

# Genetic and transcriptional evolution alters cancer cell line drug response.

La dérivation génétique des lignées cancéreuses en culture affecte la réponse aux agents anticancéreux.

**Philippe Pourquier & Joëlle Azzi**

INSERM U1194  
Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier  
208 rue des Apothicaires  
34298 Montpellier cedex 5, France  
Tel: +33(0)467613745  
Fax: +33(0)467613787  
Cell: +33(0)687533765

*L'utilisation des premières lignées de cellules cancéreuses humaines remonte aux années 50 avec la mise en culture et l'immortalisation par un chercheur de l'hôpital John Hopkins de Baltimore, de la célèbre lignée HeLa à partir d'un échantillon tumoral d'Henrietta Lacks, une patiente atteinte d'un cancer du col de l'utérus. Depuis, un très grand nombre de lignées d'origine tissulaire différentes ont été établies et sont toujours cultivées dans d'innombrables laboratoires à travers le monde. Ces lignées représentent un matériel de choix pour les chercheurs et ont sans nul doute permis d'accélérer la découverte de nouveaux agents anticancéreux ou des mécanismes de signalisation cellulaire régulant la croissance tumorale. Cependant, de multiples études ont pointé du doigt les écueils liés à l'utilisation de ces modèles, en particulier la non reproductibilité de résultats qui ont pourtant été obtenus dans des lignées « identiques ». Dans cette publication du journal Nature [1], l'équipe de Todd Golub apporte des éléments expérimentaux qui démontrent clairement que ces inconsistances sont liées à une dérivation clonale des lignées qui est associée au nombre de passage et aux conditions de culture.*

Pour en arriver à cette conclusion, les auteurs ont caractérisé de manière très détaillée le génome de 27 souches différentes de la lignée de cancer du sein MCF7 dont 19 n'avaient jamais été traitées, 7 avaient subi des modifications considérées comme neutres comme la transfection de gènes rapporteurs, et une avait été greffée chez la souris puis traitée par un antiestrogène. La comparaison deux à deux de ces souches a mis en évidence des différences de gains ou de pertes de 10 bras chromosomiques (soit 25% du génome) impliquant près de 700 gènes. Par exemple, le gène PTEN qui est présent dans 10 souches, se retrouve délété dans 17 autres souches. De manière similaire, on note un gain de copie du gène codant le récepteur des estrogènes (ESR1) dans 12 souches, alors qu'il est perdu dans 6 autres souches et inchangé dans 9 autres, ces données étant corrélées aux niveaux d'expression du gène. Des variations similaires sont également observées pour les autres types de réarrangements (mutations ponctuelles, insertions, délétions ou translocations). Un partitionnement des données fait apparaître que les différences génétiques entre souches est davantage lié au nombre de passage de la lignée et aux manipulations génétiques qu'elles ont subies qu'au nombre de cycles de congélation-décongélation.

En ce qui concerne l'origine de ces variations, les auteurs démontrent grâce à un système de code barre permettant de marquer et de suivre une population de cellules au cours du temps, que ce sont les différentes conditions de cultures qui permettent de sélectionner des sous-clones préexistants de la population, et que les mêmes conditions de culture sélectionnent les mêmes types de sous-clones. Par ailleurs, le séquençage de cellules uniques issues de ces sous-clones fait apparaître qu'ils sont génétiquement instables et que leur culture aboutit toujours à terme à une population hétérogène. Les auteurs ont également déterminé le transcriptome de ces 27 souches de cellules MCF7 et ont mis en évidence une différence significative (de plus de 2 fois) de l'expression d'une moyenne de 650 gènes lorsque ces souches sont comparées deux à deux, ces gènes étant généralement impliqués dans les mêmes voies métaboliques. Là encore, une analyse par RNAseq sur cellules uniques issues de clones démontre que ces différences d'expression sont acquises *de novo* et « suivent » le processus de sélection clonale au cours des passages des cellules. Les mêmes analyses effectuées sur des souches de 11 autres lignées cellulaires incluant une lignée non transformée (lignée MCF10A) donnent des résultats identiques démontrant que la sélection clonale est un phénomène qui peut être généralisé à tous les types de cellules en culture.

Les auteurs démontrent enfin que cette instabilité génétique a des conséquences majeures en termes de temps de doublement, de morphologie, mais aussi de réponse aux agents cytotoxiques. Sur les 321 agents testés sur les 27 souches MCF7, 55 composés testés à la concentration fixe de 5  $\mu$ M induisent une inhibition de croissance supérieure à 50% dans au moins une souche. En revanche, au moins une souche est fortement résistante (inhibition de croissance inférieure à 20%) à 48 des 55 composés. Ces résultats ne sont pas liés à une non-reproductibilité des expériences, mais bien à une différence d'expression entre les souches sensibles et résistantes des gènes impliqués dans le mécanisme d'action de ces agents cytotoxiques. De manière générale, les souches les plus résistantes à ces traitements sont celles dont les gènes du métabolisme sont régulés à la baisse. Il est intéressant de noter que la variabilité des profils d'expression qui est observée dans ces 27 souches MCF7 permet d'apporter des indications plus fiables sur le mécanisme d'action des agents cytotoxiques testés que les données d'expression obtenues à partir d'un panel plus large de lignées de cancer du sein établies à partir d'échantillons tumoraux de patients.

L'ensemble de ces données permettent non seulement de renforcer la notion que les lignées cancéreuses établies ne sont pas clonales mais génétiquement hétérogènes, cette hétérogénéité provenant à la fois d'une sélection de clones préexistants dans la culture, mais également de l'apparition continue de nouveaux variants dont l'émergence est directement liée à l'instabilité génétique des cellules. Un certain nombre d'implications pratiques découlent de ces résultats et doivent être pris en compte pour leur interprétation. Elles ont conduit les auteurs à fournir dans un tableau annexe des recommandations aux utilisateurs de lignées cancéreuses établies, notamment sur le choix des lignées ou des conditions de culture, et la nécessité de bien caractériser la lignée utilisée, surtout lorsque ces modèles sont connus pour être génétiquement instables. A ce titre, les auteurs ont créé un portail (Cell STRAINER) permettant d'évaluer une potentielle dérive génétique d'une lignée par rapport à une référence.

**1- Ben-David U, Siranosian B, Ha G, et. al. Genetic and transcriptional evolution alters cancer cell line drug response. *Nature* 2018; 560: 325-330**