nuclear and cytoplasmic huntingtin inclusions exhibit distinct biochemical composition, interactome and ultrastructural properties. *Nature Communications*, 12, 6579.
- Rots, D., Jakub, T.E., Keung, C., Jackson, A., Banka, S., Pfundt, R., de Vries, B.B.A., van Jaarsveld, R.H., Hopman, S.M.J., van Binsbergen, E., Valenzuela, I., Hempel, M., Bierhals, T., Kortüm, F., Lecoquierre, F., Goldenberg, A., Hertz, J.M., Andersen, C.B., Kibæk, M., Prijoles, E.J., Stevenson, R.E., Everman, D.B., Patterson, W.G., Meng, L., Gijavanekar, C., De Dios, K., Lakhani, S., Levy, T., Wagner, M., Wieczorek, D., Benke, P.J., Lopez Garcia, M.S., Perrier, R., Sousa, S.B., Almeida, P.M., Simões, M.J., Isidor, B., Deb, W., Schmanski, A.A., Abdul-Rahman, O., Philippe, C., Bruel, A.-L., Faivre, L., Vitobello, A., Thauvin, C., Smits, J.J., Garavelli, L., Caraffi, S.G., Peluso, F., Davis-Kepen, L., Platt, D., Royer, E., Leeuwen, L., Sinnema, M., Stegmann, A.P.A., Stumpel, C.T.R.M., Tiller, G.E., Bosch, D.G.M., Potgieter, S.T., Joss, S., Splitt, M., Holden, S., Prapa, M., Foulds, N., Douzgou, S., Puura, K., Waltes, R., Chiocchetti, A.G., Freitag, C.M., Satterstrom, F.K., De Rubeis, S., Buxbaum, J., Gelb, B.D., Branko, A., Kushima, I., Howe, J., Scherer, S.W., Arado, A., Baldo, C., Patat, O., Bénédicte, D., Lopergolo, D., Santorelli, F.M., Haack, T.B., Dufke, A., Bertrand, M., Falb, R.J., Rieß, A., Krieg, P., Spranger, S., Bedeschi, M.F., Iascone, M., Josephi-Taylor, S., Roscioli, T., Buckley, M.F., Liebelt, J., Dagli, A.I., Aten, E., Hurst, A.C.E., Hicks, A., Suri, M., Aliu, E., Naik, S., Sidlow, R., Coursimault, J., Nicolas, G., Küpper, H., Petit, F., Ibrahim, V., Top, D., Di Cara, F., Louie, R.J., Stolerman, E., Brunner, H.G., Vissers, L.E.L.M., Kramer, J.M., & Kleefstra, T. (2023) The clinical and molecular spectrum of the KDM6B-related neurodevelopmental disorder. *The American Journal of Human Genetics*, 110, 963–978.
- Rowley, M.J. & Corces, V.G. (2018) Organizational principles of 3D genome architecture. *Nat Rev Genet*, 19, 789–800.
- Roy, D.S., Arons, A., Mitchell, T.I., Pignatelli, M., Ryan, T.J., & Tonegawa, S. (2016) Memory retrieval by activating engram cells in mouse models of early Alzheimer's disease. *Nature*, 531, 508–512.
- Rubinstein, D.C., Leggo, J., Coles, R., Almqvist, E., Biancalana, V., Cassiman, J.J., Chotai, K., Connarty, M., Crawford, D., Curtis, A., Curtis, D., Davidson, M.J., Differ, A.M., Dode, C., Dodge, A., Frontali, M., Ranen, N.G., Stine, O.C., Sherr, M., Abbott, M.H., Franz, M.L., Graham, C.A., Harper, P.S., Hedreen, J.C., & Hayden, M.R. (1996) Phenotypic characterization of individuals with 30-40 CAG repeats in the Huntington disease (HD) gene reveals HD cases with 36 repeats and apparently normal elderly individuals with 36-39 repeats. *American Journal of Human Genetics*, 59, 16–22.

S

- Saade-Lemus, S. & Videnovic, A. (2023) Sleep Disorders and Circadian Disruption in Huntington's Disease. *Journal of Huntington's Disease*, 12, 121–131.
- Saba, J., Couselo, F.L., Bruno, J., Carniglia, L., Durand, D., Lasaga, M., & Caruso, C. (2022) Neuroinflammation in Huntington's Disease: A Starring Role for Astrocyte and Microglia. *Current Neuropharmacology*, 20, 1116–1143.
- Saft, C., Burgunder, J.-M., Dose, M., Jung, H.H., Katzenschlager, R., Priller, J., Nguyen, H.P., Reetz, K., Reilmann, R., Seppi, K., & Landwehrmeyer, G.B. (2023) Symptomatic treatment options for Huntington's disease (guidelines of the German Neurological Society). *Neurological Research and Practice*, 5, 61.
- Saft, C., Zange, J., Andrich, J., Müller, K., Lindenberg, K., Landwehrmeyer, B., Vorgerd, M., Kraus, P.H., Przuntek, H., & Schöls, L. (2005) Mitochondrial impairment in patients and asymptomatic mutation carriers of Huntington's disease. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 20, 674–679.
- Saksouk, N., Simboeck, E., & Déjardin, J. (2015) Constitutive heterochromatin formation and transcription in mammals. *Epigenetics Chromatin*, 8, 3.
- Sando, R., Gounko, N., Pieraut, S., Liao, L., Yates, J., & Maximov, A. (2012) HDAC4 governs a transcriptional program essential for synaptic plasticity and memory. *Cell*, 151, 821–834.
- Santos, R.X., Correia, S.C., Zhu, X., Smith, M.A., Moreira, P.I., Castellani, R.J., Nunomura, A., & Perry, G. (2013) Mitochondrial DNA oxidative damage and repair in aging and Alzheimer's disease. *Antioxid Redox Signal*, 18, 2444–2457.
- Saudou, F. & Humbert, S. (2016) The Biology of Huntingtin. *Neuron*, 89, 910–926.
- Scaffidi, P. & Misteli, T. (2006) Lamin A-dependent nuclear defects in human aging. *Science*, 312, 1059–1063.
- Schlesinger, Y., Straussman, R., Keshet, I., Farkash, S., Hecht, M., Zimmerman, J., Eden, E., Yakhini, Z., Ben-Shushan, E., Reubinoff, B.E., Bergman, Y., Simon, I., & Cedar, H. (2007) Polycomb-mediated methylation on Lys27 of histone H3 pre-marks genes for de novo methylation in cancer. *Nat Genet*, 39, 232–236.
- Schmidt-Kastner, R., Wetmore, C., & Olson, L. (1996) Comparative study of brain-derived neurotrophic factor messenger RNA and protein at the cellular level suggests multiple roles in hippocampus, striatum and cortex. *Neuroscience*, 74, 161–183.
- Schobel, S.A., Preliminary results from GENERATION HD1, a Phase III trial of tominersen in individuals with manifest Huntington's disease (2021) CHDI. <https://medically.gene.com/global/en/unrestricted/neuroscience/CHDI-2021/chdi-2021-presentation-schobel-an-update-from-the-tomin.html>
- Schulze, S.K., Kanwar, R., Gölzenleuchter, M., Therneau, T.M., & Beutler, A.S. (2012) SERE: single-parameter quality control and sample comparison for RNA-Seq. *BMC Genomics*, 13, 524.
- Schumacher, B., Pothof, J., Vijg, J., & Hoeijmakers, J.H.J. (2021) The central role of DNA damage in the ageing process. *Nature*, 592, 695–703.
- Schwertman, P., Bekker-Jensen, S., & Mailand, N. (2016) Regulation of DNA double-strand break repair by ubiquitin and ubiquitin-like modifiers. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 17, 379–394.
- Sen, P., Shah, P.P., Nativio, R., & Berger, S.L. (2016) Epigenetic Mechanisms of Longevity and Aging. *Cell*, 166, 822–839.
- Seong, I.S., Woda, J.M., Song, J.-J., Lloret, A., Abeyrathne, P.D., Woo, C.J., Gregory, G., Lee, J.-M., Wheeler, V.C., Walz, T., Kingston, R.E., Gusella, J.F., Conlon, R.A., & MacDonald, M.E. (2010) Huntingtin facilitates polycomb repressive complex 2. *Human Molecular Genetics*, 19, 573–583.
- Shakya, A., Park, S., Rana, N., & King, J.T. (2020) Liquid-Liquid Phase Separation of Histone Proteins in Cells: Role in Chromatin Organization. *Biophys J*, 118, 753–764.
- Shi, L., Chen, S.-J., Ma, M.-Y., Bao, Y.-P., Han, Y., Wang, Y.-M., Shi, J., Vitiello, M.V., & Lu, L. (2018) Sleep disturbances increase the risk of dementia: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Medicine Reviews*, 40, 4–16.

- Shin, J.W., Kim, K.-H., Chao, M.J., Atwal, R.S., Gillis, T., MacDonald, M.E., Gusella, J.F., & Lee, J.-M. (2016) Permanent inactivation of Huntington's disease mutation by personalized allele-specific CRISPR/Cas9. *Hum Mol Genet*, 25, 4566–4576.
- Siebzehnrübl, F.A., Raber, K.A., Urbach, Y.K., Schulze-Krebs, A., Canneva, F., Moceri, S., Habermeyer, J., Achoui, D., Gupta, B., Steindler, D.A., Stephan, M., Nguyen, H.P., Bonin, M., Riess, O., Bauer, A., Aigner, L., Couillard-Despres, S., Paucar, M.A., Svenssonsson, P., Osmand, A., Andreew, A., Zabel, C., Weiss, A., Kuhn, R., Moussaoui, S., Blockx, I., Van der Linden, A., Cheong, R.Y., Roybon, L., Petersén, Å., & von Hörsten, S. (2018) Early postnatal behavioral, cellular, and molecular changes in models of Huntington disease are reversible by HDAC inhibition. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 115, E8765–E8774.
- Silvestroni, A., Faull, R.L.M., Strand, A.D., & Möller, T. (2009) Distinct neuroinflammatory profile in post-mortem human Huntington's disease. *Neuroreport*, 20, 1098–1103.
- Singer, B.D. (2019) A Practical Guide to the Measurement and Analysis of DNA Methylation. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 61, 417–428.
- Singh, S.J., Tandon, A., Phoolmala, null, Srivastava, T., Singh, N., Goyal, S., Priya, S., & Chaturvedi, R.K. (2023) Bisphenol-A (BPA) Impairs Hippocampal Neurogenesis via Inhibiting Regulation of the Ubiquitin Proteasomal System. *Molecular Neurobiology*, 60, 3277–3298.
- Sivanand, S., Viney, I., & Wellen, K.E. (2018) Spatiotemporal Control of Acetyl-CoA Metabolism in Chromatin Regulation. *Trends Biochem Sci*, 43, 61–74.
- Smith, A.L. & Corrow, D.J. (2005) Modifications to husbandry and housing conditions of laboratory rodents for improved well-being. *ILAR journal*, 46, 140–147.
- Smith-Geater, C., Hernandez, S.J., Lim, R.G., Adam, M., Wu, J., Stocksdale, J.T., Wassie, B.T., Gold, M.P., Wang, K.Q., Miramontes, R., Kopan, L., Orellana, I., Joy, S., Kemp, P.J., Allen, N.D., Fraenkel, E., & Thompson, L.M. (2020) Aberrant Development Corrected in Adult-Onset Huntington's Disease iPSC-Derived Neuronal Cultures via WNT Signaling Modulation. *Stem Cell Reports*, 14, 406–419.
- Snell, R.G., MacMillan, J.C., Cheadle, J.P., Fenton, I., Lazarou, L.P., Davies, P., MacDonald, M.E., Gusella, J.F., Harper, P.S., & Shaw, D.J. (1993) Relationship between trinucleotide repeat expansion and phenotypic variation in Huntington's disease. *Nature Genetics*, 4, 393–397.
- Snyder, B.R. & Chan, A.W.S. (2018) Progress in developing transgenic monkey model for Huntington's disease. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 125, 401–417.
- Solberg, O.K., Filkuková, P., Frich, J.C., & Feragen, K.J.B. (2018) Age at Death and Causes of Death in Patients with Huntington Disease in Norway in 1986–2015. *Journal of Huntington's Disease*, 7, 77–86.
- Sommer, W.H., Costa, R.M., & Hansson, A.C. (2014) Dopamine systems adaptation during acquisition and consolidation of a skill. *Front Integr Neurosci*, 8, 87.
- Song, W., Chen, J., Petrilli, A., Liot, G., Klinglmayr, E., Zhou, Y., Poquiz, P., Tjong, J., Pouladi, M.A., Hayden, M.R., Maslia, E., Ellisman, M., Rouiller, I., Schwarzenbacher, R., Bossy, B., Perkins, G., & Bossy-Wetzel, E. (2011) Mutant huntingtin binds the mitochondrial fission GTPase dynamin-related protein-1 and increases its enzymatic activity. *Nature Medicine*, 17, 377–382.
- Soria-Bretones, I., Cepeda-García, C., Checa-Rodriguez, C., Heyer, V., Reina-San-Martin, B., Soutoglou, E., & Huertas, P. (2017) DNA end resection requires constitutive sumoylation of CtIP by CBX4. *Nat Commun*, 8, 113.
- Sorolla, M.A., Reverter-Branchat, G., Tamarit, J., Ferrer, I., Ros, J., & Cabisco, E. (2008) Proteomic and oxidative stress analysis in human brain samples of Huntington disease. *Free Radical Biology & Medicine*, 45, 667–678.
- Spruijt, C.G., Gnerlich, F., Smits, A.H., Pfaffeneder, T., Jansen, P.W.T.C., Bauer, C., Müntzel, M., Wagner, M., Müller, M., Khan, F., Eberl, H.C., Mensinga, A., Brinkman, A.B., Lephikov, K., Müller, U., Walter, J., Boelens, R., van Ingen, H., Leonhardt, H., Carell, T., & Vermeulen, M. (2013) Dynamic readers for 5-(hydroxy)methylcytosine and its oxidized derivatives. *Cell*, 152, 1146–1159.
- Srinivas, U.S., Tan, B.W.Q., Vellayappan, B.A., & Jeyasekharan, A.D. (2019) ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biol*, 25, 101084.

- Stack, E.C., Del Signore, S.J., Luthi-Carter, R., Soh, B.Y., Goldstein, D.R., Matson, S., Goodrich, S., Markey, A.L., Cormier, K., Hagerty, S.W., Smith, K., Ryu, H., & Ferrante, R.J. (2007) Modulation of nucleosome dynamics in Huntington's disease. *Hum Mol Genet*, 16, 1164–1175.
- Stahon, K.E., Bastian, C., Griffith, S., Kidd, G.J., Brunet, S., & Baltan, S. (2016) Age-Related Changes in Axonal and Mitochondrial Ultrastructure and Function in White Matter. *J Neurosci*, 36, 9990–10001.
- Stefanko, D.P., Shah, V.D., Yamasaki, W.K., Petzinger, G.M., & Jakowec, M.W. (2017) Treadmill exercise delays the onset of non-motor behaviors and striatal pathology in the CAG140 knock-in mouse model of Huntington's disease. *Neurobiology of Disease*, 105, 15–32.
- Steffan, J.S., Bodai, L., Pallos, J., Poelman, M., McCampbell, A., Apostol, B.L., Kazantsev, A., Schmidt, E., Zhu, Y.Z., Greenwald, M., Kurokawa, R., Housman, D.E., Jackson, G.R., Marsh, J.L., & Thompson, L.M. (2001) Histone deacetylase inhibitors arrest polyglutamine-dependent neurodegeneration in Drosophila. *Nature*, 413, 739–743.
- Steffan, J.S., Kazantsev, A., Spasic-Boskovic, O., Greenwald, M., Zhu, Y.Z., Gohler, H., Wanker, E.E., Bates, G.P., Housman, D.E., & Thompson, L.M. (2000) The Huntington's disease protein interacts with p53 and CREB-binding protein and represses transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97, 6763–6768.
- Stillman, C.M., Weinstein, A.M., Marsland, A.L., Gianaros, P.J., & Erickson, K.I. (2017) Body-Brain Connections: The Effects of Obesity and Behavioral Interventions on Neurocognitive Aging. *Front Aging Neurosci*, 9, 115.
- Stolerman, E.S., Francisco, E., Stallworth, J.L., Jones, J.R., Monaghan, K.G., Keller-Ramey, J., Person, R., Wentzzenen, I.M., McWalter, K., Keren, B., Heron, B., Nava, C., Heron, D., Kim, K., Burton, B., Al-Musaferi, F., O'Grady, L., Sahai, I., Escobar, L.F., Meuwissen, M., Reyniers, E., Kooy, F., Lacassie, Y., Gunay-Aygun, M., Schatz, K.S., Hochstenbach, R., Zwijnenburg, P.J.G., Waisfisz, Q., van Slegtenhorst, M., Mancini, G.M.S., & Louie, R.J. (2019) Genetic variants in the KDM6B gene are associated with neurodevelopmental delays and dysmorphic features. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 179, 1276–1286.
- Strahl, B.D. & Allis, C.D. (2000) The language of covalent histone modifications. *Nature*, 403, 41–45.
- Stüwe, S.H., Goetze, O., Lukas, C., Klotz, P., Hoffmann, R., Banasch, M., Orth, M., Schmidt, W.E., Gold, R., & Saft, C. (2013) Hepatic mitochondrial dysfunction in manifest and premanifest Huntington disease. *Neurology*, 80, 743–746.
- Su, Y., Shin, J., Zhong, C., Wang, S., Roychowdhury, P., Lim, J., Kim, D., Ming, G.-L., & Song, H. (2017) Neuronal activity modifies the chromatin accessibility landscape in the adult brain. *Nat Neurosci*, 20, 476–483.
- Sujkowski, A., Hong, L., Wessells, R.J., & Todi, S.V. (2022) The protective role of exercise against age-related neurodegeneration. *Ageing Research Reviews*, 74, 101543.
- Sullivan, A.E. (2023) Epigenetic Control of Cell Potency and Fate Determination during Mammalian Gastrulation. *Genes (Basel)*, 14, 1143.
- Sun, H., Kennedy, P.J., & Nestler, E.J. (2013) Epigenetics of the depressed brain: role of histone acetylation and methylation. *Neuropsychopharmacology*, 38, 124–137.
- Swank, M.W. & Sweatt, J.D. (2001) Increased histone acetyltransferase and lysine acetyltransferase activity and biphasic activation of the ERK/RSK cascade in insular cortex during novel taste learning. *J Neurosci*, 21, 3383–3391.

T

- Tabrizi, S.J., Estevez-Fraga, C., van Roos-Mom, W.M.C., Flower, M.D., Scahill, R.I., Wild, E.J., Muñoz-Sanjuan, I., Sampaio, C., Rosser, A.E., & Leavitt, B.R. (2022) Potential disease-modifying therapies for Huntington's disease: lessons learned and future opportunities. *The Lancet Neurology*, 21, 645–658.
- Tabrizi, S.J., Ghosh, R., & Leavitt, B.R. (2019) Huntingtin Lowering Strategies for Disease Modification in Huntington's Disease. *Neuron*, 101, 801–819.
- Tabrizi, S.J., Scahill, R.I., Owen, G., Durr, A., Leavitt, B.R., Roos, R.A., Borowsky, B., Landwehrmeyer, B., Frost, C., Johnson, H., Craufurd, D., Reilmann, R., Stout, J.C., Langbehn, D.R., & TRACK-HD Investigators (2013) Predictors

of phenotypic progression and disease onset in premanifest and early-stage Huntington's disease in the TRACK-HD study: analysis of 36-month observational data. *The Lancet. Neurology*, 12, 637–649.

Taiana, E., Ronchetti, D., Todoerti, K., Nobili, L., Tassone, P., Amodio, N., & Neri, A. (2020) LncRNA NEAT1 in Paraspeckles: A Structural Scaffold for Cellular DNA Damage Response Systems? *Non-coding RNA*, 6, 26.

Takano, H. & Gusella, J.F. (2002) The predominantly HEAT-like motif structure of huntingtin and its association and coincident nuclear entry with dorsal, an NF- κ B/Rel/dorsal family transcription factor. *BMC neuroscience*, 3, 15.

Tan, X., Liu, Y., Liu, Y., Zhang, T., & Cong, S. (2021) Dysregulation of long non-coding RNAs and their mechanisms in Huntington's disease. *Journal of Neuroscience Research*, 99, 2074–2090.

Tapias, A. & Wang, Z.-Q. (2017) Lysine Acetylation and Deacetylation in Brain Development and Neuropathies. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 15, 19–36.

Tapias, V., Moschonas, E.H., Bondi, C.O., Vozzella, V.J., Cooper, I.N., Cheng, J.P., Lajud, N., & Kline, A.E. (2022) Environmental enrichment improves traumatic brain injury-induced behavioral phenotype and associated neurodegenerative process. *Experimental Neurology*, 357, 114204.

Thu, D.C.V., Oorschot, D.E., Tippett, L.J., Nana, A.L., Hogg, V.M., Synek, B.J., Luthi-Carter, R., Waldvogel, H.J., & Faull, R.L.M. (2010) Cell loss in the motor and cingulate cortex correlates with symptomatology in Huntington's disease. *Brain: A Journal of Neurology*, 133, 1094–1110.

Trettel, F., Rigamonti, D., Hilditch-Maguire, P., Wheeler, V.C., Sharp, A.H., Persichetti, F., Cattaneo, E., & MacDonald, M.E. (2000) Dominant phenotypes produced by the HD mutation in STHdh(Q111) striatal cells. *Human Molecular Genetics*, 9, 2799–2809.

Trinkler, I., Chéhère, P., Salgues, J., Monin, M.-L., Tezenas du Montcel, S., Khani, S., Gargiulo, M., & Durr, A. (2019) Contemporary Dance Practice Improves Motor Function and Body Representation in Huntington's Disease: A Pilot Study. *Journal of Huntington's Disease*, 8, 97–110.

Tronche, F., Kellendonk, C., Kretz, O., Gass, P., Anlag, K., Orban, P.C., Bock, R., Klein, R., & Schütz, G. (1999) Disruption of the glucocorticoid receptor gene in the nervous system results in reduced anxiety. *Nat Genet*, 23, 99–103.

Turner, K., Bartlett, D., Grainger, S.A., Eddy, C., Reyes, A., Kordsachia, C., Turner, M., Stout, J.C., Georgiou-Karistianis, N., Henry, J.D., Ziman, M., & Cruickshank, T. (2022) Profiling Social Cognition in Premanifest Huntington's Disease. *Journal of the International Neuropsychological Society: JINS*, 28, 217–229.

U

Uckelmann, M. & Sixma, T.K. (2017) Histone ubiquitination in the DNA damage response. *DNA Repair, Cutting-edge Perspectives in Genomic Maintenance IV*, 56, 92–101.

UniQure Biopharma B.V. (2023) A Phase Ib/II Study to Explore Safety, Tolerability, and Efficacy Signals of Multiple Ascending Doses of Striataly-Administered rAAV5-miHTT Total Huntingtin Gene (HTT) Lowering Therapy (AMT 130) in Early Manifest Huntington's Disease (Clinical trial registration No. NCT05243017). clinicaltrials.gov.

V

Valenza, M., Chen, J.Y., Di Paolo, E., Ruozzi, B., Belletti, D., Ferrari Bardile, C., Leoni, V., Caccia, C., Brilli, E., Di Donato, S., Boido, M.M., Vercelli, A., Vandelli, M.A., Forni, F., Cepeda, C., Levine, M.S., Tosi, G., & Cattaneo, E. (2015) Cholesterol-loaded nanoparticles ameliorate synaptic and cognitive function in Huntington's disease mice. *EMBO molecular medicine*, 7, 1547–1564.

Valenza, M., Leoni, V., Karasinska, J.M., Petricca, L., Fan, J., Carroll, J., Pouladi, M.A., Fossale, E., Nguyen, H.P., Riess, O., MacDonald, M., Wellington, C., DiDonato, S., Hayden, M., & Cattaneo, E. (2010) Cholesterol defect is marked across multiple rodent models of Huntington's disease and is manifest in astrocytes. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 30, 10844–10850.

- Vallès, A., Evers, M.M., Stam, A., Sogorb-Gonzalez, M., Brouwers, C., Vendrell-Tornero, C., Acar-Broekmans, S., Paerels, L., Klima, J., Bohuslavova, B., Pintauro, R., Fodale, V., Bresciani, A., Liscak, R., Urgosik, D., Starek, Z., Crha, M., Blits, B., Petry, H., Ellederova, Z., Motlik, J., van Deventer, S., & Konstantinova, P. (2021) Widespread and sustained target engagement in Huntington's disease minipigs upon intrastriatal microRNA-based gene therapy. *Sci Transl Med*, 13, eabb8920.
- Valor, L.M. (2015) Epigenetic-based therapies in the preclinical and clinical treatment of Huntington's disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 67, 45–48.
- Valor, L.M., Guigetti, D., Lopez-Atalaya, J.P., & Barco, A. (2013) Genomic Landscape of Transcriptional and Epigenetic Dysregulation in Early Onset Polyglutamine Disease. *J. Neurosci.*, 33, 10471–10482.
- van Dellen, A., Cordery, P.M., Spires, T.L., Blakemore, C., & Hannan, A.J. (2008) Wheel running from a juvenile age delays onset of specific motor deficits but does not alter protein aggregate density in a mouse model of Huntington's disease. *BMC Neurosci*, 9, 34.
- van der Vlag, J. & Otte, A.P. (1999) Transcriptional repression mediated by the human polycomb-group protein EED involves histone deacetylation. *Nat Genet*, 23, 474–478.
- van Duijn, E., Craufurd, D., Hubers, A.A.M., Giltay, E.J., Bonelli, R., Rickards, H., Anderson, K.E., van Walsem, M.R., van der Mast, R.C., Orth, M., Landwehrmeyer, G.B., & European Huntington's Disease Network Behavioural Phenotype Working Group (2014) Neuropsychiatric symptoms in a European Huntington's disease cohort (REGISTRY). *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 85, 1411–1418.
- Vashishta, M., Ng, C.W., Yildirim, F., Gipson, T.A., Kratter, I.H., Bodai, L., Song, W., Lau, A., Labadorf, A., Vogel-Ciernia, A., Troncosco, J., Ross, C.A., Bates, G.P., Krainc, D., Sadri-Vakili, G., Finkbeiner, S., Marsh, J.L., Housman, D.E., Fraenkel, E., & Thompson, L.M. (2013) Targeting H3K4 trimethylation in Huntington disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110, E3027–3036.
- Vineis, P., Chadeau-Hyam, M., Gmuender, H., Gulliver, J., Herceg, Z., Kleinjans, J., Kogevinas, M., Kyrtopoulos, S., Nieuwenhuijsen, M., Phillips, D.H., Probst-Hensch, N., Scalbert, A., Vermeulen, R., Wild, C.P., & EXPOsOMICS Consortium (2017) The exposome in practice: Design of the EXPOsOMICS project. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 220, 142–151.
- Viré, E., Brenner, C., Deplus, R., Blanchon, L., Fraga, M., Didelot, C., Morey, L., Van Eynde, A., Bernard, D., Vanderwinden, J.-M., Bollen, M., Esteller, M., Di Croce, L., de Launoit, Y., & Fuks, F. (2006) The Polycomb group protein EZH2 directly controls DNA methylation. *Nature*, 439, 871–874.
- Voigt, P., Tee, W.-W., & Reinberg, D. (2013) A double take on bivalent promoters. *Genes & Development*, 27, 1318–1338.
- Volpe, T.A., Kidner, C., Hall, I.M., Teng, G., Grewal, S.I.S., & Martienssen, R.A. (2002) Regulation of heterochromatic silencing and histone H3 lysine-9 methylation by RNAi. *Science (New York, N.Y.)*, 297, 1833–1837.
- von Schimmelmann, M., Feinberg, P.A., Sullivan, J.M., Ku, S.M., Badimon, A., Duff, M.K., Wang, Z., Lachmann, A., Dewell, S., Ma'ayan, A., Han, M.-H., Tarakhovsky, A., & Schaefer, A. (2016) Polycomb repressive complex 2 (PRC2) silences genes responsible for neurodegeneration. *Nature Neuroscience*, 19, 1321–1330.
- Voorhees, J.R., Remy, M.T., Erickson, C.M., Dutca, L.M., Brat, D.J., & Pieper, A.A. (2019) Occupational-like organophosphate exposure disrupts microglia and accelerates deficits in a rat model of Alzheimer's disease. *NPJ aging and mechanisms of disease*, 5, 3.
- Vuu, Y.M., Roberts, C.-T., & Rastegar, M. (2023) MeCP2 Is an Epigenetic Factor That Links DNA Methylation with Brain Metabolism. *Int J Mol Sci*, 24, 4218.
- Vyas, S., Rodrigues, A.J., Silva, J.M., Tronche, F., Almeida, O.F.X., Sousa, N., & Sotiropoulos, I. (2016) Chronic Stress and Glucocorticoids: From Neuronal Plasticity to Neurodegeneration. *Neural Plasticity*, 2016, 6391686.

W

Waddington, C.H. (1942) The epigenotype. *International Journal of Epidemiology*, 41, 10–13.

Waddington, C.H. (1957) *The Strategy of the Genes*. Routledge.

Wagner, V., Kern, F., Hahn, O., Schaum, N., Ludwig, N., Fehlmann, T., Engel, A., Henn, D., Rishik, S., Isakova, A., Tan, M., Sit, R., Neff, N., Hart, M., Meese, E., Quake, S., Wyss-Coray, T., & Keller, A. (2024) Characterizing expression changes in noncoding RNAs during aging and heterochronic parabiosis across mouse tissues. *Nat Biotechnol*, 42, 109–118.

Wang, L., Schuster, G.U., Hultenby, K., Zhang, Q., Andersson, S., & Gustafsson, J.-A. (2002) Liver X receptors in the central nervous system: from lipid homeostasis to neuronal degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99, 13878–13883.

Wang, N., Gray, M., Lu, X.-H., Cantle, J.P., Holley, S.M., Greiner, E., Gu, X., Shirasaki, D., Cepeda, C., Li, Y., Dong, H., Levine, M.S., & Yang, X.W. (2014) Neuronal targets for reducing mutant huntingtin expression to ameliorate disease in a mouse model of Huntington's disease. *Nat Med*, 20, 536–541.

Wang, Z., Emmerich, A., Pillon, N.J., Moore, T., Hemerich, D., Cornelis, M.C., Mazzaferro, E., Broos, S., Ahluwalia, T.S., Bartz, T.M., Bentley, A.R., Bielak, L.F., Chong, M., Chu, A.Y., Berry, D., Dorajoo, R., Dueker, N.D., Kasbohm, E., Feenstra, B., Feitosa, M.F., Gieger, C., Graff, M., Hall, L.M., Haller, T., Hartwig, F.P., Hillis, D.A., Huikari, V., Heard-Costa, N., Holzapfel, C., Jackson, A.U., Johansson, Å., Jørgensen, A.M., Kaakinen, M.A., Karlsson, R., Kerr, K.F., Kim, B., Koolhaas, C.M., Kutalik, Z., Lagou, V., Lind, P.A., Lorentzon, M., Lyttikäinen, L.-P., Mangino, M., Metzendorf, C., Monroe, K.R., Pacolet, A., Pérusse, L., Pool, R., Richmond, R.C., Rivera, N.V., Robiou-du-Pont, S., Schraut, K.E., Schulz, C.-A., Stringham, H.M., Tanaka, T., Teumer, A., Turman, C., van der Most, P.J., Vanmunster, M., van Rooij, F.J.A., van Vliet-Ostaptchouk, J.V., Zhang, X., Zhao, J.-H., Zhao, W., Balkhiyarova, Z., Balslev-Harder, M.N., Baumeister, S.E., Beilby, J., Blangero, J., Boomsma, D.I., Brage, S., Braund, P.S., Brody, J.A., Bruinenberg, M., Ekelund, U., Liu, C.-T., Cole, J.W., Collins, F.S., Cupples, L.A., Esko, T., Enroth, S., Faul, J.D., Fernandez-Rhodes, L., Fohner, A.E., Franco, O.H., Galesloot, T.E., Gordon, S.D., Grarup, N., Hartman, C.A., Heiss, G., Hui, J., Illig, T., Jago, R., James, A., Joshi, P.K., Jung, T., Kähönen, M., Kilpeläinen, T.O., Koh, W.-P., Kolcic, I., Kraft, P.P., Kuusisto, J., Launer, L.J., Li, A., Linneberg, A., Luan, J., Vidal, P.M., Medland, S.E., Milaneschi, Y., Moscati, A., Musk, B., Nelson, C.P., Nolte, I.M., Pedersen, N.L., Peters, A., Peyser, P.A., Power, C., Raitakari, O.T., Reedik, M., Reiner, A.P., Ridker, P.M., Rudan, I., Ryan, K., Sarzynski, M.A., Scott, L.J., Scott, R.A., Sidney, S., Siggeirsdottir, K., Smith, A.V., Smith, J.A., Sonestedt, E., Strøm, M., Tai, E.S., Teo, K.K., Thorand, B., Tönjes, A., Tremblay, A., Uitterlinden, A.G., Vangipurapu, J., van Schoor, N., Völker, U., Willemse, G., Williams, K., Wong, Q., Xu, H., Young, K.L., Yuan, J.M., Zillikens, M.C., Zonderman, A.B., Ameur, A., Bandinelli, S., Bis, J.C., Boehnke, M., Bouchard, C., Chasman, D.I., Smith, G.D., de Geus, E.J.C., Deldicque, L., Dörr, M., Evans, M.K., Ferrucci, L., Fornage, M., Fox, C., Garland, T., Gudnason, V., Gyllensten, U., Hansen, T., Hayward, C., Horta, B.L., Hyppönen, E., Jarvelin, M.-R., Johnson, W.C., Kardia, S.L.R., Kiemeney, L.A., Laakso, M., Langenberg, C., Lehtimäki, T., Marchand, L.L., Lifelines Cohort Study, Magnusson, P.K.E., Martin, N.G., Melbye, M., Metspalu, A., Meyre, D., North, K.E., Ohlsson, C., Oldehinkel, A.J., Orho-Melander, M., Pare, G., Park, T., Pedersen, O., Penninx, B.W.J.H., Pers, T.H., Polasek, O., Prokopenko, I., Rotimi, C.N., Samani, N.J., Sim, X., Snieder, H., Sørensen, T.I.A., Spector, T.D., Timpson, N.J., van Dam, R.M., van der Velde, N., van Duijn, C.M., Vollenweider, P., Völzke, H., Voortman, T., Waeber, G., Wareham, N.J., Weir, D.R., Wichmann, H.-E., Wilson, J.F., Hevener, A.L., Krook, A., Zierath, J.R., Thomis, M.A.I., Loos, R.J.F., & Hoed, M. den (2022) Genome-wide association analyses of physical activity and sedentary behavior provide insights into underlying mechanisms and roles in disease prevention. *Nature Genetics*, 54, 1332–1344.

Wang, S., Song, P., & Zou, M.-H. (2012) AMP-activated protein kinase, stress responses and cardiovascular diseases. *Clin Sci (Lond)*, 122, 555–573.

Wapenaar, H. & Dekker, F.J. (2016) Histone acetyltransferases: challenges in targeting bi-substrate enzymes. *Clin Epigenetics*, 8, 59.

Warby, S.C., Visscher, H., Collins, J.A., Doty, C.N., Carter, C., Butland, S.L., Hayden, A.R., Kanazawa, I., Ross, C.J., & Hayden, M.R. (2011) HTT haplotypes contribute to differences in Huntington disease prevalence between Europe and East Asia. *European journal of human genetics: EJHG*, 19, 561–566.

Watanabe, S., Mishima, Y., Shimizu, M., Suetake, I., & Takada, S. (2018) Interactions of HP1 Bound to H3K9me3 Dinucleosome by Molecular Simulations and Biochemical Assays. *Biophys J*, 114, 2336–2351.

Weiss, A.R., Bertoglio, D., Liguore, W.A., Brandon, K., Templon, J., Link, J., & McBride, J.L. (2023) Reduced D2 /D3 Receptor Binding and Glucose Metabolism in a Macaque Model of Huntington's Disease. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 38, 143–147.

Wellen, K.E., Hatzivassiliou, G., Sachdeva, U.M., Bui, T.V., Cross, J.R., & Thompson, C.B. (2009) ATP-citrate lyase links cellular metabolism to histone acetylation. *Science*, 324, 1076–1080.

- Wheeler, V.C. & Dion, V. (2021) Modifiers of CAG/CTG Repeat Instability: Insights from Mammalian Models. *Journal of Huntington's Disease*, 10, 123–148.
- Wheeler, V.C., Lebel, L.-A., Vrbanac, V., Teed, A., te Riele, H., & MacDonald, M.E. (2003) Mismatch repair gene Msh2 modifies the timing of early disease in Hdh(Q111) striatum. *Human Molecular Genetics*, 12, 273–281.
- Wheeler, V.C., Persichetti, F., McNeil, S.M., Mysore, J.S., Mysore, S.S., MacDonald, M.E., Myers, R.H., Gusella, J.F., Wexler, N.S., & US-Venezuela Collaborative Research Group (2007) Factors associated with HD CAG repeat instability in Huntington disease. *Journal of Medical Genetics*, 44, 695–701.
- White, R.R., Milholland, B., de Bruin, A., Curran, S., Laberge, R.-M., van Steeg, H., Campisi, J., Maslov, A.Y., & Vijg, J. (2015) Controlled induction of DNA double-strand breaks in the mouse liver induces features of tissue ageing. *Nat Commun*, 6, 6790.
- Whyte, W.A., Orlando, D.A., Hnisz, D., Abraham, B.J., Lin, C.Y., Kagey, M.H., Rahl, P.B., Lee, T.I., & Young, R.A. (2013) Master transcription factors and mediator establish super-enhancers at key cell identity genes. *Cell*, 153, 307–319.
- Wild, C.P. (2005) Complementing the genome with an “exposome”: the outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 14, 1847–1850.
- Wild, C.P. (2012) The exposome: from concept to utility. *International Journal of Epidemiology*, 41, 24–32.
- Williams, G.M., Paschalis, V., Ortega, J., Muskett, F.W., Hodgkinson, J.T., Li, G.-M., Schwabe, J.W.R., & Lahue, R.S. (2020) HDAC3 deacetylates the DNA mismatch repair factor MutS β to stimulate triplet repeat expansions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117, 23597–23605.
- Williams, S.R., Aldred, M.A., Der Kaloustian, V.M., Halal, F., Gowans, G., McLeod, D.R., Zondag, S., Toriello, H.V., Magenis, R.E., & Elsea, S.H. (2010) Haploinsufficiency of HDAC4 causes brachydactyly mental retardation syndrome, with brachydactyly type E, developmental delays, and behavioral problems. *American Journal of Human Genetics*, 87, 219–228.
- Wilton, D.K., Mastro, K., Heller, M.D., Gergits, F.W., Willing, C.R., Fahey, J.B., Frouin, A., Daggett, A., Gu, X., Kim, Y.A., Faull, R.L.M., Jayadev, S., Yednock, T., Yang, X.W., & Stevens, B. (2023) Microglia and complement mediate early corticostriatal synapse loss and cognitive dysfunction in Huntington's disease. *Nature Medicine*, 29, 2866–2884.
- Wilton, D.K. & Stevens, B. (2020) The contribution of glial cells to Huntington's disease pathogenesis. *Neurobiology of Disease*, 143, 104963.
- Wojtecki, L., Groiss, S.J., Ferrea, S., Elben, S., Hartmann, C.J., Dunnett, S., Rosser, A., Saft, C., Südmeyer, M., Ohmann, C., Schnitzler, A., & Vesper, J. (2015) A prospective pilot trial for pallidal deep brain stimulation in Huntington's disease. *Frontiers in Neurology*, 6.
- Wood, N.I., Glynn, D., & Morton, A.J. (2011) “Brain training” improves cognitive performance and survival in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Neurobiology of Disease*, 42, 427–437.
- Wood, N.I., Goodman, A.O.G., van der Burg, J.M.M., Gazeau, V., Brundin, P., Björkqvist, M., Petersén, A., Tabrizi, S.J., Barker, R.A., & Morton, A.J. (2008) Increased thirst and drinking in Huntington's disease and the R6/2 mouse. *Brain Res Bull*, 76, 70–79.
- Wood, N.I. & Morton, A.J. (2015) Social Behaviour is Impaired in the R6/2 Mouse Model of Huntington's Disease. *J Huntingtons Dis*, 4, 61–73.
- Wright, D.C., Han, D.-H., Garcia-Roves, P.M., Geiger, P.C., Jones, T.E., & Holloszy, J.O. (2007) Exercise-induced mitochondrial biogenesis begins before the increase in muscle PGC-1alpha expression. *The Journal of Biological Chemistry*, 282, 194–199.
- Wu, L.L. & Zhou, X.-F. (2009) Huntingtin associated protein 1 and its functions. *Cell Adhesion & Migration*, 3, 71–76.

X

Xie, W., Schultz, M.D., Lister, R., Hou, Z., Rajagopal, N., Ray, P., Whitaker, J.W., Tian, S., Hawkins, R.D., Leung, D., Yang, H., Wang, T., Lee, A.Y., Swanson, S.A., Zhang, J., Zhu, Y., Kim, A., Nery, J.R., Urich, M.A., Kuan, S., Yen, C., Klugman, S., Yu, P., Suknuntha, K., Propson, N.E., Chen, H., Edsall, L.E., Wagner, U., Li, Y., Ye, Z., Kulkarni, A., Xuan, Z., Chung, W.-Y., Chi, N.C., Antosiewicz-Bourget, J.E., Slukvin, I., Stewart, R., Zhang, M.Q., Wang, W., Thomson, J.A., Ecker, J.R., & Ren, B. (2013) Epigenomic analysis of multilineage differentiation of human embryonic stem cells. *Cell*, 153, 1134–1148.

Xie, Y., Hu, H., Liu, M., Zhou, T., Cheng, X., Huang, W., & Cao, L. (2022) The role and mechanism of histone lactylation in health and diseases. *Front Genet*, 13, 949252.

Xie, Z., Bailey, A., Kuleshov, M.V., Clarke, D.J.B., Evangelista, J.E., Jenkins, S.L., Lachmann, A., Wojciechowicz, M.L., Kropiwnicki, E., Jagodnik, K.M., Jeon, M., & Ma'ayan, A. (2021) Gene Set Knowledge Discovery with Enrichr. *Current Protocols*, 1, e90.

Xiong, X., James, B.T., Boix, C.A., Park, Y.P., Galani, K., Victor, M.B., Sun, N., Hou, L., Ho, L.-L., Mantero, J., Scannail, A.N., Dileep, V., Dong, W., Mathys, H., Bennett, D.A., Tsai, L.-H., & Kellis, M. (2023) Epigenomic dissection of Alzheimer's disease pinpoints causal variants and reveals epigenome erosion. *Cell*, 186, 4422-4437.e21.

Xu, J. & Liu, Y. (2021) Probing Chromatin Compaction and Its Epigenetic States in situ With Single-Molecule Localization-Based Super-Resolution Microscopy. *Front. Cell Dev. Biol.*, 9.

Xu, S., Zhang, X., Liu, C., Liu, Q., Chai, H., Luo, Y., & Li, S. (2021) Role of Mitochondria in Neurodegenerative Diseases: From an Epigenetic Perspective. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9.

Xu, X., Tay, Y., Sim, B., Yoon, S.-I., Huang, Y., Ooi, J., Utami, K.H., Ziae, A., Ng, B., Radulescu, C., Low, D., Ng, A.Y.J., Loh, M., Venkatesh, B., Ginhoux, F., Augustine, G.J., & Pouladi, M.A. (2017) Reversal of Phenotypic Abnormalities by CRISPR/Cas9-Mediated Gene Correction in Huntington Disease Patient-Derived Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Reports*, 8, 619–633.

Y

Yamauchi, T., Kamon, J., Ito, Y., Tsuchida, A., Yokomizo, T., Kita, S., Sugiyama, T., Miyagishi, M., Hara, K., Tsunoda, M., Murakami, K., Ohteki, T., Uchida, S., Takekawa, S., Waki, H., Tsuno, N.H., Shibata, Y., Terauchi, Y., Froguel, P., Tobe, K., Koyasu, S., Taira, K., Kitamura, T., Shimizu, T., Nagai, R., & Kadokawa, T. (2003) Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*, 423, 762–769.

Yan, X.-D., Qu, X.-S., Yin, J., Qiao, J., Zhang, J., Qi, J.-S., & Wu, M.-N. (2022) Adiponectin Ameliorates Cognitive Behaviors and in vivo Synaptic Plasticity Impairments in 3xTg-AD Mice. *J Alzheimers Dis*, 85, 343–357.

Yang, J.-H., Hayano, M., Griffin, P.T., Amorim, J.A., Bonkowski, M.S., Apostolidis, J.K., Salfati, E.L., Blanchette, M., Munding, E.M., Bhakta, M., Chew, Y.C., Guo, W., Yang, X., Maybury-Lewis, S., Tian, X., Ross, J.M., Coppotelli, G., Meer, M.V., Rogers-Hammond, R., Vera, D.L., Lu, Y.R., Pippin, J.W., Creswell, M.L., Dou, Z., Xu, C., Mitchell, S.J., Das, A., O'Connell, B.L., Thakur, S., Kane, A.E., Su, Q., Mohri, Y., Nishimura, E.K., Schaevitz, L., Garg, N., Balta, A.-M., Rego, M.A., Gregory-Ksander, M., Jakobs, T.C., Zhong, L., Wakimoto, H., El Andari, J., Grimm, D., Mostoslavsky, R., Wagers, A.J., Tsubota, K., Bonasera, S.J., Palmeira, C.M., Seidman, J.G., Seidman, C.E., Wolf, N.S., Kreiling, J.A., Sedivy, J.M., Murphy, G.F., Green, R.E., Garcia, B.A., Berger, S.L., Oberdoerffer, P., Shankland, S.J., Gladyshev, V.N., Ksander, B.R., Pfenning, A.R., Rajman, L.A., & Sinclair, D.A. (2023) Loss of epigenetic information as a cause of mammalian aging. *Cell*, 186, 305-326.e27.

Yang, N., Liu, Z., Lin, Y., & Yang, Y. (2023a) Does environmental regulation improve public health? Evidence from China's Two Control Zones policy. *Frontiers in Public Health*, 11, 1059890.

Yang, N., Occean, J.R., Melters, D.P., Shi, C., Wang, L., Stransky, S., Doyle, M.E., Cui, C.-Y., Delannoy, M., Fan, J., Slama, E., Egan, J.M., De, S., Cunningham, S.C., de Cabo, R., Sidoli, S., Dalal, Y., & Sen, P. (2023b) A hyper-quiescent chromatin state formed during aging is reversed by regeneration. *Molecular Cell*, 83, 1659-1676.e11.

Yang, S., Chang, R., Yang, H., Zhao, T., Hong, Y., Kong, H.E., Sun, X., Qin, Z., Jin, P., Li, S., & Li, X.-J. (2017) CRISPR/Cas9-mediated gene editing ameliorates neurotoxicity in mouse model of Huntington's disease. *J Clin Invest*, 127, 2719–2724.

Yang, Y., Zhang, M., & Wang, Y. (2022) The roles of histone modifications in tumorigenesis and associated inhibitors in cancer therapy. *Journal of the National Cancer Center*, 2, 277–290.

Yao, J., Hamilton, R.T., Cadenas, E., & Brinton, R.D. (2010) Decline in mitochondrial bioenergetics and shift to ketogenic profile in brain during reproductive senescence. *Biochim Biophys Acta*, 1800, 1121–1126.

Yap, E.-L. & Greenberg, M.E. (2018) Activity-Regulated Transcription: Bridging the Gap between Neural Activity and Behavior. *Neuron*, 100, 330–348.

Yap, K.L., Li, S., Muñoz-Cabello, A.M., Raguz, S., Zeng, L., Mujtaba, S., Gil, J., Walsh, M.J., & Zhou, M.-M. (2010) Molecular interplay of the noncoding RNA ANRIL and methylated histone H3 lysine 27 by polycomb CBX7 in transcriptional silencing of INK4a. *Molecular Cell*, 38, 662–674.

Yin, H.H., Mulcare, S.P., Hilário, M.R.F., Clouse, E., Holloway, T., Davis, M.I., Hansson, A.C., Lovinger, D.M., & Costa, R.M. (2009) Dynamic reorganization of striatal circuits during the acquisition and consolidation of a skill. *Nat Neurosci*, 12, 333–341.

Yin, Z., Guo, X., Qi, Y., Li, P., Liang, S., Xu, X., & Shang, X. (2022) Dietary Restriction and Rapamycin Affect Brain Aging in Mice by Attenuating Age-Related DNA Methylation Changes. *Genes*, 13, 699.

Yosef, R., Pilpel, N., Papismadov, N., Gal, H., Ovadya, Y., Vadai, E., Miller, S., Porat, Z., Ben-Dor, S., & Krizhanovsky, V. (2017) p21 maintains senescent cell viability under persistent DNA damage response by restraining JNK and caspase signaling. *EMBO J*, 36, 2280–2295.

Yui, D., Nishida, Y., Nishina, T., Mogushi, K., Tajiri, M., Ishibashi, S., Ajioka, I., Ishikawa, K., Mizusawa, H., Murayama, S., & Yokota, T. (2015) Enhanced Phospholipase A2 Group 3 Expression by Oxidative Stress Decreases the Insulin-Degrading Enzyme. *PLoS One*, 10, e0143518.

Z

Zajac, M.S., Pang, T.Y.C., Wong, N., Weinrich, B., Leang, L.S.K., Craig, J.M., Saffery, R., & Hannan, A.J. (2010) Wheel running and environmental enrichment differentially modify exon-specific BDNF expression in the hippocampus of wild-type and pre-motor symptomatic male and female Huntington's disease mice. *Hippocampus*, 20, 621–636.

Zhang, D., Deng, Y., Kukanja, P., Agirre, E., Bartosovic, M., Dong, M., Ma, C., Ma, S., Su, G., Bao, S., Liu, Y., Xiao, Y., Rosoklja, G.B., Dwork, A.J., Mann, J.J., Leong, K.W., Boldrini, M., Wang, L., Haeussler, M., Raphael, B.J., Kluger, Y., Castelo-Branco, G., & Fan, R. (2023) Spatial epigenome-transcriptome co-profiling of mammalian tissues. *Nature*, 616, 113–122.

Zhang, S., Feany, M.B., Saraswati, S., Littleton, J.T., & Perrimon, N. (2009) Inactivation of Drosophila Huntingtin affects long-term adult functioning and the pathogenesis of a Huntington's disease model. *Disease Models & Mechanisms*, 2, 247–266.

Zhang, T.-Y., Keown, C.L., Wen, X., Li, J., Vousden, D.A., Anacker, C., Bhattacharyya, U., Ryan, R., Diorio, J., O'Toole, N., Lerch, J.P., Mukamel, E.A., & Meaney, M.J. (2018) Environmental enrichment increases transcriptional and epigenetic differentiation between mouse dorsal and ventral dentate gyrus. *Nat Commun*, 9, 298.

Zhang, X.-L., Zhao, N., Xu, B., Chen, X.-H., & Li, T.-J. (2019) Treadmill exercise inhibits amyloid- β generation in the hippocampus of APP/PS1 transgenic mice by reducing cholesterol-mediated lipid raft formation. *Neuroreport*, 30, 498–503.

Zhang, Y., Xiang, Y., Yin, Q., Du, Z., Peng, X., Wang, Q., Fidalgo, M., Xia, W., Li, Y., Zhao, Z., Zhang, W., Ma, J., Xu, F., Wang, J., Li, L., & Xie, W. (2018) Dynamic epigenomic landscapes during early lineage specification in mouse embryos. *Nat Genet*, 50, 96–105.

Zhao, J., Lu, Z., Wang, L., & Jin, B. (2020) Plant Responses to Heat Stress: Physiology, Transcription, Noncoding RNAs, and Epigenetics. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 117.

- Zheng, J., Peng, S., Cui, L., Liu, X., Li, T., Zhao, Z., Li, Y., Hu, Y., Zhang, M., Xu, L., & Zhang, J. (2023) Enriched environment attenuates hippocampal theta and gamma rhythms dysfunction in chronic cerebral hypoperfusion via improving imbalanced neural afferent levels. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 17, 985246.
- Zhong, T., Ren, F., Huang, C.S., Zou, W.Y., Yang, Y., Pan, Y.D., Sun, B., Wang, E., & Guo, Q.L. (2016) Swimming exercise ameliorates neurocognitive impairment induced by neonatal exposure to isoflurane and enhances hippocampal histone acetylation in mice. *Neuroscience*, 316, 378–388.
- Zhou, K., Gaullier, G., & Luger, K. (2019) Nucleosome structure and dynamics are coming of age. *Nature Structural & Molecular Biology*, 26, 3–13.
- Zielonka, D., Marinus, J., Roos, R.A.C., De Michele, G., Di Donato, S., Putter, H., Marcinkowski, J., Squitieri, F., Bentivoglio, A.R., & Landwehrmeyer, G.B. (2013) The influence of gender on phenotype and disease progression in patients with Huntington's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, 19, 192–197.
- Zielonka, D. & Stawinska-Witoszynska, B. (2020) Gender Differences in Non-sex Linked Disorders: Insights From Huntington's Disease. *Frontiers in Neurology*, 11, 571.
- Zinzi, P., Salmaso, D., De Grandis, R., Graziani, G., Maceroni, S., Bentivoglio, A., Zappata, P., Frontali, M., & Jacopini, G. (2007) Effects of an intensive rehabilitation programme on patients with Huntington's disease: a pilot study. *Clinical Rehabilitation*, 21, 603–613.
- Zocher, S., Overall, R.W., Lesche, M., Dahl, A., & Kempermann, G. (2021) Environmental enrichment preserves a young DNA methylation landscape in the aged mouse hippocampus. *Nature Communications*, 12, 3892.
- Zovkic, I.B., Paulukaitis, B.S., Day, J.J., Etikala, D.M., & Sweatt, J.D. (2014) Histone H2A.Z subunit exchange controls consolidation of recent and remote memory. *Nature*, 515, 582–586.
- Zuccato, C., Ciarmmola, A., Rigamonti, D., Leavitt, B.R., Goffredo, D., Conti, L., MacDonald, M.E., Friedlander, R.M., Silani, V., Hayden, M.R., Timmus, T., Sipione, S., & Cattaneo, E. (2001) Loss of huntingtin-mediated BDNF gene transcription in Huntington's disease. *Science*, 293, 493–498.
- Zuccato, C., Tartari, M., Crotti, A., Goffredo, D., Valenza, M., Conti, L., Cataudella, T., Leavitt, B.R., Hayden, M.R., Timmus, T., Rigamonti, D., & Cattaneo, E. (2003) Huntingtin interacts with REST/NRSF to modulate the transcription of NRSE-controlled neuronal genes. *Nature Genetics*, 35, 76–83.

..... ANNEXES

Annexe 1

Effectif des tests comportementaux et moléculaires du projet cage Marlau

<i>n</i>	WT SE	WT EE	R6 SE	R6 EE
Clair/Obscur	19 (11♂ / 8♀)	16 (8♂ / 8♀)	16 (10♂ / 6♀)	15 (8♂ / 7♀)
Actométrie	14 (7♂ / 7♀)	13 (8♂ / 7♀)	13 (7♂ / 6♀)	14 (7♂ / 7♀)
Champ ouvert	19 (11♂ / 8♀)	16 (8♂ / 8♀)	17 (11♂ / 6♀)	15 (8♂ / 7♀)
Nidification	36 (19♂ / 17♀)	29 (8♂ / 21♀)	35 (18♂ / 17♀)	28 (8♂ / 20♀)
Préférence saccharine	19 (11♂ / 8♀)	16 (8♂ / 8♀)	17 (11♂ / 6♀)	15 (8♂ / 7♀)
Bar test	19 (11♂ / 8♀)	16 (8♂ / 8♀)	16 (10♂ / 6♀)	12 (6♂ / 6♀)
Rotarod accélérant	19 (11♂ / 8♀)	16 (8♂ / 8♀)	14 (9♂ / 5♀)	14 (8♂ / 6♀)
Double-H	25 (18♂ / 7♀)	22 (14♂ / 8♀)	19 (10♂ / 9♀)	18 (9♂ / 9♀)
RNAseq (échantillons)	4 ♂	4 ♂	3 ♂	4 ♂

Annexe 2

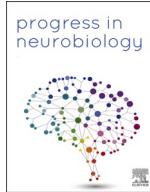
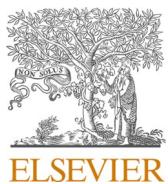
Article collaboratif

Altered activity-regulated H3K9 acetylation at TGF-beta signaling genes during egocentric memory in Huntington's disease

Rafael Alcala-Vida ^{a,b,1}, Caroline Lotz ^{a,b,1}, Baptiste Brulé ^{a,b}, Jonathan Seguin ^{a,b}, Charles Decraene ^{a,b}, Ali Awada ^{a,b}, Aurélie Bombardier ^{a,b}, Brigitte Cosquer ^{a,b}, Anne Pereira de Vasconcelos ^{a,b}, Emmanuel Brouillet ^c, Jean-Christophe Cassel ^{a,b}, Anne-Laurence Boutillier ^{a,b}, Karine Merienne ^{a,b,*}

^a Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives (LNCA), Université de Strasbourg, Strasbourg 67000, France ^b Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS, UMR 7364), Strasbourg 67000, France ^c Université Paris-Saclay, Commissariat à l'Energie Atomique et aux Energies Alternatives (CEA), Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Molecular Imaging Research Center (MIRCen), Laboratoire des Maladies Neurodégénératives, Fontenay aux Roses, France

Progress in neurobiology, 2022



Altered activity-regulated H3K9 acetylation at TGF-beta signaling genes during egocentric memory in Huntington's disease

Rafael Alcalá-Vida^{a,b,1}, Caroline Lotz^{a,b,1}, Baptiste Brûlé^{a,b}, Jonathan Seguin^{a,b}, Charles Decraene^{a,b}, Ali Awada^{a,b}, Aurélie Bombardier^{a,b}, Brigitte Cosquer^{a,b}, Anne Pereira de Vasconcelos^{a,b}, Emmanuel Brouillet^c, Jean-Christophe Cassel^{a,b}, Anne-Laurence Boutillier^{a,b}, Karine Merienne^{a,b,*}

^a Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives (LNCA), Université de Strasbourg, Strasbourg 67000, France

^b Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS, UMR 7364), Strasbourg 67000, France

^c Université Paris-Saclay, Commissariat à l'Energie Atomique et aux Energies Alternatives (CEA), Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Molecular Imaging Research Center (MIRCen), Laboratoire des Maladies Neurodégénératives, Fontenay aux Roses, France



ARTICLE INFO

Keywords:

Huntington's disease
Striatum
Epigenomic
Histone acetylation
TGF-beta signaling
Egocentric memory

ABSTRACT

Molecular mechanisms underlying cognitive deficits in Huntington's disease (HD), a striatal neurodegenerative disorder, are unknown. Here, we generated ChIPseq, 4Cseq and RNAseq data on striatal tissue of HD and control mice during striatum-dependent egocentric memory process. Multi-omics analyses showed altered activity-dependent epigenetic gene reprogramming of neuronal and glial genes regulating striatal plasticity in HD mice, which correlated with memory deficit. First, our data reveal that spatial chromatin re-organization and transcriptional induction of BDNF-related markers, regulating neuronal plasticity, were reduced since memory acquisition in the striatum of HD mice. Second, our data show that epigenetic memory implicating H3K9 acetylation, which established during late phase of memory process (e.g. during consolidation/recall) and contributed to glia-mediated, TGFβ-dependent plasticity, was compromised in HD mouse striatum. Specifically, memory-dependent regulation of H3K9 acetylation was impaired at genes controlling extracellular matrix and myelination. Our study investigating the interplay between epigenetics and memory identifies H3K9 acetylation and TGFβ signaling as new targets of striatal plasticity, which might offer innovative leads to improve HD.

1. Introduction

Huntington's disease (HD) is a genetic neurodegenerative disease, caused by abnormal CAG repeat expansion in the Huntington (*HTT*) gene. The HD mutation leads to primary impairment of the striatum, inducing progressive and specific motor and cognitive symptoms. Cognitive deficits precede by up to ten years the onset of motor symptoms and have dramatic consequences on patients' quality of life. However, medical care of cognition in HD, which relies on psychosocial management and cognitive/behavioral therapies, remains limited (Glikmann-Johnston et al., 2019; McColgan and Tabrizi, 2018). In fact, limited knowledge on molecular mechanisms underlying cognition represents a drag to efficient management of cognitive symptoms in neurodegenerative diseases, including HD. Thus, there is a critical need

to tackle the question.

Epigenetic gene dysregulation is a hallmark of HD, correlating with disease pathogenesis (Bassi et al., 2017; Francelle et al., 2017). Specifically, the HD striatum undergoes early, progressive epigenetic and transcriptional reprogramming of brain cell identities, implicating histone acetylation changes at genes defining striatal identity and function (Achour et al., 2015; Alcalá-Vida et al., 2021b; Consortium, 2017; Guiretti et al., 2016; Langfelder et al., 2016; Lee et al., 2020). One hypothesis would be that altered epigenetic gene regulation in the HD striatum contributes to cognitive deficits, impeding molecular and cellular regulations necessary to behavioral adaptations in response to environmental triggers (Alcalá-Vida et al., 2021a; Campbell and Wood, 2019; Fischer, 2014; Peixoto and Abel, 2013; Yap and Greenberg, 2018). Studies using the hippocampus, a major neurobiological substrate of

* Corresponding author at: Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives (LNCA), Université de Strasbourg, Strasbourg 67000, France.

E-mail address: karine.merienne@unistra.fr (K. Merienne).

¹ These authors contributed equally.

memory, showed that activity-regulated reprogramming of the transcriptome in response to environmental stimuli drives neural plasticity and instructs memory processes, including memory acquisition, consolidation and recall. Specifically, neuronal stimulation leads to primary activation of signaling pathways, notably BDNF signaling, resulting in induction of immediate early genes (IEGs) and their targets involved in neuronal plasticity (Yap and Greenberg, 2018). This is accompanied by epigenetic mechanisms, which increase chromatin accessibility and modulate promoter-enhancer interactions. Particularly, it is thought that histone acetylation changes and three-dimensional (3D) chromatin re-organization contribute to long-term features of memory, inducing stable epigenetic memory at neural plasticity genes (Burns and Graff, 2021; Rajarajan et al., 2016). However, precise histone acetylation marks serving as mnemonic substrates remain elusive, due to lack of conclusive epigenomic datasets (Fuentes-Ramos et al., 2021). Moreover, it is unclear whether similar mechanisms underlie epigenomic and transcriptomic reprogramming during striatum- and hippocampus-dependent memories.

Here, we explored the hypothesis that altered epigenetic and transcriptional regulations in HD mice might contribute to deficit in striatum-dependent memory (e.g. egocentric spatial memory). Using dedicated navigation test, the double H (DH) maze, we showed that egocentric spatial memory formation and recall were impaired early in HD R6/1 transgenic mice. We then profiled the striatum of R6/1 and control mice subjected to the DH maze by ChIPseq (targeting H3K9

acetylation and H3K27 acetylation), 4Cseq and RNAseq to investigate activity-regulated epigenetic gene reprogramming during egocentric memory processing, including memory acquisition and consolidation/recall. Integrative analyses with cell type-specific striatal databases were also performed to assess the contribution of neuronal and glial cells in memory-related changes. Altered performances of HD mice during memory acquisition associated with reduced 3D chromatin remodeling and diminished transcriptional induction of neuronal plasticity genes involved in BDNF signaling. Additionally, we uncovered that memory process leads to precise temporal reprogramming of glia-enriched genes, contributing to late plasticity of striatal tissue (e.g. associated with memory consolidation/recall), via TGF β -dependent regulation of extracellular matrix (ECM) and myelination. We show that H3K9 acetylation (H3K9ac) specifically contributes to the mechanism, through epigenetic memory, which was compromised in HD mice. Collectively, our data provide novel mechanistic insight into cognitive deficit in HD and identify neuronal and glial targets, which could be manipulated to improve striatal plasticity.

2. Results

2.1. Egocentric spatial memory is impaired early in HD R6/1 mice

To investigate the impact of epigenetic regulations on early HD cognitive deficits, we first sought to identify relevant cognitive task in

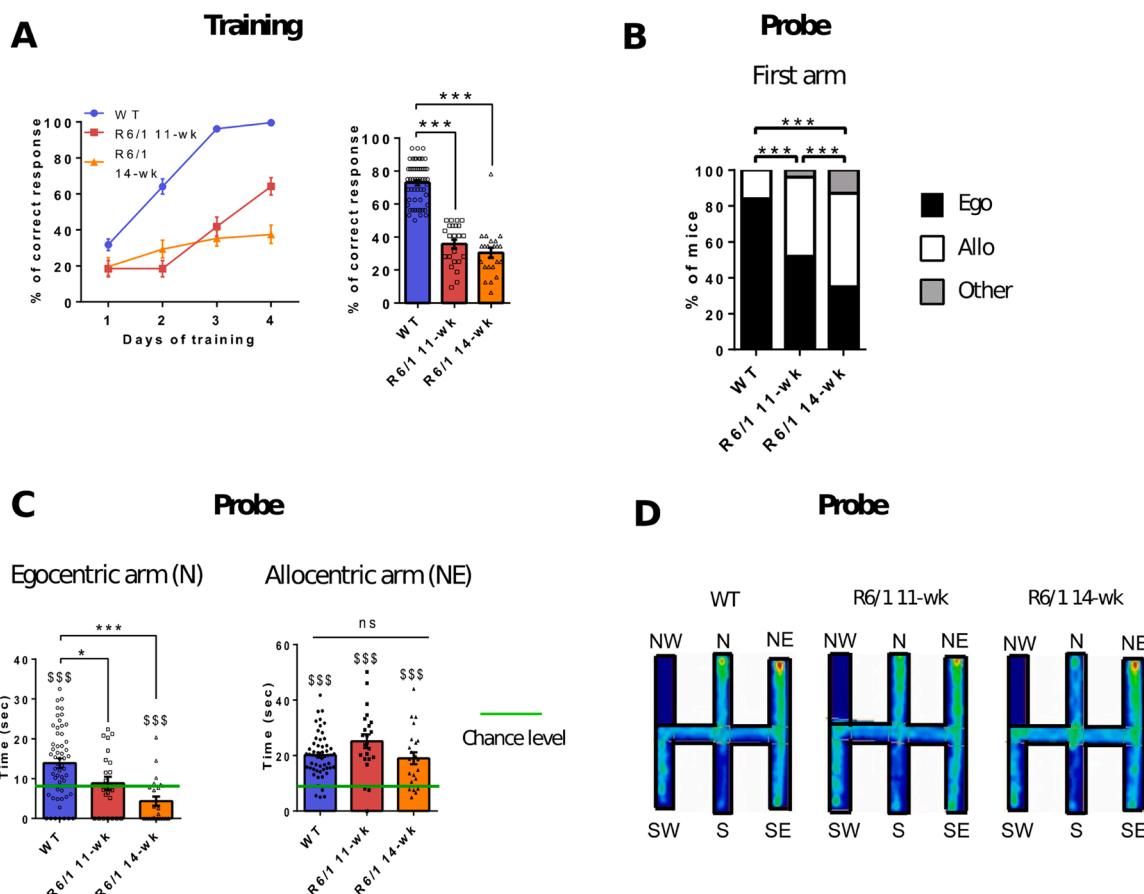


Fig. 1. Egocentric spatial memory is early impaired in R6/1 mice. (A) Percentage of correct responses (mean + sem) in 11- and 14-wk old R6/1 and WT mice (Left). Two-way ANOVA with repeated measures test, Tukey post-hoc test. Percentage of correct responses across the 4 days of training (mean +/- sem) (Right). Interaction day/animal group, $F(6294)=15.68$, $P < 0.0001$. Kruskal-Wallis test, Dunn post-hoc test, ***, $P < 0.005$, R6/1 vs WT. (B) First and second arms visited during the probe test for 11- and 14-wk old R6/1 and WT mice. Binomial test, *, $P < 0.05$, ***, $P < 0.005$, R6/1 vs WT. (C) Time spent in target arms (Egocentric, N; Allocentric, NE) (mean + sem) in 11- and 14-wk old R6/1 and WT mice during the probe test. Kruskal-Wallis test, Dunn post-hoc test, *, $P < 0.05$, ***, $P < 0.005$, R6/1 vs WT. Time spent in targets arms was compared to chance level (8.3 s), one-sample Wilcoxon test, \$\$\$, $P < 0.005$, WT and R6/1 vs chance level. (D) Heatmaps showing mean trajectories of 11- and 14-wk old R6/1 and WT mice in the DH during the probe test.

HD R6/1 mice. Thus, we assessed spatial memory performances of early symptomatic R6/1 mice in the double-H (DH) maze, an aquatic navigation task originally set up in rats, which taxes the interplay between egocentric (striatum-dependent) and allocentric (hippocampus-dependent) spatial memories (Cassel et al., 2012). R6/1 mice of 11 and 14 weeks were trained in a mouse-adapted version of the DH maze, together with WT littermate controls (Figures S1A and S1B). During an acquisition phase promoting egocentric learning, while keeping the possibility of using allocentric strategy, mice learnt to reach an escape platform from constant start arm. By the end of training, WT mice had perfectly learnt the defined motor sequence leading most efficiently to the hidden platform (e.g. turn right then turn left) (Figs. 1A and S1C-E). In contrast, R6/1 mice showed impaired performances (Figs. 1A and S1C-E). Following the acquisition phase, a probe test was performed to specify the memory type engaged during recall. The platform was removed and mice were misleadingly released from an arm adjacent to start arm used during training (Figure S1B). In this task, 80% of WT mice repeated the learnt motor sequence, visiting first the ‘egocentric’ arm (Fig. 1B). WT mice also spent more time than expected in this arm, indicative of egocentric strategy to search for the platform (Figs. 1C and S1F). The time spent in the ‘allocentric’ arm was also above chance level, suggesting strategy correction by shifting to allocentric navigation (Figs. 1C and S1G). In contrast, during probe test, R6/1 mice predominantly visited the ‘allocentric’ arm in first instance, and insisted in this arm (Fig. 1B and D). As a result, the time spent in the ‘egocentric’ arm was not above chance level, suggesting failure of striatal engagement during recall in R6/1 mice to the benefit of hippocampus-dependent allocentric strategy (Figs. 1C and S1F, S1G). Performances of early symptomatic R6/1 mice in the object location task were not impaired, further indicating preservation of hippocampal memory. Moreover, the bar test showed that motor function was essentially preserved (Fig. S1H and I). Thus, striatum-dependent egocentric spatial memory was specifically impaired in early symptomatic R6/1 mice.

2.2. Transcriptional reprogramming of BDNF signaling genes during memory acquisition is impaired in the striatum of HD R6/1 mice

To investigate the role of transcriptional regulation in egocentric memory deficit in R6/1 mice, we performed RNAseq experiments using the striatum of R6/1 and WT mice subjected to the DH task. Data were generated after 2 days of training and after the probe test to assess activity-regulated transcriptional reprogramming at early and late phases of memory process (e.g. during memory acquisition and during consolidation/recall, respectively). As controls, we used home-cage animals (HC) (Fig. S2A, B). 226 and 499 genes were differentially expressed in WT striatum in Acquisition vs HC and Recall vs HC comparisons, respectively (Fig. 2A). Differentially expressed genes (DEGs) by memory were predominantly up-regulated, with 152 and 397 genes increased during acquisition and recall, respectively (Fig. 2A). Striatal transcriptional reprogramming was dramatically impaired in R6/1 mice, with only 25 and 37 DEGs in Acquisition vs HC and Recall vs HC comparisons, respectively (Fig. 2A).

Defined functional signatures characterized up-regulated genes by memory in WT mice, in contrast to down-regulated genes (Figs. 2B, C, S2C; Table S1). Particularly, transcription factor networks (e.g. AP-1 and BMAL1-CLOCK/NPAS2 networks) and pathways related to neuronal plasticity (e.g. BDNF signaling) (Barco et al., 2005; Finkbeiner et al., 1997; Keilani et al., 2012; Yap and Greenberg, 2018) were strongly enriched during acquisition, which reflected significant induction of IEGs, notably AP-1 genes (e.g. *FosB*, *FosL2*), Clock-related genes (e.g. *Per1*, *Per2*, *Cry1*) and *Egr* genes (e.g. *Egr1*, *Egr2*, *Egr4*) (Figs. 2B and S2D). Accordingly, transcriptional regulator analysis using the ChEA database showed that CREB/CREM and CLOCK, regulating AP-1 and Clock-related genes, respectively, were among top predicted master regulators of up-regulated genes (Fig. 2C; Table S1). RARB, a master transcription factor of striatal neuron fate (Rataj-Baniowska et al.,

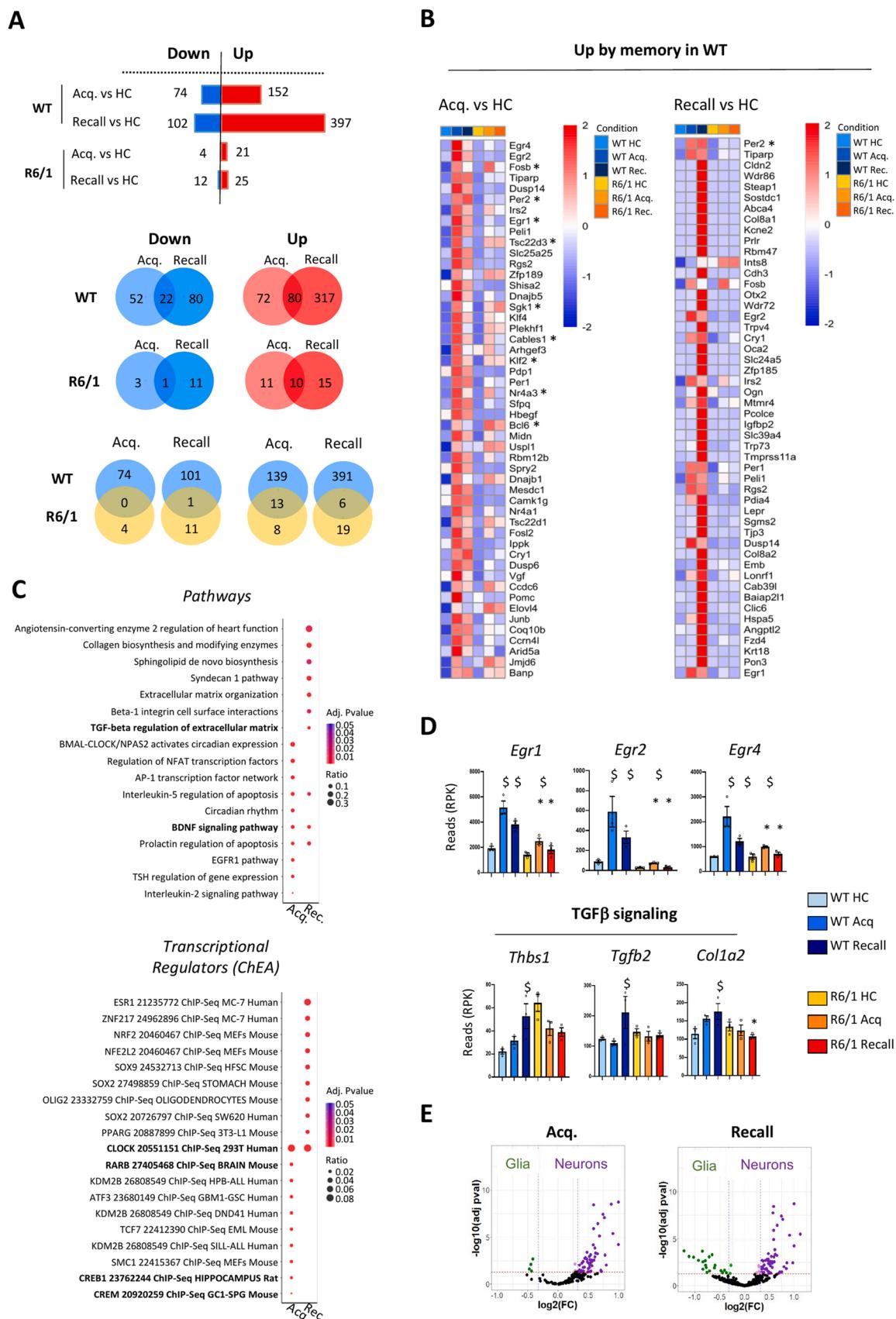
2015), was also a top predicted regulator of genes induced during acquisition, suggesting a degree of tissue specificity (Fig. 2C). Complementary analysis using ENCODE database confirmed CREB as a top significant transcriptional regulator of memory-associated genes, and also highlighted SRF, which, like CREB, is a major neuronal regulator of IEGs, influencing synaptic plasticity and memory (Fig. S2E) (Yap and Greenberg, 2018). In contrast, in R6/1 mice, the few striatal genes induced during memory acquisition did not show significant functional signatures, despite substantial overlap with memory activated genes in WT animals. Particularly, *Egr* gene regulation, including *Egr1* regulation, was dramatically altered in R6/1 striatum (Fig. 2D). Decreased *Srf* and *Rarb* in R6/1 vs WT striatum might synergistically impair *Egr1* regulation and impede memory process, especially since *Egr1* is a neuronal target of *Srf* and *Rarb*, critical to striatal memory (Fig. S2D) (Knoll and Nordheim, 2009; Niewiadomska-Cimicka et al., 2017; Veyrac et al., 2014). In contrast, striatal regulation of AP-1 genes was less affected in R6/1 mice, possibly due to sustained expression of *Creb1* (Figure S2D). Western-blot analysis confirmed that CREB levels were not reduced in R6/1 vs WT mice, in contrast to SRF (Fig. S2F). Thus, during acquisition of egocentric spatial memory, gene program leading to activation of critical neuronal plasticity markers related to BDNF signaling (e.g. *Egr* genes) was altered in the striatum of R6/1 mice.

2.3. Transcriptional reprogramming of TGF β signaling genes during memory consolidation/recall is impaired in the striatum HD R6/1 mice

We then focused on transcriptional regulation associated with consolidation/recall of egocentric memory (for simplicity referred to ‘recall’ thereafter). Recall-associated up-regulated genes in WT striatal tissue were enriched in BDNF-related genes, due to consistent activation of IEGs (Fig. 2B; Table S1). Additionally, genes increased by recall in WT situation displayed signature related to TGF β signaling, a pathway controlling cellular plasticity through remodeling of ECM (Fig. 2C; Table S1) (Katsuno and Deryck, 2021). Specifically, *Thbs1*, which promotes TGF β activation, inducing its release from ECM, was up-regulated during memory recall in WT striatum (Fig. 2D). This was also the case for *Tgfb2* and several targets of TGF β pathway, including ECM components (Fig. 2B and D; Table S1). Accordingly, SMAD transcription factors were among significant predicted transcriptional regulators of genes increased by memory in WT samples (Table S1). Moreover, top predicted transcriptional regulators of up-regulated genes during recall were glial-specific master genes (e.g. SOX2, SOX9, OLIG2) (Fig. 2C). Supporting glial involvement, integrated analysis with cell type-specific striatal transcriptomic database (Merienne et al., 2019) showed that recall-associated up-regulated genes in WT samples comprised both neuronal- and glial-specific genes, in contrast to genes increased during acquisition, which were specifically enriched in neuronal genes (Fig. 2E). Functional signatures associated with recall in physiological situation were absent in the striatum of R6/1 mice, due to dysregulation of BDNF- and TGF β -related genes, including IEGs and Smads (Figs. 2D, S2D). Thus, transcriptional reprogramming of striatal plasticity genes regulated by BDNF and TGF β signaling was dramatically impaired during consolidation/recall of egocentric memory in R6/1 mice.

2.4. Regulation of *Egr1* protein and perineuronal nets during egocentric memory is impaired in the striatum of R6/1 mice

Immunohistological analyses were then performed to provide functional evidence for altered activity-regulated reprogramming of BDNF- and TGF β /ECM-related markers in the striatum of R6/1 mice during DH memory task. First, IHC targeting IEGs showed that, in WT animals, *Egr1* and *Fos* peaked in dorso-median striatum (DMS) and dorso-lateral striatum (DLS) during acquisition and recall, respectively (Fig. 3A). This was in agreement with early and late implications of the DMS and DLS, respectively, in striatum-dependent learning (Kupferschmidt et al.,



(caption on next page)

Fig. 2. Transcriptional reprogramming of BDNF and TGF β signaling genes during memory process is impaired in R6/1 striatum. (A) Numbers of DEGs (adj. P val<0.1) during memory acquisition (Acq vs HC) and recall (recall vs HC) in WT and R6/1 striatum (Top). Overlapping down- (blue) and up- (red) regulated genes during acquisition (Acq) and recall in WT and R6/1 striatum (Middle). Overlapping WT (blue) and R6/1 (yellow) down- and up-regulated genes during memory acquisition and recall (Bottom). (B) Heatmap of z-score expression values representing 50 top-ranked up-regulated genes during memory acquisition (Acq. vs HC) and recall (Recall vs HC) in WT striatum. Genes also up-regulated in R6/1 mice are highlighted (*). (C) Functional enrichment analyses of up-regulated genes during memory acquisition and recall in WT striatum. Pathway analysis using BioPlanet database (Top), transcriptional regulators analysis using ChEA database (Bottom). Top 10 significant terms (adj. P val<0.05) are shown. (D) mRNA levels (mean + sem) of *Egr1*, *Egr2*, *Egr4*, *Thbs1*, *Tgfb2* and *Col1a2*. Expression values and statistics from RNAseq data. RPK, reads per kilobases. *, adj. P val< 0.05, R6/1 vs WT comparison; \$, adj. P val< 0.05, Acq./Recall vs HC comparison. (F) Volcano plot showing neuronal or glial specificity of up-regulated genes during memory acquisition (Acq.) and recall in WT striatum. Genes enriched in neurons or glia (FC>1 and adj. P val<0.05) in purple and green, respectively.

2017; Yin et al., 2009). Moreover, spatio-temporal dynamics of Egr1 during memory task was dramatically impaired in R6/1 striatum, since Egr1 was not induced in the DMS and DLS, be it during memory acquisition or recall (Fig. 3A). In contrast, consistent with transcriptomic data, Fos was induced by memory process in R6/1 striatum (Fig. 3A). Second, to assess whether ECM might be functionally modulated by mutated HTT during DH memory task, we performed IHF experiments on R6/1 and WT mice, using the lectin Wisteria floribunda Agglutinin (WFA), a marker of perineuronal nets (PNNs) (Fig. 3B). PNNs are pericellular ECM structures involved in memory consolidation, promoting the positioning of synapses and the stabilization of circuits re-organized during memory formation (Fawcett et al., 2019). PNNs associated with parvalbumin positive (PV $^{+}$) and negative (PV $^{-}$) neurons contribute to the mechanism in the striatum (Fawcett et al., 2019; Lee et al., 2012). Remarkably, PNNs were diminished in R6/1 vs WT striatum and, particularly in the DMS, the number of PV-associated PNNs was dramatically reduced (Fig. 3B). Moreover, analysis of PV-associated PNNs in the DMS showed significant genotype/memory interaction, indicating increased PNNs in WT DMS by memory, which did not occur in R6/1 DMS (Fig. 3B). The results were consistent with earlier circuit stabilization in WT DMS rather than DLS, in agreement with predominant engagement of the DMS vs DLS during striatum-dependent learning, and provided evidence for altered PNN formation at PV striatal cells during consolidation/recall in R6/1 mice. Thus, activity-dependent regulation of striatal plasticity markers was also altered at functional level in R6/1 mice.

2.5. Egocentric memory and HD-associated transcriptional effects interact in mouse striatum

We then investigated the interaction between memory process and genotype, comparing DEGs in R6/1 vs WT samples in memory and HC conditions. Thousands of genes were down- and up-regulated in R6/1 vs WT mouse striatum in the three behavioral conditions (e.g. HC, acquisition and recall), revealing major genotype effect (Fig. 4A). DEGs strongly overlapped across behavioral conditions, accounting for common functional signatures. Particularly, down-regulated genes in R6/1 vs WT striatum across different behavioral conditions shared neuronal identity markers (e.g. *Drd1*, *Drd2* and *Darpp32*...), and were strongly enriched in neuronal-related pathways, including “Neuronal system” and “calcium signaling pathway” (Figs. 4B, C, S3A; Table S1). Moreover, DEGs in R6/1 vs WT samples also showed functional signatures specific to each behavioral context. For example, decreased genes in R6/1 vs WT striatum were specifically enriched in MAPK and Wnt signaling in HC animals, whereas they were enriched in BDNF and TGF β signaling during acquisition and recall, respectively, further supporting a role of these two cellular plasticity pathways in early and late phases of memory process (Fig. 4C; Table S1). Additionally, using co-expression module identification tool (CEMiTool) (Russo et al., 2018), we identified 8 modules of coregulated genes reflecting genotype and/or memory effects (Fig. 4D; Table S2). Specific functional signatures associated with each module (Figs. 4E, F, S3B; Table S2). Genotype-specific modules M1 and M5 displayed striatal identity and myelination signatures, respectively (Figures S3B, S3C). M7 comprised BDNF/AP-1-related up-regulated genes by memory, to lesser extent in HD context though, whereas

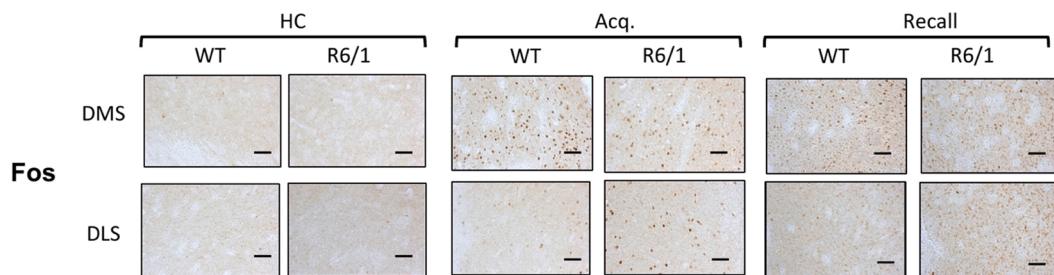
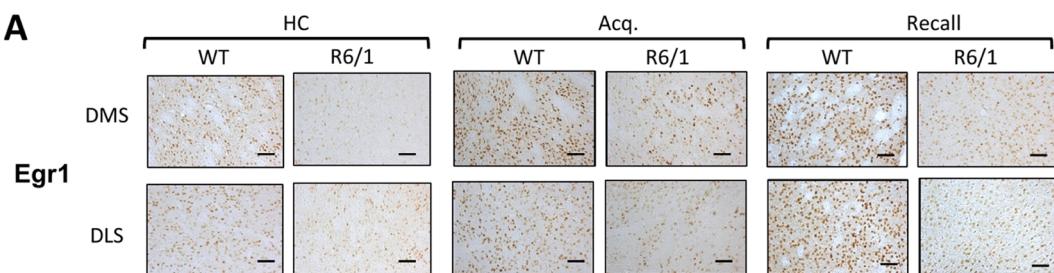
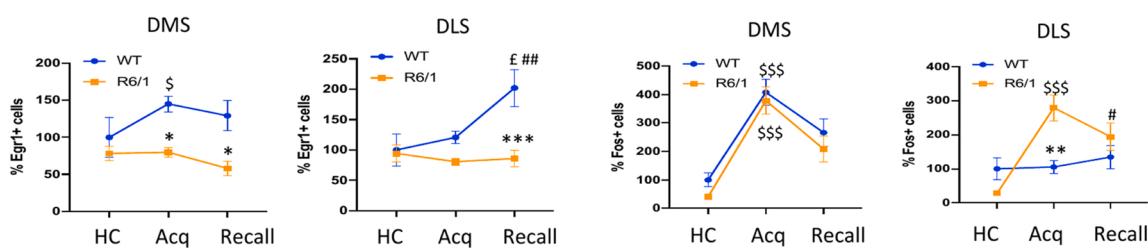
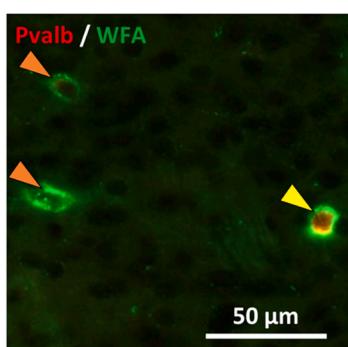
M3 contained TGF β /ECM-related genes that were specifically up-regulated during recall in WT samples (Fig. 4E, F). Additional modules, including neuronal transmission-enriched module M2, comprising up-regulated genes by memory in R6/1 -but not WT striata-, reflected interaction between memory and genotype effects (Fig. S3B; Table S2). Together, those analyses showed interaction between memory and genotype effects on striatal transcriptome, and further highlighted dysregulation of BDNF and TGF β signaling and neuronal-related processes in the striatum of R6/1 mice.

2.6. Memory-associated 3D chromatin remodeling is reduced at striatal plasticity genes in HD R6/1 mice

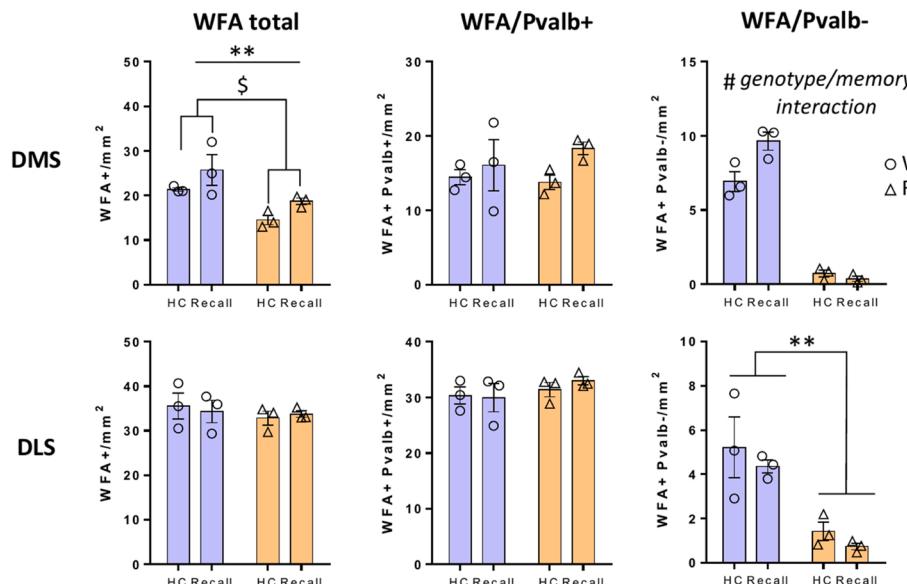
To determine whether chromatin-based mechanisms might underlie altered dynamics of activity-regulated genes in R6/1 striatum, we investigated 3D chromatin architecture changes during memory acquisition in the DH by using 4Cseq experiments, focusing on striatal plasticity markers (Fig. S2A). We selected *Egr4*, *Fos*, *Npas4* and *Nr4a1* (i.e. IEGs), and as non-IEG controls, *Darpp32* and *Kdm5c*, showing unchanged expression by memory (Figs. 5A, S2D, S4A, S4B). IEG promoters underwent dramatic spatial re-organization during memory process, in both WT and R6/1 samples, which was not observed in non-IEG control promoters (Figs. 5B, S4C; Table S3). Remarkably however, chromatin remodeling in response to memory was reduced in R6/1 vs WT striatum (Figs. 5C, S4C). Moreover, interacting regions overlapped to lesser extent between WT and R6/1 samples at IEGs, when compared to non-IEGs, suggesting that different regulatory regions were recruited to IEG promoters between WT and R6/1 samples (Figs. 5D, S4D). Thus, altered activity-dependent 3D chromatin re-arrangement in R6/1 striatal tissue associated with defective induction of cellular plasticity genes in R6/1 mice.

2.7. H3K9ac is a striatal mnemonic substrate, which is impaired in HD R6/1 mice

To further assess the role of epigenetic regulation in altered activity-regulated gene program in R6/1 mice, we then investigated histone acetylation. We generated ChIPseq data using striatal tissues of R6/1 and WT mice subject to the DH task, following the probe test, to capture late response associated with memory process (Figure S2A). Striatal tissues from HC animals were used as controls. We investigated H3K27ac, which is depleted in striatal neuron identity genes in HD, and H3K9ac (Figure S5) (Achour et al., 2015; Alcalá-Vida et al., 2021b; Jin et al., 2011; Tie et al., 2009). Overall, H3K27ac and H3K9ac signals were strongly positively correlated, and were also correlated with transcriptional activity, in both HC and memory conditions (Figure S5). We then identified differentially enriched regions (DER) in H3K27ac and H3K9ac (Figure S6A; Dataset S3). Focusing first on genotype effect, we found that thousands of genomic regions were differentially enriched in H3K27ac and H3K9ac, comparing R6/1 vs WT striatal tissues, with both marks predominantly depleted, whatever behavioral condition (Fig. 6A, 6B). H3K27ac, H3K9ac and transcriptional changes between R6/1 and WT samples were strongly correlated, suggesting causality between histone acetylation and transcriptional variations induced by mutated HTT (Figures S6B-S6E). Remarkably, H3K9ac DER between R6/1 and

A**Egr1****Fos****B**

Yellow arrowhead: WFA+/Pvalb+
Orange arrowhead: WFA+/Pvalb-



(caption on next page)

Fig. 3. Activity-regulated markers of neural plasticity are altered at protein levels in R6/1 mice. (A) Representative images of Egr1 and Fos immunostaining in R6/1 and WT DMS and DLS in HC and recall conditions (Left). Scale bar, 10 μ m. Percentage of Egr1- and Fos-positive cells (mean + sem) in DMS and DLS of 14-wk old R6/1 and WT mice in HC during memory acquisition (Acq) and recall (Right). Two-way ANOVA, Tukey post-hoc test. Egr1/DLS: interaction genotype/memory state, $F(2,38)=4.5$, $P=0.017$; Fos/DLS: interaction genotype/memory state, $F(2,38)=6.9$, $P=0.0027$. *, $P<0.05$, **, $P<0.01$ and ***, $P<0.005$ (R6/1 vs WT); \$, $P<0.05$, \$\$\$, $P<0.005$ (Acq. vs HC); £, $P<0.05$ (Recall vs Acq); #, $P<0.05$, ##, $P<0.01$ (Recall vs HC). N = 7–8 replicates (B) Representative image of WFA (green) and parvalbumin (Pvalb, red) striatal immunostaining (Left). Orange arrows point to WFA+ /Pvalb- cells and yellow arrow to WFA+ /Pvalb+ cell. Scale bar, 50 μ m. Density (cells/mm²) of total WFA+, WFA+/Pvalb+ and WFA+/Pvalb- cells in the DMS (up) and DLS (down) of R6/1 and WT mice in HC and recall conditions (Right). Two-way ANOVA, Tukey post-hoc test. WFA+ total/DMS: **, $P<0.01$, R6/1 vs WT, \$, $P<0.05$, Recall vs HC; WFA+/Pvalb-/DMS: interaction genotype/memory state, $F(1,8)=10.67$, $P=0.0114$; WFA+/Pvalb-/DLS: **, $P<0.01$, R6/1 vs WT. N = 3 replicates.

WT samples were reduced in memory compared to HC condition (Fig. 6B), whereas DER were in similar numbers in the case of H3K27ac (Fig. 6A). Functional analyses supported specific effect of memory on H3K9ac regulation in R6/1 mice. Signatures associated with depletion or enrichment of H3K9ac in R6/1 vs WT samples in HC condition vanished in memory condition (Fig. S7A, Table S4), whereas they remained relatively preserved in the case of H3K27ac (Fig. S7B, Table S4). Thus, H3K27ac and H3K9ac regulations were both dramatically impaired in the striatum of R6/1 mice, but memory specifically affected H3K9ac changes in R6/1 mice.

To further investigate the relationship between H3K9ac and memory deficit in R6/1 mice, we compared H3K9ac between HC and memory conditions in WT and HD situations (Figs. 6C, S6A; Dataset S3). Same analyses were performed using H3K27ac ChIPseq datasets (Figure S6A; Dataset S3). In WT animals, 5022 regions were differentially enriched in H3K9ac in memory vs HC conditions, with 2646 and 2376 regions showing increased and decreased H3K9ac, respectively (Fig. 6C). In contrast, in R6/1 mice, only 201 regions were differentially enriched in H3K9ac comparing memory vs HC samples, with 141 and 60 regions increased and decreased in H3K9ac, respectively (Fig. 6C). The effect was specific to H3K9ac, since for H3K27ac no regions were differentially enriched by memory, whatever the genotype (Fig. S6A). Metaprofile analysis further showed that WT regions enriched in H3K9ac during memory process displayed abnormally elevated basal H3K9ac levels in R6/1 samples. Conversely, WT regions depleted in H3K9ac upon memory had lower basal H3K9ac levels in R6/1 mice (Fig. 6D). Thus, R6/1 striatal chromatin in basal state showed features normally acquired during memory process in WT mice, which could contribute to loss of chromatin responsiveness upon stimulation. In support to this notion, linear regression analysis showed positive correlation between changes in H3K9ac induced by mutated HTT and memory process (Fig. 6E). Thus, our data demonstrate that H3K9ac is a striatal mnemonic substrate of egocentric spatial memory, and support the view that the HD mutation leads to dramatic reduction of memory-associated H3K9ac striatal changes, likely due to abnormal H3K9ac basal levels at physiologically activity-regulated genomic regions.

2.8. Activity-regulated H3K9ac deposition at neural plasticity and myelination genes is impaired in the striatum of HD R6/1 mice

We then investigated functional signatures associated with H3K9ac changes during memory process in WT and R6/1 situations. Regions differentially enriched by memory in the striatum of WT mice displayed specific signatures, including neurodevelopmental/plasticity-related signatures (Figs. 7A, S7B, S7C, Table S4). Noticeably, those signatures implicated TGF β and BDNF signaling, which formed interconnected network, as well as Notch and Wnt pathways (Fig. 7A, B). In contrast, the few R6/1 regions subject to changes in H3K9ac by memory did not show significant signatures (Figs. 7A, S7C, Table S4). Thus, memory-associated reprogramming of plasticity genes was impaired in R6/1 mouse striatum at both transcriptional and epigenetic levels.

We noticed that memory-associated TGF β signature comprised regulators of myelination (e.g. *Zeb2/Sip1, Smad7, Bmp4, Smad1*) (Fig. 7B; Table S3) (Weng et al., 2012). Moreover, complementary enrichment analysis using GREAT, a tool dedicated to ChIPseq data analysis (McLean et al., 2010), showed significant myelination signature

associated with genes enriched in H3K9ac by memory process in WT samples -in addition to cellular plasticity signature-, which was impaired in R6/1 samples (Fig. 7C, D; Table S4). Thus, those analyses suggested implication of glial cells, notably oligodendrocytes (OL), during physiological egocentric memory consolidation/recall, which was compromised in R6/1 mice. To specify cellular origin of memory-regulated H3K9ac regions in WT striatum, we first performed transcriptional regulator analysis using ChEA, which showed that H3K9ac-increased genes during memory were significantly enriched in master genes of glial fate, particularly oligodendrocytes (OLs) (e.g. SMARCA4, OLIG2) (Fig. 7E; Table S4). Second, integration of H3K9ac ChIPseq data with neuronal and non-neuronal striatal enhancer database (Alcalá-Vida et al., 2021b) demonstrated that H3K9ac-increased regions by memory were strongly enriched in glial-specific enhancers, related to TGF β -signaling genes, in contrast to hypoacetylated regions by memory showing neuronal specificity (Figs. 7F, G, S7D). Third, integration of H3K9ac ChIPseq data with single-cell ATACseq data generated on mouse striatum (Zhong et al., 2021) showed that H3K9ac hyperacetylated regions in response to memory were enriched in glial-specific accessible chromatin, including OL-specific accessible chromatin (Fig. 7H). Thus, physiological egocentric memory consolidation/recall led to epigenetic tagging of glial-specific plasticity genes, including TGF β -related and myelination genes, which was impaired in R6/1 mice.

Though transcriptomic analyses did not highlight memory-related myelination/OL signature, z-score analysis of RNAseq data for myelination genes showing increased H3K9ac during memory recall in WT samples indicated transient transcriptional up-regulation during memory acquisition (Fig. 8 A; Table S4). Similar result was obtained using top markers of myelinating OLs, as defined (Marques et al., 2016) (Figure S8A; Table S4). Moreover, distribution analysis of myelination genes further supported a correlation between H3K9ac changes during recall and transcriptional changes during acquisition, which showed same general directionality, whereas directionalities of epigenetic and transcriptional changes at same time point of memory process (e.g. recall) were opposite (Fig. 8B). In contrast, in R6/1 mice, myelination genes, which were down-regulated, were not induced either during memory acquisition or during recall (Figs. 8A, S8A; Table S4). As a result, temporal coupling between epigenetic and transcriptional changes at myelination genes was altered in R6/1 mice, possibly impairing H3K9ac-mediated establishment of epigenetic memory associated with consolidation/recall (Fig. 8B).

Memory-dependent myelination has been associated with transient decreased proliferation of oligodendrocyte precursors (OPC), which creates time-window promoting differentiation to myelinating OLs and myelin production, contributing to consolidation and recall (Xin and Chan, 2020). To investigate OPC proliferation in the striatum of WT and R6/1 mice during the DH memory task, we treated mice with thymidine analogue 5-Ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) (Fig. 8C). Co-labeling of EdU and Pdgfra, an OPC-specific marker, showed that memory led to reduction in OPC proliferation in both WT and R6/1 striatum (Figs. 8C, S8B). Whereas the results were consistent with increased differentiation to myelinating OLs, they indicated that downstream mechanism to inhibition of OPC proliferation might underlie impaired regulation of myelination genes in R6/1 mice. In support to this hypothesis, targets of BMP/TGF β (e.g. *Smad1*) and Wnt (e.g. *Ctnnb1*/ β -Catenin) signaling, which antagonize OL differentiation, were up-regulated in R6/1

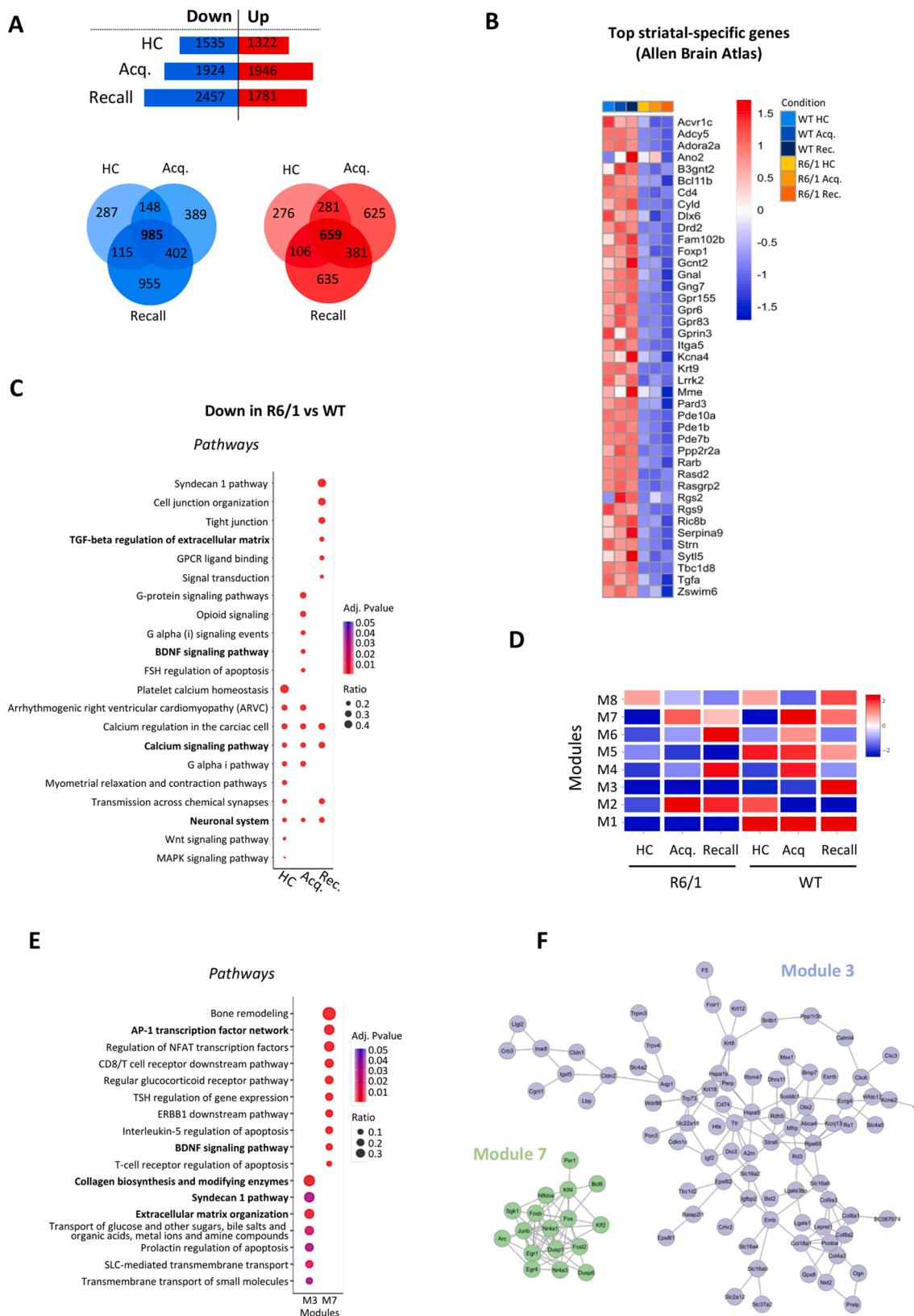


Fig. 4. Egocentric memory and HD-associated transcriptional effects interact in the striatum. (A) DEGs in R6/1 vs WT striatum (adj. P val<0.05) in HC and memory (Acquisition -Acq- and Recall) conditions (Top). Overlapping down- (blue) and up- (red) regulated genes in R6/1 vs WT mice in HC, Acq. and Recall conditions (Bottom). (B) Heatmap of z-score expression values representing 50 top striatal markers in Allen Brain Atlas for the different conditions. (C) Pathway analysis (BioPlanet) of down-regulated genes in R6/1 vs WT striatum in HC, Acquisition and Recall conditions. Top 10 significant terms (adj. P val<0.05) are shown. (D) Heatmap showing modules normalized enrichment score (NES) identified by CEMiTTool analysis. (E) Pathway analysis (BioPlanet) of modules M3 and M7 (F) String network analysis of modules M3 and M7.

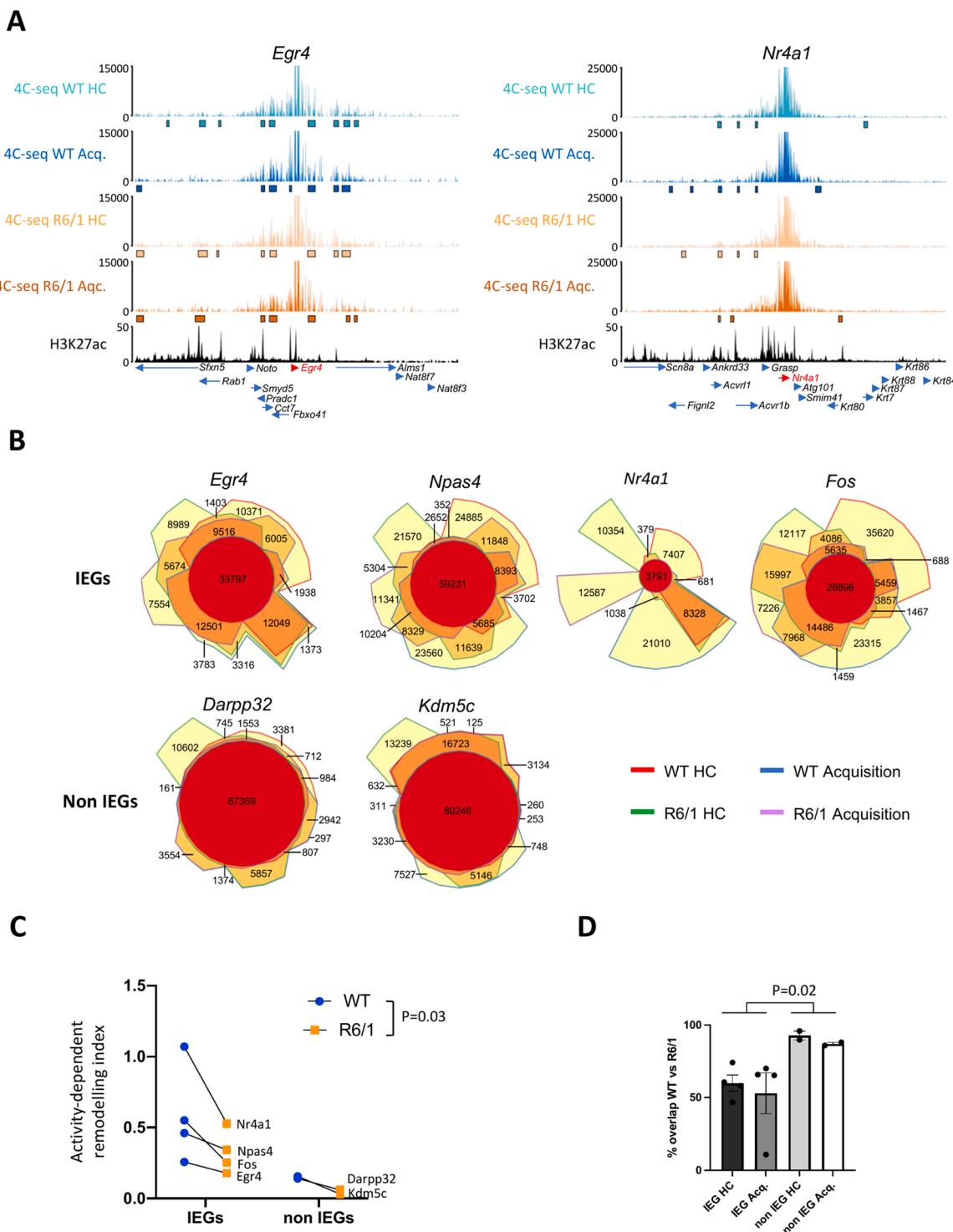


Fig. 5. Memory-associated 3D chromatin remodeling is reduced at IEGs in R6/1 striatum. (A) Striatal 4Cseq profiles for *Egr4* and *Nr4a1* loci are shown as examples. On the y axis, quantile normalized reads for each 4Cseq dataset, showing signal coverage of regions interacting with *Egr4* and *Nr4a1* promoters. Boxes below each data track represent significant promoter interactions detected for each condition (i.e. WT HC, WT Acq, R6/1 HC, R6/1 Acq). Below 4Cseq tracks, striatal H3K27ac ChIPseq coverage (black) and gene annotations. (B) Chow-Ruskey plots showing overlapping interacting regions (in bp) between the different conditions for IEGs (*Fos*, *Npas4*, *Egr4* and *Nr4a1*) and non-IEGs (*Ppp1r1b* and *Kdm5c*). Yellow = no overlap, faint orange = 2 datasets overlap, dark orange = 3 datasets overlap, red = 4 datasets overlap. (C) Activity-dependent 3D chromatin remodeling index computed for IEGs and non-IEGs using 4Cseq data generated on WT (blue) and R6/1 (orange) striatum, as follows: interacting regions specific to memory condition / total interacting regions in HC. Wilcoxon test ($P = 0.03$, R6/1 vs WT). (D) Percentage of overlapping interactions in R6/1 and WT samples in HC and memory conditions for IEGs and non-IEGs genes. Kruskal-Wallis test ($P = 0.02$, IEGs vs non-IEGs).

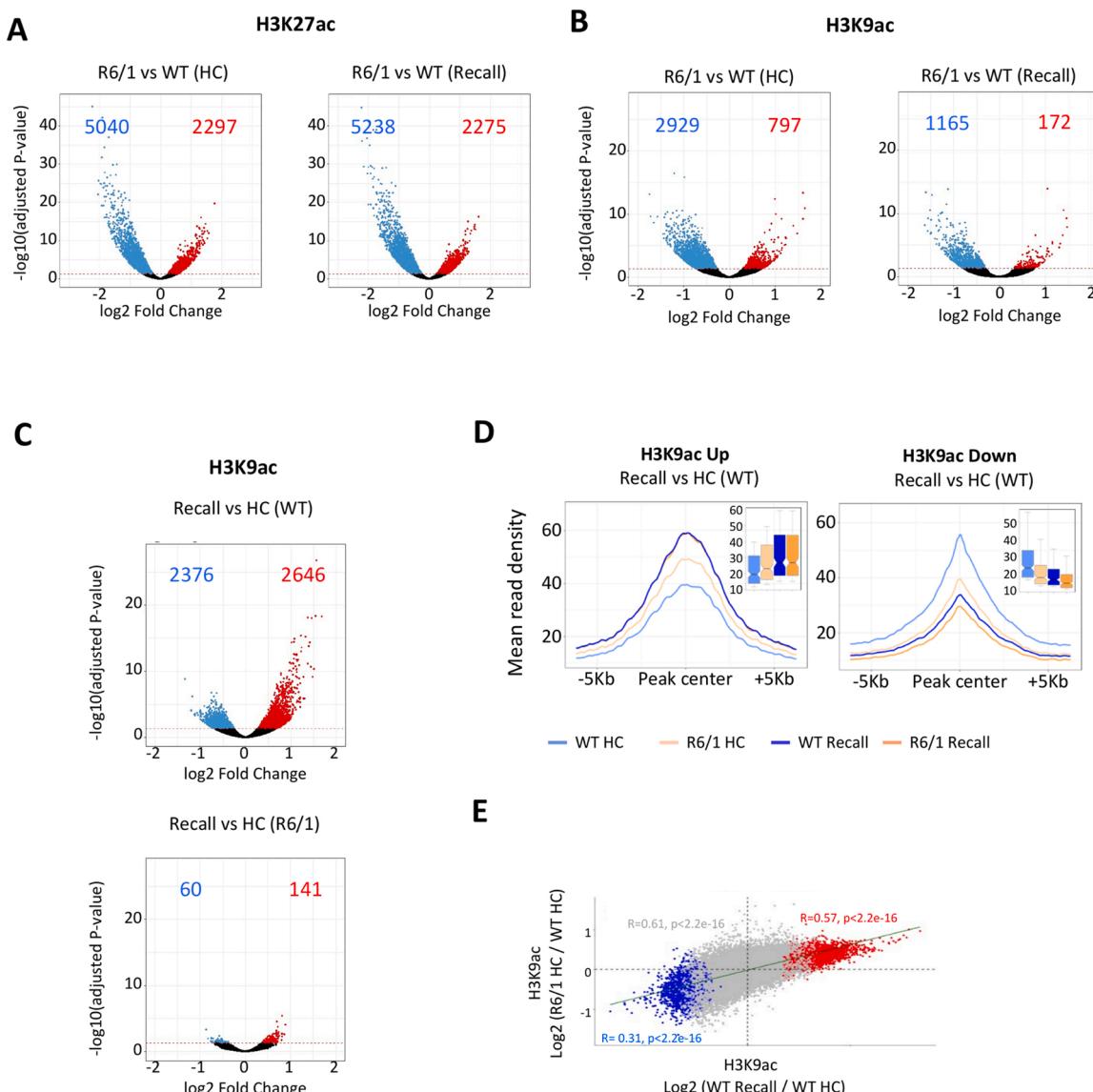


Fig. 6. HD- and memory-associated regulations of H3K27ac and H3K9ac in mouse striatum. (A-B) Volcano plots representation of H3K27ac (A) and H3K9ac (B) DERs in R6/1 vs WT striatum in HC and memory (Recall) conditions. Decreased and increased regions in blue and red, respectively (adj. P val < 0.05). N = 2. (C) Volcano plots representation of H3K9ac DERs in HC vs Recall conditions for WT (Top) and R6/1 (Bottom) mice. Decreased and increased regions in blue and red, respectively (adj. P val < 0.05). N = 2. (D) Metaprofiles showing H3K9ac mean signals in WT HC, R6/1 HC, WT Recall and R6/1 Recall conditions, considering increased (Up) and decreased (Down) H3K9ac regions by memory recall in WT. Boxplots represent the distribution of mean read density. (E) Linear regression analysis of H3K9ac changes, comparing R6/1 HC vs WT HC changes (y-axis) and WT Recall vs WT HC changes (x-axis). The correlation is shown for significantly decreased (blue) and increased (red) H3K9ac regions and for non-significantly altered regions (grey) in WT Recall vs WT HC comparison. Pearson's correlation index and P value for fitted linear model are shown.

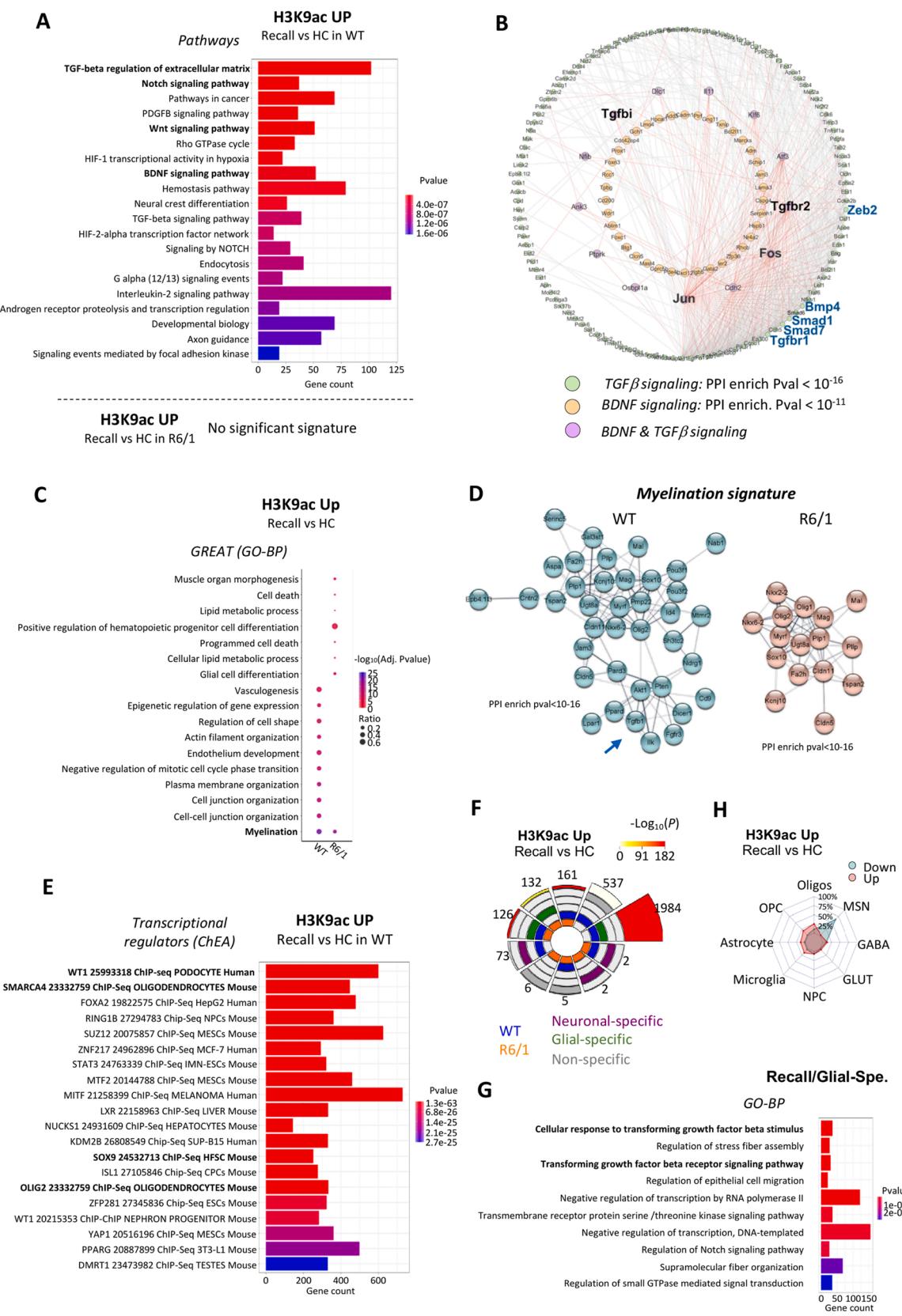
striatum (Fig. S2D) (Weng et al., 2012; Ye et al., 2009), and mRNA and protein levels of Ermin, a terminal regulator of OL differentiation implicated in myelin maintenance (Wang et al., 2020), were diminished in R6/1 striatum, particularly after recall (Figs. S8C, D). This suggests that abnormal activation of cellular plasticity/neurodevelopmental pathways in R6/1 striatum inhibits activity-regulated OL differentiation, underlying impaired epigenetic and transcriptional reprogramming of myelination genes required for memory consolidation/recall.

3. Discussion

We generated multiomics data, which provide evidence that egocentric spatial memory deficit in HD R6/1 mice results from defective activity-regulated epigenetic reprogramming of striatal genes controlling neural plasticity. First, spatial chromatin re-organization and

transcriptional induction at critical BDNF-associated markers of neuronal plasticity was impaired from early stage of memory process (e.g. during acquisition) in the striatum of R6/1 mice. Second, the regulation of glial plasticity genes, controlling TGF β -dependent ECM remodeling and myelination and associated with late phase of egocentric memory process (e.g. consolidation/recall), was also impaired in R6/1 striatum. Our ChIPseq data targeting histone acetylation further showed that dysregulation of H3K9ac during memory processing contributes to such an impairment, impeding the establishment of epigenetic memory at striatal plasticity genes.

Despite heavy burden, cognitive alterations in HD have remained less characterized than motor symptoms. One reason might be limitation in reliable, rapid and translational tests, assessing specificity of HD cognition. Nonetheless, a wide range of cognitive functions are affected in HD, including spatial memory (Davis et al., 2003; Glikmann-Johnston



(caption on next page)

Fig. 7. Activity-regulated H3K9ac at neural plasticity genes is impaired in R6/1 striatum. (A) Pathway analysis (BioPlanet) of genes associated with increased H3K9ac in WT Recall vs WT HC comparison (adj. P val<0.05). Top 10 significant terms are shown (Top). Similar analysis using genes associated with increased H3K9ac in R6/1 Recall vs R6/1 HC did not show significant signature (Bottom). (B) String network analysis of genes associated to 'TGF-beta regulation of extracellular matrix' (green) and 'BDNF signaling pathway' (yellow) signatures shown in (A). Common genes between the two pathways are depicted in the intermediate circle (purple). In blue, genes implicated in oligodendrocyte differentiation. (C) GREAT analysis (GO-BP) of H3K9ac regions showing increased H3K9ac in recall vs HC for WT and R6/1 samples (adj. P val<0.05). Heatmap representation of adj. P val associated to top 10 terms (adj. P val<0.05). (D) String network analysis of genes associated to myelination signature shown in (C) for analyses of WT (blue) and R6/1 (red) situations. (E) Transcriptional regulator analysis (ChEA) of genes showing increased H3K9ac in WT Recall vs WT HC comparison (adj. P val<0.05). Top 10 significant terms are shown. (F) Circular plot representing intersections between H3K9ac-increased regions during memory recall in R6/1 (orange) and WT (blue) situations and neuronal-specific (purple), glial-specific (green) and non-specific (grey) striatal enhancers. Numbers of intersecting regions are shown. Statistics associated to intersections are shown as heatmap of P values. (G) Enrichment analysis (GO-BP) of genes associated to intersecting regions between H3K9ac-increased regions during memory recall in WT and glial-specific enhancers. Top 10 significant terms are shown. (H) Radar plot showing cell-type specific distribution of H3K9ac-increased (UP, red) and H3K9ac-decreased (DOWN, blue) regions during memory recall in WT mice, when intersected with single nuclei striatal ATACseq data. Percentages were computed from total intersected regions.

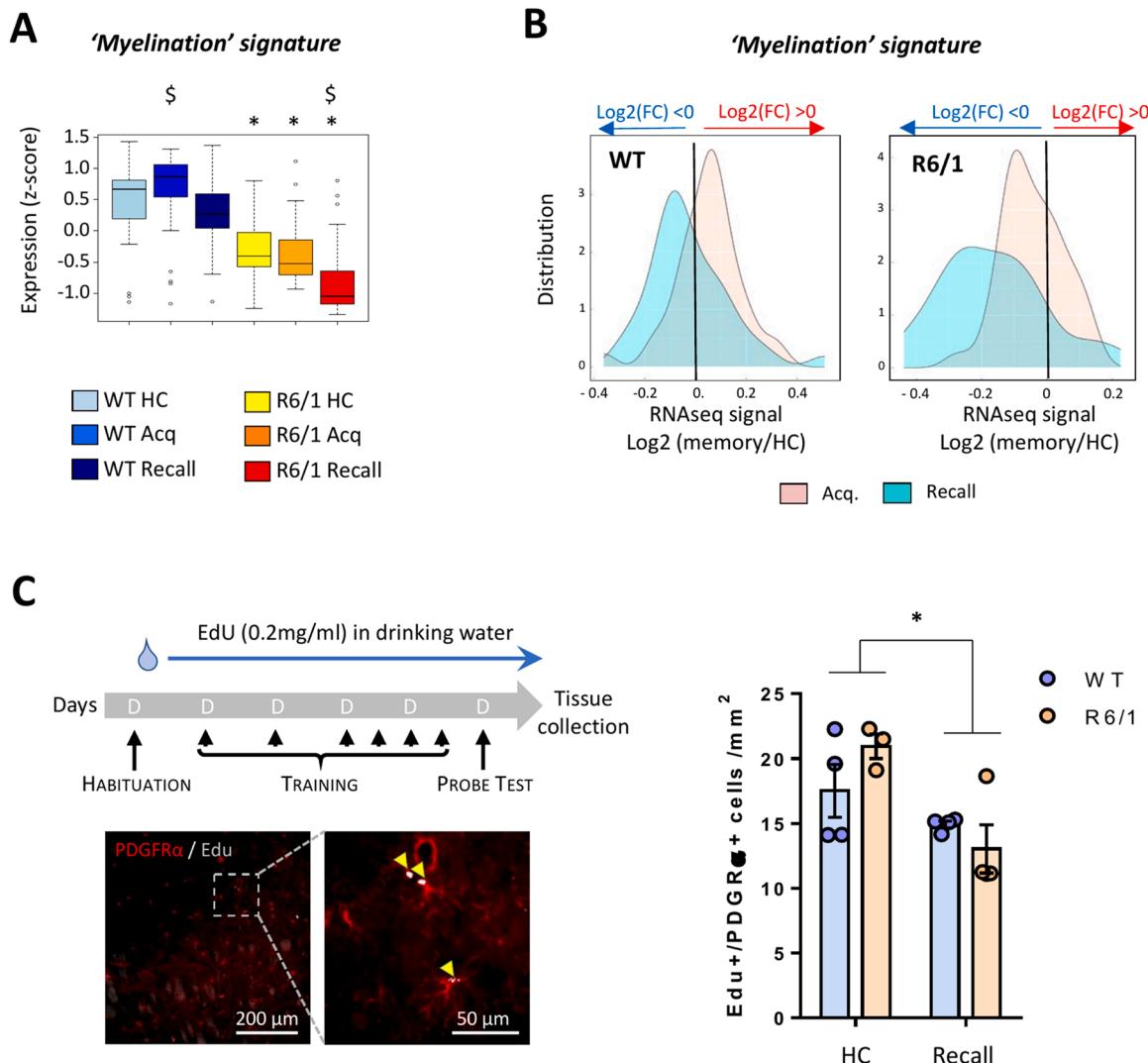


Fig. 8. Activity-regulated myelination program is impaired in R6/1 striatum. (A) Boxplot representing mean z-score values of genes defining recall-associated H3K9ac 'myelination' signature in WT, shown in Fig. 7 C. Values computed from RNAseq data. Kruskal-Wallis test, Benjamini-Hochberg test for post-hoc test. \$, adj. P val< 0.05, memory vs HC; *, adj. P val< 0.05, R6/1 vs WT. (B) Plots representing distributions of transcriptional change directionality of genes defining recall-associated H3K9ac 'myelination' signature. Distributions were computed for transcriptional changes associated to memory acquisition (Acq, red) and Recall (green) (WT, Left; R6/1, right). Positive ($\text{Log}_2(\text{FC}) > 0$) and negative ($\text{Log}_2(\text{FC}) < 0$) directionality of transcriptional changes are delimited using red and blue arrows, respectively. (C) Protocol used to assess OPC proliferation during egocentric memory task (Top, left). Representative image showing cells immunostained with PDGFRα (red) and Edu (grey) antibodies in WT HC striatum. Yellow arrows indicate co-labeled cells. Scale bars of 200 μm and 50 μm for low and high magnifications, respectively (Bottom, left). Numbers of Edu+ / PDGFRα cells per mm² (mean \pm sem) for WT (blue) and R6/1 (orange) striatum in HC and Recall conditions. Two-way ANOVA (Genotype effect). *, $P < 0.05$, recall vs HC comparison. N = 3–4 replicates (Right).

et al., 2019; Lawrence et al., 1998; Pirogovsky et al., 2015). Whereas both striatum- and hippocampus-dependent memories were impaired in manifest HD patients, fMRI analysis during route recognition task

showed increased recruitment of the hippocampus in premanifest and early-stage manifest HD patients, as compared to controls, suggesting primary alteration of striatum-dependent memory and compensation by

hippocampal memory (Majerova et al., 2012; Voermans et al., 2004). This hypothesis was supported by previous study in HD mice showing preferentially use of allocentric vs egocentric strategy in a navigation task permitting both responses (Ciamei and Morton, 2009). Our behavioral data support those results, showing that, in contrast to the striatum, the hippocampus remains memory-competent and better preserved than the striatum at early disease stage. Moreover, hippocampal RNAseq data (e.g. PCA and differential analysis) showed less variability and fewer dysregulated genes due to genotype, when compared to striatal analysis (Fig. S9A-C, Table S6). Finally, our study –the first using the DH maze in HD context– indicates that probing egocentric spatial memory might be suitable to translational studies.

Previous studies using brain tissues of HD patients and mice in basal state defined signatures and temporal dynamics of HD epigenomic alterations (Alcalá-Vida et al., 2021b; Bai et al., 2015; Guiretti et al., 2016; Horvath et al., 2016; Vashishtha et al., 2013). Particularly, they showed an acceleration of age-related striatal epigenetic changes, which correlated with transcriptional changes, suggesting a role in pathogenesis (Alcalá-Vida et al., 2021b). Screening and functional studies in cell or animal models supported causal relationship, showing that manipulation of numbers of dysregulated genes can accelerate or slow down striatal toxicity of mutant HTT, due to gain/loss of pathogenic/compensatory effects (Al-Ramahi et al., 2018; Consortium, 2017; Megret et al., 2021; Wertz et al., 2020). However, how epigenetic and transcriptional alterations in HD translate into behavioral symptoms has remained unclear. Our ChIPseq, 4Cseq and RNAseq datasets generated in behaving animals, thus probing activity-regulated epigenomic and transcriptomic signatures in the striatum, provide first answers to that question. We show that striatal activity-regulated epigenetic gene reprogramming is impaired from acquisition in early symptomatic HD R6/1 mice. Specifically, transcriptional induction of neuronal plasticity markers, particularly IEGs involved in BDNF signaling, was hampered in the striatum of R6/1 mice. Our data indicate that dysregulation of IEG transcriptional regulators (e.g. SRF and RARB) and altered remodeling of 3D chromatin architecture both contribute to impaired activation of BDNF target genes during memory process in HD mouse striatum. Remarkably, the regulation of AP-1 factors, including *Fos*, was less affected in the striatum of HD R6/1 mice than that of *Egr* genes, which are strongly dependent on SRF, likely due to sustained expression of CREB, which is a major transcriptional regulator of AP-1 (Yap and Greenberg, 2018). Interestingly enough, we measured substantial induction of *Fos* during egocentric memory acquisition in R6/1 vs WT striatum, despite altered activity-dependent remodeling of 3D chromatin architecture at *Fos* locus. This might suggest that alternative enhancers are involved in *Fos* regulation during behavioral task in R6/1 vs WT mice. IHC analyses supported the transcriptomic data, showing dysregulation of *Egr1* protein in R6/1 striatum during egocentric memory task, and relative preservation of *Fos* protein dynamics. Specifically, *Egr1* induction was impaired in R6/1 DMS and DLS during memory acquisition and recall, respectively. Since DMS and DLS are implicated in memory encoding and storage, respectively (Perrin and Venance, 2019), altered spatio-temporal regulation of *Egr1* in R6/1 striatum might prevent coupling between neuronal networks established during early and late phases of memory process, especially since *Egr1* is a major target of BDNF signaling in the striatum, regulating neuronal plasticity and memory consolidation/reconsolidation (Keilani et al., 2012; Veyrac et al., 2014). Interestingly, BDNF signaling was previously implicated in HD, since mutated HTT was shown to affect the levels, transport and release of BDNF to cortico-striatal synapse, thereby leading to reduced survival of striatal neurons (Canals et al., 2004; Gauthier et al., 2004). Thus, our data provide additional insight, showing altered activity-regulated epigenetic gene control of BDNF signaling in HD mouse striatum during cognitive task. Moreover, they identify *Egr1* as a critical factor of the mechanism.

Though we cannot formally rule out stress-related component in IEG activation during behavioral task in the double-H, particularly since HC

control animals used in our experiments were not subject to swimming, our data show similarities between BDNF signature determined in the striatum during egocentric spatial memory and BDNF signature identified in the hippocampus following several memory paradigms, including contextual fear conditioning, novel context exploration and allocentric spatial navigation (Chatterjee et al., 2018; Fernandez-Albert et al., 2019; Halder et al., 2016; Marco et al., 2020). Nonetheless, our transcriptomic and IHC data also suggest a degree of tissue-specificity, likely due to differential contribution of *Egr1* and *Fos* in the mechanism. Complementary western-blotting analyses supported this view, showing that basal *Egr1* protein levels were more elevated in mouse striatum than in the hippocampus, whereas *Fos* levels were comparable in the two brain structures (Figure S9D). Moreover, *Egr1* was significantly reduced in the striatum of R6/1 vs WT mice, which was not the case for *Fos* (Figure S9D). Those features could contribute to particular sensitivity of the striatum to the HD mutation, and specific impairment of egocentric memory in HD. Together, our data suggest that both common and tissue-specific rules govern genomic reprogramming implicated in processing of memories engaging different brain structures.

Integrative analysis of memory-associated striatal H3K9ac ChIPseq and RNAseq data with cell-type-specific databases demonstrated activity-regulated reprogramming of glia-enriched, TGF β -dependent ECM genes during memory consolidation/recall in the striatum. Specifically, our analyses support epigenetic and transcriptional control of TGF β signaling driving glial-dependent plasticity, associated with late memory process. Those results are in line with previous studies showing that TGF β is predominantly produced by glial cells, controls cellular plasticity through ECM, and that non-neuronal plasticity contributes to stabilization of re-organized neuronal networks during memory consolidation and recall (Endo et al., 2015; Fawcett et al., 2019; Katsuno and Deryck, 2021; Rowlands et al., 2018; Zhang et al., 2014). Surprisingly however, while extensively investigated in cancer and development, the role of TGF β signaling in memory remains poorly documented. Yet, previous study using *Aplysia* and two-trial training task showed that primary and secondary activations of BDNF and TGF β signaling, respectively, contribute to long-term memory through synergistic regulation of molecular networks, a result reminiscent to our findings in mice (Kopeć et al., 2015). Consistently, our omics analyses suggest coupling between the two pathways, through AP-1 (Fig. 7B) and possibly *Egr1* (Bhattacharyya et al., 2011), which might help coordinating spatio-temporal regulation of memory-associated neuronal and non-neuronal plasticity. In this scenario, altered activity-regulated epigenetic and transcriptional reprogramming of TGF β signaling in R6/1 mice might be the consequence of impaired regulation of BDNF signaling. Alternatively, and not exclusively, defective regulation of Smad transcription factors and epigenetic regulators affecting H3K9ac, such as KAT2B/PCAF (Itoh et al., 2000; Nye et al., 2014) and/or other chromatin regulators, could impede TGF β regulation in HD context. For instance, *Wt1*, a top transcriptional regulator of epigenetic changes associated with memory consolidation/recall, which was dramatically increased in R6/1 vs WT striatum (Figs. 7E, S8E), could be such a chromatin regulator, especially since *Wt1* is a memory suppressor and a transcriptional repressor targeting *TGF β 1* and competing with *Egr1* through binding to same response element (Dey et al., 1994; Mariottini et al., 2019).

Interestingly, previous studies showed dysregulation of TGF β signaling in HD cell models, which was associated with pathogenic mechanism (An et al., 2012; Bowles et al., 2017). Additionally, consistent with our results showing reduced PNN PV neurons in R6/1 striatum, PNN loss, which was mediated by microglia, was observed in the striatum of HD transgenic R6/2 mice (Crapser et al., 2020). Thus, it is tempting to speculate that microglia contribute to altered regulation of PNNs in the striatum of behaving R6/1 mice. Yet, the identity of PNN-associated striatal neurons is unclear and might comprise somatostatin positive interneurons and/or a subpopulation of medium spiny neurons, as suggested (Lee et al., 2012). How TGF β signaling and

ECM/PNNs might interplay in the HD striatum remains elusive. Our analyses suggest a connecting role for *Thbs1*, an ECM glycoprotein promoting the conversion of latent TGF β stored in ECM, to active circulating form (Murphy-Ullrich and Suto, 2018). In support to this view, activity-dependent induction of *Thbs1* was suppressed in HD mouse striatum, due to abnormally elevated basal levels (Fig. 2D), perhaps linked to inflammatory process and microglia (Crapser et al., 2020; Katsuno and Derynck, 2021). Together, a role for microglia in altered interplay between TGF β signaling and ECM in the HD striatum is an intriguing hypothesis.

Activity-dependent myelination promotes memory consolidation/recall, facilitating stabilization of neuronal networks shaped during memory formation (Pan et al., 2020; Steadman et al., 2020; Xin and Chan, 2020). Our data suggest that activity-regulated epigenetic and transcriptional reprogramming of OL-specific genes drives such a mechanism. Moreover, our analyses show fine-tune temporal coupling between transcriptional and epigenetic regulations of OL-specific genes, and suggest interplay with TGF β signaling and neurodevelopmental pathways, which antagonize OL differentiation (Samanta and Kessler, 2004; Weng et al., 2012). Importantly, basal and activity-regulated epigenetic and transcriptional regulations of myelin genes was impaired in R6/1 striatum, suggesting a role for myelination mechanism in memory deficit in HD, a result in agreement with studies showing early structural impairment of myelin in HD patients and mouse models (Huang et al., 2015; Teo et al., 2016).

Finally, earlier studies suggested a role for histone acetylation in HD. Notably, CBP is recruited to aggregates formed by mutant Huntington, and H3K27ac, a bona-fide target of CBP (Tie et al., 2009), is depleted at neuronal identity genes in the HD striatum, suggesting causal relationship (Achour et al., 2015; Alcalá-Vida et al., 2021b; Nucifora et al., 2001; Steffan et al., 2001). Our epigenomic data identified a new histone acetylation mark -H3K9ac- contributing to impaired acetylome of the HD striatum. Neuronal identity genes were depleted in both H3K9ac and H3K27ac in R6/1 striatum (Figure S6E), suggesting single or convergent mechanism might lead to histone deacetylation at neuronal-specific genes in the HD striatum. Remarkably, H3K9ac was specifically modulated during memory consolidation/recall. It remains possible that H3K27ac contributes to early stage of memory process and H3K9ac drives late response. Nonetheless, our results showing diminished H3K9ac changes in HD mouse striatum during memory process support specific role for H3K9ac in HD cognitive deficits. Interestingly, regions changed in H3K9ac in R6/1 vs WT animals in resting state were similar to H3K9ac-regulated regions by memory in WT animals. To our knowledge, those results provide first indication that memory-specific epigenetic program is already primed in basal state in affected brain tissue in neurodegenerative disease. The mechanism could underlie lack of regulation during memory process and altered functional outcomes in HD, in line with previous report suggesting that histone acetylation-dependent neuronal activity-driven transcriptional response might present a maximum plateau (Lopez-Atalaya et al., 2013). Finally, it is tempting to speculate that KAT2B/PCAF, which targets H3K9ac (Jin et al., 2011), is implicated in the mechanism.

Collectively, our data support the hypothesis of epigenetic mechanism in egocentric spatial memory deficit in HD, and uncover new targets, particularly TGF β and H3K9ac, for the development of innovative therapeutic strategies.

4. Materials and methods

4.1. Animals

Heterozygous R6/1 mice (Mangiarini et al., 1996) were maintained on C57BL/6 J genetic background. All animal studies were conducted in accordance with French regulations (EU Directive 2010/63/UE –French Act Rural Code R 214–87–126). The animal facility was approved by veterinary inspectors (authorization no. E6748213) and complies with

the Standards for Human Care and Use of Laboratory Animals of the Office of Laboratory Animal Welfare. All procedures were approved by local ethics committee (CREMEAS) and French Research Ministry (no. APAFIS#504–2015042011568820v5 and APAFIS#10529–201707 0614283086). Mice were housed in a controlled-temperature room maintained on a 12 h light/dark cycle. Food and water were available ad libitum. For molecular analyses (RNAseq, ChIPseq, 4Cseq), mice were killed by cervical dislocation and their striata were rapidly dissected, snap frozen and stored at –80 °C. Genotyping was performed by PCR, using tail DNA obtained from 10 to 15-day-old mice with primers amplifying the CAG repeat region within the exon 1 of the human Huntingtin gene. Home cage (HC) control mice used throughout the study were housed in above-described standard conditions.

4.2. Behavioral tests

Generally, behavioral experiments were performed using at least 8–10 animals per group, and both male and female animals were tested when possible. All, behavioral tests were performed during the light phase.

4.2.1. Double-H maze

The double-H maze is a navigation test comprising 6 arms linked through a central corridor (north N, south S, north-east NE, south-east SE, north-west NW, south-west SW). It is filled with opacified water (21 °C) to approximately half its height. WT and R6/1 mice of 11 and 14 weeks (11 weeks: WT n = 27 (17 males, 10 females); R6/1 n = 23 (13 males, 10 females); 14 weeks: WT n = 28 (17 males, 11 females); R6/1 n = 23 (13 males, 10 females)). Mice were first habituated to the task (i.e. to escape water, reaching a platform). To this end, they were trained to reach a visible platform in the NW arm, a guillotine door blocking the access to the other arms. This single session consisted in 4 trials of 1 min. Second, during an acquisition phase lasting 4 consecutive days (1–2 sessions of 4 trials of 1 min each day were performed), mice, always released from the S arm, had to find a hidden platform always located in the NE arm. The N arm was closed by a transparent guillotine door. To learn how to locate the platform, mice had the possibility to develop an egocentric strategy (involving the striatum), using across trials an invariable motor sequence (to turn right, then to turn left). They also had the possibility to develop an allocentric strategy (involving the hippocampus) to locate the platform, using spatial cues that were present on the wall of the test room such that they were visible to swimming mice. The distance to reach the platform and the number of correct response (when mice turn right then left to reach directly the platform) were recorded to assess performance during task acquisition (reflecting learning). The actual learning strategy developed by the mice (egocentric or allocentric) was then evaluated with a probe test (of 1 min), the day after the last training trial. To this purpose, the platform was removed, and the starting point was translated in the SW arm. The translation of the start arm provides a misleading perspective. Mice that used a procedural strategy turned right then left and first reached the N arm ("Egocentric arm"). Those using a spatial strategy went first to the NE arm ("Allocentric arm"). The first and second arms visited were recorded. Additionally, the times spent in "egocentric" and "allocentric" arms were measured, and compared to time corresponding to chance level, which was set to 8.3 s, considering the total number of available arms to explore and total testing time. The formula to compute chance level is as follows: Total time in DH x (surface of one arm/(DH total surface divided –surface of one arm)), i.e. 60 x (450/(3700–450) with time expressed in seconds and surfaces in cm². The formula takes into account closing of the north-west (NW) arm during the probe test.

4.2.2. Spatial object location task

The spatial object location task was used to assess spatial memory based on the spatial configuration of objects in an open field. The white floor of the plexiglass open field (52 cm × 52 cm) bordered with black

walls (40 cm high) was divided into 25 equal squares delimited by black lines. A striped card was fixed against a wall. The device was illuminated by an indirect halogen light (open field center, 15 lux), and a radio played a background noise (open field center, 45 ± 5 dB). Object exploration time was recorded and defined as the nose pointing toward the object within 1 cm. Before testing, all mice received 3 habituation trials of 10 min (1 per day) in the empty open field, or with one object placed in the arena center (using a different object each day). 14 week-old mice (WT n = 10 males, R6/1 n = 11 males) were tested with a 10 min exploration trial (acquisition) of 2 objects placed in 2 corners of the open field. Mice returned in their home cage for 24 h and then received a 10 min exploration trial (recall) with a new spatial configuration resulting from the shift of the object less explored during acquisition, from one corner to the adjacent corner of the open field. The performance of mice was evaluated using a discrimination index, corresponding to the difference of exploration time of the displaced object and fixed object, divided by total exploration time of the 2 objects. Mouse performances were compared to chance level (index = 0).

4.2.3. Bar test

Motor coordination and balance were assessed using the beam walking assay. 11 weeks-old mice were trained on an elevated narrow beam of 80 cm-long, to reach a safe platform containing their cage (WT n = 10 males; R6/1 n = 13 males). They were first habituated to the beam, and then tested through 4 consecutive trials, each lasting 1 min. The time to cross the beam (latency) was assessed.

4.3. Fos and Egr1 immunohistological analysis

Mice were killed by cervical dislocation in basal condition (HC), 1 h after the last trial of the second day of training (acquisition) or 1 h after the probe test in the double-H maze (recall). Brains were removed and cut between the two hemispheres. The right hemisphere was fixed in 4% paraformaldehyde during 6 h at 4 °C and then stored in 20% sucrose in phosphate buffer during 48 h before freezing them in isopentane. Floating coronal sections (30 µm) were cut using a cryostat (Microm HM560, Thermo Scientific) in serial sections within a block of tissue extending from + 1.34 to + 0.02 from Bregma for the dorsal striatum, and from - 1.22 to - 2.30 from Bregma for the dorsal hippocampus. Sections were stored at - 20 °C in tissue cryoprotective solution (30% glycerol, 30% ethyleneglycol, 40% phosphate buffer 0.1 M). Sections were washed in PBS prior to incubation for 20 min in 1% H₂O₂ in PBS to quench endogenous peroxidase activity. Non-specific binding was blocked with a 1 h incubation in 5% normal serum with 0.5% Triton X-100 in PBS. Sections were then incubated overnight at RT in primary antibodies against Egr1 (1:500, sc-110, Santa-Cruz Biotechnology) or Fos (1:4000, 226003/3, Synaptic System). Incubation in appropriate biotinylated secondary antibody (IgG Goat anti-Rabbit, 1:500, ZB1007, Vector Laboratories) was then performed for 1 h at RT and followed by 45 min incubation in an avidin-biotinylated-peroxyde complex (1:500, Vectastain Avidine-Biotine Complex Kit, PK6100, Vector Laboratories). 3,3'-diaminobenzidine (DAB Peroxidase Substrate Kit, SK4100, Vector Laboratories) was used as the chromagen. The quantitative analyses of Fos- and Egr1-positive nuclei were performed in the dorsal striatum (dorsomedian striatum -DMS-, dorsolateral striatum -DLS-). Unbiased stereological estimates of volume and neuronal number were obtained using Mercator software (Explora Nova, La Rochelle, France) and a Leica DM5500B light microscope coupled with a MicroFire CDD color camera (Optronics) equipped with a motorized x-y stage control. All stereological measurements were performed with observer being blind to the animals' condition. To obtain unbiased estimates of neuronal numbers, the optical fractionator technique was employed (coefficient of error <0.1). Areas of interest in stained section were first outlined using a 2.5x objective and Egr1- and Fos-positive cells were counted using a 100x (numerical aperture of 1.40) oil-immersion objective. Counting grids were applied appropriate to the structure measured (dorsal striatum:

120 µm x 120 µm; dorsal hippocampus: 30 µm x 30 µm) with optical dissectors (40 µm x 40 µm) and a mean thickness of 14 µm. Guard zones of 1 µm were applied at the top and the bottom of each dissector, with a mean dissector height of 12 µm. The total number of Egr1- and Fos-positive nuclei/mm³ of cerebral tissue was estimated from 6 to 8 sections per animal (section sampling fraction (ssf) = 1/5 for dorsal striatum and 1/4 for dorsal hippocampus, from the total number of nuclei counted in all optical dissectors).

4.4. EdU cell proliferation immunohistological analysis

For cell proliferation assessment in response to the double-H performance, the thymidine analogue 2'-Deoxy-5-ethynyluridine (EdU, Biosynth Carbosynth®) was diluted in the drinking water (0.2 mg/ml) and administrated throughout the performance of the task. Mice in basal condition (HC) or 1 h after the probe test in the double-H maze (recall) were deeply anesthetized with ketamine/xylazine (200 mg/kg ketamine, 30 mg/kg xylazine) and intracardiacally perfused with saline (5 min) and 4% paraformaldehyde (10 min). Posterior brain processing for striatal coronal sections generation was performed as stated in the previous section. Tissue immunostaining was performed as previously described (Rue et al., 2014). Briefly, mice coronal sections were washed twice with PBS during 5 min and incubated with NH4Cl 50 mM during 30 min to block free fixation-remaining aldehyde groups and reduce aldehyde-induced tissue auto-fluorescence. Brain slices were then permeated during 20 min with a PBS buffer containing 0.5% Triton X-100 and blocked after it for 1 h at room temperature with PBS plus 0.2%, bovine serum albumin, 0.2% lysine, 0.2% glycine, 0.5% Triton X-100% and 5% normal horse serum. Afterwards, slices were incubated overnight with primary antibody against oligodendrocyte precursor cells (OPCs) marker PDGFRα (1:200, R&D Systems) in a buffer containing PBS 1 × plus 0.3% Triton X-100% and 0.2% bovine serum albumin. Then, brain sections were washed twice in PBS 1x during 10 min and incubated for 2 h at room temperature in primary antibody buffer with Alexa Fluor 350 donkey anti-goat (1:500, Invitrogen) secondary antibody. Two additional washes of 10 min each with PBS 1 × were done to remove the excess of secondary antibodies. For EdU staining, samples were additionally incubated in PBS 1x plus 0.3% Triton X-100 during 15 min and with the AlexaFluor-647 Click-iT detection kit (C10340, Invitrogen) solution for 40 min. Before mounting the slices, two additional washes with PBS 1 × were performed to remove the excess of Click-iT reaction mix. Afterwards, slices were mounted in glass slides and Mowiol mounting media was used to incorporate glass coverslip. Hamamatsu Nanozoomer Digital Pathology whole slide imaging system (Hamamatsu Photonics) was used for image acquisition of whole brain sections at 40 × magnification. For EdU counting, images were first processed with NDP View v2 software (Hamamatsu Photonics) to delimit the striatal region within each brain section and corresponding area (mm²), and the number of EdU+ nuclei co-stained or not with PDGFRα+ cells were manually counted blindly to the experimenter. For total PDGFRα+ cell counting, images were first processed with QuPath software (Bankhead et al., 2017) to delimit the striatal region within each brain section and corresponding area (mm²) and PDGFRα+ cells were manually counted blindly by two different experimenters bilaterally in four striatal sections distributed in different anteroposterior coordinates.

4.5. Parvalbumin and WFA immunohistological analysis

For specific labeling of Perineuronal Networks (PNNs), the *Wisteria floribunda* Agglutinin (WFA) lectin conjugated with FITC (ThermoFisher Scientific) was used in combination with Parvalbumin (Pvalb) immunostaining by slightly modifying the previously stated immunofluorescence protocol. Briefly, mice coronal sections from WT and R6/1 animals in basal condition (HC) or 1 h after the probe test in the double-H maze (recall) were washed twice with PBS during 5 min, incubated

with NH₄Cl 50 mM during 30 min and posteriorly incubated with WFA (1:1000 in PBS 1x) for 2 h at room temperature. Afterwards, sections were washed twice in PBS for 10 min and immunofluorescence protocol was carried out using anti-Pvalb (1:500, Swant) primary antibody and Alexa Fluor 350 donkey anti-mouse (1:500, Invitrogen) secondary antibody. Hamamatsu Nanozoomer Digital Pathology whole slide imaging system (Hamamatsu Photonics) was used for image acquisition of whole brain sections at 40 × magnification. The density (cells/mm²) of Pvalb+, WFA+/Pvalb+ and WFA+/Pvalb- cells within the DMS and DLS was manually counted blinded to the experimental condition using Qupath software on 7–11 striatal sections (in both hemispheres) covering the whole anteroposterior axis.

4.6. Protein expression analyses

Mice were killed by cervical dislocation in basal condition (HC), 1 h after the last trial of the second day of training (DH-2d) or 1 h after the probe test in the double-H maze (DH-5d) and their striata were rapidly dissected, snap frozen and stored at –80 °C. One striatum per mice was lysed and homogenized in Laemmli buffer (BioRad), containing β-mercaptoethanol (1/40 of the total volume), using a Potter homogenizer followed by a 30 min incubation on ice. Samples were sonicated for 15 s (Bioblock Scientific Vibra Cell 75041, power 30%), heated 5 min at 100 °C, centrifuged (13,000 rpm, 5 min), and supernatant frozen at –20 °C. Protein concentration was measured using the Qubit Protein Assay Kit (ThermoFisher). Protein samples were diluted for achieving equal protein concentrations and electrophoretic protein separation was carried out using 4–20% polyacrylamide gels (Criterion 500, BioRad) in TG-SDS buffer (Euromedex). Proteins were blotted onto nitrocellulose (Midi-Size Nitrocellulose, TransBlot Turbo, BioRad) using the TransBlot Turbo Transfer System (BioRad). Blots were blocked in 5% milk powder and polyclonal antibodies against Egr1 (1:500, sc-110, Santa-Cruz Biotechnology), Fos (1:2000, 226003/3, Synaptic System), Creb (1:1000, Ab31387 Abcam), Srf (1:1000, D71A9 Cell Signaling), Ermin (1:200, 66605-1-1 g, Proteintech), Smad4 (1:1000, sc-7966, Santa-Cruz Biotechnology), Gapdh (1:10000, Ab22555, Abcam), Actin (1:10000, Ab16039, abcam) and β-tubulin (1:10000, sc-5274, Santa-Cruz Biotechnology) were incubated overnight at 4 °C with 3% milk powder in washing buffer (Tris pH 7.4, NaCl 5 M, Tween 20%, distilled water). Blots were washed 3 times in washing buffer before secondary antibodies were added (horseradish peroxidase-conjugated whole-goat anti-rabbit/anti-mouse IgG (Jackson Laboratories). After 1 h incubation at room temperature and 3 washes with TBST, blots were revealed with ECL (Clarity Western ECL Substrate, BioRad) and exposed with ChemiDoc Touch Imaging System (BioRad). Results were quantified using the ImageLab software (BioRad).

4.7. Generation of RNAseq data

For RNA-seq data generation, total RNA was extracted from a single striatum or hippocampus of R6/1 or WT mouse using the RNeasy Plus Kit (Qiagen, #74136) according to manufacturer's instructions. Quality assessment was performed using Bioanalyser eukaryotic total RNA nano series II chip (Agilent, #5067-1511), and all samples achieved RNA integration number (RIN) between 8 and 10. RNAseq libraries were generated from 600 ng of total RNA using TruSeq Stranded mRNA LT Sample Preparation Kit (Illumina), according to manufacturer's instructions. Briefly, following purification with poly-T oligo attached magnetic beads, the mRNA was fragmented using divalent cations at 94 °C for 2 min. The cleaved RNA fragments were copied into first strand cDNA using reverse transcriptase and random primers. Strand specificity was achieved by replacing dTTP with dUTP during second strand cDNA synthesis using DNA Polymerase I and RNase H. Following addition of a single 'A' base and subsequent ligation of the adapter on double stranded cDNA fragments, the products were purified and enriched with PCR (30 s at 980 C; [10 s at 98 °C, 30 s at 60 °C, 30 s at

72 °C] x 12 cycles; 5 min at 72 °C) to create the cDNA library. Surplus PCR primers were further removed by purification using AMPure XP beads (Beckman-Coulter) and the final cDNA libraries were checked for quality and quantified using capillary electrophoresis. Libraries were sequenced on Hiseq 4000 sequencer (Illumina) as single-end 50 base reads following Illumina's instructions (IGBMC, Genomeast platform).

4.8. RNAseq analysis

RNAseq datasets generated in the striatum and hippocampus of R6/1 mice and WT mice were analyzed as previously described starting from fastq files (Alcalá-Vida et al., 2021b). TopHat2 v2.1.1 associated with bowtie2 was used for reads mapping using mm10 genome assembly (Kim et al., 2013). Quantification of gene expression was performed using HTSeq v0.6.1p1, using gene annotations from Ensembl GRCm38 release 87 (Anders et al., 2015). Read counts were normalized across libraries with the method proposed by Anders and Huber (Anders and Huber, 2010). The method implemented in the DESeq2 Bioconductor package (DESeq2_1.14) was used in R environment (R_3.3.2) to identify significantly differentially expressed genes between different mouse genotypes (Love et al., 2014). Resulting *P*-values were adjusted for multiple testing by using the Benjamini and Hochberg method. Down- and up-regulated genes were defined using adj. *P* val < 0.05 or adj. *P* val < 0.1 and FC < or > 1. Graphs were generated in R using dedicated functions or packages (ggplot2_3.3.2, pheatmap_1.0.12,). Gene set enrichments for functional analyses and visualizations were generated using Enrichr (Chen et al., 2013) and the clusterProfiler packages (V_4.0.5). Complete lists of significantly enriched pathways, transcriptional regulators and GO terms (FDR < 0.05) are shown in supplementary Tables. Top 10 significant terms are represented in figures. Top dysregulated genes, based on adj *P* val ranking, were used in specific analyses. Cell type-specific striatal RNAseq dataset generated using laser capture microdissected cell populations of WT mouse striatum were analyzed as described (Merienne et al., 2019). Briefly, the transcriptome of two neuronal populations (i.e. medium spiny neurons (MSNs) expressing D1 receptor (D1 MSNs) and medium spiny neurons expressing D2 receptor (D2 MSNs), corresponding to neuronal populations affected in HD and predominant in the striatum), and two glial cell populations (astrocytes and microglia), was profiled. To simplify the analyses, D1 and D2 MSNs samples were grouped together and compared to glial samples (i.e. astrocytes and microglia). Down- and up-regulated genes in neurons vs glial cells were defined using adj. *P* val < 0.05 and FC < or > 1, as described (Alcalá-Vida et al., 2021b). To identify different gene co-expression modules in our RNA-seq data, we used Co-Expression Modules identification Tool (CEMiTool) (Russo et al., 2018) with normalized expression values from DESeq2 analysis (variance filter (*P*-value): 0.2; Variance stabilizing transformation: ON), resulting in 8 different modules (Table S2).

4.9. Chromatin Immunoprecipitation and sequencing (ChIPseq)

For each ChIP-seq experiment, bulk striatal tissue from four R6/1 or WT animals in basal (HC) and recall conditions was used. Chromatin extracts were divided in four fractions to allow immunoprecipitation of same extract with H3K27ac and H3K9ac antibodies, including Input controls. ChIPseq data were replicated through two independent experiments. ChIPseq was performed as previously described (Alcalá-Vida et al., 2021b) using antibodies to H3K27ac (ab4729, Abcam) and H3K29ac (ab4441, Abcam). Briefly, pooled tissues were cut into small fragments, fixed in 1% formaldehyde and incubated for 15 min at room temperature. Cross-linking was stopped by the addition of glycine to final concentration 0.125 M. Tissue fragments were washed with cold PBS supplemented with protease inhibitors. The tissues were then mechanically homogenized in sonication buffer to obtain a homogeneous solution. Tissue homogenates were sonicated to obtain DNA fragments < 500 bp using Covaris Ultrasonicator E220 and centrifuged. The

soluble chromatin fraction was pretreated with protein A Agarose/Salmon Sperm DNA (Millipore) for 45 min at 4 °C. Subsequently, samples were incubated overnight at 4 °C with corresponding primary antibodies. Protein A Agarose/Salmon Sperm DNA was then added and the mixture was incubated for 3 h at 4 °C in a shaker. Agarose beads were washed, protein–DNA complexes were eluted from the beads and de-crosslinked overnight with RNase A at 65 °C. Proteins were eliminated by 2 h incubation at 45 °C with Proteinase K, and DNA recovered using Qiagen MiniElute PCR Purification Kit.

4.10. ChIPseq library preparation

ChIP samples were purified using Agencourt AMPure XP beads (Beckman Coulter) and quantified with Qubit (Invitrogen). ChIP-seq libraries were prepared from 2 ng of double-stranded purified DNA using the MicroPlex Library Preparation kit v2 (C05010014, Diagenode), according to manufacturer's instructions. Illumina compatible indexes were added through PCR amplification (7 cycles). Amplified libraries were purified and size-selected using Agencourt® AMPure® XP beads (Beckman Coulter) to remove unincorporated primers and other reagents. Prior to analyses, DNA libraries were checked for quality and quantified using a 2100 Bioanalyzer (Agilent). Libraries were sequenced on Illumina Hiseq 4000 sequencer as paired-end or single-end 50 base reads following Illumina's instructions (IGBMC Genomeast platform). Image analysis and base calling were performed using RTA 2.7.3 and bcl2fastq 2.17.1.14. All ChIP samples successfully went through QC using Fastqc (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>).

4.11. ChIPseq analysis: sequence alignment, peak detection and annotation, differential analysis

Reads were mapped onto Mouse reference assembly GRCm38/mm10 using Bowtie 1.0.0. aligner (Langmead et al., 2009). Peak detection of H3K27ac and H3K9ac was performed using SICER v1.1 (Xu et al., 2014) with the following parameters: window size: 200; e-value: 0.003. Gap size parameters were determined according to the score value estimated by SICER: selected values of gap size are 1000 and 600 for H3K27ac and H3K9ac, respectively. Peaks were annotated relative to genomic features using Homer AnnotatePeaks v4.9.1 (Heinz et al., 2010) with annotation from Ensembl v87. Global comparison of samples and clustering analysis were performed using seqMINER v1.2.1 (Ye et al., 2014). As reference coordinates, Refseq genes for Mouse mm10 genome or differentially enriched peaks were used for the genes or peaks analysis, respectively. For the differential enrichment analysis, one reference bed file containing all peaks for a particular marker was created by selecting common region of peaks between replicates and then merging all peaks between different groups of comparison (e.g WT HC, WT recall, R6/1 HC and R6/1 recall). Mapped reads per sample are counted along all peaks within the reference bed file. The intersect, merge and multicov tools available within the BEDtools suite v 2.26 (Quinlan and Hall, 2010) were used to select the common regions of peaks, to merge them and count the mapped reads. The resulting count table was used for the differential enrichment analysis. The method implemented in the DESeq2 Bioconductor package (Love et al., 2014), DESeq2_1.14, R_3.3.2) was used to identify significantly differentially enriched peaks between different mouse genotypes and learning comparisons. This method is based on the statistics described in Anders and Huber (Anders and Huber, 2010). Resulting P-values were adjusted for multiple testing by using the Benjamini and Hochberg method. Enriched and depleted peaks were defined using adj P val < 0.05 and FC < or > 1, respectively. Striatal neuronal- and glial-specific H3K27ac-enriched regions from previously generated database (Alcalá-Vida et al., 2021b) or top cell-type specific chromatin accessible regions from striatal single-nuclei ATAC-seq database (Zhong et al., 2021) were intersected with H3K9ac regions differentially enriched in the different experimental conditions

for cell type-specific genotype and learning/memory comparisons using bedsect (Mishra et al., 2020). For statistical analysis of the intersections, we made use of the SuperExacttest R package (Wang et al., 2015), which calculates Jaccard statistics according to the total number of overlapping regions between datasets. Gene set enrichments for functional analyses and visualization were as described in RNAseq analysis section. Additionally, GO analyses (FDR < 0.05) were performed using GREAT (McLean et al., 2010).

4.12. Correlation analysis

Normalized read values of H3K9ac and H3K27ac peaks annotated to their closer gene were summarized to obtain single value per gene and resulting values were newly normalized using DESeq2 as described in ChIP-seq analysis methods section. The log₂(Fold change) values between different sets of data corresponding to the same annotated gene were used to compute Spearman's correlation coefficient using ggpublisher R package. Different categories of genes (down-regulated, up-regulated or non-significant) were defined according to the differentially expressed gene (adj. P value < 0.05) list obtained for specific comparisons in the RNA-seq data generated in this study. Additionally, H3K9ac normalized read values of annotated peaks were used to compute Spearman's correlation coefficient between log₂(Fold change) values of genotype in basal state (R6/1 HC vs WT HC) and physiological learning (WT recall vs WT HC). Different categories of peaks (down, up or non-significant) were defined in this case according to the differentially enriched regions (adj. P value < 0.05) obtained when comparing WT recall with WT HC H3K9ac data.

4.13. Circular chromatin conformation capture (4Cseq)

4Cseq was performed as previously described (Alcalá-Vida et al., 2021b) with slight modifications using striatal tissue from WT and R6/1 mice in basal condition (HC) or during the acquisition (acquisition) of the double-H task. Briefly, frozen striatal tissue was homogenized in ice-cold PBS supplemented with 1x Protease Inhibitors Cocktail (PIC, cComplete EDTA free, Roche) and cross-linked in 2% formaldehyde for 15 min at room temperature. Cross-linking was stopped by the addition of glycine to final concentration 0.125 M and tissue was washed using ice-cold PBS. Cells were then lysed in Cell Lysis Buffer (10 mM Hepes pH8; 85 mM KCl; 0.5% NP-40) and nuclei were collected after treatment with Nuclear Extraction Buffer (0.5% SDS, 10 mM EDTA pH8, 50 mM Tris). Nuclei were counted, and 5 million nuclei per biological condition were digested O/N with the 1st restriction enzyme (*Dpn*II, New England Biolabs) and posteriorly subjected to an over-night ligation with T4 DNA Ligase (New England Biolabs). Subsequently, chromatin was de-crosslinked and purified after proteinase K and RNase A treatment. A second digestion using *Csp*IA (Thermo Scientific) was performed O/N, followed by a final O/N ligation with T4 DNA Ligase and DNA purification using phenol/chloroform extraction after sample volume reduction by using 90% under-saturated phenol (UPT phenol). The resultant 4 C DNA template was used to generate 4C-seq libraries by performing a PCR (Long Template PCR system, Roche) with target-specific designed reading and non-reading primers containing Illumina sequencer adapters. For primer design (Table S5), a region surrounding the TSS of the gene of interest (+/- 2 kb) was retrieved and primers were designed using SnapGene (v.1.1.3) for regions that fulfilled the following criteria: distance between *Dpn*II restriction site and the consecutive *Csp*6I restriction site > 350 bp; distance between *Dpn*II restriction site and the following *Dpn*II restriction site after *Csp*6I > 500 bp and < 1500 bp. A primer validation step was included to verify their specificity. Then, generated 4C-seq libraries were purified with SPRI select beads (Beckman) to discard primer dimer DNA products and 4C-seq DNA template was quantified using Bioanalyzer and pooled equimolarly for sequencing using 50 bp single-end Hiseq 4000 sequencer (IGBMC Genomeast platform).

4.14. 4Cseq data analysis

Reads were mapped to mm10 with Bowtie (Langmead et al., 2009), then processed and visualized with 4See (Ben Zouari et al., 2019) and pyGenomeTracks (Lopez-Delisle et al., 2021). Significant interactions were called on individual datasets using peakC (van Helden, 2003) with default parameters, including a window size of 15 fragments. To assess the overlap between detected intersections for each bait in the different biological conditions, we used bedsect multiple intersection tool and calculated the coverage in nucleotides of the different intersecting and non-intersecting regions to generate Chow-Ruskey and area-proportional Venn-diagrams using Intervene (Khan and Mathelier, 2017) and eulerR (<https://portal.research.lu.se/en/publications/a-case-study-in-fitting-area-proportional-euler-diagrams-with-ecl>).

4.15. Statistics

Mice with the same age and sex were randomly allocated to the different experimental groups. Blinding was applied to behavioral experiments. For bar plots, centered regions indicate the mean + / - sem, for boxplots, centered regions indicate the median, box limits, upper and lower quartiles and whiskers, 1.5x interquartile range. All measurements were taken from distinct samples. For pairwise comparisons of average, data were tested for normality using the Shapiro's test. Statistical analyses included one-sample or two-tailed unpaired Student's t test, two-way analysis of variance and two-ways analysis of variance with repeated measures. In case the samples were significantly non-normal, non-parametric tests, including Kruskal-Wallis, one-sample Wilcoxon and binomial tests were performed. For multiple comparisons, the Tukey or Dunn tests were applied. *P* values < 0.05 were considered to be statistically significant, except when otherwise indicated. No statistical method was used to predetermine sample size, but our sample sizes are based on similar, previously established, experimental designs.

Data and code availability

Datasets generated in the study are deposited at NCBI under accession numbers GSE157083 (ChIPseq), GSE157099 (RNAseq) and GSE157076 (4 C-seq) (ongoing).

Custom codes are available from the corresponding author upon reasonable request.

CRediT authorship contribution statement

Rafael Alcalá-Vida: Performed behavioral, Immunohistological and epigenomic experiments, Analysed the data and wrote the manuscript. **Caroline Lotz:** Performed behavioral, Immunohistological and transcriptomic experiments, Analysed the data and wrote the manuscript. **Baptiste Brûlé:** Performed behavioral experiments, Assisted histological analyses, Analysed the data and wrote the manuscript. **Jonathan Seguin, Charles Decraene:** Analysed transcriptomic and epigenomic data and wrote the manuscript. **. Ali Awada:** Assisted epigenomic experiments. **Aurélie Bombardier:** Assisted histological experiments. **Brigitte Cosquer:** Assisted behavioral experiments. **Anne Pereira de Vasconcelos, Jean-Christophe Cassel, Anne-Laurence Boutillier:** Helped in the design of histological, Behavioral and omics experiments, respectively. **Emmanuel Brouillet:** Helped in the design of experiments and secured funding. **Karine Merienne:** Designed and coordinated experiments, Analysed the data, Wrote the manuscript and secured funding.

Competing interests

The authors declare no competing of interest.

Acknowledgments

We thank O. Bildstein, D. Egesi, G. Edomwonyi, A. Isik and C. Strittmatter (LNCA UMR7364) for assistance in animal care. Sequencing was performed by the GenomEast Platform, a member of the 'France Génomique' consortium. This study was supported by CHDI Foundation, Inc, USA (grant to K.M.), the Agence Nationale de la Recherche, France (ANR-2017-CE12-0027 to K.M. and E.B.), the Centre National de la Recherche Scientifique, France (CNRS) and the University of Strasbourg, France. R.A.V. was supported by post-doctoral fellowship from ANR (ANR-2017-CE12-0027) and IdEx fellowship program (Strasbourg, France). J.S. and A.B. were supported by CHDI. C.L. and BB were recipients of doctoral fellowships from the French government. A.A. was recipient of doctoral fellowships from the Association Huntington France (AHF).

Appendix A. Supporting information

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at doi:[10.1016/j.pneurobio.2022.102363](https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2022.102363).

References

- Achour, M., Le Gras, S., Keime, C., Parmentier, F., Lejeune, F.X., Boutillier, A.L., Neri, C., Davidson, I., Merienne, K., 2015. Neuronal identity genes regulated by super-enhancers are preferentially down-regulated in the striatum of Huntington's disease mice. *Hum. Mol. Genet.* 24, 3481–3496. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv099>.
- Alcalá-Vida, R., Awada, A., Boutillier, A.L., Merienne, K., 2021a. Epigenetic mechanisms underlying enhancer modulation of neuronal identity, neuronal activity and neurodegeneration. *Neurobiol. Dis.* 147, 105155 <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2020.105155>.
- Alcalá-Vida, R., Seguin, J., Lotz, C., Molitor, A.M., Irastorza-Azcarate, I., Awada, A., Karasu, N., Bombardier, A., Cosquer, B., Skarmeta, J.L.G., et al., 2021b. Age-related and disease locus-specific mechanisms contribute to early remodelling of chromatin structure in Huntington's disease mice. *Nat. Commun.* 12, 364, 10.1038/s41467-020-20605-2.
- Al-Ramahi, I., Lu, B., Di Paola, S., Pang, K., de Haro, M., Peluso, I., Gallego-Flores, T., Malik, N.T., Erikson, K., Bleiberg, B.A., et al., 2018. High-throughput functional analysis distinguishes pathogenic, nonpathogenic, and compensatory transcriptional changes in neurodegeneration. *e24 Cell Syst.* 7, 28–40. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2018.05.010>.
- An, M.C., Zhang, N., Scott, G., Montoro, D., Wittkop, T., Mooney, S., Melov, S., Ellerby, L.M., 2012. Genetic correction of Huntington's disease phenotypes in induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 11, 253–263. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.04.026>.
- Anders, S., Huber, W., 2010. Differential expression analysis for sequence count data. *Genome Biol.* 11, R106. <https://doi.org/10.1186/gb-2010-11-10-r106>.
- Anders, S., Pyl, P.T., Huber, W., 2015. HTSeq—a Python framework to work with high-throughput sequencing data. *Bioinformatics* 31, 166–169. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu638>.
- Bai, G., Cheung, I., Shulha, H.P., Coelho, J.E., Li, P., Dong, X., Jakovcevski, M., Wang, Y., Grigorenko, A., Jiang, Y., et al., 2015. Epigenetic dysregulation of hairy and enhancer of split 4 (HES4) is associated with striatal degeneration in postmortem Huntington brains. *Hum. Mol. Genet.* 24, 1441–1456. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu561>.
- Bankhead, P., Loughrey, M.B., Fernandez, J.A., Dombrowski, Y., McArt, D.G., Dunne, P.D., McQuaid, S., Gray, R.T., Murray, L.J., Coleman, H.G., et al., 2017. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Sci. Rep.* 7, 16878, 10.1038/s41598-017-17204-5.
- Barco, A., Patterson, S.L., Alarcon, J.M., Gromova, P., Mata-Roig, M., Morozov, A., Kandel, E.R., 2005. Gene expression profiling of facilitated L-LTP in VP16-CREB mice reveals that BDNF is critical for the maintenance of LTP and its synaptic capture. *Neuron* 48, 123–137. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.09.005>.
- Bassi, S., Tripathi, T., Monzani, A., Di Leva, F., Biagioli, M., 2017. Epigenetics of Huntington's Disease. *Adv. Exp. Med. Biol.* 978, 277–299. https://doi.org/10.1007/978-3-319-53889-1_15.
- Ben Zouari, Y., Platania, A., Molitor, A.M., Sexton, T., 2019. 4See: A Flexible Browser to Explore 4C Data. *Front Genet* 10, 1372. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01372>.
- Bhattacharyya, S., Wu, M., Fang, F., Tourtellotte, W., Feghali-Bostwick, C., Varga, J., 2011. Early growth response transcription factors: key mediators of fibrosis and novel targets for anti-fibrotic therapy. *Matrix Biol.* 30, 235–242. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2011.03.005>.
- Bowles, K.R., Stone, T., Holmes, P., Allen, N.D., Dunnett, S.B., Jones, L., 2017. SMAD transcription factors are altered in cell models of HD and regulate HTT expression. *Cell Signal* 31, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2016.12.005>.
- Burns, A.M., Graff, J., 2021. Cognitive epigenetic priming: leveraging histone acetylation for memory amelioration. *Curr. Opin. Neurobiol.* 67, 75–84. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2020.08.011>.

- Campbell, R.R., Wood, M.A., 2019. How the epigenome integrates information and reshapes the synapse. *Nat. Rev. Neurosci.* 20, 133–147. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0121-9>.
- Canals, J.M., Pineda, J.R., Torres-Peraza, J.F., Bosch, M., Martin-Ibanez, R., Munoz, M.T., Mengod, G., Ernfors, P., Alberch, J., 2004. Brain-derived neurotrophic factor regulates the onset and severity of motor dysfunction associated with enkephalinergic neuronal degeneration in Huntington's disease. *J. Neurosci.* 24, 7727–7739. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1197-04.2004>.
- Cassel, R., Kelche, C., Lecourtier, L., Cassel, J.C., 2012. The match/mismatch of visuospatial cues between acquisition and retrieval contexts influences the expression of response vs. place memory in rats. *Behav. Brain Res.* 230, 333–342. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.02.021>.
- Chatterjee, S., Cassel, R., Schneider-Anthony, A., Merienne, K., Cosquer, B., Tzeplaeff, L., Halder Sinha, S., Kumar, M., Chaturbedy, P., Eswaramoorthy, M., et al., 2018. Reinstating plasticity and memory in a tauopathy mouse model with an acetyltransferase activator. *EMBO Mol. Med.* 10. <https://doi.org/10.15252/emmm.201708587>.
- Ciamei, A., Morton, A.J., 2009. Progressive imbalance in the interaction between spatial and procedural memory systems in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *Neurobiol. Learn. Mem.* 92, 417–428. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2009.06.002>.
- Consortium, H.D., 2017. Developmental alterations in Huntington's disease neural cells and pharmacological rescue in cells and mice. *Nat. Neurosci.* 20, 648–660. <https://doi.org/10.1038/nn.4532>.
- Crapser, J.D., Ochaba, J., Soni, N., Reidling, J.C., Thompson, L.M., Green, K.N., 2020. Microglial depletion prevents extracellular matrix changes and striatal volume reduction in a model of Huntington's disease. *Brain* 143, 266–288. <https://doi.org/10.1093/brain/awz363>.
- Davis, J.D., Filoteo, J.V., Kesner, R.P., Roberts, J.W., 2003. Recognition memory for hand positions and spatial locations in patients with Huntington's disease: differential visuospatial memory impairment. *Cortex* 39, 239–253. [https://doi.org/10.1016/s0010-9452\(08\)70107-2](https://doi.org/10.1016/s0010-9452(08)70107-2).
- Dey, B.R., Sukhatme, V.P., Roberts, A.B., Sporn, M.B., Rauscher 3rd, F.J., Kim, S.J., 1994. Repression of the transforming growth factor-beta 1 gene by the Wilms' tumor suppressor WT1 gene product. *Mol. Endocrinol.* 8, 595–602. <https://doi.org/10.1210/mend.8.5.8050869>.
- Endo, F., Komine, O., Fujimori-Tonou, N., Katsuno, M., Jin, S., Watanabe, S., Sobue, G., Dezawa, M., Wyss-Coray, T., Yamanaka, K., 2015. Astrocyte-derived TGF-beta1 accelerates disease progression in ALS mice by interfering with the neuroprotective functions of microglia and T cells. *Cell Rep.* 11, 592–604. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.03.053>.
- Fawcett, J.W., Ohashi, T., Pizzorusso, T., 2019. The roles of perineuronal nets and the perinodal extracellular matrix in neuronal function. *Nat. Rev. Neurosci.* 20, 451–465. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0196-3>.
- Fernandez-Albert, J., Lipinski, M., Lopez-Cascales, M.T., Rowley, M.J., Martin-Gonzalez, A.M., Del Banco, B., Corces, V.G., Barco, A., 2019. Immediate and deferred epigenomic signatures of in vivo neuronal activation in mouse hippocampus. *Nat. Neurosci.* 22, 1718–1730. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0476-2>.
- Finkbeiner, S., Tavazoie, S.F., Maloratsky, A., Jacobs, K.M., Harris, K.M., Greenberg, M.E., 1997. CREB: a major mediator of neuronal neurotrophin responses. *Neuron* 19, 1031–1047. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80395-5](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80395-5).
- Fischer, A., 2014. Epigenetic memory: the Lamarckian brain. *EMBO J.* 33, 945–967. <https://doi.org/10.1002/embj.201387637>.
- Franckelle, L., Lotz, C., Outeiro, T., Brouillet, E., Merienne, K., 2017. Contribution of Neuroepigenetics to Huntington's Disease. *Front Hum. Neurosci.* 11, 17. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2017.00017>.
- Fuentes-Ramos, M., Alaiz-Noya, M., Barco, A., 2021. Transcriptome and epigenome analysis of engram cells: Next-generation sequencing technologies in memory research. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 127, 865–875. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.06.010>.
- Gauthier, L.R., Charrin, B.C., Borrell-Pages, M., Dompierre, J.P., Rangone, H., Cordelieres, F.P., De Mey, J., MacDonald, M.E., Lessmann, V., Humbert, S., Saudou, F., 2004. Huntington controls neurotrophic support and survival of neurons by enhancing BDNF vesicular transport along microtubules. In: *Cell*, 118, pp. 127–138. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.06.018>.
- Glikmann-Johnston, Y., Fink, K.D., Deng, P., Forrest, A., Stout, J.C., 2019. Spatial memory in Huntington's disease: A comparative review of human and animal data. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 98, 194–207. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.01.015>.
- Guitierrez, D., Sempere, A., Lopez-Atalaya, J.P., Ferrer-Montiel, A., Barco, A., Valor, L.M., 2016. Specific promoter deacetylation of histone H3 is conserved across mouse models of Huntington's disease in the absence of bulk changes. *Neurobiol. Dis.* 89, 190–201. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.02.004>.
- Halder, R., Hennion, M., Vidal, R.O., Shomroni, O., Rahman, R.U., Rajput, A., Centeno, T.P., van Bebber, F., Capeci, V., Garcia Vizcaino, J.C., et al., 2016. DNA methylation changes in plasticity genes accompany the formation and maintenance of memory. *Nat. Neurosci.* 19, 102–110. <https://doi.org/10.1038/nn.4194>.
- Heinz, S., Benner, C., Spann, N., Bertolino, E., Lin, Y.C., Laslo, P., Cheng, J.X., Murre, C., Singh, H., Glass, C.K., 2010. Simple combinations of lineage-determining transcription factors prime cis-regulatory elements required for macrophage and B cell identities. *Mol. Cell* 38, 576–589. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.05.004>.
- van Helden, J., 2003. Regulatory sequence analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 31, 3593–3596. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg567>.
- Horvath, S., Langfelder, P., Kwak, S., Aaronson, J., Rosinski, J., Vogt, T.F., Eszes, M., Faull, R.L., Curtis, M.A., Waldvogel, H.J., et al., 2016. Huntington's disease accelerates epigenetic aging of human brain and disrupts DNA methylation levels. *Aging (Albany NY)* 8, 1485–1512. <https://doi.org/10.1863/aging.101005>.
- Huang, B., Wei, W., Wang, G., Gaertig, M.A., Feng, Y., Wang, W., Li, X.J., Li, S., 2015. Mutant huntingtin downregulates myelin regulatory factor-mediated myelin gene expression and affects mature oligodendrocytes. *Neuron* 85, 1212–1226. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.02.026>.
- Itoh, S., Ericsson, J., Nishikawa, J., Heldin, C.H., ten Dijke, P., 2000. The transcriptional co-activator P/CAF potentiates TGF-beta/Smad signaling. *Nucleic Acids Res.* 28, 4291–4298. <https://doi.org/10.1093/nar/28.21.4291>.
- Jin, Q., Yu, L.R., Wang, L., Zhang, Z., Kasper, L.H., Lee, J.E., Wang, C., Brindle, P.K., Dent, S.Y., Ge, K., 2011. Distinct roles of GCN5/PCAF-mediated H3K9ac and CBP/p300-mediated H3K18/27ac in nuclear receptor transactivation. *EMBO J.* 30, 249–262. <https://doi.org/10.1038/embj.2010.318>.
- Katsuno, Y., Deryck, R., 2021. Epithelial plasticity, epithelial-mesenchymal transition, and the TGF-beta family. *Dev. Cell* 56, 726–746. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.02.028>.
- Keilani, S., Chandwani, S., Dolios, G., Bogush, A., Beck, H., Hatzopoulos, A.K., Rao, G.N., Thomas, E.A., Wang, R., Ehrlich, M.E., 2012. Egr-1 induces DARPP-32 expression in striatal medium spiny neurons via a conserved intragenic element. *J. Neurosci.* 32, 6808–6818. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5448-11.2012>.
- Khan, A., Mathelier, A., 2017. Intervene: a tool for intersection and visualization of multiple gene or genomic region sets. *BMC Bioinforma.* 18, 287. <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1708-7>.
- Kim, D., Perteet, G., Trapnell, C., Pimentel, H., Kelley, R., Salzberg, S.L., 2013. TopHat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions. *Genome Biol.* 14, R36. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-4-r36>.
- Knoll, B., Nordheim, A., 2009. Functional versatility of transcription factors in the nervous system: the SRF paradigm. *Trends Neurosci.* 32, 432–442. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2009.05.004>.
- Kopec, A.M., Philips, G.T., Carew, T.J., 2015. Distinct Growth Factor Families Are Recruited in Unique Spatiotemporal Domains during Long-Term Memory Formation in *Aplysia californica*. *Neuron* 86, 1228–1239. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.04.025>.
- Kupferschmidt, D.A., Juczewski, K., Cui, G., Johnson, K.A., Lovinger, D.M., 2017. Parallel, but Dissociable, Processing in Discrete Corticostratial Inputs Encodes Skill Learning. *e475 Neuron* 96, 476–489. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.09.040>.
- Langfelder, P., Cantle, J.P., Chatzopoulou, D., Wang, N., Gao, F., Al-Ramahi, I., Lu, X.H., Ramos, E.M., El-Zein, K., Zhao, Y., et al., 2016. Integrated genomics and proteomics define huntingtin CAG length-dependent networks in mice. *Nat. Neurosci.* 19, 623–633. <https://doi.org/10.1038/nn.4256>.
- Langmead, B., Trapnell, C., Pop, M., Salzberg, S.L., 2009. Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. *Genome Biol.* 10, R25. <https://doi.org/10.1186/gb-2009-10-3-r25>.
- Lawrence, A.D., Hodges, J.R., Rosser, A.E., Kershaw, A., ffrench-Constant, C., Rubinstein, D.C., Robbins, T.W., Sahakian, B.J., 1998. Evidence for specific cognitive deficits in preclinical Huntington's disease. *Brain* 121 (Pt 7), 1329–1341. <https://doi.org/10.1093/brain/121.7.1329>.
- Lee, H., Leamey, C.A., Sawatari, A., 2012. Perineuronal nets play a role in regulating striatal function in the mouse. *PLoS One* 7, e32747. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032747>.
- Lee, H., Fenster, R.J., Pineda, S.S., Gibbs, W.S., Mohammadi, S., Davila-Velderrain, J., Garcia, F.J., Therrien, M., Novis, H.S., Gao, F., et al., 2020. Cell Type-Specific Transcriptomics Reveals that Mutant Huntingtin Leads to Mitochondrial RNA Release and Neuronal Innate Immune Activation. *e898 Neuron* 107, 891–908. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.06.021>.
- Lopez-Atalaya, J.P., Ito, S., Valor, L.M., Benito, E., Barco, A., 2013. Genomic targets, and histone acetylation and gene expression profiling of neural HDAC inhibition. *Nucleic Acids Res* 41, 8072–8084. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt590>.
- Lopez-Delisle, L., Rabbani, L., Wolff, J., Bhardwaj, V., Backofen, R., Gruning, B., Ramirez, F., Manke, T., 2021. pyGenomeTracks: reproducible plots for multivariate genomic datasets. *Bioinformatics* 37, 422–423. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa692>.
- Love, M.I., Huber, W., Anders, S., 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 15, 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>.
- Majerova, V., Kalinic, T., Laczo, J., Vyhalek, M., Hort, J., Bojar, M., Ruzicka, E., Roth, J., 2012. Disturbance of real space navigation in moderately advanced but not in early Huntington's disease. *J. Neurol. Sci.* 312, 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2011.08.016>.
- Mangiari, L., Sathasivam, K., Seller, M., Cozens, B., Harper, A., Hetherington, C., Lawton, M., Trottier, Y., Lehrach, H., Davies, S.W., Bates, G.P., 1996. Exon 1 of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice. *Cell* 87, 493–506.
- Marcos, A., Meharena, H.S., Dileep, V., Raju, R.M., Davila-Velderrain, J., Zhang, A.L., Adailkan, C., Young, J.Z., Gao, F., Kellis, M., Tsai, L.H., 2020. Mapping the epigenomic and transcriptomic interplay during memory formation and recall in the hippocampal engram ensemble. *Nat. Neurosci.* 23, 1606–1617, 10.1038/s41593-020-00717-0.
- Mariotti, C., Munari, L., Gunzel, E., Seco, J.M., Tzavaras, N., Hansen, J., Stern, S.A., Gao, V., Aleyasin, H., Sharma, A., et al., 2019. Wilms tumor 1 promotes memory flexibility. *Nat. Commun.* 10, 3756, 10.1038/s41467-019-11781-x.
- Marques, S., Zeisel, A., Codeluppi, S., van Bruggen, D., Mendanha Falcao, A., Xiao, L., Li, H., Haring, M., Hochgerner, H., Romanov, R.A., et al., 2016. Oligodendrocyte heterogeneity in the mouse juvenile and adult central nervous system. *Science* 352, 1326–1329. <https://doi.org/10.1126/science.aaf6463>.

- McColgan, P., Tabrizi, S.J., 2018. Huntington's disease: a clinical review. *Eur. J. Neurol.* 25, 24–34. <https://doi.org/10.1111/ene.13413>.
- McLean, C.Y., Bristor, D., Hiller, M., Clarke, S.L., Schaar, B.T., Lowe, C.B., Wenger, A.M., Bejerano, G., 2010. GREAT improves functional interpretation of cis-regulatory regions. *Nat. Biotechnol.* 28, 495–501. <https://doi.org/10.1038/nbt.1630>.
- Megret, L., Gris, B., Sasidharan Nair, S., Cevost, J., Wertz, M., Aaronson, J., Rosinski, J., Vogt, T.F., Wilkinson, H., Heiman, M., Neri, C., 2021. Shape deformation analysis reveals the temporal dynamics of cell-type-specific homeostatic and pathogenic responses to mutant huntingtin. *Elife* 10. <https://doi.org/10.7554/elife.64984>.
- Merienne, N., Meunier, C., Schneider, A., Seguin, J., Nair, S.S., Rocher, A.B., Le Gras, S., Keime, C., Faull, R., Pellerin, L., et al., 2019. Cell-Type-Specific Gene Expression Profiling in Adult Mouse Brain Reveals Normal and Disease-State Signatures. *e2479 Cell Rep.* 26, 2477–2493. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.02.003>.
- Mishra, G.P., Ghosh, A., Jha, A., Raghav, S.K., 2020. BedSect: An Integrated Web Server Application to Perform Intersection, Visualization, and Functional Annotation of Genomic Regions From Multiple Datasets. *Front Genet* 11, 3. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00003>.
- Murphy-Ullrich, J.E., Suto, M.J., 2018. Thrombospondin-1 regulation of latent TGF-beta activation: A therapeutic target for fibrotic disease. *Matrix Biol.* 68–69, 28–43. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2017.12.009>.
- Niewiadomska-Cimicka, A., Krzyzosiak, A., Ye, T., Podlesny-Drabiniok, A., Dembele, D., Dolle, P., Krezel, W., 2017. Genome-wide Analysis of RARbeta Transcriptional Targets in Mouse Striatum Links Retinoic Acid Signaling with Huntington's Disease and Other Neurodegenerative Disorders. *Mol. Neurobiol.* 54, 3859–3878. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0010-4>.
- Nucifora Jr., F.C., Sasaki, M., Peters, M.F., Huang, H., Cooper, J.K., Yamada, M., Takahashi, H., Tsuji, S., Troncoso, J., Dawson, V.L., et al., 2001. Interference by huntingtin and atrophin-1 with cbp-mediated transcription leading to cellular toxicity. *Science* 291, 2423–2428. <https://doi.org/10.1126/science.1056784>.
- Nye, M.D., Almada, L.L., Fernandez-Barrena, M.G., Marks, D.L., Elsaawa, S.F., Vrabel, A., Tolosa, E.J., Ellenrieder, V., Fernandez-Zapico, M.E., 2014. The transcription factor GLI2 interacts with SMAD proteins to modulate transforming growth factor beta-induced gene expression in a p300/CREB-binding protein-associated factor (PCAF)-dependent manner. *J. Biol. Chem.* 289, 15495–15506. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.545194>.
- Pan, S., Mayoral, S.R., Choi, H.S., Chan, J.R., Kheirbek, M.A., 2020. Preservation of a remote fear memory requires new myelin formation. *Nat. Neurosci.* 23, 487–499. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0582-1>.
- Peixoto, L., Abel, T., 2013. The role of histone acetylation in memory formation and cognitive impairments. *Neuropsychopharmacology* 38, 62–76. <https://doi.org/10.1038/nnpp.2012.86>.
- Perrin, E., Venancie, L., 2019. Bridging the gap between striatal plasticity and learning. *Curr. Opin. Neurobiol.* 54, 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2018.09.007>.
- Pirogovsky, E., Nicoll, D.R., Challener, D.M., Breen, E., Gluhin, S., Corey-Bloom, J., Gilbert, P.E., 2015. The Visual Spatial Learning Test: differential impairment during the premanifest and manifest stages of Huntington's disease. *J. Neuropsychol.* 9, 77–86. <https://doi.org/10.1111/jnp.12036>.
- Quinlan, A.R., Hall, I.M., 2010. BEDTools: a flexible suite of utilities for comparing genomic features. *Bioinformatics* 26, 841–842. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp033>.
- Rajarajan, P., Gil, S.E., Brennan, K.J., Akbarian, S., 2016. Spatial genome organization and cognition. *Nat. Rev. Neurosci.* 17, 681–691. <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.124>.
- Rataj-Baniowska, M., Niewiadomska-Cimicka, A., Paschaki, M., Szyszka-Niagolov, M., Carramolino, L., Torres, M., Dolle, P., Krezel, W., 2015. Retinoic Acid Receptor beta Controls Development of Striatonigral Projection Neurons through FGF-Dependent and Meis1-Dependent Mechanisms. *J. Neurosci.* 35, 14467–14475. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1278-15.2015>.
- Rowlands, D., Lensjö, K.K., Dinh, T., Yang, S., Andrews, M.R., Hafting, T., Fyhn, M., Fawcett, J.W., Dick, G., 2018. Aggrecan Directs Extracellular Matrix-Mediated Neuronal Plasticity. *J. Neurosci.* 38, 10102–10113. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1122-18.2018>.
- Rue, L., Alcalá-Vida, R., Lopez-Soop, G., Creus-Muncunill, J., Alberch, J., Perez-Navarro, E., 2014. Early down-regulation of PKCdelta as a pro-survival mechanism in Huntington's disease. *Neuromol. Med* 16, 25–37. <https://doi.org/10.1007/s12017-013-8248-8>.
- Russo, P.S.T., Ferreira, G.R., Cardozo, L.E., Burger, M.C., Arias-Carrasco, R., Maruyama, S.R., Hirata, T.D.C., Lima, D.S., Passos, F.M., Fukutani, K.F., et al., 2018. CEMiTool: a Bioconductor package for performing comprehensive modular co-expression analyses. *BMC Bioinforma.* 19, 56. <https://doi.org/10.1186/s12859-018-2053-1>.
- Samanta, J., Kessler, J.A., 2004. Interactions between ID and OLIG proteins mediate the inhibitory effects of BMP4 on oligodendroglial differentiation. *Development* 131, 4131–4142. <https://doi.org/10.1242/dev.01273>.
- Steadman, P.E., Xia, F., Ahmed, M., Moyle, A.J., Penning, A.R.A., Geraghty, A.C., Steenland, H.W., Monje, M., Josselyn, S.A., Frankland, P.W., 2020. Disruption of Oligodendrogenesis Impairs Memory Consolidation in Adult Mice. *e156 Neuron* 105, 150–164. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.10.013>.
- Steffan, J.S., Bodai, L., Pallos, J., Poelman, M., McCampbell, A., Apostol, B.L., Kazantsev, A., Schmidt, E., Zhu, Y.Z., Greenwald, M., et al., 2001. Histone deacetylase inhibitors arrest polyglutamine-dependent neurodegeneration in *Drosophila*. *Nature* 413, 739–743. <https://doi.org/10.1038/35099568>.
- Teo, R.T., Hong, X., Yu-Taeger, L., Huang, Y., Tan, L.J., Xie, Y., To, X.V., Guo, L., Rajendran, R., Novati, A., et al., 2016. Structural and molecular myelination deficits occur prior to neuronal loss in the YAC128 and BACHD models of Huntington disease. *Hum. Mol. Genet* 25, 2621–2632. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw122>.
- Tie, F., Banerjee, R., Stratton, C.A., Prasad-Sinha, J., Stepanik, V., Zlobin, A., Diaz, M.O., Schacher, P.C., Harte, P.J., 2009. CBP-mediated acetylation of histone H3 lysine 27 antagonizes *Drosophila* Polycomb silencing. *Development* 136, 3131–3141. <https://doi.org/10.1242/dev.037127>.
- Vashishtha, M., Ng, C.W., Yildirim, F., Gipson, T.A., Kratter, I.H., Bodai, L., Song, W., Lau, A., Labadoff, A., Vogel-Ciernia, A., et al., 2013. Targeting H3K4 trimethylation in Huntington disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110, E3027–E3036. <https://doi.org/10.1073/pnas.1311323110>.
- Veyrac, A., Besnard, A., Caboche, J., Davis, S., Laroche, S., 2014. The transcription factor Zif268/Egr1, brain plasticity, and memory. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 122, 89–129. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420170-5.00004-0>.
- Voermans, N.C., Petersson, K.M., Daudey, L., Weber, B., Van Spaendonck, K.P., Kremer, H.P., Fernandez, G., 2004. Interaction between the human hippocampus and the caudate nucleus during route recognition. *Neuron* 43, 427–435. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.07.009>.
- Wang, M., Zhao, Y., Zhang, B., 2015. Efficient Test and Visualization of Multi-Set Intersections. *Sci. Rep.* 5, 16923. <https://doi.org/10.1038/srep16923>.
- Wang, S., Wang, T., Liu, T., Xie, R.G., Zhao, X.H., Wang, L., Yang, Q., Jia, L.T., Han, J., 2020. Ermin is a p116(RIP)-interacting protein promoting oligodendroglial differentiation and myelin maintenance. *Glia* 68, 2264–2276. <https://doi.org/10.1002/glia.23838>.
- Weng, Q., Chen, Y., Wang, H., Xu, X., Yang, B., He, Q., Shou, W., Chen, Y., Higashi, Y., van den Berghe, V., et al., 2012. Dual-mode modulation of Smad signaling by Smad-interacting protein Sip1 is required for myelination in the central nervous system. *Neuron* 73, 713–728. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.12.021>.
- Wertz, M.H., Mitchem, M.R., Pineda, S.S., Hachigian, L.J., Lee, H., Lau, V., Powers, A., Kulicke, R., Madan, G.K., Colic, M., et al., 2020. Genome-wide In Vivo CNS Screening Identifies Genes that Modify CNS Neuronal Survival and mHTT Toxicity. *Neuron* 106 (76–89), e78. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.01.004>.
- Xin, W., Chan, J.R., 2020. Myelin plasticity: sculpting circuits in learning and memory. *Nat. Rev. Neurosci.* 21, 682–694. <https://doi.org/10.1038/s41583-020-00379-8>.
- Xu, S., Grullon, S., Ge, K., Peng, W., 2014. Spatial clustering for identification of ChIP-enriched regions (SICER) to map regions of histone methylation patterns in embryonic stem cells. *Methods Mol. Biol.* 1150, 97–111. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0512-6_5.
- Yap, E.L., Greenberg, M.E., 2018. Activity-regulated transcription: bridging the gap between neural activity and behavior. *Neuron* 100, 330–348. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.10.013>.
- Ye, F., Chen, Y., Hoang, T., Montgomery, R.L., Zhao, X.H., Bu, H., Hu, T., Taketo, M.M., van Es, J.H., Clevers, H., et al., 2009. HDAC1 and HDAC2 regulate oligodendrocyte differentiation by disrupting the beta-catenin-TCF interaction. *Nat. Neurosci.* 12, 829–838. <https://doi.org/10.1038/nn.2333>.
- Ye, T., Ravens, S., Krebs, A.R., Tora, L., 2014. Interpreting and visualizing ChIP-seq data with the seqMINER software. *Methods Mol. Biol.* 1150, 141–152. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0512-6_8.
- Yin, H.H., Mulcare, S.P., Hilario, M.R., Clouse, E., Holloway, T., Davis, M.I., Hansson, A.C., Lovinger, D.M., Costa, R.M., 2009. Dynamic reorganization of striatal circuits during the acquisition and consolidation of a skill. *Nat. Neurosci.* 12, 333–341. <https://doi.org/10.1038/nn.2261>.
- Zhang, Y., Chen, K., Sloan, S.A., Bennett, M.L., Scholze, A.R., O'Keeffe, S., Phatnani, H.P., Guarneri, P., Caneda, C., Ruderisch, N., et al., 2014. An RNA-sequencing transcriptome and splicing database of glia, neurons, and vascular cells of the cerebral cortex. *J. Neurosci.* 34, 11929–11947. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1860-14.2014>.
- Zhong, J., Tang, G., Zhu, J., Wu, W., Li, G., Lin, X., Liang, L., Chai, C., Zeng, Y., Wang, F., et al., 2021. Single-cell brain atlas of Parkinson's disease mouse model. *J. Genet. Genom.* 48, 277–288. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2021.01.003>.

Baptiste BRULÉ

Caractérisation et modulation non pharmacologique des dérégulations épigénétiques associées à la maladie de Huntington : vers l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques

Résumé

La maladie de Huntington (MH) est une maladie neurodégénérative génétique caractérisée par des symptômes moteurs, cognitifs et psychiatriques causés par une atteinte primaire du striatum. Le mécanisme pathogénique implique une dérégulation épigénétique et transcriptionnelle à l'origine d'une perte d'identité et de fonction des neurones. Cette thèse a consisté en la caractérisation épigénétique du striatum de modèles murins à une résolution type cellulaire-spécifique et à différent stades de la MH. Nous avons observé que les neurones striataux qui expriment le gène muté dans la MH présentent une érosion épigénétique traduisant un vieillissement accéléré qui implique une altération des complexes polycomb. Les régulations épigénétiques étant sensibles à l'environnement, nous avons caractérisé le phénotype comportemental et moléculaire de modèles murins de la MH hébergés en environnement enrichi (EE) afin de décrypter l'effet de l'EE sur les régulations épigénétiques et transcriptionnelles. Nos résultats permettent une meilleure compréhension des mécanismes pathogéniques de la MH, et offrent de nouvelles perspectives thérapeutiques.

Mots-clés : maladie de Huntington, striatum, épigénétique, vieillissement, complexe polycomb, enrichissement environnemental

Summary

Huntington's disease (HD) is a neurodegenerative genetic disease characterized by motor, cognitive, and psychiatric disorders caused by primary damage to the striatum. The pathogenic mechanism is complex and involve epigenetic and transcriptional dysregulations leading to a loss of neuronal identity and cell function. This thesis aimed to characterize the striatal epigenetic signature in mouse models with a celltype-specific resolution at different stages of HD. We observed that striatal neurons expressing the HD mutation undergo epigenetic erosion, reflecting accelerated aging in HD, induced by alterations in polycomb complexes. As epigenetic regulations are sensitive to the environment, we characterized the behavioral phenotype and molecular alterations of HD mouse model after housing in an enriched environment (EE) to decipher the epigenetic and transcriptomic effects induced by EE. Our findings thus provide a better understanding of early pathogenic mechanisms in HD, opening new therapeutic perspectives.

Key words: Huntington's disease, striatum, epigenetics, aging, polycomb complex, environmental enrichment