

► L'initiation cancéreuse est due à la modification, par instabilité génétique de l'ADN d'une cellule souche, du programme de régulation temporo-spatial. Ce programme, unique pour chaque organe, est sous la dépendance de gradients de substances morphogéniques. Deux instabilités, l'une génomique l'autre chromosomique, sont responsables du cancer colique. L'instabilité chromosomique la plus fréquente est associée au risque métastatique distal. Elle est due à la mutation du gène *APC*, effecteur central de la voie morphogénique Wnt, dominante dans le côlon. Le type et le niveau de mutation déterminent la capacité migratrice et donc métastatique de la cellule souche atteinte, qui se repositionne dans l'organisme en fonction de son nouveau programme morphogénique. ◀

## Dérèglements cellulaires et moléculaires à l'origine du phénotype métastatique

Guy Zeitoun



Service de Chirurgie générale et digestive, Centre Hospitalier François Quesnay, 2, boulevard Sully, 78200 Mantes-la-Jolie, France.  
[g.zeitoun@ch-mantes-la-jolie.fr](mailto:g.zeitoun@ch-mantes-la-jolie.fr)

Le taux de récurrence locale après exérèse carcinologique étant quasi nul, l'événement qui conditionne la survie des patients atteints d'un cancer colique est la survenue de métastases distales, essentiellement hépatiques. La récente découverte des cellules souches coliques et de leurs voies d'homéostasie apporte un nouvel éclairage sur les dérèglements cellulaires et moléculaires responsables de la transformation d'une cellule colique en cellule cancéreuse (stade d'initiation) puis en cellule métastatique [1].

### Rôle des cellules souches et des voies de morphogénèse

Tout organisme unicellulaire est doté d'un programme de régulation intrinsèque temporelle autonome. En revanche, les organismes multicellulaires sont structurés en sous-groupes de cellules dont la spécialisation, la localisation et la quantité sont génomiquement prédéfinies. Les cellules de ces organismes sont dotées d'une régulation temporo-spa-

tiale non autonome car dépendante d'informations extrinsèques.

Dès la conception d'un organisme multicellulaire, la position temporo-spatiale et la différenciation de chaque cellule souche sont déterminées par des gradients extrinsèques de substances (morphogènes) sous la dépendance de voies morphogéniques (TGF $\beta$ , Wnt, Hedgehog, Notch, Hox, BMP, FGF, p53...) se régulant entre elles au travers de voies de communication. Ces gradients orchestrent l'organogénèse. Une fois l'organogénèse terminée, la spécificité structurale et fonctionnelle de chaque tissu est assurée par un programme de régulation morphogénique précis et unique dans lequel l'une des voies morphogéniques serait dominante [1].

Au cours de l'organogénèse digestive, les cellules souches endodermiques digestives entrent en division et se différencient sous l'influence d'un gradient TGF $\beta$  (axe longitudinal) en hépatocytes, cellules gastriques pariétales, entérocytes, cellules coliques [2].

Dans le côlon, la plus petite unité physiologique est la crypte colique dont la base est tapissée par 19 cellules souches. L'augmentation du nombre de cryptes se fait par fission des cryptes et la division des cellules souches se fait par mitose symétrique assurant la présence de 19 cellules souches dans



chacune des deux cryptes constituées. Une fois l'organogenèse terminée, le renouvellement du revêtement épithélial se fait en 3 à 5 jours, selon une progression strictement axiale, les 19 cellules souches de chaque crypte assurant par mitose asymétrique la stabilité de leur nombre et le renouvellement des cellules différenciées dont le degré de différenciation croît avec leur migration vers le pôle apical. Arrivées au pôle apical, les cellules sont détruites par apoptose. La régulation de l'ensemble de ces phénomènes est sous la dépendance du micro-environnement stromal (niche) de la crypte colique, au travers d'un gradient morphogénique [1, 2].

Il est maintenant établi que la voie Wnt, dont l'effecteur central est APC, est la voie dominante de la régulation morphogénique cryptique (axe vertical) [2]. Ce gradient APC dominant est associé à un gradient FGF dont l'activité décroît au fur et à mesure de la différenciation et de la polarisation cellulaire [3]. Or un gradient morphogénique identique, régulant la polarisation cellulaire rythmée par les mitoses, vient d'être mis en évidence dans la cellule colique [3]. Ainsi, la régulation morphogénique extrinsèque temporo-spatiale non autonome ne serait qu'une reproduction cryptique, donc multicellulaire, d'une même régulation temporelle intrinsèque autonome cellulaire [3, 4].

En 2003, Riccardo Fodde publiait « *All is in APC* » car cette protéine multifonctionnelle semble réguler la totalité des mécanismes régissant les mécanismes fondamentaux de la cellule colique (Figure 1) [5].

### Initiation cancéreuse et pouvoir métastatique

Le cancer est une maladie de l'ADN responsable d'une instabilité génétique. La dominance de la voie Wnt et le rôle pivot de la protéine APC dans le tissu colique expliqueraient le développement de cancers uniquement coliques dans la polypose adénomateuse familiale liée à une mutation constitutionnelle du gène APC [1, 2, 5].

Dans le cancer colique sporadique, véritable modèle du cancer solide, l'instabilité génétique se matérialise par deux phénotypes majeurs, l'instabilité génomique (15 %) associée à une instabilité micro-satellitaire (MSI) et l'instabilité chromosomique (CIN) (85 %) encore dénommée par opposition stabilité micro-satellitaire (MSS) [6]. Ces deux mécanismes de tumori-

genèse, bien qu'altérant des gènes distincts, sont responsables du dérèglement des mêmes voies d'homéostasie cellulaire et, de manière dominante, de la voie Wnt. Le premier (MSI), lié à une méthylation du gène *MLH1* en rapport avec le processus de sénescence naturelle de l'épithélium colique, est responsable de la mutation du gène  $\beta$ -caténine qui n'altère qu'une partie des mécanismes fondamentaux régulés par la voie Wnt. En revanche, le second (CIN ou MSS) est lié à la mutation du gène *APC* et altère la totalité des mécanismes fondamentaux régulés par la voie Wnt [1, 2, 4, 5].

Cliniquement, ces deux phénotypes sous-tendent, à stade histologique comparable, un risque métastatique distinct, faible (stade III) voire nul (stade II) dans les cancers sporadiques MSI, majeur (50 % stade III, 20 % stade II) dans les cancers sporadiques de type MSS [6].

L'instabilité chromosomique est due à la mutation d'*APC*. Il est maintenant acquis que l'altération du gène *APC*, localisé sur 5q31, constante dans les cancers MSS, serait l'altération initiale responsable de l'instabilité chromosomique [5]. La protéine APC, tronquée par mutation du gène, entraîne un dérèglement de l'ensemble du processus mitotique et l'acquisition de l'autonomie temporelle cellulaire [1, 5]. Au niveau tissulaire, la mutation du gène *APC* est responsable d'une augmentation anarchique du nombre de cellules souches avant fission, avec migration de ces cellules le long de l'axe, diffusion des cellules porteuses des mutations du gène *APC* et apparition d'une crypte aberrante. La fission propage ensuite ces mutations avec formation de foyers de cryptes aberrantes, premier stade irréversible de la tumorigenèse colique. L'accumulation de  $\beta$ -caténine nucléaire, du fait de la mutation d'*APC*, maintient de surcroît un niveau élevé de division, augmentant le nombre de fissions cryptiques [1, 2]. Nous avons récemment montré que la nature de l'inactivation du gène *APC*, et donc le niveau

de troncature de la protéine qui en résultait, conditionnait le risque métastatique [7]. En effet, la mutation ponctuelle des deux allèles est associée à un haut risque métastatique, contrairement à la mutation d'un allèle avec délétion de l'autre. Or cette bi-inactivation allélique n'est pas aléatoire et la position sur la

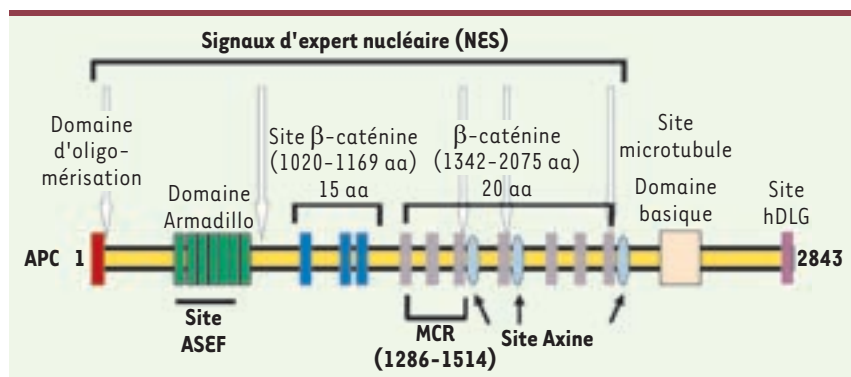


Figure 1. Les domaines fonctionnels de la protéine APC.



séquence codante de la première mutation, toujours ponctuelle, conditionne le type de la seconde (ponctuelle ou délétion) sur l'autre allèle [8]. Lorsque la première mutation survient dans la région de regroupement des mutations somatiques (MCR : codons 1250 à 1450), il y a délétion de l'autre allèle ; en revanche, lorsque la première mutation se situe en amont du MCR, il y a mutation ponctuelle dans le MCR de l'autre allèle. Sur le plan fonctionnel, la conséquence de la première mutation concerne les capacités de liaison et de dégradation de la  $\beta$ -caténine, les mutations dans le MCR conservant les capacités de la protéine APC à lier la  $\beta$ -caténine (Figure 1). La perte des capacités de liaison avec la  $\beta$ -caténine entraîne une accumulation nucléaire et une activation transcriptionnelle constitutive du gène *MYC*. De fait, la surexpression de  $\beta$ -caténine nucléaire sur le front d'invasion et dans les vaisseaux est prédictive du risque de métastases hépatiques et la surexpression de c-Myc impose un « phénotype mutationnel » précoce nécessaire à l'acquisition de la capacité métastatique et de chimiorésistance [9, 10].

### Modulations du pouvoir métastatique déterminé par la mutation du gène APC

Nous avons montré que l'acquisition du pouvoir métastatique lié à l'atteinte d'APC était modulée par la mutation du 4p et la délétion du 8p.

L'altération du 4p est associée de manière récurrente à un mauvais pronostic [11, 12]. Nos résultats suggèrent qu'une inactivation par bi-mutation ponctuelles favoriserait l'acquisition du pouvoir métastatique. Le gène de la *FGF-binding protein*, localisé en 4p11, et de mauvais pronostic dans les cancers coliques et pancréatiques, pourrait être le gène impliqué [12]. Sa mutation très précoce surviendrait juste après celle d'APC et modifierait la disponibilité des protéines de la famille FGF dont le gradient morphogénique régule la différenciation et la polarisation cellulaires [3].

La perte du 8p dans la moitié des cancers coliques MSS est associée à un mauvais pronostic [13]. Aucun gène candidat n'a été clairement associé à cette délétion située à proximité du gène *MSR1* bien que le gène *FGF20*, situé à 0,5 Mb, est associé à un plus haut risque de mauvais pronostic ou qu'un *cluster* de gènes impliqués dans l'apoptose a été proposé pour expliquer la variabilité du siège des mutations observées. Dans les deux hypothèses, dont la dernière paraît séduisante, les voies morphogéniques et leur modulation par APC seraient impliquées [14].

La perte du 8p est significativement associée à un gain du 8q, focalisée sur la région contenant le gène *MYC* [13]. L'absence de valeur pronostique indépendante du 8q s'explique par le lien étroit entre APC (gène effecteur) et *MYC* (gène cible) dans la voie Wnt. Notre hypothèse est qu'une coopération entre les altérations du 8q et du 5q optimise l'effet dose de la protéine Myc, essentielle dans la régulation de l'autonomie des cellules souches et l'apoptose, expliquant son haut pouvoir de trans-

formation en cellule souche cancéreuse en cas de surdosage [10, 14].

### Adaptation dans l'organe hôte : de la cellule dormante à la métastase

Il existe un tropisme majeur des cellules cancéreuses coliques pour le parenchyme hépatique. Deux hypothèses, non exclusives, s'affrontent : l'une anatomique s'appuyant sur le drainage portal du côlon, l'autre moléculaire supportée par la mise en évidence d'un axe cytokinique (CXCR4-CXCL12) guidant la circulation et la domiciliation des cellules souches [15, 16]. La délétion du bras chromosomique 19q est significativement plus fréquente dans les métastases hépatiques d'origine colique que dans les tumeurs coliques primitives dont les patients n'avaient jamais développé de métastases [17]. L'altération du 19q ne pouvant être localisée du fait de la petite taille du chromosome, de très nombreux gènes pourraient être candidats. Notre hypothèse est que la mutation du gène *TGF- $\beta$* , connue pour son pouvoir oncogénique tardif, permettrait l'adaptation de la cellule métastatique au gradient morphogénique, notamment du tissu hépatique qui possède un gradient morphogénique TGF- $\beta$  plus élevé. Cela aurait pour conséquence la stimulation de la voie du plasminogène, mise en cause dans le réveil des cellules dormantes, et dont l'une des protéines majeures a son gène situé à proximité de celui du TGF- $\beta$  [17-20].

### Conclusion

L'altération du gène APC serait initiatrice des cancers coliques MSS les plus fréquents et serait responsable du risque métastatique. Cette mutation survient dans les cellules souches dotées d'une régulation morphogénique autonome à dominante Wnt. Le siège sur la séquence codante de la première mutation conditionne, dès l'initiation, l'acquisition par la cellule de ses capacités néoplasique et métastatique. Cela suggère que le risque métastatique pourrait dépendre d'un facteur environnemental éventuellement favorisé par certains polymorphismes du gène APC. Les altérations successives d'autres gènes codant pour des protéines clés de voies morphogéniques permettraient ensuite à la cellule souche colique cancéreuse d'harmoniser, à chaque étape de sa migration, son gradient morphogénique intrinsèque au gradient morphogénique extrinsèque du tissu hôte, notamment dans le foie.  $\diamond$

## SUMMARY

### Cellular and molecular deregulations driving the metastatic phenotype

Cancerogenesis is initiated by DNA instability that induces modifications in stem cells. Regulation is organ specific and depends on morphogenetic factors. DNA instability is alternatively related to chromosomal aberrations or DNA replication errors. Chromosomal instability is the most frequent characteristics of colon adenocarcinoma, and is observed in distant metastatic foci. It is associated with somatic APC mutations that deregulates the WNT pathway. Position of the mutations within the coding sequence are essential for the cell migration capacities thus for stem cell metastasis ability. After this step the new morphogenic program is able induce expansion in the host organ. ♦

## RÉFÉRENCES

1. Boman BM, Huang E. Human colon cancer stem cells: a new paradigm in gastrointestinal oncology. *J Clin Oncol* 2008 ; 26 : 2828-38.
2. Scoville DH, Sato T, He XC, Li L. Current view: intestinal stem cells and signaling. *Gastroenterology* 2008 ; 134 : 849-64.
3. Sääf AM, Halbleib JM, Chen X, et al. Parallels between global transcriptional programs of polarizing Caco-2 intestinal epithelial cells in vitro and gene expression programs in normal colon and colon cancer. *Mol Biol Cell* 2007 ; 18 : 4245-60.
4. Van den Brink GR, Offerhaus GJ. The morphogenetic code and colon cancer development. *Cancer Cell* 2007 ; 11 : 109-17.
5. Fodde R. The multiple functions of tumour suppressors: it's all in APC. *Nat Cell Biol* 2003 ; 5 : 190-2.
6. Buckowitz A, Knaebel HP, Benner A, et al. Microsatellite instability in colorectal cancer is associated with local lymphocyte infiltration and low frequency of distant metastases. *Br J Cancer* 2005 ; 92 : 1746-53.
7. Zeitoun G, Buecher B, Bayer J, et al. Retention of chromosome arm 5q in stage II colon cancers identifies 83 % of liver metastasis occurrences. *Genes Chrom Cancer* 2006 ; 45 : 94-102.
8. Albuquerque C, Breukel C, Van der Luijt R, et al. The just-right signalling model: APC somatic mutations are selected based on a specific level of activation of the beta-catenin signalling cascade. *Hum Mol Genet* 2002 ; 11 : 1549-60.
9. Suzuki H, Masuda N, Shimura T, et al. Nuclear beta-catenin expression at the invasive front and in the vessels predicts liver metastasis in colorectal carcinoma. *Anticancer Res* 2008 ; 28 : 1821-30.
10. Prochownik EV. c-Myc: linking transformation and genomic instability. *Curr Mol Med* 2008 ; 8 : 446-58.
11. Al-Mulla F, AlFadhli S, Al-Hakim AH, et al. Metastatic recurrence of early-stage colorectal cancer is linked to loss of heterozygosity on chromosomes 4 and 14q. *J Clin Pathol* 2006 ; 59 : 624-30.
12. Tassi E, Wellstein A. The angiogenic switch molecule, secreted FGF-binding protein, an indicator of early stages of pancreatic and colorectal adenocarcinoma. *Semin Oncol* 2006 ; 33 (suppl 11) : S50-6.
13. Mourra N, Zeitoun G, Portier G, et al. High-resolution genotyping of chromosome 8 in colon adenocarcinomas reveals recurrent break point but no gene mutation in the 8p21 region. *Diagn Mol Pathol* 2008 ; 17 : 90-3.
14. Brocardo M, Lei Y, Tighe A, et al. Mitochondrial targeting of adenomatous polyposis coli protein is stimulated by truncating cancer mutations: regulation of Bcl-2 and implications for cell survival. *J Biol Chem* 2008 ; 283 : 5950-9.
15. Horak CE, Steeg PS. Metastasis gets site specific. *Cancer Cell* 2005 ; 8 : 93-5.
16. Dimberg J, Hugander A, Löfgren S, Wågsäter D. Polymorphism and circulating levels of the chemokine CXCL12 in colorectal cancer patients. *Int J Mol Med* 2007 ; 19 : 11-5.
17. Zeitoun G, Mourra N, Blanche-Koch H, Thomas G, Olschwang S. Genomic profile of colon cancer metastases. *Anticancer Res* 2008 ; 28 : 3609-12.
18. Pardali K, Moustakas A. Actions of TGF-beta as tumor suppressor and pro-metastatic factor in human cancer. *Biochim Biophys Acta* 2007 ; 1775 : 21-62.
19. Lash GE, Otun HA, Innes BA, et al. Inhibition of trophoblast cell invasion by TGFβ1, 2, and 3 is associated with a decrease in active proteases. *Biol Reprod* 2005 ; 73 : 374-81.
20. Allgayer H, Aguirre-Ghiso JA. The urokinase receptor (u-PAR): a link between tumor cell dormancy and minimal residual disease in bone marrow? *APMIS* 2008 ; 116 : 602-14.

---

### TIRÉS À PART

G. Zeitoun