

## Mutations de la succinate déshydrogénase et méthylation de l'ADN

### Un nouveau lien entre métabolisme cellulaire, épigénétique et cancer

Judith Favier<sup>1,2</sup>, Éric Letouzé<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Inserm, UMR970, PARCC - Paris-centre de recherche cardiovasculaire, hôpital européen Georges Pompidou, 56, rue Leblanc, 75015 Paris, France.

<sup>2</sup>Université Paris Descartes, faculté de médecine, 75006 Paris, France.

<sup>3</sup>Programme Cartes d'Identité des Tumeurs, Ligue nationale contre le cancer, 75013 Paris, France. [judith.favier@inserm.fr](mailto:judith.favier@inserm.fr)

#### Succinate déshydrogénase et cancer

La succinate déshydrogénase (SDH) est une enzyme localisée dans la membrane interne mitochondriale, qui participe à deux processus métaboliques majeurs : la chaîne respiratoire, où elle permet le transfert d'électrons vers l'ubiquinone, et le cycle de Krebs, où elle catalyse l'oxydation du succinate en fumarate. Cette enzyme est constituée de quatre sous-unités codées par des gènes nucléaires ; deux sous-unités catalytiques (SDHA et SDHB) et deux sous-unités d'ancrage à la membrane (SDHC et SDHD). Longtemps associées à des maladies neurodégénératives, les mutations des gènes *SDHx* ont été identifiées dans des formes familiales de phéochromocytomes (PCC) et paragangliomes (PGL) au début des années 2000 [1, 2]. Ces gènes y jouent un rôle de suppresseur de tumeurs et leurs mutations constitutionnelles sont alors associées à une perte d'hétérozygotie somatique, menant à l'inactivation complète de l'enzyme dans le tissu tumoral.

Les PGL/PCC sont des tumeurs rares, dérivées de la crête neurale, qui se développent dans les paraganglions des systèmes nerveux parasympathique et sympathique depuis la tête et le cou jusqu'au pelvis, en passant par la glande médullo-surrénale. Il s'agit des tumeurs humaines pour lesquelles la proportion de formes héréditaires est la plus importante, puisque 35 à 40 % d'entre elles sont déterminées génétiquement. Elles sont par ailleurs caractérisées par une

forte complexité génétique puisque causées par des mutations dans 9 gènes suppresseurs de tumeurs (*SDHA*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *SDHAF2*, *VHL* [von Hippel Lindau], *NF1* [neurofibromine], *TMEM127* [transmembrane protein 127], *MAX* [Myc-associated factor X]) et un proto-oncogène (*RET*, *rearranged during transfection*) [2, 3].

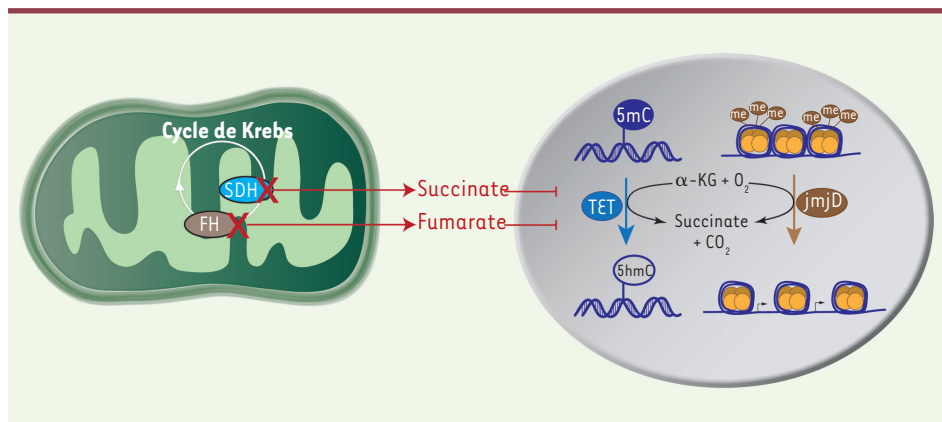
Bien que les PGL/PCC soient le plus souvent bénins, 10 à 15 % d'entre eux sont malins, c'est-à-dire métastatiques puisqu'il n'existe pas de critère histologique permettant de prédire le caractère invasif d'une tumeur primaire. Le seul facteur de mauvais pronostic connu pour cette pathologie est la présence d'une mutation spécifiquement du gène *SDHB*, qui prédispose à des PGL/PCC malins particulièrement agressifs [4].

La spécificité du spectre tumoral associé aux mutations des gènes *SDHx* est une question qui demeure sans réponse, et qui est surprenante du fait de l'activité *a priori* ubiquitaire d'une enzyme telle que la SDH. Des mutations de ces gènes ont cependant été identifiées dans certaines formes de tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST, [5]) ainsi que dans quelques cas de cancers du rein.

#### L'analyse du méthylome des PGL/PCC explique les caractéristiques des tumeurs liées aux mutations SDHx

La méthylation de l'ADN est une modification chimique qui affecte les bases C au sein de dinucléotides C-G. Cette modification épigénétique permet de réguler

l'activité des gènes dans différents tissus, sans modifier la séquence d'ADN en tant que telle. Des altérations du profil de méthylation sont souvent impliquées dans les cancers. Ainsi, une méthylation anormalement forte du promoteur d'un gène suppresseur de tumeurs peut diminuer son niveau d'expression et conduire à une prolifération anarchique des cellules. Dans une étude récente [6], nous avons analysé la méthylation de l'ADN à l'échelle du génome entier (le méthylome) de 145 PGL/PCC du réseau COMETE, grâce à la technique des puces à ADN. Nous avons ainsi identifié trois groupes de tumeurs aux profils de méthylation similaires, fortement associés aux gènes de prédisposition connus. Notamment, les tumeurs associées aux mutations des gènes *SDHx*, et en particulier du gène *SDHB*, présentent un phénotype hyperméthylateur, c'est-à-dire une méthylation anormalement élevée d'un grand nombre de gènes. Ces altérations du méthylome ont des conséquences importantes sur l'activité transcriptionnelle des cellules. Ainsi, le niveau d'expression d'environ 200 gènes hyperméthylés est fortement diminué. Parmi ces gènes, nous avons identifié des gènes suppresseurs de tumeurs connus, des gènes impliqués dans la synthèse des catécholamines (qui est la fonction principale des cellules chromaffines différenciées), ou encore des gènes associés à la transition épithélio-mésenchymateuse, processus qui permet aux cellules de quitter leur tissu d'origine pour migrer vers d'autres organes. L'extinction



**Figure 1.** Mécanisme reliant les mutations des gènes *SDHx* et *FH* à l'hyperméthylation de l'ADN et des histones. Le succinate et le fumarate qui s'accumulent dans les tumeurs porteuses de mutations des gènes *SDHx* et *FH* inhibent les dioxygénases dépendantes de l' $\alpha$ -cétoglutarate (alpha-KG) telles que les enzymes TET et les histones déméthylases (JmJD). Me : méthyl ; 5mC : 5 méthylcytosine ; 5hmC : 5 hydroxyméthylcytosine.

de ces gènes, consécutive à l'hyperméthylation de leurs régions promotrices, permet d'expliquer la dédifférenciation des cellules chromaffines au sein des PGL/PCC [7] et le caractère invasif des tumeurs associées à une mutation du gène *SDHB* [8].

### Un lien inattendu entre cycle de Krebs et régulation épigénétique

Pour comprendre le lien entre inactivation de la succinate déshydrogénase et méthylation de l'ADN, nous avons inactivé le gène *Sdhb* dans des cellules chromaffines de souris. Comme les cellules tumorales humaines, ces cellules développent un phénotype hyperméthylateur et acquièrent des capacités migratoires accrues. L'inactivation de l'enzyme SDH conduit à l'accumulation du succinate, son substrat dans le cycle de Krebs. Ce métabolite a une structure très proche de celle d'un autre intermédiaire du cycle de Krebs, l'alpha-cétoglutarate, qui est nécessaire à l'activité de plusieurs enzymes cellulaires. Parmi celles-ci, les enzymes TET, récemment identifiées, assurent la déméthylation active de l'ADN [9] pour maintenir l'activité des gènes nécessaires au fonctionnement de la cellule. Grâce à notre modèle murin, nous avons montré que le succinate agit comme un inhibiteur compétitif des déméthylases de la famille TET, conduisant à une accumulation progressive de méthylation (Figure 1). Ces résultats font écho à l'identification récente d'un phénotype hyperméthylateur

lateur dans les gliomes porteurs d'une mutation des gènes *IDH1* et *IDH2* [10], qui codent pour l'isocitrate déshydrogénase (IDH), une autre enzyme du cycle de Krebs. Ces tumeurs accumulent du 2-hydroxyglutarate (2-HG) qui, comme le succinate, agit comme un inhibiteur compétitif des enzymes TET [11]. Enfin, une tumeur de notre série, porteuse de mutations du gène codant pour la fumarate hydratase (FH), présente une accumulation de fumarate, qui conduit à une hyperméthylation par le même mécanisme [2]. Ces résultats montrent qu'une accumulation anormale de certains métabolites du cycle de Krebs (on parle d'oncométabolites) conduit à la dérégulation de processus cellulaires importants pouvant conduire au développement d'un cancer [13]. Ce lien inattendu entre métabolisme cellulaire et régulation épigénétique ouvre la voie à de nouvelles options thérapeutiques.

### Vers des traitements déméthylants pour les cancers liés au dysfonctionnement du cycle de Krebs ?

Les PGL/PCC malins sont des tumeurs pour lesquelles il n'existe à l'heure actuelle aucune chimiothérapie dont l'efficacité ait été démontrée. Le traitement de référence demeure la chirurgie, qui est souvent complexe du fait des importantes connexions vasculonerveuses, voire impossible dans certaines formes métastatiques, notamment les formes osseuses. Nous avons donc émis l'hypothèse que l'utilisa-

tion d'agents déméthylants tels que la 5-azacytidine et la 5-aza-2'déoxycytidine (Decitabine), déjà utilisés dans le traitement de syndromes myélodysplasiques ou de leucémies aiguës myéloïdes, pourraient corriger certaines caractéristiques des tumeurs invasives porteuses de mutations *SDHB*. Nos résultats préliminaires ont montré que les capacités migratoires des cellules *Sdhb*<sup>-/-</sup> étaient inhibées par un traitement à la decitabine et ce, même à très faible dose. L'une des restrictions majeures à l'utilisation de ces traitements étant l'importante toxicité à forte dose, nos observations ouvrent donc la voie vers la mise en place de stratégies thérapeutiques alternatives qui pourraient utiliser de telles approches dans les PGL/PCC ou les GIST causés par les mutations *SDHx*, mais aussi dans d'autres tumeurs hyperméthylées telles que les glioblastomes porteurs de mutations des gènes *IDH1/2*. ♦

### Mutations in succinate dehydrogenase and DNA methylation

#### LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

1. Baysal BE, Ferrell RE, Willett-Brozick JE, et al. Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in hereditary paraganglioma. *Science* 2000 ; 287 : 848-51.
2. Favier J, Gimenez-Roqueplo AP. La génétique des paragangliomes et des phéochromocytomes. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 625-32.

## RÉFÉRENCES

- Gimenez-Roqueplo AP, Dahia PL, Robledo M. An update on the genetics of paraganglioma, pheochromocytoma, and associated hereditary syndromes. *Horm Metab Res* 2012 ; 44 : 328-33.
- Amar L, Baudin E, Burnichon N, et al. Succinate dehydrogenase B gene mutations predict survival in patients with malignant pheochromocytomas or paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 ; 92 : 3822-8.
- Emile JF. Les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST). *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 630-3.
- Letouze E, Martinelli C, Lorient C, et al. SDH Mutations establish a hypermethylator phenotype in paraganglioma. *Cancer Cell* 2013 ; 23 : 739-52.
- Eisenhofer G, Pacak K, Huynh TT, et al. Catecholamine metabolomic and secretory phenotypes in pheochromocytoma. *Endocr Relat Cancer* 2011 ; 18 : 97-111.
- Lorient C, Burnichon N, Gadessaud N, et al. Epithelial to mesenchymal transition is activated in metastatic pheochromocytomas and paragangliomas caused by SDHB gene mutations. *J Clin Endocrinol Metab* 2012 ; 97 : E954-62.
- Pastor WA, Aravind L, Rao A. TETonic shift : biological roles of TET proteins in DNA demethylation and transcription. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013 ; 14 : 341-56.
- Turcan S, Rohle D, Goenka A, et al. IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype. *Nature* 2012 ; 483 : 479-83.
- Xu W, Yang H, Liu Y, et al. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of alpha-ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer Cell* 2011 ; 19 : 17-30.
- Xiao M, Yang H, Xu W, et al. Inhibition of alpha-KG-dependent histone and DNA demethylases by fumarate and succinate that are accumulated in mutations of FH and SDH tumor suppressors. *Genes Dev* 2012 ; 26 : 1326-38.
- Yang M, Soga T, Pollard PJ. Oncometabolites : linking altered metabolism with cancer. *J Clin Invest* 2013 ; 123 : 3652-8.

## NOUVELLE

### Apoptose et Sida, une affaire d'intégration ?

Jérôme Estaquier<sup>1,2</sup>, Vasco Rodrigues<sup>1</sup>, Ricardo Silvestre<sup>3</sup>,  
Romain Estaquier<sup>1</sup>, Bernard Krust<sup>1</sup>, Mireille Laforge<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CNRS FRE 3235, Université Paris Descartes, 45, rue des Saint-Pères, 75006 Paris, France ;  
<sup>2</sup>Université Laval, centre de recherche en infectiologie, Québec, Canada ;  
<sup>3</sup>Parasite disease group, Instituto de biologia molecular e celular, Universidade do Porto, Porto, Portugal.  
[estaquier@yahoo.fr](mailto:estaquier@yahoo.fr)  
[mirhaddad@gmail.com](mailto:mirhaddad@gmail.com)

> Depuis plus d'une vingtaine d'années, se fondant sur l'hypothèse selon laquelle la déplétion des lymphocytes T CD4 au cours de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) résultait d'une apoptose [1], de nombreuses équipes ont cherché à identifier les mécanismes cellulaires et moléculaires. Dès 1991, les travaux des Dr D. Richman et A. Hovanessian [2, 3] montraient que le virus conduisait à l'apoptose de lignées lymphoblastoïdes T ou de cellules primaires T CD4 activées par un mitogène.

#### Intégration virale et apoptose des lymphocytes T CD4

Une étude publiée récemment par A. Cooper et al. dans la revue *Nature* [4] suggère que l'insertion de l'ADN viral dans le génome de l'hôte est responsable de cette apoptose par le biais d'une activation de la protéine p53 par la DNA-PK, protéine kinase impliquée dans la réponse aux dommages de l'ADN double brin. Les auteurs montrent que l'apoptose touche uniquement les cellules qui

n'expriment pas l'antigène p24, un marqueur direct de la multiplication du virus, suggérant que les cellules meurent avant de pouvoir répliquer le virus. Une analyse des lymphocytes T du sang périphérique isolés de trois individus infectés par le VIH, mais non traités par une thérapie anti-virale, suggère qu'après stimulation *in vitro*, 70 à 90 % des cellules n'exprimant pas l'antigène p24 meurent, mais seulement 30 à 70 % des cellules p24<sup>+</sup> qui représentent entre 0,5 et 0,1 % des cellules CD4<sup>+</sup> meurent par apoptose. Ainsi, la proportion de cellules T CD4<sup>+</sup> apoptotiques (90 %) est très supérieure à celle décrite antérieurement [5], et semble peu compatible avec le taux de CD4 observé chez les patients infectés par le VIH-1 (> 600 CD4<sup>+</sup> par mm<sup>3</sup>). De plus, l'absence de détection de l'antigène p24 pourrait refléter l'activation de protéases effectrices de l'apoptose capables de dégrader les protéines, et non l'absence de répllication comme le proposent les auteurs.

De plus, A. Cooper et al. [4] montrent qu'en bloquant l'intégration virale à

l'aide du raltegravir, un inhibiteur de l'intégrase du VIH, la mort cellulaire est diminuée non seulement dans la lignée lymphoblastoïde T/B CEMX174, mais également dans les cellules primaires T CD4<sup>+</sup> activées par la PHA (phytohémagglutinine) et l'IL(interleukine)-2, bien que les cellules soient infectées. L'utilisation d'un virus dont l'intégrase est mutée (D64V) réduit également ce processus d'apoptose. Les auteurs proposent que l'apoptose s'accompagne d'une phosphorylation des protéines p53 et H2AX (une variante représentant entre 2 et 25 % de l'histone H2A, rapidement phosphorylée en cas de dommages à l'ADN). L'inhibition pharmacologique de l'activation de DNA-PK, la kinase responsable, prévient la phosphorylation de ces deux molécules ainsi que la mort cellulaire. Enfin, les auteurs montrent que l'inhibition de l'activation de la protéine p53 par un agent pharmacologique, la pifithrine, bloque également l'apoptose des cellules T CD4. Ainsi, les auteurs proposent que l'insertion de l'ADN viral dans le génome de