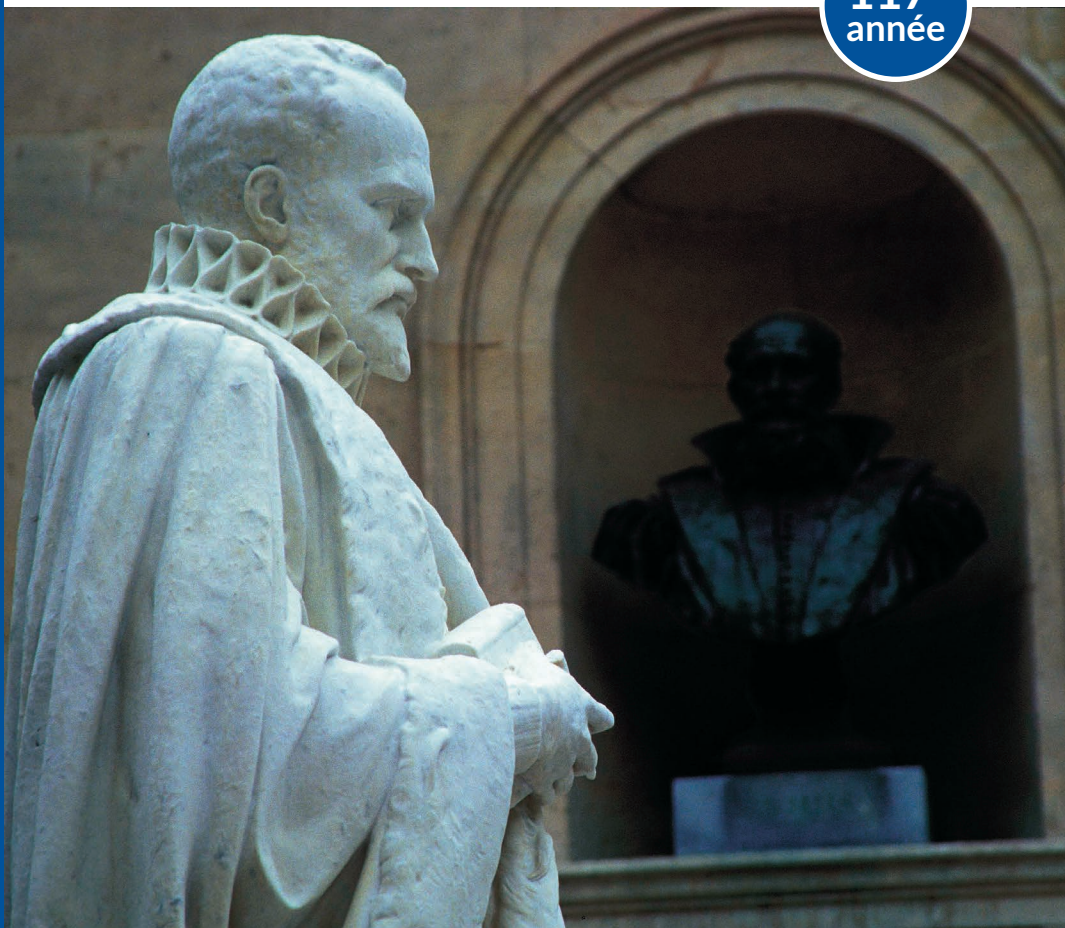


ANNUAIRE du **COLLÈGE DE FRANCE** 2016 - 2017

Résumé des cours et travaux

117^e
année



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

ONCOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE

Hugues DE THÉ

Membre de l'Institut (Académie des sciences),
professeur au Collège de France

Mots-clés : oncologie, cancer, transcription, hormones stéroïdes, sein, prostate

La série de cours « Récepteurs nucléaires et oncogénèse » est disponible, en audio et/ou en vidéo, sur le site internet du Collège de France (<http://www.college-de-france.fr/site/hugues-de-the/course-2016-2017.htm>), ainsi que le colloque dédié à cette thématique (<http://www.college-de-france.fr/site/hugues-de-the/symposium-2016-2017.htm>).

ENSEIGNEMENT

INTRODUCTION

La régulation de l'expression des gènes constitue un aspect essentiel de la transformation cancéreuse. Dans la suite de l'enseignement de l'année précédente, consacré à un régulateur-clé du stress cellulaire (P53), l'enseignement de cette année s'est centré sur le cas historique des récepteurs nucléaires. La transcription des gènes fait l'objet de multiples régulations dont certains grands principes ont été rappelés, en insistant sur ceux qui concernent le plus cette classe particulière d'activateurs transcriptionnels. Les traitements par des anti-hormones constituent probablement l'un des exemples de traitements anti-cancéreux les plus efficaces. Des éléments mécanistiques nouveaux sont apparus dans ces dernières années, justifiant cet enseignement.

COURS – RÉCEPTEURS NUCLÉAIRES ET ONCOGÉNÈSE

Des généralités sur l'épidémiologie des cancers, en particulier celle des cancers hormono-dépendants (sein, prostate) ont été présentées. La découverte, par Antoine Lacassagne, du rôle-clé des hormones (œstrogènes, androgènes) dans l'apparition et/

ou la survie de ce type de tumeurs, a été rapidement retracée. De manière remarquable, des anomalies génétiques extrêmement similaires sont observées entre les états précancéreux et les tumeurs avancées. Ceci suggère que la sensibilité aux hormones n'est pas uniquement liée au profil génétique de la tumeur, mais est plutôt une caractéristique d'une cellule intrinsèquement hormono-sensible.

Nous avons ensuite présenté la famille des récepteurs nucléaires, précisant leurs structures, homologues et capacité à former des homo- ou hétéro-dimères. La myriade de partenaires connus, en particulier ceux impliqués dans la régulation de l'activité basale ou en réponse à l'hormone, a été présentée.

Rappelant que l'un des premiers oncogènes identifiés (*v-ErbA*) a été à l'origine de la découverte des récepteurs nucléaires, nous avons présenté une large revue des études menées dans les années 1990 sur les fonctions de cet oncogène. Il s'agissait en particulier de comprendre comment quelques mutations transformaient un récepteur aux hormones thyroïdiennes impliqué dans le contrôle du métabolisme ou du développement cérébral, en un puissant oncogène à l'origine de l'auto-renouvellement cellulaire dans les érythroleucémies aviaires. Les récepteurs aux hormones thyroïdiennes sont codés par deux gènes *THRA* et *THRB* ayant des domaines de liaison à l'ADN et à l'hormone très similaires. Ils se fixent à l'ADN sous forme d'hétérodimères avec un membre de la famille RXR. Fixés sur leurs éléments de réponse sur l'ADN, ces récepteurs ont un effet basal de répression. En présence de leurs hormones, ils activent fortement la transcription de leurs cibles. Il existe des variants d'épissages naturels dépourvus du site de liaison à l'hormone qui se comportent comme des dominants négatifs, bloquant la signalisation de l'hormone. De même, *v-ErbA* bloque la signalisation des récepteurs aux hormones thyroïdiennes, mais aussi celle des récepteurs aux acides rétinoïques. Ceci reflète à la fois la mauvaise liaison à l'hormone (du fait de mutations dans le domaine de liaison à celle-ci), la perte du domaine d'activation et la capacité à former des homodimères stables. Au niveau biologique, l'expression de *v-ErbA* immortalise les érythroblastes. Les souris transgéniques *v-ErbA* développent quant à elles des hépatocarcinomes. Divers arguments suggèrent que la répression transcriptionnelle joue un rôle essentiel dans la transformation, sans que les gènes cibles d'aval impliqués dans celle-ci n'aient été identifiés. De manière inattendue, le rôle critique des mutations acquises par *THRA* pour donner *v-ErbA* a été remis en cause par des expériences montrant que la simple surexpression de *THRA* en l'absence d'hormone permettait la croissance indéfinie des érythroblastes normaux !

Le deuxième cours était consacré au récepteur des androgènes (AR), en particulier dans le contexte du cancer de la prostate. Les données épidémiologiques et les prédispositions génétiques à ce type de tumeur ont été rappelées. Les particularités de cette voie de signalisation ont été d'abord exposées (homo-dimérisation, métabolisme complexe du ligand, liens avec la phosphorylation et la protéolyse, etc.). Le rôle-clé d'AR, non seulement dans l'initiation de la maladie, mais aussi dans son maintien, a été présenté. Les études de génomique (aussi bien dans les tumeurs que dans le contexte de la prédisposition génétique) ont souligné le rôle-clé de partenaires d'AR, comme Fox1A, HoxB13 ou des protéines de la famille Ets, comme Erg. Ces dernières se comportent comme des facteurs pionniers et/ou des partenaires de liaison d'AR, dirigeant celui-ci vers des cibles spécifiques. À ce titre, les différences observées des séquences-cibles d'AR entre tissus prostatiques normaux et cancéreux, semblent dépendre de HoxB13 et Fox1A. Le rôle de la surexpression des membres de la famille Ets, en particulier suite à des translocations chromosomiques récurrentes rendant leur

expression sensible aux androgènes, a été discuté. Enfin, nous avons présenté les découvertes récentes sur l'implication de SPOP, un gène fréquemment et spécifiquement muté dans les cancers de prostate. SPOP a été directement impliqué dans la régulation de la stabilité du récepteur AR, comme de celle d'ERG ou de TRIM24, deux protéines coopérant avec AR pour l'activation de ses gènes cibles. Ainsi, les mutations inactivatrices de SPOP conduisent-elles à la surexpression de ces trois régulateurs essentiels de la croissance des cellules prostatiques.

Nous avons ensuite présenté les notions récentes sur les fondements moléculaires de la réponse thérapeutique aux anti-androgènes, comme des mécanismes de résistance à ces médicaments. Schématiquement, trois phases ont été décrites : l'inhibition de la production des androgènes naturels, la castration chimique par des anti-androgènes et la résistance aux anti-androgènes. Les mécanismes de résistance identifiés impliquent d'abord la surexpression ou l'amplification génique d'AR, puis des mutations activatrices d'AR et enfin, au moins dans des modèles *ex vivo*, une signalisation de type AR par d'autres récepteurs nucléaires, comme le récepteur aux glucocorticoïdes. L'évolution ultime peut aussi être caractérisée par une perte de différenciation épithéliale souvent associée à des mutations de P53 ou de Rb. Une approche thérapeutique nouvellement proposée fait appel à la modulation de la transcription du gène AR lui-même. Des antagonistes d'un autre récepteur nucléaire – ROR γ – diminuent fortement la transcription, et donc l'abondance, d'AR. Cette forte baisse de l'expression s'accompagne d'une diminution de la prolifération et de la mort cellulaire dans des modèles animaux.

Les troisième et quatrième cours ont été consacrés aux relations complexes entre cancers du sein, œstrogènes et progestérone. Après la présentation de l'épidémiologie très particulière de ces tumeurs (facteurs de risques liés à l'exposition œstrogénique, « tumeurs des couvents »), leurs aspects histologiques et génétiques ont été présentés (dix-huit formes histologiques, cinq moléculaires). L'examen des lésions précancéreuses (cancers *in situ*) montre les mêmes diversité et abondance de lésions génétiques que celle des tumeurs invasives, suggérant que beaucoup de lésions précancéreuses régressent naturellement. Les rôles respectifs des œstrogènes (E2) et de la progestérone (PG) dans le développement du premier bourgeon mammaire (E2) et celui du second bourgeon et des alvéoles (E2 + PG) ont été rappelés, ainsi que les rôles des relais protéiques directement impliqués dans ces effets en *trans* ou en *cis* (TGF β , Cycline D1, RANK, FGF β ...). Les deux récepteurs aux œstrogènes (ERA et ERB), ainsi que les deux isoformes du récepteur à la progestérone (PGA, PGB) sont connus depuis plus de vingt ans. Ils agissent en se fixant à l'ADN sous forme d'homodimères et peut-être aussi en modulant l'activité de certaines cascades de kinases. Des effets indépendants de la présence hormonale et indépendants de la liaison aux éléments de réponse classiques ont été décrits. Les approches à visée physiologique ont été développées par l'étude des souris inactivées pour les différentes formes des récepteurs. Il a ainsi été démontré que les deux variants d'épissage de PR régulent des gènes distincts. Au sein de l'épithélium mammaire normal, PR est une cible majeure de E2, mais est réprimé par PG. Les cellules exprimant ces récepteurs ne sont ni majoritaires, ni proliférantes. Les hormones, et en particulier la progestérone, semblent induire la prolifération de leurs voisins à travers la sécrétion de facteurs mitogènes comme l'amphiréguline, le FGF ou les protéines Wnt. La génomique des tumeurs du sein a révélé une extraordinaire diversité des lésions génétiques. Celles retrouvées de manière récurrente sont PIK3CA dans les tumeurs ERA-positives et P53 dans les tumeurs ERA-négatives. Comparées à l'épithélium normal, certaines tumeurs

mammaires sur-expriment fortement ERA. Les bases moléculaires de cette surexpression ne sont pas encore bien comprises. Une fraction des tumeurs ERA-positives surexpriment également PR. Ce sont en général les tumeurs de bon pronostic qui répondent bien aux anti-œstrogènes. Le rôle-clé de la signalisation œstrogénique dans l'émergence des tumeurs ERA-positives est souligné par l'implication moléculaire de nombreux régulateurs de cette voie (co-activateurs, cycline D1, HER2), comme par le rôle capital de l'imprégnation hormonale comme facteur de risque. La perte de l'expression de PR (récemment rapportée à une perte du gène dans les formes avancées de cancers) joue également un rôle important. Les traitements ciblant cette signalisation font appel à différents types d'anti-œstrogènes : inhibiteurs de la synthèse hormonale, inhibiteurs compétitifs de la fixation des œstrogènes et enfin, agents induisant la dégradation du récepteur. Ces agents sont particulièrement actifs dans les tumeurs dont la prolifération est dépendante de l'axe ERA/PR. En effet, la perte de l'expression de PR est souvent associée à la résistance aux anti-œstrogènes. Des mutations de ERA associées à la résistance ainsi que des amplifications du gène, ont été rapportées dans des formes évoluées de la maladie, après exposition aux anti-œstrogènes. Enfin, des travaux récents de génomique ont éclairé d'un jour nouveau les rapports entre les signalisations par ERA et par PR. Utilisant des approches « tout-génome », plusieurs études récentes ont démontré que la progestérone induisait la formation de complexes entre ERA et PRA, complexes liés à l'ADN par l'un ou l'autre des éléments de réponse. Ainsi, la présence de la progestérone change profondément le spectre des gènes cibles régulés par ERA. En particulier, la croissance des cellules mammaires induite par les œstrogènes est en partie inhibée par un traitement à la progestérone. Effectivement, les tumeurs ERA-positives présentant une forte prolifération perdent souvent l'expression de PR. Finalement, une approche technologique très innovante a été présentée, dans laquelle des cellules provenant de tumeurs sont injectées directement dans des canaux mammaires de souris, plutôt que dans les tissus interstitiels. Ce modèle animal permet de retrouver de très nombreuses caractéristiques des tumeurs humaines, comme le développement initial des tumeurs au sein, des acini, leur calcification, une prolifération plus lente, mais surtout la capacité à former des métastases pulmonaires et osseuses. Enfin, les tumeurs ainsi propagées gardent leurs profils d'expression de ERA et PR et répondent bien aux traitements anti-hormonaux. Ces innovations technologiques devraient rapidement permettre une meilleure connaissance de la biologie des tumeurs ERA-positives, PR-positives, tumeurs jusqu'alors très difficiles à propager chez l'animal.

Au total, les trois exemples choisis présentent de nombreuses similitudes soulignées dans ce cours : dépendance continue à un facteur de transcription maître, rôle-clé des analyses menées sur des cellules primaires, de préférence *in vivo*, action des hormones ou des anti-hormones, mutations/amplification des récepteurs lors de la résistance clinique, diversité des stratégies de manipulation de la voie.

COLLOQUE – RÉCEPTEURS NUCLÉAIRES ET ONCOGÉNÈSE

Ce colloque a réuni plusieurs spécialistes des récepteurs nucléaires (Hinrich Gronemeyer, Eric So, Catherin Brisken, Geoffrey Green, Charles Sawyers, Jorma Palvimo, Gordon Hager). Ces spécialistes ont présenté leurs travaux les plus récents dans des domaines très variés (différenciation, leucémogénèse, cancers du sein ou de la prostate, analyse temporo-spatiale en cellule unique, rôle des modifications post-traductionnelles).

COURS À L'EXTÉRIEUR

1) Régulation de l'expression génétique et transformation cellulaire**2) Récepteurs nucléaires et cancers**

Une coopération très étroite entre l'hôpital Saint-Louis et l'hôpital Rui Jin existe depuis près de trente ans. Ces deux cours permettent ainsi de maintenir la tradition francophone dans l'un des plus prestigieux hôpitaux de Chine et d'entretenir les liens historiques et scientifiques très forts avec ce site. Ces cours, destinés aux étudiants de la filière francophone de l'école de médecine de l'université JiaoTong de Shanghai, ont eu lieu au mois d'avril 2017. Dans la suite de l'enseignement dispensé à Paris, ces cours ont d'abord présenté des notions classiques sur la régulation de l'expression génétique, soulignant les facettes qui sont fréquemment altérées dans les tumeurs. Le second cours, consacré aux récepteurs nucléaires, a présenté les modèles actuels des cancers du sein et de la prostate, en insistant sur les récentes découvertes issues de la génomique.

RECHERCHE

La leucémie aiguë promyélocytaire (LAP) est déclenchée par une translocation chromosomique qui conduit à la formation d'une protéine de fusion PML/RARA, nécessaire et suffisante pour la transformation leucémique. PML/RARA est une protéine multifonction qui exerce des effets dominants négatifs aussi bien sur le contrôle de l'expression génétique par RARA, que sur la biogénèse des corps nucléaires PML. L'existence de deux agents thérapeutiques découverts par hasard, l'acide rétinoïque et l'arsenic, fait toute la puissance de ce système. L'un et l'autre des médicaments se fixent directement à PML/RARA, changeant profondément ses fonctions biologiques. L'acide rétinoïque transforme la fonction de PML/RARA d'un répresseur de l'expression génétique à un activateur de celle-ci. L'arsenic induit l'agrégation de PML et PML/RARA, permettant la reformation des corps nucléaires PML. Enfin, ces deux agents induisent la destruction de PML/RARA par le protéasome. En utilisant des approches pharmacologiques et génétiques, nous avons formellement démontré que la dégradation de PML/RARA est bien responsable de l'éradication définitive de la maladie par la combinaison acide rétinoïque/arsenic. De manière inattendue, la réponse biologique à l'acide rétinoïque comme à l'arsenic *in vivo* nécessite la présence du gène PML normal, ainsi que l'activation de P53, un gène-clé de réponse au stress cellulaire. L'analyse de patients historiques ayant présenté une résistance au traitement a permis de mettre en évidence une mutation de l'allèle normal de PML, démontrant formellement chez l'homme l'implication de PML dans la réponse thérapeutique.

L'équipe s'intéresse aussi à la détermination de la fonction normale des corps nucléaires PML. La formation de ces structures est très liée au stress cellulaire. Ces domaines recrutent de nombreuses protéines partenaires et nous avons pu montrer que ce recrutement s'accompagne de modifications post-traductionnelles de ces protéines, modulant alors leur fonction ou leur abondance. L'une de ces modifications est la conjugaison du peptide SUMO. De nombreux régulateurs de P53 peuvent être conjugués par le peptide SUMO et ils sont localisés (au moins transitoirement) dans les corps nucléaires PML. Ceci pourrait donc expliquer l'activation de P53 par PML.

Les conséquences biologiques de ces modifications ont été étudiées dans des modèles de souris dépourvues de PML. Nos travaux ont démontré que PML est un acteur essentiel de la réponse au stress oxydant *in vivo*. Les souris dépourvues de PML présentent des niveaux élevés d'espèces réactives oxygénées, mais présentent une résistance aux agents toxiques induisant ce type de molécules. La présence des radicaux oxygénés induit la formation des corps nucléaires PML et activent la signalisation P53 *in vivo*. Ainsi, nous avons identifié PML comme un relai essentiel couplant les radicaux oxygénés et la signalisation P53. Ces découvertes ont des conséquences importantes ainsi bien dans le domaine de l'oncogénèse, que celui du vieillissement ou de la sénescence cellulaires, réponses biologiques dans lesquelles cette signalisation est essentielle.

Nos autres travaux en cours cherchent à comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans l'activation de P53 par PML et à identifier des situations pathologiques où, comme dans la LAP, l'activation des corps PML pourrait avoir un bénéfice thérapeutique.

PUBLICATIONS

DVORKINA M., NIEDDU V., CHAKELAM S., PEZZOLO A., CANTILENA S., LEITE A.P., CHAYKA O., REGAD T., PISTORIO A., SEMENTA A.R., VIRASAMI A., BARTON J., MONTANO X., LECHERTIER T., BRINDLE N., MORGENSTERN D., LEBRAS M., BURNS A.J., SAUNDERS N.J., HODIVALA-DILKE K., BAGELLA L., DE THE H., ANDERSON J., SEBIRE N., PISTOIA V., SALA A. et SALOMONI P., « A promyelocytic leukemia protein-thrombospondin-2 axis and the risk of relapse in neuroblastoma », *Clinical Cancer Research*, vol. 22, n° 13, 2016, p. 3398-3409, DOI : 10.1158/1078-0432.CCR-15-2081.

FERHI O., PÉRÈS L., TESSIER S., DE THÉ H. et LALLEMAND-BREITENBACH V., « Comment on "SUMO deconjugation is required for arsenic-triggered ubiquitylation of PML" », *Science Signaling*, vol. 9, n° 440, 2016, tc1, DOI : 10.1126/stke.9.440.tc1.

SAHIN U., JOLLIVET F., BERTHIER C., DE THÉ H. et LALLEMAND-BREITENBACH V., « Detection of protein SUMOylation *in situ* by proximity ligation assays », *Methods in Molecular Biology*, vol. 1475, 2016, p. 139-150, DOI : 10.1007/978-1-4939-6358-4_10.

TESSIER S., MARTIN-MARTIN N., DE THÉ H., CARRACEDO A. et LALLEMAND-BREITENBACH V., « Promyelocytic leukemia protein, a protein at the crossroad of oxidative stress and metabolism », *Antioxidants & Redox Signaling*, vol. 26, n° 9, 2017, p. 432-444, DOI : 10.1089/ars.2016.6898.

DE THÉ H., PANDOLFI P.P. et CHEN Z., « Acute promyelocytic leukemia : A paradigm for oncoprotein-targeted cure », *Cancer Cell*, vol. 32, n° 5, 2017, p. 552-560, DOI : 10.1016/j.ccell.2017.10.002.

NIWA-KAWAKITA M., FERHI O., SOILIH H., LE BRAS M., LALLEMAND-BREITENBACH V. et DE THÉ H., « PML is a ROS sensor activating p53 upon oxidative stress », *The Journal of Experimental Medicine*, vol. 214, n° 11, 2017, p. 3197-3206, DOI : 10.1084/jem.20160301.

RIKET D., LALLEMAND-BREITENBACH V., FERHI O., NAHORI M.-A., VARET H., THÉ H. et COSSART P., « Promyelocytic leukemia protein (PML) controls listeria monocytogenes infection », *MBio*, vol. 8, n° 1, 2017, e02179-16, DOI : 10.1128/mBio.02179-16.

WEN B., YUAN H., LIU X., WANG H., CHEN S., CHEN Z., DE THÉ H., ZHOU J. et ZHU J., « GATA5 SUMOylation is indispensable for zebrafish cardiac development », *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1861, n° 7, 2017, p. 1691-1701, DOI : 10.1016/j.bbagen.2017.03.005.