



NOUVELLE

Un nouveau mécanisme de la résistance des cancers au cisplatine

Rôle des protéines E2F1 et BIN1

Slovénie Pyndiah

Université Paris-Est Créteil, Faculté de médecine, Inserm U955, Institut Mondor de recherche biomédicale, Créteil, France.
slovenie.pyndiah@inserm.fr

► En oncologie, la révolution des biothérapies fondées sur des macromolécules (anticorps monoclonaux, polypeptides, acides nucléiques, etc.) mise sur une approche ciblée des cellules cancéreuses et de leur microenvironnement, mais le nombre de petites molécules testées en chimiothérapie dite « conventionnelle » ne cesse cependant pas d'augmenter car elles ont l'avantage d'être peu coûteuses, faciles à transporter et à conserver (des caractéristiques propices à l'observance thérapeutique). Ces petites molécules bloquent la division cellulaire en agissant sur la molécule d'ADN ou sur le fuseau mitotique. Des nouvelles chimiothérapies anti-cancéreuses, dites « ciblées », sont en plein essor, avec près de 90 petites molécules récemment approuvées par la *Food and drug administration* (FDA) américaine [1]. De multiples cibles

thérapeutiques sont actuellement exploitées : des kinases, des protéines impliquées dans le contrôle épigénétique de l'expression des gènes, des enzymes de la réparation des dommages à l'ADN, des complexes enzymatiques du protéasome. Cependant, la nécessité d'améliorer le taux de réponses favorables dès la première ligne de traitement du cancer demeure.

La découverte du cisplatine et son application médicale

Le chimiste italien Michele Peyrone synthétise la molécule de *cis*-diamminedichloroplatine (II) (cisplatine) en 1844, puis le chimiste suisse Alfred Werner prouve le concept d'isomérisation, et on découvrira plus tard que l'isomère *trans* de la molécule (transplatine) a une cytotoxicité moindre que l'isomère *cis*.

L'utilisation du cisplatine contre le cancer est approuvée par la FDA en 1978, une étape majeure dans l'histoire de la cancérologie [2]. La demi-vie plasmatique du cisplatine est de 10 à 50 minutes. Son pouvoir alkylant lui donne la capacité de former des adduits à la molécule d'ADN, qui résultent de la formation de liaisons covalentes avec les bases puriques de cette molécule et inhibent la transcription des gènes. Un traitement par le cisplatine est utilisé contre différents cancers (testicule, ovaire, vessie, poumon, tête et cou). Cependant, le cisplatine et ses analogues ont des effets toxiques sur le rein, l'oreille interne et la moelle osseuse, qui nécessitent de limiter la dose thérapeutique. Or, certaines personnes bénéficient considérablement du traitement par le cisplatine, tandis

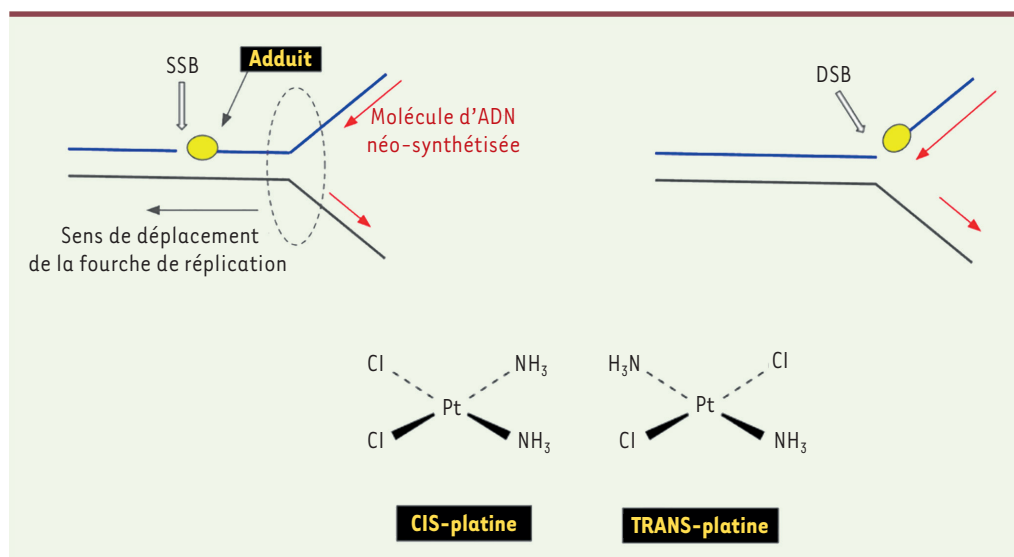


Figure 1. Stress lié à l'arrêt de la progression des fourches de réplication de la molécule d'ADN.

Les cassures simple brin (single strand break, SSB) de la molécule d'ADN ne sont pas immédiatement létales pour la cellule, mais si elles ne sont pas réparées, elles sont facilement converties en cassures double brin (double strand break, DSB), beaucoup plus dévastatrices. Le cisplatine a une plus grande capacité que le transplatine à former

une liaison covalente avec la molécule d'ADN (*i.e.*, formation d'un adduit), ce qui provoque des cassures simple brin. Les cellules cancéreuses semblent avoir développé un mécanisme performant de réparation des dommages à la molécule d'ADN afin d'éviter un stress de réplication.

que d'autres en subissent les effets toxiques sans aucun bénéfice thérapeutique. Il importe donc d'élucider les mécanismes moléculaires impliqués dans la résistance spontanée ou acquise des patients à ce traitement.

Mécanismes moléculaires impliqués dans la réponse aux dommages à la molécule d'ADN

Les adduits formés par le cisplatine et non réparés par le système de réponse aux dommages à la molécule d'ADN (DNA damage response, DDR) modifient la structure hélicoïdale de la molécule d'ADN et produisent des cassures simple brin (single-strand breaks, SSB). Pendant la réplication de la molécule d'ADN, ces cassures simple brin sont facilement converties en cassures double brin (double-strand breaks, DSB), beaucoup plus dévastatrices car elles entraînent l'effondrement des fourches de réplication et l'arrêt de la progression du cycle cellulaire (Figure 1). La forte augmentation des cassures double brin dans les cancers traités par le cisplatine est vraisemblablement la cause de la « catastrophe mitotique » qui fait suite à une phase S aberrante du cycle cellulaire [2]. La réponse moléculaire classique aux cassures double brin

de la molécule d'ADN implique le recrutement du complexe protéique MRE11-RAD50-NBS1 (*meiotic recombination 11 - DNA repair protein RAD50 - Nijmegen breakage syndrome 1*), ou MRN, au site de la cassure. Ce complexe MRN recrute et active la kinase ATM (*ataxia telangiectasia-mutated*) qui, à son tour, déploie un ensemble de molécules médiatrices ou effectrices de la DDR. Des essais cliniques utilisant des petites molécules inhibitrices d'ATM ont eu des résultats prometteurs dans une situation de létalité synthétique¹ [3]. Lorsque la DDR est activée, le dimère inactif d'ATM se monomérisse par autophosphorylation sur des résidus sérine. Au site endommagé de la molécule d'ADN, ATM activée phosphoryle la protéine d'histone H2AX sur son résidu Ser139, ce qui produit la forme phosphorylée γ -H2AX, souvent utilisée comme un marqueur des dommages cellulaires. En retour, γ -H2AX exerce un rétrocontrôle positif sur ATM, dont elle amplifie l'action en recrutant le médiateur MDC1 (*mediator of DNA damage checkpoint protein 1*), qui facilite l'arrivée

de complexes MRN supplémentaires sur le site endommagé (Figure 2). Finalement, la kinase ATM phosphorylée déclenche plusieurs cascades d'effecteurs, dont celles de la mort cellulaire et de la sénescence. Nous décrivons ici un nouveau mécanisme de la DDR impliquant la protéine BIN1 (*bridging integrator 1*), dont l'expression est ubiquitaire dans les tissus normaux différenciés et indétectable dans les cellules cancéreuses métastatiques [4].

Un biomarqueur de la sensibilité au traitement par le cisplatine : la protéine BIN1

BIN1 (ou amphiphysine 2) est une protéine nucléo-cytoplasmique comprenant dix isoformes, toutes dépourvues d'activité enzymatique intrinsèque. Le gène *BIN1* a été identifié comme un gène suppresseur de tumeur en 1996 par le D. Sakamuro, un expert en biochimie et génétique. Par la suite, des fonctions supplémentaires ont été attribuées aux nombreuses isoformes de la protéine [5]. BIN1 fait partie de la famille des protéines adaptatrices BAR (BIN-amphiphysine-Rsv), qui sont impliquées dans divers processus cellulaires, notamment la réponse au stress, l'endocytose, la mort cellulaire programmée, l'organisation du cytosquelette et le contrôle

¹ La létalité synthétique désigne la mort cellulaire résultant de la synergie, par la combinaison de mutations de deux gènes différents, de deux événements non létaux par eux-mêmes. Le mécanisme implique l'accumulation de cassures non réparées de la molécule d'ADN.

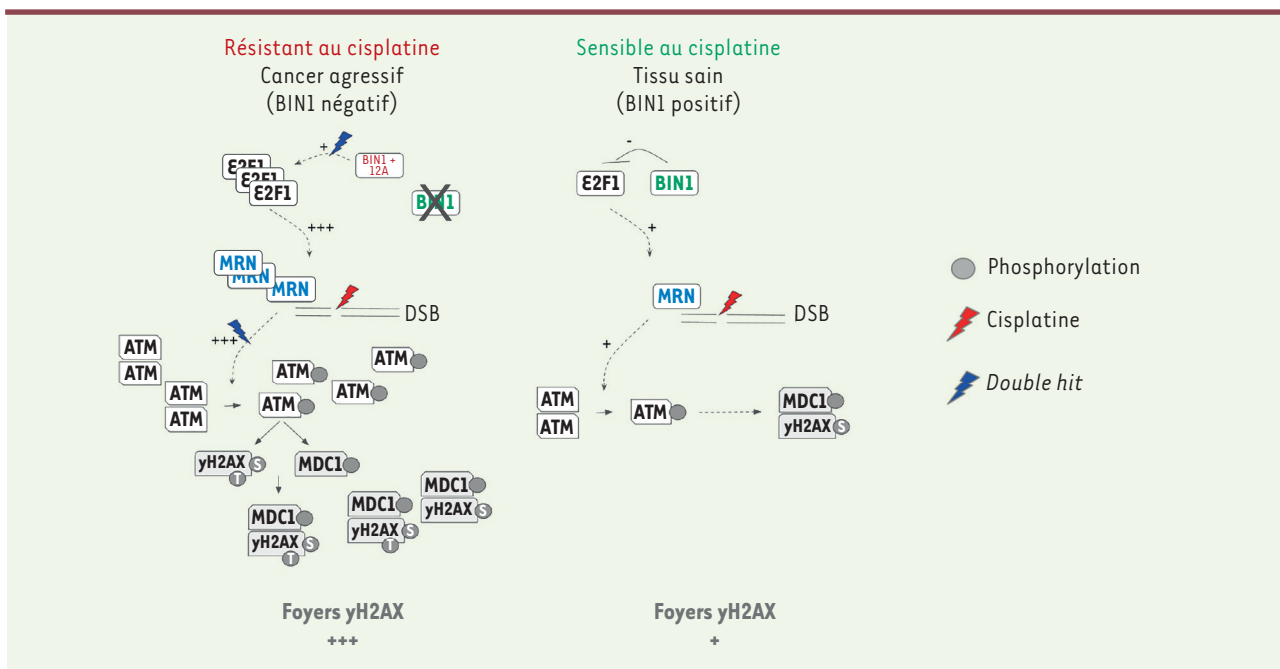


Figure 2. Cascade d'événements lors de la formation des foyers γ -H2AX. La protéine histone H2AX comprend deux sites de phosphorylation pour former les foyers γ -H2AX, qui sont l'un des indicateurs les plus sensibles des cassures double brin de la molécule d'ADN. Le complexe protéique MDC1-H2AX se forme dans une cellule non cancéreuse lorsque seul le résidu Ser139 (S) est phosphorylé. Dans une cellule cancéreuse déficiente en protéine BIN1, le complexe protéique MDC1-H2AX se forme de façon aléatoire en présence ou non du deuxième résidu Tyr142 (T) phosphorylé, ce qui entraîne une richesse en foyers γ -H2AX même en l'absence de dommages à la molécule d'ADN.

de la transcription des gènes. BIN1 joue un rôle essentiel dans l'assemblage de plusieurs complexes protéiques, et le déficit fonctionnel de BIN1 entraîne diverses maladies (myopathie centro-nucléaire, dystrophie myotonique, cardiomyopathie ou arythmie ventriculaire), ainsi que la progression des cancers agressifs. En oncologie, l'absence de BIN1 est un biomarqueur de l'agressivité du cancer. Tout comme la protéine TP53, BIN1 est une protéine suppresseur de tumeur pro-apoptotique, qui active cependant la mort cellulaire par instabilité génétique. L'interaction entre BIN1 et le proto-oncogène MYC inhibe le pouvoir oncogène de MYC, et cette interaction protéine-protéine est moins efficace dans les cancers chimio-résistants [6, 7] (→).

(→) Voir la Nouvelle de S. Pyndiah et D. Sakamuro, m/s n° 2, février 2013, page 133

Il est raisonnable de supposer que BIN1 inhibe des facteurs de survie des cellules exposées à un agent génotoxique. Nous avons montré que BIN1 inhibe l'activité

enzymatique de la poly (ADP-ribose) polymérase 1 (PARP1), une protéine impliquée dans le système de réparation des dommages à la molécule d'ADN, et avec laquelle BIN1 interagit. Les résultats d'essais cliniques en oncologie ont validé l'utilisation thérapeutique de petites molécules inhibitrices de PARP1, et la stratégie qui consisterait à réactiver l'expression d'un inhibiteur cellulaire naturel de cette polymérase reste attractive [3].

Le complexe protéique BIN1-E2F1 supprime la résistance au cisplatine

Initialement identifié comme un facteur induit par l'oncoprotéine virale E1A, le facteur de transcription E2F1 (*E2 promoter-binding cellular factor-1*) est déterminant pour la transition de la phase G1 à la phase S du cycle cellulaire. De plus, une expression forcée de E2F1 favorise la formation de tumeurs *in vitro* et *in vivo*, particulièrement en l'absence de la protéine TP53 [7]. L'inactivation du gène du rétinoblastome (Rb), le premier

gène suppresseur de tumeur identifié, est une caractéristique des tumeurs malignes humaines où l'expression de E2F1 n'est plus finement régulée. L'ensemble de ces observations suggère que E2F1 est un proto-oncogène [8]. Dans certaines conditions, une dérégulation de ce gène induit l'apoptose par des mécanismes dépendants et indépendants de TP53. Chez les souris mutantes dépourvues de E2F1, l'apparition de diverses tumeurs est probablement liée à l'absence d'apoptose induite par ce facteur de transcription. Dans un scénario classique et en présence de cassures double brin de l'ADN, la kinase CHK2 (*checkpoint kinase 2*) est phosphorylée par ATM, puis les deux protéines agissent ensemble pour phosphoryler E2F1. La protéine E2F1 phosphorylée active alors des effecteurs de la mort cellulaire par apoptose en réponse aux dommages à la molécule d'ADN. Or, dans les cancers dits agressifs, où l'expression de BIN1 est quasi inexistante, les cellules cancéreuses survivent toujours au traitement par le

cisplatine. En l'absence de BIN1, les cellules cancéreuses sont systématiquement résistantes aux cassures double brin de la molécule d'ADN, non parce que E2F1 est inactive, mais plutôt parce qu'il existe un autre médiateur de survie cellulaire activé par la protéine ATM.

L'absence de BIN1 dans les cancers agressifs mobilise des foyers γ -H2AX particuliers

Nous avons montré que même en l'absence de cassure de la molécule d'ADN, seuls les cancers ayant perdu l'expression de BIN1 activent la formation de multiples foyers γ -H2AX, ce qui suggère l'implication d'un facteur nucléaire, encore inconnu, qui assemble rapidement la cascade d'événements liés à la DDR. L'une des protéines candidates est la protéine E2F1, associée à la chromatine. BIN1 atténue la transactivation de E2F1, particulièrement lorsque E2F1 est poly(ADP-ribosyl)ée, une modification post-traductionnelle effectuée par PARP1 [8, 9]. La poly(ADP-ribosyl)ation de E2F1 serait impliquée dans le contrôle spatio-temporel des partenaires de liaison de E2F1, dont fait partie BIN1. Seule la phosphorylation de MDC1 effectuée par ATM permet de former le complexe protéique MDC1-H2AX nécessaire pour déclencher la réparation de la molécule d'ADN et maintenir la survie cellulaire. L'histone H2AX comprend deux sites de phosphorylation, Ser139 et Tyr142, et le complexe protéique MDC1-H2AX se forme uniquement lorsque le résidu Tyr142 n'est plus phosphorylé [10]. Dans les cellules déficientes en BIN1, les cellules sont automatiquement riches en foyers H2AX indépendamment des dommages à la molécule d'ADN, et MDC1 est phosphorylé par ATM même lorsque le résidu Tyr142 de H2AX est phosphorylé. Cela correspond à un profil moléculaire caractéristique des cancers agressifs, où BIN1 est quasi absent. Par ailleurs, BIN1 est l'un des rares inhibiteurs naturels nucléaires de PARP1, une protéine associée au relâchement de la chromatine [3, 6].

Notre hypothèse est que la conformation de la chromatine remaniée relative aux dommages à la molécule d'ADN causés

par la cisplatine et celle de la chromatine dans les cancers agressifs ayant perdu l'expression de BIN1 sont stériquement différentes dans le microenvironnement des foyers γ -H2AX.

Signification de la présence des foyers γ -H2AX en l'absence de cassure double brin de la molécule d'ADN

Des travaux de recherche ont montré que lorsque MDC1 est artificiellement immobilisée sur la chromatine associée à une molécule d'ADN dépourvue de cassure, la cascade de signalisation de la DDR (qui inclut l'apparition des foyers γ -H2AX) est rapidement activée sous le contrôle des voies de signalisation de ATM et DNA-PKcs (*DNA-dependent protein kinase, catalytic subunit*) [10]. Cela indique qu'une association prolongée de la chromatine avec les principaux acteurs de la DDR suffit pour stimuler la voie de la réparation même en l'absence de dommage à la molécule d'ADN. La pertinence physiologique d'accentuer le signal DDR en absence de cassure de la molécule d'ADN ainsi que le message biologique qui en découle restent incompris [11]. Or, nous avons montré que la perte seule de l'expression de BIN1 est suffisante pour activer la voie DDR jusqu'à la formation des foyers γ -H2AX et ce, quel que soit l'état de phosphorylation du résidu Tyr142 de cette protéine. Notre hypothèse est que l'absence de BIN1 mime un signal de pseudo-cassure génomique du type « double brin » car la DDR assure en aval une réparation de la molécule d'ADN plus intensive (comme si un effecteur de la DDR n'était plus inhibé), ou bien déclenche l'apoptose lorsque les réparations sont inefficaces après un traitement au cisplatine, par exemple.

Perspectives thérapeutiques

Le cancer est souvent associé à une instabilité génomique et au vieillissement cellulaire. De multiples « suppresseurs » de tumeur agissent en fait comme des anti-oncoprotéines en préservant l'intégrité du génome compromise par certaines oncoprotéines : c'est notamment le cas pour

BRCA1/2, impliquée dans la réparation des cassures double brin de la molécule d'ADN par la recombinaison homologue, ou pour TP53, qui arrête la réplication du génome endommagé le temps d'activer la DDR. La protéine BIN1 est en revanche un véritable suppresseur de tumeur dans la mesure où elle induit la mort cellulaire par apoptose ou la sénescence en réponse à un stress oncogénique ou génotoxique. Dans cette situation, BIN1 augmente naturellement l'instabilité génomique en inhibant deux enzymes majeures de la DDR, les protéines PARP1 et ATM. Identifier un effecteur de ATM permettrait de disposer d'une deuxième cible pour vaincre la résistance des cancers à la chimiothérapie, la première étant l'expression de BIN1. ♦

A new mechanism by which cancers can circumvent cisplatin resistance : The E2F1/BIN1 axis

LIENS D'INTÉRÊT

L'auteure déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Bedard PL, Hyman DM, Davids MS, Siu LL. Small molecules, big impact : 20 years of targeted therapy in oncology. *Lancet* 2020 ; 395 : 1078-88.
2. Rottenberg S, Disler C, Perego P. The rediscovery of platinum-based cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2021 ; 21 : 37-50.
3. Li S, Wang L, Wang Y, et al. The synthetic lethality of targeting cell cycle checkpoints and PARPs in cancer treatment. *J Hematol Oncol* 2022 ; 15 : 147.
4. Folk WP, Kumari A, Iwasaki T, et al. Loss of the tumor suppressor BIN1 enables ATM Ser/Thr kinase activation by the nuclear protein E2F1 and renders cancer cells resistant to cisplatin. *J Biol Chem* 2019 ; 294 : 5700-19.
5. Thomas S, Dilbarov N, Kelly J, et al. Diet effects on colonic health influence the efficacy of Bin1 mAb immunotherapy for ulcerative colitis. *Sci Rep* 2023 ; 13 : 11802.
6. Pyndiah S, Sakamuro D. Un trio de choc pour pallier la chimiorésistance des cancers : c-MYC, PARP1, BIN1. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 133-5.
7. Pierce AM, Gimenez-Conti IB, Schneider-Broussard R, et al. Increased E2F1 activity induces skin tumors in mice heterozygous and nullizygous for p53. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 : 8858-63.
8. Sakamuro D, Folk WP, Kumari A. To die, or not to die : E2F1 never decides by itself during serum starvation. *Mol Cell Oncol* 2015 ; 2 : e981447.
9. Kumari A, Iwasaki T, Pyndiah S, et al. Regulation of E2F1-induced apoptosis by poly (ADP-ribosyl) ation. *Cell Death Differ* 2015 ; 22 : 311-22.
10. Cook PJ, Ju BG, Telesse F, et al. Tyrosine dephosphorylation of H2AX modulates apoptosis and survival decisions. *Nature* 2009 ; 458 : 591-6.
11. Soutoglou E, Misteli T. Activation of the cellular DNA damage response in the absence of DNA lesions. *Science* 2008 ; 320 : 1507-10.