



entre cellules inflammatoires et tissus impliqués dans le métabolisme, la très grande diversité des substrats des sirtuines ne permet pas à ce jour de prédire avec certitude les effets biologiques d'une diminution du taux de NAD dans les tissus sains. Les nombreuses observations décrivant un lien fonctionnel entre métabolisme du NAD et contrôle de la réponse immune semblent cependant constituer de nouvelles pistes thérapeutiques pour le contrôle des pathologies inflammatoires. ♦

A new inflammatory pathway linked to NAD

RÉFÉRENCES

1. Samal B, Sun Y, Stearns G, et al. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor. *Mol Cell Biol* 1994 ; 14 : 1431-7.
2. Sommer G, Garten A, Petzold S, et al. Visfatin/PBEF/Nampt: structure, regulation and potential function of a novel adipokine. *Clin Sci (Lond)* 2008 ; 115 : 13-23.
3. Rongvaux A, Shea RJ, Mulks MH, et al. Pre-B-cell colony-enhancing factor, whose expression is up-regulated in activated lymphocytes, is a nicotinamide phosphoribosyltransferase, a cytosolic enzyme involved in NAD biosynthesis. *Eur J Immunol* 2002 ; 32 : 3225-34.
4. Rongvaux A, Andris F, Van Gool F, Leo O. Reconstructing eukaryotic NAD metabolism. *Bioessays* 2003 ; 25 : 683-90.
5. Imai S. Nicotinamide phosphoribosyltransferase (Nampt): a link between NAD biology, metabolism, and diseases. *Curr Pharm Des* 2009 ; 15 : 20-8.
6. Busso N, Karababa M, Nobile M, et al. Pharmacological inhibition of nicotinamide phosphoribosyltransferase/visfatin enzymatic activity identifies a new inflammatory pathway linked to NAD. *PLoS One* 2008 ; 3 : e2267.
7. Van Gool F, Gallí M, Gueydan C, et al. Intracellular NAD levels regulate tumor necrosis factor protein synthesis in a sirtuin-dependent manner. *Nat Med* 2009 ; 15 : 206-10.
8. Taylor DM, Maxwell MM, Luthi-Carter R, Kazantsev AG. Biological and potential therapeutic roles of sirtuin deacetylases. *Cell Mol Life Sci* 2008 ; 65 : 4000-18.
9. Skokowa J, Lan D, Thakur BK, et al. NAMPT is essential for the G-CSF-induced myeloid differentiation via a NAD⁺-sirtuin-1-dependent pathway. *Nat Med* 2009 ; 15 : 151-8.
10. Revollo JR, Körner A, Mills KF, et al. Nampt/PBEF/Visfatin regulates insulin secretion in beta cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme. *Cell Metab* 2007 ; 6 : 363-75.

NOUVELLE

Du bon usage des profils d'expression génique pour la thérapie des lymphomes

Sandrine Roulland, Bertrand Nadel

Centre d'immunologie de Marseille-Luminy (CIML), Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm U631), Centre national de la recherche scientifique (CNRS UMR6102), Université de la Méditerranée, Parc scientifique de Luminy, Case 906, 13288 Marseille, France. nadel@ciml.univ-mrs.fr

> On pourrait considérer que l'histoire de la classification des néoplasmes lymphoïdes débute avec la première description clinico-morphologique par Thomas Hodgkin en 1832 de ce qui est maintenant reconnu comme le lymphome de Hodgkin, et finit en 2008 avec l'application des profils d'expression génique à la stratification fine des lymphomes que propose Louis M. Staudt. Ou bien cette dernière ne fait-elle qu'inaugurer le début d'une nouvelle ère de reconnaissance et de classification des nombreuses entités pathologiques distinctes que constituent les lymphomes. L'introduction de l'outil bioinformatique associé aux études pangénomiques/transcriptomiques et la nécessité de créer de nouvelles formes d'analyse ont généré une période de confusion et de suspicion, qui s'est avérée relativement néfaste à l'application clinique. Les travaux de Louis M. Staudt, depuis l'un des articles princeps de 2002 [1] jusqu'au

récent article de G. Lenz [2], sont à la fois pionniers et *gold standard* dans ce domaine.

Lymphomes diffus à grandes cellules : évolutions thérapeutiques

Le lymphome diffus à grandes cellules (DLBCL) est le lymphome non hodgkinien le plus fréquent chez l'adulte, représentant environ un tiers des nouveaux cas diagnostiqués chaque année et plus de 80 % des lymphomes B agressifs. Les DLBCL constituent une entité très hétérogène incluant de nombreux variants histopathologiques, induisant également une grande hétérogénéité du point de vue de la réponse à la thérapie et de la survie.

Depuis les premières études de A.A. Alizadeh et al. [3] et de A. Rosenwald et al. [1], il est clairement établi que la survie des patients atteints de DLBCL après chimiothérapie est influencée par les caractéristiques moléculaires de la

tumeur et, dans ce contexte, les profils d'expression génique ont permis non seulement l'identification de nouveaux sous-types moléculaires non identifiables par les approches conventionnelles [1, 3] mais aussi le développement des modèles prédictifs en regard de la thérapie utilisée [1, 3, 4]. Au moins trois sous-groupes majeurs peuvent être définis par une signature moléculaire spécifique : le sous-type GC pour *germinal center B cell-like*, dont le profil d'expression est similaire à celui des cellules B normales du centre germinatif (CG) ; le sous-type ABC pour *activated B cell* mimant le profil de cellules B post-CG à un stade de différenciation plasmocytaire, et un troisième sous-type plus rare, défini comme *primary mediastinal B cell lymphoma* (PMBL). Si le potentiel pronostique de ces profils d'expression génique a été confirmé dans les DLBCL, les résultats s'avèrent le plus souvent conflictuels et non reproductibles. Cela est en partie lié à la nature

rétrospective des études, au nombre de patients analysés, à l'hétérogénéité des approches expérimentales (*microarrays*, immunohistochimie) et des traitements, qui sont autant d'obstacles à la reproductibilité. Un autre élément intervient également : jusqu'à l'article de G. Lenz en 2008 [2], très peu d'études à grande échelle avaient été conduites dans l'optique de revisiter les indicateurs pronostiques dans les DLBCL à l'ère des traitements par immuno-chimiothérapie. L'utilisation des anticorps monoclonaux - essentiellement le Rituximab (R) dirigé contre l'antigène lymphocytaire B CD20 - a transformé les pratiques thérapeutiques dans le DLBCL. De nombreux essais cliniques randomisés ont montré que l'introduction du Rituximab apportait un bénéfice pour les patients de 10 à 15 % en termes de survie globale et de survie sans rechute par rapport au seul traitement par chimiothérapie¹ [5], et ce pour les deux sous-types moléculaires GC-DLBCL et ABC-DLBCL [2, 6]. Cependant, si cette combinaison de type R-CHOP est devenue le traitement de référence du DLBCL, certaines tumeurs échappent toujours à cette thérapie et restent à ce jour incurables. Dans ce contexte, il semblait dès lors primordial de réévaluer la relevance des index pronostiques définis initialement chez les patients traités uniquement par CHOP ou CHOP-like et de déterminer si le Rituximab améliore préférentiellement le devenir dans certains groupes de patients par rapport à d'autres.

Puissance pronostique du profil d'expression génique

Dans leur article, G. Lenz *et al.* [2] ont étudié les profils d'expression génique de cellules de biopsies ganglionnaires prélevées au moment du diagnostic chez 414 patients atteints de DLBCL : 181 patients avaient été traités par CHOP seul (groupe de validation) et 233 patients par R-CHOP (groupe test).

¹ La chimiothérapie conventionnelle est le CHOP, une association de chimiothérapies à base d'anthracyclines (cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine et prednisone) ou le CHOP-like.

Une première analyse basée sur les profils d'expression génique associés à la survie leur a permis de définir 4 signatures principales dont deux (*germinal center* et *stromal-1*) ont été retenues pour créer un premier modèle prédictif de survie. Afin d'augmenter la puissance pronostique de ce modèle bivarié, les auteurs ont alors identifié individuellement plus de 1 500 nouveaux gènes dont l'expression était associée à un bon ou à un mauvais pronostic, et ont réorganisé par *clustering* hiérarchique les gènes exprimés de manière coordonnée pour former 5 nouvelles signatures. L'une de ces nouvelles signatures, définie comme *stromal-2*, augmente indiscutablement la puissance prédictive du modèle et a été choisie pour constituer un modèle optimal trivarié de survie. Une caractéristique inattendue et tout à fait remarquable de ce modèle est qu'il rassemble deux signatures stromales (*stromal* désigne le micro-environnement cellulaire d'origine mésenchymateuse, support de la tumeur) dont la signification est opposée ; l'une est associée à un bon pronostic (*stromal-1*), la seconde à un pronostic défavorable (*stromal-2*). Comme attendu, ce modèle de survie confirme dans la cohorte un bénéfice de l'association R-CHOP en termes de survie globale à 3 ans et de survie sans progression. Mais plus encore, le « score prédictif de survie » calculé à partir de ce modèle a permis de stratifier la cohorte R-CHOP en quartiles donnant des taux de survie globale à 3 ans allant de 89 % (Q1) à 48 % (Q4). Cela renforce la pertinence de ce score comme prédictif de l'impact pronostique de la biologie de la tumeur. De plus, cette étude montre pour la première fois que la combinaison des deux index, l'index biologique défini ici à partir des profils d'expression et l'index pronostique international² (IPI), contribue à la puissance prédictive de chacun

² L'index pronostique international inclut des données cliniques simples (âge, stade, *performance status*, nombre de sites extra-ganglionnaires atteints) et un seul facteur biologique (taux de LDH, enzyme lactate déshydrogénase).

des index chez des patients traités par la combinaison R-CHOP.

Le profil d'expression génique identifie les relations stroma-tumeur comme un déterminant pronostique majeur

Dichotomie de deux signatures stromales

Un autre intérêt majeur de l'étude du groupe de L.M. Staudt est de suggérer quelques pistes thérapeutiques dans les cas où le modèle de survie indique un score de mauvais pronostic sous R-CHOP. Les auteurs ont analysé dans 3 échantillons tumoraux l'origine cellulaire des composants constitutifs de chaque signature : la composante tumorale lymphocytaire CD19⁺ a été séparée (par tri cellulaire) de la composante non tumorale CD19⁻. Comme attendu, les gènes définissant la signature GC étaient plus fortement exprimés par les cellules de la tumeur CD19⁺ tandis que les gènes responsables des signatures *stromal-1* et *stromal-2* reflétaient principalement le caractère des cellules non malignes, incluant les compartiments stromal et hématopoïétique (autre que les lymphocytes B). Spécifiquement, la signature *stromal-1* comportait des gènes exprimés par les tissus mésenchymateux normaux (protéines de la matrice extra-cellulaire dont la fibronectine) et des gènes exprimés par la lignée monocyttaire. La signature *stromal-2* se définissait essentiellement par des gènes exprimés par les cellules endothéliales et/ou codant pour des régulateurs clés de l'angiogenèse. De manière intéressante, cette dichotomie entre les deux signatures stromales est validée par l'analyse immuno-histochimique conventionnelle de coupes histologiques de DLBCL, montrant dans les tumeurs à score stromal faible (et donc plutôt de bon pronostic), une infiltration tumorale riche en monocytes associée à un dépôt abondant de matrice extracellulaire alors qu'un score stromal élevé, associé à un pronostic défavorable, se traduit par une densité accrue de néo-vaisseaux infiltrant la tumeur, reflet de la connexion



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. Sautd 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*