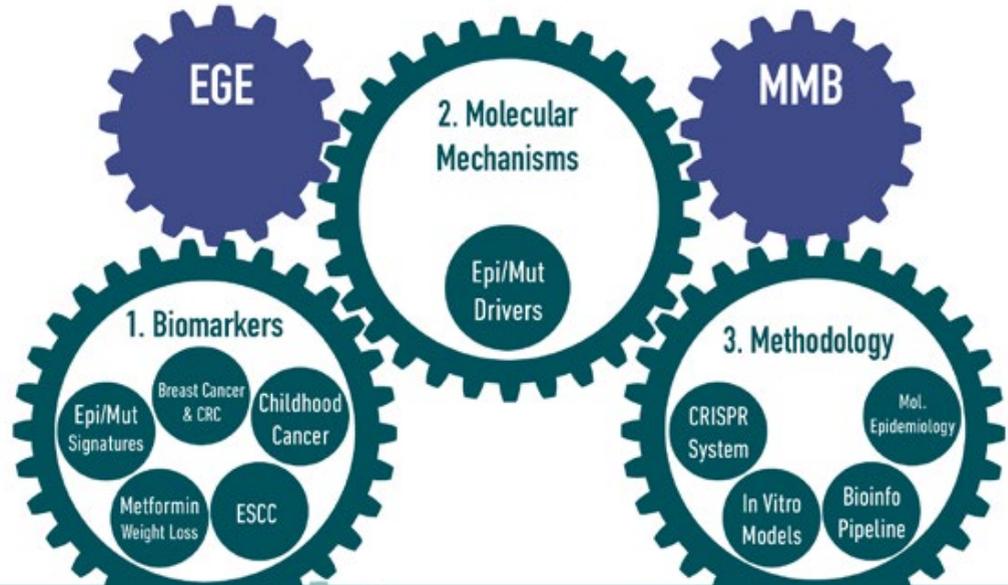


## Themes & Projects

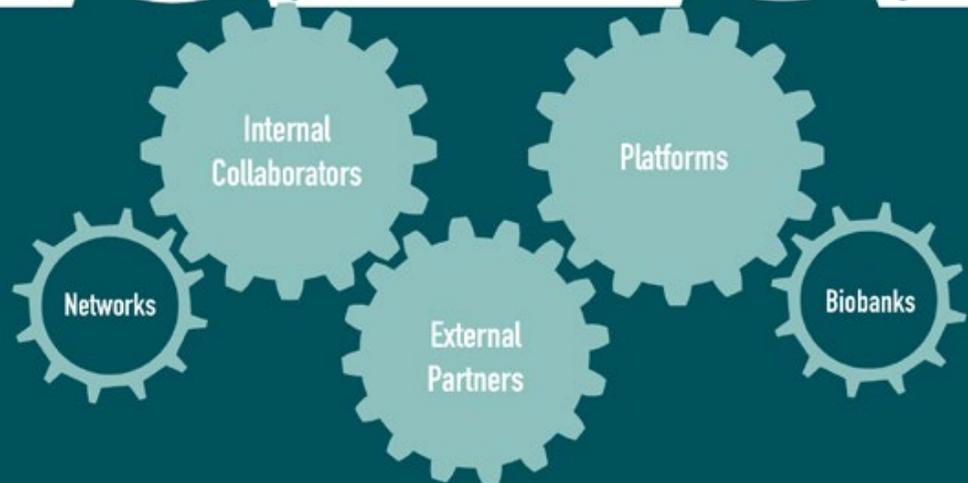
1. Identify (epi)genetic biomarkers of exposure and cancer risk to reinforce epidemiological associations

2. Investigate functional role of (epi)genetic changes and deregulated pathways induced by environmental exposures to provide biological plausibility

3. Develop (epi)genomic methodologies, profiling strategies, bioinformatics/ biostatistics tools and state-of-the-art in vitro models



## Enabling Resources & Collaborators



### Networks:

EpiMARK, MetBreCS, EXPOsOMICS, I4C, CLIC, EpiEARLY, PACE, CHARGE, ESCCAPE, Mutographs, PRECAMA, LYRICAN

### Internal Collaborators:

BMA, ENV, GEP, GCS, ICB, IMO, NEP, NME, WCT, ITS

### External Partners:

DKFZ-Heidelberg, CeMM, IGR-Paris, Univ. Oslo, Imperial College London, Duke-NUS/NCC Singapore, Univ-Minnesota, Univ-Maastricht, IEO-Milan, ISS-Rome, Mount Sinai NY, INCA-Rio, Korean Natl Cancer Institute, Sanger Inst, CRCL-Lyon, King's College London

### Platforms:

NextSeq, MiSeq, Illumina BreadArray, Pyrosequencer, IP-Star Robot

### Biobanks:

IARC, EPIC, I4C, DKFZ-Heidelberg, IGR-Paris, Univ-Oslo, Univ-Melbourne, Barretos, UCSD, IEO-Milan, ISS-Rome

# SECTION MECANISMES DE LA CANCEROGENESE (MCA)

## **Chef**

Dr Zdenko Herceg

## **Groupe Epigénétique (EGE)**

### **Chef**

Dr Zdenko Herceg

### **Chercheurs**

Dr Rosita Accardi  
Dr Akram Ghantous  
Dr Rita Khoueiry

### **Secrétariat**

Elizabeth Page

### **Chercheur extérieur**

Dr Chantal Matar  
(jusqu'en juillet 2019)

### **Boursiers postdoctoraux**

Dr Felicia Chung  
Dr Cuong Duong  
(jusqu'en octobre 2018)  
Dr Andrea Halaburkova  
Dr Vibha Patil  
Dr Alexandra Sexton-Oates  
Dr Athena Sklias  
(jusqu'en novembre 2019)  
Dr Fazlur Talukdar

### **Etudiants**

Antonin Jay  
Francesca Manara  
Alexei Novoloaca

Jesus Rodriguez-Aguilera  
(jusqu'en juin 2018)  
Athena Sklias  
(jusqu'en septembre 2019)  
Anna-Luiza Vicente

### **Assistants de recherche**

Cyrille Cuenin  
Aurélie Salle

### **Assistant de recherche principal, analyste-gestion des données**

Vincent Cahais

### **Stagiaires**

Miroslav Bobrik (jusqu'en juin 2018)  
Anne-Claire Boisson  
(jusqu'en août 2018)  
Lisa Martin (jusqu'en février 2019)  
Cendrine Milesi  
Lya Parres  
(jusqu'en septembre 2019)  
Cleandra Silva (jusqu'en août 2018)  
Bruna Sorroche  
(jusqu'en septembre 2018)

### **Groupe Mécanismes moléculaires et biomarqueurs (MMB)**

#### **Chef**

Dr Jiri Zavadil

#### **Chercheurs**

Dr Michael Korenjak  
Dr Magali Olivier

### **Assistant de recherche**

Marie-Pierre Cros

### **Assistant de recherche principal, analyste-gestion des données**

Dr Claire Renard

### **Secrétariat**

Karine Racinoux

### **Boursiers postdoctoraux**

Dr Samrat Das  
Dr Pamela Melki  
(jusqu'en septembre 2019)  
Dr Manuraj Pandey  
(jusqu'en juin 2018)  
Dr Maria Zhivagui  
(jusqu'en juin 2018)

### **Etudiants**

Douaa Bouhalla  
(jusqu'en juillet 2019)  
Léa Bourigault (jusqu'en août 2018)  
Laurane Brouquier  
(jusqu'en août 2019)  
Liesel Claeys  
Lélia Debornes (jusqu'en juillet 2019)  
Caroline Gaud (jusqu'en juillet 2018)  
Pierre Mathray (jusqu'en août 2019)  
Tanguy Mayel (jusqu'en août 2018)  
Estelle Petit (jusqu'en octobre 2018)  
Shefali Thakur

L'objectif principal de la Section Mécanismes de la cancérogenèse (MCA) consiste à établir des bases factuelles pour étudier l'étiologie des cancers et leur prévention, en élucidant les mécanismes moléculaires par lesquels les altérations génétiques et épigénétiques, provoquées par des expositions environnementales et le mode de vie, dérèglent des voies moléculaires cruciales et favorisent le développement de cancers. Les travaux de la Section MCA visent essentiellement à : i) élucider les changements génétiques et épigénétiques et les voies moléculaires induites par les expositions environnementales dans l'étiologie des cancers ; ii) identifier des modifications moléculaires, spécifiques aux facteurs de risque environnementaux (« signatures » d'exposition), et des biomarqueurs du risque de cancer ; et iii) développer des techniques en biologie (épi)génomique, des stratégies de profilage, ainsi que des outils et des ressources bioinformatiques, applicables aux biobanques constituées dans le cadre des études en population

coordonnées par le CIRC et des collaborateurs extérieurs. Pour atteindre ces objectifs, la Section MCA dispose à la fois de compétences en services de laboratoire, en épidémiologie moléculaire et en bioinformatique. Elle s'appuie également sur les projets pluridisciplinaires existants et les nouveaux projets qui exploitent les récentes avancées technologiques et conceptuelles, ainsi que sur le caractère unique et les atouts du CIRC. Par ailleurs, elle contribue au développement d'études translationnelles grâce à la découverte de biomarqueurs mécanistiques de l'exposition et du risque. Elle participe aussi aux études qui intéressent plus particulièrement, mais pas seulement, les pays à revenu faible et intermédiaire. Les thèmes de recherche existants ou nouvellement inscrits à son programme tirent parti des puissantes techniques de pointe en biologie moléculaire et/ou cellulaire et d'outils génomiques fonctionnels innovants. Ils profitent également d'une meilleure compréhension de l'(épi)génomique des cancers et du développement

de banques de données génomiques et de nouveaux outils bioinformatiques. Ces progrès ont permis l'élaboration d'un programme de recherche multi-facettes visant à identifier les modifications moléculaires, associées à l'exposition aux facteurs de risque, et à apporter une plausibilité biologique aux associations détectées lors d'études épidémiologiques. Ils ont aussi permis de créer des synergies entre plusieurs programmes au sein du CIRC et favorisé les collaborations entre les différents Groupes et/ou Sections, de même qu'avec des chercheurs extérieurs, valorisant ainsi les activités du Centre. La Section MCA comprend deux groupes — le Groupe Epigénétique (EGE) et le Groupe Mécanismes moléculaires et biomarqueurs (MMB) — qui travaillent en étroite collaboration pour créer des synergies permettant d'exploiter et d'enrichir au mieux une expertise et des outils de recherche exceptionnels.

## GROUPE EPIGENETIQUE (EGE)

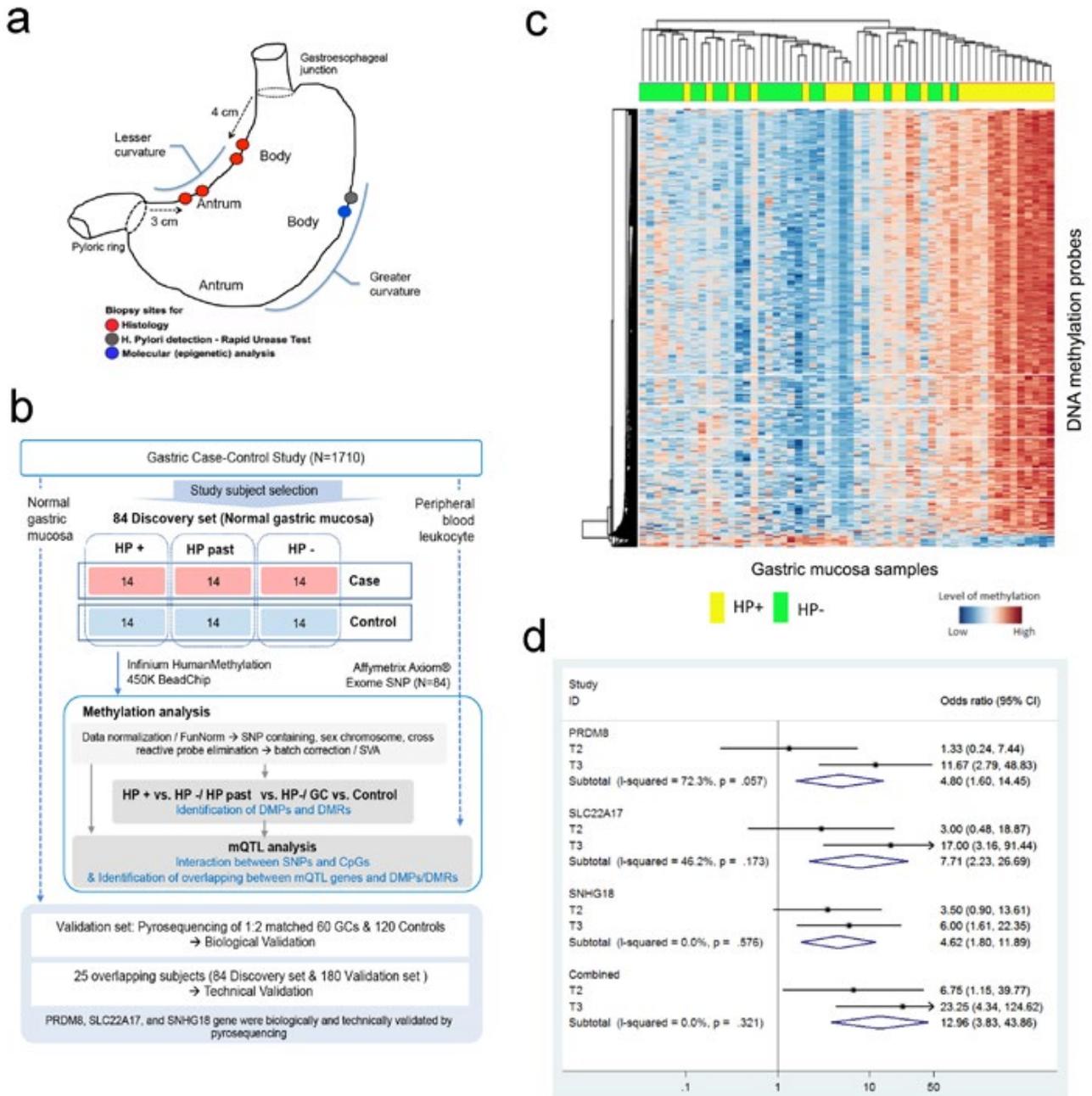
Le Groupe Epigénétique (EGE) a pour principal objectif d'améliorer notre compréhension du rôle des voies et des modifications épigénétiques, induites par des facteurs environnementaux, dans le développement de cancers, et d'étayer ainsi les études sur l'étiologie de la maladie, sa prévention et l'évaluation des substances cancérogènes. A cette fin, le Groupe EGE exploite les nouvelles approches en épigénétique du cancer, la disponibilité de cohortes de population uniques et les récents progrès technologiques en épigénomique (Van Baak et coll., 2018 ; Woo et coll., 2018 ; Josipović et coll., 2019 ; Küpers et coll., 2019 ; Patil et coll., 2019). Il élabore également des méthodes épigénomiques, des stratégies de profilage et des outils bioinformatiques, applicables aux études de cohortes et d'épidémiologie moléculaire coordonnées par les chercheurs du CIRC et des collaborateurs extérieurs (Felix et coll., 2018 ; Herceg et coll., 2018 ; Alcalá et coll., 2019).

### PROFILAGE PANGENOMIQUE DE LA MUQUEUSE GASTRIQUE NORMALE POUR IDENTIFIER LES MODIFICATIONS EPIGENETIQUES INDUITES PAR *HELICOBACTER PYLORI*, ASSOCIEES AU RISQUE DE CANCER

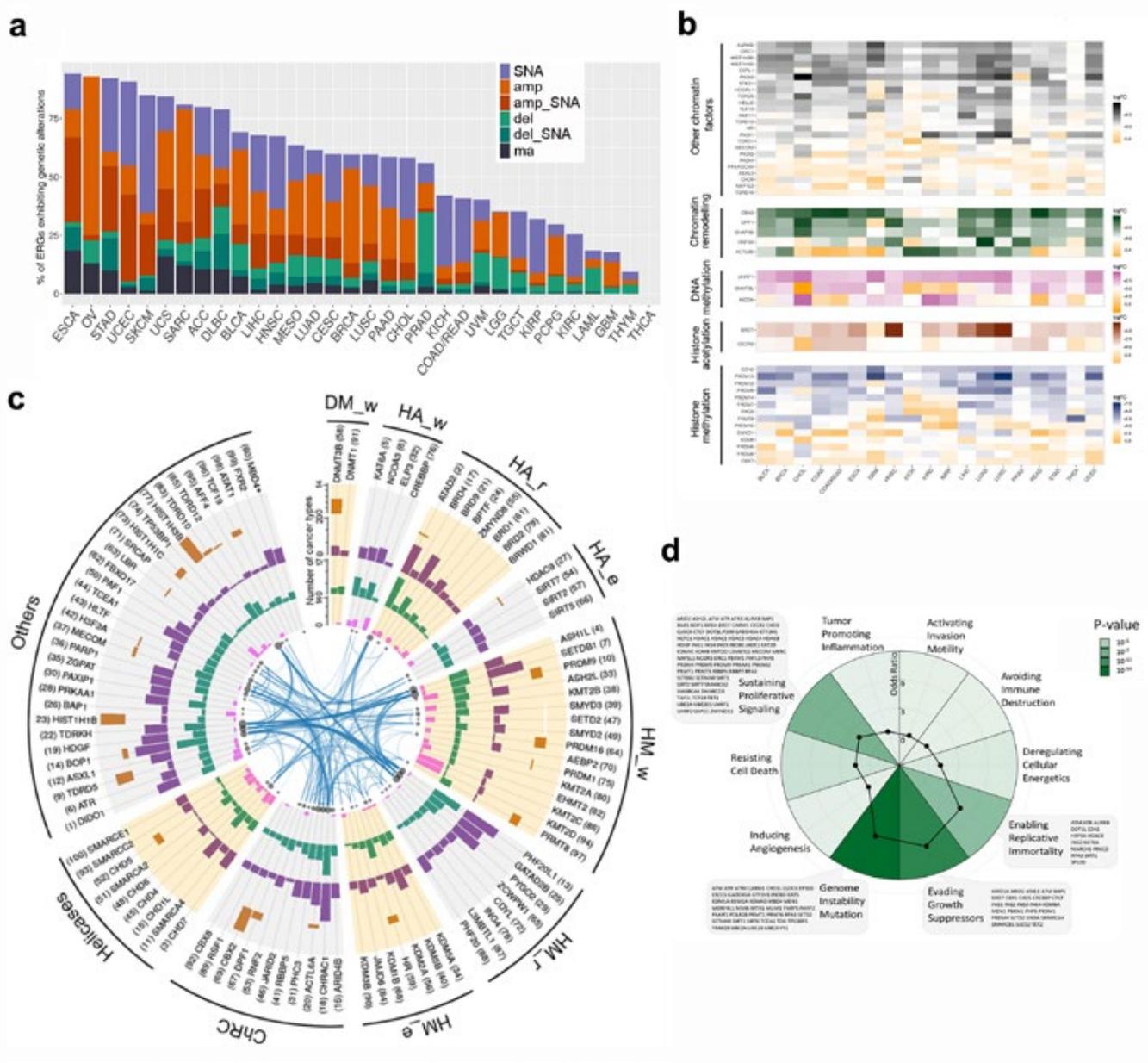
On pense que l'infection par la bactérie *Helicobacter pylori* est le facteur le plus courant à l'origine du cancer gastrique, troisième cause de mortalité par cancer dans le monde. Le Groupe EGE a donc étudié l'impact de l'infection par *H. pylori* (en cours) et de la mémoire épigénétique d'une infection antérieure (éradiquée) sur les modifications de profils épigénétiques (méthylation de l'ADN). En collaboration avec le *National Cancer Center* de la République de Corée, il a utilisé des approches pangénomiques et pan-épigénomiques pour analyser des échantillons de muqueuse gastrique normale, prélevés chez des témoins et des cas à différents stades d'infection par *H. pylori* et de cancer gastrique (Woo

et coll., 2018). Les résultats obtenus ont détecté 438 régions porteuses de changements de méthylation (DMRs pour *differentially methylated regions*) qui sont associées à la présence de *H. pylori*. En dépit d'une nette réversibilité de la plupart de ces changements de méthylation après éradication de l'infection, certaines DMRs persistent (« mémoire épigénétique »). Il est intéressant de noter que 152 DMRs étaient associées au risque de cancer, indépendamment de la présence ou non de l'infection (Figure 1). Les modifications du méthylome associées à l'infection par *H. pylori* et au cancer de l'estomac, identifiées dans cette étude, pourraient servir de biomarqueurs potentiels pour détecter les patients à risque.

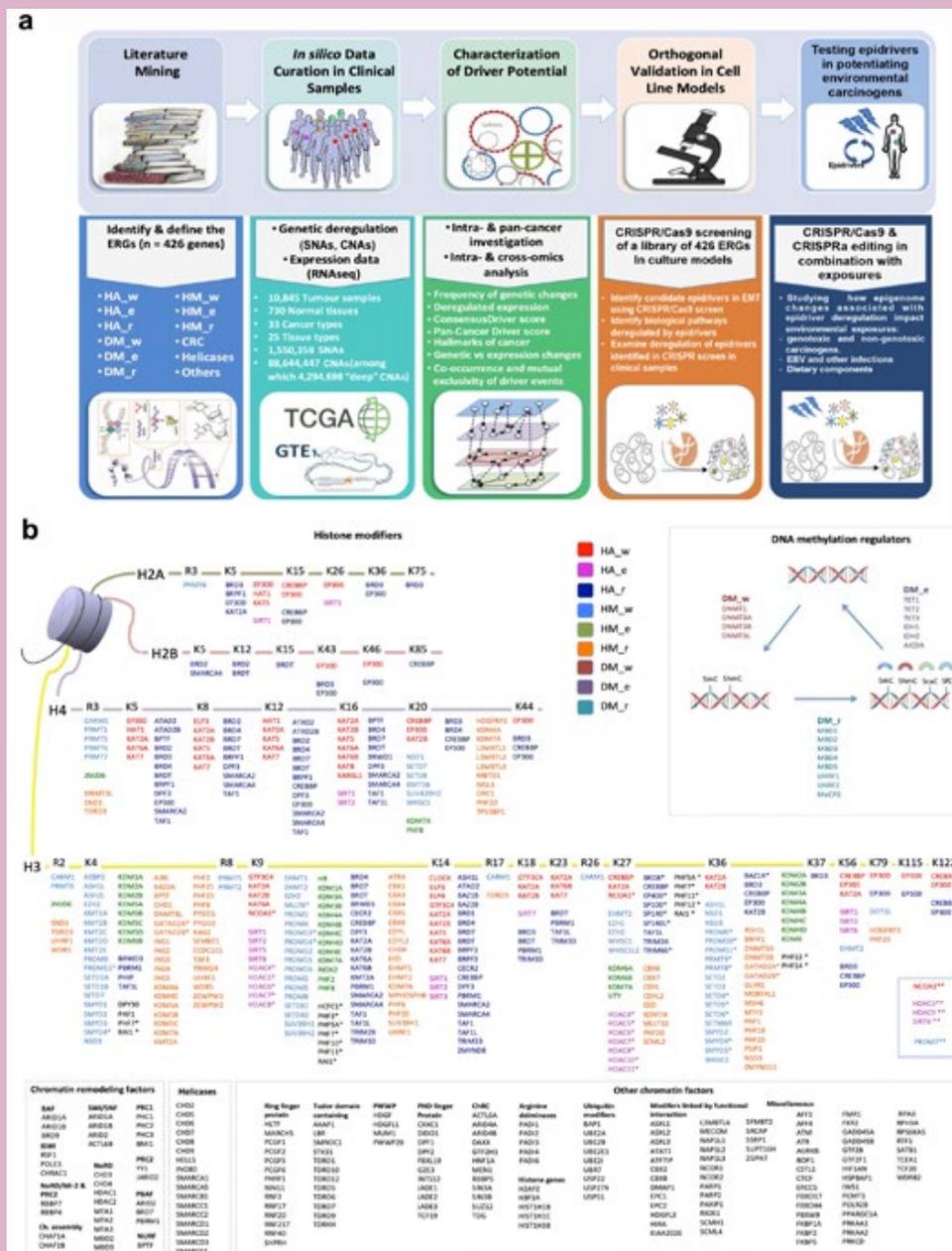
Figure 1. Profilage de méthylation de l'ADN de muqueuse gastrique normale en fonction de l'infection par *Helicobacter pylori*. a) Prélèvement des biopsies de muqueuse gastrique dans la plus grande courbure de l'estomac (cercle bleu) pour analyse moléculaire (épigénétique). b) Représentation graphique de la conception générale de l'étude. Les individus ont été classés en fonction de leur statut pour l'infection par *H. pylori* (actuelle [HP+], négative [HP-] ou antérieure [HP past]) et le cancer (cas ou témoin). Ils ont été appariés sur l'âge, le sexe et la classification de Laurén (pour les cas). c) Analyse de la carte des groupes de positions de méthylation différentielle (DMPs pour *differentially methylated positions*) avec  $\Delta \beta \geq 20\%$ . Les rangées représentent les sondes pour les 1924 DMPs et les colonnes représentent les différents échantillons HP+ et HP-. La couleur des cellules est fonction du taux de méthylation. Parmi ces DMPs, on comptait 52 îlots CpG (2,7 %) hypométhylés et 1872 (97,3 %) hyperméthylés. d) Score combiné de méthylation de gènes biomarqueurs présumés pour l'incidence du cancer gastrique. *Odds ratios* et intervalles de confiance à 95 % pour le cancer gastrique en fonction des tertiles (T) de taux de méthylation pour trois gènes biomarqueurs présumés. DMR : région de méthylation différentielle ; mQTL : loci de caractères quantitatifs associés à la méthylation ; SNP : polymorphisme d'un seul nucléotide. Figure adaptée d'après Woo et coll. (2018). © 2018 CIRC/OMS ; autorisé par l'UICC.



**Figure 2. Découverte de gènes conducteurs épigénétiques dans le génome pantumoral.** a) Analyse pantumorale des modifications génétiques dans différentes classes et catégories de gènes régulateurs épigénétiques (ERG pour *epigenetic regulator gene*). Le graphique montre les pourcentages d'ERGs présentant différentes formes de dérégulation génétique selon le type de cancer. Modifications génétiques : modification d'un seul nucléotide (SNA pour *single-nucleotide alteration*), importante amplification du nombre de copies (amp), importante amplification conjointe avec la modification d'un seul nucléotide (amp\_SNA), importante diminution du nombre de copies (del), importante diminution conjointe avec la modification d'un seul nucléotide (del\_SNA) et multiples modifications (ma pour *multiple alterations*). On considère que les ERGs sont modifiés (profonde amplification, profonde diminution ou SNA) quand on détecte ces altérations dans au moins 1 % des échantillons. b) Les cartes montrent les ERGs les plus différenciellement exprimés quand on compare les tissus tumoraux avec les tissus adjacents normaux dans différents types de cancer. Seuls les ERGs différenciellement exprimés du haut avec un  $|\log \text{ fold change (FC)}| > 3$  et un taux de faux positifs (FDR pour *false discovery rate*)  $< 0,05$  sont annotés. c) Caractérisation du potentiel conducteur des ERGs. Top 100 des ERGs en fonction du score conducteur pantumoral s'appuyant sur les SNAs (5 % des échantillons), la modification du nombre de copies (CNA pour *copy number alteration*) (5 % des échantillons) et les données d'expression (15 % des échantillons avec un z-score ou un FDR  $< 0,05$  avec  $\log_2 \text{ FC} > 1$ ). Les résultats sont présentés sous forme de barres indiquant le nombre de cancers pour lesquels un gène donné porte une modification génomique particulière ou présente un changement d'expression. De l'intérieur vers l'extérieur : en rose, les SNAs ; en vert, les CNAs ; en violet, le z-score ; en orange, le  $\log_2 \text{ FC}$ . Les gènes sont regroupés en fonction de leurs caractéristiques fonctionnelles. d) Le diagramme en toile d'araignée présente l'enrichissement des 426 ERGs dans les voies affectant les 10 caractéristiques du cancer ; les gradients de vert illustrent les valeurs de *P* correspondantes et les points noirs illustrent les *odds ratios*. Les noms des ERGs couvrant les quatre caractéristiques enrichies de façon significative sont indiqués. Figure d'après les travaux du Groupe EGE (non publié). © CIRC.



Stratégie générale, pangénomique et expérimentale, pour identifier et caractériser des gènes conducteurs épigénétiques et leurs déterminants environnementaux. a) L'approche en cinq étapes, adoptée pour identifier et étudier des gènes régulateurs épigénétiques (ERGs) ayant un potentiel conducteur comporte : 1) une étude détaillée de la littérature, 2) la conservation *in silico* des données d'échantillons cliniques, 3) une modélisation du potentiel *driver* des gènes candidats, 4) le criblage CRISPR/Cas9 pour l'évaluation orthogonale *in vitro* du potentiel conducteur et 5) la caractérisation des synergies entre *epidrivers* et exposition environnementale. b) Un répertoire des 426 ERGs étudiés, classés selon qu'ils régulent la modification d'histones, le remodelage de la chromatine ou la méthylation de l'ADN. Ceux qui modifient l'acétylation des histones, la méthylation des histones et la méthylation de l'ADN sont ensuite classés en « écrivains » (w pour *writers*), « correcteurs » (e pour *editors*) ou « lecteurs » (r pour *readers*). Les autres ERGs sont classés comme facteurs remodelant la chromatine (ChRC pour *chromatin remodelling factors*), hélicases ou autres facteurs modifiant la chromatine (certains sont divisés en sous-groupes d'après leur fonction ou leur présence dans des complexes moléculaires). Une étoile (\*) indique les gènes modificateurs d'histones, aux fonctions mal caractérisées et qui sont, par conséquent, classés d'après les données de séquençage des fragments immunoprécipités de chromatine (ChIP) dans le cadre du projet ENCODE (*Encyclopedia of DNA Elements*) ; deux étoiles (\*\*) indiquent des gènes modificateurs d'histones non associés à la modification de résidus des queues des histones. CNA (pour *copy number alteration*) : modification du nombre de copies ; EBV (pour *Epstein-Barr virus*) : virus d'Epstein-Barr ; EMT (pour *epithelial-to-mesenchymal transition*) : transition épithélio-mésenchymateuse ; GTEx (pour *Genotype-Tissue Expression database*) : base de données d'expression du génotype et banque de tissus ; SNA (pour *single-nucleotide alteration*) : modification d'un seul nucléotide ; TCGA : *The Cancer Genome Atlas*.



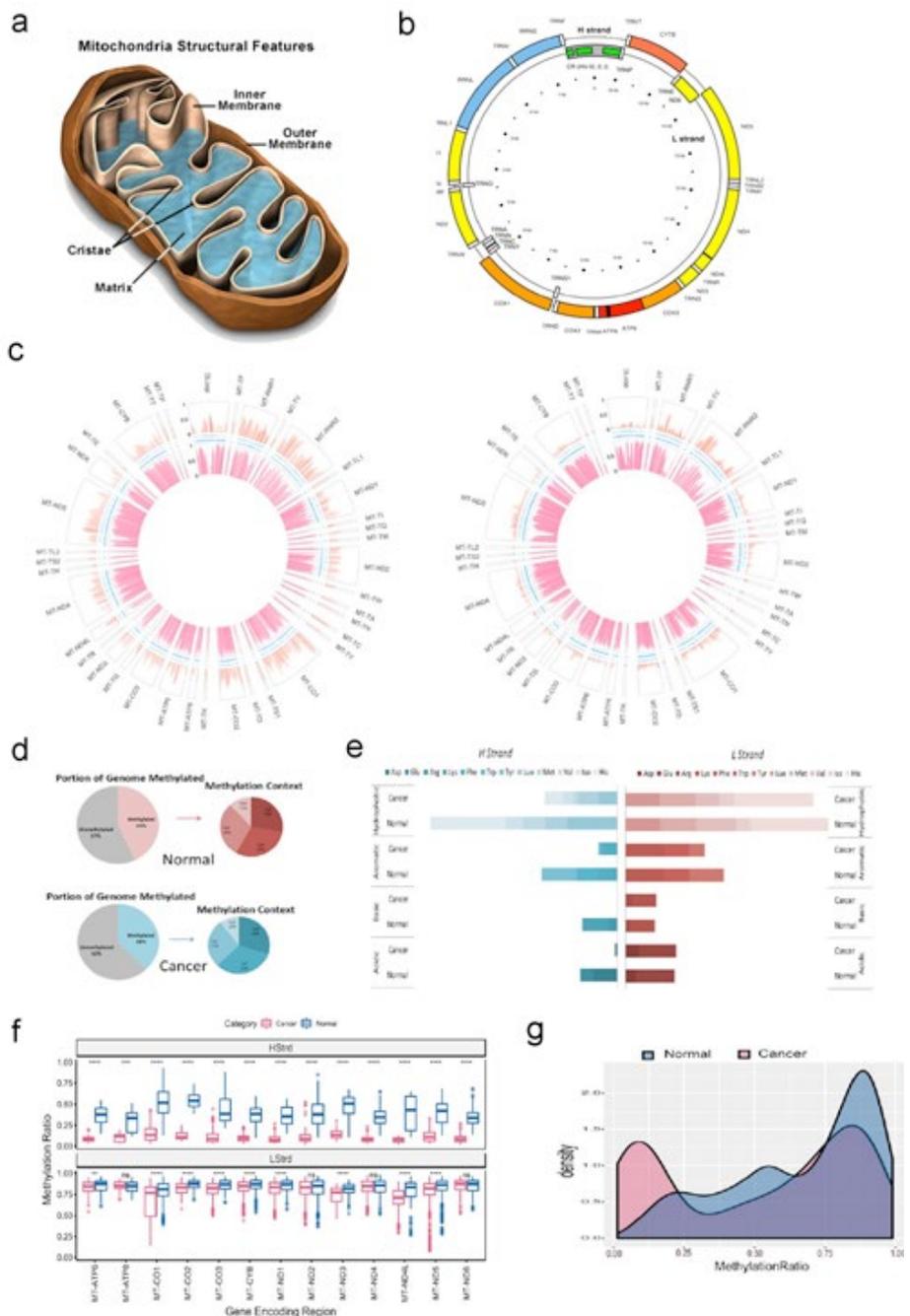
La découverte récente de nombreuses altérations sur des gènes qui régulent directement l'épigénome (appelés ici gènes régulateurs épigénétiques [ERGs]) dans les cancers humains a suscité un débat sur le rôle moteur potentiel de ces gènes dans la tumorigenèse et sur les

mécanismes qui stimulent les modifications épigénétiques dans les tumeurs malignes chez l'homme. Le Groupe EGE a donc développé et testé un cadre théorique pour l'identification expérimentale et la caractérisation fonctionnelle de ces *epidrivers*, importants au plan

Figure 3. Cartographie des modifications épigénétiques du génome mitochondrial dans les cellules normales et les cellules cancéreuses. Représentation schématique d'une mitochondrie, a) et du génome mitochondrial, b). c) Profils de base de méthylation de l'ADN mitochondrial (mtDNA) de cellules mammaires, normales et cancéreuses, établis par séquençage de nouvelle génération sur la plateforme mise en place par le Groupe EGE. Représentations circulaires des positions génomiques (1–16 kb) de toutes les cytosines méthylées par rapport à l'ordre des séquences. Chaque segment du cercle représente une importante région fonctionnellement indépendante, l'ARN de transfert (tRNA), l'ARN ribosomal (rRNA), le gène ou la boucle de déplacement (D-loop). Sur le côté gauche du segment D-loop, l'axe des ordonnées (y) indique le degré de méthylation. Le grand cercle extérieur affiche la méthylation de chaque cytosine sur le brin lourd de l'ADN mitochondrial (H-strand), tandis que le grand cercle intérieur affiche la méthylation de chaque cytosine sur le brin léger (L-strand). Les bandes intérieures, plus fines, indiquent la position génomique de toutes les cytosines sur le brin lourd ou léger. On notera que les profils de méthylation globale de l'ADN mitochondrial varient entre les cellules cancéreuses et normales. d) Résumé statistique de la fréquence du contexte mCpN mitochondrial dans les cellules hépatiques. e) Comparaison des index de méthylation dans les séquences codantes des ARNt de cellules mammaires normales et cancéreuses. Chaque segment horizontal compare l'index de méthylation dans les ARNt regroupés selon le type d'acide aminé porté à leur extrémité (acide, basique, aromatique ou hydrophobe). A gauche : index de méthylation sur le brin lourd. A droite : index de méthylation sur le brin léger. f) Diagramme en boîte comparatif, indiquant des différences significatives du taux moyen de méthylation ( $P < 0,001$ ) dans les séquences codantes sur chaque brin,

entre les cellules normales et les cellules cancéreuses. g) Diagramme de densité de la répartition des valeurs de méthylation le

long de la D-loop. Figure adaptée d'après Patil et coll. (2019). © Patil V, Cuenin C, avec l'autorisation d'Oxford University Press.



mécanistique, qui restructurent l'épigénome et contribuent ainsi aux phénotypes néoplasiques (voir encadré). Le Groupe a d'abord procédé à une analyse intégrative et pantumorale des perturbations du génome et du transcriptome observées sur une série de 426 ERGs (classés en fonction de leur domaine de régulation) dans 33 types de cancer. L'analyse a été réalisée à partir des résultats de séquençage de 10 845 échantillons de tissus tumoraux et 730 échantillons de tissus normaux (voir encadré). Pour la plupart des types de cancer, le taux d'altérations dans les ERGs était plus élevé, avec des mutations pantumorales récurrentes et des modifications du nombre de copies (CNAs pour *copy number alterations*) dans des ERGs individuels ou des classes d'ERGs, qui étaient étroitement associées à des changements d'expression des gènes (Figure 2). Par ailleurs, le Groupe EGE a appliqué une nouvelle approche bio-informatique (*Pan-Cancer Driver*), intégrant la puissance des différents algorithmes de prédiction de gènes conducteurs et tenant compte de plusieurs couches de données « omiques », pour détecter les ERGs qui ont un potentiel régulateur dans la cancérogenèse (Figure 2). Il a également développé et appliqué des approches de criblage génétique fonctionnel sur l'ensemble de l'épigénome (basé sur le système CRISPR/Cas9) ciblant les 426 ERGs *in vitro*. Cette méthodologie a ainsi permis d'identifier des ERGs candidats qui ont un rôle conducteur conférant aux cellules les caractéristiques propres au cancer. A ce

jour, il s'agit de l'étude la plus large et la plus complète des modifications d'ERGs associées à la transformation tumorale. C'est le premier effort expérimental visant à identifier spécifiquement des *epidrivers* dans les processus oncogènes pour apporter des informations essentielles sur la dérégulation des ERGs et leur impact fonctionnel sur la cancérogenèse (Halaburkova et coll., 2019). L'objectif des études en cours et à venir (en collaboration avec le Groupe MMB et des partenaires extérieurs) consiste à examiner la façon dont les événements impliquant des *epidrivers* agissent en synergie avec des cancérogènes environnementaux pour provoquer le cancer.

#### REGULATION EPIGENETIQUE DU GENOME MITOCHONDRIAL DANS LES CANCERS

Le Groupe EGE a récemment étudié les modifications épigénétiques qui affectent le génome des mitochondries (centrales énergétiques des cellules). Il a ainsi établi pour la première fois des profils de méthylation haute résolution de l'ADN du génome mitochondrial. Les résultats indiquent des différences notables entre les profils de méthylation du génome mitochondrial des cellules normales et ceux des cellules cancéreuses (Figure 3). L'étude s'intéresse aux considérations techniques qui ont jusqu'à présent entravé l'investigation de l'épigénétique mitochondriale. Elle aborde les éventuelles répercussions fonctionnelles d'une méthylation de l'ADN mitochondrial sur les processus de cancérogenèse (Patil et coll., 2019). En effet,

sachant que les cellules cancéreuses consomment davantage d'énergie que les cellules normales, tout dérèglement des fonctions mitochondriales est susceptible de jouer un rôle majeur dans la tumorigenèse. Les résultats de ces études pourraient déboucher sur des techniques novatrices permettant d'identifier de nouveaux biomarqueurs du cancer ou de cibler le métabolisme énergétique des cellules cancéreuses.

#### IDENTIFICATION DES CHANGEMENTS EPIGENETIQUES INDUITS PAR LES EXPOSITIONS *IN UTERO* ET PENDANT LA VIE D'ADULTE ET RELATION CAUSALE AVEC LES CANCERS

Le Groupe EGE dirige une étude pluridisciplinaire sur la relation causale entre les expositions *in utero* et plus tard dans la vie, et un risque accru de cancer chez l'enfant et l'adulte. Tirant parti du cadre exceptionnel de recherche en épidémiologie épigénétique du CIRC et de plusieurs grands consortiums internationaux, le Groupe EGE a beaucoup progressé, non seulement sur l'identification de signatures épigénétiques d'exposition *in utero* (Alfano et coll., 2018 ; Gruzieva et coll., 2019 ; Küpers et coll., 2019) et plus tard dans la vie (Woo et coll., 2018 ; Johansson et coll., 2019a ; Perrier et coll., 2019), mais aussi sur le décryptage de leurs effets phénotypiques, avec une attention particulière portée aux cancers pédiatriques et à certains cancers chez l'adulte (Tableau 1).

**Tableau 1. Synthèse des signatures épigénétiques selon les expositions, les phénotypes et le risque de cancer identifiés à ce jour**

Exposition/risque de cancer	Etude (taille de l'échantillonnage)	Nombre d'îlots CpGs significatifs <sup>a</sup>	Principales observations	Référence
<i>Expositions pendant la grossesse</i>				
IMC paternel avant la grossesse	9340 (19 cohortes)	0 [0]	Peu de preuves d'association entre l'IMC paternel et la méthylation dans la descendance, y compris dans les régions soumises à empreinte	En préparation
Diabète gestationnel	3677 (7 cohortes)	3 [2]	Peu de preuves d'association entre le diabète gestationnel et la méthylation dans la descendance	Soumis
Saison de la conception ou de la naissance	120 (1 cohorte) ; extension en cours à d'autres cohortes	Seules les DMRs sont rapportées	Saison sèche vs saison des pluies en Gambie rurale (et donc nutrition de la mère) entraînant une modification de la méthylation de l'épiallèle métastable du gène suppresseur de tumeur <i>VTRNA2-1</i> , et présentant les caractéristiques d'une empreinte métabolique	En cours
Statut socioéconomique	914 (1 cohorte) ; extension en cours à d'autres cohortes	4 [1]	Parmi les quatre principaux indicateurs socioéconomiques (niveau d'éducation et profession de la mère et du père), seul le niveau d'éducation de la mère était associé aux taux de méthylation à la naissance	Alfano et coll. (2019) ; en cours
Infection maternelle	En cours	En cours	SO	En cours
<i>Phénotypes intermédiaires</i>				
Poids de naissance	8825 (24 cohortes)	8170 [914]	Poids de naissance largement associé aux variations épigénomiques chez le nouveau-né, avec des différences de poids allant de -183 g à 178 g pour une augmentation de 10 % du taux de méthylation. Dix îlots CpGs restent théoriquement associés au poids de naissance plus tard chez l'enfant (2-13 ans), l'adolescent (16-18 ans) et l'adulte (30-45 ans).	Küpers et coll. (2019)
Age gestationnel	3648 (17 cohortes)	NR [8899]	Age gestationnel largement associé à l'épigénome du nouveau-né. Pour la plupart des îlots CpGs, l'effet de l'âge gestationnel sur la méthylation diminue avec le temps pour se stabiliser après l'âge de scolarisation.	Soumis
<i>Paramètres de début de vie</i>				
Leucémies de l'enfant/ Tumeurs du système nerveux central de l'enfant	En cours	En cours	En cours	En cours
<i>Exposition chez l'adulte ou pendant toute la vie</i>				
Alcool/folate	Cohorte EPIC	24 DMRs (folate), 90 DMRs (alcool)	Faible association avec les DMPs, mais l'analyse des DMRs montre un total de 24 et 90 régions associées respectivement aux folates alimentaires et à l'alcool	Perrier et coll. (2019)
Œstrogène (exposition pendant toute la vie)	EPIC-Italie (n = 216)	694 sites CpG	L'étude d'association pangénomique a identifié 694 sites CpG associés à un modèle estimatif d'exposition aux œstrogènes pendant la vie ; étude de suivi <i>in vitro</i>	Johansson et coll. (2019a)
Utilisation de contraceptif oral	Cohorte EPIC	Grand nombre de DMPs	Forte association avec les DMPs ; duplication en cours dans une cohorte indépendante	En cours
<i>Helicobacter pylori</i>	Etude du <i>National Cancer Center</i> de la République de Corée	1924 DMPs et 438 DMRs	1924 DMPs et 438 DMRs associées à l'infection par <i>H. pylori</i> , pour la plupart hyperméthylées	Woo et coll. (2018)
<i>Risque de cancer</i>				
Risque de cancer du sein	Méta-analyse, quatre cohortes (1663 cas et 1885 témoins)	Aucun	Absence d'association entre la méthylation de différents îlots CpGs (mesurée par Illumina Infinium 450K) et le risque de cancer du sein	Bodelon et coll. (2019)

DMP : position de méthylation différentielle (*differentially methylated position*) ; DMR : région de méthylation différentielle (*differentially methylated region*) ; EPIC : Etude prospective européenne sur le cancer et la nutrition ; FDR : taux de faux positifs ; IMC : indice de masse corporelle ; NR, non rapporté ; SO, sans objet ; vs : *versus*.

<sup>a</sup> Nombre statistiquement significatif de CpGs (FDR < 0,05) identifiés. Le nombre statistiquement significatif de CpGs selon la méthode de Bonferroni est indiqué entre crochets.

# GROUPE MECANISMES MOLECULAIRES ET BIOMARQUEURS (MMB)

Le principal objectif du Groupe Mécanismes moléculaires et biomarqueurs (MMB) consiste à développer et à coordonner des collaborations internationales pour identifier les processus moléculaires et des marqueurs de la cancérogenèse associés à certains agents à risque d'origine environnementale, iatrogène, professionnelle et domestique. Le Groupe MMB étudie l'impact de ces agents sur le génome dans des systèmes expérimentaux, mais aussi dans les tissus humains et animaux. Il développe également des méthodes expérimentales et bioinformatiques (Marques et coll., 2019), applicables aux études d'épidémiologie expérimentale et moléculaire du cancer. L'ensemble de ses activités vient étayer les stratégies

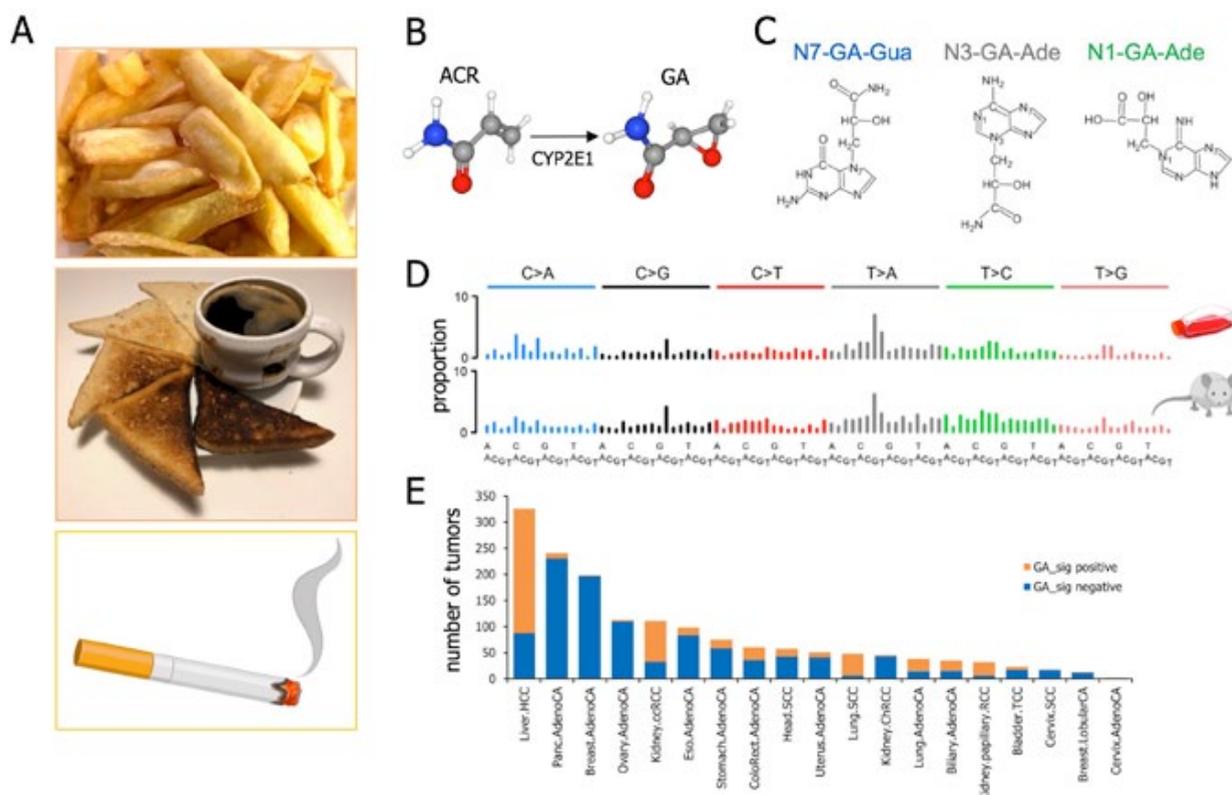
de prévention de la maladie, y compris l'évaluation et la classification des cancérigènes fondées sur des données probantes (Samet et coll., 2019).

## SIGNATURE MUTATIONNELLE DU GLYCIDAMIDE (UN METABOLITE DE L'ACRYLAMIDE) LARGEMENT REPANDUE DANS LES CANCERS CHEZ L'HOMME

L'acrylamide est une substance reconnue cancérigène chez les rongeurs et classée cancérigène probable pour l'homme (Groupe 2A des *Monographies du CIRC*). On la trouve dans des aliments courants, frits ou grillés, tels que les chips de pomme de terre, les frites, les crackers, le pain, les biscuits, les céréales du petit déjeuner, le café,

les olives noires en boîte et le jus de pruneaux. La fumée de tabac constitue une autre source importante d'exposition à l'acrylamide. Mais à ce jour, les études épidémiologiques n'ont pas vraiment fourni de preuves permettant de conclure à une association entre l'exposition à l'acrylamide et le développement d'un cancer, si ce n'est l'observation de légères tendances positives pour les cancers du rein, de l'endomètre et de l'ovaire chez des non-fumeurs. On attribue le potentiel mutagène de l'acrylamide au glycidamide, son métabolite réactif. Le séquençage pangénomique de l'ADN de clones cellulaires et de tumeurs pulmonaires de souris exposées au glycidamide a permis au Groupe MMB d'identifier la signature mutationnelle

**Figure 4.** La signature mutationnelle du glycidamide, métabolite de l'acrylamide, est largement répandue dans les cancers humains. A) Quelques sources courantes d'exposition humaine à l'acrylamide. B) Activation métabolique de l'acrylamide (ACR) en métabolite époxydé réactif, le glycidamide (GA), par le cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) (source : PubChem). C) Principaux types d'adduits à l'ADN identifiés dans les cellules et les tissus murins exposés à l'ACR ou au GA. D) Signature mutationnelle du GA observée *in vitro* (partie supérieure) et *in vivo* (partie inférieure). E) Nombre total de tumeurs en fonction du type de cancer chez l'homme (19), avec en orange, la proportion portant la signature mutationnelle du GA. © CIRC.



de ce métabolite. Cette signature est remarquablement stable dans les modèles expérimentaux (Figure 4) et sa composition correspond à des adduits pré-mutagènes à l'ADN connus. Les nouvelles techniques de criblage informatisé, ciblé, et de modélisation du spectre mutationnel dans des génomes synthétiques ont permis de détecter cette signature dans le génome de 34 % des échantillons tumoraux issus de l'étude PCAWG (pour *Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes*) du Consortium international sur la génomique du cancer. On a ainsi retrouvé la signature du glycidamide dans 19 types de cancer affectant 14 localisations anatomiques. Elle était particulièrement fréquente dans les cancers du poumon, du rein, du foie, du canal biliaire, de la tête et du cou, de l'estomac, de l'utérus et de l'œsophage, et peu présente dans les autres localisations. Ces résultats (Zhivagui et coll., 2019) révèlent de manière inattendue une contribution répandue du potentiel mutagène de l'acrylamide dans les cancers humains. Le Groupe consultatif sur les priorités des *Monographies du CIRC* a récemment jugé l'acrylamide

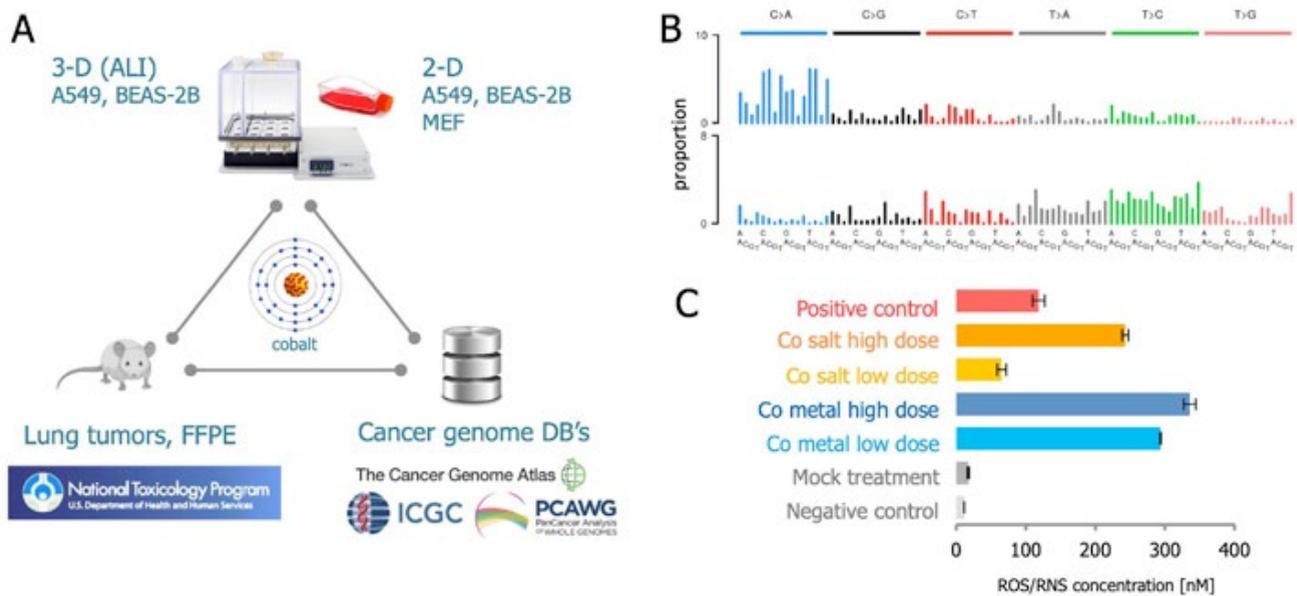
et le glycidamide hautement prioritaires pour une évaluation (Marques et coll., 2019). Par ailleurs, de nouvelles études d'épidémiologie moléculaire du cancer s'intéressent aux liens de causalité possibles entre l'acrylamide et la cancérogenèse chez l'homme.

**TOXICITE ET LESIONS DE L'ADN GENOMIQUE INDUITES PAR LE COBALT ET LES SELS DE COBALT**

Dans différents milieux professionnels, environnementaux et médicaux, l'homme peut être exposé au cobalt et à ses dérivés dont on connaît le potentiel cancérogène chez les rongeurs et qui sont probablement cancérogènes pour l'homme (Groupe 2B des *Monographies du CIRC*). Malgré des preuves de toxicité *in vivo* et *in vitro*, on connaît mal les mécanismes exacts, responsables des altérations génétiques et tissulaires associées au cobalt. Le Groupe MMB s'attache à déterminer quels sont les effets génotoxiques du cobalt en réalisant des analyses intégrées de toxigénomique sur : i) des cultures bidimensionnelles ou tridimensionnelles

(à l'interface air-liquide) de cellules pulmonaires humaines exposées au cobalt, ii) des fibroblastes primaires murins et iii) des tumeurs pulmonaires de souris induites par inhalation chronique de cobalt (Figure 5A). Des lésions oxydatives et génotoxiques, associées à l'exposition au cobalt, ont été détectées dans ces différents systèmes. De plus, le séquençage pangénomique des clones cellulaires et des tumeurs pulmonaires murines a montré l'existence d'un spectre mutationnel, spécifique à cette exposition, indiquant une signature mutationnelle pangénomique des lésions oxydatives de l'ADN. Une analyse biochimique est venue valider cette observation (Figure 5B, C). Ces résultats constituent une base pour de futures études d'épidémiologie moléculaire, visant à explorer le lien entre l'exposition au cobalt et le développement de cancers chez l'homme. Ces études sont d'autant plus justifiées que le Groupe consultatif sur les priorités des *Monographies du CIRC* a jugé le cobalt et ses composés hautement prioritaires pour une évaluation (Marques et coll., 2019).

**Figure 5. Toxicité et lésions de l'ADN génomique induites par le cobalt et les sels de cobalt.** A) Conception de l'étude intégrant des systèmes d'exposition de cultures cellulaires murines et humaines bidimensionnelles (2-D) et tridimensionnelles (3-D) (tumeurs pulmonaires murines induites par inhalation chronique d'aérosols de particules métalliques de cobalt) (source : *United States National Toxicology Program*) et exploration des données publiques sur le génome pantumoral. B) Principales signatures mutationnelles, identifiées dans les cellules et chez les souris ; partie supérieure : accumulation de mutations C > A indiquant une lésion des guanines liée au stress oxydatif. C) Taux nettement accrus d'espèces oxygénées et azotées réactives (ROS pour *reactive oxygen species* et RNS pour *reactive nitrogen species*) détectés dans les fibroblastes murins, 24 heures après leur exposition au cobalt et aux sels de cobalt. ALI : interface air-liquide ; Co : cobalt ; DB : base de données ; FFPE : tissus fixés au formol, inclus dans la paraffine ; ICGC : *International Cancer Genome Consortium* ; MEF : fibroblaste embryonnaire de souris ; PCAWG : *Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes*. © CIRC.



Le projet EVAMOVAIRE2, mené en collaboration avec le Centre Léon Bérard et le Centre hospitalier Lyon Sud, vise à caractériser les profils de lésions génomiques observés dans des tumeurs ovariennes provoquées par l'exposition à l'amiante. Le projet INVITROMICS, réalisé en collaboration avec le Groupe EGE, vise à identifier de nouveaux marqueurs moléculaires des étapes précoces de

cancérogenèse dans des modèles expérimentaux de transformation cellulaire. Le projet OROQAT, mené en collaboration avec la Section Environnement et rayonnements, consiste à étudier les mutations conductrices (*driver*) dans les cancers de la bouche et de l'oropharynx des consommateurs de qat en Éthiopie, pour définir des marqueurs de la mutagenèse et de la cancérogenèse spécifiques de cette

consommation. Dans le cadre du projet PUVARCC, les effets pangénomiques du 8-méthoxypsoralène — composant du traitement de certaines maladies de la peau par les psoralènes et les ultraviolets de classe A (puvathérapie) — font l'objet d'une étude pour examiner leurs contributions potentielles au développement du cancer du rein.