



## SEANCE COMMUNE

Académie des sciences – Académie nationale de médecine

**Mardi 25 avril 2006**

Académie des sciences de l'Institut de France

### Nouveautés en cancérogenèse

#### Coordinateurs

**Roger Monier**, de l'Académie des sciences

**Maurice Tubiana**, de l'Académie des sciences, de l'Académie nationale de médecine

- 14h30      **Introduction**  
**Roger Monier**
- 14h45      **Mécanismes de défense à l'échelon cellulaire**  
**Dietrich Averbeck**, Génotoxicologie et cycle cellulaire – UMR 2027  
CNRS/Institut Curie, Orsay
- 15h15      **Cancérogenèse et micro-environnement**  
**Thomas Tursz**, Relations Hôte/Tumeur, Immunologie/Hématologie,  
Directeur de l'Institut Gustave Roussy, Villejuif
- 15h45      **Epigénèse et cancérogenèse**  
**Dominique Leprince**, UMR CNRS 8161, Institut de biologie de Lille,  
Institut Pasteur de Lille
- 16h15      **Cancérogenèse hormonale chez la femme : des mécanismes à la  
prévention**  
**Henri Rochefort**, de l'Académie des sciences et de l'Académie nationale  
de médecine, Inserm U540, Montpellier
- 16h45      **Conclusions**  
**Maurice Tubiana**

**Séance commune**  
**Académie des sciences - Académie nationale de médecine**

**MARDI 25 AVRIL 2006**

**Nouveautés en cancérogenèse**

**Les résumés**

## Introduction

Roger MONIER, Membre de l'Académie des sciences

Tous ceux qui s'intéressent de près ou de loin à la cancérogenèse ont conscience de vivre une période particulièrement exaltante marquée par les progrès conceptuels sous tendus par les applications des différents aspects de la génomique, l'émergence de la biologie des systèmes, l'apparition des thérapies ciblées et les premiers succès remportés par l'utilisation thérapeutique des ressources du système immunitaire et les promesses de la thérapie génique, même si ces promesses tardent à se réaliser.

Les exposés que vous allez entendre sont destinés à vous informer de certaines nouveautés en cancérogenèse, mais je souhaite profiter des quelques minutes dont je dispose pour effleurer un sujet d'une brûlante actualité : la découverte récente de cellules souches tumorales, qui partagent avec les cellules souches normales des tissus où naissent les tumeurs une capacité d'auto-renouvellement indéfini en culture in vitro et l'aptitude à générer, par division asymétrique, des progéniteurs dont la multiplication va peupler la tumeur, tout en maintenant une population minoritaire de cellules souches tumorales.

L'idée que les tumeurs puissent trouver leur origine dans des tissus embryonnaires résiduels n'est pas récente, puisqu'elle a été formulée dès 1855 par Rudolph Virchow. Mais ce n'est que depuis 1997 que grâce à divers progrès techniques une définition opérationnelle des cellules souches tumorales de leucémies myéloïdes aiguës, de cancers du sein, de cancers du système nerveux central, de cancers de poumon dans un modèle murin et très récemment (déc. 2005) dans des cancers de la prostate est devenue possible.

La mise en évidence de cellules souches tumorales démontre, dans les néoplasies mentionnées, l'existence d'une hiérarchie qui contredit la notion classique de la nature clonale d'une tumeur cliniquement décelable à un stade précoce. Les tumeurs à cellules souches tumorales constituent l'équivalent d'organes et sont au même titre que les organes normaux des systèmes robustes.

Deux grandes questions restent posées :

- 1) La notion de cellules souches tumorales peut-elle être étendue à toutes les néoplasies ?
- 2) Quelle est l'origine des cellules souches tumorales : une cellule souche normale du tissu ou bien un progéniteur ?

Quoiqu'il en soit, l'existence de cellules souches tumorales exige de nouvelles approches thérapeutiques tenant compte du rythme de leurs divisions, très inférieur à celui des cellules de la masse tumorale, et du fait qu'elles expriment, comme les cellules souches normales, des protéines de la famille ABC (ATP binding cassette), responsables de la résistance à de nombreuses drogues antitumorales.

Il devient donc indispensable d'apprendre à cibler spécifiquement les cellules souches tumorales pour limiter l'éventualité des rechutes.

## Mécanismes de défense à l'échelon cellulaire

Dietrich AVERBECK, Génotoxicologie et cycle cellulaire – Institut Curie - Section de recherche, UMR2027 CNRS/I.C., LRC n°28 CEA, Centre universitaire, Orsay

La caractéristique la plus remarquable des cellules est leur grande réactivité aux changements environnementaux provenant de stimuli ou d'agressions externes. Au cours de l'évolution des organismes vivants, les cellules ont mis en place des systèmes de défense contre le stress métabolique interne et occasionné par des agents physiques et chimiques. L'activité cellulaire comporte en effet des risques permanents d'endommagement notamment par le métabolisme oxydatif produisant des radicaux libres oxygénés. De plus, les cellules sont soumises à de multiples stress génotoxiques venant de différents types de rayonnements ionisants et non ionisants et de sources chimiques environnementales, industrielles ou médicales. La présence de systèmes de défense est primordiale pour le maintien d'une stabilité génétique et d'un fonctionnement cellulaire normal. La défaillance de ceux-ci est à l'origine de processus de vieillissement et/ou de cancer. Les études moléculaires récentes des mécanismes liant l'induction de lésions dans l'ADN au dysfonctionnement cellulaire et au développement de cancer montrent clairement que la cancérogenèse est un processus multi-étapes comprenant l'initiation, la promotion, la progression et le développement du cancer. Ceci implique l'induction de lésions au niveau de l'ADN dans les cellules somatiques, l'absence de réparation ou une réparation fautive et l'apparition de mutations activant un oncogène ou inactivant des gènes suppresseurs de tumeur par une altération, une perte ou une amplification de matériel génétique suivie d'une instabilité génomique, d'une sélection clonale et de l'apparition de cellules transformées et malignes. Dans ce processus, l'endommagement de l'ADN des cellules somatiques joue un rôle primordial. Les dommages impliquant les deux brins de l'ADN (cassures double brin, pontages interbrins et lésions multiples localisées) sont les plus efficaces.

La caractérisation des lésions induites par des stress génotoxiques a permis de mieux comprendre l'importance du type de lésion et la mise en place de systèmes de défense correspondants : (1) les systèmes antiradicalaires et antioxydants, (2) les systèmes de réparation de l'ADN, (3) l'élimination par l'apoptose des cellules endommagées. Une découverte majeure dans ce domaine est que ces trois processus sont très dépendants de la signalisation des dommages au niveau membranaire et au niveau de l'ADN. Les dommages membranaires déclenchent l'activation de MAPkinases et de facteurs de transcription comme NfκB impliqué dans la défense antioxydante. Les lésions de l'ADN comme les cassures activent des phosphoinositidyl 3 kinases comme ATM et ATR qui activent à leur tour des protéines effecteurs telles que les protéines de contrôle du cycle cellulaire (CDK1, CDK2), de la réparation (BRCA1, MRE11, NBS1, DNA-Pkcs etc.) ou de l'apoptose (p53). Les analyses du transcriptome (par des puces à ADN) et des protéines ont montré que l'induction de gènes et l'activation de protéines sont fortement impliquées dans ces trois processus. L'expression de certains gènes est également sous contrôle épigénétique. La signalisation intra- et intercellulaire des lésions est devenue un élément clef de la réponse des cellules aux agents génotoxiques. Elle fait partie d'un réseau de réponses et contribue à différentes manifestations telles que l'effet bystander, la réponse adaptative, l'hypersensibilité aux faibles doses. Les trois principaux mécanismes de défense expliquent en grande partie les réponses aux faibles expositions (faible dose et faible débit de dose dans le cas d'irradiation ionisante). L'absence de défense antioxydante est responsable du maintien du stress oxydatif et de l'instabilité génétique dans les cellules transformées et conditionne le microenvironnement pour l'apparition de tumeurs. L'efficacité de la réparation et de l'apoptose varie en fonction de l'endommagement. Les défauts génétiques de la signalisation (mutations d'ATM), de la défense antioxydante, de la réparation de l'ADN (mutations et polymorphismes) et de l'apoptose prédisposent fortement au cancer. Certains

défauts de réparation (comme dans la réparation des cassures double brin par religation non homologue) affectent également les défenses immunitaires et donnent lieu à une prédisposition aux lymphomes ou aux leucémies. Les mécanismes de défense cellulaires sont modulés en fonction des différents niveaux d'endommagement. Ils constituent un rempart efficace contre le cancer et également des cibles thérapeutiques privilégiées.

## Cancérogénèse et micro-environnement

Thomas TURSZ, Directeur de l'Institut Gustave Roussy, Villejuif

Depuis plusieurs années, de nombreux travaux ont en partie élucidé les mécanismes génétiques de la cancérogénèse et expliqué comment une cellule peut devenir immortelle et recevoir en permanence des signaux d'activation cellulaire en s'auto immunisant progressivement des éléments de contrôle du cycle cellulaire. Plus récemment, un éclairage nouveau a été porté sur les relations hôte-tumeur et la façon dont les cellules tumorales s'adaptent à leur environnement (Stroma) en échappant à la reconnaissance par les cellules du système immunitaire, mais surtout deviennent capables de détourner à leur profit les mécanismes de régulation intercellulaire. Depuis longtemps, les pathologistes ont été intéressés par la structure cellulaire des zones péri-tumorales et ont montré que dans certaines tumeurs (maladie de Hodgkin, cancers du naso-pharynx) les cellules cancéreuses ne constituaient qu'une petite partie de la masse tumorale au sein d'un vaste infiltrat polymorphe parfois appelé granulome. Ces réactions ont été souvent interprétées comme des réactions de défense immunologique ou inflammatoire.

En effet, il apparaît dans un certain nombre de cas que les cellules tumorales utilisent des facteurs de croissance tels le EGF ou le FGF produits par les cellules du stroma. A l'inverse, elles produisent un certain nombre de facteurs, tels le TGF $\beta$  inhibant en partie les réponses immunologiques anti-tumorales. Beaucoup de travaux récents se sont intéressés à la néo-angiogénèse, processus par lequel les cellules tumorales, par l'intermédiaire d'un certain nombre de facteurs de croissance, tel le VEGF, actif sur les cellules endothéliales vasculaires induisent la prolifération de néo-vaisseaux contribuant ainsi à l'irrigation de la tumeur et à son développement.

Une nouvelle facette de la thérapeutique anti-tumorale consiste dans le développement de molécules ciblées inhibant des facteurs de croissance, ou leurs récepteurs, ou les signaux de transduction intra-cellulaire favorisant ces interactions cellulaires et en particulier la néo-angiogénèse. Certains de ces nouveaux agents ont déjà apporté la preuve de leur efficacité thérapeutique potentielle en cancérologie humaine.

Parfois même ces nouveaux médicaments à l'action particulièrement spécifique et ciblée deviennent eux-mêmes des outils de découverte ; un exemple caractéristique, la mise en évidence par le groupe de L. Zitvogel, d'un nouveau type de cellules immunitaires tueuses, issues des cellules dendritiques et activées par l'association GLIVEC – Interleukine 2. Ces cellules, nommées IKDC (Interferon gamma producing killer dendritic cells) ont spontanément une activité anti-tumorale importante et sont capables d'induire en 48 heures l'apoptose de nombreux types de cellules tumorales in-vitro comme in-vivo.

De nouvelles voies de traitement anti-tumoral ont donc résulté de la manipulation intelligente de ces interactions entre cellules tumorales et environnement.

## Modifications épigénétiques et cancer

Valérie CHOPIN, Nicolas STANKOVIC, Capucine FLEURIEL, Cateline GUERARDEL et Dominique LEPRINCE, CNRS UMR 8161, Institut de biologie de Lille, Institut Pasteur de Lille

L'épigénétique est définie comme «l'étude des modifications de l'expression des gènes qui sont transmissibles lors de la mitose et/ou de la méiose mais qui ne découlent pas de modifications dans la séquence de l'ADN». La mise en place du programme épigénétique est cruciale au cours du développement et sa stabilité est essentielle pour le maintien des fonctions de chaque type cellulaire au cours de la vie d'un organisme. Pendant de nombreuses années, l'étude des causes génétiques du cancer (mutations, amplifications ou pertes de matériel chromosomique, translocations récurrentes) a occupé le devant de la scène. Cependant, l'explosion récente de notre connaissance des acteurs moléculaires et des mécanismes sous-jacents, qui, en modulant la structure de la chromatine, régulent l'expression des gènes, a souligné le rôle prépondérant joué par des modifications épigénétiques dans l'initiation et la progression de nombreuses pathologies et en particulier des cancers. Ces données ont profondément modifié notre vision de l'apparition et de l'évolution des cancers en mettant en exergue le rôle essentiel joué par les perturbations du programme épigénétique des cellules souches et progénitrices.

Les nucléosomes, unité basale du matériel génétique sont, tant au niveau de leur composition que de leur arrangement, la cible principale de mécanismes de régulation épigénétique. Ceux-ci mettent en oeuvre un ensemble complexe d'étapes étroitement interconnectées et dépendantes qui, depuis le dépôt («écriture») des marques épigénétiques jusqu'à leur «lecture» et leur interprétation, permettra de moduler l'activité transcriptionnelle des gènes.

Les changements épigénétiques majeurs associés à la cancérogenèse sont des méthylations aberrantes de l'ADN au niveau de dinucléotides CpG et des modifications post-traductionnelles des extrémités N-terminales des histones qui font saillie hors du nucléosome. Historiquement, une perte de méthylation au niveau de dinucléotides CpG, la seule séquence méthylable dans le génome des mammifères, et une diminution globale du taux de méthyl-Cytosine furent les premières modifications épigénétiques identifiées dans les cellules cancéreuses. De manière paradoxale, cette hypométhylation globale co-existe au sein des cellules cancéreuses avec une hyperméthylation localisée au niveau du promoteur de gènes dits suppresseurs de tumeurs qui se traduit par leur extinction transcriptionnelle. En parfaite opposition avec l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs par hyperméthylation, l'hypométhylation se traduit par une réactivation de certains gènes. Cependant, elle est particulièrement sévère au niveau de séquences satellites péri-centromériques, ce qui pourrait prédisposer l'ADN à des cassures et/ou des remaniements chromosomiques.

En plus de cette hypométhylation globale de l'ADN et de l'hyperméthylation des îlots CpG, certaines modifications post-traductionnelles des histones ont été récemment reconnues comme des marqueurs épigénétiques quasi-universels de la transformation tumorale. Il s'agit en particulier d'une diminution globale de la monoacétylation de la lysine 16 et de la triméthylation de la lysine 20 de l'histone H4.

Contrairement aux causes génétiques du cancer qui affectent la séquence de l'ADN, les modifications épigénétiques résultent d'activités enzymatiques et sont réversibles, ce qui ouvre des perspectives prometteuses en thérapie grâce à la découverte d'inhibiteurs spécifiques. Ainsi, d'ores et déjà des inhibiteurs des enzymes méthylant l'ADN ou désacétylant les histones sont utilisés en tests cliniques et donnent des résultats significatifs, notamment dans le traitement de leucémies.

## Cancérogénèse hormonale chez la femme : des mécanismes à la prévention

Henri ROCHEFORT, Membre de l'Académie des sciences et de l'Académie nationale de médecine, Inserm U 540, Montpellier

Les cancers hormono-dépendants concernent essentiellement les cancers des organes cibles des hormones stéroïdes sexuelles estrogènes et progestérone chez la femme et androgènes chez l'homme. En me limitant aux cancers du sein, je m'efforcerai de montrer comment la recherche fondamentale a permis d'aboutir aux premières thérapies ciblées des cancers. Les lignées cellulaires humaines issues de cancer du sein métastatiques et exprimant les récepteurs des hormones ovariennes ont permis d'élucider les mécanismes par lesquels les estrogènes stimulent et les anti estrogènes inhibaient la croissance et la division des cellules cancéreuses en étroite interaction avec les facteurs de croissance qui *via* des récepteurs membranaires stimulent l'activité d'une cascade de protéines kinases.

Le clonage des récepteurs hormonaux, la définition de leur domaines fonctionnels et leur analyse structurale tri dimensionnelle ont également aidé à l'introduction des anti estrogènes dont le tamoxifène comme première thérapie des cancers ciblée sur les récepteurs des estrogènes (RE) que l'on dose en routine dans la tumeur après son exérèse chirurgicale.

Les récepteurs nucléaires activés par les hormones stimulent la transcription de gènes spécifiques en interagissant avec leur promoteur et un grand nombre de partenaires protéiques, dont de nombreux coactivateurs ou corépresseurs, des variants d'épissage des récepteurs et divers facteurs transcriptionnels dont les combinaisons multiples peuvent rendre compte de la spécificité tissulaire de la réponse aux hormones et des mécanismes de résistance aux anti hormones. La découverte récente du RE  $\beta$ , qui en se dimérisant avec le RE  $\alpha$  peut moduler son action augmente encore cette complexité. L'étude des lignées a également permis de détecter plusieurs protéines induites, qui si elles sont également surexprimées chez les malades pourraient expliquer l'activité mitogène des estrogènes, principal responsable de la stimulation de croissance des cancers hormono-dépendants chez la femme et de leur rôle comme promoteurs de tumeurs. Outre des facteurs de croissance et des protéases comme la cathepsine D qui sont sécrétés et ont une action autocrine sur les mêmes cellules ou paracrine sur les cellules voisines, les estrogènes induisent également des facteurs intracrines tels que fos, jun, c myc, cyclines D1 et E qui accélèrent la transition G1-S du cycle cellulaire. Certaines enzymes induites par les estrogènes telles que la cathepsine D ou par les progestatifs telle que l'acide gras synthase (AGS) permettent aux cellules cancéreuses après leur migration métastatique de survivre et de se multiplier de façon autonome dans un environnement étranger. Ces enzymes sont également surexprimées dans les cancers RE négatifs, et constituent de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles. S'il y a une très bonne cohérence pour les estrogènes entre les études fondamentales qui ont été transférées avec succès en clinique avec les anti estrogènes et les anti-aromatases, ce n'est pas encore le cas pour les progestatifs. De grandes études épidémiologiques d'observation et des essais contrôlés contre placebo montrent que l'association aux estrogènes de progestatifs augmente le risque de cancer du sein chez la femme ménopausée alors que ces progestatifs s'opposent à l'effet mitogène des estrogènes en culture de cellules.

Les étapes initiales de la cancérogénèse mammaire sont encore mystérieuses car beaucoup plus difficiles à étudier par manque de modèle adapté et du fait du délai (10-15 ans) entre ces premières étapes et la révélation clinique du cancer. L'étude *in vivo* des lésions précancéreuses par comparaison aux glandes normales chez la même femme et l'étude des

cellules souches dont certaines contiennent des récepteurs hormonaux, pourraient améliorer leur compréhension. J'en donnerai quelques exemples. Ces approches convergent avec celle de l'analyse globale des transcriptomes des cancers du sein en indiquant une grande hétérogénéité de ces cancers dont la genèse serait branchée plutôt que linéaire. Les cancers du sein n'exprimant pas de RE d'emblée correspondraient à des précurseurs cellulaires différents pour lesquels d'autres cibles thérapeutiques et préventives doivent être trouvées.

Enfin on ne peut accepter comme une fatalité sans réagir, l'augmentation régulière d'incidence des cancer du sein dans le monde occidental (une femme sur 9 sera atteinte au cours de sa vie), en France l'incidence a doublé en 20 ans. Malgré les progrès des thérapies et les

actions de dépistage qui sont lancées, le cancer du sein reste chez la femme en France la première cause de mortalité par cancer. Des essais de prévention sont initiés dans le monde, un effort supplémentaire doit être entrepris en France basé sur une bonne recherche fondamentale cherchant à comprendre les mécanismes responsables afin de mieux les prévenir. Là encore un dialogue constructif et bi directionnel sera nécessaire entre médecins et scientifiques pour aboutir, à partir de faits scientifiques établis et adaptés à ce type de cancer, à des actions de prévention réalisables en pratique.



## CONCLUSION

**Maurice Tubiana**, de l'Académie des sciences, de l'Académie nationale de médecine

Nos connaissances sur la cancérogénèse ont, pendant cette dernière décennie, brusquement et fortement évolué.

- On croyait que le risque de transformation maligne concernait toutes les cellules, il paraît vraisemblable, aujourd'hui, qu'elle ne peut survenir qu'au niveau de certaines cellules.

- On pensait que la transformation était liée à la survenue dans une cellule de 6 à 10 mutations de l'ADN rendant la cellule capable de se multiplier sans stimulation externe (transformation de proto-oncogènes en oncogènes – l'accélérateur- et inhibition des gènes suppresseurs - les freins-) et d'envahir les tissus voisins.

- On croyait que la cellule subissait passivement ces lésions de l'ADN sans se défendre. Il apparaît, aujourd'hui, que la cellule dispose de défenses nombreuses et efficaces : réparation de l'ADN, élimination des cellules lésées susceptibles de devenir cancéreuses (notamment apoptose), etc...

- De plus, on a mis en évidence des défenses au niveau tissulaire. Ceux-ci contrôlent la prolifération cellulaire par des processus voisins de ceux qui agissent dans l'embryogénèse et la régénération tissulaire après une agression.

- Enfin, au niveau de l'organisme, les mécanismes immunologiques peuvent éliminer les cellules cancéreuses et l'augmentation de la fréquence des cancers chez les sujets immunodéprimés prouvent la puissance de ce mécanisme.

La cancérogénèse se heurte donc à des systèmes de défense puissants et l'émergence d'un cancer nécessite des dysfonctionnements à trois niveaux (cellule, tissus, organes) résultant notamment de l'accumulation d'un grand nombre de cellules lésées. Une sélection de type néo-Darwinienne privilégie parmi la descendance de la cellule initiée, les clones plus aptes à surmonter ces obstacles ou à les manipuler pour qu'ils aident à l'émergence d'un cancer.

Les facteurs qui stimulent la prolifération cellulaire ou désorganisent les tissus jouent un rôle capital dans ce processus et l'épidémiologie montre que la plupart des facteurs cancérogènes mis en évidence par l'épidémiologie ne sont pas que des mutagènes mais des stimulateurs de la prolifération ou des agents perturbant les relations intercellulaires.

Le concept selon lequel une ou plusieurs lésions du génome d'une cellule suffisent à provoquer un cancer paraît peu vraisemblable. Le cancer tel qu'il apparaît aujourd'hui est la conséquence d'une maladie du système tissulaire, il n'est pas dû uniquement à une seule cellule anarchique.