

► Le dernier congrès international de l'Association américaine pour la recherche contre le cancer (congrès AACR) a connu cette année, en avril 2007, une véritable explosion de présentations autour du sujet des cellules souches cancéreuses avec plus de 500 études présentées sur le sujet contre seulement six en 2001 et à peine plus de 150 en 2006. De très nombreuses données tendent à prouver l'existence d'une hiérarchie cellulaire au sein des tumeurs solides, dirigées par des cellules cancéreuses ayant des propriétés de cellules souches : les cellules souches cancéreuses (CSC). Différentes stratégies sont mises en œuvre pour isoler ces CSC fondées sur les caractéristiques intrinsèques de ces cellules. Cet avènement du concept des CSC pourrait bouleverser la vision scientifique et médicale des cancers, et particulièrement du cancer du sein. ◀

### Les cellules souches mammaires normales (CSN) chez l'adulte

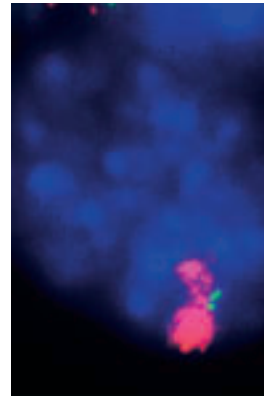
La glande mammaire est l'un des organes au sein desquels l'existence de cellules souches normales (CSN) à l'état adulte est la plus probable au regard même de la biologie de la glande. En effet, la glande mammaire achève son développement lors de la puberté et subit de nombreuses modifications morphologiques à l'âge adulte en fonction des périodes de la vie génitale, notamment durant les périodes de gestation, de lactation et de sevrage [1]. Les CSN épithéliales organisent le fonctionnement de la glande mammaire grâce à des propriétés intrinsèques spécifiques. Ces propriétés associent une longue durée de vie et une capacité à la fois à s'auto-renouveler et à produire des cellules filles capables de se différencier.

La capacité d'auto-renouvellement permet de préserver et de réguler le *pool* de CSN dans la glande mammaire. Lors de la division cellulaire, la CSN donne naissance à deux cellules filles gardant les propriétés de la cellule souche mère (division symétrique), ou à une cellule identique à la cellule souche mère et une cellule, le

## La cellule souche cancéreuse

### Un pilote aux commandes du cancer du sein

Christophe Ginestier, Hasan Korkaya, Gabriela Dontu, Daniel Birnbaum, Max S. Wicha, Emmanuelle Charafe-Jauffret



C. Ginestier, H. Korkaya, G. Dontu, M.S. Wicha : University of Michigan Medical Center, Comprehensive Cancer Center, Int Med-Hematology/Oncology, 1500 E Medical Center Drive, Ann Arbor, MI, États-Unis. [cginesti@umich.edu](mailto:cginesti@umich.edu)

D. Birnbaum, E. Charafe-Jauffret : UMR 599 Inserm ; Institut Paoli-Calmettes ; Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille, et Université de la Méditerranée, 27, boulevard Lei Roure, 13009 Marseille, France. [birnbaum@marseille.inserm.fr](mailto:birnbaum@marseille.inserm.fr)

progéniteur, engagée dans la voie de la différenciation (division asymétrique) [2]. Le progéniteur se divisera plusieurs fois avant de donner à la fin du processus de maturation, une cellule spécialisée (Figure 1A).

La différenciation permet à la CSN de donner naissance à toutes les cellules épithéliales matures de la glande mammaire. Ces cellules matures vont acquérir lors du processus de différenciation une spécialisation indispensable à la fonction de la glande mammaire. Les cellules luminales ont un rôle structurant pour la glande, les cellules alvéolaires produisent et sécrètent le lait lors de la lactation, et les cellules myoépithéliales permettent la contraction des canaux pour expulser le lait vers le mamelon. Ces dernières, alignées le long de la membrane basale, servent aussi d'interface entre les cellules épithéliales et le stroma ou conjonctif palléal (ou conjonctif intra-lobulaire).

L'étude des CSN épithéliales mammaires chez l'adulte connaît un véritable essor notamment grâce au modèle murin qui facilite la manipulation de ces cellules [3] (→). Différentes combinaisons de marqueurs ont permis d'isoler une petite population de cellules capables de régénérer, *in vivo*, une glande mammaire adulte

(→) Voir l'article de M.A. Deugnier et al., p. 1125 de ce numéro

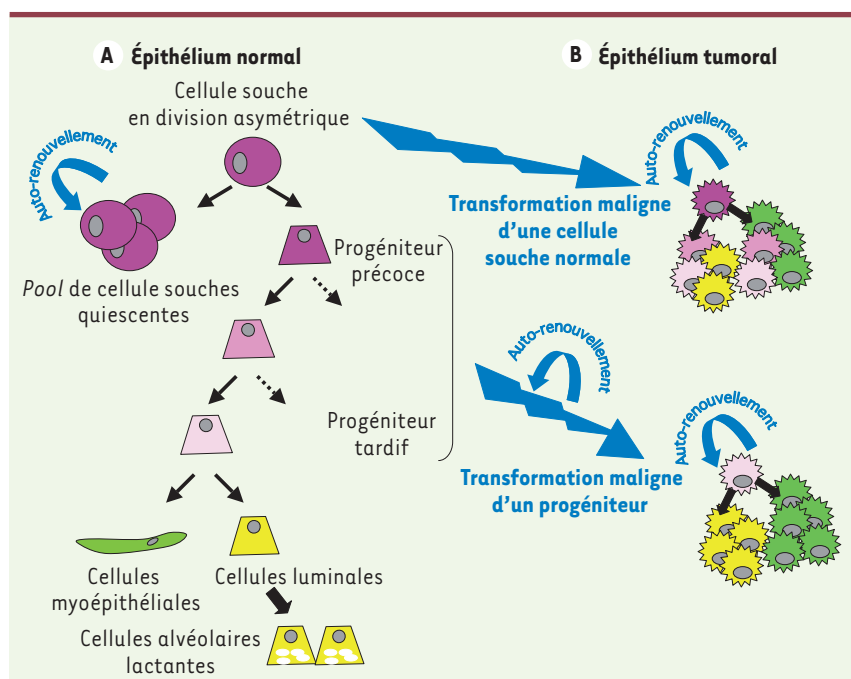
et fonctionnelle [4]. L'étude des CSN mammaires humaines est plus difficile du fait de l'absence de consensus sur les techniques permettant de les isoler, les tests fonctionnels étant moins aisés. Cependant, quelques stratégies ont été développées afin d'étudier ces CSN chez la femme. En 2003, notre laboratoire a mis au point la technique dite des « mammosphères », qui permet de maintenir en culture en conditions non adhérentes et en l'absence de sérum, les CSN et progéniteurs mammaires humains dans un état indifférencié [5]. Cette technique est décrite dans la *Figure 2*. En 2004, C. Kuperwasser a décrit la régénération d'une structure mammaire humaine dans le stroma graisseux dans lequel se développe normalement la glande murine, à partir de la transplantation chez la souris de fragments de glande mammaire humaine (xénogreffe de glande mammaire normale) [6]. Ces études décrivent ainsi deux méthodes, *in vitro* et *in vivo*, pour l'étude des CSN mammaires épithéliales humaines chez l'adulte.

## Le concept de cellule souche cancéreuse (CSC) et le modèle hiérarchique

Deux modèles d'oncogenèse s'opposent [7]. Dans le modèle stochastique, chaque cellule d'un tissu, même différenciée, peut, à la suite de l'accumulation de mutations acquises de façon aléatoire, proliférer de façon indéfinie et former un clone tumoral indépendant. Le second modèle, le modèle hiérarchique, considère la cellule souche cancéreuse comme le moteur de l'activité tumorigène du cancer. Les cellules d'une tumeur ont un potentiel de prolifération limité en dehors d'un petit nombre de cellules cancéreuses, les CSC, qui ont la capacité de proliférer de façon indéfinie et de donner naissance à toutes les autres cellules de la masse tumorale

(*Figure 3*). Dans le cancer du sein, les CSC proviendraient directement des CSN adultes de l'épithélium mammaire qui seraient seules le siège des altérations génétiques tumorales (*Figure 1B*). De récents travaux effectués dans le système hématopoïétique ont montré que les progéniteurs précoces, descendants immédiats des CSN, pourraient aussi être les cibles des altérations oncogéniques et se comporter comme des CSC en ré-exprimant un programme d'auto-renouvellement [8].

Ainsi, les propriétés caractéristiques des CSC vont être celles des CSN adultes, auto-renouvellement, longue durée de vie, capacité à reproduire l'hétérogénéité tissulaire, auxquelles s'ajoutent d'autres propriétés acquises à la suite des altérations génétiques, comme la prolifération continue et l'autonomie vis-à-vis de la « niche » environnementale dans laquelle se développent les cellules souches. L'auto-renouvellement (intrinsèque ou acquis dans le cas des progéniteurs) est un élément clé lors de l'initiation de l'oncogenèse où l'expansion des CSC permettra de former le *pool* initial de la tumeur. La capacité à se différencier des cellules issues de CSC peut être moins aboutie que dans le tissu normal. Elle dépend probablement à la fois du type de cellule transformée (CSN ou progéniteur), du type d'altérations génétiques subies, et des interactions restantes avec la « niche ». Ces variations expliquent l'hétérogénéité phénotypique que l'on retrouve dans les carcinomes mammaires.



**Figure 1. Différenciation de l'épithélium mammaire normal et tumoral. A. Le pool de cellules souches de l'épithélium mammaire normal (CSN) est globalement dans un état quiescent.** Une CSN peut se diviser de façon asymétrique afin de donner naissance à une cellule souche identique à la cellule d'origine grâce à la propriété d'auto-renouvellement, et une cellule progénitrice engagée dans la voie de la différenciation. La CSN nouvellement formée pourra retourner dans un état quiescent tandis que le progéniteur précoce va continuer à se diviser pour donner des progéniteurs tardifs qui évolueront en cellules spécialisées qui composent l'épithélium mammaire (cellules luminales, cellules myoépithéliales et cellules alvéolaires lactantes). **B. Lors de l'oncogenèse, les cellules ciblées par la transformation maligne pourront être soit les cellules souches, soit les progéniteurs de l'épithélium normal.** Les cellules souches transformées ou cellules souches cancéreuses (CSC) garderont les propriétés des cellules souches de l'épithélium normal, c'est-à-dire l'auto-renouvellement pour guider la tumorigénicité et la capacité à se différencier. Lorsque les CSC ont comme cellule d'origine un progéniteur, elles reacquièrent la propriété d'auto-renouvellement lors de la transformation maligne.

Au total, les CSC diffèrent des CSN par plusieurs critères inhérents à la transformation cancéreuse comme la prolifération anarchique guidée par des dysfonctionnements du programme d'auto-renouvellement, et une différenciation partielle et anormale. D'autres propriétés généralement attribuées aux CSN sont au contraire conservées dans les CSC. Ces propriétés incluent l'expression de l'activité télomérase, l'activation de voies de signalisation anti-apoptotiques, la possibilité d'entrer en phase de quiescence, l'augmentation de l'activité des transporteurs membranaires, des capacités de migration cellulaire, de survie en l'absence d'adhérence à un substrat, et de résistance à l'hypoxie [9]. Autant de propriétés qui vont donner aux CSC la possibilité de former des métastases et de résister aux traitements anti-tumoraux actuels. Les études de Balic *et al.* et celles de Sheridan *et al.* ont notamment illustré le potentiel métastatique des CSC mammaires en montrant leurs propriétés accrues d'invasivité, et la présence de CSC épithéliales dans la circulation sanguine de patientes atteintes de cancer du sein, [10, 11]. La résistance des CSC aux traitements actuels qui ciblent essentiellement des cellules en cycle, et les récidives qui en découlent, modifient notre vision de la prise en charge des patientes atteintes d'un cancer du sein.

### Les cellules souches cancéreuses mammaires

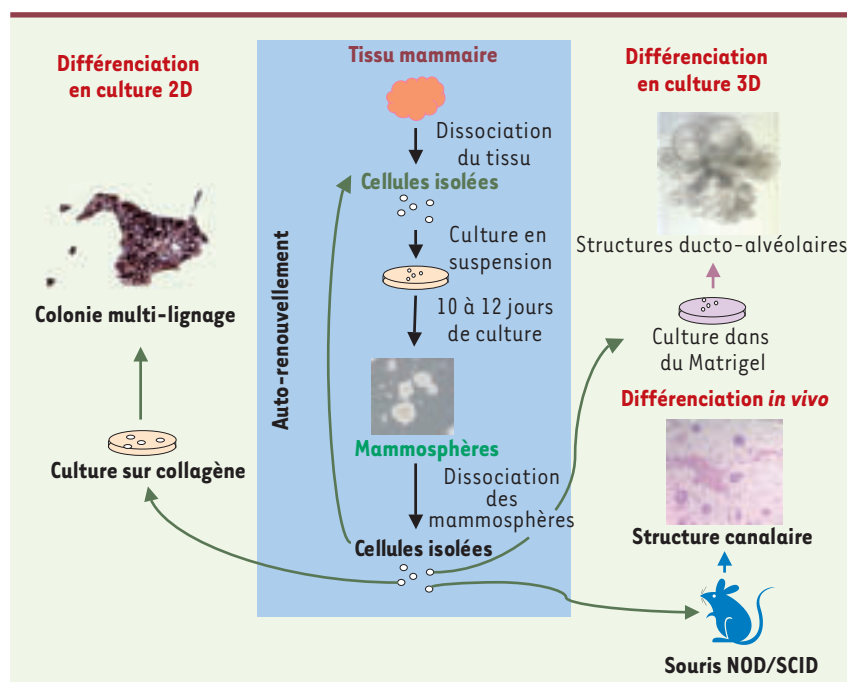
Des cellules cancéreuses ayant des propriétés de cellules souches pourraient être à l'origine de nombreux types de cancers. Les premières CSC ont été mises en évidence dans les leucémies il y a une dizaine d'années [12] mais ce n'est que plus récemment que des CSC ont été isolées dans les tumeurs solides. Ces CSC ont été identifiées et isolées dans une très grande variété de néoplasies comme les tumeurs du système nerveux, les carcinomes de la prostate, du sein, et du côlon, les mélanomes, les myélomes multiples, les adénocarcinomes du pancréas, et les cancers ORL [13-21].

Les méthodes permettant d'isoler les CSC utilisent deux principes différents, selon qu'elles se fondent sur des propriétés intrinsèques des cellules souches, communes quelle que soit la pathologie considérée, ou sur l'expression de marqueurs de

surface spécifiques, comportant souvent une spécificité d'organe et d'espèce. Associés à ces méthodes, des tests prouvant la tumorigénicité des fractions de cellules isolées permettent de confirmer la présence de CSC.

### Isolement d'une population dite Side Population

Une des méthodes les plus répandues et les plus anciennes utilisée pour isoler des CSC est la technique isolant une population appelée *Side Population* ou population SP. Elle repose sur la surexpression de pompes transmembranaires par les CSC (comme *ABCG2/BCRP1* pour *ATP-binding cassettes/breast cancer resistance protein*). Ces pompes permettent d'exclure diverses substances pénétrant dans la cellule [22]. L'incubation de cellules cancéreuses en présence de colorants vitaux tels que le Hoechst 33342 permet de distinguer les cellules différenciées gorgées de colorant des CSC qui rejettent le colorant. Une population SP a été trouvée dans la lignée cellulaire humaine de cancer du sein MCF-7 [23]. La population SP ne représente que 2 % de la population totale mais est la seule à former



**Figure 2. Les mammosphères : protocole expérimental et propriétés.** Le protocole expérimental de formation des mammosphères se fonde sur la mise en culture des cellules épithéliales mammaires issues de mammoplasties en suspension, dans un milieu ne contenant pas de sérum et supplémenté en facteurs de croissance. Dans ces conditions, la majorité des cellules entre en apoptose et seul un petit nombre de cellules est capable de survivre et de proliférer pour former des sphéroïdes multicellulaires appelés mammosphères. Ces cellules présentent des propriétés de CSN. Elles sont capables de s'auto-renouveler en donnant des mammosphères de seconde génération contenant des cellules ayant les mêmes propriétés que les mammosphères primaires. Les cellules des mammosphères cultivées en 2D sur du collagène se différencient et donnent naissance à des colonies multi-lignages. Lorsqu'elles sont cultivées en 3D dans du Matrigel elles donnent naissance à des structures ducto-alvéolaires. Enfin, l'injection de ces cellules dans le coussin adipeux mammaire de souris immunodéficientes NOD/SCID permet de reconstituer une structure mammaire humaine.

une tumeur lorsqu'elle est injectée chez la souris NOD/SCID en reconstituant l'hétérogénéité initiale de la lignée MCF-7 [23, 24].

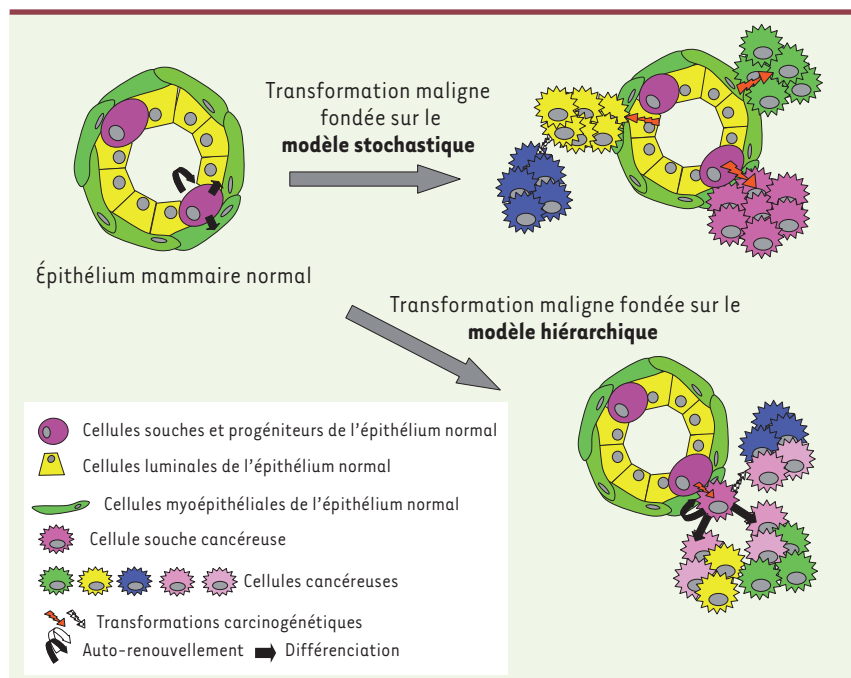
### Le phénotype $CD44^+CD24^{-/faible}lin^{-}$

Un seul phénotype de CSC mammaire humaine a été décrit [15]. Ce phénotype est fondé sur l'expression de marqueurs de surface et défini par l'expression de CD44 et l'absence ou la faible expression de CD24 ( $CD44^+CD24^{-/faible}lin^{-}$ )<sup>1</sup>. Cette population a été isolée à partir de tumeurs humaines xéngreffées dans le modèle murin NOD/SCID au niveau du coussin adipeux mammaire amputé de son rudiment épithélial et humanisé par la présence de fibroblastes humains. Un tout petit nombre (200) de ces cellules cancéreuses  $CD44^+CD24^{-/faible}lin^{-}$ , qui ne représentent que 1 % à 10 % de la tumeur, forment une tumeur après injection alors que 20 000 cellules ne possédant pas ce phénotype en sont incapables. Les tumeurs ainsi formées reproduisent l'hétérogénéité phénotypique décrite dans la tumeur d'origine et la population  $CD44^+CD24^{-/faible}lin^{-}$  peut être transplantée à nouveau dans différents animaux. Ces manipulations montrent les capacités d'autorenouvellement et de différenciation de la population  $CD44^+CD24^{-/faible}lin^{-}$  et donc la présence de CSC.

### L'aldéhyde déshydrogénase

Une nouvelle méthode permettant d'isoler les CSC de cancers du sein utilise l'expression d'une forte activité enzymatique de l'ALDH (aldéhyde déshydrogénase) [25]. Cette enzyme intervient dans le métabolisme de l'acide rétinolique et joue un rôle dans le contrôle de la différenciation cellulaire. Cette activité peut être mesurée et utilisée pour isoler les cellules la possédant, en utilisant un kit commercial (*kit ALDEFLUOR, Stem cell technologies*). Ce kit contient un substrat fluorescent spécifique de l'ALDH (BAAA) qui permet discriminer les cellules exprimant l'activité enzymatique, qui sont fluorescentes (ALDEFLUOR-positives), et les cellules n'exprimant pas cette activité, qui ne sont pas (ou peu) fluorescentes. Cette technique a déjà été utilisée afin d'isoler les CSC dans des pathologies aussi diverses que les leucémies ou le myélome multiple [26]. Dans le cas du cancer du sein, nous avons démontré que seules les cellules ALDEFLUOR-positives issues de tumeurs humaines et greffées dans la souris NOD/SCID sont tumorigènes et reconstituent l'hétérogénéité de la tumeur initiale, ce qui reflète les capacités d'auto-renouvellement et de différenciation de ces cellules.

Tous ces phénotypes permettent d'isoler des populations enrichies en CSC et sont indispensables à l'étude du rôle joué par ce petit nombre de cellules dans la croissance et l'évolution d'une tumeur. Les problèmes majeurs de l'étude de ces cellules reste leur faible représentation dans chaque tumeur et la difficulté de leur culture.



**Figure 3. Deux modèles hypothétiques de la transformation maligne.** Afin d'expliquer l'hétérogénéité tumorale régnant au sein d'une tumeur, deux hypothèses modélisant la transformation maligne ont été proposées. D'une part, le modèle stochastique dans lequel chaque cellule de l'épithélium mammaire peut être transformée et donner un clone tumoral composé de cellules qui ont toutes la capacité de proliférer de façon indéfinie et d'évoluer en réponse à l'accumulation de nouvelles altérations oncogéniques. D'autre part, le modèle hiérarchique dans lequel seule une cellule souche ou progénitrice peut être la cible de l'oncogenèse. Ainsi, seules les cellules souches cancéreuses vont proliférer de façon indéfinie et donneront naissance à l'hétérogénéité tumorale en contrôlant la différenciation.

### Les tumorsphères

Afin d'amplifier ces cellules *in vitro* en les gardant dans un état indifférencié, Ponti *et al.* ont adapté la technique des tumorsphères à la propagation des tumorsphères [27]. Tout comme leurs équivalents de l'épithélium normal sont enrichis en CSC, les tumorsphères sont enrichies en CSC, ce que traduit la présence au sein des tumorsphères d'une population SP importante, et d'un enrichissement en cellules  $CD44^+CD24^{-/faible}lin^{-}$ .

<sup>1</sup> Lin<sup>-</sup> désigne des cellules dépourvues de l'expression de marqueurs hématopoïétiques et endothéliaux différenciés, ce qui permet d'exclure toute contamination par des cellules circulantes ou vasculaires dans les préparations cellulaires.

Ces différentes méthodes sont encore balbutiantes, mais ouvrent des perspectives pour l'étude des CSC et pour la prise en charge thérapeutique des patientes atteintes de cancer du sein.

### Les CSC à la base des résistances thérapeutiques ?

Si les CSC sont au cœur du processus d'oncogenèse et de métastase, elles sont certainement aussi à l'origine d'un des mécanismes majeurs de la résistance thérapeutique et de la récurrence [7]. Même si, de manière générale, les stratégies de prise en charge thérapeutique ont prouvé leur efficacité (chirurgie, radiothérapie, chimiothérapie) dans le cancer du sein, un certain ralentissement de la courbe de survie malgré l'avènement de thérapies nouvelles peut suggérer l'existence d'une population cellulaire qui n'est pas sensible à ces traitements ou y échappe. Par ailleurs, il n'existe pas de traitement curatif en phase métastatique.

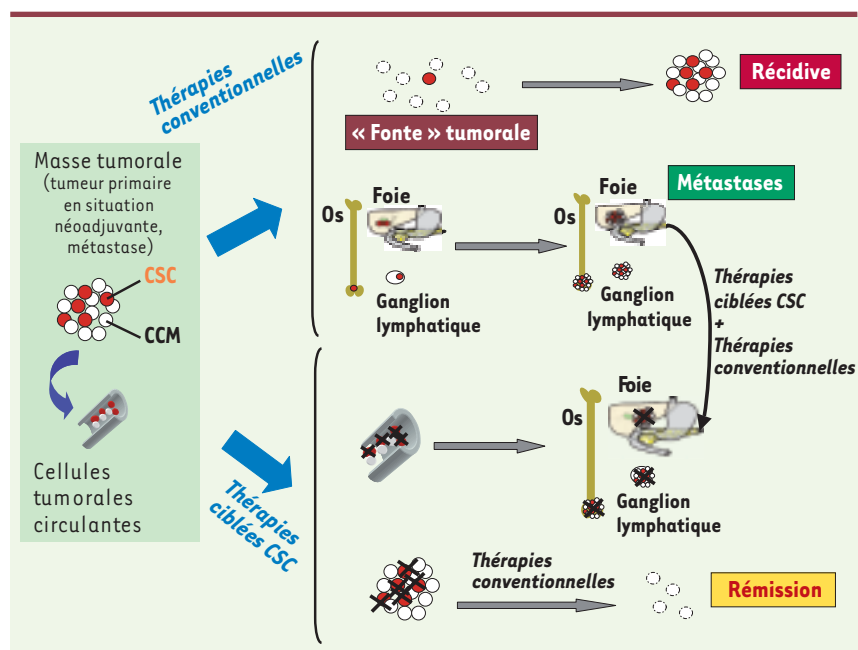
### Pourquoi les CSC seraient-elles résistantes aux traitements usuels ?

Tout d'abord, ces cellules expriment de manière intrinsèque de nombreuses molécules qui les rendent résistantes aux chimiothérapies, certaines étant même utilisées pour les isoler comme les transporteurs membranaires responsables de l'efflux du Hoechst (technique de *Side Population*). Bloquer ces pompes avec des inhibiteurs spécifiques pourrait être une perspective thérapeutique intéressante, mais les essais cliniques se heurtent à des difficultés pratiques. D'une part, une toxicité importante, car ces molécules peuvent être très exprimées dans le tissu normal et pas seulement par les CSC. D'autre part, des variations dans la pharmacocinétique des drogues liées à la présence de polymorphismes particuliers, dans le gène *ABCG2* notamment [28].

La résistance aux chimiothérapies classiques est aussi liée à une caractéristique essentielle des cellules souches, leur capacité d'entrer en quiescence. Les CSC conservent une quiescence relative par rapport aux progéniteurs et aux cellules plus différenciées du reste de la tumeur. Cela les rend moins accessibles aux drogues anti-cancéreuses anti-mitotiques qui ciblent des cellules en division.

La radiothérapie utilise les radiations ionisantes pour créer des lésions irréparables de l'ADN et arrêter la croissance des cellules qui ne se divisent plus et meurent. Très largement utilisée dans le traitement des cancers, elle l'est particulièrement dans les tumeurs cérébrales et les cancers du sein. Les études sur les glioblastomes permettent de penser que les CSC identifiées sur la base de l'expression de l'antigène de surface CD133 (prominine) résisteraient aussi à l'irradiation par l'intermédiaire de protéines régulatrices des points de contrôle du cycle cellulaire comme CHK1 et CHK2 [29, 30]. Dans les cancers du sein, des cellules ayant un phénotype de CSC seraient relativement résistantes à la radiothérapie, comme en témoigne une étude récente effectuée à partir de lignées cellulaires [31].

La récurrence tumorale peut survenir après une phase initiale de réponse thérapeutique avec régression tumorale ou même disparition totale de la tumeur. Elle pourrait être liée au fait que les thérapies utilisées ne ciblent pas les CSC. Ces cellules persistant, même en très petit nombre, peuvent proliférer à nouveau et reconstituer la tumeur dans toute sa diversité phénotypique [7] (Figure 4).



**Figure 4. L'hypothèse de la cellule souche cancéreuse face aux thérapies.** Si l'on considère que le modèle hiérarchique décrit la réalité de la transformation maligne et de l'évolution tumorale, il faut alors repenser les effets des thérapies conventionnelles pour le traitement du cancer. Ces thérapies induisent la fonte tumorale en ciblant les cellules de la masse tumorale (cellules cancéreuses matures, CCM) (qui sont en cycle) mais ne détruisent pas les cellules souches cancéreuses (CSC) qui résistent aux traitements et sont à l'origine des récurrences ou des métastases. Des thérapies spécifiques ciblant les CSC permettraient d'éliminer le pool de CSC présentes dans la masse tumorale en situation primaire (chimiothérapie néoadjuvante) et les CSC micrométastatiques ou présentes dans les métastases constituées. Ces thérapies, associées aux thérapies conventionnelles, permettraient d'induire une rémission complète chez les patients grâce à l'élimination de l'ensemble des cellules de la masse tumorale en situation primaire comme métastatique.

## Vers une thérapie ciblant les cellules souches cancéreuses

Cibler les CSC pourrait donc représenter un enjeu majeur dans le traitement des cancers du sein. Quelques exemples existent déjà dans d'autres pathologies, et ouvrent la voie à des thérapies ciblées sur des propriétés spécifiques des cellules souches, auto-renouvellement ou différenciation. La voie de signalisation Hedgehog est largement impliquée dans l'auto-renouvellement des cellules souches et est également activée dans de nombreuses tumeurs. Dans les tumeurs gliales, elle est indispensable à l'auto-renouvellement des CSC exprimant CD133. Son inhibition par interférence ARN (*via* la transfection de vecteurs lentiviraux) ou par un inhibiteur spécifique, la cyclopamine, est efficace sur la croissance et l'auto-renouvellement des tumeurs gliales dans un modèle de xénogreffes en comparaison d'un traitement de référence [32]. La voie de signalisation NOTCH est également impliquée dans de nombreuses tumeurs dont les tumeurs mammaires. Elle intervient dans l'auto-renouvellement des cellules souches et bloque leur différenciation. Des inhibiteurs de l'activation des protéines NOTCH, les inhibiteurs de  $\gamma$ -sécrétases, ont montré leur efficacité sur la baisse du taux de prolifération et sur l'altération de la différenciation des cellules souches mésenchymateuses [33]. Associées à des anticorps neutralisants, ces drogues ont montré leur effet inhibiteur sur la capacité des CSC à former des « tumorosphères » [34].

Certaines stratégies thérapeutiques consistent à forcer la différenciation qui est bloquée dans certaines tumeurs. Ce blocage peut concerner une part plus ou moins importante des cellules tumorales comme c'est le cas dans un type particulier de leucémie aiguë myéloïde (LAM3) où les cellules leucémiques non différenciées s'accumulent dans la moelle osseuse. Dans ce cas, la différenciation est forcée par l'administration d'acide tout-*trans*-rétinoïque (ATRA), et cette molécule, associée à une chimiothérapie, a montré son efficacité en termes de survie sans récurrence [35]. Malgré de nombreuses études démontrant le potentiel anti-cancéreux des rétinoïdes dans les tumeurs solides et dans le cancer du sein notamment [36, 37], les résultats des essais cliniques se sont révélés décevants [38]. L'administration d'ATRA dans les tumeurs solides se heurte à des phénomènes de résistances complexes [39]. De nouvelles thérapies combinées utilisant des agents bloquants du métabolisme de l'acide rétinoïque pourraient se révéler prometteuses [38].

Enfin, une stratégie pour cibler les CSC en thérapeutique pourrait être d'utiliser des marqueurs spécifiques de ces CSC. Dans la leucémie aiguë myéloïde, l'administration d'un anticorps monoclonal anti-CD44 a prouvé son efficacité dans la réduction du *pool* de cellules souches leucémiques dans un modèle de xénogreffes chez la souris NOD/SCID [40]. Cette stratégie pourrait s'avérer efficace dans le cancer du sein. Les cellules tumorales disséminées dans la moelle osseuse (micro-métastases) de patientes porteuses d'un cancer du sein non métastatique ont en grande partie un phénotype de CSC CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup> [10]. Cibler ces CSC pourrait être une stratégie innovante et constituer une perspective intéressante des thérapies ciblées. Celles-ci ne cibleraient plus un type particulier de tumeur mais un type particulier de cellules tumorales.

Stratégie classique et stratégie anti-CSC pourraient être complémentaires. C'est ce que suggèrent les études concernant la résistance à l'une des premières thérapies ciblées, l'Herceptin® (Trastuzumab), un anticorps monoclonal humanisé ciblant une population tumorale surexprimant l'oncoprotéine ERBB2. La résistance à cette thérapeutique pourrait être au moins en partie conférée par un défaut de la voie PTEN (*phosphatase and tensin homolog*). Cette voie est importante pour l'auto-renouvellement des CSC et son inactivation conduit à une expansion de la population de cellules souches dans le système hématopoïétique ou intestinal [41, 42]. Cette expansion pourrait être à l'origine de la résistance thérapeutique. Des modulateurs de l'inactivation de la voie PTEN comme les inhibiteurs des PI3-kinases pourraient forcer la résistance à l'Herceptin® [43].

Enfin, l'étude des CSC, facilitée par les nouvelles techniques d'isolement et de caractérisation cellulaires, permettra sans doute de mettre à jour de nouvelles cibles thérapeutiques spécifiques des CSC et de développer ainsi de nouvelles drogues plus efficaces pour lutter contre le cancer du sein.

## Conclusions

Cette idée ancienne [44], énoncée il y a 150 ans, selon laquelle une population rare de cellules pourrait piloter l'ensemble de la masse tumorale, tend à être prouvée par les études de ces dernières années. L'existence des cellules souches cancéreuses va modifier considérablement, à différents niveaux, la compréhension physiopathogénique du cancer mais aussi la prise en charge thérapeutique des patientes. Tout d'abord, au niveau de la compréhension de l'origine du cancer et de la transformation maligne, avec des implications concrètes pour la détection précoce de la maladie et sa prévention. Ensuite, au niveau de l'évolution du cancer et notamment des phénomènes de résistance aux traitements, débouchant sur de nouvelles perspectives thérapeutiques plus ciblées sur la cellule responsable de la maladie. Enfin, au niveau de la propagation de la maladie, en éclairant d'un jour nouveau le processus métastatique afin de pouvoir en améliorer la détection et le traitement. ♦

## SUMMARY

### The cancer stem cell: the breast cancer driver

Recent research in a large variety of tumors, including breast cancer, has given support to the "cancer stem cell hypothesis". Based on this, tumors contain and are driven by a cellular subcomponent that retains key stem

cell properties. These include self-renewal, which drives tumorigenesis, and the capacity to generate cellular heterogeneity. Recently, different techniques have been used to isolate potential breast cancer stem cells with the cell surface phenotype CD44<sup>+</sup>CD24<sup>-/low</sup>lin<sup>-</sup> or expressing Aldehyde dehydrogenase. This model has fundamental implications for breast cancer treatment. The development of specific therapeutics that target this population is an important focus for the future. ♦

## RÉFÉRENCES

- Birnbaum D, Bertucci F, Ginestier C, et al. Basal and luminal breast cancers: basic or luminous? *Int J Oncol* 2004; 25 : 249-58.
- Smith GH. Label-retaining epithelial cells in mouse mammary gland divide asymmetrically and retain their template DNA strands. *Development* 2005; 132 : 681-7.
- Deugnier MA, Petit V, Taddei de la Housseraye I, et al. Vers la caractérisation des cellules souches de la glande mammaire adulte. *Med Sci (Paris)* 2007; 23 : 1125-32.
- Shackleton M, Vaillant F, Simpson KJ, et al. Generation of a functional mammary gland from a single stem cell. *Nature* 2006; 439 : 84-8.
- Dontu G, Abdallah WM, Foley JM, et al. *In vitro* propagation and transcriptional profiling of human mammary stem/progenitor cells. *Genes Dev* 2003; 17 : 1253-70.
- Kuperwasser C, Chavarria T, Wu M, et al. Reconstruction of functionally normal and malignant human breast tissues in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101 : 4966-71.
- Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001; 414 : 105-11.
- Krivtsov AV, Twomey D, Feng Z, et al. Transformation from committed progenitor to leukaemia stem cell initiated by MLL-AF9. *Nature* 2006; 442 : 818-822.
- Wicha MS, Liu S, Dontu G. Cancer stem cells: an old idea: a paradigm shift. *Cancer Res* 2006; 66 : 1883-90.
- Balic M, Lin H, Young L, et al. Most early disseminated cancer cells detected in bone marrow of breast cancer patients have a putative breast cancer stem cell phenotype. *Clin Cancer Res* 2006; 12 : 5615-21.
- Sheridan C, Kishimoto H, Fuchs RK, et al. CD44<sup>+</sup>. *Breast Cancer Res* 2006; 8 : R59.
- Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997; 3 : 730-7.
- Li C, Heidt DG, Dalerba P, et al. Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res* 2007; 67 : 1030-7.
- Prince ME, Sivanandan R, Kaczorowski A, et al. Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104 : 973-8.
- Al-Hajj M, Wicha MS, Ito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100 : 3983-3988.
- Collins AT, Berry PA, Hyde C, et al. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res* 2005; 65 : 10946-51.
- Fang D, Nguyen TK, Leishear K, et al. A tumorigenic subpopulation with stem cell properties in melanomas. *Cancer Res* 2005; 65 : 9328-37.
- Matsui W, Huff CA, Wang Q, et al. Characterization of clonogenic multiple myeloma cells. *Blood* 2004; 103 : 2332-6.
- O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, Dick JE. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature* 2007; 445 : 106-10.
- Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E, et al. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature* 2007; 445 : 111-5.
- Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, et al. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res* 2003; 63 : 5821-8.
- Lou H, Dean M. Targeted therapy for cancer stem cells: the patched pathway and ABC transporters. *Oncogene* 2007; 26 : 1357-60.
- Kondo T, Setoguchi T, Taga T. Persistence of a small subpopulation of cancer stem-like cells in the C6 glioma cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101 : 781-6.
- Patrawala L, Calhoun T, Schneider-Broussard R, et al. Side population is enriched in tumorigenic, stem-like cancer cells, whereas ABCG2<sup>+</sup> and ABCG2<sup>-</sup> cancer cells are similarly tumorigenic. *Cancer Res* 2005; 65 : 6207-19.
- Ginestier C, Hur MH, Charaffe-Jauffret E, et al. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell* 2007; 1 : 555-67.
- Corti S, Locatelli F, Papadimitriou D, et al. Identification of a primitive brain-derived neural stem cell population based on aldehyde dehydrogenase activity. *Stem Cells* 2006; 24 : 975-85.
- Ponti D, Costa A, Zaffaroni N, et al. Isolation and *in vitro* propagation of tumorigenic breast cancer cells with stem/progenitor cell properties. *Cancer Res* 2005; 65 : 5506-11.
- Robey RW, Polgar O, Deeken J, et al. ABCG2: determining its relevance in clinical drug resistance. *Cancer Metastasis Rev* 2007; 26 : 39-57.
- Bao S, Wu Q, McLendon RE, et al. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature* 2006; 444 : 756-60.
- Hambardzumyan D, Squatrito M, Holland EC. Radiation resistance and stem-like cells in brain tumors. *Cancer Cell* 2006; 10 : 454-6.
- Phillips TM, McBride WH, Pajonk F. The response of CD24<sup>(-)/low</sup>/CD44<sup>+</sup> breast cancer-initiating cells to radiation. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98 : 1777-85.
- Clement V, Sanchez P, de TN, et al. HEDGEHOG-GLI1 signaling regulates human glioma growth, cancer stem cell self-renewal, and tumorigenicity. *Curr Biol* 2007; 17 : 165-72.
- Vujovic S, Henderson SR, Flanagan AM, Clements MO. Inhibition of gamma-secretases alters both proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells. *Cell Prolif* 2007; 40 : 185-95.
- Farnie G, Clarke RB, Spence K, et al. Novel cell culture technique for primary ductal carcinoma *in situ*: role of Notch and epidermal growth factor receptor signaling pathways. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99 : 616-27.
- Tallman MS, Nabhan C, Feusner JH, Rowe JM. Acute promyelocytic leukemia: evolving therapeutic strategies. *Blood* 2002; 99 : 759-67.
- Van HJ, Van GR, Bruwier H, et al. Inhibition of all-TRANS-retinoic acid metabolism by R116010 induces antitumour activity. *Br J Cancer* 2002; 86 : 605-11.
- Wouters W, van DJ, Dillen A, et al. Effects of liarozole, a new antitumoral compound, on retinoic acid-induced inhibition of cell growth and on retinoic acid metabolism in MCF-7 human breast cancer cells. *Cancer Res* 1992; 52 : 2841-6.
- Patel JB, Mehta J, Belosay A, et al. Novel retinoic acid metabolism blocking agents have potent inhibitory activities on human breast cancer cells and tumour growth. *Br J Cancer* 2007; 96 : 1204-15.
- Parisotto M, Broder H, Bhat PV, Mader S. Retinoid metabolism and cancer. *Med Sci (Paris)* 2006; 22 : 1101-6.
- Jin L, Hope KJ, Zhai Q, et al. Targeting of CD44 eradicates human acute myeloid leukemic stem cells. *Nat Med* 2006; 12 : 1167-74.
- Cheung AM, Mak TW. PTEN in the haematopoietic system and its therapeutic indications. *Trends Mol Med* 2006; 12 : 503-5.
- He XC, Yin T, Grindley JC, et al. PTEN-deficient intestinal stem cells initiate intestinal polyposis. *Nat Genet* 2007; 39 : 189-98.
- Nagata Y, Lan KH, Zhou X, et al. PTEN activation contributes to tumor inhibition by trastuzumab, and loss of PTEN predicts trastuzumab resistance in patients. *Cancer Cell* 2004; 6 : 117-27.
- Durante F. Nesso fisio-patologico tra la struttura dei nei materni e la genesi di alcuni tumori maligni. *Arch Memor Observ Chir Pract* 1874; 11 : 217-26.

TIRÉS À PART

C. Ginestier



*Médecine/Sciences* est une revue internationale mensuelle francophone d'information dans tous les domaines de la biologie et de la médecine. Elle traite des principales découvertes, des sujets d'actualité, qu'il s'agisse de nouvelles technologies, de progrès thérapeutiques, ou de l'apparition de pathologies nouvelles dans le monde.

En écrivant dans *m/s*, les auteurs voient leurs articles référencés dans PubMed, mais ont, de surcroît, le plaisir de faire partager aux lecteurs, dans leur langue, leur intérêt et parfois leur enthousiasme, pour tel ou tel sujet, en y apportant leur touche d'humour et de culture, surtout dans la partie Forum, où la plus grande liberté d'expression est autorisée.

Toutefois, comme la revue s'adresse à un lectorat très varié de scientifiques confirmés, d'enseignants, d'étudiants et de médecins, elle implique de la part des auteurs de développer leurs sujets, en allant jusqu'au bout des connaissances scientifiques, quelle qu'en soit la difficulté. Cette recommandation est particulièrement dédiée aux Synthèses, qui ont pour ambition de faire le point sur un sujet donné, mais aussi d'adopter un style aussi clair et accessible que possible, quel que soit le niveau technique ou théorique de leur propos, afin d'être intelligible par les non spécialistes.

La rédaction de la revue demande à tout auteur, sollicité ou proposant spontanément un manuscrit, de se conformer à quelques règles qui ne pourront qu'en faciliter l'évaluation et, une fois celui-ci accepté, d'en hâter la publication :

- écarter autant que faire se peut tous les mots anglais et éviter les anglicismes, tant sur le plan du vocabulaire que de la syntaxe ;
- toujours définir les acronymes ;
- rassembler en tableaux, glossaires, les précisions techniques, méthodologiques, les termes peu répandus et les compléments d'information qui surchargeraient le texte ;
- respecter la longueur du manuscrit et le nombre de références.

## Les rubriques de *m/s*

Pour le format et la présentation des articles, *médecine/sciences* propose trois formules.

1. La partie **Revue** présente des **Synthèses** qui font le point sur un sujet par un auteur spécialiste du domaine. Les synthèses véhiculent une pensée, un esprit critique, un message, au-delà du catalogue des faits collectés sur un sujet. Elles doivent permettre une vraie discussion des résultats scientifiques.

Cette partie comporte également des **Dossiers techniques** (exposé d'une technique ou d'un ensemble de techniques susceptible(s) de favoriser le développement de recherches en sciences biomédicales).

2. La partie **Forum** propose des **Faits et Chiffres** dans le domaine de l'épidémiologie, de la démographie, de l'économie de la santé..., et des articles de réflexion, c'est-à-dire, des **Perspectives** et des **Chroniques** sur des sujets faisant l'objet de débats dans la communauté scientifique, ainsi que des revues sur **l'Histoire biomédicale, les Sciences sociales et la santé, la Santé et l'environnement**, entre autres.

3. La partie **Magazine** est le reflet de l'actualité scientifique, faisant état, dans des textes courts, de résultats originaux importants récemment publiés. Elle est

constituée soit de **Nouvelles**, spontanées ou sollicitées, soit de **Brèves**, courtes notes de lecture.

Tous les articles de *m/s* sont signés par leurs auteurs

## Normes générales de présentation des articles

**Textes et tableaux** adressés en fichiers Word, PC ou Macintosh (enregistrements en .doc, format PDF exclus) - illustrations en fichiers séparés. Tableaux et illustrations appelés dans le texte.

**Illustrations** : schémas en format Illustrator ou PowerPoint, photos en format jpeg ou tif. Lorsque nécessaire, l'échelle de l'image doit apparaître dans l'illustration et sa valeur être indiquée dans la légende. Légendes complètes et détaillées des figures et tableaux.

Illustrations numérotées en chiffres arabes (ex : figure 1) et tableaux en chiffres romains (ex : tableau II).

**Important** : les auteurs sont priés de mentionner tout conflit d'intérêt potentiel concernant l'article soumis à publication dans *m/s*, en particulier de nature financière. Cette information sera gardée confidentielle par la rédaction de *m/s* jusqu'à la publication de l'article.

## Les Synthèses

Elles ne peuvent excéder 18 000 caractères (espaces compris, références exclues), 30 références et 3 à 4 illustrations (figures et tableaux), avec un titre en français et en anglais.

Elles doivent être accompagnées d'un texte d'environ 700 caractères destiné à offrir un aperçu rapide du sujet et à susciter l'intérêt du lecteur (chapô) ; celui-ci figurera en caractères gras en tête de l'article. Un résumé en anglais d'environ 1 000 caractères doit être fourni, nécessaire à l'indexation de l'article dans PubMed.

Un encadré « Prise de distance » de 1 000 à 1 500 caractères pourra souligner les implications conceptuelles ou méthodologiques posées par les résultats et les stratégies futures pour les résoudre.

## Présentation des références

Appelées dans le texte par leurs numéros entre crochets ([1], [2], [3-5]) et classées par ordre d'apparition dans l'article.

Pour éviter toute redondance, alléger les textes et souligner la dynamique des connaissances, il est recommandé aux auteurs de rechercher et de mentionner les articles parus précédemment dans *médecine/sciences* sur le sujet.

Tous les noms des auteurs sont mentionnés, suivis des initiales de leurs prénoms, jusqu'au nombre de quatre. Au delà, les trois premiers le sont, suivis de *et al.* (en italique).

## Pour les articles de revues

**Exemple** : Sivori S, Falco M, Della Chiesa M, *et al.* CpG and double-stranded RNA trigger human NK cells by Toll-like receptors: induction of cytokine release and cytotoxicity against tumors and dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 10116-21.

## Pour les articles d'ouvrages

**Exemple** : Ménard D, Beaulieu JF, Boudreau F, *et al.* Gastrointestinal tract. In : Unsicker K, Kriegstein K, eds. *Cell signaling and growth factors*. New York: Wiley, 2005: 755-90.

## Pour les ouvrages

**Exemple** : Kupiec JJ, Sonigo P. *Ni Dieu ni gène*. Paris : Seuil, 2004 : 230 p.

## Les Nouvelles

6 000 caractères au maximum (espaces compris, références exclues), 10 références au plus et 1 à 2 figures. Un titre en français et en anglais.

Présentation des références identique à celle des Synthèses (voir plus haut).

## Les Brèves

2 000 caractères au maximum (espaces compris).

**Exemple de référence** : Chneiweiss H, *et al.* *Med Sci (Paris)* 2002 ; 18 : 1065-75.

**Tous les articles** doivent être accompagnés des **coordonnées** de tous les auteurs : • nom et prénom, • institution, • adresse professionnelle, • téléphone, télécopie et courriel.

## Contacts :

**Rédaction Paris** : [contact@medecinesciences.org](mailto:contact@medecinesciences.org)

**Rédaction Québec** : [medecine.sciences@bellnet.ca](mailto:medecine.sciences@bellnet.ca)

## SOUSSION ÉLECTRONIQUE MÉDECINE/SCIENCES

*Médecine/Sciences* est dotée d'une gestion éditoriale automatisée, via le système informatique Fontisworks (<http://msc.fontismedia.com>). Tous les manuscrits, Éditoriaux, Synthèses, Brèves, Nouvelles, Forum, doivent être soumis par voie électronique, et nos experts devront également soumettre leur évaluation par voie électronique.

La marche à suivre est très simple : le nouvel utilisateur accède à la page d'accueil du site de soumission en ligne de *Médecine/Sciences* à l'adresse suivante : <http://msc.fontismedia.com> et clique sur le bouton « accès auteur » (ou « accès expert ») dans la liste de liens figurant sur l'écran qui s'affiche. Si l'utilisateur est un auteur, il sera d'abord invité à créer son compte en s'enregistrant. Il recevra un mail de confirmation contenant son mot de passe. L'enregistrement ne s'effectue qu'une seule fois, lors de la toute première utilisation. À chaque connexion suivante, il suffit de cliquer directement sur « auteur » pour s'identifier, saisir le nom d'utilisateur (mail) et le mot de passe pour entrer dans le système. Une fois dans le système, l'auteur souhaitant soumettre un manuscrit suit le cheminement indiqué pour saisir les différentes informations afférant à la soumission, ainsi que pour télécharger les fichiers de son manuscrit.

Les experts, eux, seront d'abord sollicités par mail, et devront, lors d'une première étape, accepter ou refuser l'expertise en entrant dans le système via « l'accès expert », en indiquant l'identifiant (adresse e-mail) et le numéro du manuscrit (msc + N°) qui leur aura été indiqué dans le mail de sollicitation. Puis, comme précédemment, suivre les informations pour télécharger le manuscrit à évaluer, puis, dans un second temps, déposer leur expertise. Tous les documents nécessaires à la soumission en ligne sont accessibles sur la page de garde du site *M/S* de Fontismedia.

Les auteurs qui ne pourraient pas soumettre leur manuscrit via Fontismedia auront la possibilité de le soumettre par e-mail au secrétariat de *Médecine/Sciences* : [secretariat@medecinesciences.org](mailto:secretariat@medecinesciences.org)

**Toute information complémentaire et toute aide pourront être apportées par le secrétariat de M/S ([secretariat@medecinesciences.org](mailto:secretariat@medecinesciences.org)) (Tél : 01 55 64 13 93).**