

La jonction anorectale

Une frontière inflammatoire propice à la cancérogenèse

Chloé Petitpas , Géraldine Guasch 

Centre de recherche en cancérologie de Marseille (CRCM), Inserm, CNRS, UMR 7288, Institut Paoli-Calmettes, Université d'Aix-Marseille, Équipe Cellules souches épithéliales et cancer, Marseille, France.

geraldine.guasch-grangeon@inserm.fr



La zone de transition anorectale, cible naturelle de la transformation cancéreuse

Les régions où deux épithéliums différents se rencontrent sont appelées « zones de transition ». La zone de transition anorectale joint l'épithélium stratifié du canal anal et l'épithélium glandulaire du rectum. Elle abrite des cellules souches qui réparent, grâce à leur plasticité, les blessures dues aux stress mécaniques et inflammatoires naturels liés à la défécation et au microbiote [1]. La jonction anorectale, sujette à l'inflammation et aux lésions notamment en raison des tensions mécaniques et de l'exposition aux bactéries lors du passage des selles, fait donc l'objet d'une surveillance étroite par les cellules immunitaires, comme des macrophages et des lymphocytes T résidents, afin de maintenir son intégrité. Elle présente spontanément des caractéristiques d'un épithélium pré-lésionnel, ce qui pourrait expliquer la fréquence des cancers dans cette zone particulière [2].

En effet, bien que le cancer anal soit rare (environ 2 000 nouveaux cas chaque année en France), son incidence a augmenté au cours des dernières années. Dans 95 % des cas, il s'agit de carcinomes épidermoïdes, c'est-à-dire se développant dans un épithélium stratifié, dont 85 % sont localisés dans la zone de transition anorectale, et seulement 15 % dans le canal anal [3].

De nombreuses études ont établi que l'inflammation chronique constitue un facteur majeur de promotion du cancer dans divers tissus. Elle agit notamment en modifiant la plasticité cellulaire, en

favorisant la survie de cellules ayant subi une transformation cancéreuse, et en remodelant le microenvironnement tumoral [4]. Pourtant, le lien entre inflammation chronique, lésions tissulaires répétées, et apparition d'un cancer reste peu étudié à la jonction anorectale.

Modèles d'étude de développement pré-cancéreux

L'étude des mécanismes du développement pré-cancéreux est devenue une priorité afin d'améliorer la détection et la prise en charge des cancers à un stade précoce, pour lesquels le taux de survie après le traitement est souvent plus élevé que pour les cancers à un stade avancé. Pour tenter de comprendre les mécanismes de la cancérogenèse, de nombreuses études utilisent des modèles de lignées cellulaires *in vitro*, ou l'analyse descriptive de métadonnées recueillies à partir d'échantillons tumoraux. Mais chacune de ces stratégies comporte d'importantes limitations. Dans le premier cas, l'interprétation des résultats se heurte à l'absence de contexte biologique, tandis que dans le second, elle se limite à des corrélations en l'absence de mécanismes fonctionnels. Pour tenter de comprendre les mécanismes précoces de la cancérogenèse dans son contexte biologique, il est donc essentiel de développer des modèles de progression tumorale *in vivo*.

La cancérogenèse dans un épithélium débute par sa transformation hyperplasique : un épaississement dû à la prolifération des cellules basales. Cet état peut évoluer vers une lésion précancéreuse, ou dysplasie, dont le degré

de sévérité est défini selon des paramètres histologiques cellulaires et structuraux. On distingue ainsi les dysplasies de bas grade (peu sévères), de moyen grade (moyennement sévères), ou de haut grade (sévères). Ces dernières sont aussi appelées carcinome *in situ*, ce qui correspond à un stade local précoce du cancer.

Notre équipe de recherche a mis au point un modèle murin de progression tumorale reproduisant les stades d'hyperplasie, de dysplasie de bas grade, et de carcinome *in situ*. Ce modèle est fondé sur l'expression inductible de la mutation oncogénique KRAS^{G12D} spécifiquement dans la zone de transition anorectale, et sur des blessures mécaniques produisant des plaies chroniques localisées afin d'explorer le rôle des lésions chroniques et de l'inflammation dans la formation de tumeurs (Figure 1A) [5].

Quand la réparation des plaies rencontre le stress oncogénique : implication des lymphocytes T $\gamma\delta 17$

L'utilisation du modèle murin de plaies chroniques localisées dans la zone de transition anorectale a permis d'étudier la cancérogenèse à cet emplacement. Dans ce modèle, la seule mutation de KRAS, associée à des plaies chroniques par blessure mécanique, suffit à induire une transformation cancéreuse, alors qu'un second « choc oncogénique » est normalement nécessaire afin d'induire cette transformation. Par exemple, pour le cancer du poumon, la mutation de Myc est nécessaire en plus de celle de KRAS afin d'induire une transformation cancéreuse [6], et dans le cas du carcinome

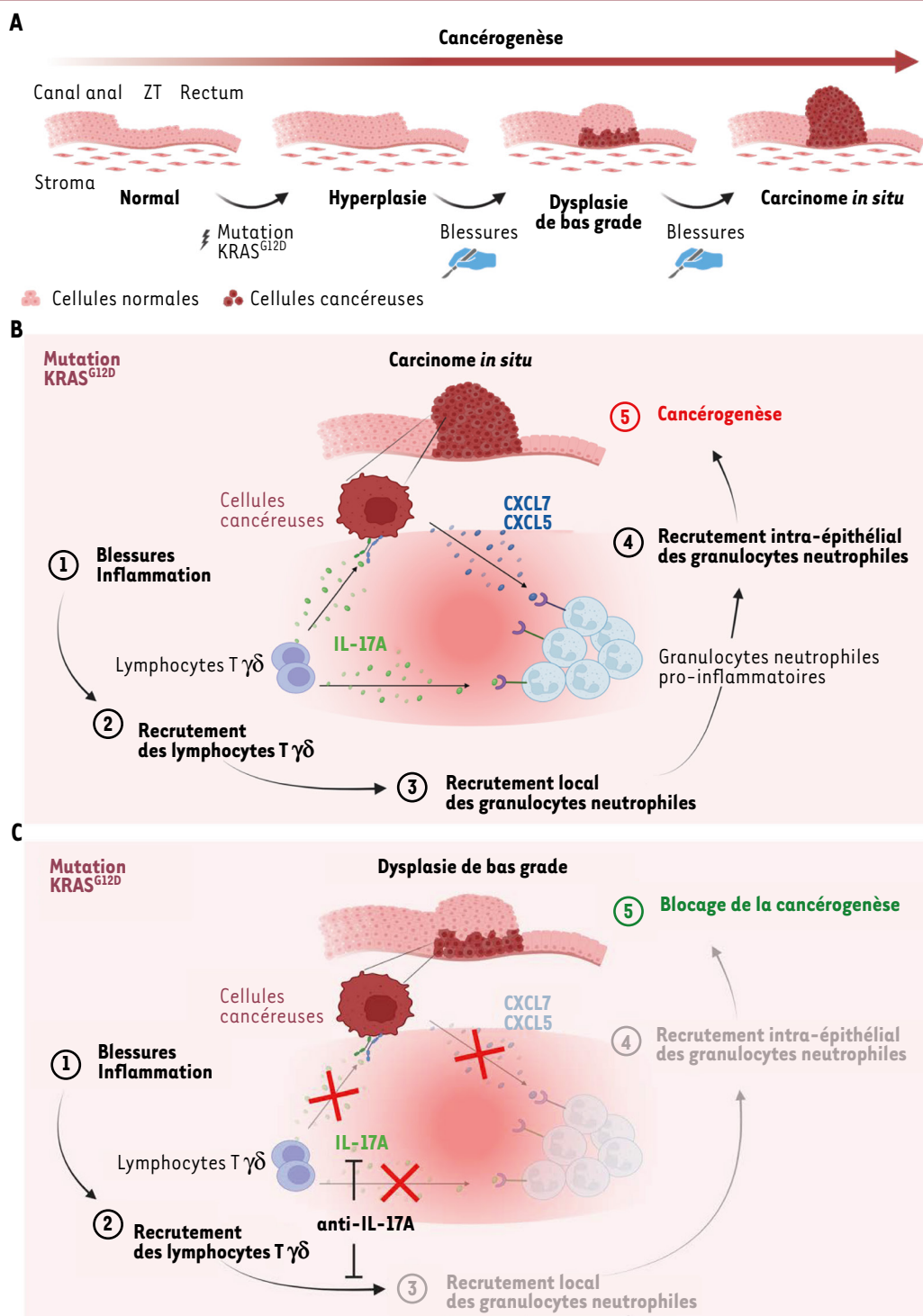


Figure 1. La réponse pro-inflammatoire chronique impliquant l'interleukine-17A et les granulocytes neutrophiles contribue à la cancérogenèse dans la zone de transition anorectale. **A.** Modèle *in vivo* de cancérogenèse dans la zone de transition (ZT) anorectale chez la souris. La mutation oncogénique $KRAS^{G12D}$ induit l'hyperplasie de la zone de transition qui, associée à des blessures mécaniques répétées provoquant des plaies chroniques, évolue en dysplasie de bas grade, puis en carcinome *in situ*. **B.** Les interactions entre les cellules épithéliales, les lymphocytes $T\gamma\delta$, et les granulocytes neutrophiles pro-inflammatoires favorisent la cancérogenèse dans la zone de transition anorectale en présence de la mutation $KRAS^{G12D}$ et de plaies chroniques. **C.** L'inhibition de l'interleukine-17A (IL-17A) par un anticorps dirigé contre cette protéine bloque les interactions entre l'épithélium et les cellules immunitaires pro-tumorales, et empêche l'apparition du carcinome. Figure réalisée avec BioRender.

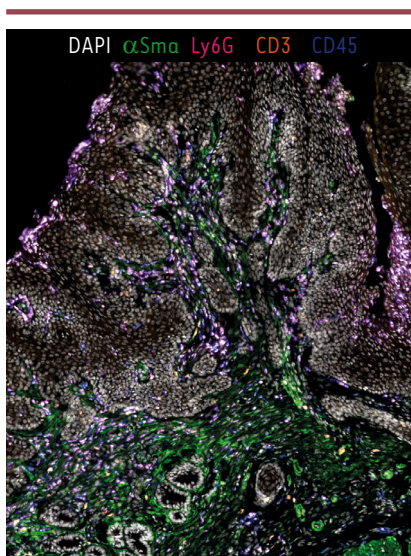


Figure 2. Recrutement des granulocytes neutrophiles dans la zone de transition anorectale atteinte d'une dysplasie de bas grade.

Détection des protéines indiquées ci-dessous, par immunofluorescence multiplex, sur une coupe de tissu de souris ayant développé une dysplasie de bas grade à la jonction anorectale : la protéine α SMA (α smooth muscle actin) marque les cellules musculaires lisses et les myofibroblastes (en vert), Ly6G marque les granulocytes neutrophiles (en rose), CD3 marque les lymphocytes T (en orange), et CD45 marque tous les leucocytes (en bleu). Les granulocytes neutrophiles apparaissent colorés en violet car ils sont co-marqués par Ly6G et CD45. Les noyaux de toutes les cellules sont marqués par le DAPI (en blanc).

épidermoïde de la peau, c'est la perte de p53 associée à la mutation de KRAS qui est nécessaire [7].

En utilisant des techniques de transcriptomique à l'échelle de la cellule unique, d'hybridation *in situ* de l'ARN, et de protéomique spatiale, nous avons cartographié le paysage immunitaire de la cancérogenèse anorectale. Nous avons montré l'existence d'interactions entre les cellules épithéliales porteuses de la mutation oncogénique KRAS^{G12D} et leur microenvironnement immunitaire. Nous avons mis en évidence l'existence d'un dialogue entre les cellules immunitaires (notamment les lymphocytes T

$\gamma\delta$ producteurs d'interleukine-17A et les granulocytes neutrophiles pro-inflammatoires) et ces cellules épithéliales, qui favorise la transition de lésions dysplasiques de bas grade vers un carcinome. Étonnamment, les macrophages ne semblent pas impliqués. En effet, bien que physiologiquement présents dans cette zone [2], où ils contribuent vraisemblablement à la régulation du microbiote et à l'homéostasie du tissu, leur présence durant cette transition lésionnelle est limitée au tissu conjonctif (stroma), sans qu'ils s'intègrent à l'épithélium, contrairement aux granulocytes neutrophiles, dont le rôle cancérogène a été identifié [5].

L'analyse bio-informatique des résultats a révélé que la voie de signalisation de l'interleukine-17A est la plus spécifiquement activée dans les cellules cancéreuses (par comparaison aux voies de signalisation du TNF α , de l'interleukine-6, et du TGF β) et joue un rôle clé dans la cancérogenèse. Les résultats d'expériences d'inhibition de l'interleukine-17A chez la souris ont permis de conclure que cette cytokine est indispensable à la formation de carcinomes. De plus, un traitement avec l'interleukine-17A sur des modèles d'organoïdes reproduisant la progression lésionnelle *in vitro*, a montré un effet direct sur la transformation des cellules épithéliales [5].

Nous avons montré, dans le modèle murin, que les lymphocytes T $\gamma\delta$ sécrétant l'interleukine-17A favorisaient également la cancérogenèse en entraînant le recrutement local des granulocytes neutrophiles pro-inflammatoires protumoraux, qui sont ensuite recrutés au sein de l'épithélium grâce à sa sécrétion des cytokines CXCL5 et CXCL7 induite en réponse à l'interleukine-17A (Figures 1B et 2). Le recrutement des lymphocytes T $\gamma\delta$, quant à lui, s'explique par les blessures répétées infligées à la région anorectale pour maintenir des plaies chroniques. En effet, il a précédemment été montré que des blessures cutanées induisaient le recrutement de

lymphocytes T $\gamma\delta$ sécrétant l'interleukine-17A, qui permet aux cellules de réparer ces blessures via le facteur de transcription inductible par l'hypoxie HIF1 α [8]. Comme de nombreuses cellules immunitaires, les lymphocytes T $\gamma\delta$ présentent un tropisme, qui est ici défini par leurs chaînes γ et δ . Selon le tissu, les lymphocytes T $\gamma\delta$ à chaîne V γ 6 ou V γ 4 vont participer à la réparation de blessures [9].

Nos résultats sont cohérents avec ceux d'une autre équipe de recherche montrant le rôle cancérogène des lymphocytes T $\gamma\delta$ sécrétant l'interleukine-17A dans les cancers colorectaux : ces lymphocytes induisent l'accumulation et l'expansion de cellules immunosuppressives de la lignée myéloïde, comme des granulocytes neutrophiles et des macrophages immunosuppresseurs [10]. Cependant, dans notre modèle, les granulocytes neutrophiles recrutés dans la zone de transition anorectale sont pro-inflammatoires et non immunosuppresseurs.

L'axe interleukine 17A - granulocytes neutrophiles : une cible potentielle pour bloquer la carcinogenèse à la jonction anorectale

L'inhibition expérimentale de l'interleukine-17A chez la souris stoppe le développement de la lésion de la jonction anorectale à un stade pré-cancéreux en bloquant la cascade de recrutement local et intra-épithélial des granulocytes neutrophiles (Figure 1C). Il convient donc de s'interroger sur la possibilité d'une utilisation médicale des anticorps bloquant l'interleukine-17A en cas de dysplasie de la jonction anorectale diagnostiquée à un stade précoce, d'autant plus que ces anticorps (secukinumab, ixekizumab) sont déjà utilisés pour traiter le psoriasis (une maladie cutanée provoquée par un excès d'interleukine-17A) ou la polyarthrite rhumatoïde [11]. Il conviendrait aussi d'étudier expérimentalement l'effet de l'inhibition de l'interleukine-17A à des stades plus tardifs du développement tumoral afin d'envisager la possibilité

d'une utilisation thérapeutique contre des cancers anaux plus avancés. ♦

The anorectal junction : an inflammatory line favoring carcinogenesis

REMERCIEMENTS

Ce travail de recherche a été réalisé avec le soutien financier de la Ligue nationale contre le cancer, de l'Institut national du cancer (INCa_IT-MOK_14692, PNP 2019), de l'Alliance nationale pour les sciences de la vie et de la santé ITMO Cancer AVIESAN, Plan cancer (Anorecell), et partiellement grâce au soutien du Cancéropôle Provence-Alpes-Côte d'Azur. Nous remercions Julien Marie et Hector Hernandez-Vargas, nos collaborateurs dans cette étude, ainsi que tous les membres de l'équipe Cellules souches épithéliales et cancer du CRCM.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt.

RÉFÉRENCES

1. Mitoyan L, Chevrier V, Hernandez-Vargas H, et al. A stem cell population at the anorectal junction maintains homeostasis and participates in tissue regeneration after injury. *Nat Commun* 2021 ; 12 : 2761.
2. Guasch G, Schober M, Pasolli A, et al. Loss of TGF β signalling destabilizes homeostasis and promotes squamous cell carcinomas in stratified epithelia. *Cancer Cell* 2007 ; 12 : 313-27.
3. Hoff PM, Coudry R, Moniz CMV. Pathology of anal cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2017 ; 26 : 57-71.
4. Greten FR, Grivennikov SI. Inflammation and cancer : Triggers, mechanisms, and consequences. *Immunity* 2019 ; 51 : 27-41.
5. Petitpas C, Mitoyan L, Thevin V, et al. Injury and inflammation promote cancer progression at the anorectal junction. *Cell Rep* 2025 ; 44 : 116552.
6. Kortlever RM, Sodir NM, Wilson CH, et al. Myc cooperates with Ras by programming Inflammation and immune suppression. *Cell* 2017 ; 171 : 1301-15.
7. Lapouge G, Youssef KK, Vokaer B, et al. Identifying the cellular origin of squamous skin tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011 ; 108 : 7431-6.
8. Konieczny P, Xing Y, Sidhu I, et al. Interleukin-17 governs hypoxic adaptation of injured epithelium. *Science* 2022 ; 377 : eabg9302.
9. Hu W, Shang R, Yang J, et al. Skin $\gamma\delta$ T cells and their function in wound healing. *Front Immunol* 2022 ; 13 : 875076.
10. Wu P, Wu D, Ni C, et al. $\gamma\delta$ T17 cells promote the accumulation and expansion of myeloid-derived suppressor cells in human colorectal cancer. *Immunity* 2014 ; 40 : 785-800.
11. Țiburcă L, Bembea M, Zaha DC, et al. The treatment with interleukin 17 inhibitors and immune-mediated inflammatory diseases. *Curr Issues Mol Biol* 2022 ; 44 : 1851-66.



En vente sur
laboutique.edpsciences.org

ISBN :
978-2-7598-3792-2
112 pages - 19 € TTC