

Annuaire du Collège de France

122^e année

2021
2022

Résumé des cours et travaux



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

ONCOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE

Hugues de Thé

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

La série de cours « Revisiter les bases biologiques de l’activité des anticancéreux » est disponible, en audio et en vidéo, sur le site internet du Collège de France (<https://www.college-de-france.fr/fr/agenda/cours/revisiter-les-bases-biologiques-de-activite-des-anticancereux/revisiter-les-bases-biologiques-de-activite-des-anticancereux-2-0>), ainsi que le colloque « Cancer et Immunité », organisé en partenariat avec la chaire Médecine expérimentale (<https://www.college-de-france.fr/agenda/colloque/cancer-et-immunité>), et la journée « François Jacob : beauté mathématique du vivant ».

ENSEIGNEMENT

INTRODUCTION

Les enseignements de la chaire se proposent d’identifier et de modéliser les mécanismes cellulaires impliqués dans la réponse aux différents agents anti-cancéreux. Les dernières années ont vu une efflorescence de travaux biologiques ou cliniques qui ont commencé à apporter un éclairage renouvelé sur ces questions. Le cours de cette année sera une introduction à ces questions qui seront développées les années à venir.

| H. de Thé, « Oncologie cellulaire et moléculaire », *Annuaire du Collège de France. Résumé des cours et travaux*, 122^e année : 2021-2022, 2025, p. 211-222, <https://journals.openedition.org/annuaire-cdf/20483>.

COURS - REVISITER LES BASES BIOLOGIQUES DE LA RÉPONSE AUX TRAITEMENTS ANTICANCÉREUX

Après une année d'interruption, l'enseignement a entrepris de revisiter un nouvel aspect des maladies cancéreuses, celui de la réponse aux chimiothérapies. Ce cours servira d'introduction à ceux des années prochaines qui reprendront en détail un certain nombre des points abordés en 2021.

Pendant des décennies, le traitement du cancer a été abordé sous un aspect local (chirurgie), puis après les découvertes de Marie Curie, loco-régional (radiothérapie). C'est à partir des années 1940 que l'idée d'un traitement systémique, chimique, des maladies cancéreuses, a été imaginée. Naturellement, les premiers essais ont été menés dans des maladies d'emblée diffuses, comme les leucémies ou les lymphomes. Plusieurs aspects essentiels ont été soulignés, en particulier l'index thérapeutique, c'est-à-dire la sensibilité différentielle des cellules cancéreuses et des cellules normales aux effets d'un agent anticancéreux. Cet index thérapeutique est évidemment très lié à la dose, et pour les chimiothérapies « conventionnelles », efficacités et toxicités sont malheureusement très souvent corrélées. L'optimisation de la dose est difficile, car elle ne peut être menée que sur des cohortes de patients en utilisant la survie comme critère de jugement. Ceci a été illustré dans le cours avec le rôle bénéfique de l'intensification de dose dans des maladies chimio-sensibles, mais aussi le bénéfice de diminution de doses d'autres agents, qui changent alors de mode d'action. L'âge d'or du développement des chimiothérapies s'étend entre 1960 et 1980, avec la guérison des choriocarcinomes, des leucémies de l'enfant, de la maladie de Hodgkin et des cancers testiculaires, avec des combinaisons d'agents. Ces polychimiothérapies ont souvent été établies par opportunité (absence de toxicité croisée) plus que par une stratégie fondée sur des bases biologiques ou un mode d'action connu ou présumé. Ceci laisse ouvert un large champ d'investigation pour comprendre, dans la vraie vie, le mode d'action de ces médicaments, seuls ou en combinaison.

Cours 1

Le cours a d'abord présenté un aspect historique de la découverte des premiers alkylants, dont l'étude détaillée sera abordée l'an prochain. Ces molécules sont capables de modifier chimiquement les bases constitutives de la molécule d'ADN, mais aussi de nombreux autres types de macromolécules biologiques. Un deuxième groupe très important concerne les agents interférant avec la synthèse des acides nucléiques. Historiquement, les antifolates constituent la première classe de ce groupe de médicaments. L'acide folique (Vitamine B9) est indispensable au fonctionnement de plusieurs chaînes enzymatiques, principalement des méthyltransférases. Plusieurs types d'antifolates ont été synthétisés et sont largement utilisés comme antibiotiques, immunosupresseurs ou anticancéreux. Le méthotrexate inhibe une enzyme centrale du métabolisme des nucléotides, conduisant à une déplétion en Thymidine. L'absence de ce nucléotide essentiel à la synthèse de la molécule

d'ADN bloque le cycle cellulaire en phase de synthèse active de l'ADN. Il induit également, par des mécanismes encore mal élucidés, un important stress oxydant. Une deuxième classe est constituée des analogues de nucléotides (5-Fluorouracyl, Aracytine, mercaptopurine) qui sont capables de bloquer la synthèse d'ADN (ou d'ARN) en s'incorporant dans les macromolécules en cours de synthèse ou en perturbant le métabolisme des nucléotides. Elles sont particulièrement actives sur les cellules en cycle. Là encore, plusieurs de ces molécules sont capables d'induire du stress oxydant.

La recherche de substances naturelles capables de bloquer la prolifération des cellules cancéreuses en culture a été un axe historique majeur qui a conduit à la découverte de plusieurs médicaments encore très largement utilisés. Nous avons présenté les grandes familles de molécules ainsi identifiées. Les poisons du fuseau mitotique et autres molécules capables d'interagir avec les microtubules (Vinblastine, Taxol...). Les insuffisances quant à notre compréhension du mode d'action ont été soulignées. En effet, des inhibiteurs ainsi que des stabilisateurs de la polymérisation des microtubules ont l'un ou l'autre des bénéfices thérapeutiques. Contrairement à ce que l'on pensait initialement, cette famille de molécules ne cible pas que des cellules en division. D'autres fonctions biologiques que la mitose sont aussi ciblées par les membres de cette famille. Les antibiotiques anticancéreux constituent une large famille (actinomycine D, doxorubicine, camptothécine...) dont beaucoup sont des intercalants de l'ADN. Ils induisent des cassures de l'ADN, des modifications épigénétiques, métaboliques ou du stress oxydant, au moins en partie en ciblant les mitochondries. Le groupe le plus connu de cette famille (anthracycline) est aussi capable d'inhiber les topoisomérasées. Le groupe des inhibiteurs de topoisomérasées comprend également d'autres substances naturelles, comme l'étoposide. Le mode d'action détaillé des inhibiteurs de topoisomérasées sera détaillé dans le cours de l'an prochain. Les difficultés à mettre en route des cibles chimiques capables de prédire l'efficacité chez l'homme ont été soulignées. Cette question cruciale reste encore largement ouverte, avec des développements technologiques récents qui seront présentés dans un autre cours.

Cours 2

Dans le deuxième cours, nous avons abordé la question de la dose à travers deux exemples. Plusieurs études cliniques ont révélé que l'intensification de la dose, en particulier dans la phase initiale de la thérapeutique, a un bénéfice important en survie dans des tumeurs par ailleurs « chimio-sensibles ». À l'inverse, pour d'autres agents comme l'azacytidine, c'est la diminution drastique de la dose qui a permis de passer d'une induction de mort sans grande sélectivité pour les cellules cancéreuses à une reprogrammation épigénétique induisant lentement l'extinction des cellules leucémiques par un mécanisme de sénescence et de différenciation.

On ne peut pas optimiser ce que l'on ne comprend pas. Or, les mécanismes moléculaires de la guérison par les chimiothérapies ne sont pas bien compris, en partie à

cause de l'absence d'études *in vivo* chez les patients. Nous avons donc présenté deux études récentes qui mettent en évidence nos méconnaissances des modes d'action de médicaments utilisés en routine ou en développement. La première étude a comparé deux dérivés du platine (cisplatine et oxaliplatine). Il était considéré que ces deux agents agissaient par alkylation de l'ADN et induction de cassures de celui-ci. Les cassures double brin induisent une signalisation bien explorée (*DNA Damage Response, DDR*) avec des cascades de signalisation impliquant des kinases reconnaissant les lésions, puis des kinases d'activation des points de contrôle et enfin des effecteurs de la réponse biologique (mort cellulaire, réparation, arrêt de la réPLICATION du génome...). On savait que cliniquement, les activités antitumorales, ainsi que les toxicités de ces deux produits étaient assez différentes. Les dérivés du platine se fixent assez largement, non seulement sur les acides nucléiques, mais aussi sur d'autres macromolécules biologiques. Les auteurs ont mis en œuvre un cible ShRNA inducible, permettant d'atténuer ou d'abolir l'expression d'un certain nombre des effecteurs de la DDR, sur des cellules primaires, avant ou après traitement par une collection de médicaments anticancéreux. Si un gène est indispensable à la réponse à un agent, le ShRNA permettant son extinction sera sur-représenté après traitement. De manière inattendue, à l'issue de ce cible, les profils des effecteurs de la DDR impliqués dans la réponse au Cisplatine et à l'oxaliplatine étaient très différents. Des expériences complémentaires ont effectivement montré qu'à la différence du Cisplatine, l'oxaliplatine n'induisait pas de cassure immédiate de l'ADN. En revanche, l'oxaliplatine inhibe la synthèse d'ARN (en particulier ribosomique), la structure du nucléole et la synthèse protéique. Ceci est accompagné de l'induction d'un stress oxydant. Ainsi, deux médicaments largement utilisés en clinique, dont les modes d'action étaient considérés comme similaires, ont des actions très différentes au niveau de la cellule cible, expliquant la différence de leurs effets cliniques.

La deuxième étude a cherché à vérifier que, dans le cas des molécules ciblées, l'effet thérapeutique passait effectivement bien par l'inhibition de la cible présumée. Utilisant des technologies proches de celles de l'étude précédente, les auteurs ont pu montrer que plusieurs molécules ciblant la kinase PKB gardaient une activité cytotoxique même en l'absence de cette cible! En étudiant des clones devenus résistants à ces agents, ils ont pu démontrer que c'est en fait l'inhibition d'une autre kinase, CDK11, indispensable à la mitose, qui est responsable de l'induction de la mort. Ainsi, même avec des médicaments présumés ciblés, une validation biologique doit impérativement être entreprise.

Pourtant, la dissection des modes d'action des médicaments est possible. Nous avons développé le modèle de la leucémie aiguë promyélocyttaire, l'un des domaines d'investigation du laboratoire. Dans ce modèle, l'exploration fine des données *in vivo* (patients ou modèles murins de la maladie) a permis une compréhension très approfondie des bases moléculaires et cellulaires de la réponse thérapeutique. Nous avons ainsi rapidement présenté les différents changements de paradigmes successifs partant de la régulation transcriptionnelle induisant la différenciation cellulaire à la

nécessité d'une dégradation de l'oncoprotéine maîtresse PML/RARA par des traitements ciblés. Nous avons détaillé l'implication des corps nucléaires PML dans la réponse thérapeutique et les liens entre organisation de ces domaines et une sénescence à travers l'activation d'une voie maîtresse ciblant, entre autres, P53. La relevance de ces modèles murins à la maladie humaine a été soulignée, entre autres, à travers la découverte de mutations chez des patients résistants. Nous avons enfin souligné l'importance des études *in vivo* et les limitations des études sur lignées cellulaires, en particulier lorsque l'on étudie des voies de signalisation liées au stress oxydant.

Nous avons également présenté des travaux récents du laboratoire cherchant à incriminer des mécanismes proches de ceux impliqués dans la guérison de la leucémie aiguë promyélocyttaire dans la réponse thérapeutique d'autres formes de leucémies. 30 % des leucémies aiguës myéloïdes présentent une mutation de la protéine NPM1, une chaperonne du nucléole impliquée (entre autres) dans la maturation des ARN ribosomiques et l'assemblage des ribosomes. Cette mutation conduit à une perte de la localisation nucléolaire et à une localisation cytoplasmique de cette oncoprotéine. Nous avons montré que la forme mutante de cette protéine désorganise les corps nucléaires PML, ce qui interfère, comme dans la LAP, avec la fonction de P53 et la biogenèse mitochondriale. De manière remarquable, le traitement par l'actinomycine D, connu pour induire rapidement un stress oxydant, induit une reformation immédiate des corps nucléaires PML. Celle-ci s'accompagne d'une activation de P53, de sénescence *ex vivo*, de régression de la leucémie *in vivo*, qui sont toutes dépendantes de l'intégrité de P53. Il a été proposé que l'induction de stress oxydant soit liée à une toxicité mitochondriale aiguë. Celle-ci pourrait être liée à une intercalation de l'actinomycine D au sein du génome mitochondrial. L'index thérapeutique de l'actinomycine serait lié à des désordres mitochondriaux résultant, au moins en partie, de la désorganisation des corps nucléaires PML. Au total, ces études révèlent un parallèle étroit entre ces deux modèles, la désorganisation des corps PML et leur réorganisation en réponse au traitement jouant un rôle central dans la réponse thérapeutique. Il est possible que les corps PML constituent une des voies finales communes de l'action des traitements anti-leucémiques.

Cours 3

Dans le troisième cours, nous avons abordé la réponse aux agents ciblant la synthèse de la macromolécule d'ADN. L'une des causes fréquentes de stress répliquatif est le déséquilibre entre production et consommation des nucléotides. Ce sujet sera détaillé dans un cours à venir, seules les grandes lignes ont été présentées. En effet, beaucoup d'agents conventionnels utilisés dans le traitement des tumeurs (méthotrexate, Gemcitabine, hydroxyurée) s'opposent à la synthèse des nucléotides ou conduisent à l'incorporation de nucléotides anormaux, les deux phénomènes induisant un stress de réplication de l'ADN. Plusieurs études ont cherché à moduler l'activité d'enzymes éliminant les nucléotides oxydés. Si de bons inhibiteurs ont été obtenus, ils ne présentent pas vraiment d'index thérapeutiques, puisqu'ils exercent les mêmes toxicités dans les

cellules normales et cancéreuses. Enfin, un crible cherchant à induire une différenciation terminale de cellules souches hématopoïétiques immortalisées par surexpression du gène Hoxa9 a identifié une enzyme clé, la DHODH, dont l'inhibition induit la différenciation de ces cellules leucémiques. Cette enzyme mitochondriale permet la synthèse de l'orotate, brique de base dans la synthèse des bases pyrimidiques. Ainsi, dans les cellules leucémiques, la déplétion en pyrimidines conduit à un arrêt du cycle cellulaire et la différenciation terminale en granuleux. La supplémentation en uridine restaure la croissance et réverse la différenciation.

Au-delà de l'inhibition de la synthèse de l'ADN, beaucoup d'anticancéreux induisent des dommages, comme les alkylants ou les inhibiteurs de topoisomérase. Les dégâts les plus difficiles à réparer sont les cassures double brin. La réparation fait appel à deux voies complémentaires : la recombinaison homologue, qui utilise l'information génétique présente sur l'autre copie du chromosome pour effectuer une réparation *ad integrum*, et le *non-homologous end joining* qui résèque et recolle les deux extrémités. Cette dernière forme de réparation est beaucoup plus simple à mettre en œuvre, mais elle altère l'information génétique présente au point de cassure et est donc intrinsèquement mutagène. Plusieurs études cliniques ont démontré que l'efficacité des agents endommageant l'ADN (cisplatine, anthracyclines...) est significativement supérieure si le système de réparation par recombinaison homologue est inactivé. Cela survient dans certaines formes de tumeurs du sein, de l'ovaire ou de la prostate survenant dans un contexte de prédisposition génétique. Ces tumeurs sont liées à une perte complète des gènes de réparation de l'ADN Brca1 ou Brca2. La démonstration la plus frappante du rôle de l'inactivation de ce système de réparation dans la réponse au traitement est la description de mutants de réversion – qui restaurent la fonction de réparation – chez ce type de patient à la rechute.

La sensibilité aux agents inhibiteurs de la topoisomérase 2 est directement liée à l'abondance de la protéine Top2. Une fois liée à l'inhibiteur, l'enzyme reste liée à l'ADN de manière covalente, sans possibilité de religation, créant de fait un obstacle à la progression des ARN ou ADN polymérasées et une cassure double brin. Un effet secondaire redoutable des anthracyclines est leur toxicité retardée sur les cellules contractiles cardiaques. Des études d'ablation de la topoisomérase 2 alpha dans les cardiomyocytes ont permis de démontrer le rôle essentiel de cette protéine dans l'activation de P53, activation suivie d'une toxicité mitochondriale retardée qui engendre une perte des cellules souches cardiaques. Enfin, nous avons clos cet « overview » par la description de l'association entre l'expression d'une hélicase, SFLN11 et la réponse à de très nombreuses chimiothérapies génotoxiques. Le mécanisme incriminé est la stabilisation des fourches de stress réplicatif qui bloque leur réparation et perpétue les dommages.

Cours 4

Le quatrième cours a abordé un certain nombre de concepts généraux comme la léalité synthétique. Il s'agit de situations dans lesquelles un organisme peut tolérer la perte d'un gène A ou d'un gène B, mais pas les deux à la fois. Il s'agit souvent de deux voies parallèles et redondantes d'une fonction indispensable. Il existe des variantes de ce concept, par exemple dans lesquelles un stress aigu ne sera toléré que si A ou B sont intacts. L'émergence des cibles ShRNA ou CRISPR a permis d'aborder ces questions avec une formidable puissance. Ces approches ont permis de démontrer que la survie et la prolifération de cellules présentant une inactivation de la réparation des cassures d'ADN double brin nécessite l'intégrité de la voie de réparation par *non-homologous end-joining*, à travers la dépendance de celle-ci à une modification post-traductionnelle, la PARylation. Brièvement, les enzymes PARP1 et 2 sont capables de catalyser la liaison covalente d'ADP-ribose à une chaîne latérale d'acide glutamique. En réponse à une cassure de l'ADN, un certain nombre de protéines de la chromatine vont être PARylées au voisinage de la lésion. La PARylation des histones permet l'ouverture de la chromatine et le recrutement des enzymes de réparation, en particulier celles qui sont impliquées dans le NHEJ. Ainsi, en présence d'inhibiteurs des PARP, les cellules déficientes pour la recombinaison homologue vont mourir d'apoptose, en partie du fait de la séquestration de l'enzyme inactivée ancrée sur l'ADN qui, comme les topoisomérasées, bloque transcription et réplication. Il avait été initialement proposé de coupler ces inhibiteurs à la chimiothérapie conventionnelle, mais ces associations se sont avérées trop toxiques et ne présentaient pas d'index thérapeutique. En revanche, les inhibiteurs de PARP sont efficaces et bien tolérés dans les tumeurs présentant une inactivation génétique ou fonctionnelle de la recombinaison homologue. Elles sont utilisées dans la prévention des rechutes des cancers de l'ovaire. Dans cette situation, ce sont les cassures spontanées de l'ADN tumoral qui sont ciblées par l'inactivation des deux systèmes de réparation. De manière remarquable, lors des rechutes en présence d'un traitement d'entretien par ces inhibiteurs, plusieurs groupes ont rapporté une restauration de la recombinaison homologue, comme démontré auparavant avec les dérivés du platine et des inhibiteurs de topoisomérasées.

Nous avons ensuite présenté une rapide mise à jour des connaissances actuelles sur l'apoptose et son contrôle par P53. Les relations entre statut P53 et sensibilité aux traitements anticancéreux sont complexes et encore en évolution. Ces relations dépendent étroitement du type cellulaire et du type de traitement. Les premières études en lignées avaient montré que beaucoup de traitements induisent des dommages à l'ADN qui activent P53, puis une mort cellulaire, du fait de l'activation transcriptionnelle par P53 de gènes pro-apoptotiques comme Bax. Néanmoins, ces premiers modèles ont été contredits par des études en lignée cellulaire montrant que certains agents (5-fluoro-uracyl) ont besoin de P53 pour agir, alors que d'autres (anthracyclines) n'agissent, au contraire, que dans un contexte d'inactivation de la fonction de cette protéine. Les études cliniques ont conforté cette dualité de

dépendance. Les rares leucémies aiguës myéloïdes ou les tumeurs du testicule présentant une mutation de P53 sont très résistantes à la chimiothérapie. À l'inverse, certaines tumeurs du sein ne sont pleinement sensibles qu'en présence d'une mutation de P53. Ceci reflète probablement à la fois la diversité des fonctions de P53 et des modes d'actions des chimiothérapies. Schématiquement, une dépendance stricte à P53 pourrait traduire un défaut d'apoptose induite par Bax, alors qu'à l'inverse, il existe des arguments pour dire que P53 s'oppose à la catastrophe mitotique en induisant l'arrêt de cycle en G2 après des pontages inter-brins de l'ADN induits par des alkylants. Il existe probablement aussi des liens au niveau du métabolisme, en particulier mitochondrial, mais ceux-ci sont encore insuffisamment documentés *in vivo*. Un autre effet de P53 est l'induction de la sénescence cellulaire, un arrêt de cycle présumé irréversible, qui favorise une élimination secondaire par le système immunitaire (cf. cours 2019). La contribution de la sénescence à la réponse à long terme fait encore l'objet d'intenses discussions. En revanche, il est assez clair que beaucoup des effets secondaires des traitements conventionnels (chimiothérapie ou radiothérapie) sont les conséquences de la sénescence des tissus cancéreux ou normaux. Une des conséquences cellulaires de la sénescence est la résistance à l'apoptose. Ainsi, les cellules sénescantes sont particulièrement sensibles aux inhibiteurs de Bcl2. Effectivement, des traitements combinés par des inducteurs de sénescence (agents déméthylants, Aracytine à faible dose...) combinés à des inhibiteurs de Bcl2 ont une efficacité clinique démontrée dans les leucémies aiguës myéloïdes.

En conclusion de ce cours introductif, nous avons insisté sur l'importance des modèles d'études : doses, contextes *in vivo* ou cellules primaires. Le stress répliquatif est un élément important de l'efficacité des alkylants, inhibiteurs de topoisomérase et inhibiteurs de PARP. Il est étroitement lié à l'absence de recombinaison homologue. P53 joue un rôle complexe dans la réponse, très dépendante du contexte. Les voies cellulaires d'aval : apoptose directe, sénescence, catastrophe mitotique, réorganisation métabolique demandent une exploration au cas par cas.

COLLOQUE - CANCER ET IMMUNITÉ

Le colloque « Cancer et immunité », organisé en collaboration avec la chaire Médecine expérimentale d'Alain Fischer, s'est tenu les 19 et 20 mai 2022. Une série d'orateurs très prestigieux ont présenté les dernières avancées de ces questions en pleine évolution.

Tumor immunogenicity and T cell responses

- Philippe Bousso (Institut Pasteur, Paris) : « Mechanisms of tumor immuno-surveillance and immunotherapy analyzed at the single cell level »;

- Ido Amit (Weizmann Institute, Rehovot, Israël) : « The power of ONE: Immunology in age of single cell genomic »;
- Miriam Merad (Mount Sinai Medical School, New York) : « Myeloid cell control of antitumor immunity »;
- Emmanuel Donnadieu (Institut Cochin, Paris) : « Imaging of T cell success and failure in human tumors »;
- Hélène Salmon (Institut Curie, Paris/Mount Sinai medical School, New York) : « Contribution of the stromal cell compartment to tumor immunity »;
- Jérôme Galon (Inserm/Sorbonne Université, Paris) : « The immune contexture in the era of cancer immunotherapy ».

Metabolism and pathogenesis

- Craig B. Thompson (MSKCC, New York) : « The role of cancer metabolism in creating an immunosuppressive tumor microenvironment »;
- Riccardo Dalla Favera (Columbia University, New York) : « Mechanisms of B cell lymphomagenesis »;
- Vishva M. Dixit (Genentech, San Francisco) : « Why so many ways to die? The Non canonical inflammasome pathway »;
- Éric Vivier (CIML, Innate Pharma, Marseille) : « Harnessing innate immunity in cancer therapy ».

Tumor Checkpoint inhibitors

- Ton Schumacher (NCI, Amsterdam) : « Immunological response of human cancers to PD-1 blockade »;
- Tasuku Honjo (Kyoto University), video : « A new dimension of PD-1 blockade therapy against cancer »;
- Caroline Robert (institut Gustave Roussy, Villejuif) : « Translational control of cancer immunity »;
- Laurence Zitvogel (institut Gustave Roussy, Villejuif) : « The impact of the intestinal microbiota in tumor immuno surveillance »;
- Louis M. Staudt (NIH, Washington) : « Targeted therapy of immune-edited lymphomas ».

Cellular immunotherapy of cancer

- Michel Sadelain (MSKCC, New York) : « How CARs were built and how they work »;
- Carl H. June (University of Pennsylvania, Philadelphie), video : « CAR T cell therapies for cancer: progress and challenges »;

- Sébastien Amigorena (Institut Curie, Paris) : « Heterochromatin and anti tumor immunity »;
- Sonia Guedan (IDIBAPS, Barcelone) : « CAR-T cell therapy for solid tumors »;
- Martine PICCART (institut Jules Bordet, ULB, Bruxelles) : « Implementation of innovative immunotherapy of cancer ».

COURS À L'EXTÉRIEUR

Deux cours, destinés aux étudiants de l'université Jiao Tong de Shanghai, dans le cadre des accords internationaux du Collège, ont eu lieu en janvier 2022. Ils devaient contribuer à maintenir la tradition francophone dans l'une des universités phares de Chine.

RECHERCHE

La leucémie aiguë promyélocyttaire (LAP) est déclenchée par une translocation chromosomique qui conduit à la formation d'une protéine de fusion PML/RARA, maître d'œuvre de la transformation leucémique. Deux médicaments – l'acide rétinoïque et l'arsenic – induisent la dégradation de PML/RARA. La disparition de l'oncoprotéine conduit à la différenciation et la sénescence, à travers la restauration de l'activité de PML. C'est autour de ce modèle que tourne l'ensemble de nos travaux qui cherchent à explorer les mécanismes impliqués en aval de la dégradation de PML/RARA et les voies biologiques conduisant à la guérison de la maladie. De même, nous cherchons à explorer comment ces cascades de signalisations pourraient être impliquées dans la réponse thérapeutique dans d'autres formes de leucémies.

RÔLE BIOCHIMIQUE DE PML

Grâce à V. Lallemand-Breitenbach, l'équipe a beaucoup investi dans l'étude des fonctions de PML, en particulier à travers des analyses de protéomiques *in vivo*. Celles-ci montrent que l'assemblage des corps nucléaires PML en réponse au stress oxydant a un rôle majeur de facilitation d'une modification post-traductionnelle, la sumoylation. Après un traitement par l'arsenic qui induit l'assemblage immédiat des corps nucléaires, une vague de conjugaison par SUMO est observée, seulement en présence de Pml. L'analyse par protéomique dans des modèles de leucémies *in vivo* ou des cellules souches embryonnaires de souris (mESC) a permis d'identifier un certain nombre de nouvelles protéines sumoylées de manière PML-dépendantes. Beaucoup de ces protéines sont associées aux corps nucléaires PML, suggérant que ces domaines sont le siège de ces modifications par leur capacité à concentrer UBC9

et les protéines clientes des corps. Parmi ces nouveaux partenaires identifiés, se trouve le complexe épigénétique KAP1/SETDB1, dont la fonction est régulée par SUMO. Dans les cellules mESC dépourvues de Pml, ceci se traduit par une ré-expression des éléments répétés du génome dont l'expression est habituellement éteinte par la méthylation de l'ADN par le complexe KAP1/SETDB1. La plupart des voies biologiques PML-sensibles sont aussi régulées par SUMO, suggérant que l'homéostasie de la sumoylation constitue une fonction centrale aux nombreuses activités qui ont été proposées pour PML. Cette découverte met en exergue le rôle de régulateur épigénétique de PML, à travers la modulation de la sumoylation de ce complexe.

PML DANS LA RÉPONSE THÉRAPEUTIQUE DE MALADIES AUTRES QUE LA LAP

Un deuxième axe important des recherches de l'équipe a été d'étudier le rôle physiologique de PML dans la réponse au stress *in vivo*. En collaboration avec des équipes de l'institut Gustave Roussy et de l'hôpital Saint-Louis, nous avons pu montrer le rôle clé de PML dans la réponse des syndromes myélo-prolifératifs mutés pour Jak2 dans la réponse clinique à l'interféron alpha (IFN). Brièvement, l'association IFN/arsenic est beaucoup plus active que l'interféron seul, permettant une accélération de la clairance de la maladie chez la souris et l'éradication des cellules initiatrices de leucémie après transplantation. Les observations similaires ont été réalisées sur des cellules de patients. Enfin, dans ces modèles murins, les cellules leucémiques dépourvues de Pml étaient fortement sélectionnées en présence d'un traitement interféron/arsenic (mais pas d'interféron seul), démontrant que le gain d'efficience thérapeutique de l'IFN par l'ajout d'arsenic dépend entièrement de Pml. Ces travaux seraient susceptibles de conduire rapidement à des essais cliniques chez les patients.

Nous avons également démontré que l'oncoprotéine NPM1c présente dans près d'un tiers des LAM interfère directement avec la formation des corps PML. L'actinomycine D induit des rémissions cliniques prolongées chez des patients présentant des LAM résistantes aux traitements conventionnels. Cet agent induit la reformation des corps PML, accompagnée par l'activation de P53 et de la sénescence. PML est indispensable à la réponse thérapeutique *ex vivo*. L'actinomycine D agit en ciblant la mitochondrie probablement par intercalation dans son ADN, ce qui provoque un stress oxydant aigu qui explique la reformation des corps PML. Le traitement combiné avec un inhibiteur de Bcl2, qui cible aussi la mitochondrie, conduit à une synergie pour le stress mitochondrial et les effets thérapeutiques dans des modèles murins, synergie qui nécessite de l'intégrité de PML.

Ainsi, de manière inattendue, nos travaux, aussi bien dans le modèle Jak2 que dans le modèle NPM1c, mettent en évidence des mécanismes de réponse thérapeutique qui ressemblent étrangement à celui des LAP. Les corps nucléaires PML pourraient donc constituer une voie finale commune de réponse thérapeutique dans plusieurs types de LAM.

Pour élucider les mécanismes impliqués dans la réponse PML-dépendante, nous avons construit des lignées de souris portant des mutations sur plusieurs domaines fonctionnels de PML. Nous analysons le rôle de ces mutants dans l'accélération de la leucémogénèse par PML/RARA, dans la réponse à l'acide rétinoïque ou à l'arsenic de LAP portant ses mutations sur l'allèle normal de Pml, ainsi que dans la réponse thérapeutique dans d'autres modèles de leucémies. Ces travaux devraient permettre une cartographie structure/fonction *in vivo* des fonctions de Pml dans la réponse thérapeutique. Ces expériences devraient contribuer à la caractérisation fine des signalisations en aval de Pml qui sont nécessaires à la réponse thérapeutique. Nous étudierons également le phénotype de ces souris en réponse à divers types de stress.

L'IMMORTALISATION PAR SUREXPRESSION DE RARA

Un dernier axe de nos travaux cherche à appréhender l'initiation de la LAP par la dérégulation de la signalisation des récepteurs à l'acide rétinoïque. En effet, si les bases moléculaires de la rémission en réponse à l'acide rétinoïque ou l'arsenic sont maintenant très bien comprises, les mécanismes moléculaires sous-tendant *l'initiation* de la maladie restent insuffisamment explorés. Une revue de la littérature sur les translocations variantes a bien mis en exergue le rôle central des récepteurs à l'acide rétinoïque (RARA, le plus souvent, mais également RARB ou RARG) dans le déclenchement de la maladie. Néanmoins, les gènes cibles d'aval impliqués dans l'immortalisation restent inconnus et sont l'objet de recherches en cours.

PUBLICATIONS

Qiu F. et de Thé H., « An exciting RXRA mutant revives interest for retinoids in acute myeloid leukemia », *Haematologica*, vol. 107, n° 2, 2022, <https://doi.org/10.3324/haematol.2021.279152>.

Hleihel R., El Hajj H., Wu H.C., Berthier C., Zhu H.H., Massoud R., Chakkachiro Z., El Sabban M., de Thé H. et Bazarbachi A., « A Pin1/PML/P53 axis activated by retinoic acid in NPM-1c-acute myeloid leukemia », *Haematologica*, vol. 106, n° 12, 2021, p. 3090-3099, <https://doi.org/10.3324/haematol.2020.274878>.

Gionfriddo I., Brunetti L., Mezzasoma F., Milano F., Cardinali V., Ranieri R., Venanzi A., Pierangeli S., Vetro C., Spinazzi G., Dorillo E., Wu H.C., Berthier C., Ciurnelli R., Griffin M.J., Jennings C.E., Tiaci E., Sportoletti P., Falzetti F., de Thé H., Veal G.J., Martelli M.P. et Falini B., « Dactinomycin induces complete remission associated with nucleolar stress response in relapsed/refractory NPM1-mutated AML », *Leukemia*, vol. 35, n° 9, 2021, p. 2552-2562, <https://doi.org/10.1038/s41375-021-01192-7>.