Chroniques génomiques

Le monde caché des clones mutants dans les tissus normaux

Bertrand Jordan

On s'accorde à penser que les cancers apparaissent lorsque, après avoir accumulé plusieurs mutations somatiques successives, quelques cellules deviennent capables d'échapper aux mécanismes de contrôle de la prolifération et, si elles ne sont pas inhibées ou détruites par le système immunitaire, se multiplient pour donner naissance à une tumeur [1].

Il devient dès lors essentiel d'analyser finement des tissus normaux afin de déterminer s'ils comportent des clones de cellules portant déjà des mutations susceptibles de faciliter leur évolution future vers un phénotype cancéreux. Cela pose évidemment des problèmes techniques puisque l'on s'attend à ce que ces cellules mutantes soient très minoritaires dans l'échantillon de tissu, et donc peu représentées dans l'ADN que l'on en extrait.

En dehors du cas plus favorable des cellules sanguines [2], les études les plus fouillées ont été réalisées sur la peau [3] et, tout récemment par la même équipe britannique, sur l'épithélium de l'œsophage [4]. L'étude de la peau avait mis en évidence de nombreuses mutations (deux à six par mégabase d'ADN), touchant souvent des gènes impliqués dans la cancérogenèse, bien qu'il s'agisse d'un tissu apparemment normal et sans signe de cancer au niveau histologique. Mais on pouvait penser que le cas examiné était particulier puisque cette peau avait été fortement exposée au soleil et donc à la mutagenèse par les rayons ultraviolets (UV)¹.

Il était donc très intéressant de renouveler l'analyse sur un tissu non exposé, et c'est ce que présente la publication parue fin novembre 2018 dans la revue *Science* qui fait l'objet de cette chronique [4, 5].

UMR 7268 ADÉS, Aix-Marseille, Université/EFS/CNRS ; CoReBio PACA, case 901, Parc scientifique de Luminy, 13288 Marseille Cedex 09, France.

brjordan@orange.fr

Beaucoup de clones mutants, en relation avec l'âge

La méthodologie de l'étude est proche de celle précédemment employée pour la peau [3], avec quelques améliorations (échantillons plus nombreux, de plus petite taille, séquençage plus approfondi, etc.). Les auteurs ont travaillé sur des échantillons de tissu d'œsophage provenant de neuf donneurs d'organe (décédés), ont isolé l'épithélium (qui ne présente aucune anomalie à l'examen histologique) et ont prélevé pour analyse de petits fragments de deux millimètres carrés, 844 en tout. Après extraction de l'ADN, 74 gènes liés au cancer ont été séquencés à une redondance médiane élevée de 870, choisie pour permettre la détection de séquences très minoritaires correspondant à de petits clones de cellules portant une mutation donnée au sein de ce tissu. La limite de détection dépend un peu du gène considéré (les taux d'erreurs de séquençage varient selon la séquence) mais elle correspond à des fréquences (abondances relatives) se situant entre 0,1 % et 1 %. Il s'avère que dans chacun des 844 échantillons, on trouve de 5 à 25 mutations touchant ces 74 gènes, soit autant de clones de cellules mutées représentant une fraction suffisante de la population cellulaire (dans ce petit échantillon de 2 mm²) pour être détectables. Cela est illustré de façon frappante dans la *Figure 1*, qui montre les clones mutés présents dans un centimètre carré d'épithélium normal. Il s'agit d'une image synthétisée à partir des données

¹ L'étude portait sur des échantillons d'épiderme de paupière prélevés dans le cadre de blépharoplasties (une chirurgie des paupières destinée à corriger un excès de peau) pratiquées chez des individus d'âge mûr (55 à 73 ans).

obtenues et qui tente de les représenter de manière intuitive : ce n'est pas l'image réelle des clones trouvés dans 1 cm² de peau, mais une manière parlante et assez réaliste de présenter les résultats. La comparaison des neuf échantillons de l'étude confirme une forte augmentation du nombre de mutations avec l'âge mais aussi de nettes différences d'un individu à l'autre ; l'effectif est insuffisant pour conclure sur un effet du tabac. En tous cas, il est clair que ce tissu apparemment normal comporte un grand nombre de clones cellulaires portant des mutations dans des gènes impliqués dans le cancer, clones susceptibles de donner naissance à une tumeur macroscopique. Rappelons qu'ici on ne répertorie que les mutations trouvées dans les 74 gènes étudiés : une extrapolation à l'ensemble du génome, appuyée sur le séquençage intégral d'une vingtaine de clones donne une fréquence globale de mutation de 0,2 à 0,8 par mégabase (voir plus loin). Reste à examiner de plus près la nature de ces mutations.

Des mutations *driver*, une sélection positive, pas de signature mutationnelle nette

Les cinq mutations les plus fréquentes dans ces cellules affectent, dans l'ordre, les gènes *NOTCH1*², *TP53*³, *NOTCH2*, *FAT1*⁴ et *NOTCH3*. Ces mutations étaient également dominantes dans la peau [3], elles ont en commun le fait d'inactiver des gènes impliqués dans la différenciation vers les kératinocytes. Ces altérations orientent donc les cellules qui les portent vers la voie alternative de prolifération, leur donnant ainsi un avantage sélectif par rapport aux cellules non mutées au sein de l'épithélium normal. Et l'analyse des mutations montre des traces très nettes de sélection positive : seulement 2 % des mutations trouvées dans *NOTCH1* sont silencieuses, c'est-à-dire que presque 98 % des mutations aboutissent à une protéine non fonctionnelle et donc abolissent la fonction – favorisant la prolifération de la cellule et la formation d'un clone mutant. De même, le gène *TP53* présente une fréquence élevée de mutations faux-sens ou tronquantes indiquant que ces altérations inactivantes sont sélectionnées positivement. L'interprétation détaillée est un peu compliquée en ce qui concerne *NOTCH1* (qui s'avère plus souvent muté dans l'épithélium normal que dans les tumeurs de l'œsophage), mais dans l'ensemble il est clair que la plupart des clones ont été sélectionnés au sein de l'épithélium normal en raison de la présence de mutations *driver* dans des gènes connus pour être impliqués dans la cancérogenèse. Au-delà des 74 gènes examinés dans tous les échantillons, les chercheurs ont choisi 21 spécimens dans lesquels un clone était très largement dominant, au point de représenter plus de la moitié des cellules. Ils ont alors effectué le séquençage intégral de l'ADN extrait, ce qui permet d'accéder à l'examen exhaustif des mutations présentes. Le nombre total de mutations est de l'ordre de 0,2 à 0,8 par mégabase, soit environ dix fois moins que le chiffre trouvé pour la peau – mais cela correspond néanmoins à des centaines ou milliers de mutations par cellule.

² La famille de protéines NOTCH régule la prolifération cellulaire.

³ Gène suppresseur de tumeur.

⁴ Qui code la protocadhérine impliquée dans la migration cellulaire.

Figure 1. Nombre, taille et nature des clones de cellules mutantes présents dans 1 cm² d'épithélium de l'œsophage.

Cette figure contient beaucoup d'informations et mérite d'être explicitée. Les clones détectés par l'analyse de séquence sont figurés par des cercles dont la taille correspond à la fréquence de la mutation trouvée (qui définit la fraction de cellules portant cette mutation dans l'échantillon, donc l'effectif du clone correspondant). Leur positionnement dans la figure est aléatoire, sauf pour les sous-clones qui sont inclus dans les clones auxquels ils sont apparentés (d'après les mutations qu'ils portent). Enfin, la couleur de chaque cercle indique le gène muté auquel il correspond – la couleur violette indique le gène *NOTCH1* muté, la couleur bistre *TP53*. Le carré du haut se rapporte à un échantillon provenant d'un homme jeune (20 à 23 ans) et non-fumeur, celui du bas à un homme âgé de 44 à 47 ans (l'âge est indiqué par un intervalle et non par une valeur précise pour mieux préserver l'anonymat des donneurs) et gros fumeur. La différence est flagrante et porte tant sur le nombre de clones de cellules mutées que sur leur taille. On voit aussi que les mutations *NOTCH1* (violet) et *TP53* (bistre) sont dominantes (les autres mutations sont repérées par des couleurs plus difficiles à distinguer) (extrait partiel et remanié de la figure 3 de [4]).

On ne trouve guère de signature mutationnelle nette (par exemple le jeu de mutations associées à l'usage du tabac n'est qu'à peine perceptible) ; de même, les insertions, délétions et translocations souvent présentes dans les cancers de l'œsophage ne sont guère visibles dans ces analyses. La plupart de ces clones peuvent être considérés comme « pré-cancéreux », encore proches de la normale, mais prêts à évoluer vers un phénotype tumoral moyennant quelques mutations supplémentaires.

À suivre...

Cet article, un peu difficile à suivre en raison de la masse de données et de leur complexité, me semble revêtir une grande importance et a eu un large écho [5]. Il étend et généralise les résultats déjà obtenus sur la peau [3], que l'on pouvait considérer comme un cas particulier en raison de l'irradiation UV due au soleil. Il montre que nous disposons aujourd'hui d'outils technologiques capables de détecter, d'analyser et de quantifier des clones mutés ne représentant qu'un petit nombre de cellules au sein d'un échantillon biologique, et que l'on peut étudier ces clones en détail et les comparer aux échantillons provenant de tumeurs cancéreuses. L'abondance de ces clones (en nombre de cellules, et en type d'altération) est plutôt une mauvaise surprise : on ne s'attendait pas à trouver autant de cellules mutantes dans des tissus normaux, mais c'est un fait et il vaut mieux en être conscient si l'on cherche à développer des stratégies pour éviter les métastases, qui sont responsables de l'essentiel de la mortalité due au cancer. En tous cas, voici un nouveau

domaine de recherche qui va certainement susciter de nombreux travaux, et, espérons-le, des applications cliniques dans un futur assez proche. ♦

SUMMARY

Hidden pre-cancer clones in normal tissue

Careful sequencing studies on small samples of normal oesophageal epithelium reveal the presence of very abundant cellular clones harbouring mutations in known cancer genes (and elsewhere). The number and size of these clones increases with age. This surprising finding confirms previous studies on sun-exposed epidermis. It has important implications for the understanding of cancer initiation and will hopefully lead to conceptual and clinical advances. ♦

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, et al. Cancer genome landscapes. *Science* 2013 ; 339 : 1546-58.
2. McKerrill T, Vassiliou GS. Aging as a driver of leukemogenesis. *Sci Transl Med* 2015 ; 7 : 306fs38.
3. Martincorena I, Roshan A, Gerstung M, et al. Tumor evolution. High burden and pervasive positive selection of somatic mutations in normal human skin. *Science* 2015 ; 348 : 880-6.
4. Martincorena I, Fowler JC, Wabik A, et al. Somatic mutant clones colonize the human oesophagus with age. *Science* 2018 ; 362 : 911-7.
5. Chanock JJ. The paradox of mutations and cancer. *Science* 2018 ; 362 : 893-4.

TIRÉS À PART

B. Jordan

Bon de commande

À retourner à EDP Sciences, 17, avenue du Hoggar, 91944 Les Ulis Cedex A

Tél. : 01 49 85 60 69 - Fax : 01 49 85 03 45 - E-mail : francois.flori@edpsciences.org

NOM : Prénom :

Adresse :

Code postal : Ville :

Pays :

Fonction :

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Cancers de l'hypopharynx - Carcinomes épidermoïdes de la pyramide nasale** : 35 € + 3 € de port = **38 € TTC**

en exemplaire, soit un total de €

☐ Par chèque, à l'ordre de EDP Sciences

☐ Par carte bancaire : ☐ Visa ☐ Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | |