

Phénomènes précoces dans la cancérogenèse du mésothéliome

Période : février 2010 à août 2010

Pascal ANDUJAR

Université Paris-Est Créteil – INSERM U955 Équipe 4 – Créteil

Mots clés : Altération, Amiante, Cancer, Cancérogenèse, Gène, Marqueur, Mésothéliome, Mort cellulaire

Les fibres d'amiante sont des agents cancérogènes connus pour donner des altérations génomiques et chromosomiques dans le mésothéliome pleural (MP) et dans le cancer broncho-pulmonaire (CBP), avec un effet synergique entre l'exposition antérieure à l'amiante et le tabagisme pour ce dernier. La cellule cancéreuse est caractérisée par une indépendance vis-à-vis des signaux stimulant la prolifération cellulaire, une insensibilité aux signaux anti-prolifératifs, une capacité proliférative illimitée, une abolition de l'apoptose⁽¹⁾, une capacité de susciter l'angiogenèse et l'acquisition d'un pouvoir invasif. L'instabilité génétique est une caractéristique de la cellule cancéreuse. Les déterminants de l'instabilité génétique sont en majorité liés à des mécanismes cellulaires fondamentaux, comme le contrôle du cycle cellulaire, la réplication ou la réparation de l'ADN protégés par des points de contrôle dont la cellule tumorale s'affranchit. À ces mécanismes s'ajoutent les altérations épigénétiques⁽²⁾ n'affectant pas directement l'intégrité du génome, mais elles peuvent en changer son fonctionnement en altérant l'expression des gènes affectés.

Une meilleure compréhension de ces phénomènes précoces de la cancérogenèse, comme les mécanismes de mort cellulaire et les altérations épigénétiques induits par l'amiante dans le MP et le CBP apparaît essentielle.

Il existe une corrélation globale entre les altérations épigénétiques et génétiques dans le mésothéliome pleural

Christensen BC, Houseman EA, Poage GM, Godleski JJ, Bueno R, Sugarbaker DJ, Wiencke JK, Nelson HH, Marsit CJ, Kelsey KT. Integrated profiling reveals a global correlation between epigenetic and genetic alterations in mesothelioma. *Cancer Res.* 2010; 70: 5686-5694

Analyse

Le développement du mésothéliome est principalement lié à une exposition antérieure à l'amiante, mais la contribution respective entre des altérations épigénétiques et génétiques reste mal connue dans la genèse de cette maladie. C'est pourquoi, les auteurs de l'article ont étudié les liens potentiels entre les altérations génétiques (nombre de copies de gènes) et épigénétiques (méthylation de l'ADN) dans le MP dans une série de 23 MP humains et de 18 plèvres pariétales non tumorales humaines. Les données obtenues à partir de deux puces pan-génomiques humaines, puce 500K SNP (Single Nucleotide Polymorphism) et puce de méthylation CpG ADN employées respectivement pour l'analyse des profils d'altérations du nombre de copies de gènes et pour l'analyse des profils de méthylation de l'ADN ont été croisées pour chaque patient.

Ont été retrouvées des pertes alléliques dans huit régions chromosomiques, notamment dans la région 9p21 chez 39 % (9/23) des cas de MP, et des gains alléliques dans quatre régions chromosomiques. Aucune association statistique n'a été observée dans les MP entre le nombre de copies des gènes et l'âge, le sexe, le type histologique ou le niveau d'exposition antérieure à l'amiante. De plus, aucune corrélation significative

n'a été observée entre le nombre de copies des gènes et la méthylation de l'ADN à l'intérieur d'un même locus chez un même individu. Cependant, une forte association globale entre le profil d'altération du nombre de copies de gènes et de méthylation de l'ADN dans les MP a été observée sans tenir compte des loci où les altérations étaient présentes. Cette association globale semble en partie être attribuable à une perte allélique d'un gène de réparation de l'ADN : l'ADN méthyltransférase (*DNMT1*) qui est retrouvée dans 30 % des MP et qui est associée de façon statistiquement significative avec la méthylation globale de l'ADN tumoral ($p < 0,05$). En revanche, aucune association n'a été observée avec d'autres gènes de réparation de l'ADN.

Commentaire

Les altérations épigénétiques, comme l'hyperméthylation d'une région promotrice d'un gène, occupent une place importante dans le processus initial de cancérogenèse, avec une altération durable de l'expression protéique. L'altération d'un gène peut résulter, par exemple, d'une inactivation par mutation génétique du premier allèle associée à l'hyperméthylation du promoteur de ce gène sur le second allèle. Cependant, la contribution relative des altérations génétiques et épigénétiques dans la cancérogenèse du MP et du CBP est encore mal connue. Il a été récemment montré qu'une exposition antérieure à l'amiante est associée à des profils spécifiques d'altérations génomiques et chromosomiques dans le MP et dans le CBP (Nymark *et al.*, 2009; Kettunen *et al.*, 2009; Andujar *et al.*, 2010). Dans le cas du gène suppresseur de tumeur *P16/CDKN2A* situé dans la région 9p21.3, celui-ci est altéré de façon préférentielle dans les CBP de sujets exposés à l'amiante et dans le MP par un mécanisme

de délétion, alors que dans les CBP de sujets fumeurs, il serait plutôt altéré par un mécanisme d'hyperméthylation des régions promotrices CpG du gène *P16/CDKN2A* (Andujar *et al.*, 2010; Altomare *et al.*, 2005; Lecomte *et al.*, 2005). Les auteurs de l'article vont dans ce sens avec une perte allélique de la région 9p21. Dans cet article, une forte association entre des altérations génétiques et épigénétiques a été observée de façon globale dans le génome de MP sans pouvoir pour autant observer de corrélation à l'échelle des loci, ce qui est le cas notamment pour le gène *P16/CDKN2A*. Ceci peut être expliqué, d'une part, par la faible prévalence de l'hyperméthylation dans le MP et, d'autre part, par un effectif faible de MP étudié ($n = 23$), alors qu'ils disposent des données sur la méthylation de l'ADN chez 128 MP obtenues dans une étude antérieure (Christensen *et al.*, 2009). Les auteurs montrent que l'altération du gène de réparation de l'ADN *DNMT1* semble expliquer, du moins en partie, l'association globale observée entre l'altération du nombre de copies des gènes et la méthylation de l'ADN. Cependant, récemment, une équipe italienne a observé *in vitro* dans des lignées cellulaires exposées à l'amiante une augmentation paradoxale de l'expression du gène *DNMT1* (Amatori *et al.*, 2009). En conclusion, l'altération du gène *DNMT1* semble être une voie de recherche très intéressante dans le MP et non étudiée encore dans les CBP liés à une exposition antérieure à l'amiante.

La nécrose cellulaire induite par l'amiante dans les cellules mésothéliales humaines provoque la libération de la protéine HMGB1 (high-mobility group box 1 protein) et une inflammation

Yang H, Rivera Z, Jube S, Nasu M, Bertino P, Goparaju C, Franzoso G, Lotze MT, Krausz T, Pass HI, Bianchi ME, Carbone M. Programmed necrosis induced by asbestos in human mesothelial cells causes high-mobility group box 1 protein release and resultant inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010; 107: 12611-12616.

Analyse

L'amiante est une fibre minérale naturelle mutagène et cancérogène à l'origine de tumeurs malignes respiratoires, telles que le mésothéliome et le cancer bronchique, mais il s'agit également d'une substance cytotoxique notamment pour les cellules mésothéliales, ce qui n'est pas habituel pour une substance cancérogène. Dans cette étude, les auteurs s'intéressent donc aux mécanismes moléculaires impliqués dans la mort cellulaire des cellules mésothéliales exposées à l'amiante *in vitro* et *in vivo*, afin d'explorer les liens potentiels entre la cancérogenèse et la cytotoxicité provoquées par l'amiante. Les auteurs ont tout d'abord étudié les mécanismes de mort cellulaire de cellules mésothéliales exposées à l'amiante dans une étude expérimentale *in vitro* sur des cultures primaires de cellules mésothéliales humaines exposées à des doses croissantes de crocidolite (0 à 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$). Ils ont montré que la mort cellulaire était indépendante de la voie des caspases⁽³⁾ et que celle-ci était,

en revanche, dépendante de l'enzyme nucléaire PARP (poly-ADP ribose (PAR) polymers), avec la translocation du noyau vers le cytoplasme de la protéine HMGB1 (high-mobility group box 1 protein), témoin d'un processus de nécrose cellulaire⁽⁴⁾, et de la libération de TNF- α par les macrophages, témoin d'une activité pro-inflammatoire. Une association spécifique semble exister entre la protéine HMGB1 et la pathogénie des maladies liées à l'amiante. En effet, l'étude expérimentale *in vivo*, chez 6 hamsters et 10 souris exposés par voie intrapéritonéale à des injections répétées de crocidolite pendant 10 semaines (4 mg au total) et chez 6 hamsters et 10 souris contrôles exposés à du sérum physiologique seul, a montré par immunohistochimie la présence, chez les animaux exposés, de la protéine HMGB1 et de la cytokine TNF- α dans le cytoplasme et le noyau des cellules mésothéliales et inflammatoires, ainsi que dans le milieu extracellulaire à proximité des dépôts d'amiante. Parallèlement, une association très significative a été observée entre la protéine HMGB1 sérique et l'exposition antérieure à l'amiante chez des 20 sujets exposés antérieurement à l'amiante, par rapport aux 20 sujets gros fumeurs et 20 sujets non fumeurs ($p < 0,0001$).

Commentaire

L'enzyme PARP a été longtemps considérée comme un marqueur de la réparation de l'ADN et d'apoptose. Récemment, il a été admis que les cellules exposées à des agents causant des dommages à l'ADN pouvaient prendre trois voies selon l'importance des dommages causés à l'ADN avec, de façon croissante: la réparation de l'ADN par activation de PARP, l'apoptose avec l'inactivation de PARP induite par la voie des caspases et une nécrose cellulaire par sur-activation de PARP induite par un stress oxydatif associé à une déplétion d'ATP. Les auteurs montrent que l'amiante induit, d'une part, une mort cellulaire des cellules mésothéliales par nécrose cellulaire et, d'autre part, la translocation de la protéine HMGB1 du noyau vers le cytoplasme et le milieu extra-cellulaire induisant la sécrétion macrophagique de TNF- α . La libération de la protéine HMGB1 semble donc être une étape précoce critique dans la pathogénie des pathologies liées à l'amiante. De plus, la protéine HMGB1 pourrait être candidate pour devenir un biomarqueur d'exposition à l'amiante.

CONCLUSION GÉNÉRALE

En conclusion, ces deux articles ouvrent de nouvelles perspectives dans la compréhension des mécanismes précoces impliqués dans la cancérogenèse des pathologies tumorales liées à une exposition à l'amiante, avec la mise en évidence de l'implication d'un gène de réparation de l'ADN *DNMT1* et la protéine HMGB1. Par ailleurs, les altérations des gènes *P16/CDKN2A* et *DNMT1* dans le MP et/ou dans le CBP liés à l'amiante, et la présence de la protéine HMGB1 pourraient être des candidats pour devenir de nouveaux biomarqueurs d'exposition à l'amiante voire d'aide au diagnostic, seuls ou en association avec d'autres biomarqueurs (Chung *et al.*, 2010; Takeda *et al.*, 2010).

Lexique

- (1) Apoptose : mort cellulaire programmée d'une cellule normale en situation de stress ou d'anomalie. Il s'agit d'un programme cellulaire actif d'auto-destruction. Ce programme de « suicide cellulaire » est activé pour éliminer sélectivement des cellules devenues indésirables.
- (2) Altérations épigénétiques : altérations affectant l'expression des gènes n'impliquant aucun changement de la séquence nucléotidiques de l'ADN (par exemple : méthylation de l'ADN ou acétylation des histones).
- (3) Voie des caspases : les caspases sont des protéines cytoplasmiques impliquées dans la réponse inflammatoire et particulièrement dans l'apoptose. Les caspases sont ainsi nommées car : le résidu catalytique est une Cystéine, elles coupent leurs substrats après un résidu ASPartate et ce sont des protéases. Le génome humain code pour 11 caspases.
- (4) Nécrose cellulaire : mort cellulaire accidentelle irréversible passive faisant suite à une souffrance cellulaire réversible.

Publications de référence

Altomare DA, Vaslet CA, Skele KL, et al. A mouse model recapitulating molecular features of human mesothelioma. *Cancer Res.* 2005; 65: 8090-8095.

Amatori S, Papalini F, Lazzarini R, et al. Decitabine, differently from DNMT1 silencing, exerts its antiproliferative activity through p21 upregulation in malignant pleural mesothelioma (MPM) cells. *Lung Cancer.* 2009; 2: 184-190.

Andujar P, Wang J, Descatha A, et al. p16INK4A inactivation mechanisms in non-small-cell lung cancer patients occupationally exposed to asbestos. *Lung Cancer.* 2010; 67: 23-30.

Christensen BC, Houseman EA, Godleski JJ, et al. Epigenetic profiles distinguish pleural mesothelioma from normal pleura and predict lung asbestos burden and clinical outcome. *Cancer Res.* 2009; 69: 227-234.

Chung T-S C, Da Cunha Santos G, Hwang DM, et al. FISH assay development for the detection of p16/CDKN2A deletion in malignant pleural mesothelioma. *J Clin Pathol* 2010; 63:630-634.

Hodgson JT, McElvenny DM, Darnton AJ, et al. The expected burden of mesothelioma mortality in Great Britain from 2002 to 2050. *Br J Cancer.* 2005; 92: 587-593.

Kettunen E, Aavikko M, Nymark P, et al. DNA copy number loss and allelic imbalance at 2p16 in lung cancer associated with asbestos exposure. *Br J Cancer.* 2009; 100: 1336-1342.

Lecomte C, Andujar P, Renier A, et al. Similar tumor suppressor gene alteration profiles in asbestos-induced murine and human mesothelioma. *Cell Cycle.* 2005; 4: 1862-1869.

Nymark P, Kettunen E, Aavikko M, et al. Molecular alterations at 9q33.1 and polyploidy in asbestos-related lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2009; 15: 468-475.

Peto J, Hodgson JT, Matthews FE, et al. Continuing increase in mesothelioma mortality in Britain. *Lancet.* 1995; 345: 535-539.

Takeda M, Kasai T, Enomoto Y, et al. 9p21 deletion in the diagnosis of malignant mesothelioma, using fluorescence *in situ* hybridization analysis. *Pathol Int.* 2010; 60: 395-399.

Revue de la littérature

Brody AR. Asbestos and lung disease. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2010; 42: 131-132.

Heintz NH, Janssen-Heininger YM, Mossman BT. Asbestos, lung cancers, and mesotheliomas: from molecular approaches to targeting tumor survival pathways. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2010; 42: 133-139.

Sekido Y. Genomic abnormalities and signal transduction dysregulation in malignant mesothelioma cells. *Cancer Sci.* 2010; 101: 1-6.

Autres publications identifiées

Hu Q, Akatsuka S, Yamashita Y, et al. Homozygous deletion of CDKN2A/2B is a hallmark of iron-induced high-grade rat mesothelioma. *Lab Invest.* 2010; 90: 360-373.

Les auteurs retrouvent dans cet article une délétion homozygote du gène P16/CDKN2A qu'ils attribuent au stress oxydatif induit par la présence de fer dans un modèle de rats d'induction par le fer de mésothéliomes péritonéaux. Ce modèle animal semble intéressant, car il explore l'implication du fer et du stress oxydant dans la genèse du mésothéliome. Cependant, du point de vue méthodologique, le nombre de mésothéliomes comportant une délétion de P16/CDKN2A est particulièrement faible (4/11) et est observé uniquement dans les mésothéliomes sarcomatoïdes. Le fer ne peut donc expliquer à lui seul qu'une partie de la cancérogenèse dans le mésothéliome.

Goldberg S, Rey G, Luce D, et al. Possible effect of environmental exposure to asbestos on geographical variation in mesothelioma rates. *Occup Environ Med.* 2010; 67: 417-421.

Cette étude épidémiologique française est très intéressante, car elle montre, en reprenant les données de mortalité et d'incidence des mésothéliomes, que les cas de mésothéliomes sans identification d'une exposition à l'amianté chez la femme surviennent dans les mêmes zones géographiques que les cas de mésothéliomes exposés, laissant ainsi suggérer qu'il s'agit d'exposition environnementale à l'amianté.

Tan E, Warren N, Darnton AJ, et al. Projection of mesothelioma mortality in Britain using Bayesian methods. *Br J Cancer.* 2010; 103: 430-436.

Les auteurs prévoient à l'aide d'un modèle de Bayésien un pic des décès par mésothéliome en Grande-Bretagne d'environ 2040 morts en 2016 chez les hommes (1700 décès enregistrés chez les hommes en 2006) avec un rapide déclin ensuite. Au total, environ 91000 décès seraient attribuables à l'amianté entre 1968 et 2050 en Grande-Bretagne. Ces nouvelles données vont sensiblement dans le sens que l'article publié en 2005 par cette même équipe qui prévoyait un pic entre 2011 et 2015 avec un nombre de décès cumulés d'environ 90000 entre 1968 et 2050 (Hogdson et al., 2005) et en 2020 dans une publication antérieure (Peto et al., 1995). En revanche, les données du présent article montrent que le nombre de décès enregistrés chez les hommes en 2006 (n = 1700) est supérieur à celui initialement attendu en 1995, avec à l'époque environ 1300 décès en 2010 chez les hommes.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Asbestos, Cancer, Fiber, Mesothelioma, Mineral.