

Sélection et décryptage

L'innovation en cancérologie à travers la presse scientifique et médicale

Évolution génomique et transcriptionnelle des lignées cellulaires tumorales en culture*

La culture de cellules tumorales est un des outils préférés des chercheurs travaillant dans le domaine du cancer : c'est facile, ce n'est pas très cher à mettre en œuvre, et cela fournit toujours des résultats ! Le rêve... Oui mais, avec quelle fiabilité ? Quelle reproductibilité ? Quelle utilité pour comprendre le cancer ? Ces questions, hélas, les chercheurs ne se les posent pas toujours. Des découvertes remarquables ont été permises par des cultures cellulaires bien maîtrisées ; que l'on songe à la démonstration, par le groupe de Weinberg, de la nécessité d'associer au moins trois altérations génomiques pour que des cellules normales acquièrent un phénotype cancéreux [1] caractérisé par la tumorigénicité de ces cellules ; que l'on songe aussi à la découverte du premier mécanisme de résistance aux médicaments cytotoxiques d'origine naturelle, la *multidrug resistance* liée à la glycoprotéine P [2]. Mais trop de travaux n'ont obtenu que des résultats stériles et sans valeur pour n'avoir pas su utiliser correctement leurs lignées cellulaires tumorales... Un livre entier reste à publier pour décrire ce qu'il ne faut pas faire si l'on veut obtenir des résultats fiables et reproductibles ; ce n'est point l'objet de ces quelques lignes.

Un des handicaps majeurs des lignées cellulaires tumorales continues est leur divergence d'un laboratoire à l'autre et, dans un même laboratoire, au cours du temps. Le phénomène est bien connu des chercheurs. Son explication peut être déduite des différences des pressions de sélection s'exerçant sur les divers avatars d'une lignée ; sa quantification, en revanche, n'a jamais fait l'objet d'études sérieuses jusqu'à celle que je commente ici. Rappelons pour commencer que les lignées cellulaires en culture ont été et sont encore très utilisées pour les études pharmacologiques des déterminants de la sensibilité et de la résistance aux agents anticancéreux. Le *National Cancer Institute* (NCI), la *Cancer Cell Line Encyclopedia* (CCLE) du *Broad Institute* et le consortium *Genomics of Drug Sensitivity in Cancer* (GDSC) du *Sanger Institute* ont établi des panels de lignées dont les caractéristiques moléculaires (génomique, transcriptome, etc.) peuvent être associées à l'activité, sensibilité ou résistance, de molécules d'intérêt thérapeutique [3-5]. J'ai moi-même apporté ma contribution à de telles études et je me souviens avec émotion du papier fondateur du groupe de John Weinstein [6] que publia *Nature Genetics* en 2000, et que j'invite mes lecteurs à lire ou à relire.

Le groupe de Golub se livre dans l'article que je commente aujourd'hui à un travail iconoclaste mais constructif :

- évaluer avec précision la variabilité que l'on peut observer entre des lignées cellulaires portant le même nom mais cultivées dans des laboratoires distincts ;
- expliquer les mécanismes de cette variabilité ;
- et tirer les conséquences qui en résultent.

En comparant tout d'abord les variations alléliques germinales des lignées communes aux deux panels les plus riches mentionnés ci-dessus (CCLE et GDSC qui ont 916 lignées en commun), une quasi identité est observée, avec un coefficient de corrélation r médian de 0,95. En ce qui concerne les variations alléliques somatiques, l'accord est moins bon (r médian = 0,86) ; de nombreuses différences existent entre deux lignées censées être les mêmes dans les deux panels, au niveau des mutations non silencieuses (la médiane des différences est de 19 %) comme au niveau du nombre de copies (médiane de 26 %). Les auteurs estiment qu'une valeur médiane de 22 % du génome est ainsi affectée par des différences sous-clonales dans l'ensemble des 916 lignées.

En plus de cette comparaison de deux panels, les auteurs ont comparé 27 souches distinctes provenant de la lignée originale MCF7, la lignée de cancer du sein la plus utilisée en recherche expérimentale. Dix bras chromosomiques (soit 25 % du génome) comportent différents gains ou pertes dans cette collection ; par rapport à la ploïdie de base, 283 gènes ont un gain de leur nombre de copies et 405 une perte dans au moins une des souches ; seulement 13 et 21 %, respectivement, de ces gains et pertes étant observés dans toutes les souches. La *figure 1* présente, dans les 27 souches, les gains ou pertes de *PTEN* et d'*ESR1*, deux gènes capitaux pour l'oncogenèse mammaire et pour la sensibilité à la chimiothérapie et à l'hormonothérapie, respectivement. De même, seulement 35 % des 95 variations d'un nucléotide unique (SNV) non synonymes et des *indels* affectant la séquence codante ou les régions d'épissage sont partagés par toutes les souches ; 29 % sont présents dans une seule souche et les autres (36 %) sont présents dans plusieurs sous-groupes des 27 souches.

Les auteurs montrent que ces variations génomiques d'une souche sont bien sous-clonales et, surtout, que ces variations surviennent sous l'effet d'une sélection, et qu'elles ne sont pas aléatoires. Les sous-clones préexistent dans la population cellulaire initiale et sont sélectionnés par les modalités de la culture cellulaire : c'est la première fois, à ma connaissance, qu'un effet aussi important des

conditions de culture des cellules sur leur évolution génomique a été mis en évidence. Par ailleurs, de nouvelles variations sont introduites en raison de l'instabilité génomique des souches, et sont ensuite soumises à la sélection. Pour le montrer, les auteurs ont en effet cloné plusieurs souches à partir d'une seule cellule et révélé que ces clones divergent rapidement : une médiane de 15 % des SNV non silencieux détectés dans la population parentale n'est pas observée dans leur progéniture issue d'une cellule unique, ou vice versa. En outre, en cultivant de façon continue pendant 8 à 14 mois deux clones précis issus d'une même souche, les auteurs démontrent qu'une médiane de 13 % des SNV non silencieux ne se retrouve pas au cours du temps : même les clones dérivés d'une cellule unique ne sont pas stables au niveau génomique. Il existe donc concomitamment une sélection de sous-clones préexistants et la survenue de nouvelles mutations, sélectionnées à leur tour.

La variabilité génomique des 27 souches est retrouvée au niveau transcriptomique ; certes les profils d'expression des gènes sont globalement comparables, mais des différences notables, d'au moins un facteur 2, existent d'une souche à l'autre et concernent de nombreux gènes. Bien évidemment, la perte de *PTEN* au niveau génomique à des niveaux différents, et la présence variable de mutations activatrices de *PIK3CA* se traduisent par des variations considérables d'expression de la protéine PTEN ou de la protéine MTOR, respectivement. De même la perte génomique de *ESR1* se traduit par une réduction de la signalisation œstrogénique. Il est à noter que le degré d'hétérogénéité des clones dérivés d'une seule cellule

n'est pas plus faible que celui de la souche de départ, et il augmente avec le temps, ce qui montre que la variation de l'expression génique survient à la fois *de novo* en raison de l'apparition continue de nouvelles mutations et par sélection progressive de sous-clones préexistants ou apparus par la suite.

Une conséquence fonctionnelle majeure de cette variabilité des souches d'une même lignée, telle qu'elle existe dans l'espace et dans le temps, est la variabilité de la réponse aux molécules d'intérêt thérapeutique qui a été très étudiée au cours des deux décennies passées. Dans cet article, les auteurs ont exploré, par un test de viabilité cellulaire, l'activité de 321 molécules sur les 27 souches MCF7 qu'ils avaient en main. Un total de 55 composés avaient une activité majeure sur au moins une souche, mais pour 48 composés une souche au moins était totalement résistante. Les auteurs ont bien sûr vérifié la reproductibilité de leur test de viabilité cellulaire et l'ont mise hors de cause. La variabilité de l'activité des composés est à mettre sur le compte, le plus souvent, de la variabilité transcriptomique des lignées et non, par exemple, de différences dans le taux de prolifération des lignées, cette variabilité transcriptomique pouvant être dépendante des différences génomiques sous-jacentes. Le *clustering* des 27 lignées MCF7 selon les critères de réponse aux médicaments reproduit le *clustering* basé sur les altérations génomiques ou les variations transcriptomiques. La *figure 2*, construite à partir de quatre figures différentes de l'article, montre clairement cette quasi-identité.

Aux expérimentateurs passionnés (dont je suis) par l'utilisation de lignées cellulaires *in vitro* pour définir des déterminants de l'activité des médicaments, cet article

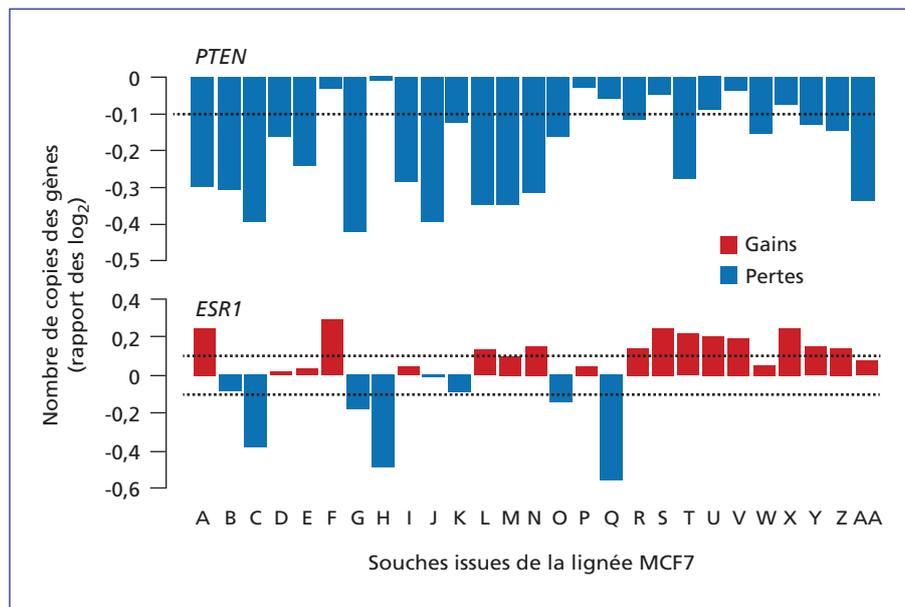


Figure 1. Altération du nombre de copies (gains en rouge, pertes en bleu) des gènes *PTEN* et *ESR1* dans les 27 souches de la lignée MCF7 étudiées, numérotées de A à AA.

Figure 1. Change in *PTEN* and *ESR1* gene copy number (increases in red; losses in blue) of the 27 strains of the MCF7 cell line studied, numbered from A to AA.

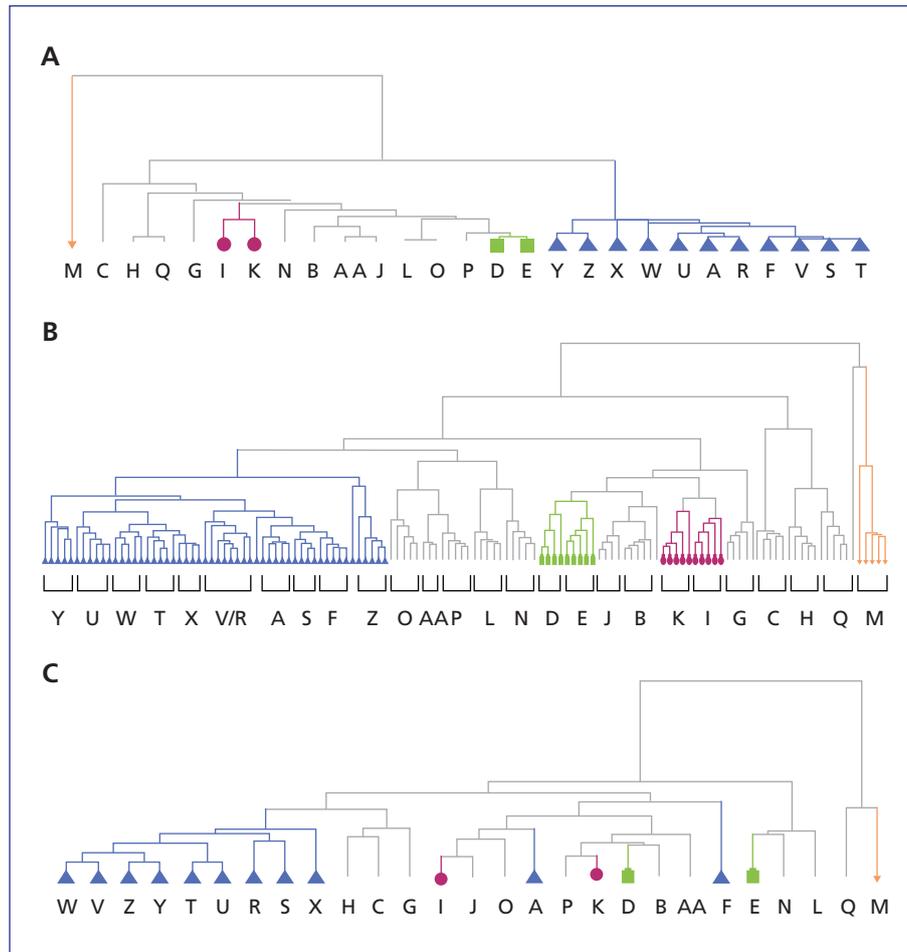


Figure 2. Clustering hiérarchique des 27 souches de la lignée MCF7 (seuls les arbres des figures originales ont été représentés, sans les *heat maps* correspondantes) en fonction : (A) des profils des mutations (SNV) non silencieuses ; (B) des profils d'expression génique ; (C) de la réponse à 55 molécules d'intérêt thérapeutique. On voit que la répartition des lignées dans les clusters est très voisine (même s'il est nécessaire d'effectuer un retournement selon l'axe vertical pour le visualiser).

Figure 2. Hierarchical clustering of the 27 strains of the MCF7 cell line (only trees from original figures are represented, without corresponding *heat maps*): (A) non-silent mutation (SNV) profiles; (B) gene expression profiles; (C) response to the 55 molecules of therapeutic interest. Note the similarity within clusters (which may be more noticeable after flipping figures B and C along the vertical axis).

semble apporter de mauvaises nouvelles : qui me dit que ma lignée cellulaire XX est comparable à celle étudiée dans le cadre de la CCLE ou du GDSC ? Comment comparer les résultats de mon laboratoire à ceux obtenus dans d'autres laboratoires ? Comment les intégrer dans une recherche multiparamétrique et multicentrique ? La réponse à ces questions est qu'il faut, non seulement, s'assurer que la lignée XX que l'on utilise est bien conforme sur le plan germinale à la lignée décrite originalement (ce qui est maintenant obligatoire si l'on veut publier), mais encore évaluer soi-même, dans son laboratoire, les paramètres moléculaires (génomique, transcriptomique, métabolique ou autres) auxquels on voudra associer l'activité de telle ou telle molécule... Mais je trouve personnellement que l'article apporte en fait une excellente

nouvelle pour les fans de l'*in vitro* : les profils d'expression des gènes dans une lignée caractérisée pourraient bien être mieux connectés au mécanisme d'action des molécules actives que ne le sont ceux des grands panels de multiples lignées provenant de divers patients.

* Ben-David U, Siranosian B, Ha G, et al. Genetic and transcriptional evolution alters cancer cell line drug response. *Nature* 2018 ; 560 : 325-30. doi : 10.1038/s41586-018-0409-3

RÉFÉRENCES

1. Hahn WC, Counter CM, Lundberg AS, Beijersbergen RL, Brooks MW, Weinberg RA. Creation of human tumour cells with defined genetic elements. *Nature* 1999 ; 400 : 464-8.

2. Biedler JL, Riehm H. Cellular resistance to actinomycin D in Chinese hamster cells in vitro: cross-resistance, radioautographic, and cytogenetic studies. *Cancer Res* 1970 ; 30 : 1174-84.
3. Monks A, Scudiero D, Skehan P, *et al.* Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J Natl Cancer Inst* 1991 ; 83 : 757-66.
4. Barretina J, Caponigro G, Stransky N, *et al.* The Cancer Cell Line Encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity. *Nature* 2012 ; 483 : 603-7.
5. Garnett MJ, Edelman EJ, Heidorn SJ, *et al.* Systematic identification of genomic markers of drug sensitivity in cancer cells. *Nature* 2012 ; 483 : 570-5.
6. Scherf U, Ross DT, Waltham M, *et al.* A gene expression database for the molecular pharmacology of cancer. *Nat Genet* 2000 ; 24 : 236-44.

Jacques Robert

Interactions entre le génome constitutionnel et le génome tumoral : à la recherche de différences des anomalies moléculaires des cancers entre les ethnies peuplant les États-Unis*

De nombreuses différences ont été observées dans l'incidence et le développement des cancers, et surtout dans les résultats thérapeutiques, entre les différentes populations du globe. Les raisons sont la plupart du temps à rechercher dans le degré du développement socio-économique de ces populations : même en supprimant le facteur âge qui est prépondérant pour des raisons évidentes, on sait (sans trop savoir l'expliquer) que les cancers du sein ont une incidence plus élevée dans les pays industrialisés. On sait aussi (mais on peut l'expliquer) que l'incidence des mélanomes malins est supérieure en Suède ou au Danemark à ce qu'elle est en Grèce. Les chercheurs américains ont observé depuis quelques années que les Afro-Américains avaient une incidence et une mortalité par cancer colorectal, cancer du sein ou cancer de la prostate plus élevées que celles des Américains d'origine européenne, mais nous savons tous que les facteurs socio-économiques sont certainement au premier plan pour expliquer ces disparités.

En revanche, très peu de travaux ont été consacrés aux différences que présentent les altérations moléculaires des cancers rencontrés dans des populations distinctes. L'observation, classique, que les femmes non fumeuses d'origine asiatique ont plus souvent des cancers du poumon présentant une mutation du gène *EGFR* que les hommes fumeurs d'origine européenne, intrigue chercheurs et médecins depuis plus de dix ans. Pourquoi le tabac ? Ce n'est pas difficile de faire des hypothèses mécanistiques. Pourquoi le sexe ? On peut imaginer des facteurs hormonaux. Pourquoi l'origine ethnique ? J'avoue ne pas avoir rencontré d'explication convaincante, ni au niveau socio-économique, ni au niveau physiopathologique, ni au niveau moléculaire.

L'immense base de données de *The Cancer Genome Atlas* (TCGA) peut permettre de répondre à ce type de questions, sans forcément aboutir à des hypothèses mécanistiques. Les auteurs l'ont utilisée librement pour ce travail, bénéficiant du fait que la « race » est souvent (mais pas toujours) mentionnée dans les fichiers individuels des patients ; mieux vaut d'ailleurs parler de

l'ascendance (*ancestry*) africaine ou européenne que de la race qui ne correspond à aucune notion scientifique validée. C'est d'ailleurs ainsi que les auteurs ont procédé en évaluant cette ascendance dans le génome des sujets plutôt que dans la mention subjective des dossiers des patients. Des algorithmes simples et robustes permettent d'identifier cette ascendance avec une bonne probabilité, et de la pondérer quantitativement dans les cas d'ascendances multiples. Du fait de la mixité des populations d'ascendance différente, il est d'ailleurs remarquable que cet algorithme aboutisse à une variable continue, qui fournit d'ailleurs des résultats superposables à une distribution discrète en catégories. Je ne commenterai pas ici cette partie du travail des auteurs, qui repose sur des études antérieures d'identification des ascendances ethniques [1-4], qui mériteraient une étude critique de fond qui n'a pas sa place ici.

Les auteurs ont ainsi étudié le génome tumoral de 11 122 sujets (33 types de cancers provenant de 27 localisations primitives) en fonction de leur origine ethnique, limitée à la distinction entre Afro-Américains et Américains d'origine européenne – dénomination que je simplifierai en « Euro-Américains » – le nombre de sujets d'origine asiatique ou amérindienne étant insuffisant. La distribution des différents types de cancers dans les ethnies n'appelle pas de remarque particulière et ne concerne pas directement notre sujet.

Une première analyse a été faite en ce qui concerne les altérations somatiques du nombre de copies de gènes (SCNA), altérations subdivisées ensuite selon qu'elles concernent un locus, un bras chromosomique ou un chromosome entier. Pour trois types de cancers (sein, endomètre et voies aérodigestives supérieures [VADS]), les Afro-Américains présentent un nombre de SCNA supérieur aux Euro-Américains, et pour deux autres types (cancer du rein à cellules claires et cancer du rein papillaire) le contraire est observé, aucune différence significative (facteur de risque fixé à 10 %) n'étant constatée dans les autres types de cancers (*figure 1*). Les résultats sont similaires, que l'on utilise une

distribution par catégories ou une distribution continue (avec calcul d'un coefficient de corrélation). Comme les différents types de SCNA ne procèdent pas du même mécanisme, l'analyse peut être affinée. On retrouve bien les mêmes résultats pour les SCNA locales et chromosomiques que ceux observés globalement dans le cas des cancers du sein, de l'endomètre et des VADS, mais pas dans les cancers du rein. Dans les cancers du rein à cellules claires, ce sont les SCNA focaux qui expliquent la différence entre Afro- et Euro-Américains, alors que dans les cancers papillaires ce sont les SCNA chromosomiques qui sont concernés. En affinant encore, on note que ce sont principalement trois locus dont l'amplification/délétion est en cause dans les différences ethniques : 19q12, 16q24.2-24.3 et 12q24.21-24.22. Une recherche à travers l'ensemble des localisations cancéreuses aboutit à l'identification d'autres sites focaux (21 avec un FDR de 25 %) dont le degré de gain ou de perte diffère entre Afro- et Euro-Américains. Une tentative d'identification de « gènes de cancer » dans ces sites aboutit à l'identification de 31 gènes codant des protéines et trois gènes non-codants dont les variations quantitatives (gain/perte) qui contribuent aux disparités ethniques dans les différents types de cancers. Par exemple, l'amplification de *CCNE1* (cycline E1) est significativement plus fréquente chez les Afro-Américains que chez les Euro-Américains.

Le second niveau d'analyse est celui des mutations rencontrées dans les tumeurs. La charge mutationnelle globale ne diffère pas, dans chaque type de cancer, en fonction de l'ethnie. En ce qui concerne les mutations individuelles des gènes impliqués dans les cancers, les auteurs ont d'abord étudié 30 gènes comportant des mutations récurrentes à travers l'ensemble des localisations cancéreuses ; ils ont observé une surreprésentation des mutations de *TP53* chez les Afro-Américains par rapport aux Euro-Américains, et l'inverse en ce qui concerne quatre gènes (*CREBBP*, *ARID1A*, *PIK3CA* et *PTEN*). Ils ont ensuite affiné l'étude par type de cancer ; ce sont encore *TP53* et *PIK3CA* qui ressortent de cette analyse, le premier étant plus fréquemment muté chez les Afro-Américains et le second chez les Euro-Américains, et ce dans de nombreux types de cancers (figure 2).

Le niveau d'expression des gènes par RNAseq est bien sûr disponible sur le TCGA et permet d'établir des signatures fonctionnelles et de les comparer en fonction de l'ascendance des patients. Une signature d'instabilité génomique, établie antérieurement, est ainsi plus fréquemment retrouvée chez les Afro-Américains que chez les Euro-Américains dans les cancers du sein, de l'endomètre et des VADS (en parfait accord avec la fréquence des mutations de *TP53*) ; à l'inverse, une signature de la voie de la PI3 kinase est plus fréquemment retrouvée chez les Euro-Américains (en accord également avec les observations concernant les mutations de *PIK3CA* et de *PTEN*).

Deux questions restent en suspens : comment expliquer ces différences des altérations moléculaires des cancers

en fonction de l'origine ethnique ? Et que faire, sur les plans du diagnostic et de la prise en charge thérapeutique, pour mettre à profit ces observations ? Malheureusement, les auteurs ne nous donnent aucune piste pour aller plus loin...

Il faut signaler enfin que les auteurs ont mis en place un portail, *The Cancer Genetic Ancestry Atlas* (TCGAA), pour mettre à la disposition des chercheurs la distribution ethnique des patients de l'ensemble des bases de données disponibles du TCGA. Je ne peux que recommander d'utiliser ce portail avec les plus grandes précautions méthodologiques et éthiques : je n'ai pas besoin d'expliquer pourquoi. Nous avons banni en Europe ce type de recherche ; on peut songer avec effroi ce que cet outil aurait pu fournir (et pourrait encore fournir) aux régimes prédisposés aux purifications ethniques.

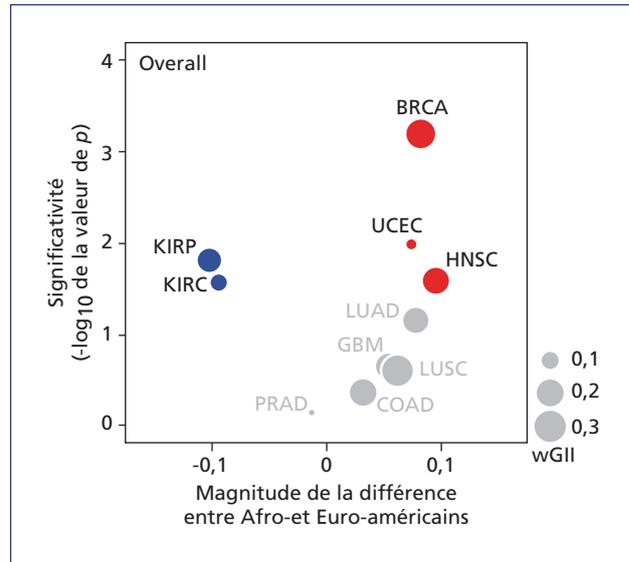


Figure 1. Représentation « en volcan » de la significativité des différences ethniques (Afro-Américains contre Euro-Américains), exprimée en $-\log_{10}$ de la valeur de p , en fonction de la magnitude de la différence en altérations somatiques du nombre de copies de gènes (SCNA) entre les deux populations. Chaque cercle correspond à une localisation cancéreuse et sa taille est proportionnelle à la charge en SCNA. Est comptée positivement (en rouge si la différence est significative) une charge plus élevée chez les Afro-Américains et négativement (en bleu si la différence est significative) une charge plus élevée chez les Euro-Américains. Les localisations ne présentant pas de différence significative au niveau du SCNA sont en gris.

Figure 1. Volcano plot representation of the significance of ethnic differences (African/American compared to European/American), expressed as $-\log_{10}$ of the p value, relative to difference in somatic copy number alteration (SCNA). Each circle corresponds to a cancerous location and its size is proportional to SCNA. A higher load is counted positively for African/Americans (in red if the difference is significant) and negatively for European/Americans (in blue if the difference is significant). Localisations presenting no significant differences in SCNA are depicted in grey.

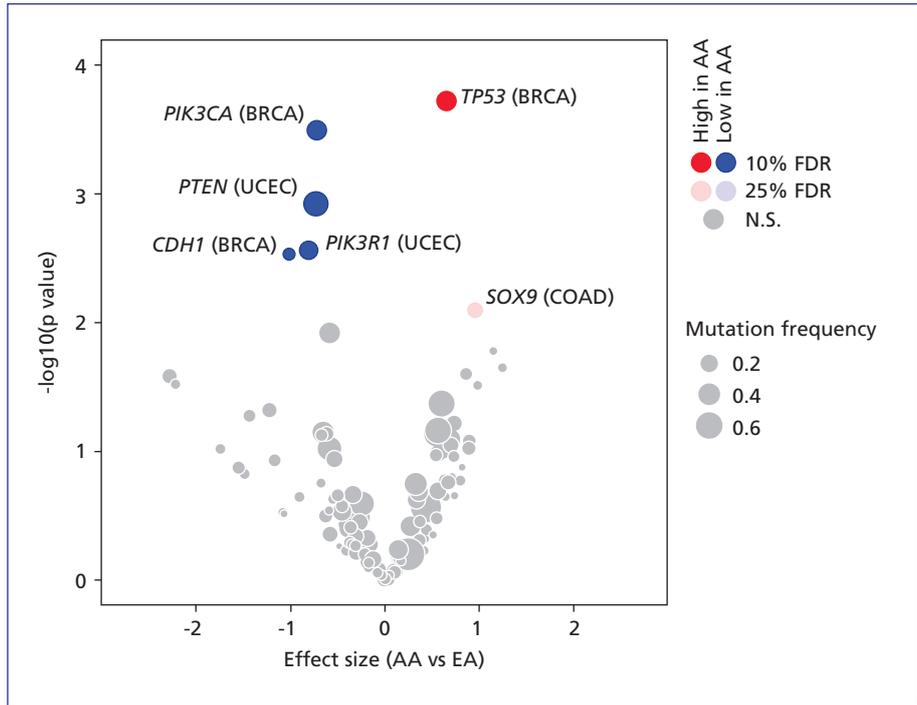


Figure 2. Même type de représentation que dans la *figure 1* pour les différences de fréquence des mutations oncogéniques récurrentes de gènes pilotes. Les coordonnées et les conventions graphiques sont identiques à celles de la *figure 1*.
Figure 2. Differences in the frequency of recurrent oncogenic mutations. Graphic representation is the same as that of figure 1.

*Yuan J, Hu Z, Mahal BA, et al. Integrated analysis of genetic ancestry and genomic alterations across cancers. *Cancer Cell* 2018 ; 34 : 549-60. doi : 10.1016/j.ccell.2018.08.019

RÉFÉRENCES

1. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 2000 ; 155 ; 945-59.
2. Price AL, Patterson NJ, Plenge RM, Weinblatt ME, Shadick NA, Reich D. Principal components analysis corrects for stratifica-

tion in genome-wide association studies. *Nat Genet* 2006 ; 38 : 904-9.

3. Sankararaman S, Sridhar S, Kimmel G, Halperin E. Estimating local ancestry in admixed populations. *Am J Hum Genet* 2008 ; 82 : 290-303.

4. Liu Y, Nyunoya T, Leng S, Belinsky SA, Tesfaigzi Y, Bruse S. Softwares and methods for estimating genetic ancestry in human populations. *Hum Genomics* 2013 ; 7 : 1.

Jacques Robert

Subversion du métabolisme glucidique de l'organisme par les cellules cancéreuses*

On sait depuis longtemps que les cellules cancéreuses possèdent un métabolisme glucidique original par rapport au reste de l'organisme (et l'article de Salim Khiati, dans ce numéro, vient nous le rappeler, p. 261-9) : les cellules cancéreuses utilisent préférentiellement la voie de la glycolyse plutôt que celle des phosphorylations oxydatives pour produire l'adénosine triphosphate (ATP) dont elles ont besoin pour croître et se multiplier. Elles ont donc besoin de quantités de glucose élevées, puisque le rendement de la glycolyse est très inférieur à celui de la phosphorylation oxydative. Comment parviennent-elles à se procurer plus de glucose que celui auquel « elles ont

droit » au vu de la masse tumorale ? Les auteurs de cet article sont partis d'un raisonnement relatif au métabolisme glucidique de l'organisme dans lequel évolue une tumeur maligne pour élaborer une très intéressante approche expérimentale. Ce raisonnement est le suivant : un environnement « diabétique », qui a pour effet une augmentation des concentrations circulantes de glucose, pourrait donner un avantage aux cellules cancéreuses. Effectivement, certains médicaments antidiabétiques, au premier rang desquels la metformine, ont des effets anticancéreux qui ont été constatés empiriquement ; de plus, on sait que l'obésité est un facteur de risque non

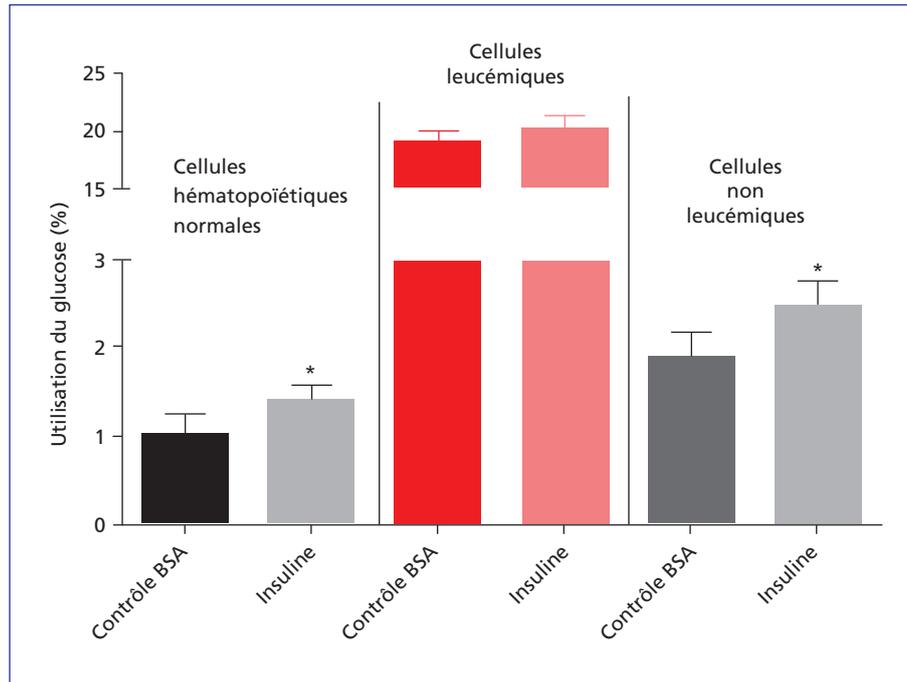


Figure 1. Utilisation du glucose dans des cellules hématopoïétiques normales et dans des cellules non leucémiques et leucémiques de souris.

Figure 1. Use of glucose in normal haematopoietic cells and non-leukaemic and leukaemic mouse cells.

négligeable de cancer, et elle s'accompagne elle aussi d'une augmentation des concentrations circulantes de glucose.

Les auteurs ont utilisé deux modèles distincts de leucémie aiguë myéloïde de la souris. À l'aide de tests classiques de tolérance à l'insuline, ils montrent dans un premier temps

que ces souris présentent, tant au niveau du muscle que du tissu adipeux, une résistance à l'insuline et, d'ailleurs, leur insulinémie est très diminuée. Malgré cela, leurs concentrations circulantes de glucose sont réduites, ce que les auteurs attribuent à une consommation excessive de glucose par les cellules leucémiques, objectivée par une

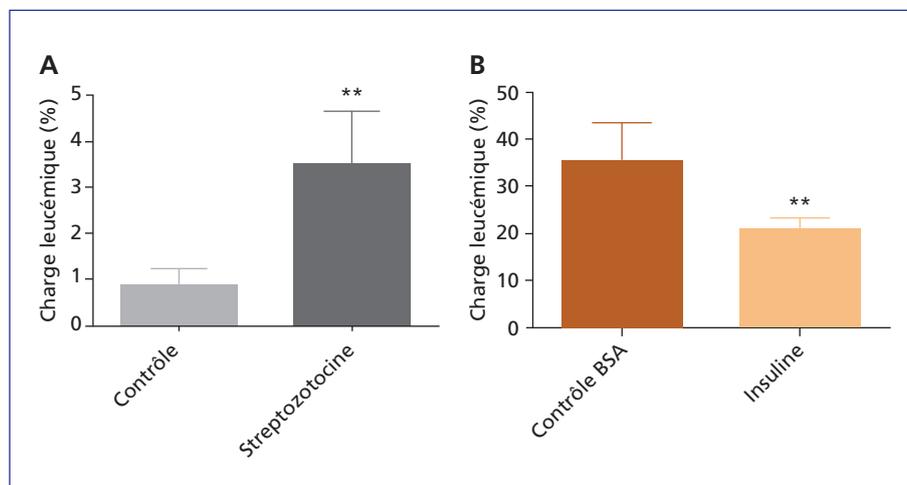


Figure 2. Charge tumorale de souris leucémiques traitées par streptozotocine (qui détruit les cellules productrices d'insuline) (A) ou par insuline (B).

Figure 2. Tumour load in leukaemic mice treated with streptozotocin (which destroys cells producing insulin) (A), or insulin (B).

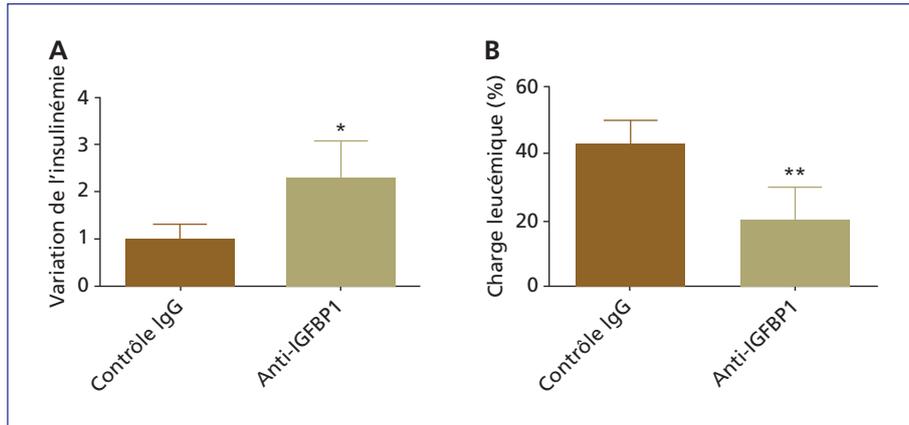


Figure 3. Effet de l'anticorps neutralisant anti-IGFBP1 injecté à des souris leucémiques au niveau de la concentration sérique d'insuline (A) et la charge tumorale (B).

Figure 3. Effect of neutralising antibody anti-IGFBP1, injected into leukaemic mice, on the level of serum insulin concentration (A) and tumour load (B).

différence marquée de consommation de glucose par des cellules hématopoïétiques normales et des cellules non leucémiques et leucémiques prélevées chez le même animal (figure 1). De plus, alors que des cellules hématopoïétiques normales ainsi que les cellules non leucémiques des souris répondent à l'insuline, les cellules leucémiques de ces souris n'y répondent pas. Les auteurs jouent alors sur les taux d'insuline de leurs souris de deux façons :

- en détruisant les cellules pancréatiques productrices d'insuline par la streptozotocine ;
- et par injection directe d'insuline.

Dans le premier cas, la charge tumorale est augmentée (figure 2A), elle est diminuée dans le second (figure 2B). La conclusion des auteurs est que la leucémie induit une résistance à l'insuline et une diminution de l'insulinémie,

deux phénomènes qui concourent à augmenter la disponibilité en glucose pour la croissance des cellules leucémiques.

Les auteurs explorent ensuite le mécanisme par lequel se produit ce détournement de la physiologie de l'organisme au profit du cancer. Ils montrent qu'il existe une production très importante d'IGFBP1 (*insulin-like growth factor binding protein 1*) dans le tissu adipeux des souris leucémiques. Cette protéine, normalement produite par le foie, est un modulateur important de la disponibilité en insuline pour les tissus ; par ailleurs, grâce à la présence d'un motif RGD (arginine, glycine, acide aspartique), elles peuvent se fixer aux intégrines, dont le rôle dans la résistance à l'insuline a récemment été mis en évidence. Le blocage de l'IGFBP1 par un anticorps restaure la sensibilité à l'insuline et l'insulinémie des souris

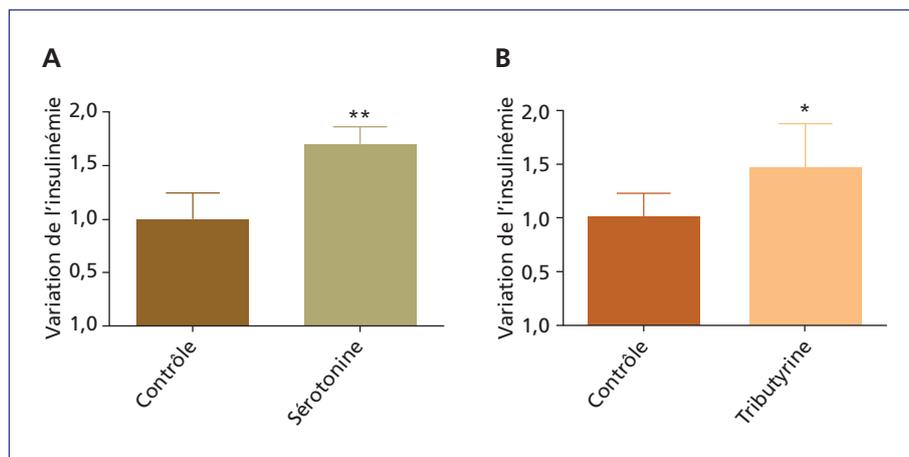


Figure 4. Variation relative des concentrations sériques d'insuline chez des souris leucémiques traitées par sérotonine (A) ou par tributyrine (B).

Figure 4. Relative variation in serum insulin concentration in leukaemic mice treated with serotonin (A) or tributyrin (B).

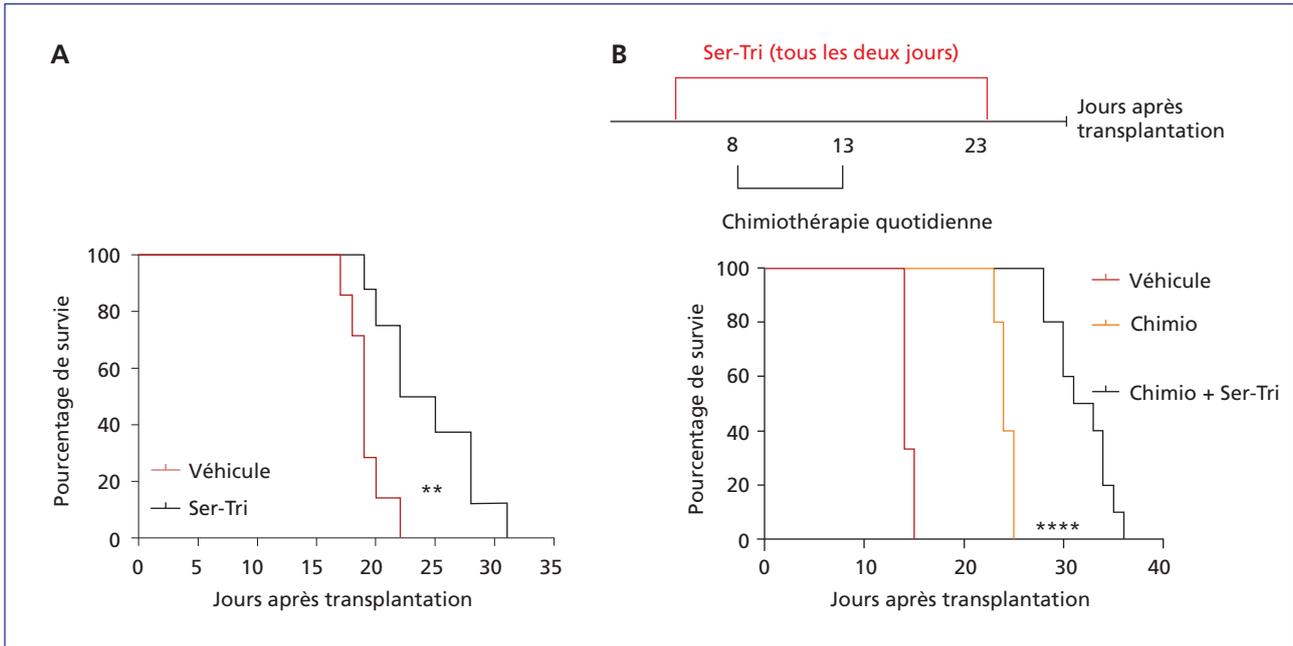


Figure 5. Survie des souris leucémiques traitées par l’association sérotonine-tributyryne, seule (A) ou avec une chimiothérapie (B).
Figure 5. Survival of leukaemic mice treated with serotonin-tributyryl alone (A) or chemotherapy (B).

leucémiques (figure 3A) tout en diminuant la charge tumorale (figure 3B). Les auteurs montrent également que la diminution de l’insulinémie des souris leucémiques n’est pas due à une insuffisance de production pancréa-

tique, mais à une insuffisance de sécrétion, dont ils rendent responsables, en modulant leur activité, le GLP1 (*glucagon-like peptide 1*), un facteur codé par le gène du glucagon qui stimule la production d’insuline, et la sérotonine, également connue pour stimuler la sécrétion d’insuline ; l’administration de sérotonine permet de rétablir l’insulinémie (figure 4A). Le microbiote intestinal joue également un rôle dans l’adaptation métabolique décrite par les auteurs *via* la perte d’acides gras à courte chaîne comme l’acide butyrique ; l’administration de tributyrine permet, elle aussi, de rétablir l’insulinémie (figure 4B).

Après avoir compris ce phénomène d’adaptation métabolique qui vise à faciliter la croissance et la multiplication des cellules leucémiques, les auteurs ont essayé d’en tirer des conséquences sur le plan thérapeutique. L’administration conjointe de sérotonine et de tributyrine a pour effet de restaurer l’insulinémie et d’augmenter la survie des souris leucémiques (figure 5A), effet thérapeutique particulièrement marqué en combinaison avec la chimiothérapie (figure 5B). Ces résultats sont-ils applicables à l’homme ? Les auteurs observent, dans une cohorte de patients atteints de syndrome myélodysplasique ou de leucémie aiguë myéloïde, une augmentation importante des concentrations circulantes d’IGFBP1 (figure 6) et de divers facteurs pro-inflammatoires, ainsi qu’une résistance à l’insuline, montrant ainsi que leurs résultats expérimentaux peuvent être reproduits chez l’homme. La leucémie induit une adaptation métabolique venant « subvertir » l’utilisation du glucose par les tissus au profit des cellules cancéreuses qui en consomment de grandes quantités.

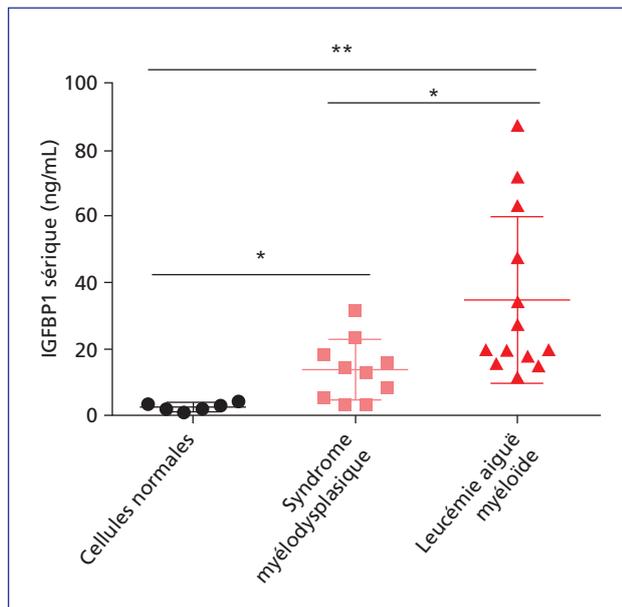


Figure 6. Concentrations sériques d’IGFBP1 chez des sujets normaux, des patients atteints de syndrome myélodysplasique (MDS) ou de leucémie aiguë myéloïde (AML).

Figure 6. Serum IGFBP1 concentration in normal subjects and patients with myelodysplastic syndrome (MDS) or acute myeloid leukaemia (AML).

Ces résultats ouvrent la voie à des applications thérapeutiques originales.

Je voudrais dire en conclusion que ces travaux viennent rappeler à ceux qui l'auraient oublié que le cancer est une maladie *générale* qui retentit sur l'ensemble de l'organisme...

*Ye H, Adane B, Khan N, *et al.* Subversion of systemic glucose metabolism as a mechanism to support the growth of leukemia cells. *Cancer Cell* 2018; 34: 659-73. doi: 10.1016/j.ccell.2018.08.016

Jacques Robert

L'hormonorésistance des cancers du sein peut être liée à l'activation de la voie des MAP kinases*

La plupart des études génomiques en cancérologie mammaire, depuis le travail princeps de l'équipe de Vogelstein, ont concerné les tumeurs primitives ; les métastases qui représentent en fait la cause ultime du décès des patientes n'ont été que peu étudiées. Pourtant,

on sait qu'elles développent, outre les mutations oncogéniques originelles présentes dans la tumeur primitive, de nouvelles mutations pilotes, non seulement celles qui peuvent contribuer au développement tumoral, mais aussi celles qui sont responsables de la résistance aux

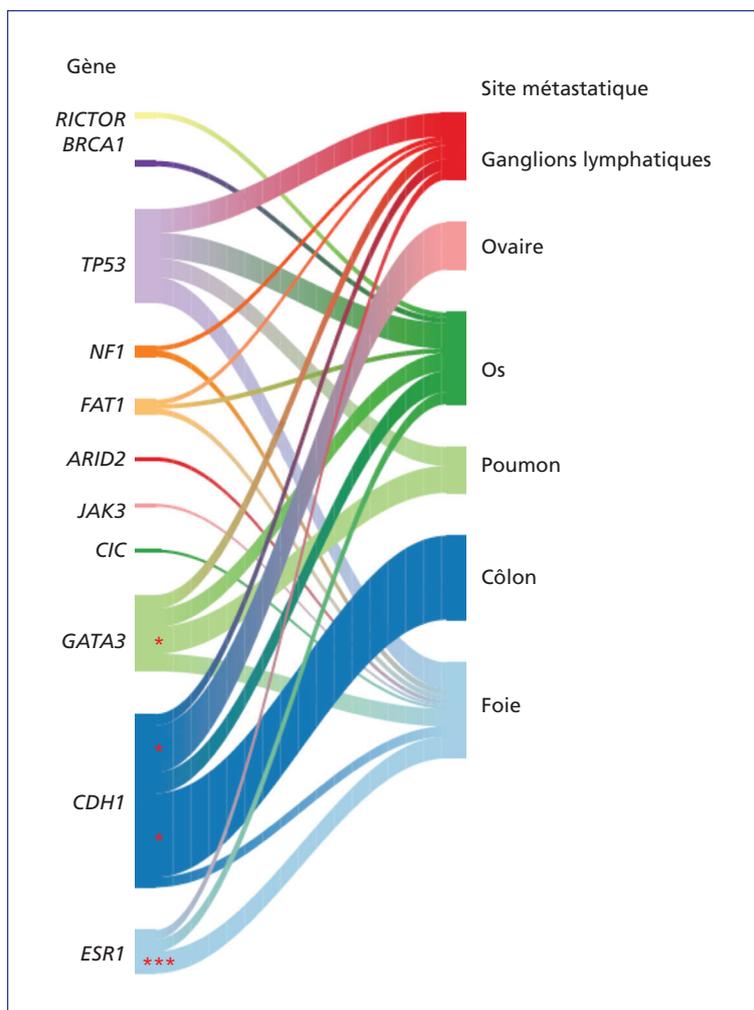


Figure 1. Présence des principales altérations génomiques dans les divers sites métastatiques. L'épaisseur des lignes correspond à la fréquence des mutations considérées. Les associations significatives sont signalées par des astérisques.

Figure 1. Main genomic alterations at different metastatic sites. The thickness of the lines corresponds to the frequency of mutations under consideration. Significant associations are marked with asterisks.

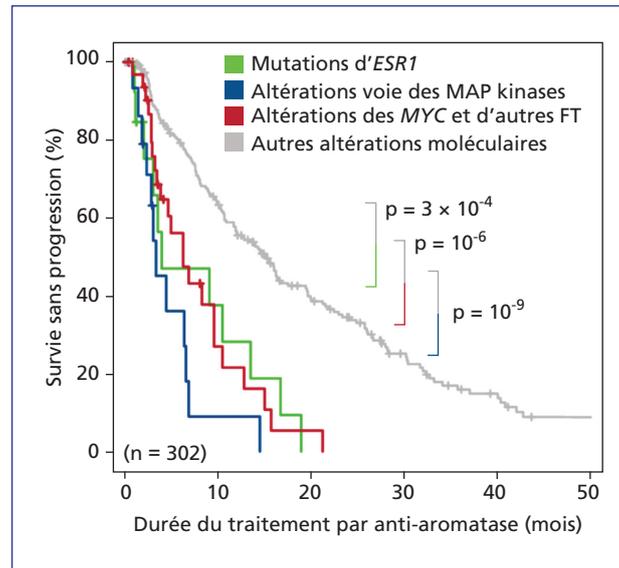


Figure 2. Survie sans progression des patientes traitées par un anti-aromatase en fonction des altérations génomiques rencontrées dans la tumeur.

Figure 2. Progression-free survival in patients treated with an anti-aromatase relative to genomic alterations in the tumour.

traitements initiaux. Il était d'ores et déjà connu que des mutations des voies de maintenance de la chromatine (SWI/SNF) et de la voie JAK/STAT survenaient lors de l'extension métastatique, et que près de 18 % des cancers traités par hormonothérapie développaient des mutations du récepteur des œstrogènes (ESR1) ; encore fallait-il dresser un tableau plus global du paysage mutationnel de ces métastases.

L'équipe de Baselga a ainsi étudié 1 918 tumeurs provenant de 1 756 patientes, une population enrichie sur la base de la gravité du pronostic : patientes jeunes, ayant au diagnostic des signes cliniques et anatomopathologiques de haut risque métastatique, ayant pour moitié d'entre elles déjà été traitées en situation adjuvante, néo-adjuvante ou métastatique. Ce sont les mutations classiques des cancers du sein que l'on rencontre dans les tumeurs primitives de la cohorte étudiée : *CDH1*, *TP53*, *GATA3*, *CCND1*, *PIK3CA*, *PTEN*, sont les gènes les plus fréquemment mutés. Dans les métastases, il n'a pas été possible de distinguer les mutations caractéristiques de la formation même des métastases de celles « induites » (en fait sélectionnées) par le traitement, essentiellement en raison du fait que, d'une part, la plupart des patientes avaient reçu un traitement adjuvant avant l'émergence de la métastase, et que, d'autre part, la présence de métastases synchrones du primitif est un phénomène rare. Un total de 32 mutations oncogéniques ont été observées de façon plus fréquente dans les métastases que dans les primitifs, essentiellement dans les tumeurs exprimant le

récepteur des œstrogènes et n'amplifiant pas le gène *ERBB2*. Elles se rencontrent bien sûr dans le gène *ESR1* comme cela était attendu, ainsi que dans la voie des MAP kinases et dans les voies de régulation épigénétique. De façon très intéressante, les mutations observées sont distinctes en fonction de la localisation métastatique : les mutations de *CDH1* se rencontrent dans les métastases ovariennes, celles de *GATA3* dans les métastases pulmonaires, etc. (figure 1).

En ce qui concerne les mutations pouvant être associées à la résistance à l'hormonothérapie, la cohorte offrait une taille suffisante pour identifier celles survenues post-traitement de celles observées chez les patientes naïves de toute hormonothérapie. Ce sont les mutations d'*ESR1*, *ERBB2* et *NF1* qui présentent une fréquence élevée chez les patientes ayant été traitées, et elles sont mutuellement exclusives. La présence de mutations récurrentes, activatrices dans le cas d'*ERBB2* et délétères dans le cas de *NF1*, a incité les auteurs à analyser l'ensemble de la voie des MAP kinases. De façon régulière, des mutations d'*ERBB3*, *KRAS*, *HRAS*, *BRAF*, et *MAP2K1* (MEK1) sont observées, ainsi que des amplifications focales d'*EGFR*, tant dans les cancers ayant été traités par hormonothérapie que dans les cancers ne l'ayant pas été, mais dans le premier cas, elles sont toutes mutuellement exclusives entre elles (ce qui est classique) et aussi avec celles d'*ESR1*, ce qui pose la question du mécanisme par lequel une activation de la voie des MAP kinases peut entraîner une résistance à l'hormonothérapie. En tout cas, les patientes dont les

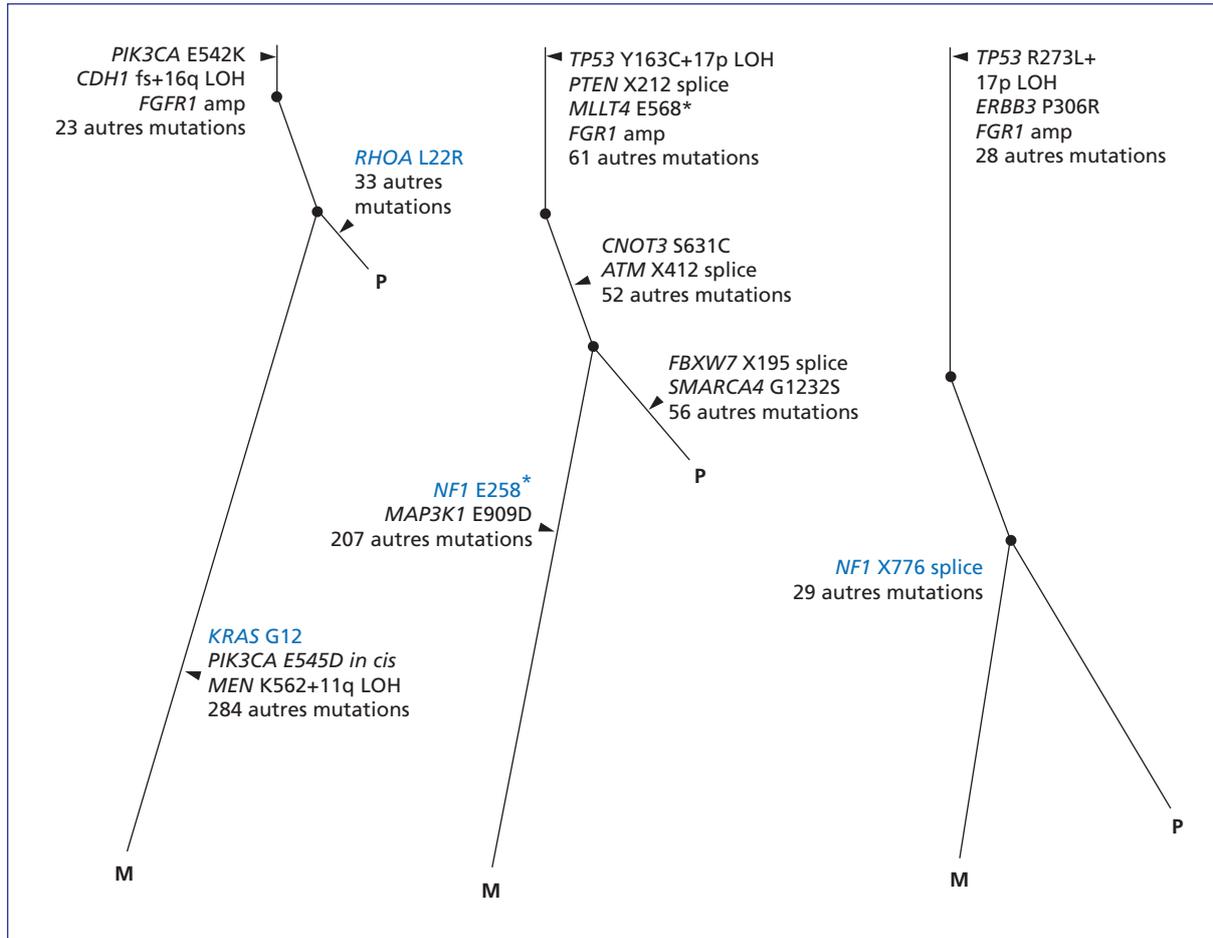


Figure 3. Évolution des clones tumoraux chez trois patientes pour lesquelles le site primitif (P) et des sites métastatiques (M) ont été séquencés. Seules les principales mutations ont été indiquées. Par exemple, pour la première patiente, les altérations clonales originales concernaient *PIK3CA*, *CDH1* et *FGFR1* et un sous-clone du primitif contenait une altération de *RHOA* ; la métastase contenait une mutation G12R de *KRAS*. Pour les autres patientes, ce sont des mutations de *NF1* qui sont observées dans la métastase.

Figure 3. Evolution of tumour clones in three patients for whom sequence analysis was performed from cells at the primary (P) and metastatic site (M). Only the main mutations are indicated. For example, for the first patient, original clonal alterations concerned *PIK3CA*, *CDH1* and *FGFR1*, and a sub-clone of the primary site contained an alteration in *RHOA*; metastatic cells contained a G12R mutation in *KRAS*. For the other patients, metastasis involved *NF1* mutations.

métastases présentent des altérations moléculaires d'*ESR1* ou de gènes de la voie des MAP kinases (ou de quelques facteurs de transcription comme *MYC* ou *FOXA1*) ont une survie médiane de 3,5 mois contre 15,2 mois pour celles dont les métastases ne présentent pas de telles mutations (figure 2).

Le timing des altérations moléculaires a été étudié par les auteurs sur une cohorte de 30 patientes afin d'analyser l'évolution des clones et sous-clones des tumeurs au cours du temps. La figure 3 montre ainsi le profil moléculaire évolutif dans le primitif et la métastase chez trois patientes. On voit l'apparition, sous traitement, d'une mutation de *KRAS* chez la première et de

mutations de *NF1* chez les deux autres, en plus, bien évidemment, de nombreuses autres mutations (seul leur nombre est indiqué) n'ayant pas le caractère de récurrence des deux mutations liées à la résistance au traitement. Restait à prouver le rôle de l'activation de la voie des MAP kinases dans la résistance à l'hormonothérapie. Pour cela, les auteurs ont généré deux modèles de lignées cellulaires isogéniques à partir de la lignée MCF7 : dans la première, ils ont surexprimé le gène *EGFR*, dans la seconde ils ont inactivé le gène *NF1*. Ils ont observé dans ces cellules une résistance au fulvestrant, résistance réversée en présence d'un inhibiteur de la MAP kinase ERK (figure 4).

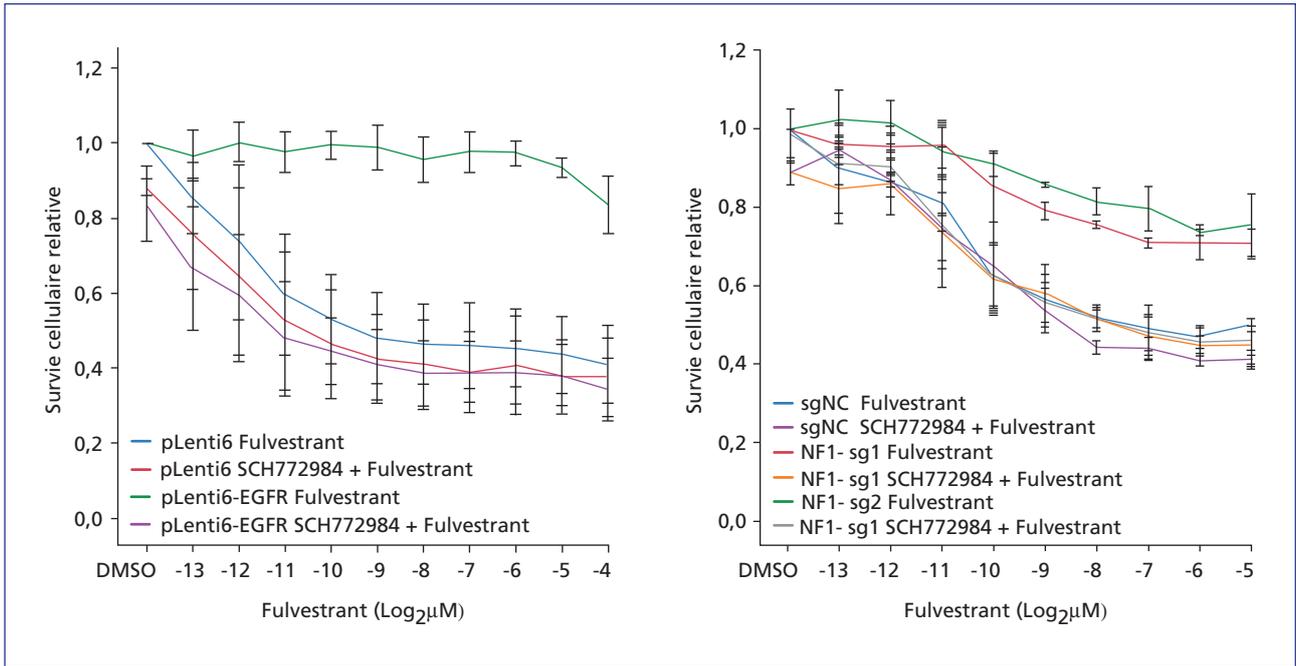


Figure 4. Survie cellulaire de la lignée MCF7 et de lignées isogéniques surexprimant le gène *EGFR* (A) ou ayant subi un *knockdown* du gène *NF1* (B), en présence de fulvestrant, un anti-œstrogène induisant la dégradation du récepteur des œstrogènes. La lignée surexprimant *EGFR* est résistante au fulvestrant, et cette résistance est réversée par un inhibiteur de la MAP kinase ERK, le SCH772984. Les deux lignées n'exprimant plus le gène *NF1* sont également résistantes au fulvestrant, et cette résistance est également réversée par le SCH772984.

Figure 4. Survival of MCF7 cells and isogenic lines over-expressing the *EGFR* gene (A) or with *NF1* gene knockdown (B) in the presence of fulvestrant, an anti-oestrogen which induces the degradation of oestrogen receptors. The line over-expressing *EGFR* is resistant to fulvestrant and this resistance is reversed by the MAP kinase ERK inhibitor, SCH772984. The two lines that no longer express the *NF1* gene are also resistant to fulvestrant and this resistance is also reversed by SCH772984.

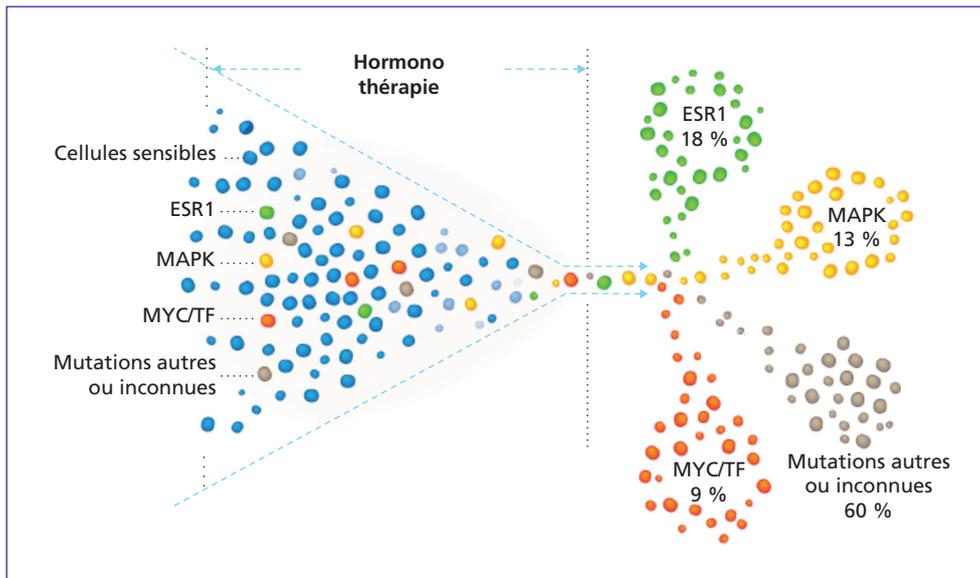


Figure 5. Sélection de sous-clones résistants à l'hormonothérapie des cancers du sein. Les altérations moléculaires concernent, de façon exclusive, soit *ESR1* (18 %), soit divers gènes aboutissant à l'activation des MAP kinases (13 %), soit les gènes de plusieurs facteurs de transcription comme *MYC* (9 %), soit des gènes autres (60 %).

Figure 5. Selection of sub-clones that are resistant to hormone therapy in breast cancers. The molecular alterations exclusively concern either *ESR1* (18%), various genes leading to activation of MAP kinases (13%), several transcription factor genes such as *MYC* (9%), or other genes (60%).

Je conclurai en présentant (*figure 5*) l'abstract graphique de l'article, qui montre clairement comment se fait la sélection de clones résistants à l'hormonothérapie lors de l'évolution de la maladie.

*Razavi P, Chang MT, Xu G, et al. The genomic landscape of endocrine-resistant advanced breast cancers. *Cancer Cell* 2018 ; 34 : 427-38. doi : 10.1016/j.ccell.2018.08.008

Jacques Robert

Un SNP associé au risque du cancer de la prostate est localisé dans le site de liaison de plusieurs facteurs de transcription*,

Deux articles du même numéro de *Cell* présentent des études distinctes mais très complémentaires sur un SNP (*single nucleotide polymorphism*) (rs11672691), localisé en 19q13, dans une région non codante du chromosome 19, et déjà connu, grâce aux GWAS (*genome-wide association studies*), comme étant associé au risque de cancer de la prostate et à l'agressivité de la maladie.

Ce SNP est situé dans un intron du gène *PCAT19*, qui code un acide ribonucléique (ARN) long non codant (lncRNA), et situé à proximité du gène *CEACAM21*, qui code une molécule d'adhésion des tissus épithéliaux. La première étude* (Gao et al.) montre que ce SNP crée un site de haute affinité pour le facteur de transcription HOXA2, ce qui induit la transcription des gènes *PCAT19* et *CEACAM21*, et la seconde# (Hua et al.) que ce SNP altère le site de fixation du facteur de transcription NKX3.1, un régulateur négatif de la croissance des tissus épithéliaux. On imagine aisément que ce simple SNP joue sur la balance (ou la compétition) entre deux facteurs de transcription, l'un oncogénique et l'autre suppresseur de tumeurs. Mais voyons un peu comment arriver à cette conclusion, ou plus exactement à une conclusion un peu plus complexe.

Gao et al. ont tout d'abord montré que ce SNP était associé à la gravité des cancers de la prostate dans une cohorte de 2 738 patients finlandais atteints de cancer de la prostate : le génotype rs11672691 GG est associé au risque de développer un cancer de grade T élevé (dans la classification TNM), avec un *odds ratio* de 1,23 [IC 95 % : 1,02-1,48 ; $p = 0,03$], et présentant plusieurs autres critères de gravité. Sur le plan génomique, l'allèle G est associé avec une expression plus élevée des deux gènes de la région, *PCAT19* et *CEACAM21*, cela tant dans les tissus cancéreux (sur plusieurs cohortes totalisant près de 1 000 échantillons, *figure 1*) que dans du tissu prostatique non cancéreux (471 échantillons), suggérant que ces deux gènes jouent un rôle dans l'oncogenèse prostatique. Effectivement, le *knockdown* de ces gènes atténue la prolifération cellulaire et les capacités de migration et d'invasion de trois lignées de cancer prostatique, 22Rv1, Du145 et LNCaP. À l'inverse, la surexpression de *CEACAM21* conduit à une augmentation de la prolifération et des capacités de migration *in vitro*. Une recherche des gènes dont l'expression est modifiée par la surexpression de *CEACAM21* permet d'identifier une augmentation concomitante de l'expression des gènes cibles de MYC et de ceux de la voie mTORC1, ce qui suggère une

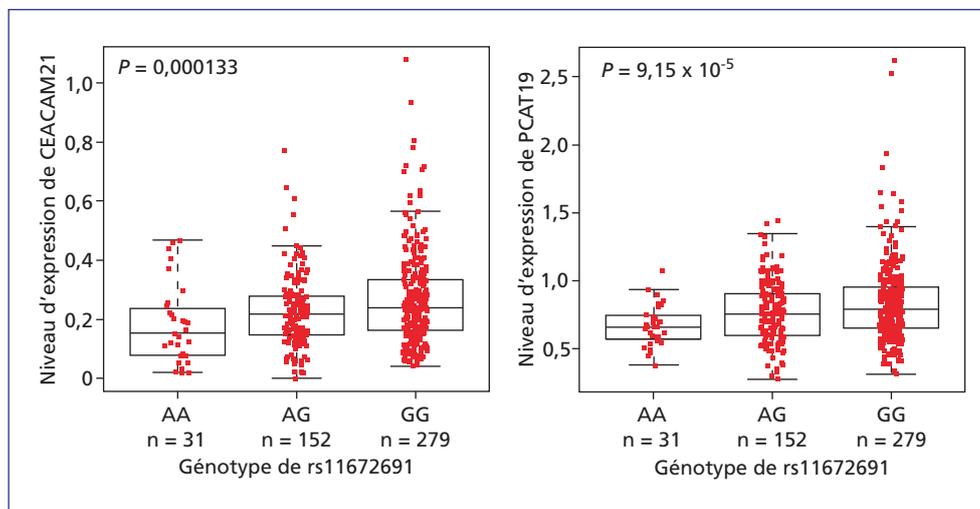


Figure 1. Expression des gènes *PCAT19* et *CEACAM21* évaluée par RT-PCR en fonction du génotype du SNP rs11672691 dans une des cohortes de tissu prostatique cancéreux.

Figure 1. Expression of *PCAT19* and *CEACAM21* genes, evaluated by RT-PCR, relative to SNP rs11672691 genotype from a cohort with cancerous prostatic tissue.

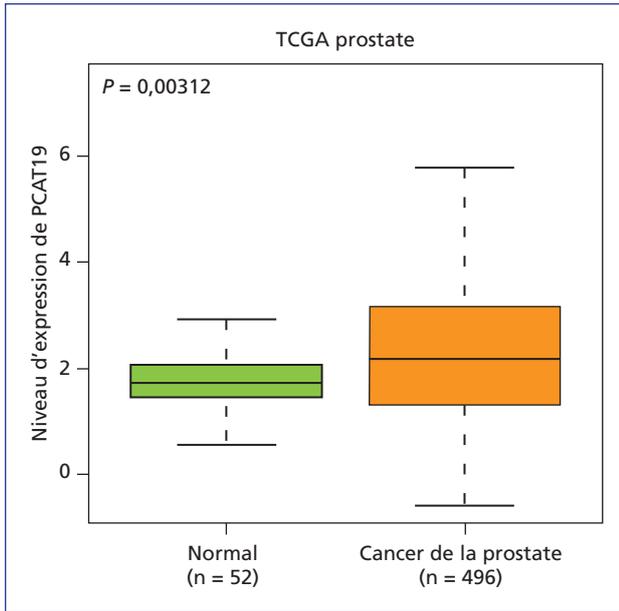


Figure 2. Expression du gène *PCAT19* dans les tissus prostatiques normaux et cancéreux de *The Cancer Genome Atlas* (TCGA).

Figure 2. Expression of the *PCAT19* gene in normal prostatic and cancerous tissues from TCGA.

intervention de *CEACAM21* dans l'activation de *MYC* et de *TORC1*, dont le rôle dans l'oncogenèse n'a pas besoin d'être rappelé. Revenant à la clinique, les auteurs ont montré une surexpression de *PCAT19* et de *CEACAM21* dans le tissu prostatique cancéreux (figure 2), tout particulièrement dans les métastases, par rapport au

tissu normal, rendant vraisemblable leur rôle de médiation des effets du polymorphisme du SNP rs11672691.

Pour comprendre le mécanisme liant les effets de ce polymorphisme à l'expression des deux gènes, les auteurs ont réalisé une analyse *genome wide* de l'épigénome et une immunoprécipitation de la chromatine (ChIP), ce qui leur a permis de montrer que la zone où est localisé le SNP est un *enhancer* susceptible de se lier à de multiples facteurs de transcription comme *AR*, *HOXB13* et *ERG*. Ils ont montré ensuite par analyse informatique que le SNP altère directement le motif de liaison du facteur de transcription *HOXA2*, en remplaçant un A (qui ne figure pas dans la séquence consensus) par un G qui s'y trouve (figure 3). Expérimentalement, ils retrouvent bien cette différence de liaison de *HOXA2* avec des séquences présentant ou non la variation polymorphique, alors qu'il n'en est pas de même pour les autres facteurs de transcription reconnaissant la même zone d'ADN. Une *polymerase chain reaction* (PCR) spécifique d'allèle sur l'ADN extrait de la lignée hétérozygote 22Rv1 a permis de confirmer la différence de liaison de *HOXA2* sur les deux séquences, la variante et la sauvage. Cela montre bien que *HOXA2* est bien le facteur de transcription responsable des effets biologiques du SNP sur le degré d'agressivité des cancers de la prostate.

Remontant vers le rôle de *HOXA2* dans l'oncogenèse prostatique, les auteurs ont réalisé un *knockdown* de son gène dans la lignée 22Rv1 ; ce *knockdown* s'accompagne d'une diminution de la prolifération et des capacités de migration et d'invasion des cellules. Il est à noter que les deux gènes dans lesquels (ou à proximité desquels) se localise le SNP (*PCAT19* et *CEACAM21*) sont régulés par *HOXA2* (figure 4). Revenant à nouveau vers la clinique, les

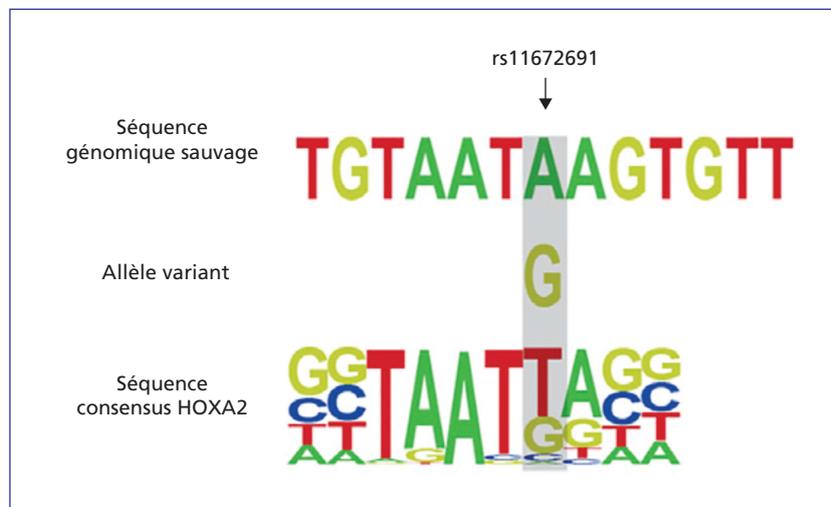


Figure 3. Séquence des nucléotides de la région où se trouve le SNP rs11672691 (en haut) et du motif consensus de fixation de *HOXA2*. La séquence sauvage (A) est distincte de la séquence du site consensus (T ou G) alors que la séquence du variant (G) est acceptable pour la fixation du facteur de transcription.

Figure 3. Nucleotide sequence of the region corresponding to SNP rs11672691 (top) and the *HOXA2* consensus binding motif (below). The wild-type sequence (A) is different from the *HOXA2* consensus site sequence (T or G). The variant sequence (G) allows for binding to the transcription factor.

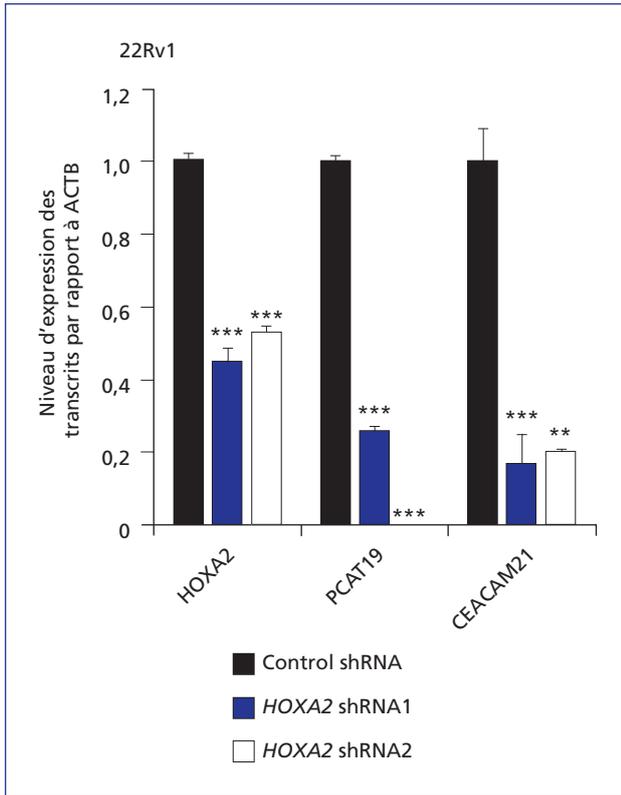


Figure 4. Effets du *knockdown* du gène *HOXA2* réalisé avec deux shRNA distincts sur le degré de transcription des gènes *PCAT19* et *CEACAM21*.

Figure 4. Effects of *HOXA2* gene knockdown, induced by two distinct shRNAs, on *PCAT19* and *CEACAM21* gene transcription.

auteurs montrent alors que l'expression de *HOXA2* est nettement plus élevée dans le tissu prostatique cancéreux que dans le tissu normal, et que les niveaux d'expression les plus élevés sont associés avec un risque de récurrence biochimique post-opératoire élevé (figure 5), de sorte que *HOXA2* pourrait servir de marqueur pronostique de récurrence. En outre, les niveaux d'expression des trois gènes, *HOXA2*, *PCAT19* et *CEACAM21*, sont bien corrélés entre eux dans les tissus prostatiques cancéreux.

Hua *et al.* ont travaillé sur le même SNP avec des résultats distincts mais complémentaires. Ils nous rappellent tout d'abord sur une petite série que le risque de récurrence biochimique était plus élevé chez les patients porteurs du génotype GG du SNP rs11672691 que chez les autres patients (figure 6). Ils observent ensuite qu'il existe deux variants d'épissage du lncRNA *PCAT19*, et que leur expression est dépendante du génotype étudié : le génotype AA est associé à la forme courte de cet ARN non codant et le génotype GG à sa forme longue (figure 7). En recherchant ensuite quel facteur de transcription éventuel pourrait se lier à la séquence de la région où est localisé le SNP, ils identifient un facteur de transcription, *NKX3.1*, dont le site de liaison correspond à

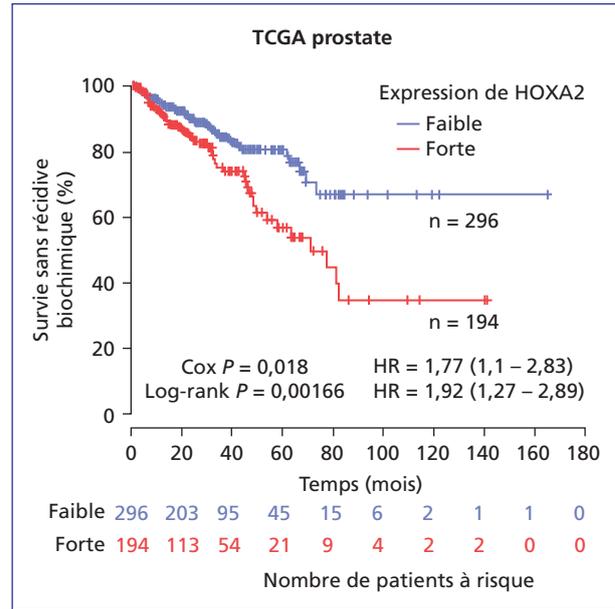


Figure 5. Survie sans récurrence « biochimique » des patients de la cohorte de *The Cancer Genome Atlas* (TCGA) en fonction du niveau d'expression du gène *HOXA2*.

Figure 5. 'Biochemical' relapse-free survival of patients from TCGA cohort relative to the level of *HOXA2* gene expression.

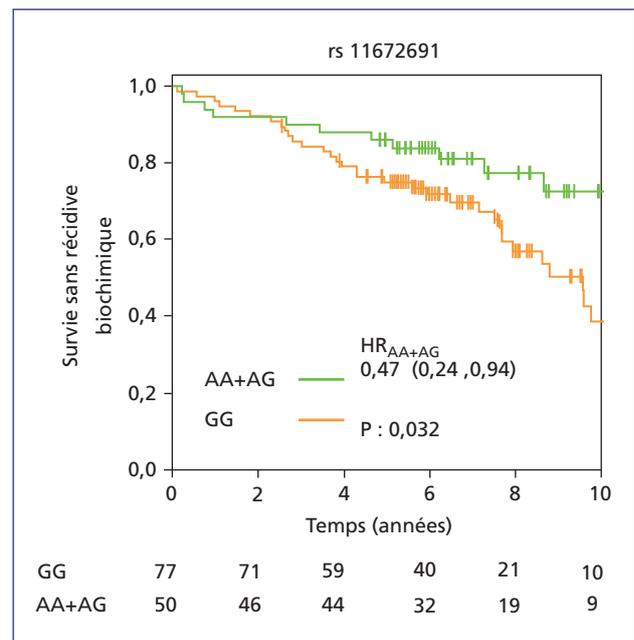


Figure 6. Survie sans récurrence « biochimique » des patients de la cohorte CPC-GENE en fonction de la présence du SNP rs11672691 dans leur génome.

Figure 6. 'Biochemical' relapse-free survival of patients in the CPC-GENE cohort relative to the presence of SNP rs11672691 in their genome.

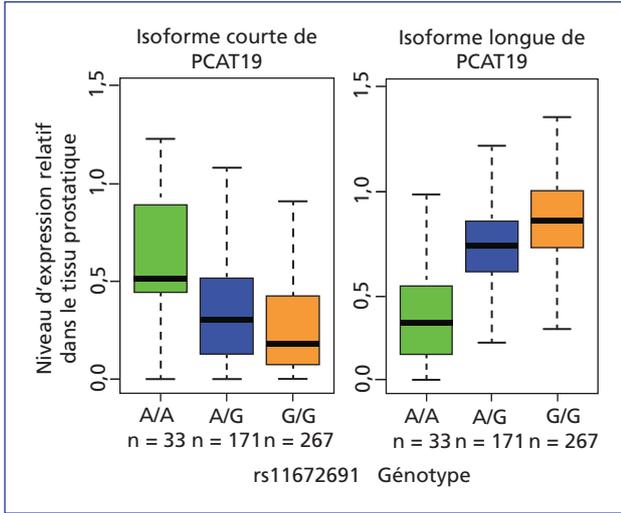


Figure 7. Proportion relative dans le tissu prostatique des transcrits « courts » et « longs » du gène *PCAT19* en fonction du génotype du SNP rs11672691.

Figure 7. The proportion of 'short' and 'long' transcripts of the *PCAT19* gene relative to the SNP rs11672691 genotype in prostatic tissue.

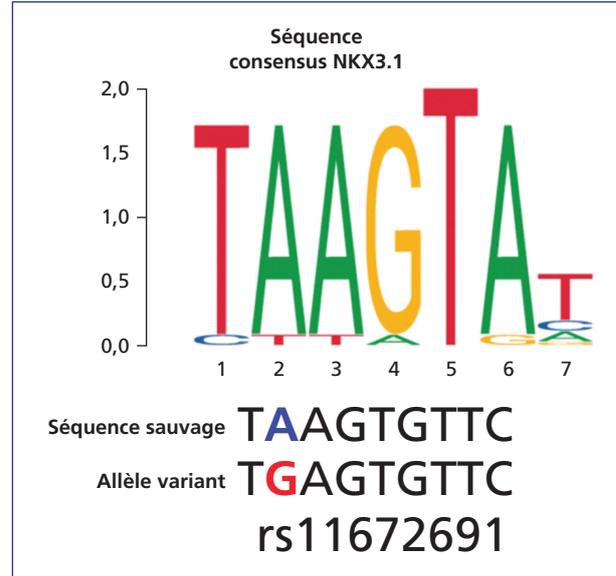


Figure 8. Séquence du motif consensus de liaison à l'ADN du facteur de transcription NKX3.1, comparée à celle de la région où est situé le SNP rs11672691. Seule la séquence sauvage (A) peut se lier au facteur de transcription.

Figure 8. Sequence of the DNA binding consensus motif for the transcription factor NKX3.1, compared to the SNP rs11672691 region. Only the wild-type sequence (A) can bind to the transcription factor.

l'allèle A du SNP et ne peut se lier si l'allèle G est présent (figure 8) : situation exactement en miroir de celle de *HOXA2*, observée et étudiée par Gao *et al.* ! Le *knockdown* de NKX3.1 par siRNA a pour conséquence un shift de l'isoforme « courte » de *PCAT19* vers l'isoforme « longue » : cela suggère fortement que la régulation de l'épissage alternatif de *PCAT19* dépend de la fixation du facteur de transcription NKX3.1.

Le rôle différent des deux isoformes de *PCAT19* sur la prolifération, la motilité et l'invasivité de cellules en culture a pu être montré grâce au *knockdown* de l'isoforme « longue » par siRNA (figure 9), et il

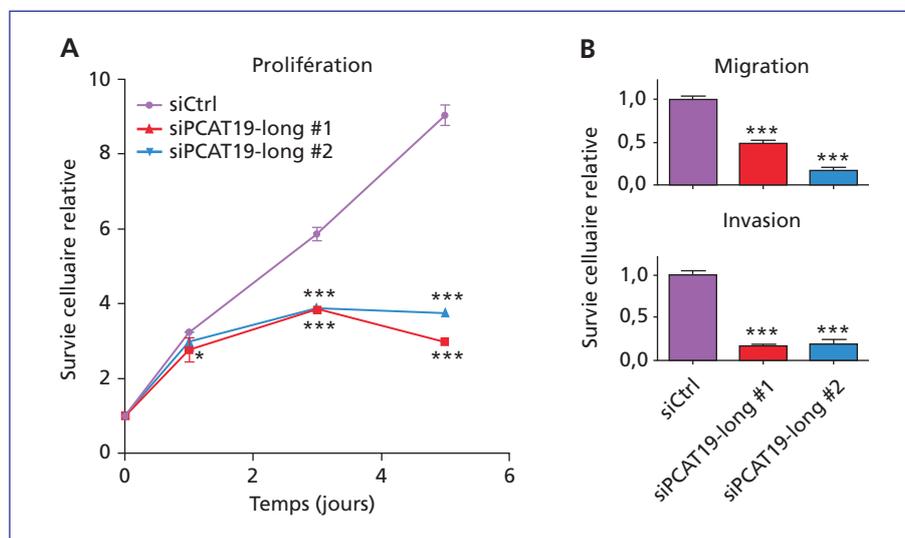


Figure 9. Effets du *knockdown* par siRNA de l'isoforme « longue » du lncRNA *PCAT19* sur la prolifération (A), la migration et l'invasion (B) des cellules issues d'un variant résistant à la castration de la lignée de cancer prostatique LNCaP.

Figure 9. The effect of knocking down the 'long' isoform of *PCAT19* lncRNA by siRNA on proliferation (A), migration, and invasion (B) of cells from a castration-resistant variant of the prostatic cancer line, LNCaP.

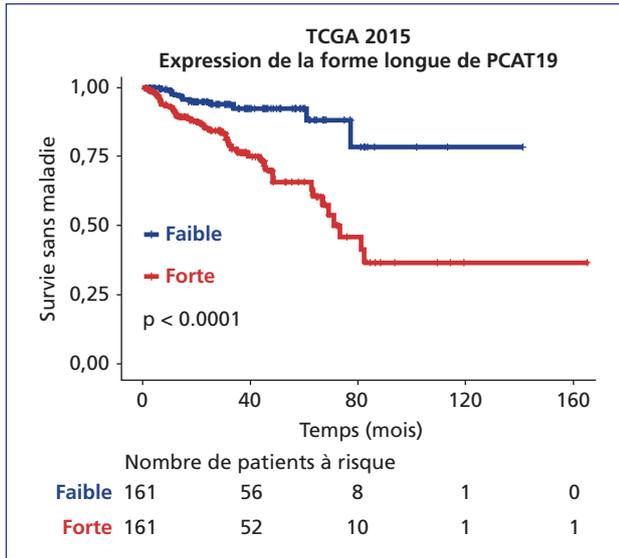


Figure 10. Association entre la survie sans maladie de patients de la cohorte de *The Cancer Genome Atlas* (TCGA) et la quantité relative de l'isoforme « longue » de PCAT19.

Figure 10. Association between disease-free survival and relative level of the 'long' isoform of PCAT19 in patients from TCGA cohort.

existe une traduction clinique du rôle pronostique délétère de l'isoforme « longue » (figure 10). Le mécanisme de l'action de ce lncRNA a pu être approché par la même technique de siRNA : la transcription de toute une

série de gènes impliqués dans le contrôle du cycle cellulaire est sous sa dépendance, et ce contrôle transcriptionnel est exercé par l'intermédiaire d'une ribonucléoprotéine nucléaire, HNRNPAB. La formation de complexes entre cette protéine et l'isoforme « longue » de PCAT19 conduit à la transcription des gènes de contrôle de la prolifération cellulaire. On suit ainsi le déroulé des événements : la forme variante du SNP empêche la fixation du facteur de transcription NKX3.1, ce qui conduit à une synthèse préférentielle de l'isoforme « longue » de PCAT19, menant à une augmentation des complexes formés avec HNRNPAB, puis à une augmentation de la transcription des gènes de prolifération...

La complémentarité des deux études est remarquable et représente un cas d'école. La présence dans le génome de la forme variante du SNP rs11672691 s'accompagne à la fois d'une augmentation de la fixation du facteur de transcription HOXA3 et d'une diminution de la fixation du facteur de transcription NKX3.1, le premier jouant un rôle oncogénique *via* la protéine CEACAM21 et le second un rôle suppresseur de tumeur *via* un lncRNA, PCAT19.

* Gao P, Xia JH, Sipeky C, et al. Biology and clinical implications of the 19q13 aggressive prostate cancer susceptibility locus. *Cell* 2018 ; 174 : 576-89. doi : 10.1016/j.cell.2018.06.003

Hua JT, Ahmed M, Guo H, et al. Risk SNP-mediated promoter-enhancer switching drives prostate cancer through lncRNA PCAT19. *Cell* 2018 ; 174 : 564-75. doi : 10.1016/j.cell.2018.06.014

Jacques Robert