

Une dyslipidémie modérée accélère la croissance tumorale par l'accumulation de cellules myéloïdes immunosuppressives et pro-angiogéniques

Thi Tran¹, Stéphane Potteaux^{2,3}

¹Université Paris Cité, Inserm U970-PARCC, Paris, France.

²Université Paris Cité, Inserm U976 HIPI, Paris, France.

³Université de Reims Champagne Ardenne, IRMAIC EA 7509, Reims, France.

thi.tran@inserm.fr

stephane.potteaux@inserm.fr

► Le cancer et les maladies cardiovasculaires sont les deux principales causes de mortalité. Ces maladies partagent des facteurs de risque tels que l'obésité, le diabète, l'hypertension, ou la dyslipidémie, qui sont des composants du syndrome métabolique. La plupart des travaux de recherche sur les mécanismes reliant le syndrome métabolique et le cancer ont été réalisés chez des sujets obèses ou dans des modèles murins d'obésité induite par le régime alimentaire. Cependant, des composants du syndrome métabolique seraient présents chez près de 30 % des adultes sans surpoids [1], et il a récemment été montré que le maintien de taux élevés de certains lipides dans le plasma et dans les tumeurs de souris non obèses sous régime alimentaire cétogène (contenant principalement des lipides et très peu de glucides) abolissait le bénéfice d'une restriction glucidique sur la croissance tumorale [2, 3] (→).

Les recherches menées dans le domaine cardiovasculaire ont permis de découvrir que les lipides stimulent le développement des progéniteurs de cellules immunitaires, favorisant ainsi l'installation et l'entretien d'une inflammation chronique de bas grade et d'une maladie athéromateuse [4]. L'inflammation chronique est fréquente chez les patients ayant un cancer et chez les sujets présentant des désordres métaboliques [5]. Elle se

caractérise par une élévation des taux sanguins de monocytes et de molécules inflammatoires, et est souvent associée à un mauvais pronostic du cancer [6, 7]. Nous avons étudié l'effet d'une dyslipidémie modérée induite par un régime pro-athérogène (c'est-à-dire riche en lipides, sans apport glucidique) et de l'inflammation chronique à bas bruit qui lui est associée, sur la croissance tumorale chez des souris C57Bl6/J non obèses (Figure 1) [8]. Nous avons montré que ce régime gras (*high fat, high cholesterol diet*, HFHCD) composé de 38 % de lipides, dont 15 % d'acides gras saturés et mono-insaturés et 1,25 % de cholestérol, entraînait, en seulement deux semaines, des modifications métaboliques ainsi qu'une inflammation chronique à bas bruit différentes de celles observées chez des souris sous régime obésogène (60 % de lipides). Nous avons ensuite étudié l'effet du régime HFHCD sur la croissance de tumeurs solides de mélanome murin chez les souris immunocompétentes C57Bl6/J. Nous avons observé que le régime HFHCD accélérât la croissance des tumeurs et induisait un microenvironnement tumoral plus riche en chimiokines CCL5 (*C-C motif chemokine ligand 5*), CCL2 et CCL4 et en cytokines TNF- α (*tumor necrosis factor α*) et IL(interleukine)-1 β . Une accumulation accrue de cellules myéloïdes CD11b était par ailleurs observée dans les tumeurs des souris sous régime HFHCD. Des expériences de transfert adoptif de monocytes issus de souris CD45.1 sous

régime normal ou HFHCD à des souris CD45.2 porteuses de tumeurs ont révélé un recrutement maximal des monocytes Ly6C^{hi} vers la tumeur lorsque ces monocytes provenaient des souris sous régime HFHCD et qu'ils étaient transférés aux souris sous régime HFHCD. Ainsi, l'accumulation des cellules myéloïdes dans les tumeurs de ces souris découlerait non seulement d'une monocytose, mais aussi d'une augmentation de la capacité migratoire de ces monocytes, associée à un microenvironnement tumoral particulièrement favorable à leur recrutement. Des analyses ont révélé, entre autres, l'existence d'un gradient d'expression de CXCL12 (*C-X-C motif chemokine ligand 12*) entre les compartiments médullaires et sanguins en faveur d'une myélopoïèse et d'une sortie des monocytes de la moelle vers les vaisseaux sanguins plus forte chez les souris sous régime HFHCD, expliquant la monocytose observée chez ces souris (Figure 1).

Parmi les sous-populations de cellules myéloïdes CD11b infiltrant la tumeur, les proportions des macrophages et de cellules myéloïdes suppressives étaient similaires chez les souris sous régime alimentaire normal et chez les souris sous régime HFHCD. Cependant, une analyse phénotypique des cellules a révélé, chez ces dernières, la prédominance de macrophages de type M2 pro-tumoral et de cellules myéloïdes plus immunosuppressives. Nous avons également montré que ces cellules myéloïdes étaient responsables de l'augmentation de la

(→) Voir la Nouvelle de J. Bastin et F. Djouadi, m/s n° 6-7, juin-juillet 2022, page 526



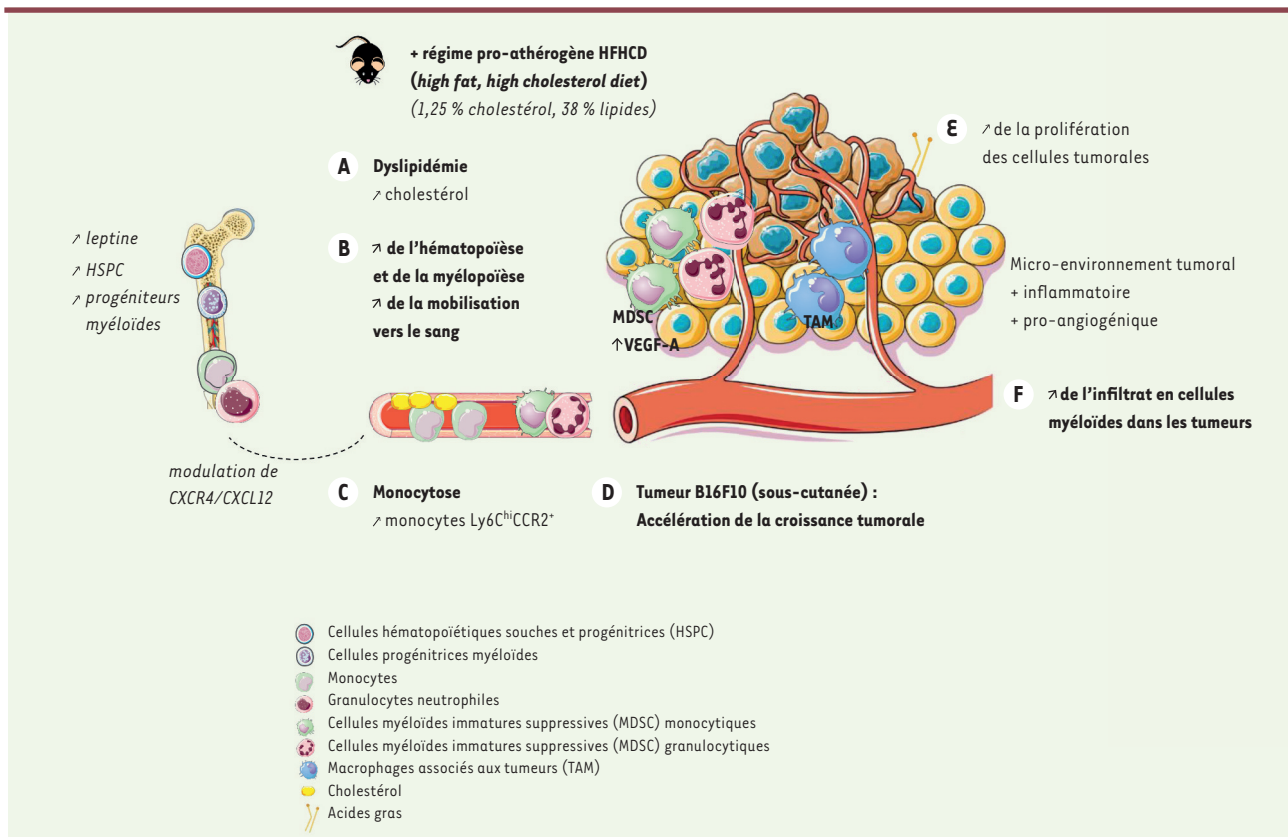


Figure 1. La dyslipidémie induite par un régime pro-athérogène accélère la croissance tumorale. Un régime pro-athérogène (38 % lipides et 1,25 % cholestérol) chez des souris C57Bl/6J induit une hypercholestérolémie (a), une activation de l'hématopoïèse et, en particulier, de la myélopoïèse, grâce à la production de facteurs comme la leptine, et favorise le recrutement des cellules myéloïdes matures de la moelle osseuse vers le sang en modulant la voie de signalisation CXCR4/CXCL12 (b). Cela entraîne une augmentation des monocytes inflammatoires Ly6C^{hi}CCR2⁺ circulants (c). Lorsque les souris sont porteuses d'un mélanome B16F10, la croissance tumorale sous régime alimentaire HFHCD est accélérée (d). Cette croissance est partiellement due à une prolifération des cellules tumorales grâce à l'apport en acides gras saturés (palmitique, stéarique) et monoinsaturés (oléiques) (e). Elle est cependant essentiellement attribuée à l'accumulation des cellules myéloïdes (MDSC et TAM), due à la monocytose et à l'augmentation de la capacité de migration de ces cellules, favorisée par un microenvironnement tumoral plus inflammatoire (f). Sous régime HFHCD, les MDSC et les TAM infiltrant les tumeurs sont plus immunosuppressives, et leur effet pro-tumoral est modulé par la production de VEGF-A. CCR2 : C motif chimiokine receptor 2 ; CXCL12 : C-X-C motif chimiokine ligand 12 ; HFHCD : high fat high cholesterol diet (régime riche en lipides et en cholestérol) ; MDSC : myeloid-derived suppressive cells (cellules myéloïdes suppressives) ; TAM : tumor-associated macrophages (macrophages associés aux tumeurs) ; VEGF-A : facteur de croissance de l'endothélium vasculaire A (figure réalisée grâce à Servier Medical art by Servier).

production de VEGF-A (facteur de croissance de l'endothélium vasculaire A) observée dans les tumeurs des souris sous régime HFHCD. Parallèlement, les lymphocytes NK (*natural killer*) et les lymphocytes T CD8⁺ présentaient un phénotype moins fonctionnel et moins cytotoxique dans les tumeurs de ces souris.

Afin de mettre en évidence le rôle des cellules myéloïdes dans l'accélération de la croissance tumorale sous régime HFHCD, des expériences de neutralisation

et d'inhibition des voies de survie, de migration et de production des monocytes ont été réalisées *in vivo*. Nous avons utilisé trois stratégies : 1) la neutralisation de la voie CSF1R (*colony-stimulating factor 1 receptor*)/M-CSF (*macrophage colony-stimulating factor receptor*), impliquée dans la différenciation, la prolifération et la survie des macrophages, avec un anticorps anti-CSF1R, 2) l'inhibition du recrutement de cellules myéloïdes dans la tumeur avec des antagonistes des récepteurs de chimiokines

CXCR2 (C-X-C motif chemokine receptor 2) et de CCR2 (C motif chimiokine receptor 2), et 3) l'inhibition de la voie de signalisation induite par l'IL-1 β , une cytokine pro-inflammatoire impliquée également dans la myélopoïèse. Nous avons montré que l'inhibition des cellules myéloïdes, quelle que soit la stratégie utilisée, limitait l'accélération de la croissance tumorale chez les souris sous régime HFHCD. Avec une efficacité similaire, la déplétion du VEGF-A (principal facteur de croissance de l'endothélium

vasculaire) dans les cellules myéloïdes de souris transgéniques *LysMcre^{+/-}/Vegfa^{fl/fl}* (obtenues par croisement de souris exprimant la recombinaise cre sous contrôle du promoteur du gène codant le lysozyme M, fortement exprimé par les cellules myéloïdes, et de souris chez lesquelles le gène *Vegfa* est flanqué de deux séquences loxP) suffisait à limiter la tumorigénèse chez les souris sous régime alimentaire HFHCD. Aucune de ces stratégies n'a eu d'impact sur la réduction de la croissance tumorale chez les souris sous régime alimentaire normal.

Parallèlement à l'effet du régime alimentaire sur les cellules immunitaires, nous avons observé *in situ* que les cellules tumorales des souris sous régime HFHCD exprimaient plus fortement le marqueur de prolifération cellulaire Ki-67. Une analyse lipidomique des tumeurs a montré que celles des souris sous régime HFHCD étaient enrichies en acides gras mono-insaturés. Des expériences *in vitro* ont par ailleurs confirmé l'existence d'une prolifération accrue des cellules tumorales B16F10 en présence des acides gras identifiés *in vivo*. Ces résultats suggèrent l'existence, chez les souris sous régime HFHCD, d'une modification du métabolisme des acides gras et de la lipogénèse qui pourrait être à l'origine de l'augmentation de la taille et de la prolifération des cellules tumorales. Ainsi, un régime gras induisant une dyslipidémie modérée

sans prise de poids accélérerait la croissance de tumeurs solides par la mise en place d'un environnement immunosuppresseur et pro-angiogénique associé à une prolifération des cellules tumorales (Figure 1).

Cet effet du régime HFHCD sur la croissance tumorale chez la souris ne semble pas irréversible. En effet, le retour à un régime alimentaire normal au moment de l'implantation des cellules tumorales entraîne une normalisation rapide des taux sanguins de cholestérol et de VEGF-A, ainsi que du nombre de cellules progénitrices dans la moelle osseuse. La croissance tumorale chez ces souris est similaire à celle observée chez les souris témoins non soumises au régime HFHCD initialement. Il faut noter que le changement de régime ayant été effectué au moment de l'implantation des cellules tumorales, on ne peut préjuger de l'impact réversible ou non du régime HFHCD sur les cellules tumorales et sur leur microenvironnement. Ces résultats complètent ceux d'une autre étude récente [9, 10] (→) qui montre qu'une inflammation aiguë provoquée par un infarctus du myocarde accélère le développement d'un cancer mammaire *via* la production accrue de monocytes Ly6C^{hi}. Les auteurs de cette

étude ont montré que la monocytose induite par l'infarctus du myocarde se normalise chez les souris non porteuses de tumeurs, alors qu'elle persiste chez les souris porteuses de tumeurs. Ces résultats soulèvent la question du rôle joué par la tumeur elle-même dans la production des cellules progénitrices des monocytes de la moelle osseuse. Nous n'avons pas observé d'augmentation additionnelle de la monocytose après injection des cellules tumorales chez les souris dans le contexte du régime HFHCD.

D'autres mécanismes pro-tumoraux pourraient intervenir pour expliquer l'effet du régime alimentaire HFHCD sur le système immunitaire et sur le microenvironnement tumoral. L'analyse transcriptomique a révélé des changements dans l'expression de gènes associés au métabolisme dans les tumeurs des souris sous régime HFHCD. Il importe désormais de préciser ces changements métaboliques, d'autant plus que des inhibiteurs du métabolisme lipidique associés à l'immunothérapie ou à la chimiothérapie ont prouvé leur efficacité dans des modèles pré-cliniques [11]. L'efficacité et l'innocuité de ces types de traitement sont actuellement évalués dans des essais de phase I chez des patients avec des tumeurs solides (cancer du poumon, de l'endomètre, mélanome) en association avec l'immunothérapie

(→) Voir la Nouvelle de S. Potteaux et A. Tedgui, *m/s* n° 8-9, août-septembre 2021, page 706

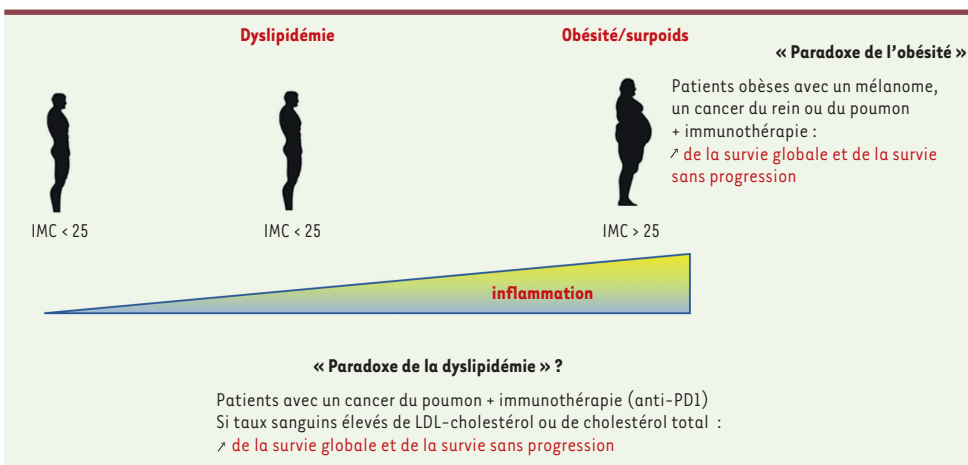


Figure 2. Existe-t-il un paradoxe de la dyslipidémie dans la réponse aux immunothérapies des sujets sans surpoids ayant un cancer ? Il existe un « paradoxe de l'obésité » concernant la réponse aux immunothérapies des sujets ayant un mélanome, un cancer du poumon, ou un cancer du rein : les patients obèses répondent mieux à ces traitements [12, 13]. Chez des patients ayant un cancer du poumon traité par un anticorps

anti-PD1, et dont l'indice de masse corporelle (IMC) est normal, une meilleure réponse à l'immunothérapie a été observée chez ceux présentant des taux sanguins élevés de LDL-cholestérol ou de cholestérol total, suggérant l'existence également d'un « paradoxe de la dyslipidémie » [14].

(anti-PD-1, anti-CTLA-4) ou la chimiothérapie (NCT02922764 ; NCT03311308). Notre travail de recherche souligne l'importance du métabolisme des lipides dans le cancer et soulève plusieurs questions. Faut-il désormais intégrer le bilan lipidique au suivi clinique des patients ayant un cancer ? Pourrait-il être un biomarqueur de la réponse aux immunothérapies ? Concernant cette réponse, existerait-il un « paradoxe de la dyslipidémie », comme il existe un « paradoxe de l'obésité » se caractérisant par le fait que des patients obèses ayant un mélanome ou un cancer du rein ou du poumon ont montré une meilleure réponse aux immunothérapies [12, 13] (Figure 2) ? En faveur de cette hypothèse, une étude récente dans le cancer du poumon a montré une meilleure réponse au traitement par des anticorps anti-PD1 chez des patients non obèses mais présentant des taux sanguins élevés de LDL (*low density lipoprotein*)-cholestérol ou de cholestérol total, par rapport aux patients ayant des taux sanguins de lipides plus faibles [14]. Ainsi, la prise en compte des paramètres

lipidiques et inflammatoires ainsi qu'une modification du régime alimentaire, indépendamment de l'indice de masse corporelle, pourraient améliorer la prise en charge des patients ayant un cancer. ♦

Mild dyslipidemia accelerates tumor growth through expansion of immunosuppressive and pro-angiogenic myeloid cells

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Wang B, Zhuang R, Luo X, et al. Prevalence of metabolically healthy obese and metabolically obese but normal weight in adults worldwide: A meta-analysis. *Horm Metab Res* 2015 ; 47 : 839-45.
2. Lien EC, Westermark AM, Zhang Y, et al. Low glycaemic diets alter lipid metabolism to influence tumour growth. *Nature* 2021 ; 599 : 302-7.
3. Bastin J, Djouadi F. Effet des régimes hypoglycémisants sur la croissance tumorale : un rôle des lipides ? *Med Sci (Paris)* 2022 ; 38 : 526-8.
4. Rahman MS, Murphy AJ, Woollard KJ. Effects of dyslipidaemia on monocyte production and function in cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol* 2017 ; 14 : 387-400.
5. Deng T, Lyon CJ, Bergin S, et al. Obesity, inflammation, and cancer. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2016 ; 11 : 421-49.
6. Van't Klooster CC, Ridker PM, Hjortnaes J, et al. The relation between systemic inflammation and incident cancer in patients with stable cardiovascular disease: a cohort study. *Eur Heart J* 2019 ; 40 : 3901-9.
7. Jiang H, Gebhardt C, Umansky L, et al. Elevated chronic inflammatory factors and myeloid-derived suppressor cells indicate poor prognosis in advanced melanoma patients. *Int J Cancer* 2015 ; 136 : 2352-60.
8. Tran T, Laviellegrand J-R, Lereverend C, et al. Mild dyslipidemia accelerates tumorigenesis through expansion of Ly6^{Ch} monocytes and differentiation to pro-angiogenic myeloid cells. *Nat Commun* 2022 ; 13 : 5399.
9. Koelwyn GJ, Newman AAC, Afonso MS, et al. Myocardial infarction accelerates breast cancer via innate immune reprogramming. *Nat Med* 2020 ; 26 : 1452-8.
10. Potteaux S, Tedgui A. L'infarctus du myocarde accentue le phénotype immunosuppresseur et pro-tumoral des monocytes inflammatoires : un mécanisme d'aggravation du cancer par les maladies cardiovasculaires. *Med Sci (Paris)* 2021 ; 37 : 706-8.
11. Broadfield LA, Pane AA, Talebi A, et al. Lipid metabolism in cancer: New perspectives and emerging mechanisms. *Dev Cell* 2021 ; 56 : 1363-93.
12. McQuade JL, Daniel CR, Hess KR, et al. Association of body-mass index and outcomes in patients with metastatic melanoma treated with targeted therapy, immunotherapy, or chemotherapy: a retrospective, multicohort analysis. *Lancet Oncol* 2018 ; 19 : 310-22.
13. Wang Z, Aguilar EG, Luna JJ, et al. Paradoxical effects of obesity on T cell function during tumor progression and PD-1 checkpoint blockade. *Nat Med* 2019 ; 25 : 141-51.
14. Karayama M, Inui N, Inoue Y, et al. Increased serum cholesterol and long-chain fatty acid levels are associated with the efficacy of nivolumab in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2022 ; 71 : 203-17.