

Le rituximab dans le traitement du lymphome diffus à grandes cellules B

L'expression de la sous-unité CACNA1C du canal Cav 1.2 liée à certaines formes de résistance

Sonia Bouabdallah¹, Mohamed Lamine Mariko¹, Jeremy Besson¹, Olivier Dellis²

¹M1 Biologie Santé, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay, France.

²Inserm U1193 Physiopathologie et traitement des maladies du foie, Université Paris-Saclay, France.

sonia.bouabdallah@universite-paris-saclay.fr

jeremy.besson@universite-paris-saclay.fr

mohamed.mariko@universite-paris-saclay.fr

olivier.dellis@universite-paris-saclay.fr

> Les lymphomes non hodgkiniens (LNH) constituent un ensemble de maladies touchant le système immunitaire à cause d'une prolifération anormale de lymphocytes B (LB) ou lymphocytes T (LT) [1]. Parmi les LNH, le lymphome diffus à grandes cellules B (DLBCL), qui a une origine B, est le plus courant chez l'adulte et touche généralement des individus âgés. La première ligne de traitement standard pour le DLBCL consiste en une combinaison de chimiothérapies (CHOP) associées au rituximab, un anticorps monoclonal thérapeutique anti-CD20, et porte le nom de protocole R-CHOP [2]¹. Ce dernier induit la mort cellulaire des LB tumoraux par 3 mécanismes [3]: cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC), cytotoxicité dépendante du complément (CDC) et induction d'une signalisation apoptotique (Figure 1A). Le mécanisme de signalisation directe de l'apoptose est lié à la liaison du RTX à sa cible, le CD20, une phosphoprotéine glycosylée membranaire exprimée par les lymphocytes B à tous les stades de différenciation des LB (à l'exception des précurseurs B et des plasmocytes) et impliquée dans la régulation des trans-

ports calciques transmembranaires. La fixation de l'anticorps induit une redistribution des molécules CD20 au niveau des radeaux lipidiques, phénomène menant à l'apoptose de la cellule [4]. En effet, cette redistribution permet à la fois d'inhiber l'expression de gènes anti-apoptotiques (Bcl-2, Bcl-xl) et d'augmenter le flux calcique intracellulaire qui *in fine* engendre l'apoptose des cellules (Figure 1A). Les lymphomes B, comme les lymphocytes B non tumoraux, expriment un large éventail de canaux ioniques, y compris des canaux calciques voltage-dépendants (Cav). Ces canaux calciques sont constitués de 5 sous-unités : $\alpha 1$, $\alpha 2/\delta$, β et γ , la sous-unité α formant le pore du canal, les autres ayant une fonction régulatrice. Selon leurs propriétés cinétiques et pharmacologiques, les canaux Cav sont répartis en plusieurs familles, dont celle des canaux de type-L. Parmi les canaux de type L, la sous-unité α peut être codée par plusieurs gènes différents (ajoutant de la diversité au sein de ces canaux), dont le CACNA1C (*calcium voltage-gated channel subunit alpha 1C*) pour la sous-unité $\alpha 1C$. L'association de la sous-unité $\alpha 1C$ avec les autres sous-unités forme le canal Cav1.2, qui est exprimé dans les lymphocytes B et participe à l'influx calcique. L'expression du gène CACNA1C est donc un marqueur à prendre en compte dans le DLBCL et peut orienter *in fine* sa prise en charge.

Suite à l'addition du RTX au protocole CHOP de chimiothérapie (R-CHOP), la survie globale des patients DLBCL s'est significativement améliorée [5]. Cependant, 30 à 40 % des patients atteints de DLBCL ont une réponse insuffisante au protocole R-CHOP et la résistance au RTX jouerait un rôle essentiel dans l'échec du traitement R-CHOP. Zang *et al.* ont donc étudié le rôle potentiel des canaux calciques Cav1.2 dans la résistance au RTX [6].

Mécanisme d'action du RTX via la sous-unité $\alpha 1C$ du canal Cav1.2

Le récepteur CD20, qui est présent à tous les stades de différenciation des LB à l'exception des précurseurs B et des plasmocytes [7-8], participe à la régulation des transports calciques transmembranaires, ce qui en fait une cible dans le traitement au RTX. Comme stipulé précédemment, le mécanisme d'induction directe de l'apoptose est lié à la liaison du RTX à sa cible, le CD20, qui induit une redistribution de celle-ci au niveau des radeaux lipidiques. Dans l'étude menée par Zang *et al.*, les auteurs ont mis en évidence que la baisse de l'expression de la sous-unité $\alpha 1C$ par l'utilisation d'ARN interférents, réduit l'apoptose induite par le RTX dans deux lignées de DLBCL. De plus, après 12 h de traitement au RTX, il est possible d'observer une co-localisation de CD20 et de la sous-unité $\alpha 1C$

¹ Le protocole R-CHOP comprend l'administration de 5 médicaments : un agent alkylant (cyclophosphamide) ; un antibiotique (doxorubicine) ; un inhibiteur de la polymérisation des microtubules lors de la mitose (vincristine) ; un corticostéroïde (prédnisone) et un anticorps anti-CD20 : le rituximab (RTX).

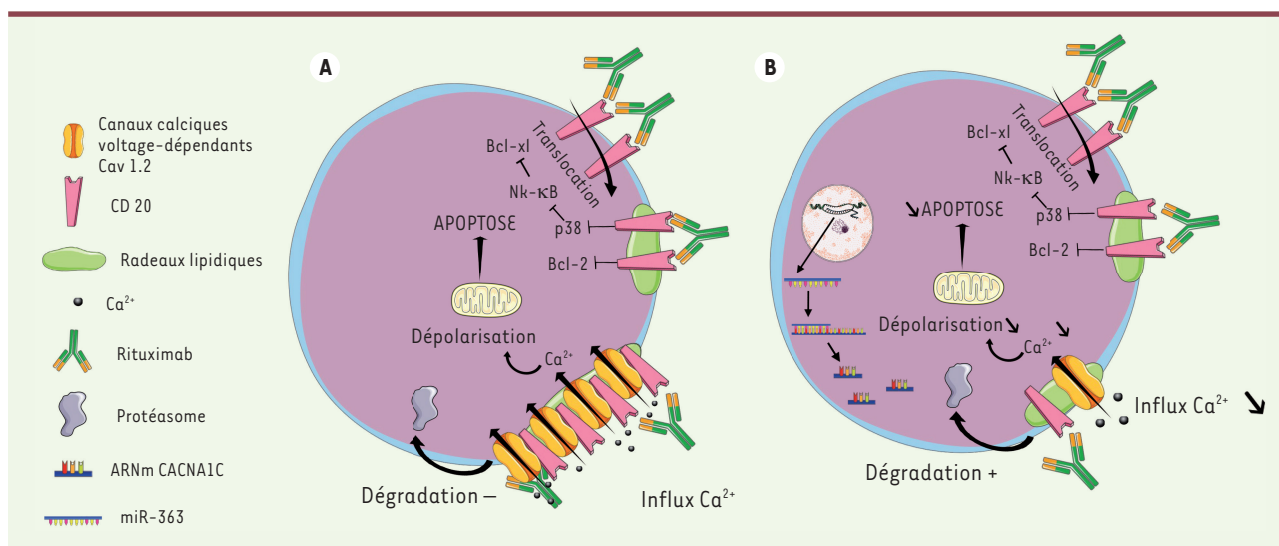


Figure 1. Mécanisme d'action du rituximab et résistance des LB tumoraux à son action. **A.** Le rituximab provoque la mort cellulaire en induisant l'interaction entre la molécule CD20 et le canal calcique voltage-dépendant Cav1.2 au niveau des radeaux lipidiques conduisant ainsi à un plus grand influx calcique permettant l'apoptose. **B.** La résistance au rituximab est induite par une faible expression de canaux calciques voltage-dépendants à la membrane et par conséquent un plus faible influx calcique. Cette faible expression est due à l'ARN interférent miR-363 qui cible l'ARNm de la sous-unité CACNA1C du canal.

au niveau des radeaux lipidiques de la membrane plasmique des LB tumoraux. Il est aussi à noter que des ARN interférents dirigés contre la sous-unité $\alpha 1C$ entraînent une baisse de l'expression de CD20, sans modifier l'expression de son transcrite. Lorsque les auteurs ont alors inhibé le protéasome par du bortezomib, l'expression de CD20 était restaurée, démontrant que la sous-unité $\alpha 1C$ joue un rôle dans la stabilité de ce récepteur membranaire, contribuant ainsi indirectement à l'efficacité du RTX. Les auteurs ont également analysé dans la même étude le lien entre la sensibilité des cellules tumorales à l'apoptose induite par le RTX et les variations de flux calcique dans les cellules.

Comme il n'existe pas d'effecteurs spécifiques du canal Cav1.2, les auteurs ont mesuré les variations de calcium cytosolique induite par le RTX en présence d'un agoniste (BayK8644) ou d'un antagoniste (nimodipine) des canaux de type L, dont fait partie Cav1.2. C'est ainsi que le BayK8644 potentialise les entrées de calcium, alors que la nimodipine les inhibe,

démontrant le rôle des canaux de type L dans les effets du RTX. Parallèlement, l'apoptose induite par RTX dans les cellules de deux lignées DLBCL était augmentée en présence de BayK8644, et réduite en présence de nimodipine. Dans le modèle de souris DLBCL, PDX, seul le BayK8644 est capable de renforcer les effets du RTX avec une réduction accrue de la taille des tumeurs induite par le RTX. Ces résultats démontrent donc que la sensibilité et l'efficacité au traitement par RTX peut être modulée par action sur le flux calcique via le canal Cav1.2.

MiR-363 régule l'expression de la sous-unité $\alpha 1C$ du canal Cav1.2

In silico, les auteurs ont ensuite montré que la sous-unité $\alpha 1C$ est la cible de miR-363, un micro-RNA connu pour jouer un rôle dans certains cancers. En plaçant le gène codant la luciférase derrière la partie 3'-UTR du gène CACNA1C, ils ont pu observer une inhibition de l'activité de la luciférase dans les cellules cotransfectées avec miR-363, inhibition qui pouvait être levée en mutant la région 3'-UTR. De plus,

quand miR-363 est exprimé par des cellules de lignées de DLBCL, l'expression de la sous-unité $\alpha 1C$ est réduite, ainsi que celle du CD20, ce qui inhibe très fortement l'apoptose induite par le RTX. Inversement, l'utilisation de la technique CRISPR-Cas9 dans les cellules d'une lignée DLBCL pour éliminer le locus miR-363, induit une augmentation de l'expression de la sous-unité $\alpha 1C$ du canal Cav1.2, ainsi que celle de l'apoptose induite par le RTX. Il est à noter que des études précédentes avaient montré que des patients DLBCL résistants au traitement R-CHOP ont une forte expression de miR-363. Ainsi, la capacité de miR-363 à réduire l'expression de la sous-unité $\alpha 1C$ du canal Cav1.2 pourrait jouer un rôle dans la résistance au traitement R-CHOP.

Conclusion

L'ajout du RTX au protocole CHOP a amélioré significativement la survie des patients atteints de DLBCL, même si une partie des patients ont un mauvais pronostic malgré cette amélioration thérapeutique. Dans l'article de Zhang *et al.*, les auteurs ont montré que l'action

du RTX permet l'induction de l'apoptose dans les lymphocytes B tumoraux en augmentant le flux calcique à travers les canaux Cav1.2. De plus, la résistance au RTX pourrait avoir deux origines : 1) une faible expression de la sous-unité $\alpha 1C$ du canal Cav1.2 codée par le gène CACNA1C ; 2) une surexpression de miR-363 qui réduit l'expression de la sous-unité $\alpha 1C$. Le miR-363 pourrait donc servir de biomarqueur prédictif de la résistance au traitement R-CHOP, mais aussi de cible thérapeutique. \diamond

Rituximab in the treatment of diffuse large B-cell lymphoma: The CACNA1C subunit of channel Cav1.2 expression linked to certain forms of resistance

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Li S, Young KH, Medeiros LJ. Diffuse large B-cell lymphoma. *Pathology* 2018 ; 50 : 74-87.
2. Wåsterlid T, Harrysson S, Andersson TM, et al. Outcome and determinants of failure to complete primary R-CHOP treatment for reasons other than non-response among patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Hematol* 2020 ; 95 : 740-8.
3. Smith MR. Rituximab (monoclonal anti-CD20 antibody): mechanisms of action and resistance. *Oncogene* 2003 ; 22 : 7359-68.
4. Janas E, Priest R, Wilde JI, et al. Rituxan (anti-CD20 antibody)-induced translocation of CD20 into lipid rafts is crucial for calcium influx and apoptosis. *Clin Exp Immunol* 2005 ; 139 : 439-46.
5. Coiffier B, Thieblemont C, Van Den Neste E, et al. Long-term outcome of patients in the LNH-98.5 trial, the first randomized study comparing rituximab-CHOP to standard CHOP chemotherapy in DLBCL patients: a study by the Groupe d'Études des Lymphomes de l'Adulte. *Blood* 2010 ; 116 : 2040-5.
6. Zhang JY, Zhang PP, Zhou WP, et al. L-type Cav 1.2 calcium channel- α -1C regulates response to rituximab in diffuse large B-cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 2019 ; 25 : 4168-78.
7. Babiker HM, Glode AE, Cooke LS, Mahadevan D. Ublituximab for the treatment of CD20 positive B-cell malignancies. *Expert Opin Investig Drugs* 2018 ; 27 : 407-12.
8. Payandeh Z, Bahrami AA, Hoseinpour R, et al. The applications of anti-CD20 antibodies to treat various B cells disorders. *Biomed Pharmacother* 2019 ; 109 : 2415-26.

NOUVELLE

La protéine RREB1 intègre la signalisation du TGF- β et de RAS pour induire une transition épithélio-mésenchymateuse dépendant du contexte cellulaire

Amandine Antoine¹, Anissa Bourouis¹, Marylou Winder Bottelli¹, Michel Lepoivre²

¹M1 Biologie Santé, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay, France.

²Stress oxydant, protéines fer-soufre et cancer, ICSN, CNRS, UPR 2301, Université Paris-Saclay, 91198 Gif-sur-Yvette, France.

amandine.antoine@universite-paris-saclay.fr

anissa.bourouis17@gmail.com

marylou.winder-bottelli@universite-paris-saclay.fr

michel.lepoivre@u-psud.fr

La transition épithélio-mésenchymateuse et les voies de signalisation associées

La transition épithélio-mésenchymateuse est un processus morphogénétique qui permet à des cellules épithéliales d'acquies un phénotype mésenchymateux de manière transitoire et réversible. Elle est associée à une perte des jonctions intercellulaires et de l'adhérence de ces cellules à la lame basale. La transition épithélio-mésenchymateuse se caractérise par l'acquisition d'une capacité migratoire et de résistance à l'apoptose, ainsi que par la production accrue

des composants de la matrice extracellulaire. Elle est déclenchée par des facteurs de signalisation pléiotropes induisant l'expression de facteurs de transcription tels que SNAIL, ZEB et TWIST, qui modifient l'expression de protéines spécifiques à la surface cellulaire, comme les cadhérines [1, 2].

Des transitions épithélio-mésenchymateuses se produisent au cours du développement embryonnaire, au cours de la cicatrisation, de la régénération et de la fibrose tissulaires, et au cours de la dissémination métastatique des cancers [1]. Bien que ces trois formes

de transition épithélio-mésenchymateuse représentent des phénomènes biologiquement différents, elles impliquent un ensemble de mécanismes génétiques et biochimiques communs qui permettent la mise en place de programmes phénotypiques divers en fonction du contexte biologique. Le *transforming growth factor β* (TFG- β), un facteur de croissance impliqué dans l'embryogenèse et l'homéostasie des tissus, est l'un des plus puissants inducteurs de la transition épithélio-mésenchymateuse [3]. La liaison du TFG- β à son récepteur, le complexe TFG- β receptor I/II (TGF β RI/II), déclenche une cascade de signalisation