

Figure 2. Mécanisme proposé pour expliquer les différences liées au sexe des MDSC lors de la régénération du muscle squelettique. Suite à un stress oxydatif et/ou une hypoxie *in vivo*, les MDSC femelles se maintiennent dans un stade de renouvellement ou un état quiescent, tandis que les MDSC mâles s'engagent dans la lignée de différenciation myogénique. Ces différences entraînent une augmentation du nombre de MDSC femelles, ce qui explique une régénération plus élevée avec les MDSC femelles qu'avec les MDSC mâles.

4. Cao B, Zheng B, Jankowski RJ, *et al.* Muscle stem cells differentiate into haematopoietic lineages but retain myogenic potential. *Nat Cell Biol* 2003 ; 5 : 640-6.
5. Deasy BM, Gharaibeh BM, Pollett JB, *et al.* Long-term self-renewal of postnatal muscle-derived stem cells. *Mol Biol Cell* 2005 ; 16 : 3323-33.
6. Zammit P, Beauchamp J. The skeletal muscle satellite cell: stem cell or son of stem cell? *Differentiation* 2001 ; 68 : 193-204.
7. Wagers AJ, Conboy IM. Cellular and molecular signatures of muscle regeneration: current concepts and controversies in adult myogenesis. *Cell* 2005 ; 122 : 659-67.
8. Collins CA, Olsen I, Zammit PS, *et al.* Stem cell function, self-renewal, and behavioral heterogeneity of cells from the adult muscle satellite cell niche. *Cell* 2005 ; 122 : 289-301.
9. Deasy BM, Lu A, Tebbets JC, *et al.* A role for cell sex in stem cell-mediated skeletal muscle regeneration: female cells have higher muscle regeneration efficiency. *J Cell Biol* 2007 ; 177 : 73-86.
10. Corsi KA, Pollett JB, Phillippi JA, *et al.* The osteogenic potential of postnatal skeletal muscle-derived stem cells is influenced by donor sex. *J Bone Miner Res* 2007 (2 juillet) *online*.
11. Aksu AE, Rubin JP, Dudas JR, *et al.* Role of gender and anatomical region on induction of osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells. *Annals Plast Surg* 2007 (sous presse).

NOUVELLE

Association d'anticorps anti-EGFR et anti-HER2 Efficacité pré-clinique dans le traitement du cancer du pancréas

Christel Larbouret, Bruno Robert, Isabelle Teulon, David Azria, André Pèlegri

Centre de Recherche en Cancérologie de Montpellier (CRCM) ; Inserm U860 Immunociblage et Radiobiologie en Oncologie ; Université Montpellier 1 ; CRLC Val d'Aurelle-Paul Lamarque, 34298 Montpellier, France. Apelegri@valdorel.fnclcc.fr

> Les thérapies ciblées contre la famille des récepteurs de facteurs de croissance ont aujourd'hui une place incontournable dans l'arsenal thérapeutique en cancérologie, qu'il s'agisse d'inhibiteurs de tyrosine kinase (TKI) ou d'anticorps monoclonaux (AcM). Cela s'explique par le rôle crucial joué par ces récepteurs dans la prolifération cellulaire et l'accroissement de la masse tumorale. L'interaction entre le récepteur de l'EGF

(EGFR, *epidermal growth factor receptor* ou HER1) et HER2 lorsqu'ils sont co-exprimés à la surface membranaire et leur coopérativité dans l'induction des signaux intracellulaires semblent être responsables d'une plus grande agressivité tumorale et font de ces deux récepteurs des cibles thérapeutiques. Depuis leur découverte, en 1978 pour l'EGFR, et en 1985 pour HER2, les nombreux travaux de recherche menés sur

cette famille de récepteurs ont permis d'établir une passerelle entre la cible biologique impliquée dans la carcinogénèse et le développement de thérapies ciblées.

Biologie d'EGFR et HER2

La famille HER est composée de quatre récepteurs transmembranaires à activité tyrosine kinase dont l'EGFR et HER2 [1]. Seul EGFR possède des ligands naturels

qui peuvent participer à une boucle autocrine. La fixation d'un ligand tel que EGF sur la partie extracellulaire de son récepteur va induire un changement de conformation et une homodimérisation ou une hétérodimérisation avec un autre récepteur de la même famille (HER2, HER3, HER4). Les résidus tyrosines intracellulaires s'autophosphorylent et deviennent des points d'ancrage pour des complexes protéiques qui vont, à leur tour, activer de nombreuses cascades de signalisation, dont les voies MAPK ou AKT. Finalement, le complexe ligand/récepteur est internalisé et l'expression de gènes impliqués dans la croissance cellulaire, l'inhibition de l'apoptose, l'angiogenèse ou le processus métastatique est induite [2]. Ces récepteurs ne sont donc actifs que sous forme de dimères dont la composition joue un rôle dans la diversification des signaux intracellulaires et dans le potentiel carcinogène [3].

EGFR et HER2, cibles thérapeutiques

EGFR et HER2 interviennent dans la carcinogénèse de différents cancers selon des modalités variées. Tout d'abord,

des études immunohistochimiques ont montré leur forte expression au niveau membranaire dans différents cancers. Par exemple, le récepteur HER2 est exprimé dans 20 % à 30 % des cancers du sein mais également dans les cancers de l'ovaire, du côlon ou du pancréas. L'EGFR, lui, est fortement exprimé dans les cancers épidermoïdes de la tête et du cou, VADS (cancers des voies aéro-digestives supérieures), cancers du côlon, du pancréas, de l'ovaire et de la vessie. Dans les cancers du sein, la surexpression de HER2 est associée à un mauvais pronostic et à une valeur prédictive de la réponse au trastuzumab (AcM dirigé contre HER2). En revanche, la corrélation entre la surexpression de EGFR et le pronostic tumoral ou la réponse thérapeutique à un agent anti-EGFR n'a pas été validée et reste controversée [4]. La co-expression de ces deux récepteurs dans un même tissu est moins documentée mais semble associée à un plus mauvais pronostic dans les cancers du sein [5] et du côlon [6].

Par ailleurs, certaines conséquences de l'interaction d'EGFR avec HER2 telles que l'inhibition de l'endocytose de EGFR

[7], l'augmentation du recyclage de l'hétérodimère à la surface cellulaire [8], ou la diminution de la dissociation du ligand EGF de son récepteur [9], conduisent à prolonger l'activation et la signalisation de ces deux récepteurs.

Ciblage de l'EGFR et HER2 en clinique

Les deux stratégies actuellement validées en clinique sont les inhibiteurs de tyrosine kinase (TKI) qui agissent au niveau intracellulaire et les AcM dirigés contre le domaine extracellulaire de l'un ou l'autre de ces récepteurs [10].

Plusieurs Ac dirigés contre l'EGFR ou HER2 ont été approuvés par la FDA et l'EMA (*European Agency for the Evaluation of Medicinal Products*) et sont utilisés quotidiennement en clinique, comme le trastuzumab, dirigé contre HER2, pour le traitement du cancer du sein métastatique, ou le cetuximab, dirigé contre EGFR, utilisé en association avec une chimiothérapie dans le cancer du côlon. D'autres AcM sont en cours d'évaluation, comme le matuzumab et le panituzumab (anti-EGFR) ou le pertuzumab (anti-HER2).

En oncologie, les associations thérapeutiques sont la règle car elles permettent d'optimiser les réponses thérapeutiques tout en permettant de traiter un plus grand nombre de patients. L'association de molécules ciblant différentes voies de signalisation peut être la clé d'une meilleure réponse thérapeutique [11]. Concernant l'EGFR et HER2, certains auteurs ont associé des TKI à des AcM dirigés contre l'EGFR ou HER2 de manière à cibler les deux récepteurs à la fois [12]. D'autres ont associé des AcM dirigés contre des épitopes différents d'une même cible comme la combinaison du trastuzumab et du pertuzumab [13].

Dans ce contexte d'association thérapeutique, la stratégie développée dans notre laboratoire est basée sur la biologie des récepteurs de la famille HER. L'EGFR et HER2 étant impliqués dans les cancers essentiellement sous forme d'hétérodimères EGFR-HER2, nous avons associé deux AcM humanisés, le matuzumab et

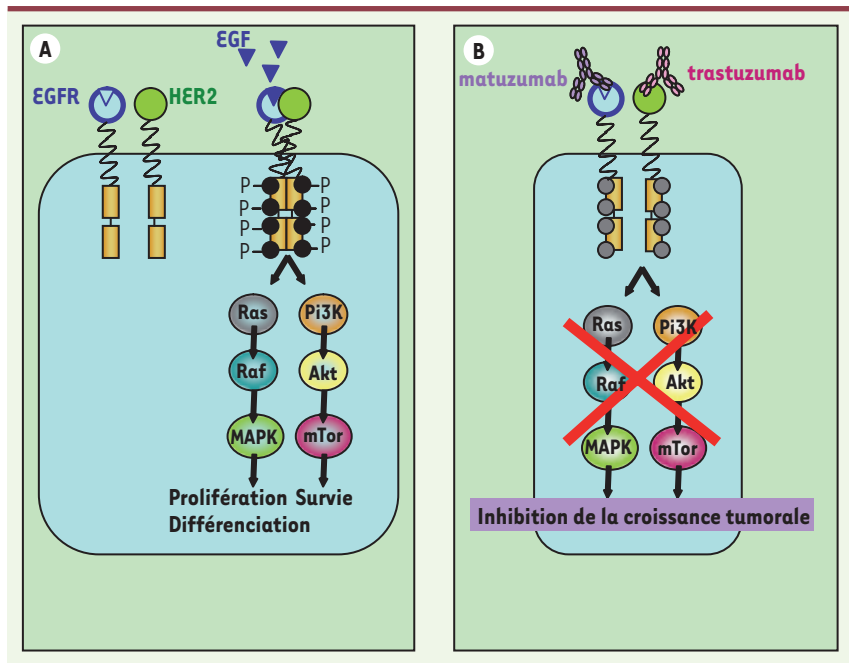


Figure 1. A. Représentation schématique de la signalisation des dimères EGFR/HER2. B. Stratégie utilisée pour bloquer l'activation des récepteurs EGFR et HER2.

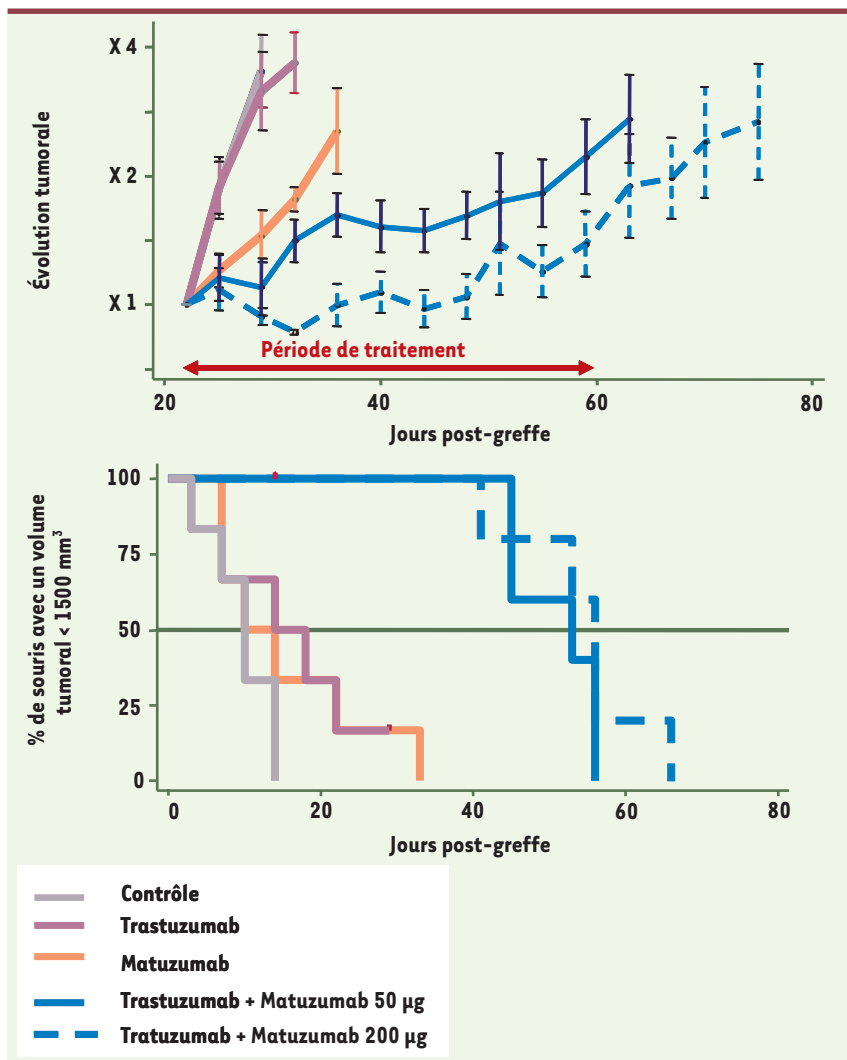


Figure 2. Effet *in vivo* du trastuzumab et du matuzumab, seuls ou en association, sur la croissance des tumeurs BxPC-3 d'un volume moyen de 500 mm³ au début du traitement. Les souris ont été traitées par voie intrapéritonéale deux fois par semaine pendant quatre semaines (200 mg d'anticorps pour les monothérapies, 50 ou 200 mg de chaque anticorps pour l'association).

le trastuzumab, respectivement dirigés contre l'EGFR et HER2 (Figure 1).

Efficacité thérapeutique *in vivo* de l'association de deux anticorps monoclonaux dirigés contre l'EGFR et HER2 dans le traitement du cancer du pancréas

L'association trastuzumab-matuzumab a été évaluée chez des souris immunodéficientes porteuses de carcinomes pancréatiques humains [14]. Le traitement a consisté en l'injection par voie intrapéritonéale, deux fois par semaine

pendant quatre semaines, des anticorps soit seuls, soit en association. L'étude a montré l'efficacité thérapeutique de l'association des deux AcM, incluant une inhibition significative de la croissance tumorale et la rémission complète de certaines tumeurs. Cet important ralentissement de la croissance tumorale a été observé lorsque le traitement a débuté avec des tumeurs de petits volumes mais également avec des tumeurs bien implantées, de gros volume. L'association d'anticorps a montré un effet anti-tumoral supérieur à celui obtenu

avec des doses quatre fois plus importantes d'anticorps seuls, suggérant une synergie entre le matuzumab et le trastuzumab (Figure 2).

Les analyses *in vitro* suggèrent que cet effet thérapeutique passerait par une inhibition de l'activation des récepteurs EGFR et HER2 via leur phosphorylation ainsi qu'une inhibition des voies de signalisation intracellulaire contrôlant la survie et la différenciation, respectivement AKT et MAPK.

L'efficacité thérapeutique de l'association des deux anticorps humanisés trastuzumab-matuzumab a été montrée dans deux modèles de carcinomes pancréatiques mais également dans un modèle de carcinome ovarien, permettant d'envisager le traitement d'autres cancers. Il est important de préciser que les deux carcinomes pancréatiques exprimant faiblement HER2 étaient *a priori* exclus des thérapies anti-HER2. En effet, le trastuzumab a une efficacité thérapeutique bien documentée dans le cancer du sein mais sa prescription est limitée et uniquement autorisée pour les tumeurs sur-exprimant le récepteur HER2. Actuellement, les patientes ayant des tumeurs exprimant faiblement le récepteur HER2 ne peuvent pas bénéficier de cette thérapie.

Perspectives cliniques

Ces résultats précliniques obtenus *in vivo* lors de l'association du trastuzumab et du matuzumab dans le cancer du pancréas, la disponibilité de ces deux Ac humanisés et l'absence de thérapie efficace dans cette pathologie nous permettent d'envisager rapidement une étude clinique de phase II. ♦

Anti-EGFR and anti-HER2 monoclonal antibodies against pancreatic carcinomas



RÉFÉRENCES

1. Yarden Y, Ullrich A. Growth factor receptor tyrosine kinases. *Annu Rev Biochem* 1988 ; 57 : 443-78.
2. Hynes NE, Lane HA. ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors. *Nat Rev Cancer* 2005 ; 5 : 341-54.
3. Olayioye MA, Neve RM, Lane HA, et al. The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *EMBO J* 2000 ; 19 : 3159-67.
4. Chung KY, Shia J, Kemeny NE, et al. Cetuximab shows activity in colorectal cancer patients with tumors that do not express the epidermal growth factor receptor by immunohistochemistry. *J Clin Oncol* 2005 ; 23 : 1803-10.
5. DiGiovanna MP, Stern DF, Edgerton SM, et al. Relationship of epidermal growth factor receptor expression to ErbB-2 signaling activity and prognosis in breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2005 ; 23 : 1152-60.
6. Porebska I, Harlozińska A, Bojarowski T. Expression of the tyrosine kinase activity growth factor receptors (EGFR, ERB B2, ERB B3) in colorectal adenocarcinomas and adenomas. *Tumour Biol* 2000 ; 21 : 105-15.
7. Wang Z, Zhang L, Yeung TK, et al. Endocytosis deficiency of epidermal growth factor (EGF) receptor-ErbB2 heterodimers in response to EGF stimulation. *Mol Biol Cell* 1999 ; 10 : 1621-36.
8. Baulida J, Kraus MH, Alimandi M, et al. All ErbB receptors other than the epidermal growth factor receptor are endocytosis impaired. *J Biol Chem* 1996 ; 271 : 5251-7.
9. Wilkinson JC, Staros JV. Effect of ErbB2 coexpression on the kinetic interactions of epidermal growth factor with its receptor in intact cells. *Biochemistry* 2002 ; 41 : 8-14.
10. Citri A, Yarden Y. EGF-ERBB signalling: towards the systems level. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006 ; 7 : 505-16.
11. Dancey JE, Chen HX. Strategies for optimizing combinations of molecularly targeted anticancer agents. *Nat Rev Drug Discov* 2006 ; 5 : 649-59.
12. Moulder SL, Yakes FM, Muthuswamy SK, et al. Epidermal growth factor receptor (HER1) tyrosine kinase inhibitor ZD1839 (Iressa) inhibits HER2/neu (erbB2)-overexpressing breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res* 2001 ; 61 : 8887-95.
13. Walshe JM, Denduluri N, Berman AW, et al. A phase II trial with trastuzumab and pertuzumab in patients with HER2-overexpressed locally advanced and metastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2006 ; 6 : 535-9.
14. Larbouret C, Robert B, Teulon I, et al. *In vivo* therapeutic synergism of anti-EGFR and anti-HER2 monoclonal antibodies against pancreatic carcinomas. *Clin Can Res* 2007 ; 13 : 3356-62.

NOUVELLE

p53R2 : réparation de l'ADN ou synthèse de l'ADN mitochondrial ?

Alice Bourdon, Agnès Rötig

Inserm U781, Hôpital Necker-Enfants Malades,
149, rue de Sèvres, 75015 Paris, France.

bourdon@necker.fr

> Les déplétions de l'ADN mitochondrial (ADNmt) sont caractérisées par une diminution du nombre de molécules d'ADNmt et sont une cause importante des déficits de la chaîne respiratoire. De nombreux gènes nucléaires contrôlent le nombre de copies d'ADNmt et ces anomalies quantitatives sont les conséquences de mutations de certains de ces gènes. Des mutations dans cinq gènes nucléaires ont été rapportées dans des déplétions de l'ADNmt. Ces gènes sont impliqués dans la réplication de l'ADNmt (*POLG* [1] qui code l'ADN polymérase mitochondriale) et dans la voie de récupération des dNTP mitochondriaux (*DGUOK* [2], *TK2* [3] codant respectivement pour la désoxyguanosine kinase et la thymidine kinase mitochondriales). Le dernier gène identifié, *MPV17* [4], code pour une protéine localisée dans la mitochondrie mais dont la fonction est inconnue à ce jour. Cependant,

pour une majorité des patients avec déplétion de l'ADNmt, le gène muté reste à identifier. La grande hétérogénéité clinique des patients avec déplétions de l'ADNmt suggère une grande hétérogénéité génétique et la découverte de nouveaux gènes de déplétions de l'ADNmt est rendue difficile par la petite taille des familles. Une analyse de liaison réalisée sur une famille consanguine présentant une déplétion très sévère de l'ADNmt dans le muscle (1% de la quantité normale d'ADNmt) nous a permis d'identifier une région sur le chromosome 8 avec un *lod score* significatif de 3,3. Parmi les quelques 60 gènes de la région, nous avons bien évidemment étudié les gènes codant pour des protéines avec une fonction ou une localisation mitochondriales mais sans succès. Nous nous sommes ensuite intéressés au gène *p53R2* qui code pour une petite sous-unité de la ribonucléotide réductase.

La ribonucléotide réductase est une enzyme cytoplasmique qui catalyse la réduction des nucléosides diphosphates (NDP) en dNDP [5], étape limitante dans la synthèse de l'ADN. Elle est constituée d'un homodimère de deux grosses sous-unités R1 et d'un homodimère de deux petites sous-unités R2. L'expression de R1 est constante et ubiquitaire alors que R2 est uniquement exprimée au cours de la phase S. La protéine R2 est spécifiquement dégradée en fin de mitose. *p53R2* code pour une deuxième petite sous-unité qui a été identifiée en 2000 par deux laboratoires [6, 7]. Cet homologue de R2 (80% d'identité), exprimé de façon constante, est une cible du facteur de transcription p53 et est ainsi appelé *p53R2*. La synthèse des dNTP dans les cellules en division est très majoritairement assurée par le complexe R1/R2 au cours de la phase S mais le complexe R1/p53R2 est également