

# L'INSTABILITÉ CHROMOSOMIQUE

Reflétée par la présence d'anomalies dans la forme et le nombre des chromosomes d'une cellule, l'instabilité chromosomique est un phénomène constaté aussi bien lors du vieillissement que dans le processus de cancérogenèse ou encore à la suite d'un stress comme l'irradiation. Ce mécanisme apparaît dans tous les cas nécessaire pour que la cellule retrouve la stabilité qui lui permet de poursuivre une croissance normale, avec une durée de vie limitée, ou devienne immortelle, en cas de cancérisation. Le vieillissement joue un rôle important dans l'accumulation des mutations et donc dans la probabilité d'apparition de cancers. Pour autant, une simple mutation n'est pas suffisante pour transformer une cellule saine en cellule cancéreuse : la genèse d'un cancer nécessite la rencontre de plusieurs événements rares et indépendants.



● ● ● ● ●  
Appareil de cytovision pour la capture d'images du matériel génétique des cellules, obtenues par fluorescence.

A. Gonin/CEA

## Des circonstances diverses

L'instabilité **chromosomique** peut se manifester aussi bien **in vivo**, au cours du processus de **cancérogenèse**, qu'**in vitro**, au cours du vieillissement **cellulaire**, de la **transformation cellulaire**<sup>(1)</sup> ou à la suite d'une irradiation ou d'une exposition à des substances toxiques diverses. Ce phé-

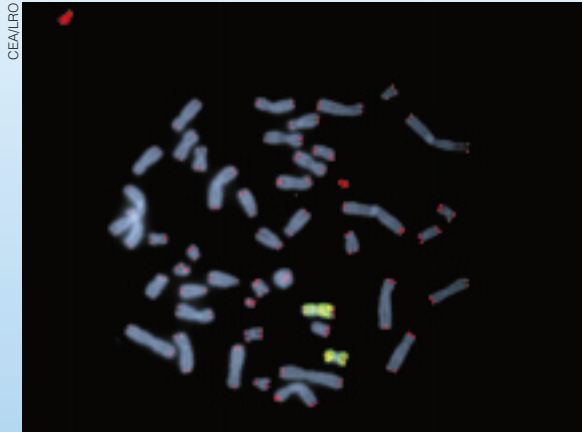
nomène reflète la présence dans le **caryotype** d'anomalies chromosomiques telles que des chromosomes à deux **centromères (dicentriques)**, des échanges de matériel entre deux chromosomes (**translocations**), des gains ou des pertes de chromosomes. Ces anomalies se retrouvent au fil des générations et affectent des chromosomes différents.

Retrouvées dans la plupart des **lignées** cellulaires tumorales, les associations **télomériques** (entre les extrémités des chromosomes) représentent une caracté-

(1) Passage de la cellule normale à la cellule immortelle puis cancéreuse.

# Télomères et télomérase : de l'importance des extrémités 1

Les télomères, extrémités des chromosomes, les protègent de la dégradation **nucléotidique** et de la fusion bout à bout. Dès 1938, des travaux avaient montré que les télomères avaient un rôle de protection (*capping*), assurant la stabilité **mitotique** des chromosomes : après irradiation par des rayons X, les chromosomes qui en étaient privés devenaient "collants" et pouvaient initier des cycles de cassures et de fusions. Raccourcissant à chaque division cellulaire, les télomères contrôlent la capacité proliférative de certaines de nos cellules. Il existe des **protéines** spécifiques des **séquences** télomériques formant le télosome. Pour transformer un télomère en cassure double brin, il suffirait qu'il ne soit plus reconnu par les protéines du télosome. Des systèmes sophistiqués contrôlent constamment l'intégrité de l'**ADN**. Les **enzymes de réparation** se mobilisent pour réparer les cassures qui apparaissent. Cette machinerie pourrait facilement confondre les extrémités des chromosomes avec une cassure d'ADN nécessitant une réparation. Les télomères risquent donc de fusionner entre



*Cellule en métaphase dont l'ensemble des chromosomes est coloré en bleu, les séquences télomériques en rouge et le chromosome 16 en jaune-vert.*

eux par recombinaison ou par des mécanismes de fusion bout à bout, ce qui se caractériserait par la formation de chromosomes dicentriques instables. Les protéines télomériques jouent un rôle de protection et permettent aux télomères d'échapper aux systèmes de réparation de l'ADN.

Une enzyme, la **télomérase**, peut allonger les télomères. Alors qu'elle est absente dans la majorité des cellules **somatiques**, près de 85 % des tumeurs présentent une activité de la télomérase. Ainsi cette enzyme est devenue une cible de choix pour les agents anti-

cancéreux. Toutefois, le délai entre la perte de l'activité de la télomérase et l'induction d'une **sénescence** cellulaire peut être important si les télomères des cellules tumorales sont longs. Ceci a modéré les espoirs d'utilisation de la télomérase comme cible directe et orienté les recherches vers les mécanismes impliqués dans la maintenance et le raccourcissement des télomères afin de prendre pour cible les télomères des cellules cancéreuses. Des études récentes ont montré que l'introduction du gène codant la télomérase (hTERT) dans des cellules primaires permet de rétablir son expression et confère aux cellules un **phénotype** de cellules normales et jeunes de manière indéfinie (élongation des télomères). Au-delà des utopies de jouvence éternelle, l'enjeu est important : il s'agit de déterminer si la greffe de cellules **transgéniques** surexprimant la télomérase peut être envisagée à des fins thérapeutiques ou si une telle greffe serait dangereuse et équivalente à une greffe de cellules tumorales.

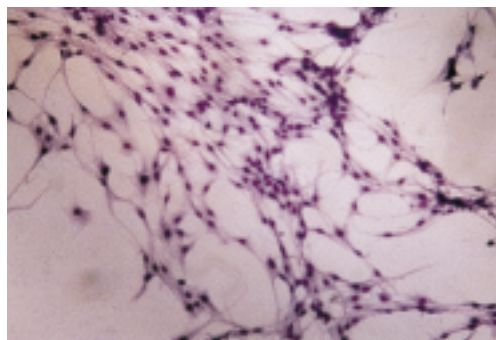
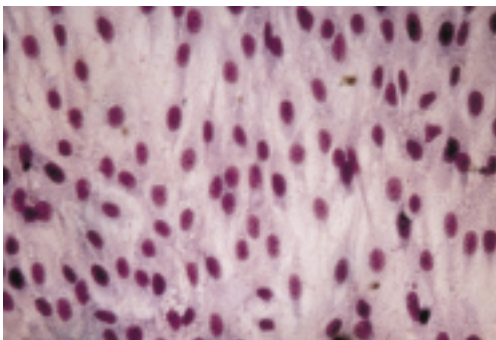
**Laure Sabatier**

téristique de l'instabilité chromosomique. Elles peuvent être détectées dans les cellules des sujets prédisposés aux cancers et dans les cellules cancéreuses en début d'évolution. Ces associations télomériques sont à l'origine des chromosomes dicentriques qui, à leur tour, génèrent l'instabilité chromosomique (encadré 1).

## Instabilité chromosomique au cours du vieillissement

Il a été admis au début des années soixante que le vieillissement de la cellule pouvait être expliqué par une limitation du nombre de divisions cellulaires : au bout de quelques générations, les cellules de l'organisme "sénescents" et meurent. Les

cellules vieillissantes, dites **sénescents**, présentent une forte augmentation d'anomalies chromosomiques. La formation de ces aberrations génère des cassures qui, non réparées, induisent l'arrêt du **cycle cellulaire** : après un nombre limité de divisions, ces cellules sont amenées à ne plus se diviser (voir *Effets des rayonnements sur le cycle cellulaire*).



*Fibroblastes normaux (à g.) et transformés (à dr.). Les cellules transformées s'entrecroisent au lieu d'être alignées côte à côte.*

INSERM

Des scientifiques ont ainsi montré que les cultures primaires de **fibroblastes** (cellules du tissu conjonctif) n'ont qu'un nombre limité de générations cellulaires, correspondant environ à cinquante doublings de populations (encadré E, **Le cycle cellulaire : duplication sous contrôle**). Dans des fibroblastes sénescents, plus les divisions se succèdent, plus la longueur des phases G1 et G2 du cycle cellulaire est élevée ; les cellules augmentent en taille et leur **métabolisme** énergétique est perturbé. Les cellules sénescents sont caractérisées par une perte de capacité proliférative due d'une part à la diminution de leur faculté de réparation (voir *Les gardiens du génome*) et d'autre part au raccourcissement progressif des séquences télomériques. Différentes études suggèrent que la perte de ces séquences à chaque division contribuerait à l'apparition des anomalies observées, l'altération des **télomères** déstabilisant les extrémités des chromosomes et conduisant à des pertes chromosomiques. De fait, l'ensemble des chromosomes formant le caryotype de cellules sénescents présentent des anomalies telles que des translocations et des disparitions de chromosomes. Cette perte permanente de séquences télomériques réduit en outre la viabilité des cellules et les conduit finalement à la mort.

Une étude portant sur des fibroblastes de poumon embryonnaire humain montre que la phase de sénescence est caractérisée par le passage des cellules à la **polyploïdie** (multiplication du nombre

de chromosomes de la cellule par deux, trois ou  $n$ ) associé à un niveau élevé d'anomalies chromosomiques. Une hypothèse serait que la sénescence cellulaire pourrait s'accompagner de réarrangements chromosomiques **clonaux** provoquant la transformation cellulaire lorsque certains **gènes**, des **oncogènes** ou des **gènes suppresseurs de tumeurs**, y sont localisés.

### L'instabilité chez les "précancéreux"

Chez les patients atteints de maladies précancéreuses, une instabilité chromosomique aboutissant à des fusions télomériques est souvent observée, dès les stades prémalins ou dans les tumeurs de bas grade de malignité. Les tumeurs malignes plus avancées font quant à elles apparaître des remaniements clonaux, c'est-à-dire présents dans de nombreuses cellules tumorales, ainsi que des déséquilibres chromosomiques spécifiques.

Chez les sujets souffrant de maladies telles que l'*ataxia telangiectasia*, le *xeroderma pigmentosum*, le syndrome de Bloom ou le syndrome de Werner, les cellules montrent une instabilité chromosomique spontanée élevée (translocations, **inversions**...), impliquant pour certaines des chromosomes spécifiques. L'incidence de cancers chez ces patients est d'autre part très importante. Hypersensibles aux radiations, ils présentent des défauts de réparation, de recombinaison, de **voies de contrôle** du cycle cellulaire créant et main-

tenant ainsi les dommages de l'ADN responsables de l'instabilité chromosomique. Spontanée ou induite par l'irradiation, l'instabilité est élevée dans leurs cellules.

Dans le cas d'*ataxia telangiectasia* et de *xeroderma pigmentosum*, il ne semble pas y avoir de corrélation entre la taille des télomères et la fréquence des chromosomes dicentriques terminaux. Les cellules de patients touchés par la maladie de Werner, caractérisées par un vieillissement prématuré, subissent une forte instabilité chromosomique. Un défaut de **réplication**, de **ségrégation**, de réparation ou de **transcription** pourrait entraîner l'accumulation de **mutations** et d'anomalies chromosomiques. Enfin, les cellules de patients atteints de la *progeria*, maladie génétique caractérisée par un vieillissement très accéléré, présentent également une instabilité chromosomique avec raccourcissement télomérique.

### L'instabilité chromosomique dans les cellules cancéreuses

Une tumeur se caractérise par une somme importante d'altérations génétiques acquises au cours d'une longue évolution clonale (encadré 2). Une cellule normale acquiert des caractères de transformation à la suite d'une ou plusieurs mutations qui lui confèrent un "avantage prolifératif" important.

Les cancers impliquent une rupture des contraintes normales de la prolifération cellulaire. Celle-ci est gérée directement par les mécanismes du cycle ou

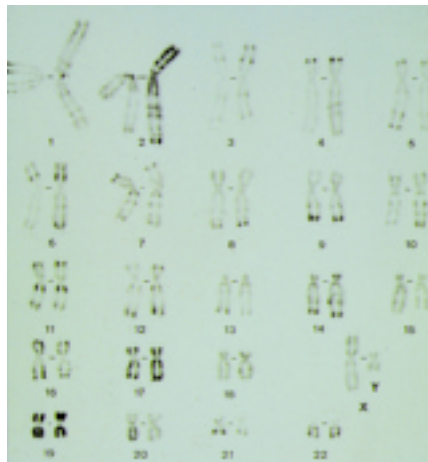
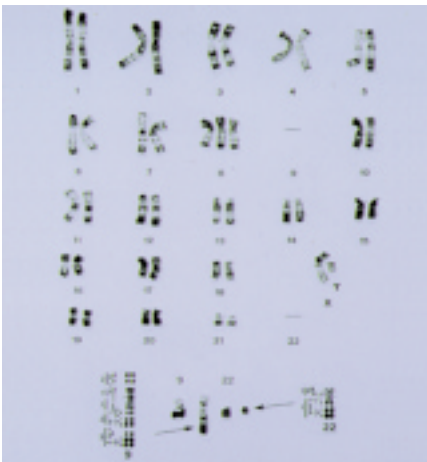
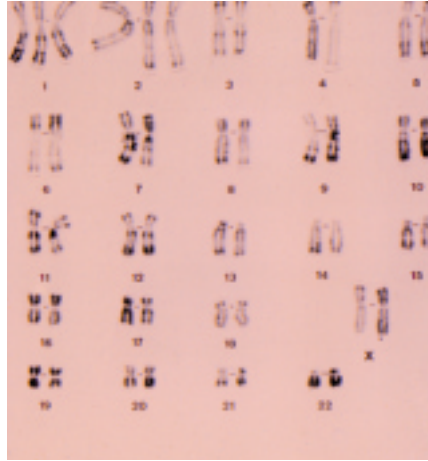
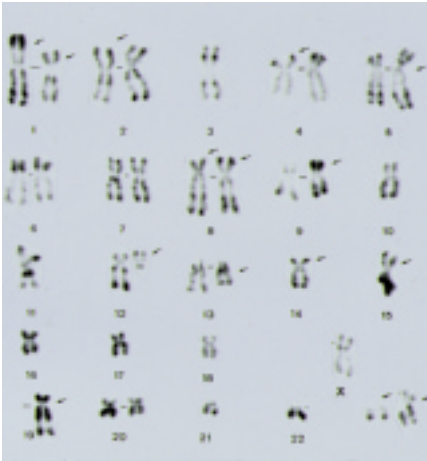
## Cancer et vieillissement

2

Il se produit au cours d'une vie environ  $10^{16}$  divisions cellulaires dans le corps humain. Dans un environnement dépourvu de facteurs **mutagènes**, les mutations surviennent spontanément à un taux estimé de  $10^{-6}$  mutations par gène et par division cellulaire. Une seule mutation n'est pas suffisante pour transformer une cellule saine en une cellule cancéreuse. Beaucoup d'arguments montrent que la genèse d'un cancer nécessite en effet la rencontre simultanée dans une cellule

de plusieurs événements rares et indépendants. Le vieillissement joue donc un rôle important dans l'accumulation des mutations, d'où une augmentation de l'incidence des cancers avec l'âge. Les données statistiques permettent d'estimer qu'il faut de trois à sept événements indépendants pour transformer une cellule normale en une cellule cancéreuse, les plus petits nombres s'appliquant aux leucémies, les valeurs les plus grandes aux carcinomes.





Les quatre principaux types cytogénétiques de cancers. De gauche à droite et de haut en bas, les profils monosomique (fibrosarcome), trisomique (tumeur de l'utérus), de translocation (entre les chromosomes 9 et 22 dans une leucémie) et à caryotype normal.



INSTITUT CURIE

indirectement par le biais du contrôle de l'engagement dans une **différenciation** terminale ou dans la mort cellulaire programmée, appelée **apoptose** (voir *Le suicide cellulaire*).

Les gènes de régulation normaux sont classés en deux catégories : ceux dont les produits stimulent la prolifération cellulaire et ceux dont les produits servent à l'inhiber. La prolifération incontrôlée qui caractérise le cancer est pilotée de deux manières : soit un gène stimulateur de prolifération hyperactif (mutation **dominante**) est fabriqué et le gène altéré sera un oncogène (l'**allèle** normal étant un **proto-oncogène**), soit un gène inhibiteur de prolifération (mutation **récessive**) est inactivé et il sera appelé gène suppresseur de tumeur.

L'**amplification génique** est une des manifestations de l'instabilité génomique souvent observée au cours du processus tumoral. Elle peut provenir d'un gain de chromosomes suite à des réarrangements. Elle peut également résulter d'un mécanisme intra- ou extra-chromosomique, deux formes d'amplification qui ne coexistent pas dans une cellule tumorale.

Les études **cytogénétiques** ont permis de mettre en évidence quatre types de cancers. Chacun est caractérisé par des profils de déséquilibres chromosomiques spécifiques, impliquant à la fois des modifications de nombre et de structure :

- le profil **monosomique** résulte de pertes ou de **délétions** de chromosomes entraînant la transformation de la cellule **diploïde** en une cellule **hypodiploïde**. Des **endoreduplications** peuvent survenir, conduisant à la formation de **clones hypotétraploïdes** avec des caryotypes très remaniés. Ainsi, la perte de chromosomes ou de fragments chromosomiques permet de démasquer des mutations récessives par délétion des allèles normaux. Ce type de profil se retrouve en particulier dans les cancers du sein, du côlon, du poumon et de la prostate.
- le profil **trisomique** se distingue par des duplications de chromosomes avec peu de réarrangements. Ces tumeurs évoluent vers une **triploïdie**. Ce profil concerne des **adénomes** et certains **carcinomes** tels que **neuroblastomes** ou

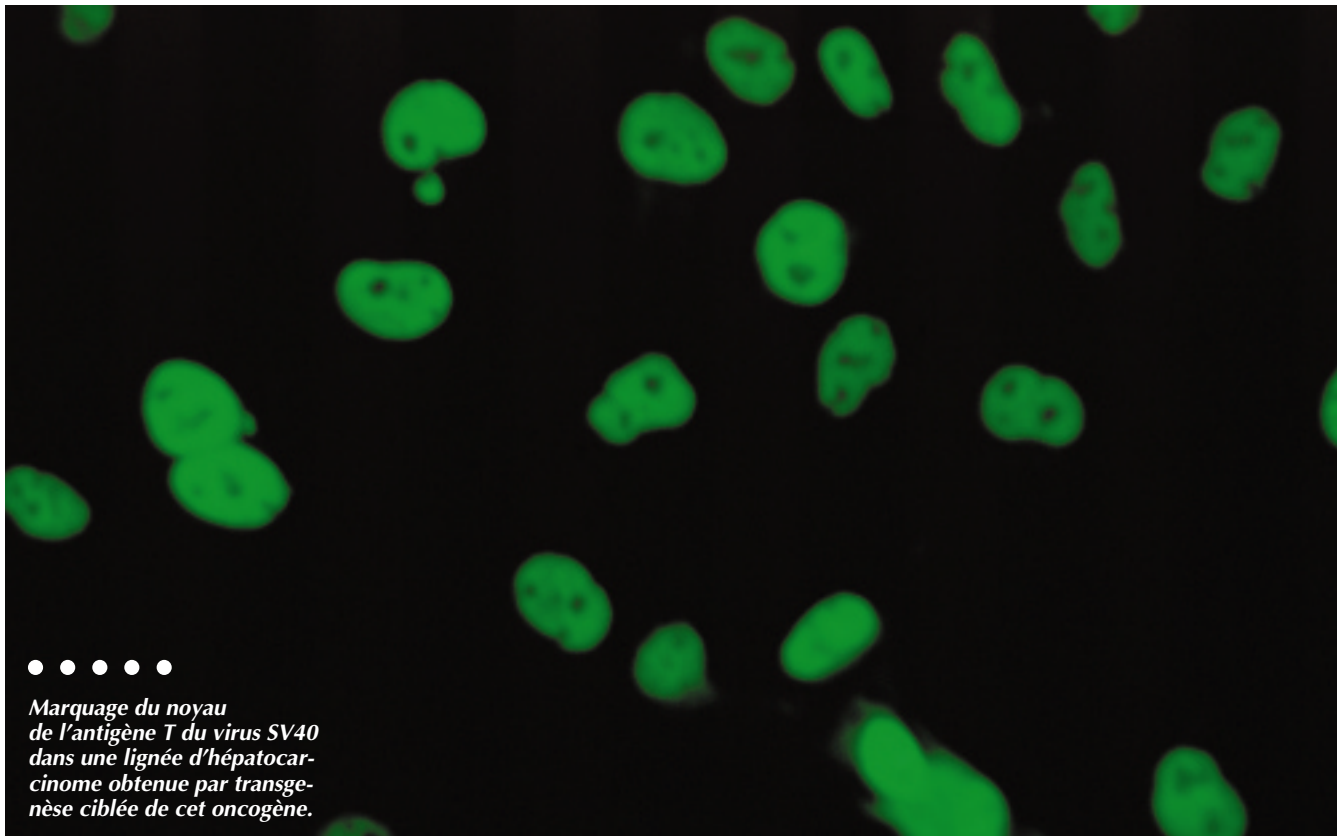
tumeur de Wilm's.

- le profil de **translocation** est caractérisé par des translocations réciproques sans perte de matériel génétique. Il se retrouve dans les **hémopathies** et dans quelques **sarcomes**.
- peu de tumeurs ont un **caryotype normal**. Ces tumeurs ont des caractéristiques cliniques ou biologiques qui les rapprochent des tumeurs de type trisomique.

## Instabilité et immortalisation cellulaire

Les cellules humaines normales en culture ont une durée de vie limitée. Mais si ces cellules sont **transfectées** par certains agents, l'**antigène T** par exemple, leur cycle est modifié et elles deviennent immortelles. Elles sont alors caractérisées par une forte instabilité chromosomique qui génère l'apparition de déséquilibres chromosomiques, laquelle associée à une fréquence augmentée d'**aneuploïdie** permet l'immortalisation de ces lignées.

Afin d'étudier l'instabilité liée à ce processus, des cellules saines et normales sont transfectées par un agent immortalisant tel que SV40, virus à ADN non pathogène pour l'homme. L'antigène T est un oncogène : ce gène code une phosphoprotéine nécessaire à la réplication de l'ADN viral. Au niveau des cellules saines, il agit par interaction directe avec la protéine p53, codée par le gène suppresseur de tumeur qui se trouve être le plus fréquemment muté dans les tumeurs humaines. L'antigène T empêche la liaison de la protéine p53 avec l'ADN. Les protéines p53 et pRb ne jouent plus alors leur rôle normal de



INSERM/U445

“freins” (régulation négative) du cycle cellulaire. Le fonctionnement des **enzymes** de réparation est perturbé : les lésions ne sont pas réparées, ce qui engendre une augmentation des anomalies chromosomiques.

Les cellules transfectées par l'antigène T de SV40 ont une durée de vie plus longue que les cellules sénescents normales. Elles se divisent plus longtemps car elles passent une première phase de mortalité appelée M1 où les cellules normales entrent en sénescence et meurent. Les cellules contenant l'antigène T de SV40 passent cette phase M1 du fait de l'inhibition de la p53 induisant l'entrée des cellules normales en sénescence. Ces cellules transfectées se divisent jusqu'à une phase de mortalité M2 dite “crise” où nombre d'entre elles meurent. Les autres, immortalisées, prolifèrent indéfiniment. Les données cytogénétiques montrent que l'instabilité des fibroblastes transformés par l'antigène T est très forte avant et pendant la crise. Elle est caractérisée par un grand nombre de dicentriques dont le taux est maximal pendant la crise et représente alors la majorité des anomalies. Après la crise, ce taux diminue mais reste majoritaire. Les clones émergents

sont porteurs de déséquilibres chromosomiques qui confèrent aux cellules porteuses un avantage prolifératif. Ce modèle permet de suivre la chronologie d'apparition des déséquilibres engendrés par l'instabilité et la sélection des remaniements dans les cellules devenant immortelles.

### L'instabilité radio-induite

L'irradiation de cellules induit une déstabilisation du **génom**e accompagnée d'une forte mortalité cellulaire dès les premières mitoses après l'exposition aux rayonnements (figure). Quelques cellules parviennent toutefois à survivre pendant quelques générations supplémentaires. Cependant, la fréquence d'observation des chromosomes dicentriques par cellule diminue de moitié à chaque génération.

Il est donc difficile d'imaginer qu'il soit possible de voir des remaniements chromosomiques quelques générations après l'irradiation. Néanmoins, une instabilité chromosomique radio-induite a été observée dans des cellules humaines, **hématopoïétiques** (c'est aussi le cas chez la souris), dans des fibroblastes primaires et dans des **lymphocytes**.

Les cellules survivantes à l'irradiation produisent des descendants qui ont une forte capacité à former de nouvelles aberrations chromosomiques. Ces effets retardés de l'irradiation peuvent être expliqués comme les manifestations d'une instabilité génomique transmissible. Ainsi des dommages stables induits par l'irradiation sont-ils longs à se manifester.

La période d'instabilité est suivie par la sélection de clones caractérisés par des déséquilibres chromosomiques qui leur confèrent un avantage prolifératif, ce qui a pour conséquence l'envahissement de la culture par ces clones. Ces anomalies sont caractéristiques des cellules transformées ou tumorales et leur durée de vie est rallongée.

La mort cellulaire “retardée” a été observée avec un décalage atteignant jusqu'à 30 ou 40 générations dans des cellules ovariennes de hamster chinois après un traitement aux rayons X, à l'éthylméthanesulfonate ou à une **enzyme de restriction** mais elle ne l'a pas été après un traitement aux rayons ultraviolets. Ces derniers, non ionisants, créant des lésions simple brin, ceci suggère que l'instabilité liée à la mort cellulaire retardée pourrait être due à un

défaut de réparation des cassures double brin induites par l'irradiation. La fréquence de mutations à des *loci* spécifiques est augmentée dans les descendants de cellules irradiées. Des anomalies détectées dans les foyers transformés de lignées de cellules embryonnaires de souris ne sont pas une conséquence directe de l'irradiation. En effet, quel que soit le nombre de cellules irradiées, le taux de foyers transformés est identique.

Tous ces arguments mettent en évidence cette instabilité chromosomique radio-induite qui se produit comme lors du vieillissement cellulaire. L'irradiation permet donc de prolonger la durée de vie des cellules et de retarder le phénomène de sénescence cellulaire.

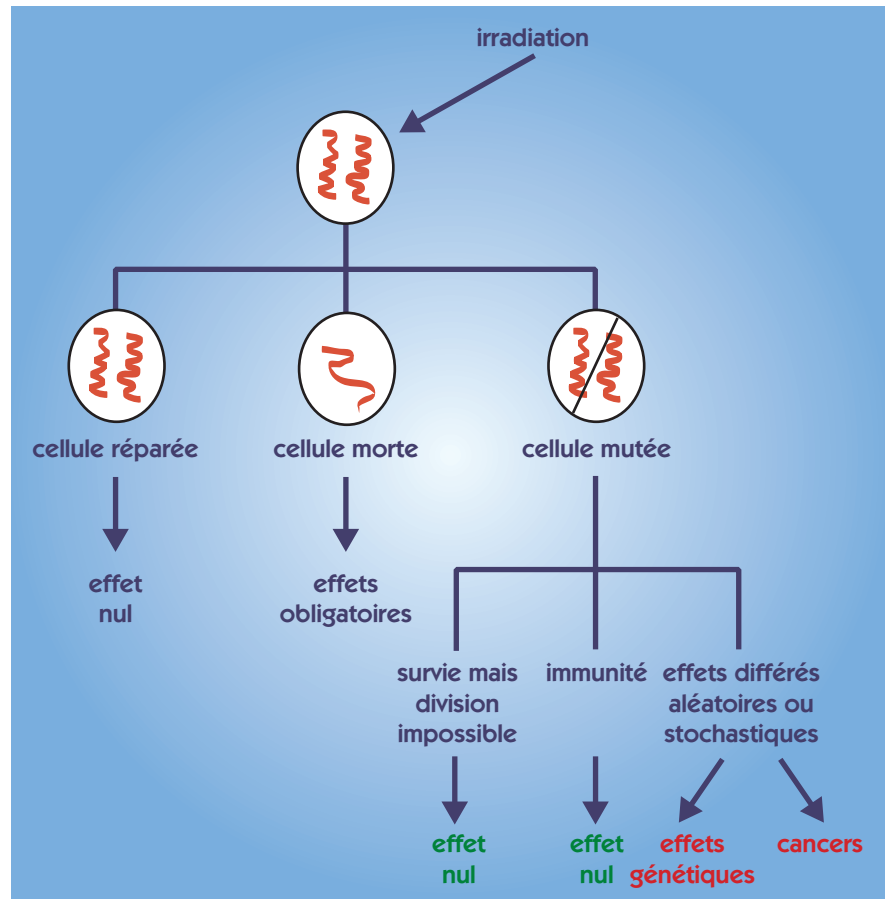
### Une étape essentielle après un stress

L'instabilité chromosomique est un phénomène retrouvé après différents stress tels que l'irradiation, l'immortalisation, le vieillissement, la cancérisation. Cette instabilité semble une étape essentielle à ce stade pour que les cellules retrouvent une stabilité qui leur permette de poursuivre leur croissance.

Au moment de la plus forte instabilité, certains chromosomes semblent plus impliqués que d'autres pour former des dicentriques. Une hypothèse restant à vérifier est que les chromosomes portant les télomères les plus courts sont impliqués préférentiellement dans la formation des dicentriques. En effet, si les télomères sont courts, l'extrémité du chromosome n'est pas stable et le chromosome ne retrouve sa stabilité qu'en fusionnant avec un autre. L'instabilité chromosomique serait donc un mécanisme nécessaire pour le passage d'une cellule diploïde à une cellule aneuploïde transformée et immortelle, quel que soit le stress impliqué. ●

**Françoise Hoffschir**  
et **Laure Sabatier**

Département de radiobiologie  
et de radiopathologie  
Direction des sciences du vivant  
CEA/Fontenay-aux-Roses



*Figure. Conséquences cellulaires de l'irradiation. Dans la plupart des cas, l'irradiation n'a pas de conséquence sur la cellule. Elle n'en a que si la cellule est mutée, qu'elle donne des descendants eux-mêmes mutés qui entrent éventuellement dans un processus tumoral.*

