

La fonction de TP53

Facteur prédictif majeur de la réponse à une chimiothérapie dose-intense dans le cancer du sein

Jacqueline Lehmann-Che, Elisabeth Turpin, Philippe Bertheau, Marc Espié, Hugues de Thé

J. Lehmann-Che, E. Turpin, H. de Thé : Service de Biochimie et CNRS/ Université Paris VII UMR7151.
 P. Bertheau : Laboratoire de Pathologie et Inserm/Université Paris VII U728.
 M. Espié : Centre des maladies du sein, Assistance Publique/Hôpitaux de Paris. Hôpital Saint Louis, 1, avenue Claude Vellefaux, 75475 Paris Cedex 10, France.
jacqueline.lehmann-che@sls.aphp.fr



> Il apparaît maintenant clairement que le cancer du sein est constitué de pathologies hétérogènes. Les études de transcriptome de Perou et Sorlie [1, 2] ont permis de définir, au niveau transcriptionnel, 5 phénotypes tumoraux différents. Cette hétérogénéité suggère que les thérapeutiques puissent ne pas être uniformes, mais adaptées à chaque type de tumeur. Seulement 20 % des patientes traitées par chimiothérapie première présentent une réponse histologique complète, qui prédit fortement la survie à long terme. Il est donc nécessaire de définir des marqueurs prédictifs de réponse aux différentes chimiothérapies proposées, dans le contexte des différentes tumeurs, afin d'adapter au mieux le traitement à chaque tumeur.

Le gène *TP53* est un gène suppresseur de tumeur impliqué dans le développement de nombreux cancers humains et qui joue un rôle majeur dans la réponse au stress. La protéine TP53 est un facteur de transcription qui contrôle l'expression de nombreux gènes impliqués dans l'apoptose et la régulation du cycle cellulaire. Dans les modèles animaux ou les lignées cellulaires, TP53 joue un rôle clé dans la réponse aux agents génotoxiques, en particulier les anti-cancéreux [3, 4]. L'inactivation de TP53 pourrait accroître ainsi une sensibilité à certains agents et une résistance à d'autres. En clinique humaine, ce rôle de TP53 reste encore controversé.

Nous avons recherché une relation entre la réponse à la chimiothérapie

et le statut TP53 dans une cohorte de 80 patientes atteintes de cancers du sein localement avancés non inflammatoires, traités par chimiothérapie néoadjuvante dose-intense (épirubicine 75 mg/m² et cyclophosphamide 1 200 mg/m² tous les 14 j) [5, 6]. Le statut TP53 est déterminé sur la biopsie de diagnostic, avant chimiothérapie, par le test fonctionnel FASAY [7]. Ce test consiste à faire exprimer l'ADNc de *TP53*, obtenu à partir des ARN extraits de la tumeur, dans une levure dépendante de TP53 pour une voie métaboli-

que majeure. L'absence de fonctionnalité de TP53 se traduit par le blocage de cette voie métabolique et l'apparition de colonies rouges. Ce test permet de détecter 90 % des mutations décrites (mutations faux-sens, non-sens, délétion/insertion, erreurs d'épissage) avec une sensibilité telle que 15 % de cellules mutées sont détectables. La réponse histologique est évaluée, après chimiothérapie, sur la pièce d'exérèse chirurgicale et définie comme complète lorsqu'il n'existe plus de foyer tumoral infiltrant.

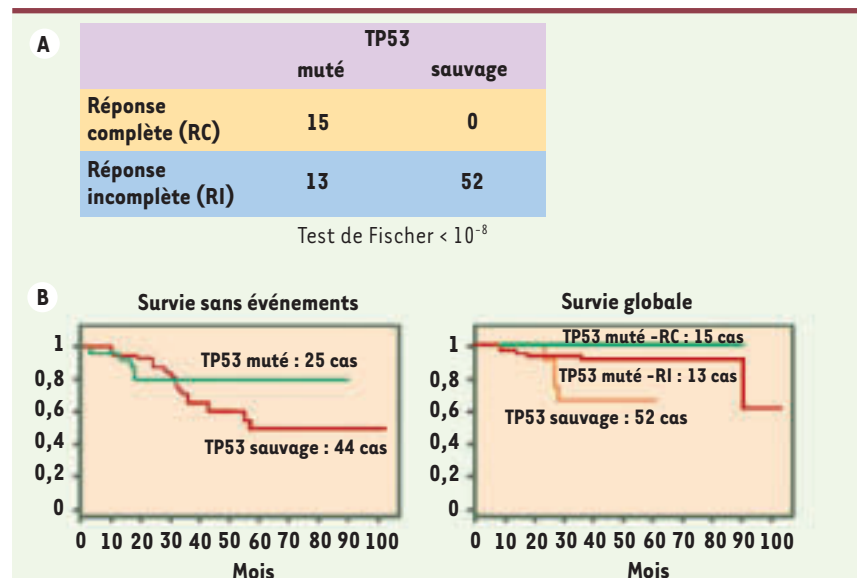


Figure 1. A. Distribution de la réponse pathologique à la chimiothérapie dose-intense épirubicine (75 mg/m²) -cyclophosphamide (1 200 mg/m²) tous les 14 jours, selon le statut TP53 (80 patientes). La valeur du p du test de comparaison χ^2 est indiquée. B. Courbes de survie sans événement selon le statut TP53. Notez que les 5 rechutes dans le groupe TP53 muté ont lieu précocement, dans les 18 premiers mois. Courbe de survie globale selon le statut TP53 sauvage, TP53 muté répondeur (RC) ou TP53 muté non répondeur (RI).

Le statut TP53 est fortement lié à la réponse à la chimiothérapie

L'analyse de cette cohorte montre que les réponses histologiques complètes (RC) sont exclusivement observées dans le groupe des tumeurs mutées pour le gène *TP53* (Figure 1A) ($p < 10^{-8}$). Cependant, le statut *TP53* muté est fortement associé à des tumeurs ne surexprimant pas le récepteur des œstrogènes (ESR1neg) et de haut grade. Le statut ESR1 pourrait donc être un facteur confondant, d'autant plus qu'il a été rapporté que les tumeurs surexprimant ESR1 (ESR1pos) sont beaucoup plus résistantes à la chimiothérapie. Nous avons donc analysé la distribution des 80 tumeurs en fonction de ces données (âge, stade et grade tumoral, statut TP53, expression d'ESR1, des cytokératines basales [KRT5/6 ou 17] d'ERBB2 [HER-2, c-erb B2] et CDKN2A). Le grade, ESR1, KRT5/6 ou 17 et CDKN2A sont fortement associés à la réponse, mais le statut TP53 reste significativement associé à la réponse, quelle que soit la stratification, alors que tous les autres facteurs perdent leur valeur significative, si l'on stratifie sur le

statut TP53. Ainsi, la fonctionnalité TP53, et dans une moindre mesure les cytokératines, sont les seuls facteurs prédictifs de la réponse complète à cette chimiothérapie dose-intense.

Le statut TP53 et la survie

Les patientes présentant une tumeur mutée *TP53* ont une meilleure survie sans événement que celles ayant une tumeur *TP53* sauvage (Figure 1B). La différence observée n'est, cependant, pas statistiquement significative, compte tenu de la durée du suivi. Les patientes présentant une tumeur *TP53* sauvage, malgré l'absence de réponse complète, ont également une bonne survie. Parmi les 15 tumeurs répondeuses, 9 sont de type basal, l'un des types définis par les analyses du transcriptome, caractérisé ici par la surexpression de KRT5/6 ou 17. Ces données sont inattendues et importantes puisque les tumeurs mutées *TP53*, et particulièrement le sous-type basal, sont classiquement considérées de très mauvais pronostic. Il semble donc que cette chimiothérapie dose-intense soit particulièrement adaptée aux tumeurs *TP53* muté de type basal.

Existe-il une signature moléculaire de la réponse complète ?

Afin de mieux caractériser les tumeurs répondeuses, nous avons analysé le transcriptome de 37 des 80 tumeurs. Après classification hiérarchique, nous avons retrouvé les grands groupes de tumeurs du sein initialement décrits. Nous avons également pu définir un certain nombre de gènes associés au statut *TP53* muté, cette signature ne reflétant pas uniquement le statut ESR1neg. En revanche, parmi les tumeurs mutées *TP53*, nous n'avons pas retrouvé de signature différenciant les tumeurs répondeuses des non-répondeuses.

Ainsi, le statut tumoral *TP53* muté constitue un facteur prédictif majeur de la réponse complète à cette chimiothérapie dose-intense épiburicine-cyclophosphamide dans les cancers du sein non inflammatoires. L'originalité de ce travail est d'avoir établi le statut TP53 à l'aide d'un test fonctionnel et d'avoir évalué une chimiothérapie très agressive en situation néoadjuvante, permettant l'analyse objective de la réponse. Il semble que cette chimiothérapie, véritable exception française, puisse être la plus adéquate pour un certain nombre de patientes jusque-là considérées de mauvais pronostic. Ces données accréditent l'hypothèse selon laquelle les lésions géniques induites par les anthracyclines n'activent pas la voie de l'apoptose via TP53 mais plutôt l'arrêt de cycle. Si TP53 est fonctionnelle, l'arrêt de cycle induit par l'épirubicine empêche l'action du cyclophosphamide, actif uniquement sur les cellules en cycle, créant un antagonisme fonctionnel entre ces deux agents. En revanche, lorsque TP53 n'est pas fonctionnelle, le cyclophosphamide peut agir et la conjonction des deux drogues induit des catastrophes mitotiques assurant une réponse tumorale complète (Figure 2). Cette implication du statut TP53 dans la chimiorésistance a également pu être démontrée, récemment, dans le cancer de l'ovaire [8].

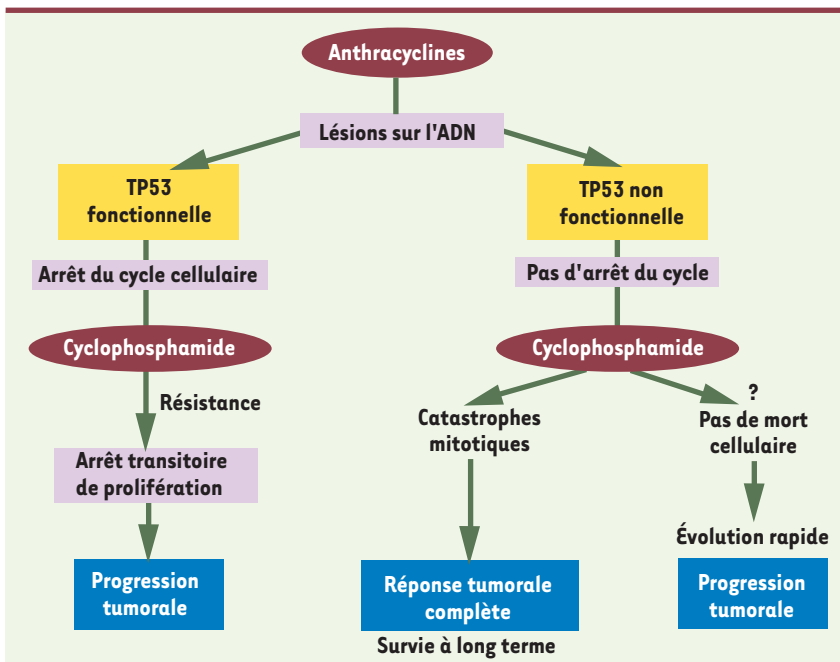


Figure 2. Modèle de mécanisme d'action proposé pour la chimiothérapie épiburicine-cyclophosphamide dose-intense dans les cancers du sein non inflammatoires selon le statut TP53 (détail dans le texte).



Ces résultats constituent une première illustration du rôle des facteurs moléculaires dans la réponse des tumeurs solides aux traitements. Reste maintenant à comprendre pourquoi 50 % des tumeurs mutées *TP53* demeurent résistantes au traitement. ♦

Exquisite sensitivity of TP53 mutant breast cancers to dose-dense chemotherapy

RÉFÉRENCES

1. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 10869-74.
2. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000 ; 406 : 747-52.
3. Bunz F, Hwang PM, Torrance C, et al. Disruption of p53 in human cancer cells alters the responses to therapeutic agents. *J Clin Invest* 1999 ; 104 : 263-9.
4. Lowe SW, Cepero E, Evan G. Intrinsic tumour suppression. *Nature* 2004 ; 432 : 307-15.
5. Bertheau P, Plassa F, Espie M, et al. Effect of mutated TP53 on response of advanced breast cancers to high-dose chemotherapy. *Lancet* 2002 ; 360 : 852-4.
6. Bertheau P, Turpin E, Rickman DS, et al. Exquisite sensitivity of TP53 mutant and basal breast cancers to a dose-dense epirubicin-cyclophosphamide regimen. *PLoS Med* 2007 ; 4 : e90.
7. Flaman JM, Frebourg T, Moreau V, et al. A simple p53 functional assay for screening cell lines, blood, and tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995 ; 92 : 3963-7.
8. Moreno CS, Matyunina L, Dickerson EB, et al. Evidence that p53-mediated cell-cycle-arrest inhibits chemotherapeutic treatment of ovarian carcinomas. *PLoS One* 2007 ; 2 : e441.

NOUVELLE

La GHRH et le PACAP font route séparément depuis plus longtemps qu'on ne l'imaginait

Hervé Tostivint, Billy K.C. Chow, Hubert Vaudry

H. Tostivint, H. Vaudry : Inserm U413, Laboratoire de Neuroendocrinologie Cellulaire et Moléculaire, F-76821 Mont-Saint-Aignan, France ; Institut Fédératif de Recherches Multidisciplinaires sur les Peptides n°23, Université de Rouen, F-76821 Mont-Saint-Aignan, France.
B.K.C. Chow : Departments of Zoology and Chemistry, University of Hong Kong, Pokfulam Road, Hong Kong, China. hubert.vaudry@univ-rouen.fr

> Chez les mammifères, la *growth hormone-releasing hormone* (GHRH) est le principal facteur stimulateur de la sécrétion de l'hormone de croissance (GH) [1]. La GHRH appartient à une grande famille de peptides qui inclut également la sécrétine, le glucagon, le *vasoactive intestinal polypeptide* (VIP), le *glucose-dependent insulinotropic polypeptide* (GIP), les *glucagon-like peptides* (GLP) et le *pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide* (PACAP) [2]. La caractérisation des ADNc de la GHRH et du PACAP chez les mammifères a montré que chacun de leur précurseur comporte un second peptide disposé en tandem : peptide C pour le précurseur de la GHRH et *PACAP-related peptide* (PRP) pour le précurseur du PACAP (Figure 1A). L'ADNc du PACAP a été cloné ultérieurement chez les oiseaux, les amphibiens, les poissons et même les tuniciers¹ [2]. En revanche, jusqu'à tout récemment, aucun ADNc codant la GHRH n'avait pu être identifié chez

les espèces non mammaliennes, ce qui laissait supposer que le gène de la GHRH était l'apanage des mammifères [2, 3].

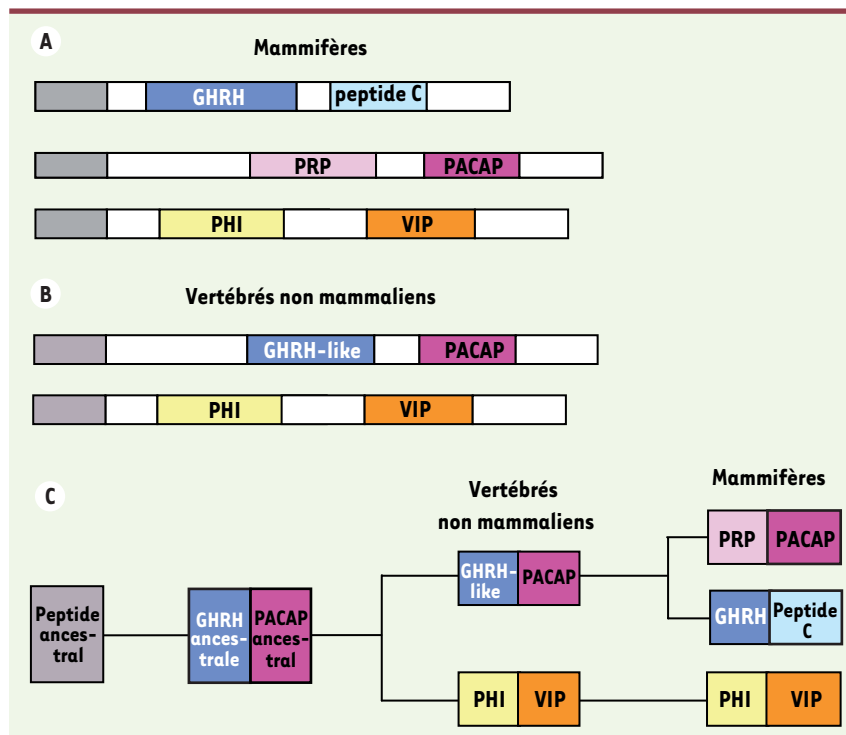


Figure 1. Structure des précurseurs de la GHRH, du PACAP et du VIP chez les mammifères (A) et chez les vertébrés non mammaliens (B), telle qu'elle était considérée jusqu'à présent. C. Schéma évolutif des gènes correspondants, déduit de ces données.

¹ Encore appelés urochordés, sous-embranchement des chordés qui remonte à 530 millions d'années.