

## Exploitation des profils d'expression : exemples en oncologie

par S. Galiègue & P. Casellas

Département Immunologie-Oncologie, Sanofi-Synthélabo, 371, rue du professeur Joseph-Blayac, 34184 Montpellier cedex 04.

Reçu le 18 juin 2002

### RÉSUMÉ

L'utilisation des puces ADN vise la définition des profils d'expression de tous les ARNm exprimés à un temps donné dans une cellule ou un tissu. Cette image permet d'établir des comparaisons entre des échantillons soumis à différents traitements, issus de différentes conditions physiologiques (sain ou tumoral), ou analysés à différents temps au cours d'un processus physiologique. Nous illustrons

l'apport de l'utilisation des puces ADN en oncologie. Nous montrons, à travers différents exemples, comment la réalisation des profils d'expression permet d'identifier le mécanisme d'action d'une molécule, de réaliser une classification pharmacologique des produits anticancéreux et offre de nouvelles perspectives en terme de pronostic et stratégies thérapeutiques.

### SUMMARY Expression profiling : examples in oncology

The analysis of biological processes has been revolutionized by the emergence of the DNA array technology. As cellular biological events are controlled by gene expression, their modulations are markers of the cellular activity. These modulations can be indicative of either a physiological process or a pathological one. Monitoring of the expression levels of thousands of genes simultaneously, the expression profiling method is based upon comparative studies where the identification of the differentially

expressed genes in two samples is aimed. The two samples under study may be compared temporally or following drug treatment, they may also originate from different sources, e.g. normal versus pathological samples. In that case, gene expression profiling is conducted for diagnostics purposes or therapy monitoring, and offers an opportunity to identify new drug targets. Using different examples, we describe the potentialities of this approach in oncology.

### INTRODUCTION

L'activité d'une cellule est caractérisée par l'ensemble des protéines exprimées à un moment donné. Ce répertoire de protéines exprimées par une cellule peut varier au cours d'un processus physiologique ou pathologique, ou lorsque la cellule est soumise à un traitement par une molécule donnée. L'étude des différentiels d'expression dans une cellule vise à identifier les acteurs dont les modulations d'expression rendent compte de ces processus. Cette approche peut être réalisée au niveau protéique ou au niveau ARNm. Les technologies d'analyse globale du protéome d'une cellule se développent progressivement aujourd'hui. Elles ne sont pas encore utilisées en routine. A l'inverse les technologies de mesure de différentiels d'expression au niveau ARNm sont largement employées.

L'exploitation des profils d'expression possède de nombreuses applications dans le domaine de l'oncologie. Dans le cadre du développement de nouveaux médicaments, ils permettent par exemple d'étudier le mode d'action de ceux-ci et de comparer les molécules anticancéreuses. En clinique, par comparaison des profils d'expression des tumeurs vis-à-vis de tissus sains ou de différents types de tumeurs, cette approche peut venir en support à l'œil du pathologiste pour identifier de nouveaux marqueurs biologiques à visée diagnostique, thérapeutique ou pronostique.

### Principe

La puce ADN (système Affymetrix) est une surface de 1,2 cm<sup>2</sup> constituée de microsursaces sur lesquelles sont greffés les oligonucléotides dédiés à la détection des

ARNm : chaque microsurface est un détecteur dédié à la mesure individuelle de chaque ARNm exprimé dans une cellule. La capacité des puces ADN est très élevée puisqu'il est possible de réaliser au moins 272 000 mesures en parallèle.

L'ARNm extrait des cellules ou tissus est marqué par fluorescence et hybridé sur la puce. La fluorescence est mesurée, on définit ainsi le répertoire d'ARNm de cette population. La définition d'un profil différentiel d'expression est obtenu par comparaison des répertoires ARNm de 2 populations cellulaires. L'analyse des résultats se fait par des outils bioinformatiques et statistiques spécifiques. Par cette méthode, on peut identifier les gènes modulés spécifiquement lorsqu'une population cellulaire est soumise au traitement par une molécule donnée : on compare le répertoire d'ARNm d'une population soumise au traitement à celui d'une population cellulaire non traitée, témoin. L'ensemble des gènes modulés constitue la signature transcriptionnelle de la molécule étudiée (Fig. 1).

La définition de cette signature transcriptionnelle nous permet de mieux connaître le mode d'action de la molécule (Casellas *et al.*, 2001).

### Exemples d'application

#### 1) ANALYSE DU MODE D'ACTION D'UNE MOLÉCULE ET CLASSEMENT DES MOLÉCULES ANTICANCÉREUSES

L'identification des gènes modulés suite au traitement par une molécule donnée permet de mieux comprendre le mode d'action de celle-ci en identifiant les événements moléculaires qui rendent compte de ce mécanisme d'action. Les outils de « clustering » permettent de comparer les signatures transcriptionnelles de différentes molécules. D'un point de vue thérapeutique, cette approche comparative permet d'identifier des applications cliniques de nouvelles molécules dont le mode d'action est différent des molécules anticancéreuses de référence.

#### La technologie des puces ADN

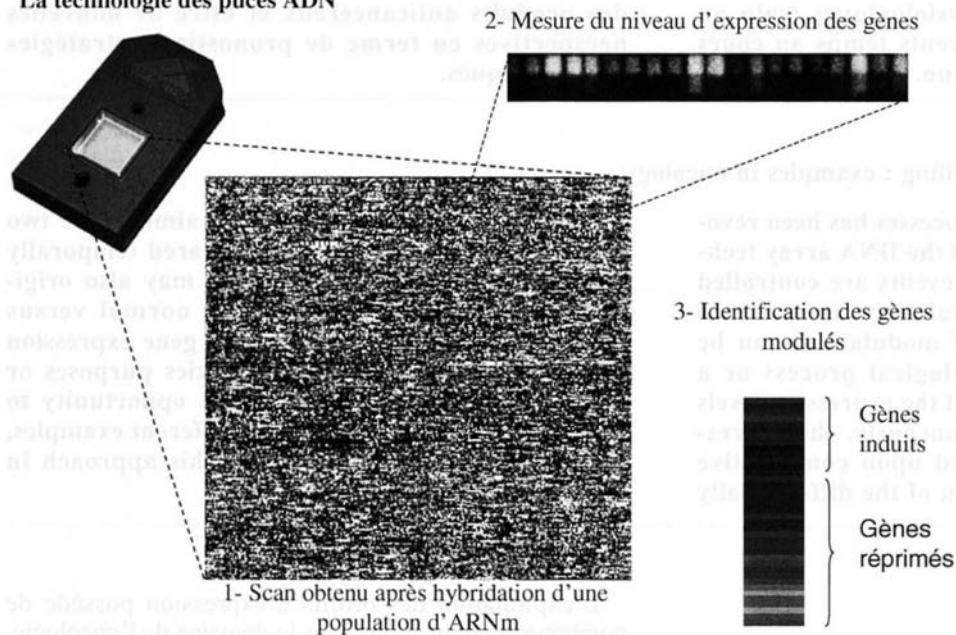


FIG. 1. – Principe des puces ADN.

#### 2) IDENTIFICATION DE MARQUEURS DE SENSIBILITÉ OU DE RÉSISTANCE

Cette approche est développée par l'équipe de John Weinstein au NCI. Elle consiste à utiliser les profils d'expression afin d'identifier des « clusters » de gènes rendant compte de la sensibilité d'une cellule vis-à-vis d'un produit. En pratique, le programme vise à déterminer d'abord la sensibilité des 60 lignées tumorales représentatives vis-à-vis des 70 000 molécules qui ont la propriété d'inhiber la prolifération cellulaire. (Détermination des GI<sub>50</sub>). Ensuite, les profils d'expression

de chacune des 60 lignées non traitées sont réalisés sur « microarray » (10k) en comparaison d'un pool témoin de 12 lignées parmi les 60. L'analyse des corrélations entre la sensibilité de la lignée vis-à-vis d'un produit et son profil d'expression permet d'identifier les groupes de gènes qui rendent compte de la sensibilité ou au contraire de la résistance de cette lignée tumorale vis-à-vis d'une molécule anti-cancéreuse. Ce groupe de gènes peut constituer des marqueurs que l'on peut alors exploiter pour prévoir la réponse d'une tumeur à un produit donné. (Ross *et al.*, 2000, Scherf *et al.*, Dan *et al.*, 2002).

### 3) IDENTIFICATION DE NOUVEAUX MARQUEURS (DIAGNOSTIC ET PRONOSTIC)

Une autre façon d'utiliser les profils d'expression dans le domaine de l'oncologie est la comparaison des tumeurs à des tissus sains correspondants ou alors de la comparaison de différents types de tumeurs entre elles. Dans le premier cas, le but est d'identifier les gènes dont l'expression est altérée dans la tumeur par rapport au tissu sain. Ces gènes peuvent constituer des éléments de diagnostic mais aussi de nouvelles cibles pour la définition de nouveaux médicaments. Dans le second cas, le but visé est l'identification de gènes marqueurs dont le niveau d'expression est corrélé avec un type de tumeur donné par rapport à un autre, ceci afin de produire de nouveaux éléments de diagnostic. Par exemple, la comparaison des profils d'expression de 38 échantillons de moelle osseuse de patients atteints de leucémie myéloïde ou lymphoïde (Golub *et al.*, 1999) permet de classer des patients présentant des tableaux cliniques atypiques et de leur proposer le traitement le mieux adapté à leur pathologie. Cette approche est encore plus efficace lorsqu'elle intègre les données clinique des patients (Van't Veert *et al.*, 2002).

### CONCLUSION

En résumé, en oncologie, les différentes applications des profils d'expression peuvent être :

- l'identification du mode d'action d'une molécule,
- la prédiction de la sensibilité de tumeurs vis-à-vis des molécules anticancéreuses,
- la classification des tumeurs et l'identification de marqueurs biologiques à visée thérapeutique, diagnostique et/ou pronostique.

L'approche globale des profils d'expression offre de nouvelles perspectives. Ils peuvent modifier nos approches en recherche mais aussi en développement et en clinique. L'enjeu est la définition de nouveaux traitements plus efficaces et mieux adaptés au patient.

### BIBLIOGRAPHIE

- Casellas *et al.*, Oligonucleotide chips for expression analysis : principles and practical procedures. In DNA microarrays : Gene expression applications, B. J. Jordan Ed, 2001, 87-103.
- Dan *et al.*, An integrated database of chemosensitivity to 55 anti-cancer drugs and gene expression profiles of 39 human cancer cell lines. *Cancer Res.*, 2002, 62, 1139-1147.
- Ross *et al.*, Systematic variation in gene expression patterns in human cancer cell lines. *Nature genetics*, 2000, 24, 227-235.
- Scherf *et al.*, A gene expression database for the molecular pharmacology of cancer. *Nature genetics*, 2000, 24, 236-244.
- Van't Veer *et al.*, Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer *Nature*, 2002, 415, 530-536.