

ATM : vers une meilleure compréhension du transit du cytoplasme au noyau pour prédire le risque génotoxique

Groupe de radiobiologie – CR-U1052 Inserm – Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon

1. Introduction

A partir de données accumulées depuis près de 10 ans sur les lignées fibroblastiques humaines de différentes radiosensibilités (nous avons les premiers démontré les défauts de réparation de l'ADN liés aux cellules venant de patients AT (1)), nous avons proposé un modèle moléculaire de réponse aux radiations qui met en œuvre au moins trois protéines majeures : ATM, dont les mutations confèrent la plus grande radiosensibilité connue chez l'homme, transiterait du cytoplasme au noyau en réponse aux radiations et activerait en particulier la réparation des cassures double-brin de l'ADN (CDB) par suture initiée par la phosphorylation des histones H2AX. En parallèle, ATM inhiberait l'activité nucléase de la protéine MRE11 à l'origine d'une forte instabilité génomique radioinduite (2-4) (Fig. 1).

Ce modèle, validé sur plus d'une centaine de lignées fibroblastiques mais aussi sur des cellules endothéliales, astrocytaires et lymphocytaires, a été étayé par une proposition de classification des cas de radiosensibilités en trois groupes, correspondant à un ou plusieurs défauts et/retards dans les différentes étapes du modèle moléculaire détaillé ci-dessous :

- groupe I : radiorésistance et faible instabilité génomique
- groupe II : radiosensibilité faible à modérée et instabilité génomique
- groupe III : hyperradiosensibilité

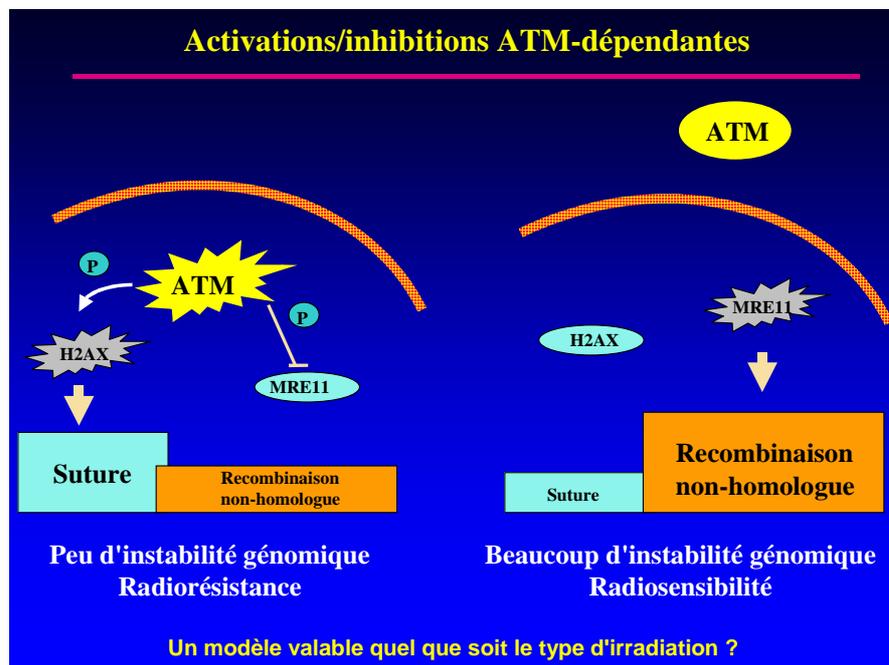


Fig 1 : Modèle du transit des formes phosphorylées d'ATM du cytoplasme au noyau déduit des études systématiques de la radiosensibilité effectuées par le groupe de radiobiologie de l'U836 Inserm.

Actuellement, notre groupe reçoit de 12 CHU et CLCC des demandes de diagnostic de radiosensibilité afin de guider le praticien dans ces choix thérapeutiques. Plus récemment encore, des onco-pédiatres nous demandent de réaliser des tests d'immunofluorescence ATM-

H2AX-MRE11 pour caractériser les syndromes génétiques dont souffrent certains jeunes patients.

En 2011, notre modèle a été testé dans le cadre de la problématique des faibles doses de radiation, c'est-à-dire inférieures au Gy. Nos hypothèses de travail ont été validées de 1 mGy à 2 Gy en montrant que la réponse à la suture (« bonne réparation ») et à la recombinaison (« mauvaise réparation ») était conditionnée par l'appartenance aux groupes de radiosensibilité prédéfinis plus haut, c'est-à-dire au statut fonctionnel de ATM. Ces résultats montraient en particulier que le seuil à risque de cancer radio-induit établi de 100 mGy par les recommandations internationales pouvait être bien inférieur pour les patients très prédisposés au cancer radio-induit ou à la radiosensibilité comme le sont les patients AT homozygotes ou comme pourraient l'être à une moindre échelle les patients AT hétérozygotes (5,6).

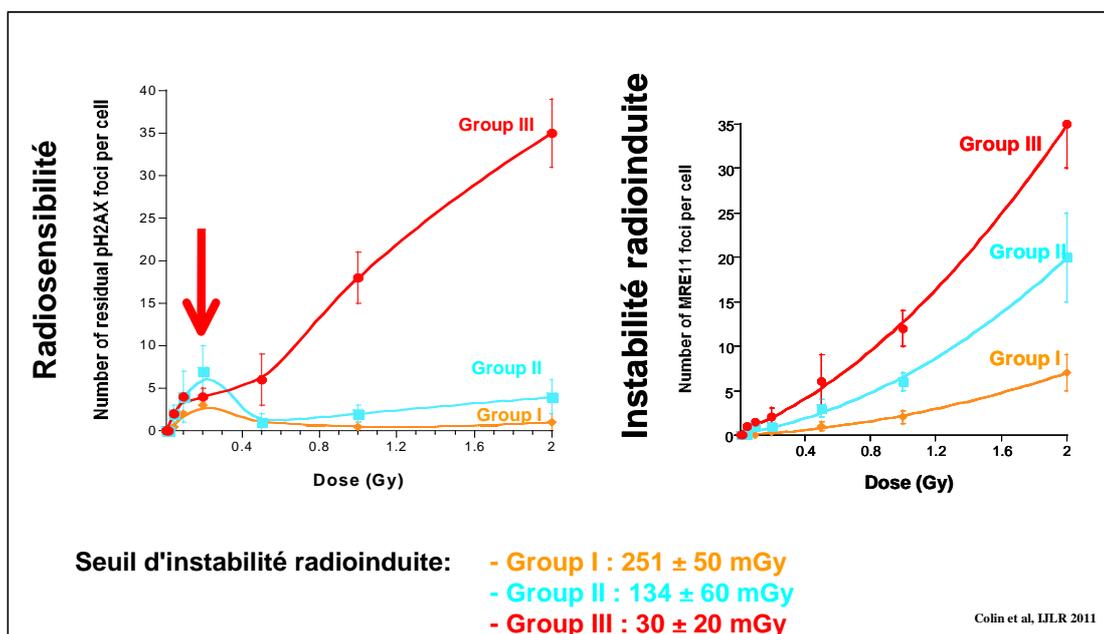


Fig 2 : Taux de foci PH2AX et MRE11 reflétant la radiosensibilité et l'instabilité génomique de 1 mGy à 2 Gy suivant les groupes de radiosensibilité (5,6).

Tout naturellement, la série d'expériences précédentes, réalisées en dose unique, nous a incités à poursuivre le travail et à effectuer une étude sur de l'épithélium mammaire issu de 50 patientes à bas ou haut risque familial irradié en conditions exactes de mammographie : là encore, les groupes II (notamment des patientes mutées BRCA1 et BRCA2) s'avèrent plus sensibles à l'examen mammographique avec un effet de répétition de dose supra-additif : l'effet radiobiologique de 2 clichés mammographiques de 2 mGy sur les patientes à risque n'est pas égal à une exposition unique de 4 mGy mais plutôt à quelques dizaines voire quelques centaines de mGy. Ainsi, non seulement les patientes du groupe II sont plus sensibles aux radiations que les patientes du groupe I, même à faibles doses, mais leur sensibilité s'accroît dans le cas de doses répétées comme pour les mammographies.

2. Hypothèses de travail et but de l'étude

A l'heure actuelle, les patients du groupe II sont soumis au radiodiagnostic et à la radiothérapie anti-cancéreuse dans les mêmes conditions que les patients radiorésistants (Groupe I). Pourtant, ils sont plus radiosensibles et plus prédisposés aux cancers radio-induits. De plus, dans le cadre particulier du radiodiagnostic comme les mammographies ou le

scanner, l'exposition aux radiations ionisantes s'effectue à faibles énergies de rayons X (28 à 100 kV). De même pour les mammographies, le scanner ou les thérapies innovantes comme le cyberknife, la dose est délivrée par fractions répétées en quelques minutes ou secondes. Enfin, en dépit de la somme considérable de données obtenues en 10 ans, les mécanismes du transit du cytoplasme au noyau de la protéine ATM qui semble conditionner la réponse aux radiations ionisantes (radiosensibilité ET prédisposition au cancer) ne semblent pas encore bien connus.

Ainsi, à travers deux thèses de science (Larry Bodgi, un biologiste et Guillaume Vogin, un radiothérapeute) nous nous proposons de mieux comprendre à la fois les mécanismes moléculaires du transit radioinduit d'ATM et les conditions d'irradiation dans lesquelles des patients du groupe II (et notamment des patients AT hétérozygotes) seraient plus sensibles et augmenteraient leur risque biologique.

Pour ce faire, avec l'aide de l'APRAT, nous proposons les programmes suivants sur 2 ans :

- Thèse de Larry Bodgi :

- modéliser mathématiquement la cinétique du transit et sa signalisation à travers les données obtenues par immunofluorescence
- déterminer les conditions de répétitions de dose où les groupes II seraient plus sensibles
- déterminer les énergies de rayons X où les groupes II seraient plus sensibles
- identifier les examens de diagnostic dans lesquels les patients AT (homozygotes et hétérozygotes) augmenteraient significativement leur risque de cancers et quels statuts exacts seraient concernés.

- Thèse de Guillaume Vogin :

- mesurer le degré d'oxydation, la quantité nucléo-plasmique et l'activité kinase de la protéine ATM dans différentes conditions d'irradiation
- identifier les partenaires protéiques d'ATM dans le cytoplasme et caractériser radiobiologiquement les syndromes génétiques associés pour une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires et des fonctions d'ATM
- mesurer l'effet de statines et biphosphonates sur le transit d'ATM
- réaliser une étude clinique sur le risque de radio-dermites du sein après radiothérapie

Deux des livrables majeurs de cette action de recherche seraient :

- **de mieux comprendre le rôle biologique de ATM et de compenser le défaut de transit dû aux mutations**
- **de faire progresser la réglementation pour permettre aux patients AT de diminuer leur risque lors d'examens irradiants**

Cette action de recherche ne nécessite pas d'autres matériels particuliers supplémentaires pour réaliser cette étude et toutes les techniques d'irradiation, de biologie moléculaire et d'immunofluorescence sont disponibles et en routine dans le laboratoire.

Nous remercions l'APRAT pour son soutien, en particulier financier. Une convention d'aide sera signée entre l'Inserm et l'APRAT pour officialiser cette aide.

3. Références

- (1). Foray, N., Alsbeih, M.G.A., Badie, C., Capulas, E.P., Arlett, C.F., and Malaise, E.P., 1997, Hypersensitivity of Ataxia-telangiectasia fibroblasts to ionizing radiation is associated with a repair deficiency of DNA double-strand breaks. *International Journal of Radiation Biology*, 72, 271-283.
- (2) Joubert, A., Zimmerman, K., Bencokova, Z., Gastaldo, J., Rénier, W., Chavaudra, N., Favaudon, V., Arlett, C.F., and Foray, N., 2008, DNA double-strand break repair in syndromes associated with acute radiation response: a balance between DNA-PK- and MRE11-dependent pathways. *International Journal of Radiation Biology*, 84, 107-125.
- (3). Varela, I, Pereira, S., Ugalde, A.P., Navarro, C.L., Suarez, M.F., Cau, P., Cadinanos, J., Osorio F.G., Foray, N., Cobo, J., De Carlos, F., Levy, N., Freije, J.M.P and Lopez-Otin, C., 2008 Combined treatment with statins and aminobisphosphonates extends longevity in a mouse model of human premature aging. *Nature Medicine*, 14, 767-772.
- (4). Granzotto A, Joubert A, Viau M, Devic C, Maalouf M, Thomas C, Vogin G, Malek K, Colin C, Balosso J and Foray N. (2011) Individual response to ionising radiation : what predictive assay(s) to choose?, *Comptes-Rendus Acad. III*, 334, 140-57.
- (5). Granzotto A, Devic C, Viau M, Maalouf, M, Joubert A, Massart, C Thomas, C and Foray N. (2011) Individual susceptibility to radiosensitivity and to genomic instability: its impact on low doses phenomena. *Health Physics*. 100, 282.
- (6) Colin, C., Granzotto, A., Devic, C., Viau, M., Maalouf, M., Vogin, G., Joubert, A., Thomas, C. and Foray, N. (2011) MRE11 and H2AX biomarkers in the response to low-dose exposure: Balance between individual susceptibility to radiosensitivity and to genomic instability. *International Journal of Low Radiation*. in press