

# Sélection et décryptage

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

### Le récepteur $\alpha$ des œstrogènes ne fonctionne pas de la même façon dans les tissus mammaires sains et cancéreux\*

Le gène *ESR1*, codant le récepteur des œstrogènes, peut-il être considéré comme un oncogène ? La question est débattue depuis longtemps. Non, disent les uns, puisqu'il est nécessaire à la physiologie de la glande mammaire et qu'il est simplement détourné de sa fonction par les cellules cancéreuses sans mutations ni autres altérations génomiques. Oui, disent les autres, puisqu'il est impliqué dans les cancers du sein, qu'il est une cible thérapeutique majeure et qu'il est susceptible d'être muté au cours de l'acquisition de la résistance au traitement hormonal. Cet article ouvre le débat en recherchant des différences de son fonctionnement plus subtiles que les altérations génomiques classiques que sont les mutations et les amplifications.

Les auteurs ont comparé la réponse à la stimulation hormonale de cellules normales de l'épithélium canaliculaire du sein et de cellules cancéreuses obtenues immédiatement après mammectomie. Après avoir isolé les cellules par *cell sorting*, les auteurs ont comparé leurs profils transcriptomiques par RNAseq. Sans surprise, ils trouvent des différences importantes entre cellules normales et cellules cancéreuses et les deux *clusters* sont individualisables sans ambiguïté ni chevauchement. Ces différences sont certainement liées au processus d'oncogénèse mammaire et la question se pose de savoir si la signalisation *via* le récepteur des œstrogènes peut avoir une influence sur leur présence.

Pour y répondre, les auteurs évaluent les altérations des profils d'expression sous l'effet de l'œstradiol dans les deux types de cellules ; ils observent que les gènes de réponse à l'œstradiol induits dans les cellules normales sont sous-exprimés dans les cellules cancéreuses et *vice versa* (figure 1). Un gène nommé *DLC1* est surexprimé d'un facteur 4 sous stimulation œstrogénique dans les cellules normales et ne subit pas de changement reproductible dans les cellules cancéreuses. Le gène *DLC1* code une GAP (*GTPase-activating protein*) pour les petites protéines G de la famille RHO et il est considéré comme un gène suppresseur de tumeurs (GST) pour les cancers de la prostate, du sein, du côlon et du poumon.

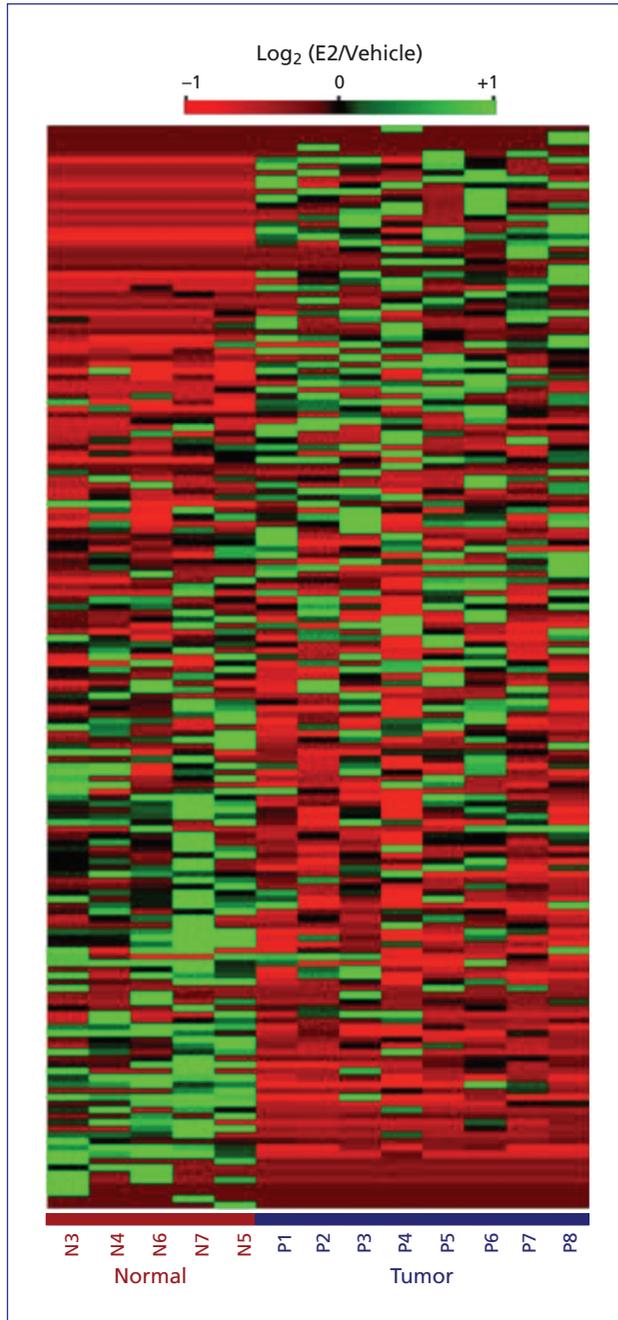
Les auteurs font donc l'hypothèse que le gène *DLC1* a une fonction de GST induite par l'œstradiol dans les cellules normales ; ils la confirment en inhibant son expression par siRNA dans une lignée de cancer du sein ER<sup>+</sup> classique, la lignée MCF7, inhibition qui entraîne un phénotype prolifératif important sous stimulation hormonale ; en absence de stimulation, la perte du gène *DLC1* est

insuffisante pour stimuler la croissance de ces cellules (figure 2). Revenant à leurs cellules fraîches, les auteurs observent bien une perte ou une sous-expression du gène *DCL1* dans les cellules cancéreuses.

Pour expliquer ces réponses différentes à la stimulation œstrogénique dans les cellules normales et cancéreuses, les auteurs se posent alors la question de savoir si le récepteur se fixe de façon différente sur l'ADN. Ils réalisent alors une immunoprécipitation de la chromatine suivie d'un séquençage. Après des ajustements nécessaires, ils parviennent à l'identification de 2 750 sites de liaison du récepteur sur l'ADN, dont 1 195 sont spécifiques des cellules normales, 859 spécifiques des cellules cancéreuses et 696 partagés par les deux types de cellules. Une analyse sur une double population de cellules normales et cancéreuses indépendante de la première a fourni des résultats superposables. Les collections de gènes se liant de façon différentielle au récepteur des œstrogènes permettent bien de séparer le tissu normal du tissu cancéreux (figure 3) ; les différences de liaison expliquent à leur tour les différences des profils transcriptomiques.

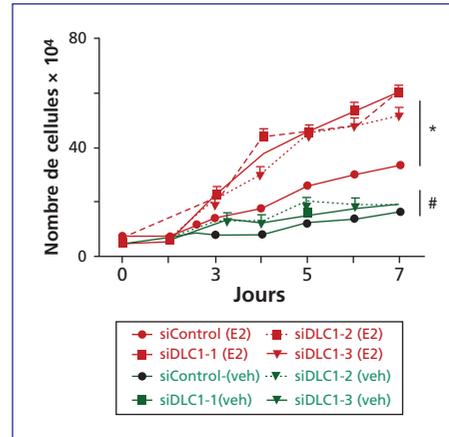
La question suivante était de savoir quels étaient les facteurs de transcription « coopératifs » qui étaient majoritairement recrutés sur ces sites (un facteur de transcription comme le récepteur des œstrogènes peut induire la transcription d'autres facteurs de transcription, dits coopératifs) : pour le tissu normal, ce sont les motifs de liaison des facteurs de transcription RUNX et SPDEF qui « sortent » de façon significative ; pour le tissu tumoral, ce sont ceux des facteurs de transcription ER, FOXA, GRHL2 et AR. Le gène *GRHL2* apparaît comme particulièrement intéressant : il n'est induit par l'œstradiol que dans les cellules cancéreuses. Pour découvrir son rôle dans l'oncogénèse mammaire, les auteurs ont cherché à identifier dans les cellules MCF7 les sites de liaison du récepteur des œstrogènes dépendants de GRHL2 : ils trouvent toute une série de gènes impliqués dans le cycle cellulaire, aux niveaux des deux transitions G1→M et G2→S, dans la synthèse de l'ADN et dans la maintenance des télomères.

Le gène *GRHL2* apparaît donc comme un des médiateurs de la prolifération induite par les œstrogènes dans les cancers du sein ER<sup>+</sup>. Ce gène est surexprimé dans les cellules cancéreuses fraîches qui ont servi aux premières étapes de l'expérimentation décrite dans l'article. Dans une brève étude clinique rétrospective, cette



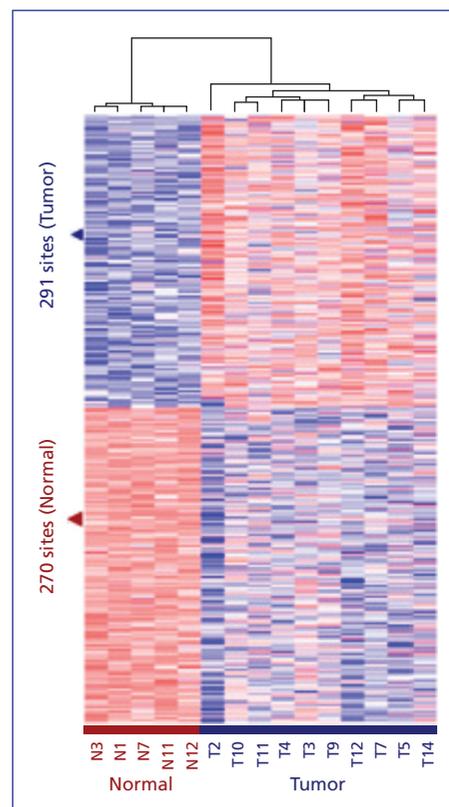
**Figure 1.** Heatmap montrant le degré d'induction des gènes de réponse à l'œstradiol dans les cellules mammaires normales (N3 à N7) et les cellules mammaires tumorales (P1 à P8). Les gènes de réponse à l'œstradiol induits dans les cellules normales sont sous-exprimés dans les cellules cancéreuses et vice versa.

**Figure 1.** Heatmap showing the degree of induction of oestradiol response genes in normal mammary cells (N3 to N7) and mammary tumour cells (P1 to P8). The oestradiol response genes induced in normal cells are under-expressed in the cancerous cells and vice versa.



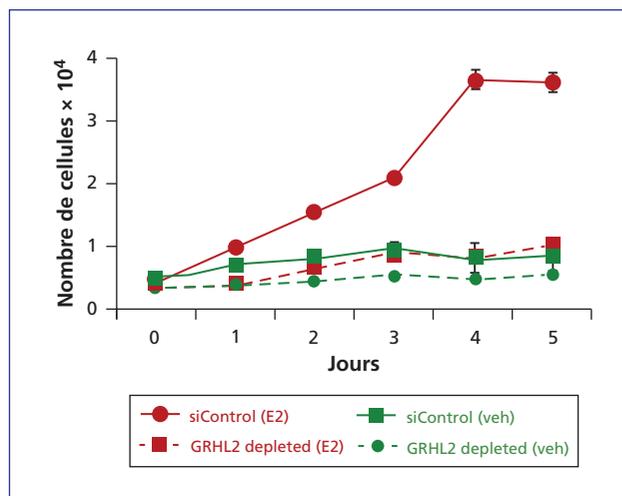
**Figure 2.** Courbes de prolifération des cellules MCF7 en réponse à une stimulation œstrogénique après knock-down du gène DLC1.

**Figure 2.** MCF7 cell proliferation curves in response to oestrogenic stimulation after knock-down of the DLC1 gene.



**Figure 3.** Heatmap montrant l'intensité du signal produit par la liaison au récepteur des œstrogènes des sites de liaison les plus significativement différents entre cellules mammaires normales et cellules mammaires tumorales.

**Figure 3.** Heatmap showing the signal strength produced by binding to the oestrogen receptor at binding sites that exhibit the most significant difference between normal and tumour mammary cells.



**Figure 4.** Prolifération cellulaire induite par l'œstradiol dans les cellules MCF7 à la suite du *knock-down* du gène *GRHL2*.

**Figure 4.** Oestrogen-induced cell proliferation in MCF7 cells following *knock-down* of the *GRHL2* gene.

surexpression est associée à un pronostic défavorable de ces cancers. Ainsi, même si le récepteur des œstrogènes ne peut être considéré comme un oncogène à proprement parler, ses gènes cibles dans les cellules cancéreuses et elles seules peuvent lui conférer des propriétés oncogéniques indirectes. Le « contexte » cancéreux permet ainsi de faire du gène *ESR1* un proto-oncogène.

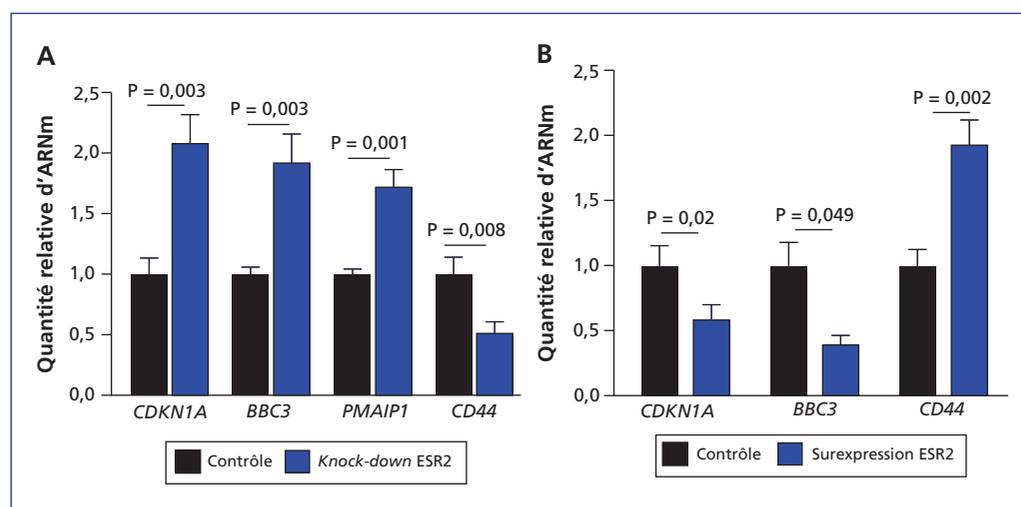
\* Chi D, Singhal H, Li L, *et al.* Estrogen receptor signaling is reprogrammed during breast tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019 ; 116 : 11437-43. Doi : 10.1073/pnas.1819155116.

Jacques Robert

## Dans les cancers du sein triples-négatifs, le récepteur $\beta$ des œstrogènes ne fonctionne pas de la même façon selon que la protéine p53 est ou non mutée\*

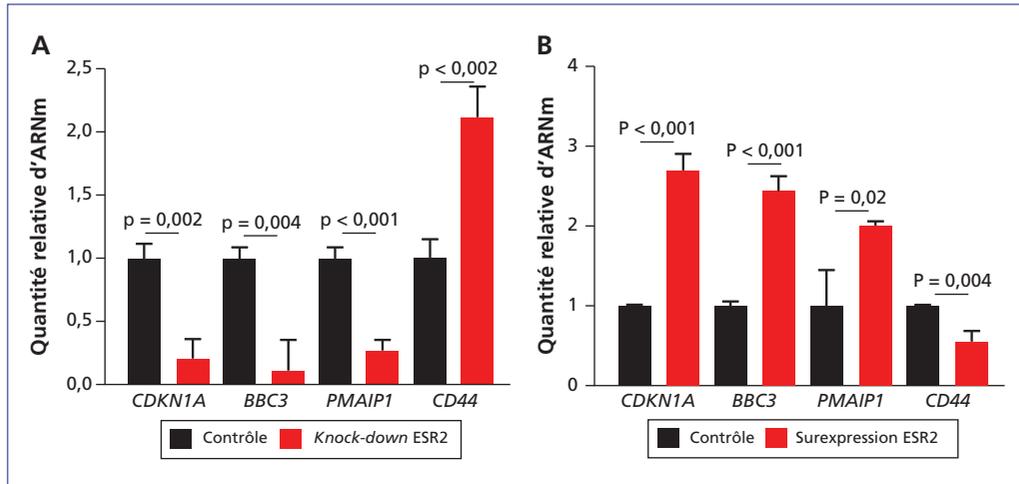
Le rôle du récepteur  $\beta$  des œstrogènes reste mystérieux – si tant est, comme nous venons de le voir dans la brève précédente, que celui du récepteur  $\alpha$  soit très clair... Dans les cancers du sein triples-négatifs, le gène

*ESR1* n'est pas exprimé par définition ; en revanche, le gène *ESR2*, qui code le récepteur  $\beta$ , est exprimé à différents niveaux dans 60 à 80 % des tumeurs, et son rôle est controversé : prolifératif ou anti-prolifératif ?



**Figure 1.** (A) Effets du *knock-down* du gène *ESR2* sur l'expression des gènes cibles de p53 dans la lignée ZR-75-1 (protéine p53 sauvage). *CDKN1A* ( $p21^{CIP1}$ ), *BBC3* (PUMA), *PMAIP1* (NOXA) sont connus pour être induits par p53, et *CD44* pour être réprimé par p53. (B) Effets de la surexpression du gène *ESR2* sur les mêmes gènes.

**Figure 1.** (A) Effects of *ESR2* gene *knock-down* on the expression of p53 target genes in the ZR-75-1 cell line (wild-type p53 protein). *CDKN1A* ( $p21^{CIP1}$ ), *BBC3* (PUMA), and *PMAIP1* (NOXA) are known to be induced by p53, and *CD44* suppressed by p53. (B) Effects of *ESR2* gene over-expression on the same genes.



**Figure 2.** (A) Effets du *knock-down* du gène *ESR2* sur l'expression des gènes cibles de p53 dans la lignée MDA-MB-231 (protéine p53 mutée). (B) Effets de la surexpression du gène *ESR2* sur les mêmes gènes.  
**Figure 2.** (A) Effects of *ESR2* gene knock-down on the expression of p53 target genes in the MDA-MB-231 cell line (mutant p53 protein). (B) Effects of *ESR2* gene over-expression on the same genes.

Quant au gène *TP53*, il est rarement muté dans les cancers de type luminal exprimant le gène *ESR1*, alors qu'il est muté dans 80 % des cancers triples-négatifs.

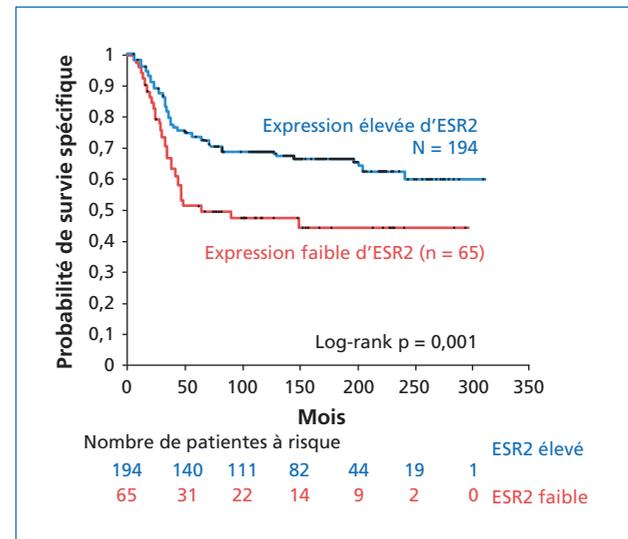
Pour entreprendre cette étude, les auteurs avaient montré, par *Proximity Ligation Assay* (PLA) [je renonce à traduire], qu'il existe une interaction directe entre p53 et ERβ ; et leur objectif était de montrer que le complexe ERβ-p53 fonctionnait comme un régulateur transcriptionnel.

Dans cette étude, les auteurs ont d'abord recherché expérimentalement les effets transcriptionnels de manipulations de l'expression du gène *ESR2* sur les gènes cibles de p53 et la prolifération cellulaire. Le *knock-down* du gène *ESR2* dans des cellules de type luminal exprimant un gène *TP53* sauvage a pour effet une augmentation de l'expression des gènes *CDKN1A* (p21<sup>CIP1</sup>), *BBC3* (PUMA) et *PMAIP* (NOXA), cibles bien connues de p53 pour l'induction de l'arrêt du cycle cellulaire et l'induction de l'apoptose, respectivement, et une diminution de l'expression du gène *CD44*, dont on sait qu'il est régulé négativement par p53 (figure 1A). L'inverse est vrai lorsqu'on force les cellules à surexprimer le gène *ESR2* (figure 1B).

En revanche, cette même déplétion dans les cellules de type triple-négatif exprimant un gène *TP53* muté aboutit à des conclusions opposées : diminution de l'expression des gènes *CDKN1A* et *BBC3*, augmentation de l'expression du gène *CD44* (figure 2A) ; et la surexpression du gène *ESR2* aboutit à des conséquences inverses (figure 2B). Précisons que les auteurs ont quand même vérifié que les résultats observés dans les lignées ER<sup>+</sup> (paragraphe précédent) étaient parfaitement reproduits dans des lignées triples-négatives exprimant p53 sauvage : leurs observations sont bien liées au statut mutationnel de p53 et pas à la nature

des lignées (ER<sup>+</sup> ou ER<sup>-</sup>). Le récepteur *ESR2* est bien prolifératif quand p53 est sauvage et anti-prolifératif quand p53 est mutée.

Les auteurs ont ensuite évalué l'expression du gène *ESR2* dans 308 tumeurs mammaires, et ont recherché un lien avec le statut mutationnel du gène *TP53*. Dans le groupe des tumeurs ayant une p53 mutante (259 tumeurs), une



**Figure 3.** Courbes de survie des patientes porteuses d'une tumeur de type *basal-like* dont p53 est mutée, selon que l'expression tumorale du gène *ESR2* est élevée (au-dessus du 25<sup>e</sup> percentile) ou faible (en dessous du 25<sup>e</sup> percentile).  
**Figure 3.** Survival curves for patients with *basal-like* tumours in which p53 is mutated, according to whether the level of *ESR2* gene expression is high (above the 25<sup>th</sup> percentile) or low (below the 25<sup>th</sup> percentile) in the tumours.

expression faible du gène *ESR2* est associée à un mauvais pronostic (HR = 0,26 ; IC 95 % = 0,08-0,84) (figure 3). Toutefois, dans le sous-groupe des tumeurs ayant une p53 sauvage (49 tumeurs), une expression faible du gène *ESR2* n'est pas associée à un meilleur pronostic de façon significative. Par ailleurs, le niveau d'expression du gène *ESR2* n'apparaît pas affecté par le statut mutationnel de p53.

Ce beau travail semble lever les doutes qui existaient sur le statut de ce récepteur ER $\beta$ , finalement peu étudié ces

dernières années, et qui pourraient avoir des implications intéressantes sur le plan thérapeutique afin de traiter les cancers du sein triples-négatifs en fonction du statut mutationnel de p53.

\* Mukhopadhyay UK, Oturkar CC, Adams C, et al. TP53 status as a determinant of pro- versus anti-tumorigenic effects of estrogen receptor-beta in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2019. pii: djz051. Doi : 10.1093/jnci/djz051.

Jacques Robert

## Dépendance des cellules cancéreuses à la méthionine : le retour du refoulé\*

J'ai consacré une demi-page de mon ouvrage *Pharmacologie des Cancers* à la dépendance à la méthionine comme cible thérapeutique potentielle en oncologie ; j'ouvrais le paragraphe en écrivant : « *La dépendance des cellules tumorales vis-à-vis de la méthionine est connue de longue date* » ; et je concluais que : « *Ces approches ne se sont pas révélées suffisamment actives pour être poursuivies en clinique* ». Cinq ans après, les choses ont-elles évolué ? L'équipe de Singapour qui présente ce travail dans *Nature Medicine* semble en être convaincue...

L'équipe est partie de l'étude métabolomique de cellules souches, rebaptisées pour la circonstance TIC (*tumor-initiating cells*) ; elle observe que ces cellules sont enrichies en substrats divers du cycle de la méthionine par rapport aux non-TIC, et qu'elles ont une dépendance remarquable vis-à-vis de la méthionine exogène, mais non vis-à-vis d'autres acides aminés. L'inhibition transitoire des enzymes du cycle de la méthionine suffit à entraîner la perte du pouvoir tumorigène à long terme, vraisemblablement en raison d'altérations de la méthylation résultant de la déplétion en S-adénosyl-méthionine (SAM), le substrat universel des réactions de méthylation... Jusque-là, rien de nouveau sous le soleil.

Quelles approches originales pour aborder le problème ? D'abord, bien sûr, les auteurs s'adressent à

des cellules souches et non à des cellules cancéreuses tout venant ; pour ce faire, ils obtiennent par génie génétique deux lignées isogéniques à partir d'une préparation de cellules de cancer du poumon enrichies en cellules souches, l'une parentale contenant un mélange de TIC et de non-TIC, l'autre subissant un *knock-down* du gène de la glycine décarboxylase, *GLDC*, afin de leur enlever tout caractère souche. Et ils déroulent ensuite la démonstration attendue. (1) Oui, la privation en méthionine affecte plus les TIC que les non-TIC, et la méthionine apparaît être un substrat indispensable aux TIC (figure 1). (2) Aux TIC déplétés en méthionine, ils ajoutent soit homocystéine, soit SAM pour réverser l'inhibition de leur croissance : seule l'addition de SAM le permet, comme on pouvait s'y attendre (figure 2). (3) C'est bien la régénération de la SAM qui permet la disponibilité en méthionine : en réalisant le *knock-down* de l'enzyme qui catalyse la resynthèse du cofacteur méthyl-tétrahydrofolate, la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR), ou de celui qui catalyse la resynthèse de la SAM à partir de la méthionine, la méthionine adényltransférase II $\alpha$  (MAT2A), ils inhibent la croissance cellulaire *in vitro* et *in vivo* (figure 3). (4) Il existe une application thérapeutique potentielle : un inhibiteur de l'enzyme MAT2A a été identifié antérieurement, ainsi qu'un inhibiteur de l'adénylhomocystéinase (SAHH, gène

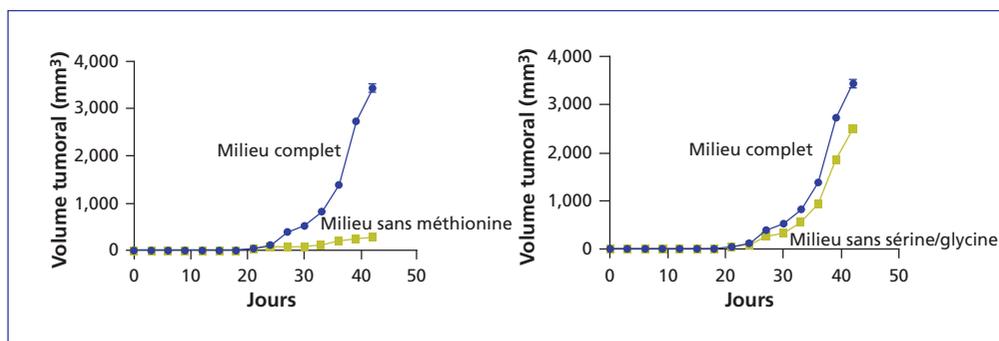
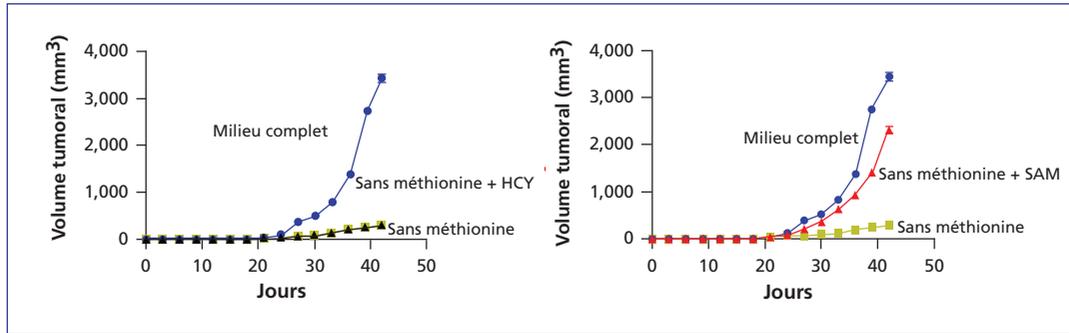


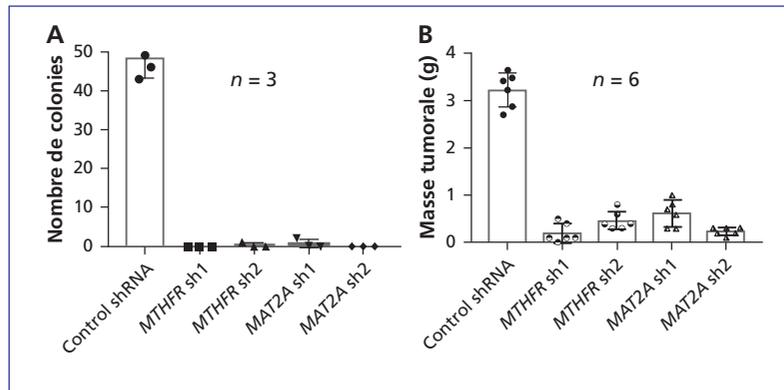
Figure 1. Croissance tumorale de cellules cultivées en milieu complet, ou en absence de méthionine, ou encore en absence de sérine et de glycine, transplantées chez des souris immunodéprimées.

Figure 1. Tumour growth from cells cultivated in complete medium, absence of methionine, or absence of serine and glycine, and transplanted into immunosuppressed mice.



**Figure 2.** Croissance tumorale de cellules cultivées en milieu complet, ou en absence de méthionine et en présence d'homocystéine (HCY), ou en absence de méthionine et en présence de S-adenosylméthionine (SAM), transplantées chez des souris immunodéprimées.

**Figure 2.** Tumour growth from cells cultivated in complete medium, absence of methionine and presence of homocysteine (HCY), or absence of methionine and presence of S-adenosylmethionine (SAM), and transplanted into immunosuppressed mice.



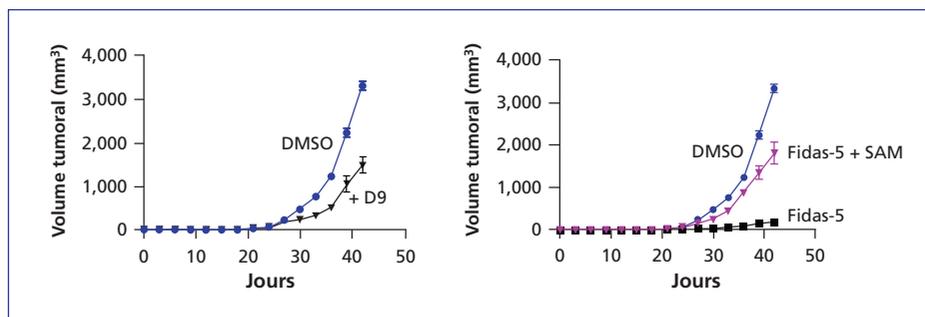
**Figure 3.** Effets sur la croissance tumorale *in vitro* (A) et *in vivo* (B) du knock-down par sh-RNA des gènes *MTHFR* (méthylène tétrahydrofolate réductase) et *MAT2A* (méthionine adényltransférase II $\alpha$ ).

**Figure 3.** Effects on tumour growth *in vitro* (A) and *in vivo* (B) in response to knock-down of *MTHFR* (methylene tetrahydrofolate reductase) and *MAT2A* (methionine adenosyltransferase IIa) genes using sh-RNA.

AHCY), l'enzyme d'interconversion de la SAM et de la S-adenosylhomocystéine (SAH) ; ces deux composés ont une action intéressante sur la croissance tumorale (figure 4).

Bref, un vieux problème qui reçoit la même solution que quand on l'avait posé autrefois. Ce qui change, c'est

qu'il est résolu avec de belles techniques modernes, en particulier les cellules obtenues par génie génétique et la mesure, en parallèle de chaque courbe de croissance, du degré de méthylation des histones sur divers résidus lysine : H3K4, H3K9, H3K27, H3K36. Notre collègue Xavier Durando avait publié une belle revue sur le sujet



**Figure 4.** Effets du D9, un inhibiteur de l'adénylhomocystéinase (SAHH, gène *AHCY*) et du Fidas-5, un inhibiteur de la méthionine adényltransférase II $\alpha$  (*MAT2A*) sur la croissance tumorale *in vivo*.

**Figure 4.** Effects of D9 (an adenosylhomocysteinase inhibitor [SAHH; *AHCY* gene]) and Fidas-5 (a methionine adenosyltransferase IIa [*MAT2A*] inhibitor) on tumour growth *in vivo*.

dans le *Bulletin du Cancer* en 2008 [1], actualisant une revue que l'équipe avait publiée en 2003 [2] ; il y analyse les anciens travaux qui avaient conduit aux mêmes conclusions que l'article analysé ici et qui datent, pour les premiers, de 1974 [3]. J'avoue ne pas comprendre comment on peut parvenir à publier dans *Nature Medicine* un article aussi peu innovant, même avec de belles techniques modernes, alors que les données originales ont beaucoup de mal à convaincre les éditeurs et les reviewers...

\* Wang Z, Yip LY, Lee JHJ, et al. Methionine is a metabolic dependency of tumor-initiating cells. *Nat Med* 2019 ; 25 : 825-37. Doi : 10.1038/s41591-019-0423-5.

## RÉFÉRENCES

1. Durando X, Thivat E, Gimbergues P, et al. Dépendance en méthionine des cellules cancéreuses : une nouvelle approche thérapeutique ? *Bull Cancer* 2008 ; 95 : 69-76.
2. Cellarier E, Durando X, Vasson MP, et al. Methionine dependency and cancer treatment. *Cancer Treat Rev* 2003 ; 29 : 489-99.
3. Halpern BC, Clark BR, Hardy DN, Halpern RM, Smith RA. The effect of replacement of methionine by homocystine on survival of malignant and normal adult mammalian cells in culture. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974 ; 71 : 1133-6.

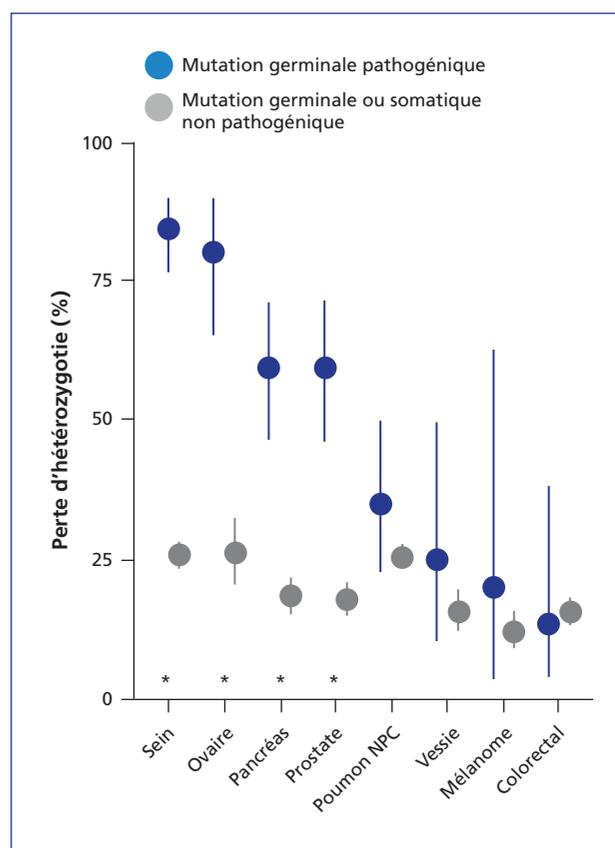
Jacques Robert

## Toutes les tumeurs ne sont pas égales devant les mutations des gènes *BRCA1* et *BRCA2*\*

Il est sans doute inutile de rappeler l'importance des mutations des deux gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans les cancers du sein et de l'ovaire survenant dans le cadre d'une prédisposition héréditaire. L'inactivation bi-allélique de ces gènes est oncogénique, encore que des effets liés à l'haplo-insuffisance puissent se manifester. Comme cette inactivation est associée à une perte des capacités de réparation des cassures double-brin de l'ADN, les tumeurs montrent généralement une sensibilité aux dérivés du platine et aux inhibiteurs de la poly (ADP-ribose) polymérase (PARP). En dehors des cancers du sein et de l'ovaire, qu'en est-il des tumeurs qui présentent une mutation invalidante de ces gènes ?

Pour répondre à cette question, les auteurs ont analysé le statut mutationnel des gènes *BRCA1* et *BRCA2* de plus de 17 000 patients et de leur tumeur dans 55 types de cancers. Un total de 462 patients (2,7 %) avaient une mutation germinale d'un des deux gènes considérée comme invalidante, et 919 autres étaient porteurs d'une mutation somatique ; seules 307 (1,8 % de l'effectif) de ces tumeurs ont été retenues, en raison du fait que les deux tiers des mutations ne pouvaient être considérées comme invalidantes et que la preuve d'une perte de fonction n'était apportée que pour ces 307 tumeurs. Une telle perte de fonction (germinale et somatique, et somatique seule) a été rencontrée dans 38 types de cancers, dont 53 % étaient ceux connus pour porter de telles mutations : sein, ovaire, prostate et pancréas. Les auteurs distinguent ces quatre cancers de tous les autres, les appelant « *BRCA-associated* » : ce sont ceux qui portent le plus de mutations germinales de l'un ou l'autre des deux gènes par rapport aux autres cancers ; de plus, ce sont ceux pour lesquels les mutations germinales prédominent par rapport aux pertes de fonction somatiques (5,8 % contre 2,7 %).

Les auteurs ont cherché à savoir si les pertes de fonction somatiques des deux gènes rencontrées dans les cancers sporadiques étaient responsables de l'oncogenèse de ces



**Figure 1.** Proportion des pertes d'hétérozygotie affectant les gènes *BRCA1* ou *BRCA2* dans les quatre types de cancers « *BRCA-associated* » et dans les autres types de cancers. Les cancers « *BRCA-associated* » ont une tendance à perdre l'allèle sauvage plus élevée que les autres cancers.

**Figure 1.** Proportion of loss of heterozygosity affecting *BRCA1* and *BRCA2* genes in the four “*BRCA-associated*” types of cancers and in other types of cancer. The “*BRCA-associated*” cancers exhibit a greater tendency to lose the wild-type allele compared to other cancers.

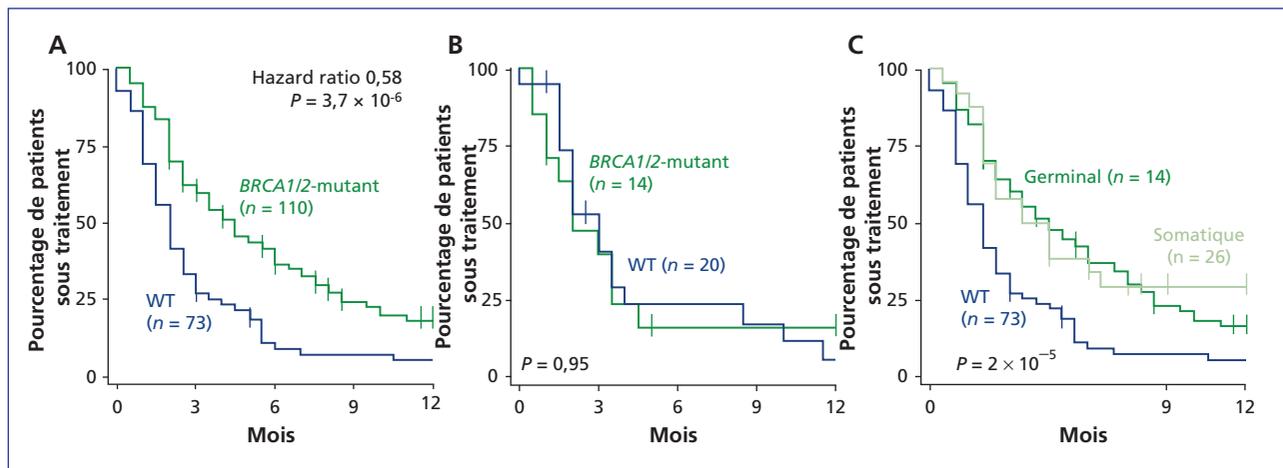
cancers (ou étaient au moins contributives), en comparant les pertes somatiques de l'allèle sauvage dans les tumeurs porteuses d'une mutation germinale invalidante ou d'un simple variant polymorphique ; une perte d'hétérozygotie peut survenir dans les tumeurs dont le premier allèle porte un simple polymorphisme avec une fréquence égale à celle rencontrée lorsque le premier allèle est sauvage ; mais si le premier allèle porte une mutation invalidante, on note 86 % de cas de perte d'hétérozygotie. Il existe bien une pression de sélection positive pour l'inactivation biallélique des gènes *BRCA* lorsqu'il existe une mutation germinale.

Dans l'ensemble des cancers, 61 % des tumeurs porteuses d'une mutation germinale invalidante ont une perte d'hétérozygotie au niveau de l'allèle sauvage, alors que seulement 20 % des tumeurs qui n'en portent pas ont une perte d'hétérozygotie à ce niveau. Mais il existe une différence majeure selon le type de cancer : ce sont 75 % des cancers *BRCA-associated* qui ont une perte d'hétérozygotie somatique de l'allèle sauvage s'ajoutant à la mutation germinale, contre 39 % des autres cancers (figure 1). Les auteurs font donc l'hypothèse que toutes les mutations germinales, même invalidantes, ne jouent pas le même rôle dans l'oncogenèse des différents cancers. Ils observent qu'il existe un total de 8 % de pertes de l'allèle *muté* dans les tumeurs porteuses d'une mutation germinale invalidante, mais que ce phénomène est beaucoup plus rare dans les cancers *BRCA-associated* (5 %) que

dans les autres types de cancers (20 %) ; ces résultats suggèrent que la perte de l'allèle *BRCA* sauvage est dépendante du type tumoral, et que la pathogenèse de cancers survenant chez des sujets porteurs d'une mutation invalidante pourrait être indépendante de cette mutation.

Pour s'en assurer, les auteurs mettent au point une mesure de la déficience en recombinaison homologue au niveau du génome entier et l'analysent dans une cohorte de 293 tumeurs porteuses d'une mutation germinale et 522 tumeurs n'en portant pas ; dans les quatre cancers *BRCA-associated*, la déficience en ce mécanisme de réparation est beaucoup plus fréquente que dans les autres cancers. Dans l'ensemble des cancers, les tumeurs avec mutation des gènes *BRCA* sans perte de l'allèle sauvage sont modérément déficientes en recombinaison homologue ; la perte de l'allèle sauvage augmente la proportion de déficiences, sauf dans le petit contingent de tumeurs non *BRCA-associated* porteuses d'une inactivation biallélique d'un des gènes *BRCA*.

Il existe donc des différences profondes, selon le type de cancer, dans le rôle des mutations des gènes *BRCA*, qui peuvent fort bien ne pas jouer de rôle oncogénique. Les différents lignages tumoraux ont donc une susceptibilité différente à une déficience en *BRCA*, qui joue un rôle majeur pour certains cancers mais pas pour d'autres. Dans ces derniers, l'apparition de mutations somatiques des gènes *BRCA* pourrait plutôt être la conséquence que la cause de la transformation maligne et ces mutations



**Figure 2.** Bénéfice clinique des inhibiteurs de PARP chez divers types de patients. (A) Patients porteurs d'un des quatre cancers « *BRCA-associated* » ayant ou non une mutation (germinale ou somatique) d'un des gènes *BRCA*. (B) Patients porteurs d'un des autres types de cancer ayant ou non une mutation (germinale ou somatique) d'un des gènes *BRCA*. (C) Patients porteurs d'un des quatre cancers « *BRCA-associated* » ayant ou non une mutation germinale ou une mutation somatique d'un des gènes *BRCA*.

On peut conclure que seuls les cancers « *BRCA-associated* » ayant une mutation d'un des gènes *BRCA* sont sensibles aux inhibiteurs de PARP, que ce soit dans le cadre d'un cancer à prédisposition héréditaire ou d'un cancer sporadique.

**Figure 2.** Clinical benefits of PARP inhibitors in various types of patients: (A) Patients with one of the four “*BRCA-associated*” cancers, with or without a mutation (germinal or somatic) in one of the *BRCA* genes. (B) Patients with one of the other types of cancer with or without a mutation (germinal or somatic) in one of the *BRCA* genes. (C) Patients with one of the four “*BRCA-associated*” cancers with or without a mutation (germinal or somatic) in one of the *BRCA* genes. In conclusion, only “*BRCA-associated*” cancers with a mutation in one of the *BRCA* genes are sensitive to PARP inhibitors, for either cancers with a hereditary predisposition or sporadic cancers.

seraient alors de simples mutations *passenger*. Il faut exclure toutefois de cette catégorie non *BRCA-associated* les sarcomes utérins, porteurs dans 6,5 % des cas d'une perte biallélique du gène *BRCA2*, qui se comportent comme de vrais cancers *BRCA-associated*.

La conséquence thérapeutique est importante : il a été envisagé de proposer un traitement par inhibiteurs de PARP à tous les patients dont la tumeur présente une mutation de l'un des gènes *BRCA* connue pour être invalidante. Dans une étude clinique rétrospective, les auteurs montrent que les patients porteurs d'un cancer *BRCA-associated* bénéficient d'un plus grand bénéfice de ce traitement lorsque leur tumeur porte une mutation d'un des gènes *BRCA*, avec ou sans perte d'hétérozygotie du deuxième allèle ; mais ce n'est pas vrai pour les cancers

non *BRCA-associated* qui ne tirent aucun bénéfice d'un tel traitement même quand il existe une perte biallélique d'un des gènes *BRCA* (figure 2). Notons aussi que la mutation initiale des cancers *BRCA-associated* peut très bien ne pas être d'origine germinale : le déterminant de la réponse aux inhibiteurs de PARP semble bien être le type tumoral. Il serait donc inopportun de promouvoir un traitement par inhibiteur de PARP en dehors des quatre cancers dans lesquels il est prouvé que les mutations des gènes *BRCA1* ou *BRCA2* jouent un rôle oncogénique *driver*.

\* Jonsson P, Bandlamudi C, Cheng ML, et al. Tumor lineage shapes BRCA-mediated phenotypes. *Nature* 2019 ; 571 : 576-9.

Jacques Robert

## L'immunothérapie : un Far West à explorer\*

Une fois qu'il a pu être établi que la tolérance vis-à-vis du système immunitaire était l'un des mécanismes fondamentaux du développement des cancers [1], il a été possible de mettre en place cette révolution thérapeutique qui consiste en la modulation des checkpoints immunitaires. Le *cytotoxic T-lymphocyte antigen 4* (CTLA-4) et la *programmed cell death protein 1* (PD-1) sont deux récepteurs inhibiteurs exprimés par les lymphocytes T, médiateurs fondamentaux de l'immunité acquise. Ces checkpoints immunitaires sont aujourd'hui les cibles de traitements immunologiques (anti-CTLA-4, anti-PD-1, anti-PD-L1) utilisés en routine [2] dans le mélanome [3] ou le cancer bronchique non à petites cellules [4].

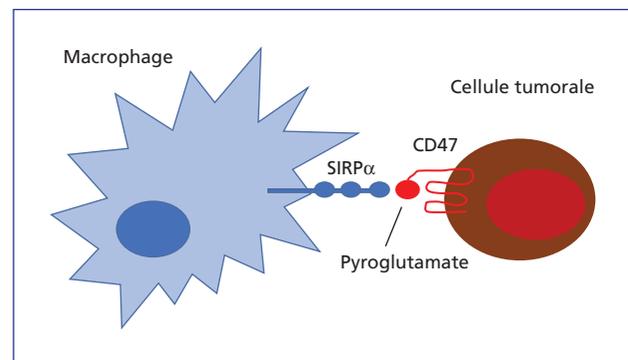
Dans ce travail, les auteurs ont recherché des moyens de contourner l'immunotolérance dont bénéficient les cellules tumorales vis-à-vis de l'immunité innée (polynucléaires neutrophiles [PNN] et macrophages), afin de permettre une activité antitumorale *via* la phagocytose et l'*antibody-dependent cellular cytotoxicity* (ADCC).

Dans un premier temps, les auteurs ont confirmé *in vitro* que la protéine transmembranaire CD47, à la surface de cellules tumorales (lymphome, mélanome, carcinome épidermoïde cutané, cancer du poumon, cancer colorectal), est en interaction directe avec la protéine transmembranaire SIRP $\alpha$  à la surface des macrophages et des PNN. Au cœur de cette interaction protéine-protéine, l'élément indispensable est un résidu *N*-terminal pyroglutamate porté par la protéine CD47 tumorale, ajouté lors de la maturation cytoplasmique de cette protéine transmembranaire *via* l'activité d'une enzyme : la *glutaminyl-peptide cyclotransferase-like protein* (QPCTL), cette maturation se faisant au sein de la cellule tumorale (figure 1).

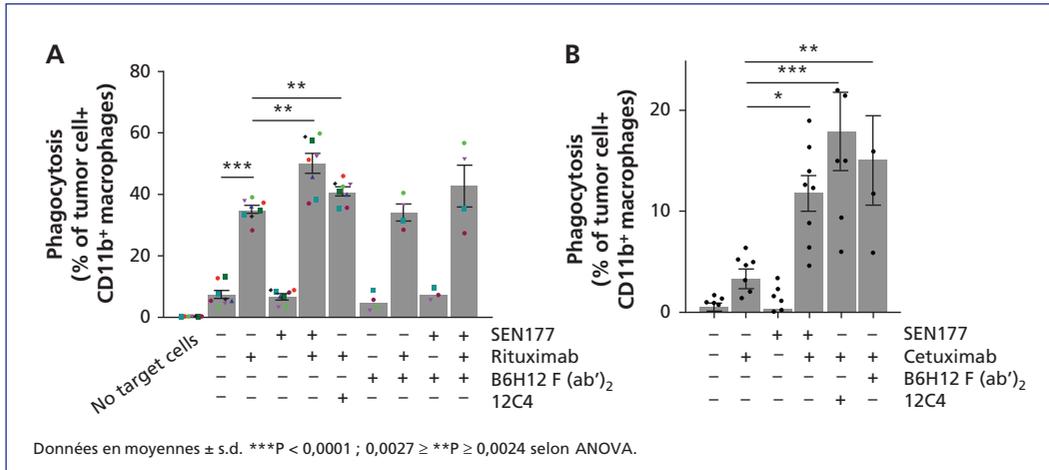
Ensuite, les auteurs ont utilisé un inhibiteur de la QPCTL, le SEN-177, molécule qui avait été développée pour le traitement de maladies neurologiques dégénératives (la

chorée de Huntington et la maladie d'Alzheimer). En effet, la chorée de Huntington semble être associée à l'ajout de résidus pyroglutamate à la protéine huntingtine [5], mais les inhibiteurs de pyroglutamate ont montré une faible efficacité, probablement en raison d'un manque de spécificité [6]. De même, la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer est associée à l'ajout d'un résidu pyroglutamate en position *N*-terminale des amyloïde- $\beta$ -peptides, peptides cérébraux toxiques lorsqu'ils s'accumulent. Un inhibiteur de la QPCTL semble donner des résultats encourageants en préclinique [7].

Les auteurs ont montré que l'interaction CD47-SIRP $\alpha$  est inhibée par le SEN-177. Cette inhibition est comparable à l'absence d'interaction entre CD47 et SIRP $\alpha$ , lorsque la cellule tumorale exprime une protéine CD47 sans résidu pyroglutamate en *N*-terminal (cellules tumorales ayant subi un *knock-out* de QPCTL), ou lorsque la cellule

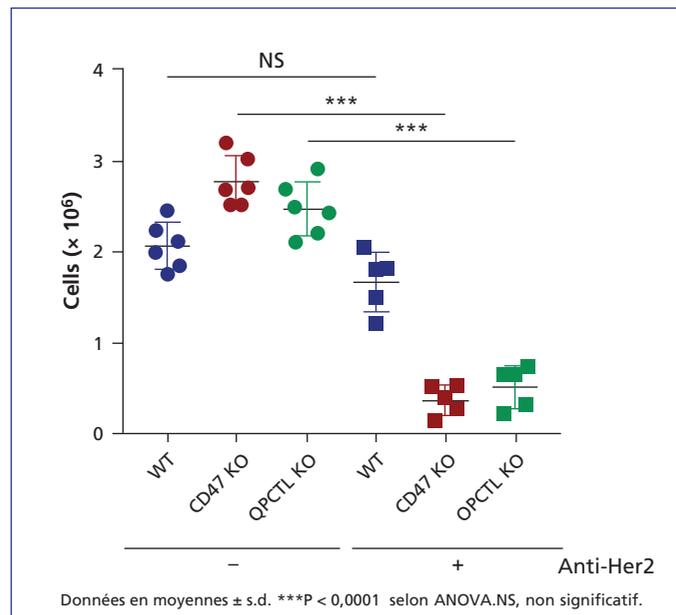


**Figure 1.** Schéma de l'interaction CD47 (porté par la cellule tumorale) avec SIRP $\alpha$  (porté par la cellule PNN ou macrophagique) entraînant un message d'immunotolérance.  
**Figure 1.** Diagram of interaction between CD47 (in the tumour cell) and SIRP $\alpha$  (in the PNN cell or macrophage) leading to immunotolerance.



**Figure 2.** Synergie entre le blocage de la formation du résidu pyroglutamate à l'extrémité de la protéine CD47 et l'opsonisation de la cellule tumorale avant sa destruction par les macrophages ou les neutrophiles. Les colonnes représentent le pourcentage de phagocytose de cellules tumorales, soit en l'absence de traitement, soit en présence de SEN-177 (inhibiteur de QPCTL), soit en présence d'un anticorps-monoclonal (rituximab ou cétuximab), soit en présence d'un anticorps bloquant de CD47 (B6H12 F(ab')<sub>2</sub>), soit en présence d'un anticorps bloquant de SIRP $\alpha$  (12C4), en (A) avec des cellules de lymphomes de Burkitt et en (B) avec des cellules de carcinome épidermoïde.

**Figure 2.** Synergy between blocking the formation of the pyroglutamate residue at the end of the CD47 protein and opsonisation of the tumour cell before its destruction by macrophages or neutrophils. The columns represent the percentage of tumour cell phagocytosis in the absence of treatment or presence of SEN-177 (QPCTL inhibitor), a monoclonal antibody (rituximab or cetuximab), a CD47 blocking antibody (B6H12 F(ab')<sub>2</sub>), or a SIRP $\alpha$  blocking antibody (12C4) with Burkitt lymphoma cells (A) and squamous cell carcinoma cells (B).



**Figure 3.** Le déficit en QPCTL et l'inhibition de l'action du QPCTL favorisent le contrôle tumoral grâce à l'ajout d'anticorps spécifiques de la cellule cancéreuse. Destruction *in vivo* chez la souris de cellules cancéreuses cibles exprimant HER2 : cellules sauvages (WT), cellules KO pour le gène CD47, cellules KO pour le gène QPCTL. Les données représentent le nombre de cellules chez les souris traitées avec du PBS (contrôle) ou un anti-HER2. Six souris ont été traitées par du PBS ; cinq souris traitées par un anti-HER2.

**Figure 3.** The deficit and lack of function of QPCTL promote tumour control by tumour-specific antibodies. *In vivo* destruction of target cancer cells expressing HER2 in mice: wild-type cells (WT), KO cells for the CD47 gene, and KO cells for the QPCTL gene. The data represent the number of cells in mice treated with PBS (control) or anti-HER2. Six mice were treated with PBS and five mice were treated with anti-HER2.

tumorale n'exprime pas de protéine CD47 (cellules tumorales ayant subi un *knock-out* de CD47).

Enfin, afin de montrer que l'interaction CD47-SIRP $\alpha$  est responsable de l'immunotolérance des macrophages et des PNN vis-à-vis des cellules tumorales, les auteurs ont étudié, cette fois-ci *in vivo* chez la souris, les conditions de l'activation de l'immunité innée. Celle-ci se manifeste à la double condition : (1) que l'interaction SIRP $\alpha$ -CD47 soit levée, par l'utilisation de cellules tumorales QPCTL KO, ou bien par l'utilisation de SEN-177, ou encore par l'utilisation de cellules tumorales CD47 KO ; (2) que la cellule tumorale soit en outre la cible d'anticorps monoclonaux : par exemple en utilisant du cétuximab avec des cellules de carcinomes épidermoïdes cutanés, ou bien du rituximab avec des cellules de lymphome de Burkitt, ou bien un anti-HER2 avec des cellules tumorales surexprimant HER2. Dans ces conditions, on observe une nette diminution du nombre de cellules tumorales résiduelles par rapport aux expériences de contrôle (*figures 2 et 3*).

Ces résultats montrent non seulement le potentiel thérapeutique de la levée de l'inhibition de l'interaction CD47-SIRP $\alpha$  pour augmenter la phagocytose des cellules tumorales par les PNN et les macrophages, mais aussi l'effet synergique de la destruction tumorale par l'association avec des anticorps monoclonaux spécifiques de la cellule tumorale (composante ADCC surajoutée).

L'utilisation d'un inhibiteur de QPCTL semble prometteuse dans le traitement des cancers. Seulement, certaines interrogations persistent, comme le manque de spécificité de cette molécule ou la variabilité d'efficacité d'une molécule à l'autre (SEN-177, SEN-180, SEN-817), comme cela a été démontré dans la chorée de Huntington [6].

Cependant, d'après les auteurs de l'article, cet obstacle pourrait être levé par l'adjonction d'anticorps monoclonaux ciblant les cellules tumorales et favorisant

l'opsonisation et la destruction des cellules tumorales par les macrophages et les neutrophiles.

Une question persistante est celle de savoir s'il est nécessaire de sélectionner les patients éventuellement candidats à une telle thérapie en analysant, par exemple, la richesse du micro-environnement tumoral en macrophages et neutrophiles.

\* Logtenberg MEW, Jansen JHM, Raaben M, et al. Glutaminy cyclase is an enzymatic modifier of the CD47- SIRP $\alpha$  axis and a target for cancer immunotherapy. *Nat Med* 2019 ; 25 : 612-9.

## RÉFÉRENCES

1. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011 ; 144 : 646-74.
2. Byun DJ, Wolchok JD, Rosenberg LM, Girotra M. Cancer immunotherapy - immune checkpoint blockade and associated endocrinopathies. *Nat Rev Endocrinol* 2017 ; 13 : 195-207.
3. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010 ; 363 : 711-23.
4. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2016 ; 375 : 1823-33.
5. Rieke GK, Scarfe AD, Hunter JF. L-pyroglutamate: an alternate neurotoxin for a rodent model of Huntington's disease. *Brain Res Bull* 1984 ; 13 : 443-56.
6. Jimenez-Sanchez M, Lam W, Hannus M. siRNA screen identifies QPCT as a druggable target for Huntington's disease. *Nat Chem Biol* 2015 ; 11 : 347-54.
7. Hoffmann T, Meyer A, Heiser U, et al. Glutaminy cyclase inhibitor PQ912 improves cognition in mouse models of Alzheimer's disease-studies on relation to effective target occupancy. *J Pharmacol Exp Ther* 2017 ; 362 : 119-30.

Clémence Basse, Jean-Pierre Armand, Aurélien Marabelle, Stéphane Champiat, Sandrine Aspeslagh