

Relations entre génotoxicité, mutagenèse et cancérogenèse

Alain Botta

Résumé

La relation entre génotoxicité, mutagenèse et cancérogenèse est aujourd'hui largement admise mais sa démonstration demeure malaisée en raison de l'intrication de mécanismes stochastiques et déterministes et de la participation conjointe de facteurs héréditaires et de phénomènes acquis. La recherche sur les mécanismes précoces du cancer évolue aujourd'hui vers la prise en compte des processus de bio-activation et des capacités à réparer les lésions de l'ADN dont les effets conjugués sont à l'origine de la mutagenèse. La mutation est considérée comme la véritable plaque tournante de la cancérogenèse depuis la découverte des gènes critiques du cancer dont la mutation est signataire de l'état cellulaire malin parmi les milliers d'autres mutations présentes habituellement dans la cellule transformée. L'avancée scientifique fondamentale a ainsi été la découverte dans la cellule cancéreuse de l'activation de proto-oncogènes peu actifs en oncogènes actifs, l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs et l'activation des gènes gouvernant l'activité de la télomérase, système enzymatique de lutte contre la sénescence cellulaire. Les oncogènes activés sont responsables de la prolifération cellulaire incontrôlée qui n'est plus contrebalancée par l'action inhibitrice des gènes suppresseurs de tumeurs inactivés. De plus ces derniers étant impliqués dans la réparation des lésions de l'ADN, la stabilisation du génome et le déclenchement de l'apoptose, la cellule accumule les mutations et acquiert un phénotype mutateur qui la fait rapidement évoluer vers un clone à avantage sélectif de croissance. Ces nouvelles connaissances doivent conduire à toujours privilégier la prévention primaire dans les programmes de prévention des cancers liés à l'environnement professionnel.

L'ambition de présenter simplement le processus complexe de la cancérogenèse depuis l'étape précoce d'initiation cellulaire jusqu'au stade abouti de cellule transformée paraît relever de la gageure. En effet, si l'environnement physique ou chimique, naturel ou synthétique, domestique, urbain, rural ou professionnel est depuis longtemps soupçonné d'être impliqué dans la production de cancers en association avec les caractéristiques héréditaires des individus et dans des circonstances favorisant, par contre l'établissement d'un lien de causalité entre l'exposition à un environnement et la production d'un cancer est extrêmement difficile à établir en raison notamment du temps de latence de l'apparition de la maladie par opposition à l'action rapide des initiateurs, des incertitudes sur un seuil d'action cancérogène, des effets aléatoires des initiateurs, de l'implication forte de l'hérédité et de phénomènes associés acquis, et des interactions multiples entre les divers composants de l'environnement auquel un individu est exposé au cours de sa vie personnelle et professionnelle. En outre, la compréhension des relations entre la génotoxicité, la mutagenèse et la cancérogenèse demeure un thème de recherche complexe et sujet à de nombreuses évolutions bien qu'il paraisse communément admis que la mutation constitue un point-clé du démarrage du long processus de cancérogenèse.

La cancérogenèse est multiphasique, associant des phases de mutations qui réalisent l'initiation cellulaire et des mécanismes épigénétiques tels que la promotion qui favorise l'expansion clonale des cellules initiées. Néanmoins, pour la plupart des toxiques aujourd'hui mis en cause dans la production de cancers, le mécanisme initial est indissociable de la génotoxicité et de la mutagenèse.

Adresse de correspondance et demande de tirés-à-part

Pr. Alain Botta
Service Hospitalo-universitaire de Médecine et Santé au Travail
Laboratoire de Biogénotoxicologie et Mutagenèse Environnementale
(EA 1784)
IFR Pôle Méditerranéen des Sciences de l'Environnement (IFR 112)
Faculté de Médecine - 27 Bd Jean Moulin 13385 Marseille Cedex 5
Tel. 0491324433 Fax. 0491324434
E-mail <alain.botta@medecine.univ-mrs.fr>

La génotoxicité peut se manifester d'une part directement par action sur le matériel génétique (adduits, cassures de brins) des catabolites électrophiles formés par bio-activation du pro-cancérogène initial, processus sous la dépendance de facteurs génétiques (polymorphismes) et/ou acquis (interactions enzymatiques en phase I des biotransformations métaboliques) ou par l'intermédiaire de la production d'espèces radicalaires telles que les espèces réactives de l'oxygène (ERO), entités électrophiles génératrices de lésions oxydatives de l'ADN (adduits, cassures simple brin).et d'autre part indirectement par l'intermédiaire des lésions des macromolécules biologiques par ces mêmes composés générant des altérations de l'appareil mitotique, des adduits secondaires exocycliques sur l'ADN et des dysfonctionnements enzymatiques. La mutagenèse peut résulter de ces altérations et notamment pour ce qui concerne les lésions de l'ADN, de la défaillance, héréditaire surtout, acquise parfois, des systèmes cellulaires constitutifs de réparation qui peuvent alors être inefficaces ou réaliser une réparation fautive ce qui laisse en place une mutation génique (toxiques mutagènes engendrant une mutation sur une ou quelques paires de bases du type délétion ou substitution) ou chromosomique (toxiques clastogènes engendrant une ou plusieurs mutations sur plusieurs dizaines de kilobases se traduisant par des cassures chromosomiques suivies ou non de réarrangements). Des mutations génomiques peuvent également être présentes ; elles sont le fait de toxiques aneugènes générant des lésions, non plus directement de l'ADN, mais des protéines constitutives de l'appareil mitotique ou d'autres protéines impliquées dans les étapes-clés du cycle cellulaire. L'aneugenèse est définie comme la modification quantitative de la garniture chromosomique et notamment la perte d'un ou plusieurs chromosomes au cours de la mitose avec comme conséquence la perte d'une partie importante de l'information génétique des cellule descendantes concernée. Les relations entre génotoxicité et mutagenèse sont établies sur des arguments scientifiques solides, renforcés depuis l'avènement et l'application systématique de tests de génotoxicité et de mutagenèse (détermination des adduits sur l'ADN, test des comètes, numération des micronoyaux couplée à l'hybridation in situ en

fluorescence, synthèse non programmée de l'ADN) mettant en évidence les effets précoces sur le matériel génétique, les capacités de mise en œuvre des systèmes de réparation et les éventuelles mutations résultantes. En outre, le développement récent des techniques de toxicogénomique (RT-PCR en temps réel, puces à ADN) permet d'améliorer la détection et la quantification des niveaux d'expression coordonnée des gènes en présence de cancérogènes physiques ou chimiques introduits *in vitro* ou *in vivo* et donc de mesurer les conséquences des mutations et/ou des interactions produites par les toxiques vis-à-vis du génome humain. Ces approches innovantes intègrent non seulement la quantification de l'expression génique mais également l'état des processus de régulation et les divers stades de coopération et de coordination de l'expression de groupes de gènes. Elles devraient permettre des avancées significatives des connaissances en matière notamment d'implication des facteurs génétiques tels que le polymorphisme des gènes impliquée dans les bio-activations des xénobiotiques et dans la réparation des lésions de l'ADN, permettant ainsi de mieux appréhender le lien apparemment fort existant entre la génotoxicité, la mutagenèse et la cancérogenèse.

La mutagenèse apparaît ainsi comme une étape-clé de la cancérogenèse et son importance a été clairement mise en évidence par la vérification de la sélection progressive d'un phénotype mutateur au cours de l'évolution tumorale. La description de cet évènement a permis de mieux comprendre le paradoxe apparent de l'état d'instabilité génétique qui caractérise la cellule cancéreuse associé à l'émergence d'un clone à avantage sélectif de croissance. La mutation résultant de la génotoxicité peut concerner des gènes clés du développement d'un clone de cellules tumorales. De fait, la cellule cancéreuse est caractérisée par de multiples anomalies génétiques dont beaucoup sont des épiphénomènes et très peu sont signataires de l'état cancéreux. En outre ces anomalies sont pour la plupart déjà présentes dans les cellules pré-néoplasiques qui peuvent contenir plusieurs milliers de mutations. Parmi l'ensemble des gènes mutés, il est possible d'individualiser des oncogènes, des gènes suppresseurs de tumeurs, des gènes intervenant dans la restauration des télomères (télomérase)

et de nombreux gènes de fonctions peu ou pas connues. Actuellement, il est admis que trois groupes de gènes seulement pourraient être véritablement signataires de l'état cancéreux quand ils sont mutés. Les modifications de leur niveau d'expression et donc de leur niveau de transcription et de traduction pourraient permettre l'émergence progressive du phénotype mutateur, plaque tournante de la progression du clone malin à avantage sélectif de croissance. Les trois événements mutagènes-clés de la cancérogenèse sont l'activation d'un proto-oncogène, l'inactivation d'un gène suppresseur de tumeurs et l'activation des gènes codant la télomérase.

Les proto-oncogènes sont associés à la prolifération cellulaire; ils codent des facteurs de croissance cellulaire, des protéines de transduction ou des récepteurs membranaires. Ils sont classés en quatre familles principales (protéines kinases, protéines G, proto-oncogènes nucléaires, facteurs de croissance). Actifs durant l'embryogenèse et les réparations tissulaires, peu actifs à l'état physiologique, ils sont activables en oncogènes par mutation sur leur partie codante ou par amplification génique résultant d'une translocation rapprochant le promoteur et l'effecteur. A titre d'exemples, *er-B* est associé au glioblastome et au cancer du sein, *er-B2* aux cancers du sein et de l'ovaire, *RET* aux cancers de la thyroïde, *Ki-ras* aux cancers du poumon, de l'ovaire, du côlon, du pancréas et des organes hématopoïétiques, *c-myc* aux leucémies, au cancer du sein, du poumon et de l'estomac, *Bcl-1* aux cancers du sein, de la tête et du cou, *Bcl-2* aux lymphomes et *MDM2* aux sarcomes. Les gènes suppresseurs de tumeurs sont associés à l'arrêt du cycle cellulaire, à l'apoptose et à la réparation des lésions de l'ADN. Activables à l'état physiologique après un dommage à l'ADN ils sont rendus inactifs par mutation dans les régions codantes, par inhibition de la transcription, par délétion ou aneuploïdisation. Ils sont classés en «gate keeper» et «care taker». Les gate keeper genes (*p53*, *APC*, *Rb*) sont des gènes de contrôle et de régulation de la prolifération cellulaire. Ils ont un rôle direct et majeur dans le démarrage du processus tumoral. Les care taker genes (*MSH2*, *MLH1*, *BCRA1*, *BCRA2*) sont des gènes de réparation et stabilisation du génome. Ils ont un rôle indirect dans le démarrage du processus tumoral. La transformation d'une cellule normale en cellule tumorale peut être

réalisée par exemple par deux mutations successives touchant respectivement les deux allèles d'un gène suppresseur care taker ou gate keeper ou bien, dans les cas où une mutation germinale est déjà présente à la naissance sur un gène suppresseur gate keeper, une seule mutation acquise sur l'autre allèle suffit à initier le processus de transformation. Dans ce dernier cas le sujet sera prédisposé au cancer.

La télomérase, très peu active dans les cellules somatiques adultes, active dans les cellules germinales et dans les cellules embryonnaires joue un rôle majeur dans la lutte contre la sénescence cellulaire en permettant, par resynthèse en 5', la restauration des télomères. Au stade de la mutation, la cellule peut mourir (mutation létale) ou réparer fidèlement les lésions, ou encore se répliquer en conservant les altérations du génome qui deviennent alors héréditaires (définition *stricto sensu* de la mutation). Les cellules initiées peuvent rester longtemps quiescentes, du fait notamment de la répression exercée par les cellules voisines normales par le biais des médiateurs de la communication intercellulaire. La transformation et la prolifération malignes seront alors sous la dépendance de facteurs promoteurs qui ne sont ni génotoxiques ni cancérogènes par eux-mêmes mais qui peuvent emprunter plusieurs mécanismes d'action tels que des effets mitogènes, des perturbations hormonales, des phénomènes inflammatoires, des interactions avec la régulation des enzymes de phase I du métabolisme, des mécanismes d'inhibition des communications intercellulaires et des effets immunosuppresseurs. La promotion permet ainsi l'expression de la mutation sous forme de clone de cellules transformées à avantage sélectif de croissance. Parmi les promoteurs, on retrouve des esters de phorbol, des hormones naturelles et la 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine. Un cancérogène complet doit donc être à la fois initiateur et promoteur. C'est le cas de certains composés retrouvés notamment dans la fumée de tabac, tels que la N-nitroso-nor-nicotine, la β -naphthylamine, l'aminostilbène, l'o-toluidine, l'o-nitrotoluène et la di-n-butylnitrosamine. La cellule transformée ainsi produite est caractérisée par un phénotype mutateur qui lui confère une instabilité génétique majeure. Plusieurs milliers de mutations peuvent apparaître et la cellule fonctionne alors selon

un mode évolutif darwinien avec avantage de croissance au mutant le plus résistant ce qui est l'inverse du fonctionnement cellulaire à l'état physiologique où les cellules sont engagées dans un processus de collaboration dans lequel l'autosacrifice au profit de la communauté est la règle. En outre, si l'on établit une comparaison entre les processus mutagène et cancérogène, on s'aperçoit que l'on passe d'un mode stochastique discret (mutagenèse) à un mode évolutif déterministe et continu (tumorigenèse). L'évolution de l'état cellulaire depuis l'état physiologique jusqu'à l'état malin peut être schématisé suivant les niveaux relatifs d'expression des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs: à l'état physiologique, la balance oncogènes/gènes suppresseurs est équilibrée; au cours de la mutagenèse la balance est déséquilibrée en faveur de la fonction oncogénique, à la fois par activation de proto-oncogènes et par inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs sous l'effet de mutations aléatoires; à l'état malin le gain de fonction des oncogènes et la perte de fonctions

des gènes suppresseurs sont patents et se traduisent par la prolifération cellulaire, la perte de la voie de l'apoptose, l'augmentation de la résistance aux mutations et l'immortalisation.

En conclusion, la cancérogenèse apparaît donc bien comme un processus multi-factoriel au cours duquel les modifications génotypiques et phénotypiques concourent à l'apparition d'un clone de cellules transformées à avantage sélectif de croissance selon le schéma ci-après. Le caractère aléatoire des mutations des gènes critiques, l'implication forte de l'hérédité et des modifications acquises, le processus multifactoriel stochastique puis déterministe qui fait passer la cellule de l'état physiologique à l'état initié puis transformé, les interactions quasiment non maîtrisables entre les divers composants des mélanges complexes habituellement présents aux postes de travail doivent conduire à privilégier l'amélioration de la prévention primaire, seule démarche ayant un sens véritable dans une politique générale de prévention des cancers liés à l'environnement professionnel.

Schéma simplifié de la cancérogenèse liée à la génotoxicité et à la mutagenèse

