

Communiqué de presse, 9 septembre 2002

## Cancer du côlon

# Découverte d'une nouvelle voie de développement tumoral grâce à un modèle transgénique original

Le cancer se développe à partir d'une seule cellule endommagée suite à l'accumulation d'erreurs génétiques dans plusieurs de ses gènes. La nature des altérations mais aussi l'ordre de leur survenue sont distinctes d'un cancer à l'autre : il existe ainsi plusieurs "chemins" susceptibles de conduire au cancer.

Des chercheurs du CNRS et de l'INSERM à l'Institut Curie viennent de découvrir une nouvelle voie de développement tumoral dans le cancer du côlon, l'une des tumeurs les plus fréquentes (35 000 nouveaux cas par an en France).

Cette voie totalement indépendante du gène *APC*, que l'on associe généralement à ce cancer, fait intervenir une mutation du gène *k-ras*.

Ces travaux sont présentés dans la revue *Gastroenterology* d'août 2002.

Le cancer est une maladie du fonctionnement même de nos cellules qui, progressivement, perdent le contrôle de leur prolifération, deviennent immortelles et se développent de manière anarchique dans l'organisme.

Le point de départ de ce processus est l'altération du matériel génétique d'une cellule. Toutes les mutations ne sont toutefois pas susceptibles d'entraîner la formation d'un cancer. Un des gènes qui régulent les processus vitaux de la cellule (division, différenciation, apoptose ou réparation) doit être "touché". Une seule mutation n'est en outre pas suffisante pour transformer une cellule saine en cellule cancéreuse. Le cancer résulte d'une succession d'accidents génétiques.

### Mutations et cancer

Ainsi, le développement tumoral nécessite conjointement l'**activation d'un oncogène**<sup>\*1</sup>, donnant lieu à une prolifération incontrôlée de la cellule, et l'**inactivation d'un gène suppresseur de tumeur**<sup>\*</sup> qui déjoue la destruction des cellules endommagées par apoptose<sup>\*</sup>.

Afin de mieux comprendre ce processus long et extrêmement complexe mais aussi ouvrir de nouvelles voies thérapeutiques, il est crucial d'élucider les diverses étapes de la progression tumorale, depuis la mutation initiale jusqu'à la tumeur.

En analysant les tumeurs du côlon d'un point de vue moléculaire, plusieurs gènes impliqués dans la progression tumorale ont déjà pu être mis en évidence :

- le gène *APC* (*Adenomatous Polyposis Coli*), dont la fonction est mal comprise, muté dans 80 % des cancers du côlon ;
- l'oncogène *k-ras*, acteur de la prolifération cellulaire, muté dans 50 % des cancers coliques ;
- le gène *DCC* (*Deleted in Colon Carcinoma*), codant pour une protéine transmembranaire, altéré dans 70 % des tumeurs coliques ;
- le gène suppresseur de tumeur *p53*, acteur clé de l'apoptose, muté dans 70 % des cancers du côlon.

Si des doutes demeurent quant à l'ordre chronologique de survenue des mutations, l'altération du gène *APC* est souvent décrite comme initiatrice de la cancérogenèse : une fois muté, il déclencherait la prolifération excessive des cellules, ce qui marquerait le début du développement tumoral.

L'équipe "**Morphogenèse et signalisation cellulaires**" dirigée par le Pr Daniel Louvard<sup>2</sup> à l'Institut Curie travaille sur la compréhension de ces phénomènes dans le cancer du côlon et s'intéresse en particulier à l'oncogène *k-ras* (voir encadré p. 2), muté dans près de 50 % des cancers colorectaux, afin de comprendre son rôle dans les événements conduisant à ce type de cancer.

<sup>1</sup> Les termes suivis de \* sont définis dans le glossaire p. 3.

<sup>2</sup> Le Pr Daniel Louvard est directeur de la Section de Recherche de l'Institut Curie. Directeur de recherche Classe exceptionnelle au CNRS, son équipe fait partie de l'Unité Mixte de Recherche 144 CNRS/Institut Curie "Compartimentation et dynamique cellulaires" dirigée par Jean Paul Thiery.

## Une souris transgénique, modèle de développement tumoral

Pour étudier l'impact d'une mutation du gène *k-ras* dans les cellules de l'intestin, Sylvie Robine<sup>3</sup> et Klaus-Peter Janssen, dans l'équipe de Daniel Louvard, ont mis au point un modèle animal transgénique : des souris dans lesquelles a été introduit le gène *k-ras* muté.

Par des raffinements techniques (en associant *k-ras* muté au promoteur du gène de la villine<sup>4</sup> qui ne s'exprime que dans les cellules intestinales), la protéine KRas issue du gène muté n'est exprimée que dans les cellules de l'intestin, ce qui constitue un excellent modèle pour étudier le développement des tumeurs coliques. En outre, contrairement aux modèles mis au point précédemment, le gène *k-ras* muté est exprimé dans l'ensemble des cellules de la muqueuse intestinale, des cellules souches aux cellules différenciées.

Au bout de quelques mois, 80 % des souris transgéniques développent des cancers intestinaux et ce, en l'absence de toute mutation d'*APC*. **Il s'agit d'une première puisque jamais auparavant des modèles transgéniques "ras" n'avaient développé de tels cancers.** Ce qui avait conduit à un modèle génétique du cancer du côlon, désormais fortement compromis, où les mutations de *k-ras* ne pouvaient avoir lieu au cours de la progression tumorale qu'après celles du gène *APC*<sup>5</sup>.

Le résultat des chercheurs de l'Institut Curie bouleverse ce dogme. Ceci tient au fait que, dans ce nouveau modèle, *k-ras* muté est exprimé dans les cellules souches, assurant le renouvellement de la muqueuse intestinale pendant toute la vie adulte. Cette particularité permet aux cellules exprimant l'oncogène de se maintenir dans l'intestin et d'acquérir les autres mutations nécessaires à la progression tumorale.

Ce modèle murin vient très récemment d'être conforté par l'analyse génétique d'une centaine de tumeurs humaines, publiée par une équipe anglaise<sup>6</sup>. Elle montre que, chez l'homme aussi, les mutations de *k-ras* (et de *p53*) sont le plus souvent présentes dans les cancers colorectaux sans qu'aucune mutation d'*APC* ne soit détectée. Ces résultats, tout en témoignant de l'intérêt des modèles murins pour étudier la cancérogenèse, sont une nouvelle preuve à l'encontre du modèle *APC*.

## Un deuxième « itinéraire » pour mener au cancer du côlon

### Ras, acteur clé de la prolifération

Au nombre de trois — KRas, HRas et NRas — les protéines Ras sont au cœur de nombreuses voies de signalisation. Elles intègrent et interprètent divers signaux venus de l'extérieur pour les véhiculer à l'intérieur de la cellule. Pour cela elles oscillent entre deux états : actif et inactif. Sous leur forme active, elles déclenchent notamment la prolifération des cellules — voie des MAP kinases — et l'apoptose.

Lorsqu'une mutation intervient dans l'un des gènes *ras*, les protéines sont alors produites sous une forme continuellement active et les cellules ne cessent de se diviser en multipliant les erreurs.

Dans les cellules intestinales de ces souris transgéniques, les chercheurs montrent que l'expression de *k-ras* muté entraîne l'activation continue des MAP kinases (voir encadré), une cascade de protéines qui déclenche une prolifération cellulaire anormale. Cette suractivité des MAP kinases est également observée dans les cellules de tumeurs coliques humaines.

**Contrairement à l'idée généralement admise, la mutation du gène *k-ras* peut donc être l'un des événements initiateurs du processus tumoral dans le côlon. Et cela sans qu'aucune altération du gène *APC*, associée au cancer du côlon, ne soit détectée.**

En revanche, dans 40 % de ces tumeurs, une mutation du gène *p53* a été décelée. Ce qui suggère que les mutations de l'oncogène *k-ras* et du gène suppresseur de tumeur *p53* peuvent coopérer au développement du cancer du côlon.

## Etudier la croissance tumorale et tester de nouveaux médicaments *in vivo*

Grâce aux recherches de l'équipe de Daniel Louvard, les étapes de la progression tumorale et les divers chemins conduisant au cancer du côlon livrent progressivement leurs secrets. Mais, les souris transgéniques *k-ras* ont encore beaucoup à nous apprendre. Ce sont en effet d'excellents modèles pour étudier la croissance tumorale *in vivo* au cours du temps, pour analyser l'influence de certains facteurs, comme l'alimentation, ou encore pour tester de nouvelles drogues. En les croisant avec d'autres souris transgéniques, il est également envisageable d'analyser les effets cumulés de plusieurs gènes.

Ces souris constituent en outre un excellent modèle pré-clinique et à ce titre, elles pourront servir de base à la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques.

Ces travaux s'inscrivent dans un vaste projet associant les chercheurs et les médecins de l'Institut Curie qui vise à dresser le profil des mutations génétiques propres à chaque tumeur. C'est en connaissant les altérations spécifiques de la tumeur d'un individu que des traitements personnalisés mieux ciblés et d'autant plus efficaces pourront voir le jour.

<sup>3</sup> Directeur de recherche à l'INSERM.

<sup>4</sup> Ce promoteur a fait l'objet en 1998 d'une demande de brevet CNRS/Curie, étendue depuis aux USA et en Europe

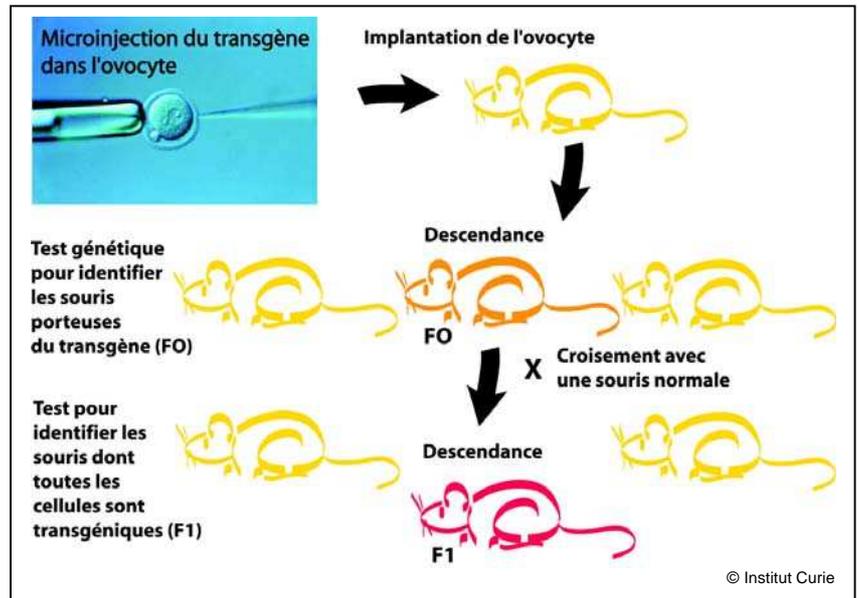
<sup>5</sup> « A genetic model for colorectal tumorigenesis » E. R. Fearon and B. Vogelstein. *Cell*, Vol 61, juillet 1990.

<sup>6</sup> « Mutations in APC, Kirsten-ras and p53-alternative genetic pathways to colorectal cancer » Smith G. et coll. *PNAS*, Vol 99, 9 juillet 2002. **2/4**

## Transgénèse et persévérance

Pour obtenir une souris transgénique, il faut être patient puisque pas moins de deux générations de souris sont nécessaires, soit 6 mois d'élevage.

Le gène modifié – le transgène – est tout d'abord injecté dans un ovocyte qui est ensuite réimplanté dans une femelle pseudogestante. Un test génétique permet d'identifier, parmi les souris ainsi engendrées, celles porteuses du transgène. Comme elles ne possèdent pas forcément le transgène dans toutes leurs cellules, un croisement est pratiqué afin d'obtenir des souris dont toutes les cellules sont transgéniques.



## Référence

« Targeted expression of oncogenic K-ras in intestinal epithelium causes spontaneous tumorigenesis in mice »

Klaus-Peter Janssen<sup>1</sup>, Fatima El Marjou<sup>1</sup>, Daniel Pinto<sup>2</sup>, Xavier Sastre<sup>3</sup>, Dany Rouillard<sup>4</sup>, Coralie Fouquet<sup>5</sup>, Thierry Soussi<sup>5</sup>, Daniel Louvard<sup>1</sup>, and Sylvie Robine<sup>1</sup>

*Gastroenterology*, vol. 123, pp. 492-504, août 2002

- <sup>1</sup> Laboratoire Morphogenèse et signalisation cellulaires, UMR 144 CNRS/Institut Curie
- <sup>2</sup> Department of Immunology, UMC, Heidelberglaan, Utrecht, the Netherlands
- <sup>3</sup> Service d'Anatomo-pathologie, Institut Curie
- <sup>4</sup> Service de Cytopathologie et cytométrie clinique, Institut Curie
- <sup>5</sup> Laboratoire de Génotoxicologie des tumeurs, Institut Curie



## Glossaire

**Oncogène** : Forme mutante d'un gène (proto-oncogène) qui contrôle la croissance et la division cellulaire. Il contribue à transformer une cellule normale en une cellule cancéreuse. Une mutation au niveau d'une seule des deux copies du proto-oncogène est nécessaire pour entraîner la production d'une protéine hyperactive qui stimule continuellement la prolifération cellulaire.

**Gène suppresseur de tumeur** : Ce sont les gardiens de l'intégrité du génome et du contrôle de la prolifération cellulaire. Ils peuvent en effet déclencher la mort d'une cellule trop endommagée et éviter ainsi qu'elle se développe de manière anarchique. Ils sont inactifs dans les cellules cancéreuses ce qui permet à la cellule de proliférer malgré la présence d'erreur génétique. Pour qu'il soit hors d'usage, il faut que les deux copies du gène soient inactivées. Parmi ces garants du bon fonctionnement cellulaire, on trouve les gènes p53, Rb, BRCA1, BRCA2, p21.

**Apoptose** : Sorte de suicide cellulaire, l'apoptose permet d'éliminer les cellules excédentaires ou trop endommagées qui pourraient être nocives. On parle aussi de "mort cellulaire programmée". Concrètement, quand une cellule ordonne sa propre mort, elle déclenche une cascade de protéines qui se passent ainsi l'information et qui entraînent des modifications tant biochimiques que morphologiques de la cellule. Au final, la cellule est détruite sans conséquence pour son environnement.

## Contacts presse

<b>Institut Curie</b>	Relations Presse	Catherine Goupillon	tél. 01 44 32 40 63	service.presse@curie.fr
	Iconographie	Cécile Charré	tél. 01 44 32 40 51	fax 01 44 32 41 67
<b>CNRS</b>	Bureau de Presse	Martine Hasler	tél. 01 44 96 46 35	martine.hasler@cnrs-dir.fr
			fax 01 44 96 49 93	
<b>INSERM</b>	Pôle presse	Nathalie Christophe	tél. 01 44 23 60 85	presse@tolbiac.inserm.fr
		Séverine Ciancia	tél. 01 44 23 60 86	

## Pour en savoir plus

# Le cancer colo-rectal

Avec environ 35 000 nouveaux cas diagnostiqués et 16 000 décès par an, le cancer colo-rectal est le deuxième cancer en termes de fréquence, tout sexe confondu en France. L'incidence augmente avec l'âge et, passé 70 ans, on estime que plus de 50 % de la population présente un cancer colo-rectal.

Il se développe à partir d'une tumeur bénigne, un adénome plus connu sous le nom de polype. Inaccessible et ne provoquant aucune douleur, il a longtemps été associé à un diagnostic tardif impliquant une chirurgie lourde et mutilante.

### Vers un dépistage généralisé

D'ici 2003, le dépistage devrait se généraliser dans la population âgée de 50 à 74 ans. Il repose actuellement sur le test Hemocult® II qui détecte la présence de sang dans les selles. Si le test est positif, une coloscopie est prescrite afin d'établir un diagnostic définitif. Grâce à un dispositif constitué d'une fibre optique, d'une caméra et d'une pince chirurgicale, la coloscopie permet de prélever une partie du tissu intestinal suspect pour ensuite l'analyser.

### Deux nouveaux tests à l'essai

Une équipe britannique vient de présenter des résultats<sup>7</sup> encourageants basés sur la détection dans les selles de la protéine MCM-2, spécifique des cellules en division. Au vu des premières études, la protéine MCM-2 apparaît comme un marqueur potentiel de la présence d'un cancer du côlon.

Parallèlement, une équipe américaine peaufine une technique permettant de détecter les mutations du gène APC dans les selles. Ce gène s'avère, à ce jour, être un bon marqueur des tumeurs coliques puisqu'il est muté dans près de 80 % des cas. Si, au vu des données publiées<sup>8</sup> en début d'année, ce test apparaît comme fiable et spécifique, il ne peut toutefois pas s'appliquer à toutes les tumeurs du côlon.

### Des traitements en progrès

Le traitement du cancer colo-rectal est avant tout chirurgical. Les progrès obtenus ces dernières années par cette discipline permettent dans la plupart des cas de conserver les fonctions intestinales.

Si le cancer colo-rectal est dépisté suffisamment tôt, avant qu'il n'ait eu le temps d'envahir les tissus voisins, l'acte chirurgical seul permet d'éliminer la tumeur. Or, grâce au dépistage précoce, 55 à 60 % des patients sont vus avant qu'il n'y ait eu dissémination de la tumeur et ne présente donc aucun envahissement ganglionnaire ou métastatique. Quand la tumeur est trop volumineuse, une radiothérapie peut être pratiquée avant l'acte chirurgical afin de réduire sa taille et ainsi la rendre opérable.

Lorsque la tumeur prend une forme invasive, la chimiothérapie permet désormais d'améliorer le pronostic. Depuis quelques années, elle consiste le plus souvent en l'administration de la molécule de 5-fluoro-uracile (5-FU) associée à d'autres drogues pour augmenter son efficacité. L'ensemble de ces avancées a considérablement contribué à améliorer le pronostic du cancer colo-rectal.

### Améliorer la prévention

Malgré tout, la prévention reste de mise. Une alimentation riche en fruits et légumes et pauvre en graisse, jointe à une activité physique régulière semblent pouvoir réduire les risques de cancer colo-rectal. Une enquête<sup>9</sup> vient d'ailleurs d'apporter une nouvelle preuve de l'impact de l'alimentation sur le développement de cette tumeur en montrant le rôle protecteur de la vitamine D et de son récepteur.

#### Un court de tennis pour intestin

L'intestin est composé de l'intestin grêle, d'une longueur avoisinant les 7 mètres et du côlon, ou gros intestin, long d'environ 1,4 mètre. Déployé, le tissu intestinal recouvre une surface de 300 m<sup>2</sup>, soit une étendue proche de celle d'un court de tennis !

Ce tissu extrêmement simple dans son organisation est constitué d'une multitude de crêtes au creux desquelles se trouvent des cellules souches, relativement indifférenciées et donc sans fonction propre.

Plus les cellules se divisent, plus elles acquièrent un type cellulaire particulier et "grimpe" progressivement le long des crêtes. Arrivées au sommet, les cellules "meurent". Ces crêtes constituées des divers stades d'évolution cellulaire sont un modèle d'étude très intéressant pour les biologistes.

L'ensemble du tissu intestinal se renouvelle en 3 à 5 jours. Cela implique un grand nombre de divisions cellulaires et donc un risque non négligeable de voir apparaître des altérations génétiques.

Cette rapidité de renouvellement du tissu intestinal ainsi que l'exposition aux substances toxiques, par l'alimentation notamment, pourraient expliquer la fréquence élevée du cancer colo-rectal.

<sup>7</sup> « Analysis of minichromosome maintenance proteins as a novel method for detection of colorectal cancer in stool » R.J. Davies et coll. *The Lancet*, vol 359, 1<sup>er</sup> juin 2002.

<sup>8</sup> « Detection of APC Mutations in Fecal DNA from Patients with Colorectal Tumors » G. Traverso et coll. *The New England Journal of Medicine*, vol 346, 31 janvier 2002.

<sup>9</sup> « Vitamin D receptors as an intestinal bile acid sensor ». Mangelsdorf DJ. et coll. *Science*, vol 17, 17 mai 2002.