



entre les gènes de la signature *stromal-2* et de l'angiogénèse.

Adapter la démarche thérapeutique à la signature stromale ?

De manière primordiale pour la compréhension de la biologie des DLBCL, le modèle de survie retenu par G. Lenz *et al.* inclut deux signatures stromales distinctes, *stromal-1* et *stromal-2*, qui d'une part témoignent de l'importance des relations tumeur-micro-environnement dans la survie et la prolifération des DLBCL, et d'autre part affinent la stratification des DLBCL en termes pronostiques. En effet, la découverte de deux signatures stromales distinctes, l'une associée à un pronostic favorable et la seconde à un pronostic défavorable, suggère une réponse différente de la tumeur suivant la contribution relative de chaque signature. Il est dès lors possible d'envisager dans un proche avenir de nouveaux essais cliniques incluant des combinaisons thérapeutiques de type anti-angiogénique dans les tumeurs où la composante stromale de type 2

serait majoritaire [7] ou, à l'inverse, des immunothérapies visant à perturber/stimuler la réponse immune de l'hôte vis-à-vis de la tumeur et/ou interférer avec certaines interactions privilégiées avec son micro-environnement.

Une meilleure compréhension des bases biologiques qui gouvernent ces différences en termes de survie et/ou de réponse à la thérapie devrait à terme fournir non seulement une méthode rationnelle de stratification du risque permettant de guider le traitement des patients, mais aussi orienter vers des approches thérapeutiques spécifiques pour un patient donné et adaptées à la biologie propre de la tumeur. D'un point de vue pragmatique, le travail du groupe de Louis M. Sautt constitue une étape supplémentaire vers une application clinique en routine des profils d'expression génique : en ouvrant la voie à l'identification d'un groupe restreint de gènes clés représentatifs de chaque signature, accessibles par simple immuno-histochimie, mais néanmoins discriminants aux niveaux pronostique et thérapeutique. ♦

The profiling era: towards innovative approaches for tailored therapy

RÉFÉRENCES

1. Rosenwald A, Wright G, Chan WC, *et al.* The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002 ; 346 : 1937-47.
2. Lenz G, Wright G, Dave SS, *et al.* Stromal gene signatures in large B-cell lymphomas. *N Engl J Med* 2008 ; 359 : 2313-23.
3. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, *et al.* Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000 ; 403 : 503-11.
4. Lossos IS, Czerwinski DK, Alizadeh AA, *et al.* Prediction of survival in diffuse large-B-cell lymphoma based on the expression of six genes. *N Engl J Med* 2004 ; 350 : 1828-37.
5. Coiffier B, Lepage E, Briere J, *et al.* CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002 ; 346 : 235-42.
6. Fu K, Weisenburger DD, Choi WWL, *et al.* Addition of rituximab to standard chemotherapy improves the survival of both the germinal center B-cell-like and non-germinal center B-cell-like subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2008 ; 26 : 4587-94.
7. Ganjoo KN, An CS, Robertson MJ, *et al.* Rituximab, Bevacizumab and CHOP (RA-CHOP) in untreated diffuse large B-cell lymphoma: safety, biomarker and pharmacokinetic analysis. *Leuk Lymph* 2006 ; 47 : 998-1005.

NOUVELLE

Du nouveau sur la régulation de la réparation de l'ADN par excision de nucléotides

Yannick Auclair, Raphaël Rouget, Elliot A. Drobetsky

Faculté de médecine,
Université de Montréal
et Centre de recherche,
Hôpital Maisonneuve-Rosemont,
5145, boulevard de l'Assomption,
Montréal, Québec, H1T 2M4 Canada.
elliot.drobetsky@umontreal.ca

► La réparation par excision de nucléotides (*nucleotide excision repair, NER*) corrige une grande variété de lésions de l'ADN qui provoquent une distorsion de la double hélice et qui, par conséquent, bloquent la transcription et la répllication [1] (voir *Figure 1* pour une description détaillée). Ces lésions peuvent être causées par une multitude d'agents environnementaux. Entre autres, les CPD (dimères de cyclobutane-pyrimidine) et les 6-4PP (pyrimidine (6-4) pyrimidone),

provoqués par les rayons ultraviolets solaires (UV), sont les principaux facteurs étiologiques du cancer de la peau [2]. La maladie récessive autosomique *Xeroderma pigmentosum* (XP) illustre de façon exemplaire l'importance de la NER. Cette perturbation génétique est caractérisée par un défaut de la NER engendré par des mutations affectant des gènes (*XP-A* à *XP-G*) directement impliqués dans cette voie de réparation. Les personnes atteintes manifestent une

hypersensibilité aux UV (coups de soleil sévères, pigmentation anormale, troubles oculaires) ainsi qu'une très forte prédisposition au développement de tumeurs cutanées. L'âge médian de survenue du premier cancer est d'environ 8 ans. De plus, près du tiers des patients présente des affections neurologiques sévères comme une microcéphalie et des troubles du développement [3]. Depuis sa découverte, la NER a été très étudiée et le processus reconstitué *in*

in vitro. Néanmoins, sa régulation demeure mal comprise. En réponse aux UV (et aux autres agents provoquant un stress réplicatif), la kinase ATR (*Ataxia telangiectasia and rad 3-related*) est activée et joue un rôle protecteur considérable [4]. Entre autres, ATR phosphoryle le suppresseur de tumeur p53 [5], un

important régulateur du cycle cellulaire et de l'apoptose, également requis pour une NER efficace [6]. Mis à part p53, ATR phosphoryle une pléthore de protéines intervenant de façon critique dans la réponse aux stress génotoxiques et dont certaines sont directement associées à la NER (XP-A, RP-A) [7]. Toutefois,

aucune étude n'avait jusqu'à maintenant montré l'efficacité de la NER dans des cellules humaines dont l'activité d'ATR est inhibée. Par conséquent, nous avons émis l'hypothèse qu'ATR puisse participer à la NER, et ce spécifiquement au cours de la phase S du cycle cellulaire conformément à son rôle prééminent durant la réplication de l'ADN.

Cependant, en raison de diverses considérations techniques, d'une façon générale, les méthodes traditionnelles d'étude de la NER excluent les cellules en phase S de l'analyse. Pour pallier ce problème, nous avons utilisé des anticorps hautement spécifiques des CPD et des 6-4PP, en conjonction avec la cytométrie en flux, afin de mettre au point une nouvelle technique permettant de quantifier précisément la cinétique de réparation de ces photoproduits en fonction du cycle cellulaire. Grâce à cette méthode, nous avons pu démontrer que dans les cellules humaines dont l'activité d'ATR est abrogée, la correction des dommages causés

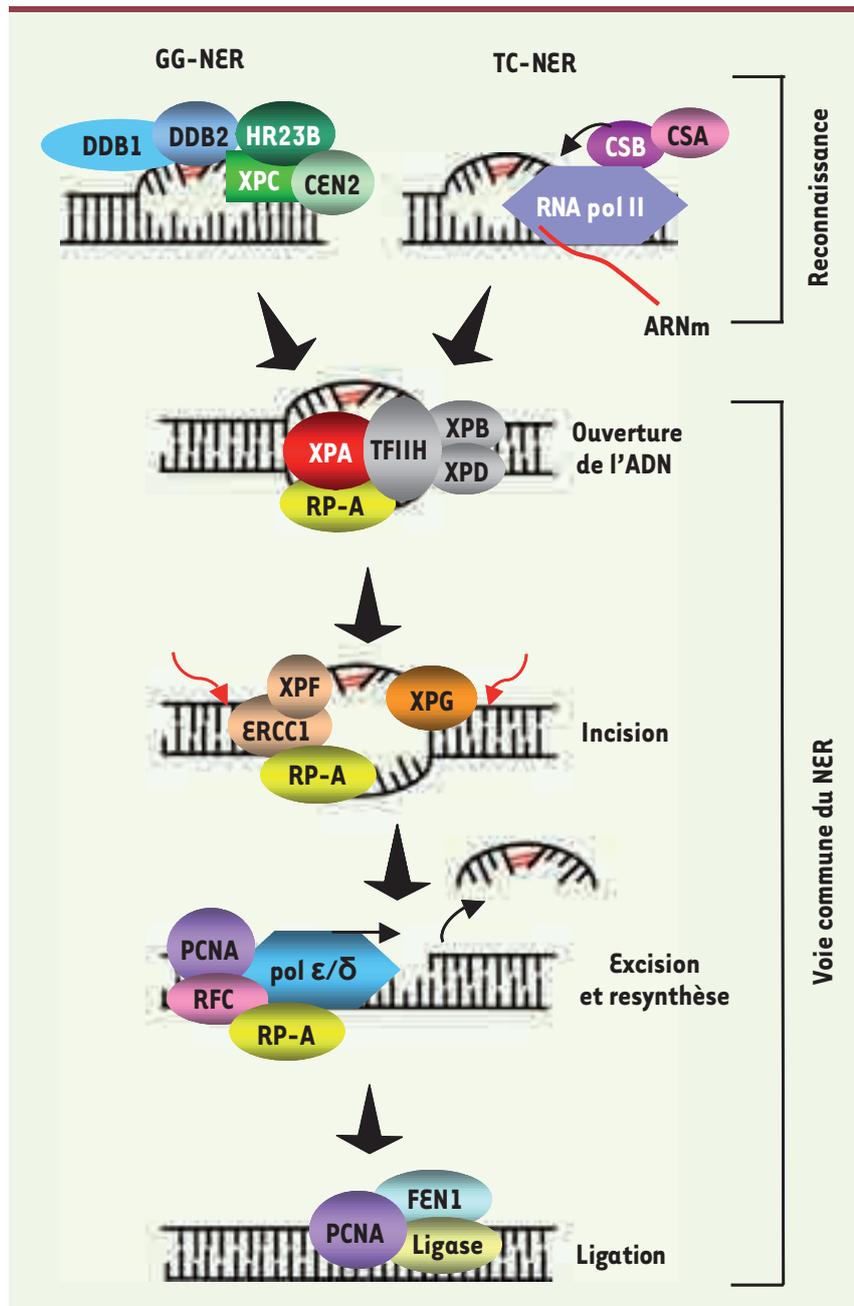


Figure 1. Réparation par excision de nucléotides.

La NER procède selon deux sous-voies chevauchantes qui se distinguent uniquement à l'étape de reconnaissance de la lésion : (1) la réparation globale (*global genomic NER*, GG-NER) qui éradique des lésions dans l'ensemble du génome et (2) la réparation couplée à la transcription (*transcription coupled NER*; TC-NER) qui agit uniquement sur le brin transcrit des gènes actifs. Lors de la GG-NER, via leurs capacités à déceler d'importantes déformations structurales, l'hétérodimère DDB1-DDB2 et/ou le complexe hétérotrimérique XPC-HR23B-CEN2 détectent les lésions. Alternativement, lors de la TC-NER, le blocage de l'ARN polymérase au site endommagé émet le signal à l'origine du recrutement des protéines CSA (*Cockayne syndrome A protein*) et CSB. À la suite de l'une ou l'autre de ces étapes de reconnaissance, la voie commune de la NER est mobilisée séquentiellement de la manière suivante : (1) les ADN hélicases (XPB et XPD), composantes du facteur

de transcription TFIIH, déroulent la double hélice d'ADN ; (2) les protéines RPA (*replication protein A*) et XPA sont sollicitées afin de permettre la stabilisation du complexe et le recrutement des facteurs subséquents ; (3) l'arrivée des endonucléases XPG et XPF-ERCC1 mène à l'incision de la lésion en 3' et 5' respectivement et l'oligonucléotide endommagé (~20 bp) est excisé ; (4) l'ADN est resynthétisé par des facteurs de réplication, incluant les polymérases ε/δ, et finalement lié à nouveau par des ligases.



à l'ADN par la NER est complètement abolie durant la phase S. D'autre part, ATR ne joue aucun rôle dans la réparation de l'ADN pendant les phases G0/G1 ou G2/M [8]. Cette observation révèle une nouvelle fonction cruciale pour ATR dans le maintien de la stabilité génomique au cours de la réplication de l'ADN.

Nous avons en outre montré que sur six lignées tumorales sélectionnées aléatoirement, trois se caractérisent par une absence complète de la NER exclusivement au cours de la phase S. Il n'est donc pas exclu que de nombreuses tumeurs humaines puissent être caractérisées par un tel défaut. Ainsi, nos résultats sont d'une importance manifeste pour notre compréhension du développement des cancers, de même que pour leur traitement. En effet, le statut de la NER constitue un facteur de résistance

clinique à certains agents chimiothérapeutiques couramment utilisés tels que le cisplatine [9] qui, à l'instar des UV, induit des lésions dans l'ADN réparées par la NER. Ainsi, les tumeurs présentant un défaut de la NER pendant la phase S pourraient répondre plus sélectivement à ces agents thérapeutiques, permettant ainsi l'élaboration de stratégies qui pourraient améliorer significativement l'efficacité des traitements du cancer. ♦

New insight into the regulation of DNA nucleotide excision repair: implications for cancer development and treatment

RÉFÉRENCES

1. Friedberg EC, Walker GC, Siede W, et al. *DNA repair and mutagenesis*. Washington DC : ASM Press, 2006.
2. Melnikova VO, Ananthaswamy HN. Cellular and molecular events leading to the development of skin cancer. *Mutat Res* 2005 ; 571 : 91-106.

3. Cleaver JE. Cancer in xeroderma pigmentosum and related disorders of DNA repair. *Nat Rev Cancer* 2005 ; 5 : 564-73.
4. Cimprich KA, Cortez D. ATR: an essential regulator of genome integrity. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008 ; 9 : 616-27.
5. Tibbetts RS, Brumbaugh KM, Williams JM, et al. A role for ATR in the DNA damage-induced phosphorylation of p53. *Genes Dev* 1999 ; 13 : 152-7.
6. Mathonnet G, Leger C, Desnoyers J, et al. UV wavelength-dependent regulation of transcription-coupled nucleotide excision repair in p53-deficient human cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 7219-24.
7. Matsuoka S, Ballif BA, Smogorzewska A, et al. ATM and ATR substrate analysis reveals extensive protein networks responsive to DNA damage. *Science* 2007 ; 316 : 1160-6.
8. Auclair Y, Rouget R, Affar el B, Drobetsky EA. ATR kinase is required for global genomic nucleotide excision repair exclusively during S phase in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 17896-901.
9. Olaussen KA, Dunant A, Fouret P, et al. DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med* 2006 ; 355 : 983-91.

NOUVELLE

Les nouveaux partenaires de la ferritine

Lydie Viatte

Département Endocrinologie, métabolisme et cancer, Inserm U567, Université Paris Descartes, Faculté de Médecine René Descartes, CNRS, UMR-S 8104, Institut Cochin, 24, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France. lydie.viatte@inserm.fr

➤ La ferritine, deuxième protéine cristallisée - en 1937 - ne semblait plus avoir de secret à révéler. Protéine de stockage du fer, elle est composée de 24 sous-unités de chaînes légères (L pour *light*) ou chaînes lourdes (H pour *heavy*) et permet de séquestrer jusqu'à 4 500 atomes de fer dans le cytoplasme des cellules [1]. Le fer, lié à la transferrine (ou holotransferrine, holoTf), est capté par les cellules *via* le récepteur de la transferrine (RTf1) situé à la surface des cellules [9]. Le complexe RTf1-holoTf est ensuite endocytosé et le fer relargué dans le cytoplasme par le transporteur DMT1 (*divalent metal transporter 1*). La ferritine permet de protéger la cellule du fer importé dans le cytosol qui, bien que vital, s'avère toxique lorsqu'il est sous

forme soluble. Le fer catalyse en effet la réaction de Fenton qui produit des radicaux libres. Jusqu'à récemment, on ne savait pas ce que devenait le fer entre le moment de son transport par DMT1 et son stockage dans la ferritine.

Une nouvelle chaperonne du fer

Alors que la majorité des cellules eucaryotes utilisent la ferritine pour stocker le fer dans leur cytoplasme, les levures n'expriment pas de ferritine ni d'équivalent de la ferritine. Shi *et al.* ont tiré parti de cette singularité ; si on leur apportait des ferritines humaines, ces levures n'étaient pas capables de se charger en fer. Les auteurs ont supposé qu'il manquait à ces cellules un partenaire essentiel pour la livraison du fer à la ferritine ; l'hypothèse

était exacte et les a conduits à identifier une nouvelle chaperonne du fer, PCBP1 (*Poly(rC)-binding protein 1*), connue pour se lier à l'ARN [2]. L'étude de Shi *et al.* a révélé que cette protéine pouvait lier trois atomes de fer et les apporter à la ferritine, qu'elle pouvait interagir avec celle-ci et que son inhibition conduisait à une accumulation du fer dans le cytosol de cellules dérivées d'une tumeur hépatique humaine. Jusqu'à présent, une seule chaperonne du fer, la frataxine, avait été identifiée, mais dans la mitochondrie ; c'est la première fois qu'une telle chaperonne cytosolique est décrite. Au-delà de son rôle de « livreur » de fer pour le stockage, elle permet de protéger la cellule du fer soluble toxique. De façon très intéressante, des études antérieures