

Un autre point de vue sur le syndrome de Lynch : le modèle few-hits-and-run

Nicolas Janin

On suppose que la perte de la fonction de réparation des misappariements (MMR) dans une cellule normale ne permet pas sa survie: au bout d'un nombre restreint de mitoses, le phénotype mutateur doit entraîner l'extinction du clone par déclenchement de l'apoptose ou sénescence accélérée. Cette hypothèse conduit à concevoir un processus d'initiation hétérodoxe de la cancérogenèse en plusieurs étapes, menant à une prolifération explosive après une phase préliminaire abortive: la perte de la fonction MMR ne peut aboutir à un clone malin qu'à condition d'être rapidement suivie de mutations rendant la cellule

tolérante au phénotype mutateur. La probabilité d'acquisition des mutations salvatrices dans les clones mutateurs est fonction (1) de la tolérance des cellules souches aux mutations; (2) du nombre de mitoses dans la couche proliférative. Le remplacement du paradigme déclenchement-promotion par ce nouveau concept de cancérogenèse permet de comprendre les énigmes de la relation génotype-phénotype du syndrome de Lynch et ouvre une perspective de chimioprévention des cancers avec instabilité des microsatellites.

On distingue deux grands types de cancers du côlon et du rectum (CRC) sur des critères cliniques, pathologiques et biologiques. Les cancers coliques les plus fréquents (environ 85 % des CRC) ont une instabilité génétique acquise de type chromosomique aboutissant à un caryotype aneuploïde complexe. Ces cancers, le plus souvent bien différenciés, se développent à partir des polypes adénomateux, des tumeurs bénignes précancéreuses beaucoup plus fréquentes dans le côlon gauche que dans le côlon droit, qui évoluent lentement et rarement vers le cancer. La dégénérescence d'un polype en cancer est un long processus étalé sur une dizaine d'années. La seconde catégorie de CRC, plus rare (environ 15 % des CRC), est caractérisée par un phénotype mutateur par erreurs de réplifications (RER) secondaire à une perte de la fonction de réparation des misappariements de l'ADN

(MMR). Les erreurs de réplification caractéristiques de ces cancers engendrent à la fois des mutations ponctuelles et des petites insertions ou délétions touchant les séquences microsatellites. Ce dernier type de mutations touche de très nombreux locus et est facile à mettre en évidence: on dit que ces cancers ont une forte instabilité des microsatellites (MSI-H). Une instabilité ne touchant que quelques rares locus est un épiphénomène sans signification particulière, parfois observé dans les tumeurs avec instabilité chromosomique. Les cancers MSI-H n'ont pas de caractère pathologique ou clinique absolument spécifique. Cependant, on observe beaucoup plus souvent dans les CRC MSI-H que dans les CRC communs une faible différenciation, une production abondante de mucine et un dense infiltrat lymphocytaire. De plus, le pronostic des CRC MSI-H est meilleur que celui des CRC communs après ajustement pour les fac-

teurs pronostiques usuels. La caractéristique la plus curieuse des CRC MSI-H sporadiques est leur localisation à la portion proximale du colon dans la très grande majorité des cas. L'histoire naturelle des cancers MSI-H n'est bien établie à ce jour que dans le cadre du syndrome de prédisposition héréditaire aux CRC MSI-H que l'on appelle syndrome de Lynch ou HNPCC (*hereditary non-polyposis colorectal cancer*). Le syndrome de Lynch serait responsable d'environ 2 % de l'ensemble des CRC. Ce syndrome est dû dans la plupart des cas à des mutations germinales inactivant un allèle du gène hMLH1 ou hMSH2.

Les énigmes du syndrome de Lynch (HNPCC)

La relation génotype-phénotype du syndrome de Lynch présente de nombreuses anomalies, c'est-à-dire des observations inattendues, ni prédites

ni explicables sans incohérences ou contorsions suspectes par la théorie de la cancérogenèse en vigueur. Dans la théorie admise actuellement [1], les individus prédisposés, ayant hérité d'un allèle inactif de l'un des gènes MMR, ont un risque plus élevé de cancers du côlon MSI-H pour la raison suivante: ils développent avec la même fréquence que le reste de la population des polypes adénomateux, mais ceux-ci dégèrent très vite en raison du phénotype mutateur RER. Selon cette théorie, les cancers associés au syndrome de Lynch devraient donc avoir la même distribution que les polypes dans la population générale et survenir plus souvent à gauche qu'à droite. Ce qui est observé dans le syndrome de Lynch est exactement l'inverse de ce qui est prédit: la grande fréquence de cancers dans la partie droite du côlon est sans doute la plus connue des anomalies du syndrome de Lynch. Un autre fait insolite concernant la localisation des cancers du côlon avec MSI-H est la différence de distribution des cas selon qu'il s'agit de cancers sporadiques ou de cancers associés au syndrome de Lynch. Par comparaison aux cancers du côlon sporadiques avec MSI-H, qui siègent dans plus de 90 % des cas dans le côlon droit [2, 3], la distribution des cancers dans le syndrome de Lynch est très nettement décalée vers le côlon gauche même s'il persiste une légère prépondérance droite allant selon les séries de 51 % [4] à 65 % [5]. Ainsi, la découverte d'un cancer MSI-H dans le rectum est très hautement évocatrice d'une mutation germinale dans un gène MMR [6]. Aucun autre syndrome de prédisposition génétique au cancer ne présente de différence de distribution des cancers selon leur caractère sporadique ou héréditaire. Aucune interprétation satisfaisante n'a été proposée à ce jour pour rendre compte de ces anomalies de distribution dans le côlon. Il n'y a pas non plus d'explication au spectre des tumeurs observées dans le syndrome de Lynch [7], curieusement restreint à quelques organes (surtout côlon et endomètre) alors que l'expression des gènes MMR est ubiquitaire [1]. Une autre anomalie frappante du syndrome de Lynch est la distribu-

tion homogène des cas de cancer du côlon au delà de 25-30 ans (figure 1): le risque de cancer du côlon est de l'ordre de 1,6% par an quelle que soit la tranche d'âge considérée [8, 9]. Tout se passe comme si le cancer du côlon du syndrome de Lynch était une maladie «à un coup», une maladie qui surviendrait comme un accident avec une probabilité constante au cours du temps. Or chacun sait que les cancers sont des maladies génétiques somatiques «à multiples coups», chaque coup étant une mutation conférant un avantage sélectif à la cellule qui l'acquiert [10, 11]. Cette stabilité du risque au cours du temps constitue une véritable aberration pour la théorie normale (*multi-hit*) de la cancérogenèse. Il est enfin très curieux que le risque de cancer du côlon (et d'ailleurs de tout cancer) soit pratiquement nul avant l'âge de vingt ans dans le syndrome de Lynch [8, 9]. Aucune interprétation n'a été proposée à ce jour pour rendre compte de cette absence de

cancer chez l'enfant et de la stabilité du risque de cancer colique chez l'adulte.

Les anomalies de la distribution dans l'espace et dans le temps des cancers du côlon associés au syndrome de Lynch constituent les anomalies les plus visibles d'un ensemble de faits incongrus, formant une sorte de casse-tête insoluble avec les concepts normaux de la cancérogenèse. Les autres caractéristiques du syndrome de Lynch sont les suivantes: (1) les individus à risque ne présentent aucun phénotype particulier permettant de les reconnaître [7] et n'ont en particulier pas de polyposé; (2) les cancers du côlon se développent avec une très grande rapidité chez ces individus, des cancers à un stade avancé (avec envahissement ganglionnaire et même avec métastases) ayant été rapportés moins de trois ans après une coloscopie totale normale [12, 13]. Puisque l'ablation des adénomes chez les individus prédisposés diminue l'incidence des cancers [12], on sait que les adénomes précèdent ici aussi l'apparition des cancers, mais leur temps de dégénérescence est considérablement raccourci par rapport à celui des polypes adénomateux habituels, ce qui correspond à la notion du «polype agressif».

Une approche phénotype candidat

L'écart patent entre faits et théorie a conduit à proposer un nouveau modèle de la cancérogenèse avec instabilité des microsatellites [14], qui implique l'abandon des concepts de déclenchement et de promotion servant de paradigme depuis les travaux de Berenblum dans les années 40 sur la cancérogenèse de la peau de souris [15]. Ce modèle repose sur un constat et sur une hypothèse. Le constat est celui de l'extrême précocité de l'acquisition du phénotype mutateur dans la chaîne de causalité qui mène aux cancers MSI-H. Les données qui étayent cette affirmation de la manière la plus claire sont les suivantes. D'abord, les mutations du gène APC acquises dans les cancers MSI-H peuvent être imputées à des erreurs de réplication de séquences

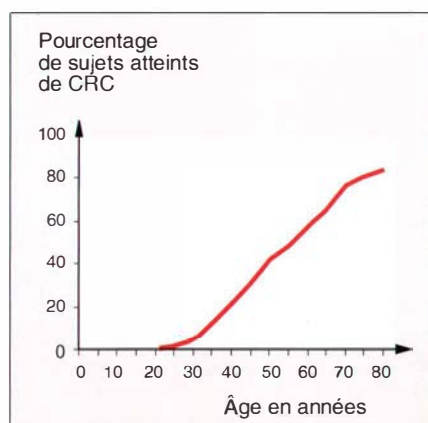


Figure 1. Risque cumulé de cancer colorectal dans la population des individus porteurs de la mutation dans les familles HNPCC (courbe redessinée d'après [9]). Ce risque augmente d'une manière étonnamment linéaire au-delà de l'âge de 30 ans: le risque par unité de temps reste pendant cinquante ans extrêmement proche de 1,6% par an. Cette relation linéaire est compatible avec un modèle de cancérogenèse «à un coup». Elle ne peut pas être interprétée à l'aide du modèle «multi-hit» standard de la cancérogenèse.

microsatellites intragéniques [16], ce qui prouve que le phénotype RER précède l'acquisition des mutations normalement à l'origine de la cancérogenèse colique [1]. Ensuite, en se servant des mutations acquises dans des séquences microsatellites non codantes comme d'un témoin du nombre de mitoses effectuées depuis l'acquisition du phénotype RER, on peut démontrer que l'acquisition du phénotype RER précède de très loin l'apparition de l'expansion clonale témoin d'un processus de cancérogenèse MSI-H [17]. Cette étude permet aussi d'estimer que les cancers MSI-H sont à peine plus vieux que les adénomes MSI-H en terme de mitoses après acquisition du phénotype mutateur, témoignant d'une progression accélérée dès lors que l'expansion clonale a commencé. Ces données permettent de penser que le phénotype mutateur est la première anomalie du phénotype acquise par les cellules susceptibles de donner naissance à des cancers MSI-H. Puisque les cellules déficientes pour la fonction MMR ont un taux de mutation au moins cent fois supérieur au taux basal [1], on peut émettre l'hypothèse selon laquelle une cellule normale acquérant le phénotype RER donne naissance à un clone de durée de vie limitée. On suppose en effet que l'accumulation des mutations lors de chaque réplication de l'ADN aboutit après «n» mitoses à un fardeau énorme de mutations, entraînant l'élimination du clone mutateur par apoptose ou par sénescence accélérée (figure 2). D'après ce raisonnement, il est inap-

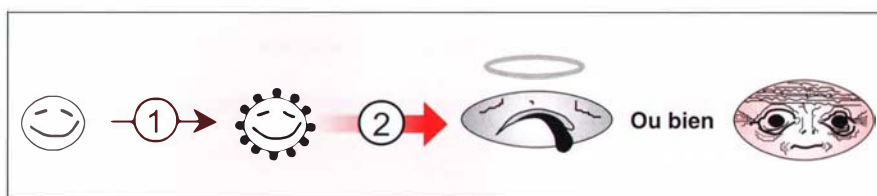


Figure 2. **Le modèle est construit sur un fait et une hypothèse.** La première anomalie phénotypique acquise sur la voie de la cancérogenèse est l'instabilité génétique (1). Le phénotype mutateur ne confère aucun avantage sélectif. On suppose au contraire que l'apoptose ou la sénescence abrègent la vie des clones mutateurs (2). Les points symbolisent les nombreuses mutations accumulées du fait du phénotype RER.

proprié de parler de déclenchement de cancérogenèse lorsqu'une cellule acquiert le phénotype RER car on a affaire à un processus d'élimination clonale. Les gènes MMR ne devraient donc pas être considérés comme des gènes suppresseurs de tumeur, même de manière indirecte, car la perte de leur fonction déclenche un processus auto-abortif. Curieusement, cette idée selon laquelle l'augmentation du taux de mutation devait nécessairement favoriser la cancérogenèse a été admise par une majorité d'auteurs dans le domaine de la génétique du cancer, de manière implicite le plus souvent et parfois de manière tout à fait explicite [18]. Il paraît plus logique de considérer *a priori* les gènes MMR comme des gènes de ménage essentiels à la survie des cellules. Bien sûr, cette manière de voir mène à une impasse : comment concevoir une histoire de cancérogenèse qui débiterait par un processus intrinsèquement anticancéreux ?

Résolution du paradoxe : un nouveau concept

En quelques occasions exceptionnelles, une cellule d'un clone RER échappe à la mort en acquérant, du simple fait du hasard et avant le moment fatidique de l'extinction clonale, plusieurs mutations qui la rendent tolérante au phénotype mutateur en bloquant les voies d'apoptose et de sénescence. Une fois acquises les mutations salvatrices, l'instabilité génétique cesse d'être létale et devient une source de variation augmentant considérablement l'adaptabilité du sous-clone des cellules rescapées. Un processus de cancérogenèse accélérée est alors inévitable. Du point de vue téléologique trompeur d'une cancérogenèse achevée, on peut être tenté d'assimiler les gènes MMR à des gènes suppresseurs de tumeur indirects (la perte de leur fonction est, en effet, la cause des mutations dans les oncogènes et les antioncogènes). Si cette manière de

Tableau I

LE MODÈLE PERMET DE CONCILIER DEUX PERSPECTIVES RADICALEMENT DIFFÉRENTES SUR LES CONSÉQUENCES DE L'INSTABILITÉ GÉNÉTIQUE (ADAPTÉ D'APRÈS [14]).

	Organisme sain	Cancérogenèse
Conséquences du phénotype RER	Activation d'antioncogènes Activation de l'apoptose	Inactivation d'antioncogènes Activation d'oncogènes
Destin des cellules RER*	Élimination	Expansion clonale
Classification des gènes MMR	Gènes de ménage	Gènes d'adaptabilité après inactivation

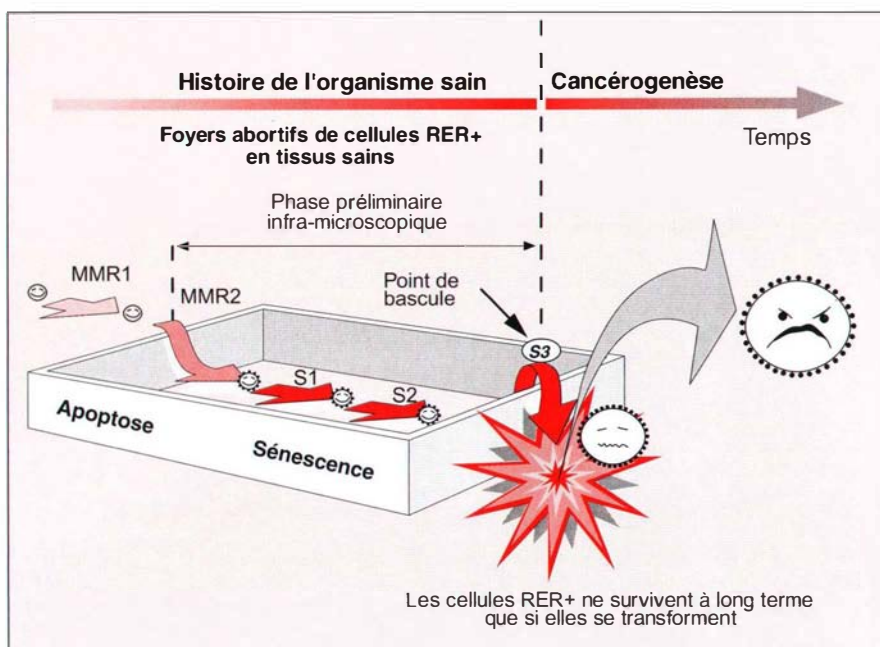


Figure 3. **Conditions de déclenchement de la cancérogenèse.** L'immense majorité des cellules acquérant le phénotype mutateur RER disparaît sans laisser de trace. L'initiation des cancers MSI-H est l'aboutissement d'un processus aléatoire, la *run-initiation*, entraînant l'acquisition de mutations salvatrices bloquant les voies d'apoptose (S1 et S2) et de sénescence (S3) dans un délai de temps limité après perte de la fonction MMR. Puisque la *run-initiation* comporte toutes les étapes limitantes de la cancérogenèse, l'organisme « bascule » du normal (élimination de cellules au patrimoine génétique altéré) au pathologique (cancer inéluctable à court terme) à l'instant où une cellule mutatrice acquiert la dernière des mutations salvatrices. (Adapté d'après [14].)

voir est erronée, c'est parce que le phénotype mutateur des cellules malignes n'est pas seulement la cause des mutations motrices de la cancérogenèse : il est aussi la conséquence des mutations salvatrices ayant permis le démarrage de la cancérogenèse. La résolution de ce paradoxe passe par l'introduction d'un nouveau concept de déclenchement de cancérogenèse comportant plusieurs étapes que sont les mutations entraînant la perte de la fonction MMR, puis les mutations salvatrices d'une cellule mutatrice RER, nécessairement acquises dans un délai de temps limité après les premières (figure 3).

On peut appeler *run-initiation* ce processus de déclenchement hétérodoxe applicable aux cancers avec MSI-H, qui permet d'opérer un changement radical dans la fonction des gènes MMR et les conséquences du phéno-

type RER selon que l'on se place du point de vue d'un organisme sain ou bien d'un clone malin MSI-H (figure 3 et Tableau I). Les propriétés de la *run-initiation* sont les suivantes : (1) ce processus comporte plusieurs étapes ; (2) ces étapes constituent toutes des étapes limitantes de la cancérogenèse ; (3) à l'exception de la dernière, ces étapes sont contre-sélectives ou neutres ; (4) ce déclenchement obéit à une loi du tout ou rien, tout étant à recommencer à zéro si le processus n'est pas achevé lorsque disparaît le clone des cellules potentiellement transformables.

Un corollaire de cette nouvelle manière de voir la cancérogenèse est la brutalité de la transition que l'on est amené à concevoir entre le normal et le pathologique. Alors que les modèles standards de cancérogenèse se présentent comme une succession de multiples étapes dont chacune

augmente la probabilité d'aboutir à la suivante, on suppose ici que le potentiel évolutif des cellules ayant perdu la fonction MMR reste pratiquement nul tant que toutes les mutations rendant la cellule tolérante au phénotype mutateur n'ont pas été accumulées. L'organisme demeure indemne de toute pathologie aussi longtemps que les clones mutateurs disparaissent sans laisser de trace, ce qui est la règle, mais il bascule dans la maladie à l'instant où une cellule mutatrice acquiert la dernière des mutations salvatrices. A partir de cet instant précis, il héberge un clone cellulaire engagé dans un processus irréversible de cancérogenèse accélérée. On note également que toutes les étapes limitantes du processus se déroulent ici à une échelle infra-microscopique puisqu'elles ne concernent que des cellules sans avantage sélectif : ce n'est qu'une fois la *run-initiation* achevée que la maladie devient microscopique puis macroscopique.

Histoire naturelle des cancers MSI-H

Ce nouveau concept permet d'emblée de comprendre trois particularités des cancers colorectaux associés au syndrome de Lynch. L'extraordinaire constance du risque au cours du temps est due au fait que les cellules des sujets prédisposés ne sont qu'à une seule étape de l'instabilité génétique (acquise par perte de l'allèle MMR sain) et que la *run-initiation* obéit à une loi du tout ou rien. En supposant stables les conditions de vie de l'organisme, on peut admettre *a priori* que le taux de mutation de base reste stable et donc que probabilité de perdre l'allèle MMR sain est une constante au cours du temps. Pour la même raison, on peut considérer que la très faible probabilité de transformation maligne dans la descendance d'une cellule ayant perdu la fonction MMR est également une constante. Si ces deux probabilités restent stables au cours du temps, cela implique que la probabilité de passer d'une cellule hétérozygote pour une mutation MMR à un clone malin avec MSI-H est également une constante. L'évo-

lution explosive des tumeurs malignes découle du fait que le processus de déclenchement contient toutes les étapes limitantes de la cancérogenèse. Enfin, les sujets à risque n'ont pas de polypose car presque 100 % des cellules perdant la fonction MMR disparaissent spontanément sans laisser de trace. Les tumeurs « bénignes » avec phénotype RER sont difficiles à observer car elles ont une durée de vie très brève aboutissant soit à leur disparition, soit à une dégénérescence accélérée correspondant à une phase de progression ultrarapide dès lors que la *run-initiation* a été achevée. La notion habituelle associée au polype adénomateux, tumeur bénigne précancéreuse qui peut éventuellement dégénérer sur une période d'une dizaine d'années [19], n'a plus de sens dans le cadre de ce nouveau modèle de cancérogenèse.

A ce stade, on ne peut pas comprendre la spécificité des sites anatomiques dans lesquels surviennent les cancers associés au syndrome de Lynch ni l'absence de risque avant l'âge de 20 ans. Accepter le modèle proposé comme base de raisonnement sur les cancers MSI-H implique de rechercher la solution de ces énigmes dans d'hypothétiques variations spatiales et temporelles de paramètres influençant la probabilité de *run-initiation* dans la descendance d'une cellule perdant la fonction MMR. Par un raisonnement simple, on peut définir deux paramètres physiologiques jouant un rôle clé dans la définition du risque de *run-initiation*.

Probabilité de naissance d'un sous-clone RER viable

La probabilité de *run-initiation* est en proportion directe du nombre de cellules viables issues d'une cellule acquérant le phénotype RER. Cette probabilité doit être nulle lorsque la perte de la fonction MMR survient dans une cellule destinée à n'effectuer que quelques divisions avant le stade de différenciation terminale. On peut donc admettre que la perte de la fonction MMR doit survenir dans une cellule souche pour qu'il y

ait cancer MSI-H. Si ce postulat est exact, la probabilité de *run-initiation* dépend étroitement de la capacité de la cellule souche à tolérer l'accumulation des mutations. Avant d'être éliminée du fait des conséquences du fardeau de mutation, la cellule souche donne naissance à un nombre de cellules viables qui dépend très fortement du nombre de mitoses dans la couche répliquative du tissu. En effet, puisque chaque cellule de la couche répliquative donne naissance à deux cellules filles identiques en se divisant, ajouter une mitose dans cette couche revient à doubler le nombre de cellules potentiellement transformables. Deux paramètres physiologiques paraissent ainsi moduler le risque de *run-initiation* dans la descendance d'une cellule souche acquérant le phénotype RER (figure 4): (1) le nombre X de mitoses asymétriques d'autoréplication permises à une cellule souche ayant le phénotype RER; (2) le nombre N de mitoses symétriques dans la couche proliférative du tissu. Si l'on classe ces deux paramètres par ordre d'importance, X prend le pas sur N, les tumeurs variantes ne pouvant être induites qu'à la condition que les cellules souches tolèrent un certain nombre de divisions avec erreurs de réplication.

Le changement de schéma évolutif proposé pour la cancérogenèse MSI-H et la définition des paramètres modulateurs du risque de transformation imposent de reconsidérer l'influence de l'environnement sur la cancérogenèse et la classification des substances cancérogènes. La *run-initiation* comportant toutes les étapes sensibles à l'influence de l'environnement, on ne peut plus parler d'agent déclencheur de la cancérogenèse ni de promoteur. La figure 5 résume les nécessaires changements dans la façon d'envisager l'influence de l'environnement selon que l'on se place dans le cadre habituel de la cancérogenèse ou bien dans celui d'une cancérogenèse hétérodoxe précédée par une phase préliminaire d'instabilité génétique normalement abortive. La comparaison des tableaux II et III illustre la totale incompatibilité du modèle proposé avec les concepts

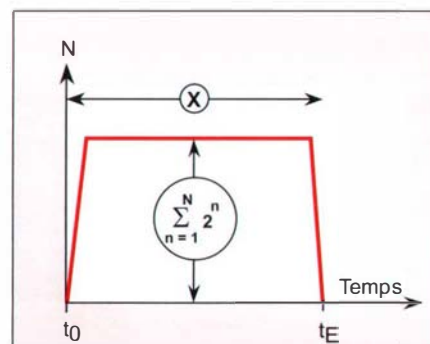


Figure 4. Évolution du nombre de cellules N dans la descendance d'une cellule souche perdant la fonction MMR (en l'absence d'émergence d'un sous-clone malin). Une cancérogenèse ne peut avoir lieu que si le processus de déclenchement est achevé dans l'intervalle de temps séparant l'instant t_0 où une cellule souche perd la fonction MMR et l'instant t_E où disparaissent toutes les cellules du clone mutateur. Le nombre total de cellules potentiellement transformables produites pendant cet intervalle de temps (et donc la probabilité de *run-initiation*) est fonction de deux paramètres: (1) il est proportionnel à X, le nombre de mitoses tolérées par les cellules souches RER⁺; (2) il augmente de façon exponentielle en fonction du nombre N de mitoses dans la couche répliquative du tissu.

classiques de déclenchement et de promotion.

Spectre et variations du risque au cours du temps dans le syndrome de Lynch

A ma connaissance, des expériences permettant des comparaisons inter-tissulaires de la tolérance des cellules souches aux mutations n'ont été effectuées qu'entre le grêle et le côlon, en évaluant la quantité de cellules en apoptose au siège des cellules souches quelques heures après injection à des souris d'une forte dose d'un agent chimique mutagène [20] ou bien après irradiation [21]. Ces études ont montré beaucoup plus de cellules en apoptose dans le grêle que dans le côlon au siège des

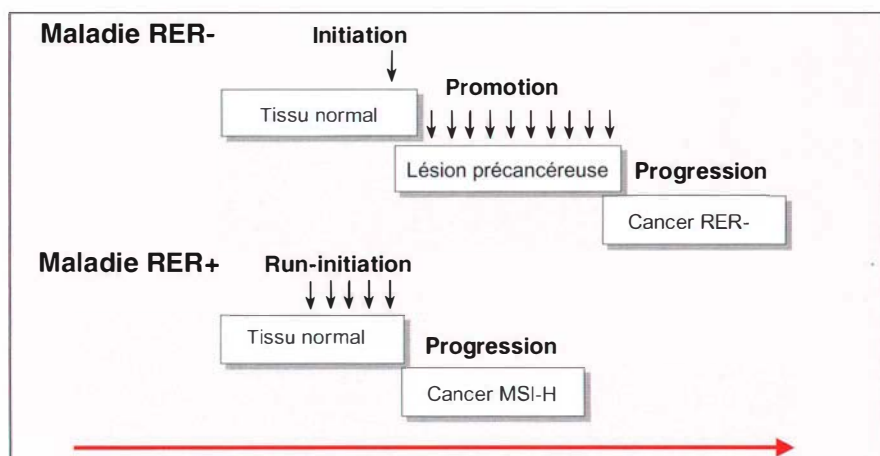


Figure 5. **Influence comparée de l'environnement sur l'histoire naturelle des formes de cancers avec (MSI-H) ou sans (RER-) phénotype de forte instabilité des microsatellites.** Selon la logique évolutive proposée ici pour les cancers MSI-H, toutes les étapes sensibles à l'influence de l'environnement sont d'une manière paradoxale franchies avant le début de l'expansion clonale définissant la cancérogenèse. Les agents bloquants l'apoptose et/ou mitogènes sont fortement cancérogènes dans ce modèle car ils augmentent la probabilité d'achever la run-initiation une fois acquise l'instabilité génétique. La lésion précancéreuse de la cancérogenèse MSI-H n'a pas été représentée: sa durée de vie est très courte et elle cesse d'être sensible à l'influence de l'environnement dès lors que la run-initiation est achevée. (Adapté d'après [14].)

Tableau II	
CONCEPTION USUELLE DES GRANDES ÉTAPES DE LA CANCÉROGÈNESE	
Caractéristiques	
Déclenchement	Possible à très faible dose de mutagène Aucun avantage sélectif. Irréversible
Promotion	Effet seuil et effet dose maximale Cancérogènes non mutagènes
Progression	Expansion clonale réversible Agressivité croissante du phénotype Évolution spontanée et irréversible Instabilité génétique

cellules souches. En admettant que l'apoptose soit induite de la même manière que les mutations soient provoquées par le phénotype RER, par un produit chimique cancérogène ou par des radiations ionisantes, on peut conclure que $X_{\text{grêle}} \ll X_{\text{côlon}}$. Le modèle permet donc de comprendre pourquoi le risque cumulé de cancer dans le syndrome de Lynch n'est que de l'ordre de 1 %

dans le grêle à 80 ans [8] alors qu'il est de 80 % au même âge dans le colon: les cellules souches du grêle acquérant le phénotype mutateur RER ont une viabilité trop faible pour que le risque de transformation soit significatif. Intrinsèquement plus résistantes, les cellules souches coliques mutatrices survivent parfois assez longtemps pour pouvoir donner naissance à un sous-clone malin.

Par extrapolation de ce que l'on sait dans le tube digestif, on peut formuler l'hypothèse selon laquelle les tumeurs avec MSI-H ne peuvent apparaître que dans les tissus dont les cellules souches sont suffisamment tolérantes à l'accumulation des mutations, expliquant ainsi la restriction du spectre des tumeurs observées dans le syndrome de Lynch.

La localisation droite préférentielle des cancers du côlon MSI-H s'explique par le gradient décroissant de prolifération observé dans la muqueuse colique du côlon droit au côlon gauche. La run-initiation est beaucoup plus probable à droite qu'à gauche car $N_{\text{côlon droit}} > N_{\text{côlon gauche}}$. Dans des conditions physiologiques normales, une activité mitotique plus élevée dans le colon droit que dans le colon gauche a été rapportée tant chez l'homme [22, 25] que chez le rat [23, 26, 27]. Il est possible que ce gradient de prolifération soit dû à un gradient parallèle de concentration des sels biliaires dans le côlon. Il a en effet été montré que les sels biliaires sont des substances toxiques pour la muqueuse colique et une forte corrélation entre la prolifération colique et l'activité lytique fécale rattachée aux sels biliaires a pu être établie chez le rat [28].

La redistribution des cas de cancers MSI-H vers la partie gauche du côlon caractéristique du syndrome de Lynch peut s'expliquer très simplement en postulant que les gènes MMR sont intrinsèquement moins mutables que le gène APC dans les conditions de vie normales. Les cancers de forme commune MSS (*microsatellite stable*) ou MSI-L (*microsatellite low*) surviennent beaucoup plus souvent à gauche qu'à droite [19]. Les mutations inactivatrices des deux allèles APC sont présentes dans environ 3/4 des cas de ces cancers de forme commune. Elles surviennent très précocement dans la genèse des cancers du côlon MSS ou MSI-L et sont considérées comme les mutations déclenchantes de ces cancers [1]. Si l'on considère une cellule souche colique située dans le côlon gauche chez un individu n'ayant pas de mutation germinale, il est beaucoup plus probable que le gène APC soit inactivé avant un gène MMR

Tableau III	
NOUVEAU CONCEPT DE CANCÉROGÈNE PROPOSÉ POUR LES CANCERS MSI-H	
Caractéristiques	
<i>Run-initiation</i>	Plusieurs étapes constituant toutes les étapes limitantes de la cancérogenèse. Processus avorte toujours si inachevé en un délai fixe après perte MMR. Probabilité d'achèvement fonction de deux paramètres: (1) nombre de mitoses dans la couche répliative; (2) résistance des cellules souches à l'apoptose
Progression	Évolution rapide et inéluctable vers le cancer MSI-H dès qu'est acquise la dernière des mutations salvatrices du processus d'initiation

compte tenu de la mutabilité intrinsèque beaucoup plus grande du gène APC. Ceci expliquerait la quasi-absence de cancers sporadiques MSI-H dans le côlon gauche. Chez un individu porteur d'une mutation germinale dans un gène MMR, la perte de l'allèle sain du gène MMR concerné est beaucoup plus probable que la perte des deux allèles APC. Voilà comment, par un mécanisme de compétition entre deux voies de cancérogenèse mutuellement exclusives, on peut comprendre l'apparition fréquente de cancers MSI-H dans le côlon gauche dans le syndrome de Lynch. La plus grande mutabilité intrinsèque du gène APC par comparaison aux gènes MMR pourrait être en rapport avec des différences de taille (APC est effectivement plus grand que n'importe quel gène MMR) ou à des différences dans la fréquence de points chauds de mutation (eux-mêmes dépendants de multiples paramètres). La persistance d'une grande fréquence de cancers dans le côlon droit dans le syndrome de Lynch résulte du gradient de prolifération colique qui rend la *run-initiation* beaucoup plus probable à droite qu'à gauche dans une cellule souche acquérant le phénotype RER. Le fait que la plupart des cancers du côlon MSI-H sporadiques soient imputables à une méthylation du promoteur de hMLH1 [29-31] n'invalide en rien la cohérence de cette hypothèse. L'absence de risque de cancer chez l'enfant dans le syndrome de Lynch pourrait être expliquée par un

déclenchement très efficace de l'apoptose à cet âge en cas d'accumulation de mutations. L'importance de l'apoptose dans les phases les plus précoces du développement des organismes multicellulaires est bien établie [32]. On peut concevoir que les cellules de l'enfant, similaires en cela à celles de l'embryon et du fœtus, peuvent entrer très facilement en apoptose. Des résultats expérimentaux montrent que le potentiel d'induction de l'apoptose décroît avec le vieillissement dans les fibroblastes et les lymphocytes/thymocytes [33]. Il a d'ailleurs été proposé qu'une diminution liée à l'âge des capacités à entrer en apoptose soit une des causes du vieillissement et des maladies associées au vieillissements [34]. Tous ces éléments rendent plausible l'hypothèse d'une variable X_{enfant} incompatible avec l'achèvement d'une *run-initiation*.

Sémantique: les raisons du choix des mots

La *run-initiation* a été appelée ainsi parce que le préfixe «run» permet de se souvenir de deux particularité de ce processus: (1) la nécessaire rapidité de l'acquisition des mutations salvatrices dans un clone mutateur pour déboucher sur une cancérogenèse, évoquant une sorte de course contre le temps; (2) le couplage du processus aux mitoses dans la couche répliative, permettant d'associer le nombre de mitoses à l'intensité de la course menée contre la mort. On peut proposer *few-hits*

and-run pour l'ensemble de la cancérogenèse décrite par le modèle: cette dénomination rappelle que la cancérogenèse évolue ici selon un schéma *hit-and-run*, c'est à dire évoluant de manière autonome une fois reçue l'impulsion initiale, qui correspond ici au dernier des quelques coups (*few-hits*) du processus de déclenchement.

Conclusions

Le modèle *few-hits-and-run* est fondé sur une approche «phénotype candidat» [35] en posant comme hypothèse de travail que la létalité associée au phénotype mutateur rend pratiquement nul le potentiel évolutif des cellules normales perdant la fonction MMR. La cancérogenèse MSI-H y apparaît comme la conséquence d'un accident évolutif très rare constitué par une improbable accumulation de mutations salvatrices rendant viable le phénotype RER. En accord avec ce que l'on sait de l'histoire naturelle des cancers MSI-H, le modèle décrit une cancérogenèse explosive faisant suite à une phase préliminaire presque toujours abortive. Deux paramètres biologiques intégrés au modèle conditionnent la possibilité de déclenchement de la cancérogenèse MSI-H: (1) la résistance des cellules souches à l'accumulation des mutations; (2) le nombre de mitoses dans la couche répliative du tissu. La prise en compte des variations de ces deux paramètres permet d'expliquer et d'intégrer en un tout cohérent toutes les anomalies de la relation génotype-phénotype du syndrome de Lynch. Certes, plusieurs des applications du modèle reposent encore sur des données fragmentaires ou sur des spéculations en l'absence de données, mais le modèle ne présente aucune incohérence interne et n'est en contradiction avec aucune donnée publiée à ce jour. L'intérêt de ce modèle pourrait ne pas se limiter à ses aspects purement théoriques: on devrait en effet pouvoir faire avorter toutes les phases préliminaires de cancérogenèse MSI-H en freinant la prolifération colique et/ou en facilitant l'apoptose des entérocytes. Sachant que de tels effets peuvent être obtenus respecti-

vement par l'administration *per os* de calcium [36, 37] et d'aspirine [38], une chimioprévention très simple, très peu toxique et de surcroît très peu coûteuse pourrait changer la vie des sujets prédisposés dans le syndrome de Lynch. Il y a donc urgence à tester le modèle ■

Nicolas Janin

Consultation de génétique du cancer. Service de cancérologie et Service de génétique médicale, Hôpital Européen Georges-Pompidou, 20, rue Leblanc, 75008 Paris Cedex 15, France.

* ABRÉVIATIONS *

HNPCC: hereditary non-polyposis colon cancer = syndrome de Lynch.

MMR: mismatch repair, réparation des misappariements.

RER: replication error, erreurs de réplifications.

MSI: microsatellite instability, instabilité des microsatellites.

MSI-H: MSI-High, forte instabilité des microsatellites.

MSI-L: MSI-Low, faible instabilité des microsatellites.

MSS: microsatellite stable, stabilité des microsatellites.

CRC: colorectal cancer, cancer colorectal.

RÉFÉRENCES

- Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 1996; 87: 159-70.
- Kim H, Jen J, Vogelstein B, Hamilton SR. Clinical and pathological characteristics of sporadic colorectal carcinomas with DNA replication errors in microsatellite sequences. *Am J Pathol* 1994; 145: 148-56.
- Lanza G, Gafa R, Matteuzzi M, Santini A. Medullary-type poorly differentiated adenocarcinoma of the large bowel: a distinct clinicopathologic entity characterized by microsatellite instability and improved survival. *J Clin Oncol* 1999; 17: 2429-38.
- Rodriguez-Bigas MA, Boland CR, Hamilton SR, et al. A National cancer institute workshop on hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 1758-62.
- Fujiwara T, Stolker JM, Watanabe T, et al. Accumulated clonal genetic alterations in familial and sporadic colorectal carcinomas with widespread instability in microsatellite sequences. *Am J Pathol* 1998; 153: 1063-78.
- Nilbert M, Planck M, Fernebro E, Borg A, Johnson A. Microsatellite instability is rare in rectal carcinomas and signifies hereditary cancer. *Eur J Cancer* 1999; 35: 942-5.
- Lynch HT, Smyrk T. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome). An updated review. *Cancer* 1996; 78: 1149-67.
- Aarnio M, Mecklin JP, Aaltonen LA, Nystrom-Lahti M, Jarvinen HJ. Life-time risk of different cancers in hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) syndrome. *Int J Cancer* 1995; 64: 430-3.
- Voskuil DW, Vasen HF, Kampman E, van't Veer P. Colorectal cancer risk in HNPCC families: development during lifetime and in successive generations. National Collaborative Group on HNPCC. *Int J Cancer* 1997; 72: 205-9.
- Klein G. Foulds' dangerous idea revisited: the multistep development of tumors 40 years later. *Adv Cancer Res* 1998; 72: 1-23.
- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70.
- Vasen HF, Nagengast FM, Khan PM. Interval cancers in hereditary non-polyposis colorectal cancer (Lynch syndrome). *Lancet* 1995; 345: 1183-4.
- Järvinen HJ, Mecklin JP, Sistonen P. Screening reduces colorectal cancer rate in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Gastroenterology* 1995; 108: 1405-11.
- Janin N. A simple model for carcinogenesis of colorectal cancers with microsatellite instability. *Adv Cancer Res* 2000; 77: 189-221.
- Berenblum I, Shubik P. A new quantitative approach to the study of the stages of chemical carcinogenesis in the mouse's skin. *Br J Cancer* 1947; 1: 383-91.
- Huang J, Papadopoulos N, McKinley AJ, et al. APC mutations in colorectal tumors with mismatch repair deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 9049-54.
- Tsao JL, Yatabe Y, Salovaara R, et al. Genetic reconstruction of individual colorectal tumor histories. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 1236-41.
- Haber D, Harlow E. Tumour-suppressor genes: evolving definitions in the genomic age. *Nat Genet* 1997; 16: 320-2.
- Winawer S, Schottenfeld D, Sherlock P. Screening for colorectal cancer: the issues. *Gastroenterology* 1985; 88: 841-4.
- Potten CS, Li YQ, O'Connor PJ, Winton DJ. A possible explanation for the differential cancer incidence in the intestine, based on distribution of the cytotoxic effects of carcinogens in the murine large bowel. *Carcinogenesis* 1992; 13: 2305-12.
- Potten CS, Wilson JW, Booth C. Regulation and significance of apoptosis in the stem cells of the gastrointestinal epithelium. *Stem Cells* 1997; 15: 82-93.
- Goodlad RA, Levi S, Lee CY, et al. Morphometry and cell proliferation in endoscopic biopsies: evaluation of a technique. *Gastroenterology* 1991; 101: 1235-41.
- Hall C, Youngs D, Keighley MR. Crypt cell production rates at various sites around the colon in Wistar rats and humans. *Gut* 1992; 33: 1528-31.
- Patchett SE, Alstead EM, Saunders BP, Hodgson SV, Farthing MJ. Regional proliferative patterns in the colon of patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1997; 40: 168-71.
- Green SE, Chapman P, Burn J, et al. Colonic epithelial cell proliferation in hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Gut* 1998; 43: 85-92.
- Pozharisski KM, Klimashevski VF, Gushchin VA. Study of kinetics of epithelial cell populations in normal tissues of the rat's intestines and in carcinogenesis. I. A comparison of enterocyte population kinetics in different segments of the small intestine and colon. *Exp Pathol (Jena)* 1980; 18: 387-406.
- Lieberman V, Nyska A, Kashtan H, et al. Differing proliferative responses in proximal and distal colons of growing rats fed food eaten by adenoma patients. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 1057-64.
- Lapre JA, Van der Meer R. Diet-induced increase of colonic bile acids stimulates lytic activity of fecal water and proliferation of colonic cells. *Carcinogenesis* 1992; 13: 41-4.
- Herman JG, Umar A, Polyak K, et al. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 6870-5.
- Cunningham JM, Christensen ER, Tester DJ, et al. Hypermethylation of the hMLH1 promoter in colon cancer with microsatellite instability. *Cancer Res* 1998; 58: 3455-60.
- Viegl ML, Kasturi L, Olechnowicz J, et al. Biallelic inactivation of hMLH1 by epigenetic gene silencing, a novel mechanism causing human MSI cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 8698-702.
- Jacobson MD, Weil M, Raff MC. Programmed cell death in animal development. *Cell* 1997; 88: 347-54.
- Warner HR. Aging and regulation of apoptosis. *Curr Top Cell Regul* 1997; 35: 107-21.
- Tomei LD, Umansky SR. Aging and apoptosis control. *Neurol Clin* 1998; 16: 735-45.

RÉFÉRENCES

35. Dryja TP. Gene-based approach to human gene-phenotype correlations. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 12117-21.
36. Van der Meer R, Kleibeuker JH, Lapre JA. Calcium phosphate, bile acids and colorectal cancer. *Eur J Cancer Prev* 1991; 1: 55-62.
37. Lipkin M, Newmark H. Effect of added dietary calcium on colonic epithelial-cell proliferation in subjects at high risk for familial colonic cancer. *N Engl J Med* 1985; 313: 1381-4.
38. Ahnen DJ. Colon cancer prevention by NSAIDs: what is the mechanism of action? *Eur J Surg* 1998; Suppl : 111-4.

TIRÉS À PART

N. Janin.

Summary

Another point of view about Lynch syndrome: the few-hits-and-run model of carcinogenesis

The genotype-phenotype relationship of Lynch syndrome displays many curious features which cannot be explained by the prevailing concepts of carcinogenesis. In order to explain these anomalies, we propose a model of replication error (RER)-associated carcinogenesis based on the simple idea that many random mutations in normal cells either trigger apoptosis or accelerated senescence, *i.e.*, acquisition of a mutator phenotype almost always gives rise to short-lived clones that vanish without a trace when the mutation load becomes incompatible with life. It follows that RER⁺ carcinogenesis can start only if several mutations blocking apoptosis and senescence, all acquired during the short life span of a non-transformed mutator clone, eventually rescue one RER⁺ cell. The rescued mutator cell then unavoidably gives rise to a malignant sub-clone that further progresses at an accelerated pace toward cancer. All the curious features of Lynch syndrome can be explained by concentrating on the physiological time and space variations of the two key parameters which modulate the very low probability of completing the non-orthodox rescue-and-initiation process once a cell has acquired mismatch repair deficiency. These parameters are the capacity of the stem cell to tolerate a high mutation load and the number of mitoses in the proliferating compartment of the tissue.

SIXIÈME SYMPOSIUM INTERNATIONAL SUR LES INTERMÉDIAIRES BIOLOGIQUES RÉACTIFS (*Biological Reactive intermediates VI, BRI VI*)

16-20 juillet 2000, Université René-Descartes,
45, rue des Saints-Pères, 75270 Paris Cedex 06, France

ORGANISATEURS :

Dansette Patrick M. (Organisateur local) (Tél. : 01 42 86 21 91)
Monks Terrence J. (Président, Chairman)

Beaune Philippe H., Delaforge Marcel, Gervasi Paolo, Gibson Gordon G., Snyder Robert,
Tolledano Michel, Vanbladeren Peter (Coorganisateurs)

Le Sixième Symposium International sur les Intermédiaires Biologiques Réactifs (BRI VI) est le sixième d'une série de colloques quinquennaux qui s'intéressent à la formation et à l'impact des métabolites réactifs de xénobiotiques et de médicaments sur les systèmes biologiques et sur la santé humaine.

Les précédents ont eu lieu à Turku (Finlande, H. Vainio 1975), Guilford (GB, G.G. Gibson, 1980), College Park (USA, J. Nelson, 1985), Tucson (USA, G. Sipes, 1990) et Munich (RFA, H. Greim, 1995). Chacun a permis une confrontation des travaux récents et excitants de ce domaine passionnant. Ce symposium est dédié à Sten Orrenius de l'Institut Karolinska de Suède qui en sera l'hôte d'honneur. Le programme est vaste et se divise en 8 sessions de 4 ou 5 intervenants.

1. Études sur les relations structure-activité
2. Chimie des Intermédiaires Biologiques Réactifs
3. Espèces réactives dérivées de l'oxygène comme Intermédiaires Biologiques Réactifs
4. Oxyde nitrique et peroxydites
5. Dommages et réparations de l'ADN
6. Réponses tissulaires spécifiques aux intermédiaires réactifs
7. Impact des intermédiaires réactifs biologiques sur la santé humaine
8. Chémoprotection et susceptibilité tissulaire

Renseignements et inscriptions : www.biomedicale.univ-paris5.fr/bri6/
dansette@biomedicale.univ-paris5.fr