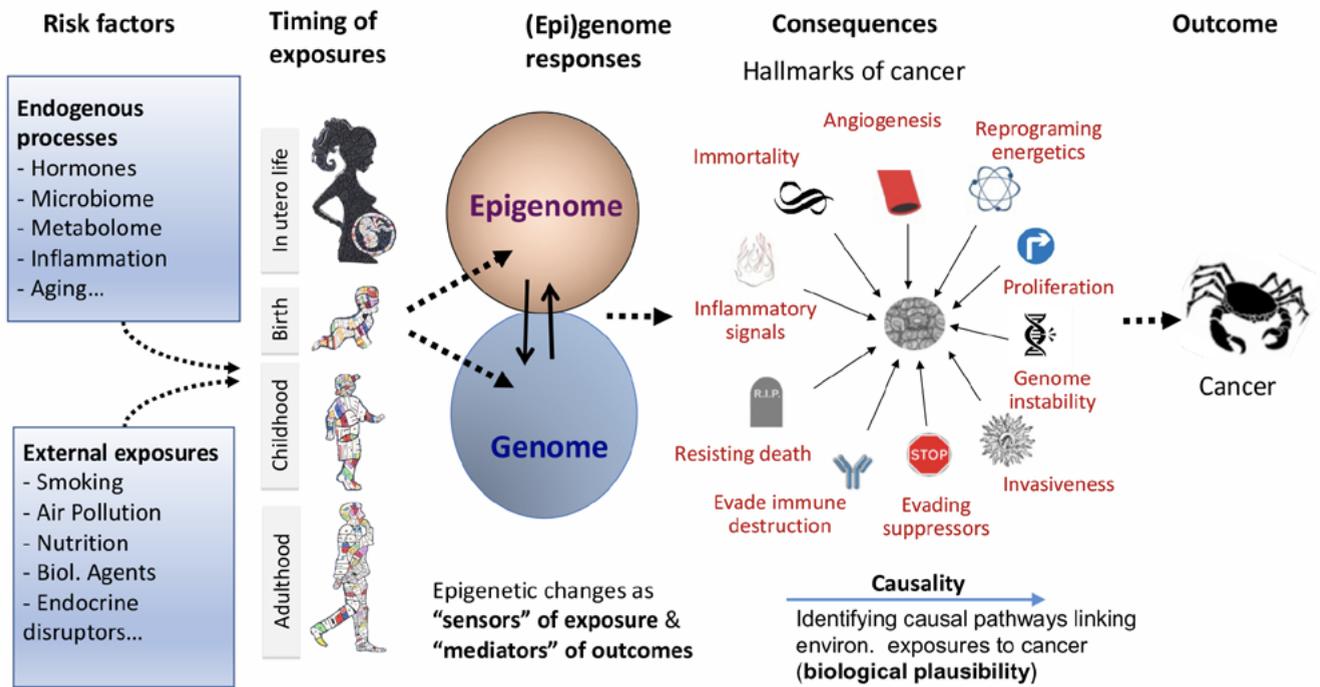


Studying (epi)genome deregulation and environmental origins of cancer



SECTION MECANISMES DE LA CANCEROGENESE (MCA)

Chef

D^r Zdenko Herceg

Groupe Epigénétique (EGE)

Chef

D^r Zdenko Herceg

Chercheurs

D^{re} Rosita Accardi
(décédée le 13 mai 2020)
D^r Akram Ghantous
D^{re} Rita Khoueiry

Secrétariat

M^{me} Elizabeth Page

Boursiers postdoctoraux

D^{re} Zainab Awada
D^{re} Felicia Chung
(jusqu'en avril 2021)
D^r Andrea Halaburkova
(jusqu'en novembre 2020)
D^{re} Farah Nassar
D^r Alexei Novoloaca
(jusqu'en décembre 2020)
D^{re} Grace Akinyi Odongo
D^{re} Alexandra Sexton-Oates
(jusqu'en janvier 2020)
D^{re} Natalia Spitz Toledo Dias
D^r Fazlur Talukdar
(jusqu'en août 2020)

Doctorants

M^{me} Maria Boskovic
M^{me} Mariana Gomes da Silva Araujo
M. Antonin Jay
(jusqu'en novembre 2020)
M^{me} Francesca Manara
M. Thanos Mouchtaris-Michailidis
M. Alexei Novoloaca
(jusqu'en juin 2020)
M^{me} Anna-Luiza Vicente
(jusqu'en mai 2020)

Assistants de recherche

M. Cyrille Cuenin
M^{me} Aurélie Salle

Assistant de recherche principal, analyste-gestion des données

M. Vincent Cahais

Stagiaires

M^{me} Cédrine Milesi
(jusqu'en septembre 2020)
M^{me} Farah Ramadan
(jusqu'en décembre 2020)
M^{me} Ling Wei (jusqu'en mars 2020)

Groupe Mécanismes moléculaires et biomarqueurs (MMB)

Chef

D^r Jiri Zavadil

Chercheurs

D^r Michael Korenjak
D^{re} Magali Olivier
(jusqu'en août 2020)

Assistant de recherche principal, analyste-gestion des données

D^{re} Claire Renard

Assistant de recherche principal

M^{me} Marie-Pierre Cros
(jusqu'en juin 2021)

Secrétariat

M^{me} Karine Racinoux

Boursier postdoctoral

D^r Samrat Das

Etudiants

M^{me} Liesel Claeys
(jusqu'en novembre 2021)
M^{me} Shefali Thakur

Stagiaires

M^{me} Bérénice Chavanel
(jusqu'en août 2021)
M^{me} Xinyue Jiang
(jusqu'en août 2020)
M. Stéphane Keita
(jusqu'en août 2021)

L'identification des mécanismes reliant l'exposition à des facteurs environnementaux ou comportementaux à l'apparition d'une tumeur, ainsi qu'une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires étayant les associations observées dans les études épidémiologiques (plausibilité biologique), apportent des bases factuelles pour étudier l'étiologie des cancers et leur prévention, et pour évaluer les agents cancérigènes et les classer. A cette fin, la Section Mécanismes de la cancérogenèse (MCA) mène des études fondées sur des hypothèses et sur l'analyse de données pour comprendre l'étiologie du cancer et les mécanismes de cancérogenèse, tout en s'attachant à promouvoir les collaborations internation-

ales, conformément à la mission fondamentale du CIRC.

Interdisciplinaires par nature, les principaux programmes de recherche de la Section MCA contribuent à promouvoir et à faire progresser les collaborations synergiques avec d'autres chercheurs travaillant dans les laboratoires du CIRC, des épidémiologistes et des spécialistes en synthèse de données. Les principaux volets de cette stratégie consistent notamment à développer de nouvelles techniques de pointe en biologie cellulaire, en biologie moléculaire et en épigénomique fonctionnelle, ainsi que des outils bioinformatiques et biostatistiques, applicables aux modèles expérimentaux de tumeur

et aux échantillons humains provenant d'études en population. La Section réunit deux Groupes – Le Groupe Epigénétique (EGE) et le Groupe Mécanismes moléculaires et biomarqueurs (MMB) – dont les programmes de recherche respectifs sont complémentaires en ce qui concerne les approches méthodologiques, avec pour principal objectif commun d'identifier les liens de causalité entre les facteurs environnementaux et le cancer. Suite au lancement de la nouvelle Stratégie à moyen terme 2021–2025 du CIRC et à la mise en place de la nouvelle structure organisationnelle au 1^{er} janvier 2021, la Section MCA a été rebaptisée Branche Epigénomique et mécanismes.

GROUPE EPIGENETIQUE (EGE)

Le Groupe Epigénétique (EGE) a pour principal objectif d'améliorer notre compréhension du rôle des voies et des modifications épigénétiques, induites par des facteurs environnementaux et des processus endogènes, dans le développement de cancers, et d'étayer ainsi les études sur l'étiologie de la maladie, sa prévention et l'évaluation des substances cancérigènes. Pour atteindre cet objectif, le Groupe EGE exploite les nouvelles approches en épigénétique du cancer, la disponibilité de cohortes de population uniques et les récents progrès technologiques en épigénomique (Halaburkova et coll., 2020 ; Pashayan et coll., 2020 ; Ghantous et coll., 2021 ; Sklias et coll., 2021). Il élabore également des méthodes épigénomiques, des stratégies de profilage et des outils bioinformatiques, applicables aux études de cohorte et d'épidémiologie moléculaire coordonnées par les chercheurs du CIRC et des collaborateurs extérieurs (Merid et coll., 2020 ; Karabegović et coll., 2021 ; Sorroche et coll., 2021 ; Talukdar et coll., 2021).

PROFILAGE PAN-EPIGENOMIQUE DU CARCINOME EPIDERMIOIDE DE L'ŒSOPHAGE DANS LES REGIONS DE FORTE INCIDENCE POUR IDENTIFIER DES GENES ESSENTIELS ET DES MARQUEURS POTENTIELS DE CE CANCER

Le carcinome épidermoïde de l'œsophage (CEO) est l'un des cancers les plus agres-

sifs et les plus meurtriers dans le monde, les pays à revenu faible et intermédiaire présentant les taux d'incidence les plus élevés. Le Groupe EGE a entrepris le plus grand profilage pan-épigénomique [méthylome de l'ADN] sur une série d'échantillons de CEO provenant de populations à haut risque (Figure 1) pour comprendre l'étiologie de ce cancer et identifier des biomarqueurs précoces. Il a utilisé la technologie des puces Illumina Infinium MethylationEPIC pour analyser les changements de méthylation de l'ADN sur des échantillons de CEO et les tissus normaux adjacents, prélevés chez des patients originaires de neuf pays d'Afrique, d'Asie et d'Asie du Sud-Est de forte incidence (Talukdar et coll., 2021). L'analyse comparative du méthylome entre tissu tumoral et tissu normal adjacent a permis d'identifier 6796 positions et 866 régions présentant une méthylation différentielle (DMP pour *differentially methylated position* et DMR pour *differentially methylated region*, respectivement). Les résultats ont mis en évidence dans les tumeurs une hyperméthylation de la plupart des DMP et DMR identifiées. Les principaux gènes identifiés lors de cette première phase exploratoire ont été validés en priorité et leur impact fonctionnel présumé sur la transcription a été analysé à l'aide des données RNA-seq de l'Atlas du génome du cancer (TCGA pour *The Cancer Genome Atlas*) et du projet d'expression génotypique tissulaire (GTEx pour *Geno-*

type-Tissue Expression). Le Groupe EGE a ensuite évalué la spécificité et la sensibilité de ces modifications de méthylation de l'ADN pour distinguer les tissus tumoraux des tissus normaux adjacents. Il a également identifié et priorisé les gènes et les voies impliqués dans le développement du CEO, et proposé une série de marqueurs de détection précoce susceptibles de servir de référence aux tests visant à améliorer la détection précoce de ce type de cancer dans les milieux à revenu faible (Talukdar et coll., 2021).

MARQUEURS EPIGENETIQUES DU RISQUE DE CANCER DU SEIN DANS UNE ETUDE DE COHORTE PROSPECTIVE

Les modifications épigénétiques sont des caractéristiques quasi-universelles de la transformation maligne, mais la plupart des éléments de preuve actuels sont fondés sur les résultats d'études rétrospectives et, par conséquent, les modifications épigénétiques identifiées peuvent avoir été influencées par la maladie elle-même. S'agissant du cancer du sein, le Groupe EGE a établi les profils de méthylation pangénomique à partir de la couche leuco-plaquettaire des échantillons de sang d'une étude cas-témoin nichée dans l'Etude prospective européenne sur le cancer et la nutrition (EPIC pour *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*) en utilisant le séquençage au bisulfite à représentation réduite (RRBS

pour *reduced representation bisulphite sequencing* (Figure 2). Il a également réalisé le profilage d'échantillons de tumeurs primaires et de tissus normaux adjacents chez un sous-groupe de participantes à l'étude. Les résultats indiquent des modifications de méthylation de l'ADN spécifiques du cancer à la fois dans les tissus mammaires et dans la couche leuco-plaquettaire des échantillons de

sang, caractérisées chacune par des différences spécifiques au type d'échantillon, mais avec un enrichissement commun pour les gènes impliqués dans certaines voies biologiques. Un lien entre le délai de diagnostic et l'hyperméthylation de certains gènes a notamment été observé dans l'ADN de la couche leuco-plaquettaire d'échantillons sanguins prospectifs de personnes ayant ensuite développé

un cancer du sein (Figure 2). Grâce aux méthodes d'apprentissage automatique (machine learning), le Groupe EGE a développé un classifieur basé sur la méthylation de l'ADN, capable de prédire avec une grande précision le statut « cas » ou « témoin » dans un ensemble de validation correspondant au modèle retenu, jusqu'à 15 ans avant le diagnostic. Ces résultats suggèrent l'accumulation

Figure 1. Le profilage pangénomique de méthylation de l'ADN des carcinomes épidermoïdes de l'œsophage (CEO) chez les populations présentant une incidence élevée de ce cancer permet d'identifier des marqueurs de méthylation de l'ADN robustes et fonctionnellement pertinents pour la détection précoce de ce cancer dans les milieux à revenu faible. a) Aperçu du plan d'étude et des caractéristiques des échantillons. Répartition par pays de l'échantillonnage en pourcentages. Les points colorés sur la carte indiquent les sites de collecte des échantillons et leurs pays respectifs. D'après Talukdar et coll. (2021), avec l'autorisation de l'*American Association for Cancer Research*. b) Collaborateurs participant à la réunion du réseau ESCAPE (*Oesophageal Squamous Cell Carcinoma African Prevention research*) (coordonné par la D^{re} Valerie McCormack, CIRC) qui a eu lieu à Eldoret, au Kenya. © CIRC.

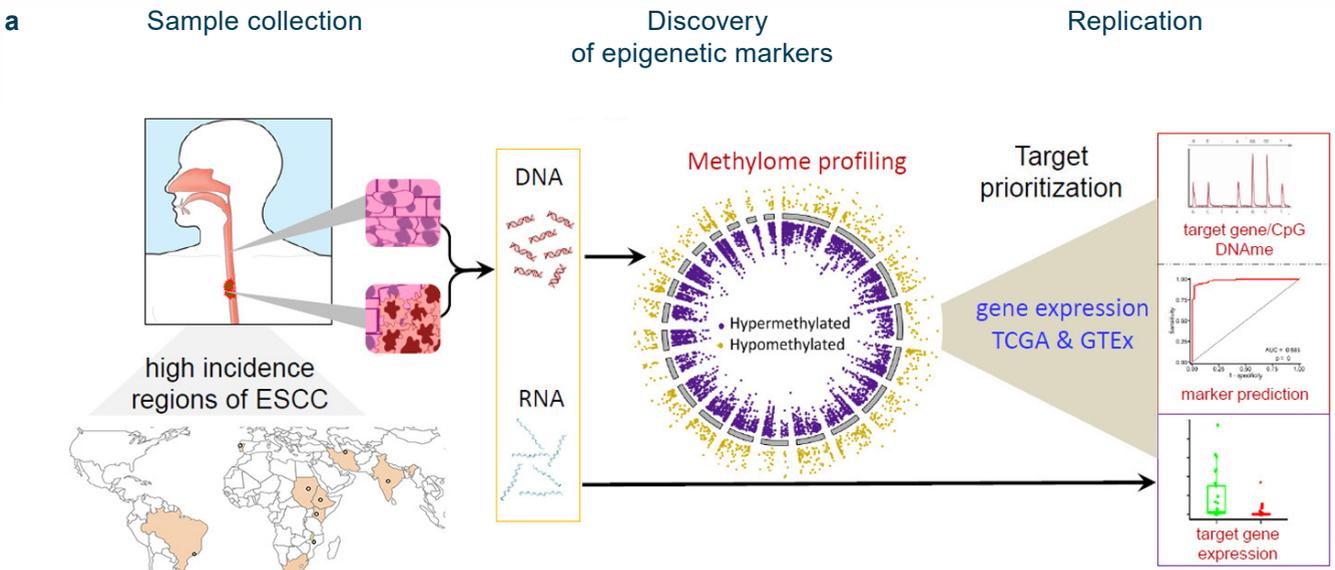


Figure 2. Identification de marqueurs épigénétiques du risque de cancer du sein dans une cohorte prospective (étude EpiMark). (a, b) Schéma du plan d'étude et méthodes analytiques utilisées. a) Réalisation d'une étude cas-témoin nichée dans la cohorte EPIC (*European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*). Des prélèvements sanguins et des renseignements relatifs au mode de vie ont été recueillis auprès des participantes apparemment en bonne santé au moment du recrutement. Celles chez qui a été diagnostiqué un cancer du sein pendant la période de suivi ont été individuellement appariées avec des participantes n'ayant pas développé de cancer au cours de cette même période. Les lysats de couche leuco-plaquettaire des échantillons de sang prélevés au moment du recrutement, ainsi que les tissus tumoraux et les tissus normaux adjacents des cas, ont été analysés par séquençage au bisulfite à représentation réduite (RRBS : *reduced representation bisulphite sequencing*). b) Validation croisée à cinq niveaux pour entraîner et évaluer les modèles de classification (classifieurs) permettant de distinguer les personnes ayant développé un cancer du sein de celles qui n'en ont pas développé pendant la période de suivi. Le classifieur le plus performant a été sélectionné pour l'ensemble des données de validation croisée comportant 340 paires et pour affiner les paramètres du modèle. Il a ensuite été utilisé pour prédire le statut cas ou témoin dans un ensemble de validation retenu, constitué de 68 paires appariées. La méthylation différentielle et l'enrichissement fonctionnel ont été analysés en parallèle. (c, d) Paysage global de la méthylation de l'ADN dans les tumeurs du sein et profils de méthylation de l'ADN spécifiques du cancer du sein dans les tissus mammaires. c) Classification non supervisée des données de méthylation dans les 6713 régions les plus variables selon le partitionnement *k-means* et par distance euclidienne. d) Identification de quatre groupes consensuels de tissus tumoraux, numérotés de 1 à 4, dans l'ordre du niveau global de méthylation dans les îlots CpG, le corps des gènes et les promoteurs, par rapport au degré de méthylation des mêmes sites dans les tissus normaux adjacents à la tumeur (NT : *normal tissue*). (e–h) Utilisation d'un classifieur PAM (*prediction analysis for microarrays*) pour prédire le statut cas ou témoin dans des échantillons de sang et de tissu collectés de façon prospective. e) La courbe ROC (*receiver operating characteristic*) et les statistiques correspondantes de l'aire sous la courbe (AUC : *area under the curve*) pour le classifieur PAM ont été appliquées à la cohorte pour validation, *versus* 100 paires de données témoins étiquetées aléatoirement, soumises au même processus d'entraînement et de test. Un graphique d'intégration de voisin stochastique distribué en *t* (t-SNE) a été généré à partir des 49 régions génomiques utilisées dans les classifieurs, colorées en fonction (f) du statut cas-témoin et (g) du délai entre le prélèvement de l'échantillon et le diagnostic (par quartile). h) Schéma des résultats de classification du modèle PAM final sur l'ensemble de validation retenu, en fonction du temps écoulé depuis le diagnostic (quartiles). i) Diagramme des interactions documentées, fonctionnelles et physiques, entre des facteurs de transcription potentiellement perturbés dans des ensembles de régions différemment méthylées (DMR) à la fois dans les tissus et le sang. © CIRC.

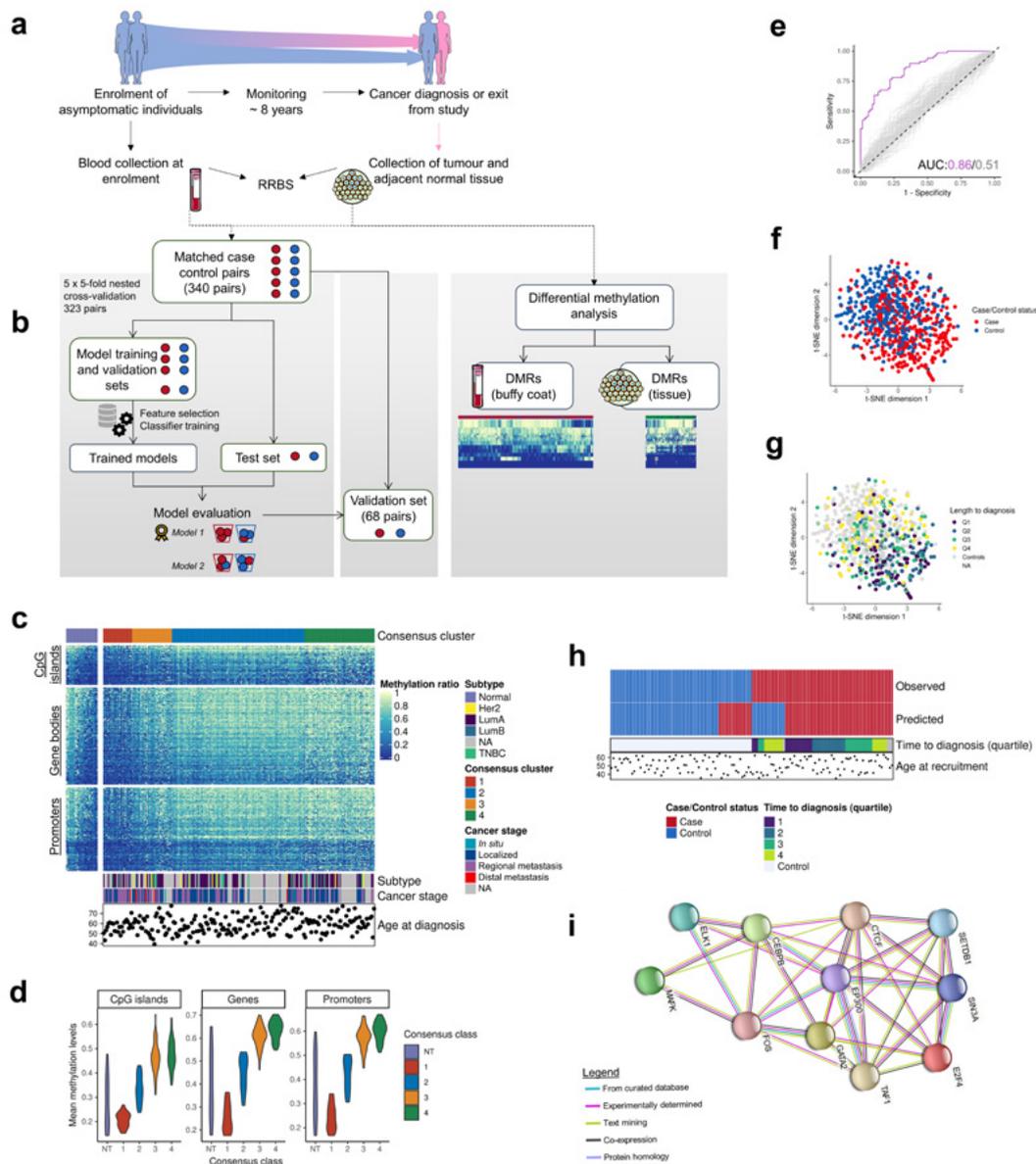
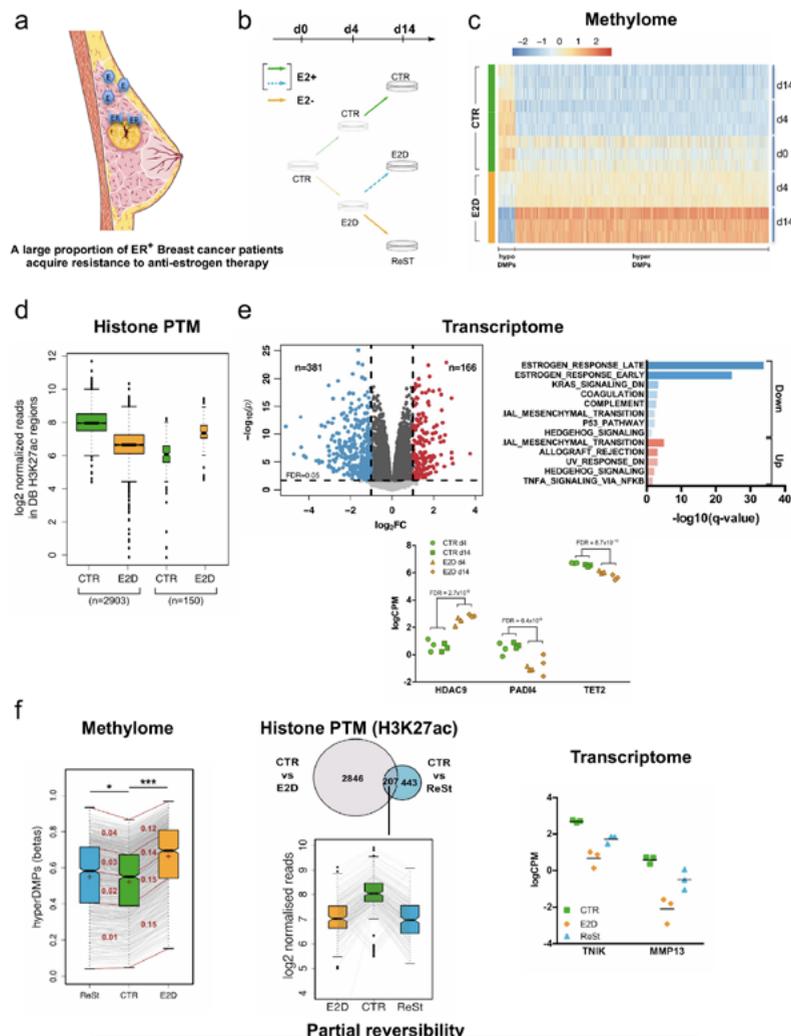


Figure 3. Comprendre la régulation de la voie des récepteurs d'œstrogènes (ER : *estrogen receptor*) dans les cellules de cancer du sein et découvrir les mécanismes potentiels qui sous-tendent les résistances au traitement anti-œstrogénique. a) Classification des cancers du sein en différents sous-types moléculaires selon la présence de récepteurs ER, de récepteurs de progestérone (PR : *progesterone receptor*), et du récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain (HER2 : *human epidermal growth factor receptor 2*) ; leur expression tend à déterminer l'approche thérapeutique. La plupart des cancers du sein (70 %) sont positifs ER (ER+) et sont traités par thérapie anti-œstrogénique. Toutefois, certaines patientes développent une résistance irréversible aux anti-œstrogènes. b) Protocole optimisé *in vitro* adapté à l'étude de la privation d'œstrogène suivie d'une re-stimulation œstrogénique sur la lignée cellulaire MCF-7 de cancer du sein. Les cellules MCF-7 cultivées dans des conditions contrôlées (CTR, sérum traité au charbon + œstradiol E2) ont été privées d'E2 pendant 4 et 14 jours (E2D) ou privées d'E2 pendant 4 jours, puis de nouveau stimulées avec E2 pendant 10 jours (ReSt, ligne pointillée bleue). c) « Heat map » des positions différemment méthylées (DMP : *differentially methylated position*) entre les cellules MCF-7 CTR et privées d'E2 (E2D) présentant au moins 10 % de méthylation différentielle ($\Delta\beta$) détectée après analyse du méthylome à l'aide d'une matrice 850K qui mesure les taux de méthylation de l'ADN (DNAm) dans plus de 850 000 CpGs. d) Analyse des modifications post-traductionnelle d'histones (PTM : *post-translational modification*) par séquençage ChIP de l'acétylation de H3K27 (H3K27ac), une modification associée aux régions amplificatrices. L'analyse montre une diminution générale de l'acétylation dans les conditions E2D par rapport aux conditions CTR. e) Résultats de l'analyse transcriptomique (séquençage de l'ARN). En haut à gauche : Distribution des valeurs $-\log_{10}(P)$ des gènes différemment exprimés (DEGs : *differentially expressed genes*) dans les conditions E2D *versus* CTR en fonction du \log_2 fold-change (FC ; rapport du niveau moyen d'expression). Les points colorés représentent les DEGs régulés négativement et positivement avec une valeur absolue de $\log_2(FC) > 1$ (bleu et rouge) et un taux de fausse découverte (FDR : *false discovery rate*) $< 0,05$ (pointillés horizontaux). Les DEGs avec $|\log_2(FC)| < 1$ sont en gris foncé. En haut à droite : analyse d'enrichissement des DEGs régulés négativement et positivement (MSigDB, base de données H, test hypergéométrique). En bas : Expression différentielle significative de trois facteurs de remodelage épigénétique — HDAC9, PADI4 et TET2 — en réponse à la privation d'E2. f) Réversibilité partielle de modifications épigénomiques et transcriptomiques après privation d'E2 et re-stimulation. A gauche : Distribution des DMP hyperméthylées en réponse à la privation d'E2 et à une re-stimulation dans les conditions CTR, E2D et ReSt à J14 (CTR *vs* E2D, $n = 950$; FDR $< 0,05$, $\Delta\beta > 10\%$). Diagramme : lignes centrales, médiane (Q2) ; limites des cases, quartiles 25 % et 75 % (Q1 et Q3) ; boîtes du haut et du bas, minimum et maximum (Q0 et Q4). Pour chaque comparaison par paire (ReSt-CTR et CTR-E2D), des lignes rouges relient les quartiles entre eux. Dans chaque fourchette interquartile, la moyenne $\Delta\beta$ entre les groupes comparés est indiquée en rouge. Une croix rouge indique la moyenne de chaque groupe. Les astérisques signalent les différences significatives des moyennes obtenues dans les conditions ReSt et E2D par rapport à CTR. Partie supérieure du centre : chevauchement des régions H3K27ac différentielles entre les conditions CTR *versus* E2D et CTR *versus* ReSt, avec 207 pics communs. Partie inférieure du centre : signal H3K27ac dans les lectures \log_2 -normalisées des 207 pics. A droite : irréversibilité de l'expression du gène *TNIK*, inducteur du facteur de transcription AP-1, et de *MMP13*, gène cible de l'AP-1, dans les conditions CTR (carrés verts), E2D (diamants oranges) et ReSt (triangles bleus) à J14. L'analyse de l'expression différentielle a été réalisée après séquençage de l'ARN en comparant les groupes CTR *versus* ReSt parmi les DEGs déprivés en E2 avec FDR $< 0,05$ et $|\log_2(FC)| > 1$. D'après Sklias et coll. (2021). © 2021, Oxford University Press.



progressive de modifications épigénétiques associées au cancer, susceptibles d'être détectées dans le sang périphérique bien avant la manifestation clinique de la maladie. Ces modifications pourraient constituer des marqueurs utiles pour la stratification du risque et, à terme, pour une prévention personnalisée du cancer.

MODIFICATIONS EPIGENETIQUES INDUITES PAR LES ŒSTROGENES COMME MECANISME POTENTIEL SOUS-JACENT A LA RESISTANCE ENDOCRINIENNE DANS LE CANCER DU SEIN POSITIF ER

Les œstrogènes sont impliqués dans le développement de la plupart des cancers du sein. Le récepteur des œstrogènes (ER pour *estrogen receptor*) alpha, prin-

cipal facteur nucléaire régulant la voie de signalisation des œstrogènes, orchestre un circuit moléculaire complexe dont on connaît mal les rouages. Le Groupe EGE a combiné les outils épigénomiques et bioinformatiques les plus récents avec un nouveau protocole *in vitro*, adapté à l'étude de la privation d'œstrogènes suivie d'une nouvelle stimulation œstrogénique, pour étudier à l'échelle du génome les changements épigénomiques et transcriptomiques associés aux modifications des voies œstrogéniques. Les résultats indiquent qu'une privation prolongée d'œstrogènes suivie d'une stimulation œstrogénique provoquent des changements épigénétiques en fonction du temps, dans différentes régions génomiques, ainsi que des modifications de

l'expression génétique associée à des voies biologiques spécifiques (Figure 3). Il convient de noter que bon nombre des modifications observées suite à la privation d'œstrogènes ont aussi été détectées dans des cellules mammaires cancéreuses ayant développé une résistance à la thérapie anti-œstrogénique (Sklias et coll., 2021). Enfin, cette étude a révélé à la fois une réversibilité et une persistance sélectives des modifications épigénétiques et transcriptionnelles, induites par la privation d'œstrogènes suivie d'une nouvelle stimulation œstrogénique, ce qui suggère l'existence potentielle d'un mécanisme sous-jacent au développement de la résistance endocrinienne au traitement anti-œstrogénique (Figure 3) (Sklias et coll., 2021).

GROUPE MECANISMES MOLECULAIRES ET BIOMARQUEURS (MMB)

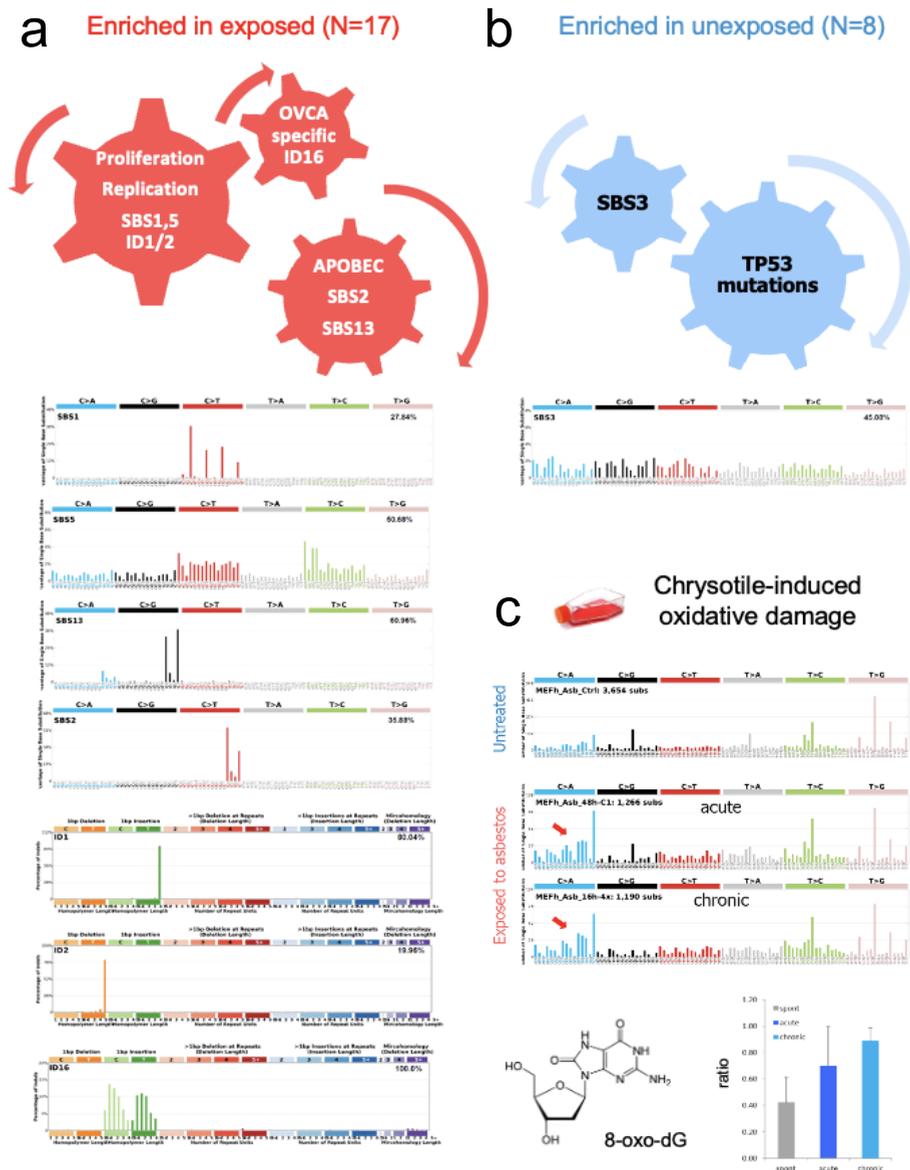
Le principal objectif du Groupe Mécanismes moléculaires et biomarqueurs (MMB) vise à affiner les connaissances sur les mécanismes moléculaires des causes modifiables de cancer pour pouvoir prendre des mesures de prévention adaptées. Il s'appuie sur des approches expérimentales innovantes pour découvrir des marqueurs moléculaires du cancer (Melki et coll., 2020). Il pilote des études d'épidémiologie moléculaire (Karabegović et coll., 2021 ; l'étude MODARC sur le rôle de l'exposition alimentaire à l'acrylamide dans la cancérogénèse rénale ; l'étude EVAMOVAIRE2) et participe aux activités du CIRC pour l'évaluation des cancérigènes (Samet et coll., 2020) et la classification des cancers (Cree et coll., 2021a). Lors de l'exercice 2020–2021, le Groupe MMB a réalisé l'analyse toxicogénomique intégrative d'un certain nombre de cancérigènes candidats et étudié leur rôle dans la cancérogénèse (Claeys et coll., 2020). Il a aussi collaboré avec le programme des *Monographies* du CIRC aux évaluations des dangers cancérigènes (Barupal et coll., 2021).

EVAMOVAIRE2 : SIGNATURES MUTATIONNELLES DE L'EXPOSITION À L'AMIANTE DANS LES TUMEURS DE L'OVAIRE

Plusieurs études épidémiologiques sur les variations géographiques d'incidence du cancer de l'ovaire ont suggéré le rôle étiologique de facteurs environnementaux et conduit les *Monographies* du CIRC à classer en 2009 les fibres d'amiante comme cancérigènes pour l'ovaire. Le Groupe MMB a étudié le lien entre l'exposition à l'amiante et les différents sous-types histologiques de cancer ovarien en intégrant les données épidémiologiques, les mesures d'exposition et le séquençage pangénomique, pour déterminer les effets cancérigènes potentiels de cette exposition. Sur un échantillon de 254 patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire, 13,4 % avaient été exposées professionnellement à l'amiante et 16,5 % indirectement *via* un proche. La prévalence de l'exposition directe à l'amiante semblait être plus élevée que dans la population générale.

Le Groupe MMB a réalisé le séquençage pangénomique de paires de tumeurs/tissus normaux de 25 cas pour lesquels on connaît le mode d'exposition, les probabilités et les niveaux d'exposition. Ce séquençage a permis de détecter plusieurs signatures mutationnelles spécifiques de l'exposition à l'amiante, toutes de nature endogène, en plus d'une signature spécifique du déficit en BRCA1/2 et de taux plus faibles de mutations de TP53 observées chez les patientes non exposées (Figure 4). Des modèles cellulaires expérimentaux ont également montré le potentiel de l'amiante chrysotile à induire une importante cytotoxicité dose-dépendante et une mutagenèse pangénomique, indicatrice de dommages oxydatifs à l'ADN (Figure 4). L'étude EVAMOVAIRE2 a apporté de nouvelles informations sur l'exposition environnementale et professionnelle à l'amiante en tant que facteur de risque important pour le cancer de l'ovaire.

Figure 4. Etudes des mécanismes de cancérogenèse ovarienne associée à l'amiante chez 25 patientes atteintes d'un cancer épithélial de l'ovaire, grâce au séquençage pangénomique de l'ADN provenant d'échantillons de tumeurs fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE pour *formalin-fixed, paraffin-embedded*). a) Chez les patientes exposées ($n = 17$), les résultats montrent un enrichissement en signatures mutationnelles, indiquant une prolifération cellulaire accrue (SBS1, SBS5), des empreintes de mutagenèse dirigée par APOBEC (SBS2, SBS13), de plus forts taux d'erreurs de réplication de l'ADN (ID1, ID2) et la signature ID16 spécifique à l'ovaire. b) Chez les patientes non exposées, les résultats montrent un enrichissement en signature mutationnelle SBS3 et en mutations TP53 par rapport aux patientes exposées. c) Les effets aigus et chroniques d'une exposition à l'amiante chrysotile sur la mutagenèse dans des cellules en culture se manifestent par un taux plus élevé de signature mutationnelle SBS18 (flèches rouges) résultant de l'oxydation des désoxyguanosines (8-oxo-2'-désoxyguanosine, 8-oxo-dG), concordant avec des lésions oxydatives de l'ADN provoquées par l'exposition. La partie supérieure de la Figure présente une signature de fond SBS17, et le graphique en barres montre l'augmentation du rapport SBS18 *versus* SBS17 après traitement par l'amiante chrysotile. © CIRC.



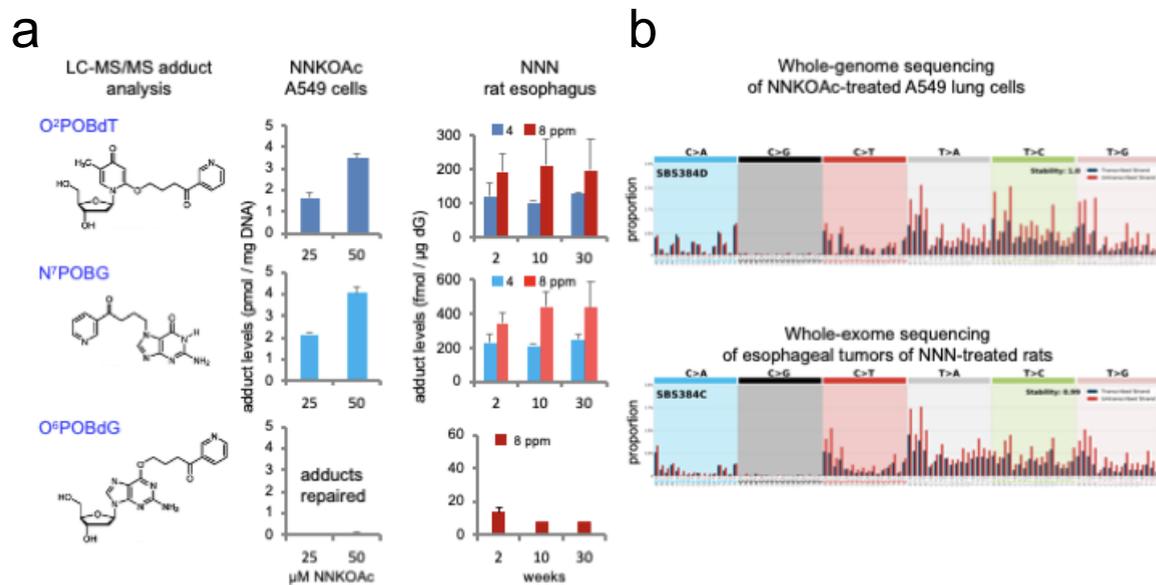
ALTERATIONS GÉNOMIQUES INDUITES PAR LES NITROSAMINES DU TABAC

D'après les études épidémiologiques, il existe un lien entre la consommation de tabac et le développement de nombreux types de cancer, notamment du poumon, de la cavité buccale, du pharynx, du

larynx, de l'œsophage, du pancréas, de la vessie et du foie. Bien que les nitrosamines du tabac (TSNA pour *tobacco-specific nitrosamines*), 4-méthylnitrosamino-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) et N'-nitrosonornicotine (NNN), aient été reconnues cancérogènes pour l'homme (Groupe 1 du CIRC), leurs rôles dans la

cancérogenèse humaine reste méconnu du fait de la composition complexe de la fumée de tabac et de l'absence de marqueurs moléculaires d'exposition. Elles contribuent peut-être aux effets mutagènes de la fumée de tabac, mais on ne connaît pas leurs signatures mutationnelles.

Figure 5. a) Taux d'adduits ADN pyridoxobutyle dans la lignée cellulaire pulmonaire A549 exposée à 25 μM ou 50 μM de 4-[(acétoxyméthyl) nitrosamino]-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNKOAc) et dans le tissu tumoral œsophagien de rats exposés à 4 ppm ou 8 ppm de *N*'-nitrosornicotine (NNN) dans l'eau de boisson ($n = 3$). Les adduits analysés sont présentés à gauche. L'O6-POBdG n'a pas été mesuré dans les échantillons des rats traités avec 4 ppm de NNN. L'ADN a été isolé et analysé par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS). b) Analyse de la signature mutationnelle dans les cellules et les tumeurs animales, montrant les 192 signatures mutationnelles, extraites par factorisation matricielle non négative de la lignée de cellules pulmonaires A549 exposées au NNKOAc (partie supérieure) et des tumeurs œsophagiennes induites par la NNN chez le rat. © CIRC.



Le Groupe MMB a donc entrepris d'identifier les signatures induites par les TSNA dans une lignée de cellules pulmonaires humaines, ainsi que dans un essai biologique chez le rat. L'analyse des adduits à l'ADN a révélé d'importantes altérations sur les résidus thymidine (O2-POBdT) et guanine (7-POBG) (Figure 5). Le séquençage génomique des

clones issus des cellules et des tumeurs des rats exposés aux TSNA a donné des signatures mutationnelles extrêmement similaires (Figure 5), indiquant des effets convergents pour ces deux nitrosamines. La présence caractéristique de mutations T > N sur le brin non transcrit est cohérent avec la présence d'altérations sur les résidus thymidine *via* la formation d'adduit

O2-POBdT. Ces signatures nouvellement identifiées constituent un précieux marqueur moléculaire pour suivre lors des études *in silico* les effets mutagènes de l'exposition aux TSNA dans des milliers de génomes de cancer humain et pouvoir enfin évaluer la contribution de ces nitrosamines au spectre mutationnel des cancers associés au tabac.