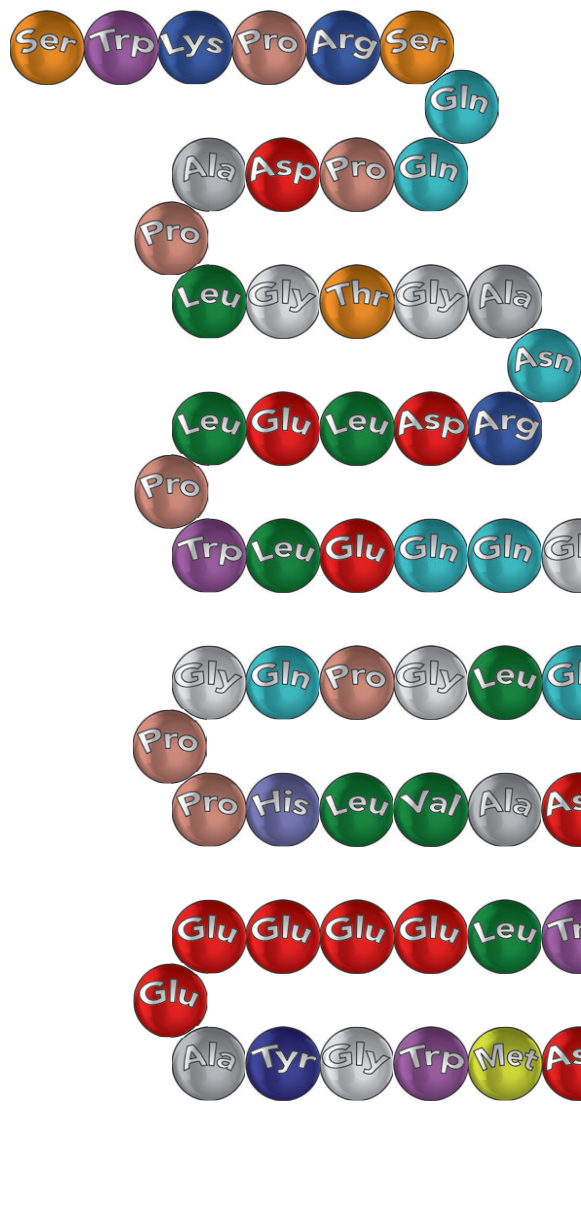




PROGASTRIN
cancer control association

Une revue écrite par
Dominique Joubert,
Docteur en biologie,
et Alexandre Prieur,
Docteur en oncologie

LA PROGASTRINE

ET SON LIEN AVEC LE CANCER :

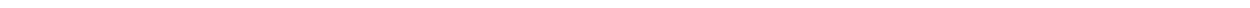
LIVRE
BLANC

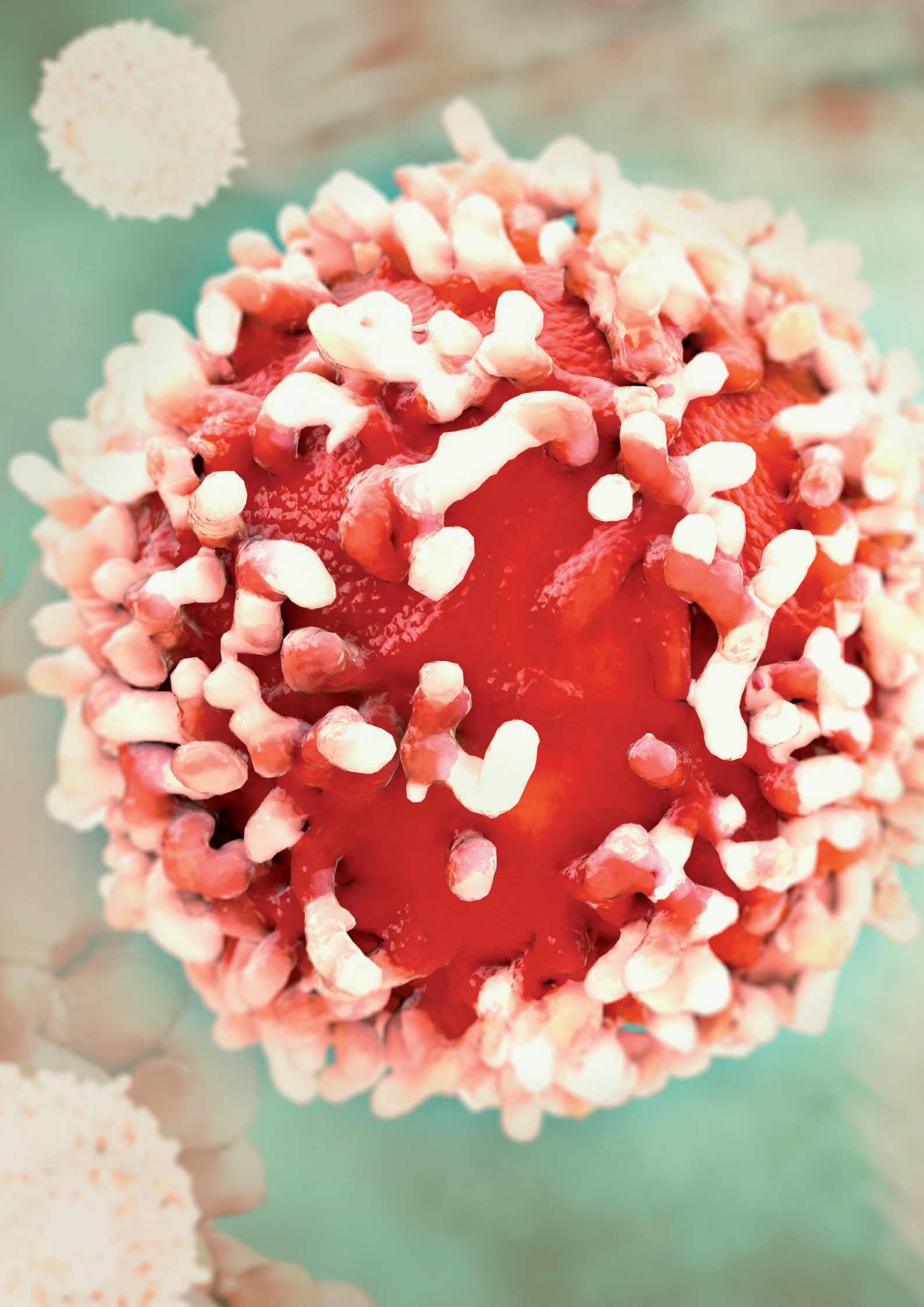
DE LA DÉCOUVERTE DE LA PROGASTRINE
JUSQU'À LA RÉVERSION TUMORALE

OCTOBRE 2018

LA PROGASTRINE ET SON LIEN AVEC LE CANCER :

DE LA DÉCOUVERTE DE LA PROGASTRINE
JUSQU'À LA RÉVERSION TUMORALE





LA PROGASTRINE UNE NOUVELLE CIBLE POUR LA LUTTE CONTRE LE CANCER

Les travaux de nombreux chercheurs dans le monde entier ont démontré les multiples possibilités offertes par la progastrine, seule ou en association avec d'autres moyens thérapeutiques, pour aider à détecter et diagnostiquer le cancer, à assurer le suivi thérapeutique, à surveiller les récurrences ou à traiter le cancer lui-même.

Aujourd'hui, les connaissances scientifiques recueillies sur la progastrine et les mécanismes de son interaction avec le cancer sont suffisamment démontrées et solides pour être mises à la disposition des médecins. Ceci afin qu'ils puissent définir à leur tour les meilleures méthodes cliniques pour utiliser et intégrer ces nouveaux moyens dans leur lutte pour la santé des patients.

Nous avons demandé à Dominique Joubert Floch, docteur en biologie, et à Alexandre Prieur, docteur en oncologie, d'établir un examen scientifique objectif et complet du lien entre la progastrine et le cancer, qui synthétise et met en perspective tout le travail accompli, toutes les découvertes faites et les preuves recueillies par de nombreux laboratoires depuis 1990.

TABLE DES MATIÈRES

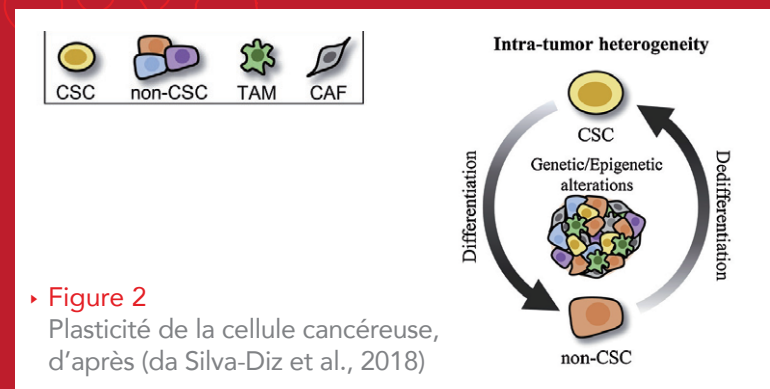
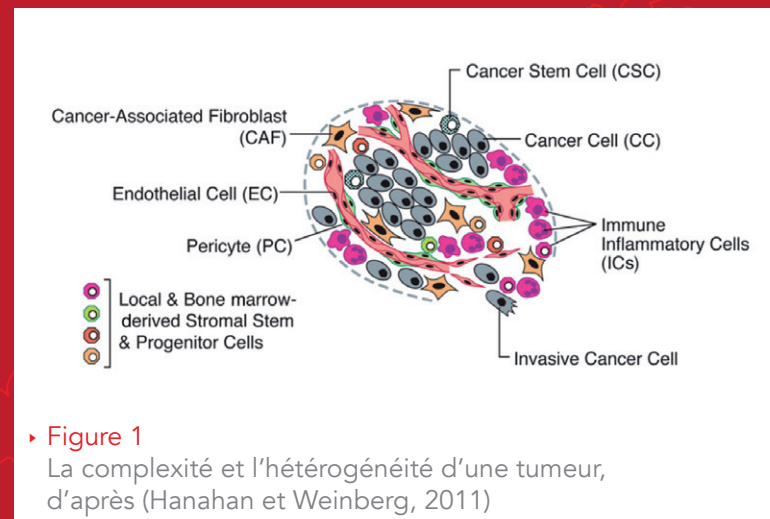


INTRODUCTION . QU'EST-CE QU'UNE TUMEUR ?	P. 6
•	
#01 QU'EST-CE QUE LA PROGASTRINE ?	P. 8
#02 OÙ EST EXPRIMÉE LA PROGASTRINE EN CONDITIONS PHYSIOLOGIQUES ?	P. 9
#03 LE LIEN ENTRE LA PROGASTRINE ET LE CANCER : COMMENT A-T-IL ÉTÉ DÉMONTRÉ ?	P. 10
#04 LA PROGASTRINE EST PRÉSENTE DANS LE PLASMA DE PATIENTS ATTEINTS D'UN CANCER COLORECTAL	P. 12
#05 LA PROGASTRINE ET SES FONCTIONS DANS LES CELLULES CANCÉREUSES	P. 14
. LA PROGASTRINE ET LA PROLIFÉRATION DES CELLULES TUMORALES	
. LA PROGASTRINE EST UN PROMOTEUR DE LA TUMORIGENÈSE INTESTINALE	
. LA PROGASTRINE EST ESSENTIELLE POUR LA SURVIE DES CELLULES SOUCHES CANCÉREUSES	
#06 PAR QUELS MÉCANISMES LA PROGASTRINE CONTRÔLE-T-ELLE LA FORMATION D'UNE TUMEUR ?	P. 20
. LA PROGASTRINE DIMINUE L'APOPTOSE	
. LA PROGASTRINE RÉGULE LES JONCTIONS ADHÉRENTES ET SERRÉES	
. LA PROGASTRINE EST UN FACTEUR PRO-ANGIOGÈNE	
. PROGASTRINE ET HYPOXIE	
#07 QUEL EST LE RÉCEPTEUR DE LA PROGASTRINE ?	P. 22
. CE QUI EST CERTAIN : LE RÉCEPTEUR EXISTE	
#08 LA PROGASTRINE ET LES VOIES DE SIGNALISATION ONCOGENIQUES	P. 23
#09 PROGASTRINE ET VOIE WNT	P. 24
#10 TOUTEFOIS, ET C'EST D'UNE IMPORTANCE CAPITALE : LA DIMINUTION DE LA PRODUCTION DE LA PROGASTRINE ENTRAÎNE L'INACTIVATION DE LA VOIE WNT ET LA RÉVERSION DU PROCESSUS DE LA TUMORIGENÈSE	P. 26
#11 LA PROGASTRINE EN TANT QUE CIBLE POUR COMBATTRE LE CANCER	P. 28
•	
RÉFÉRENCES	P. 30

INTRODUCTION

QU'EST-CE QU'UNE TUMEUR ?

Cette revue porte sur une question importante : le rôle de la progastrine dans le cancer. Toutefois, pour aborder ce sujet avec une compréhension globale, nous fournirons d'abord quelques informations générales, en commençant par cette question : qu'est-ce qu'une tumeur ?



Une tumeur est un ensemble hétérogène de cellules dont 1 à 5% ont un phénotype de cellules souches cancéreuses. Ces cellules assurent la survie de la tumeur et doivent donc faire l'objet de thérapies spécifiques (Kaur et al., 2018). Elles sont capables de migrer et d'envahir les tissus environnants et de former des métastases à distance de l'organe où s'est développé la tumeur primaire. Elles sont responsables de la génération des cellules qui forment la masse de la tumeur : les cellules progénitrices qui elles-mêmes pourront intégrer un cycle de différenciation, lequel sera souvent incomplet (► Figure 1).

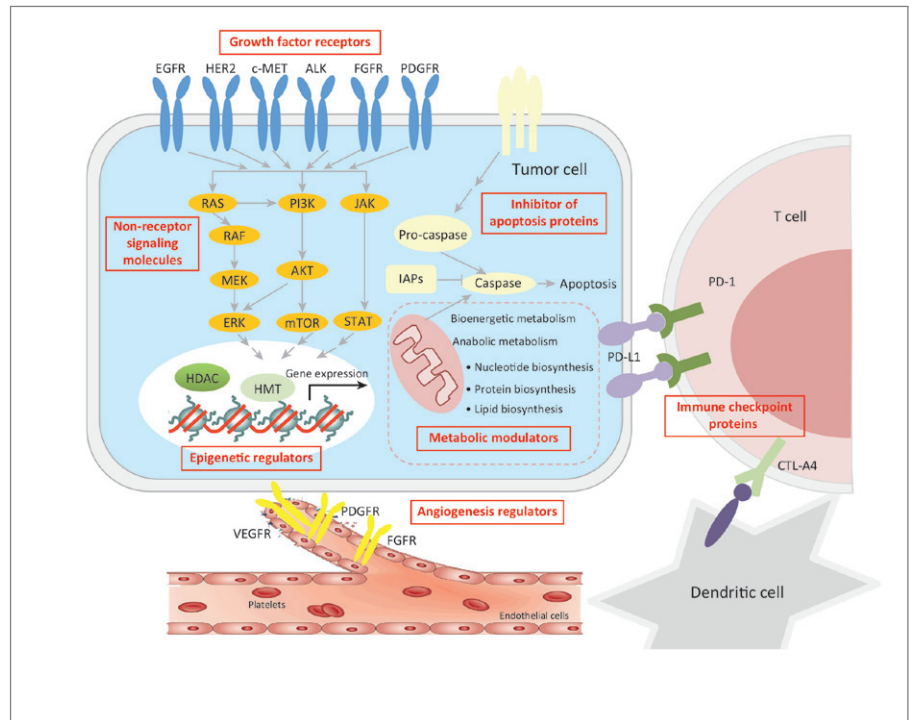
À l'instar des cellules normales, les cellules tumorales n'ont pas de phénotype figé (da Silva-Diz et al., 2018). Cela signifie qu'une cellule progénitrice, par exemple, pourrait redevenir une cellule souche si la tumeur avait un besoin accru de cellules souches (► Figure 2).

Afin d'éradiquer les tumeurs, il est donc crucial de cibler l'ensemble des cellules tumorales. Or, la grande majorité des thérapies actuelles ciblent principalement les cellules en prolifération, c'est-à-dire les cellules progénitrices. C'est le cas de la chimiothérapie ou des thérapies ciblant les mécanismes assurant la prolifération cellulaire (► Figure 3).

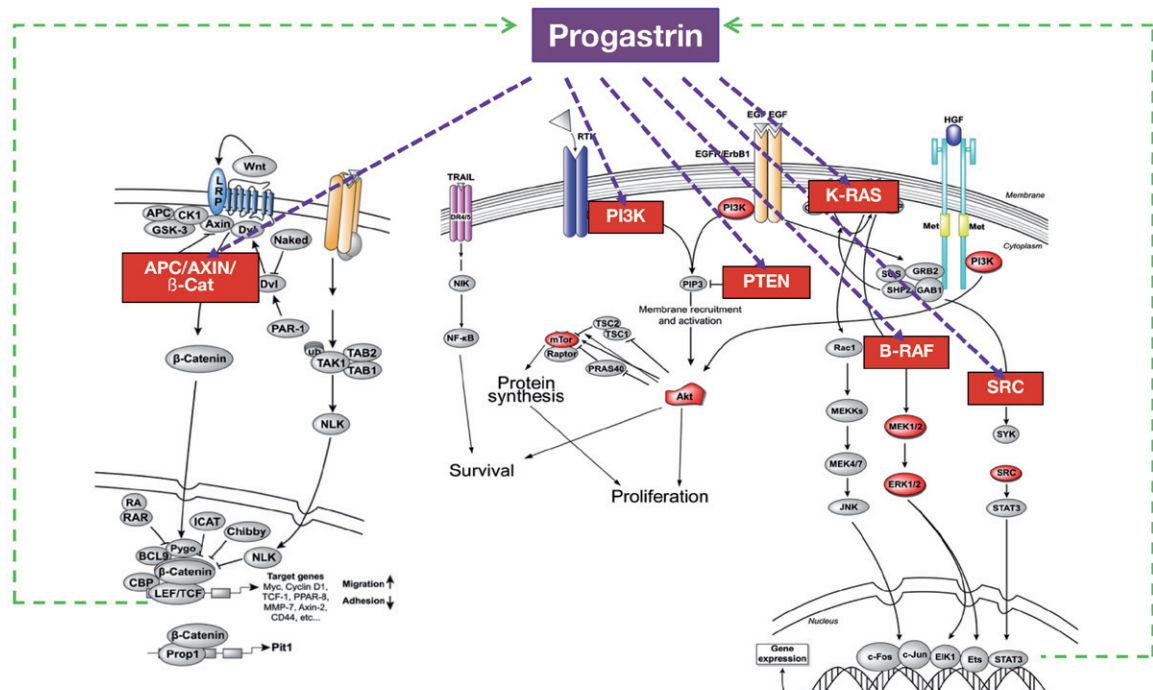
En outre, la croissance d'une tumeur nécessite la formation de nouveaux vaisseaux sanguins (néo-angiogenèse), afin de fournir

Cibles moléculaires
pour des thérapies ciblées,
d'après (Huang et al., 2014)

Le lien entre la progastrine et le cancer est connu depuis plus de 30 ans. La progastrine est impliquée dans la plupart des fonctions biologiques assurant l'existence de la tumeur : prolifération, survie



Ce document est une revue objective et complète du lien établi par de nombreux laboratoires entre la progastrine et le cancer. Nous allons analyser ces liens au fur et à mesure, en commençant par cette question : qu'est-ce que la progastrine ? ♦



► **Figure 4** La progastrine, pierre angulaire des voies oncogéniques, d'après (Hollande et al., 2010)

#01



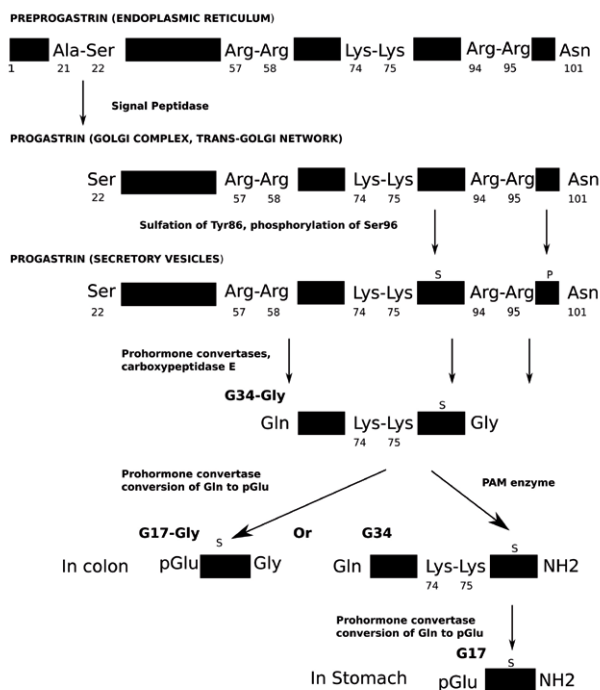
LA

QU'EST-CE QUE PROGASTRINE ?

En 1905, John Sydney Edkins a montré l'existence d'une hormone responsable de la sécrétion d'acide gastrique. Cette hormone fut appelée sécrétine gastrique ou gastrine.

Mais ce n'est qu'en 1979 (séquence partielle d'ARNm : (Noyes et al., 1979)) et plus tard en 1987 et 1988 (précurseur de la gastrine humaine : (Desmond et al., 1987 ; Dockray, 1988)) que la progastrine a été identifiée comme étant le précurseur de la gastrine. Sa séquence a été dévoilée ainsi que la séquence de son ARNm.

La progastrine est un peptide de 80 acides aminés, mûré dans le réticulum endoplasmique, et dont la gastrine est le produit actif final.

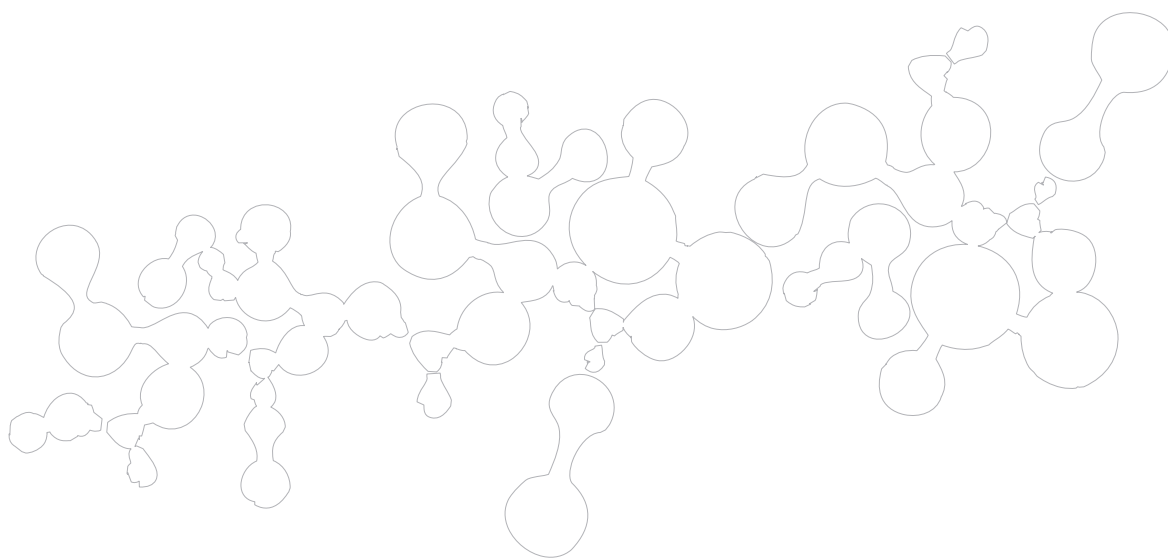


► Figure 5

Maturation de la progastrine humaine, d'après (Copps et al., 2009)

► La Figure 5 montre comment les clivages successifs de la préprogastrine aboutissent au produit final, la gastrine (Copps et al., 2009). La gastrine est synthétisée sous la forme d'un précurseur, la préprogastrine. Celle-ci contient une séquence signal qui est clivée, formant ainsi la progastrine. La sulfatation et la phosphorylation jouent toutes deux un rôle dans le processus de maturation : elles augmentent toutes deux la maturation de la progastrine, tandis que la phosphorylation peut également affecter la conversion de produits intermédiaires possédant une glycine carboxy-terminale (G34-Gly et G17-Gly) en gastrines matures (Bishop et al., 1998). ♦

OÙ LA PROGASTRINE EST-ELLE EXPRIMÉE EN CONDITIONS PHYSIOLOGIQUES ?



La progastrine est principalement exprimée dans l'estomac, où la gastrine est sécrétée par les cellules G de l'antrum. La fonction principale de la gastrine est de réguler la sécrétion acide.

Les autres produits de maturation, en particulier G34-Gly, G17-Gly et CTFP (C-Terminus Flanking Peptide), se sont vus attribuer diverses fonctions. Le CTFP, en particulier, a été décrit comme capable d'induire ou d'inhiber l'apoptose, en fonction du type de tissu ou de cellule concerné (Marshall et al., 2013 ; Patel et al., 2010 ; Smith et al., 2006).

Il a été démontré que la progastrine était également exprimée dans d'autres extraits de tissus sains (cerveau, glande pituitaire, pancréas, testicules), mais dans une bien moindre mesure que dans l'estomac. Cependant, le rôle que la progastrine/gastrine peut avoir dans ces organes n'est pas clairement compris (Bardram, 1990 ; Rehfeld, 1986 ; Rehfeld, 1991 ; Schalling et al., 1990). Dans les testicules, par exemple, c'est la forme carboxyamidée de la gastrine qui est présente dans le sperme. Le pancréas normal exprime également l'ARNm de la progastrine, et l'on suppose que les gastrinomes exprimant la progastrine proviennent des cellules pancréatiques sécrétrices de gastrine. ♦

#03

LE LIEN ENTRE LA PROGASTRINE ET LE CANCER : COMMENT A-T-IL ÉTÉ DÉMONTRÉ ?



Bardram a été le premier à émettre l'hypothèse « que le faible degré de maturation de la progastrine observé dans les stades précoces de la maladie pouvait représenter un « facteur prédictif d'évolution clinique » (Bardram, 1990). Il a tiré cette conclusion après avoir évalué la présence de progastrine et de ses produits de maturation dans le sérum de patients atteints du syndrome de Zollinger-Ellison (trouble endocrinien caractérisé par une hyperproduction de gastrine due à une tumeur (plus souvent malignes que bénignes) ou une hyperplasie endocrinienne, le plus souvent située dans le pancréas). Ces travaux ont montré que la mesure du taux de progastrine reflétait de manière plus fidèle la production tumorale de gastrine que la mesure conventionnelle de la gastrine alpha-amidée.

Après cette observation, de nombreuses publications ont mis en évidence l'expression de la progastrine dans certains cancers. Dans une première étude, des produits de maturation de la progastrine ont été purifiés et caractérisés dans un gastrinome humain (Huebner et al., 1991). Puis, Kochman a montré que dans les

tumeurs colorectales, la progastrine est plus de 700 fois plus abondante que la gastrine amidée. En revanche, dans l'antrum humain, la gastrine amidée est la forme prédominante de gastrine. Ceci a été confirmé par Nemeth et al. en utilisant une approche différente. La séparation sur Sephadex G50 a révélé que la plupart des carcinomes colorectaux contiennent des peptides dérivés de la progastrine qui ne sont pas convertis en produits biologiquement actifs. Une étude par immunohistochimie réalisée dans une série de 23 adénocarcinomes a révélé que plus de 50% des cellules tumorales expriment la progastrine. Ensuite, Singh et al. ont démontré que la progastrine n'était pas complètement maturée dans des lignées cellulaires humaines de cancer du côlon et, plus important encore, qu'elle était sécrétée par ces cellules cultivées *in vitro*, ouvrant la porte à l'analyse d'une fonction autocrine/paracrine de la progastrine dans les cellules tumorales (Singh et al., 1994 ; Van Solinge et al., 1993b) et ▶ **Figure 6**). De manière générale, il a été démontré que la progastrine ne mûrit pas correctement dans les cellules cancéreuses, et tout particulièrement

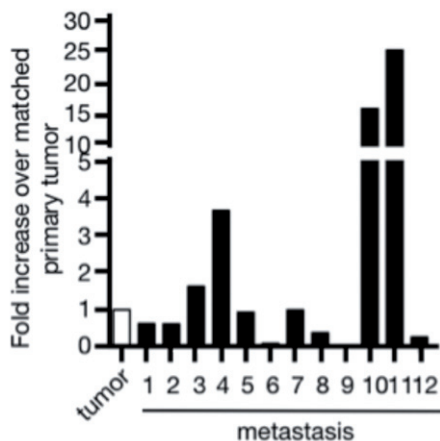
dans le cancer colorectal, car les enzymes de maturation sont soit absentes, soit non fonctionnelles (Ciccotosto, 1995 ; Finley et al., 1993 ; Imdahl et al., 1995 ; Kochman et al., 1992 ; Nemeth et al., 1993 ; Singh, 1994 ; Van Solinge et al., 1993b).

Le cancer colorectal n'est pas le seul type de cancer à exprimer la progastrine. Les cancers ovariens la produisent également mais dans des concentrations beaucoup plus faibles que celles de la gastrine amidée (van Solinge et al., 1993a.). Dans les tumeurs hépatiques des formes précurseurs de la gastrine -dont la progastrine- sont retrouvées, contrairement au tissu sain (Caplin et al., 1999). Enfin, les tumeurs pancréatiques expriment également le produit du gène *GAST* codant pour la gastrine, avec 91% des tumeurs sécrétant le produit progastrine non mûri (Caplin, 2002).

Ainsi, la progastrine est présente dans différents types de tumeurs et sécrétée *in vitro* par certaines cellules cancéreuses.

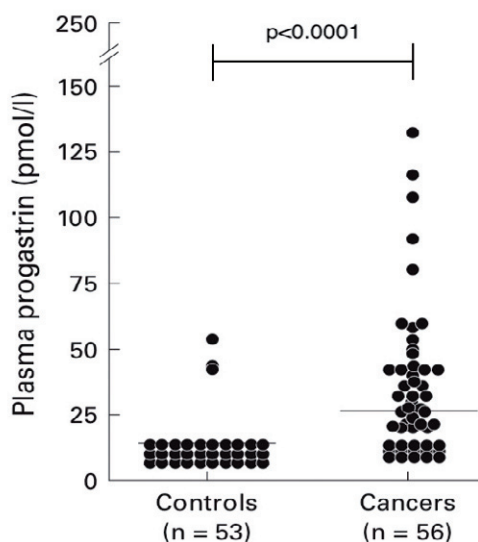
La question suivante est donc : pouvons-nous détecter la progastrine dans le sang des patients atteints d'un cancer ? ♦

Ainsi, la progastrine est présente dans différents types de tumeurs et sécrétée *in vitro* par certaines cellules cancéreuses.



► Figure 6

La progastrine est exprimée dans les cancers colorectaux humains. L'expression de la progastrine a été analysée dans les tumeurs primaires de 12 patients et dans les métastases présentes chez ces mêmes patients. Les résultats représentent le facteur d'induction de l'expression de la progastrine dans les métastases par rapport à la tumeur primaire correspondante.



► Figure 7

La progastrine est présente dans le plasma de patients atteints de cancer colorectal. La progastrine a été mesurée dans le plasma de patients atteints de cancers colorectaux et dans une série de témoins par dosage radio-immunologique. Les patients atteints d'un cancer colorectal présentent une concentration de progastrine significativement plus élevée que les témoins (d'après (Siddheshwar et al., 2000)).

Les preuves montrant que la progastrine pouvait être détectée et quantifiée dans le sang des patients atteints de cancers colorectaux s'accumulent depuis deux décennies ((Siddheshwar et al., 2000) et ► Figure 7).

Siddheshwar et al. ont fourni des données claires sur l'augmentation des taux plasmatiques de progastrine et de gastrine non amidée chez les patients atteints de cancers colorectaux par rapport à une série témoin. De plus, ils ont observé une augmentation de la progastrine chez des patients atteints de polypes adénomateux, même si cette augmentation n'était pas statistiquement significative, contrairement à ce qui a été observé par Prieur et al. en 2017 (Prieur et al., 2017). Dans cette dernière publication, la progastrine a été dosée à l'aide d'un test immunoenzymatique très sensible (ELISA sandwich). Cette approche technique a permis de mesurer une augmentation du taux de progastrine sanguine chez 67% des patients atteints de polypes adénomateux.

De façon intéressante, Siddheshwar et al. ont également montré que les taux plasmatiques de gastrine à jeun étaient augmentés dans le sang des patients atteints de cancers colorectaux quel que soit le statut d'*Helicobacter pylori* (positif ou négatif). Cela était dû aux produits de gastrines non maturées car les taux de gastrine amidés étaient inchangés.

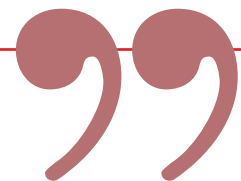
EST PRÉSENTE DANS LE PLASMA DE PATIENTS ATTEINTS DE CANCER COLORECTAL

Ainsi, la progastrine est présente dans la tumeur et dans le sang des patients atteints de cancers colorectaux. Toutefois, la progastrine détectée dans le sang est-elle le reflet de la production tumorale ?

Cela a été démontré par Konturek et al. en 2002 (Konturek et al., 2002). Ces auteurs ont dosé la progastrine dans le plasma de patients atteints de cancers colorectaux avant et après intervention chirurgicale. Comme attendu, les taux de progastrine étaient augmentés chez les patients atteints de cancers colorectaux par rapport aux contrôles avant chirurgie et revenaient à des valeurs normales après chirurgie.

Tous les arguments étaient donc disponibles pour que la communauté scientifique commence à analyser la ou les fonctions de la progastrine dans les cellules tumorales. Comme vous le verrez ci-après, les résultats ont démontré le rôle majeur exercé par la progastrine sur le développement tumoral, fournissant aujourd'hui des bases solides pour son utilisation en tant que nouvelle cible dans la lutte contre le cancer. ♦

Ces auteurs ont fourni des données claires sur
**l'augmentation de la progastrine plasmatique et de
la gastrine non amidée chez les patients atteints de
cancers colorectaux par rapport à une série témoin.**



#05

LA PROGASTRINE ET SES FONCTIONS DANS LES CELLULES CANCÉREUSES



Pour comprendre l'importance du rôle de la progastrine dans la régulation des cellules cancéreuses, il est crucial de comprendre comment une tumeur est initiée et progresse. Pour cela, le cancer colorectal représente un modèle de choix.

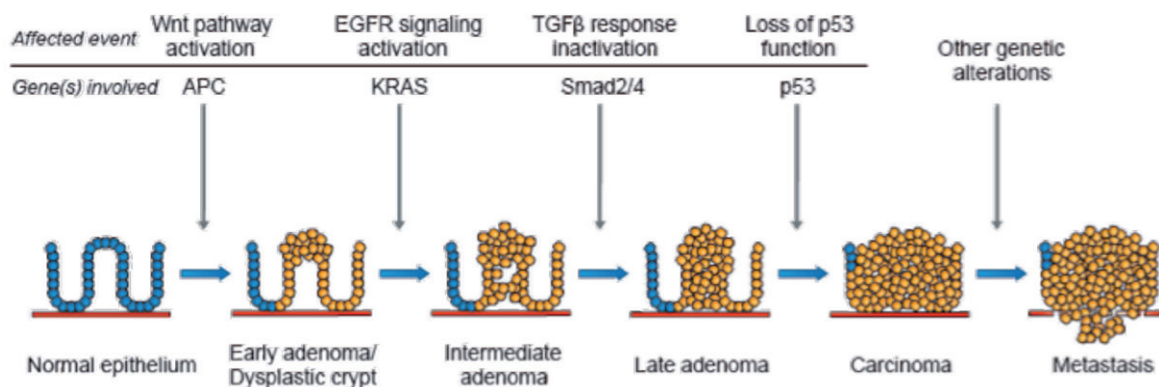
La tumorigenèse du côlon débute environ 30 ans avant que le cancer du côlon ne devienne symptomatique. Le premier événement conduisant au cancer du côlon est l'activation constitutive de la voie oncogénique Wnt/ β -caténine induite par la mutation du gène codant pour APC (Adenomatous polyposis coli), le plus souvent, ou du gène codant pour la β -caténine. Il a été démontré que l'introduction de ces mutations dans des cellules souches normales de l'intestin

est suffisante pour déclencher la tumorigenèse (Huels et Sansom, 2015). Ces mutations induisent la formation d'un adénome aux caractéristiques prénéoplastiques, suivi de l'évolution vers un adénocarcinome. D'autres mutations conduisent à l'activation d'autres voies de signalisation oncogéniques (► **Figure 8**). Pour atteindre ce stade de développement tumoral, les cellules doivent proliférer et devenir indépendantes de leurs cellules voisines (on parle d'inhibition de contact). Ensuite, les cellules tumorales doivent acquérir un phénotype mésenchymateux au cours de la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) pour envahir les tissus normaux adjacents et former finalement des métastases à distance de l'organe d'origine de

la tumeur primaire. En outre, pour que la tumeur grossisse, de nouveaux vaisseaux sanguins doivent être formés (par néo-angiogenèse), et les cellules doivent échapper à la vigilance du système immunitaire, notamment aux lymphocytes T.

Tous ces éléments sont contrôlés par des mécanismes intracellulaires impliquant certaines voies de signalisation d'une importance capitale.

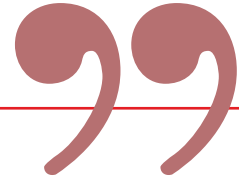
Nous allons maintenant fournir des données issues de la littérature démontrant que la progastrine est impliquée dans la majorité des mécanismes utilisés par les cellules tumorales pour survivre et permettre à la tumeur de progresser.



► **Figure 8**

Représentation schématique de la tumorigenèse intestinale, montrant l'accumulation de mutations et l'activation des voies de signalisation (d'après le projet Syscol).

Dès 1996, il est démontré que l'expression du gène *GAST* est requise pour la tumorigénicité cellulaire du cancer du côlon humain. (Singh et al., 1996)



PROGASTRINE ET PROLIFÉRATION DES CELLULES TUMORALES

Dès 1996, il est démontré que l'expression du gène *GAST* codant la progastrine est requise pour la tumorigénicité cellulaire du cancer du côlon humain (Singh et al., 1996). Singh et al., ont étudié le rôle fonctionnel du gène *GAST* en examinant l'effet de l'expression d'un ARN antisense (AS) résultant en une inhibition de la production de progastrine sur la croissance et la tumorigénicité des cellules cancéreuses du côlon. Les clones AS présentent un potentiel prolifératif et tumorigène significativement diminué en comparaison de celui des clones témoins. Les auteurs concluent que la croissance d'un pourcentage significatif de cancers colorectaux pourrait fortement dépendre de l'expression des produits du gène *GAST*. Parmi les produits de maturation de la progastrine, les précurseurs non amidés de la gastrine possédant une glycine carboxy-terminale (G34-Gly et G17-Gly) peuvent également jouer un rôle trophique dans la tumorigénèse. En effet, Hollande et al. en 1997

(Hollande et al., 1997) ont montré que G17-Gly agit comme un facteur trophique dans des cellules non transformées immortalisées. Plus tard, Stepan et al. en 1999 (Stepan et al., 1999) ont montré que la gastrine possédant une glycine carboxy-terminale stimulait *in vitro* la croissance de cellules HEK et de cellules cancéreuses du côlon humain.

LA PROGASTRINE EST UN PROMOTEUR DE LA TUMORIGÉNÈSE INTESTINALE

Afin de démontrer le rôle joué par la progastrine dans la tumorigénèse intestinale *in vivo*, deux modèles de souris ont été générés : l'un était invalidé pour le gène *GAST* et l'autre le surexprimait.

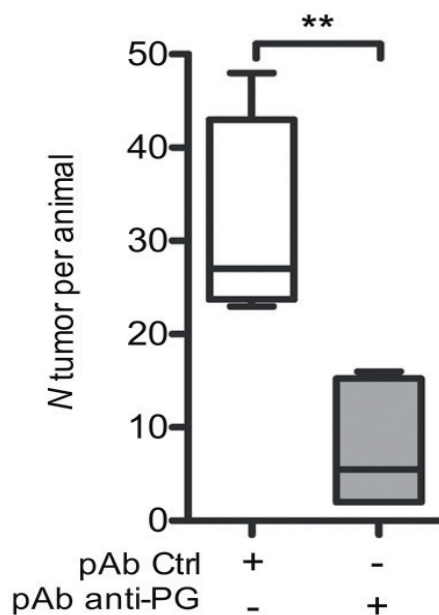
Chez les souris déficientes en gastrine, Koh et al., ont observé que le côlon était histologiquement normal, indiquant que ni la progastrine ni la gastrine ne jouaient un rôle majeur dans la physiologie du colon (Koh et al., 1997).

Le modèle de surexpression murine de *GAST* fut décliné en deux types de souris transgé-

niques : les unes surexprimant le gène *GAST* humain de manière ubiquitaire (hGAS) et les autres le surexprimant sous le contrôle du promoteur de l'insuline (INS-GAS) (Wang et al., 1996). Les îlots pancréatiques de souris INS-GAS ont été en mesure de produire du G-17 carboxyamidé, entraînant une multiplication par deux du taux de gastrine amidée dans le sérum, un épaissement marqué de la muqueuse oxyntique et un indice de prolifération accru du corps gastrique. En revanche, les foies de souris hGAS adultes, exprimaient une quantité abondante d'ARNm de progastrine humaine, mais étaient incapables de transformer le peptide produit par ces transcrits en une forme amidée mature, entraînant ainsi des taux sériques élevés de progastrine. Ces souris présentaient un indice de prolifération accru dans le côlon suggérant que le précurseur de la gastrine incomplètement maturé pouvait contribuer à la prolifération de la muqueuse du côlon *in vivo*. Par ailleurs, une prolifération accrue des cellules du côlon a été également observée chez des souris surexprimant la forme de gastrine pourvue d'une glycine carboxy-terminale (Koh et al., 1999).

Dans ces souris génétiquement modifiées, la prolifération des cellules du côlon a augmenté mais n'a pas entraîné la formation d'une tumeur. De toute évidence, la progastrine n'était pas un initiateur de tumeur. La preuve du rôle de la progastrine en tant que promoteur tumoral a ensuite été obtenue chez des souris prédisposées au développement tumoral. Deux configurations expérimentales ont été utilisées :

1. des souris surexprimant la progastrine ont été traitées avec de l'azoxyméthane (AOM), un carcinogène chimique (Cobb et al., 2004 ; Singh, 2000 ; Singh et al., 2000), entraînant une augmentation significative de la formation tumorale.
2. des souris porteuses d'une mutation dans le gène APC ($APC^{min/+}$) ont été croisées avec des souris déficientes pour le gène GAST (Koh et al., 2000). Dans les souris $APC^{min/+}$, un allèle du gène APC est muté conduisant à son inactivation. Ainsi, chaque fois qu'une cellule perd le deuxième allèle du gène APC, la voie Wnt/ β -caténine est activée de façon constitutive, entraînant une tumorigenèse intestinale aboutissant à la formation d'adénocarcinomes. Chez les souris $APC^{min/+}$ déficientes pour le gène GAST, le nombre de polypes et leur croissance sont diminués de façon significative.



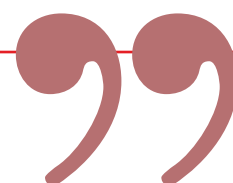
► Figure 9

Nombre de tumeurs dans le tractus intestinal de souris $APC^{\Delta14/+}$ traitées avec un anticorps contrôle ou anti-progastrine (d'après (Prieur et al., 2017))

Deux études (Pannequin et al. en 2007 ; Prieur et al., 2017) ont utilisé un autre modèle de souris portant une mutation différente dans le gène APC appelé modèle de souris $APC^{\Delta14/+}$. Ces souris, comme les souris $APC^{min/+}$, développent spontanément des adénomes et des adénocarcinomes, mais avec un plus grand nombre de ces tumeurs dans le côlon. Dans ces deux études scientifiques, la progastrine a été altérée en traitant la souris soit avec un siRNA ciblant le gène GAST (Pannequin et al., 2007) soit avec un anticorps anti-progastrine (Prieur et al., 2017). Il est intéressant de noter que, comme pour les souris $APC^{min/+}$, dans tous les cas, l'inhibition ou la neutralisation de la progastrine entraîne une diminution du nombre de tumeurs (► Figure 9).

Ces résultats mettent en évidence le rôle de la progastrine en tant que promoteur tumoral. Comme c'est essentiellement la progastrine qui est sécrétée par les cellules tumorales et non pas

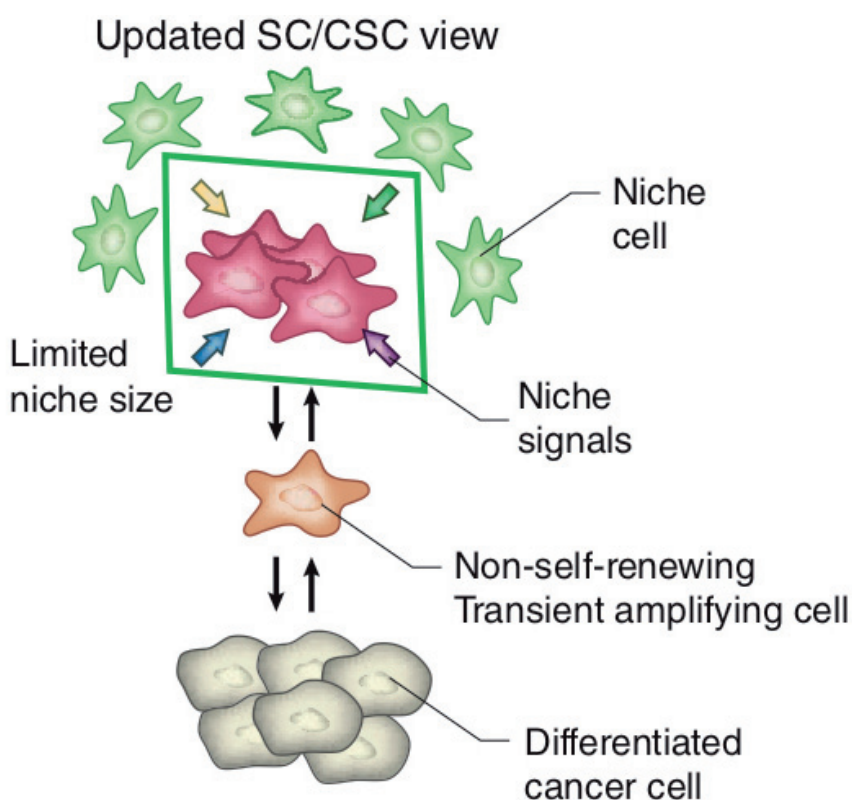
Comme c'est essentiellement la progastrine qui est sécrétée par les cellules tumorales et non pas les produits maturés, la **progastrine peut donc représenter un événement précoce de la tumorigenèse colorectale et peut contribuer de manière significative à la progression tumorale.**



les produits maturés, la progastrine peut donc représenter un événement précoce de la tumorigenèse colorectale et peut contribuer de manière significative à la progression tumorale.

**LA PROGASTRINE
EST ESSENTIELLE À LA
SURVIE DES CELLULES
SOUCHES CANCÉREUSES**

Les cellules souches cancéreuses représentent une faible proportion, comprise en général entre 1 et 5%, de la tumeur. Mais elles sont essentielles à la survie de la tumeur car elles jouent le rôle de « réacteur ». Sans elles, la tumeur ne survit pas. Elles ont la capacité de s'auto-renouveler et de générer tous les autres types de cellules présentes dans la tumeur par division asymétrique, à commencer par les progéniteurs qui ont une forte propension à proliférer (► Figure 10).



► Figure 10
Caractéristiques des cellules souches cancéreuses
(en rouge sur le schéma) d'après (Batlle et Clevers, 2017).

Les cellules souches cancéreuses prolifèrent peu et échappent donc aux traitements visant les cellules proliférantes, comme la chimiothérapie. Elles peuvent migrer et envahir les tissus environnants et sont donc à l'origine de métastases (Batlle et Clevers, 2017).

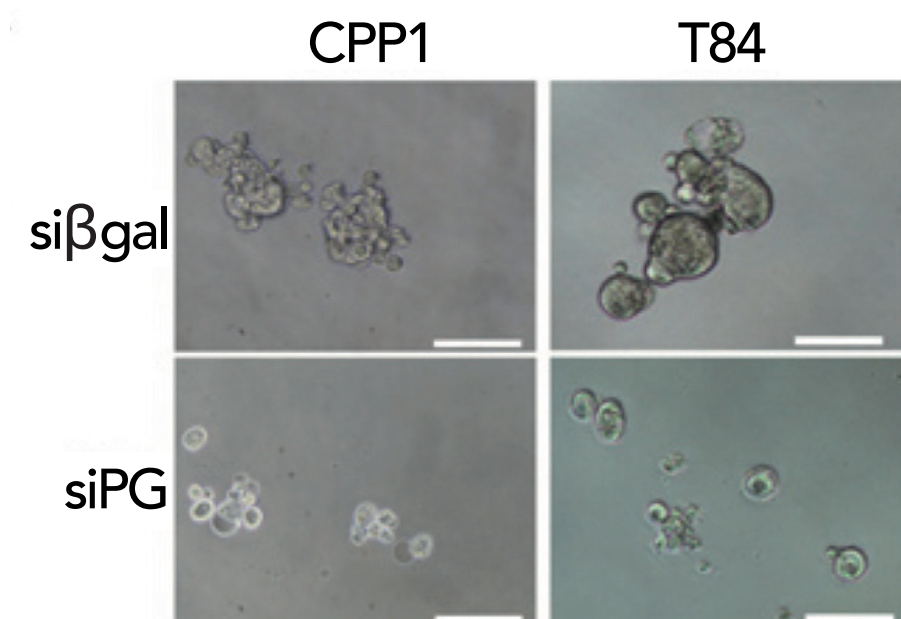
S'il est crucial de cibler les cellules souches cancéreuses, cela ne peut se faire sans cibler également les autres cellules. En effet, les phénotypes sont «plastiques» et un progéniteur peut réacquérir un phénotype de cellules souches cancéreuses s'il existe un besoin accru de ces cellules (► Figure 2).

Il est donc important de comprendre si l'effet *in vivo* de la progastrine dans la tumorigenèse intestinale implique la régulation des cellules souches cancéreuses. Un tel rôle a été suggéré

après observation de l'expression de la progastrine dans les cellules cancéreuses colorectales CD133-positives, qui expriment certaines des caractéristiques phénotypiques des cellules souches cancéreuses (Ferrand et al., 2009).

C'est cependant Giraud et al., qui ont réellement démontré le rôle majeur joué par la progastrine dans les cellules souches cancéreuses (Giraud et al., 2016). Ces auteurs ont tout d'abord montré que l'expression de la progastrine, tant au niveau de l'ARNm que de la protéine, était fortement accrue dans les cellules cancéreuses colorectales cultivées dans des conditions où les cellules souches cancéreuses sont enrichies (culture de cellules dans des conditions non adhérentes et sous forme de sphères). Ces auteurs ont ensuite montré que la progastrine était

nécessaire pour la formation de sphères tumorales, dont la «nucléation» nécessite une cellule souche cancéreuse. Ces données indiquent que la progastrine pouvait réguler la fréquence des cellules souches cancéreuses, ce qui a ensuite été démontrée *in vitro* et *in vivo* (► Figure 11).



► Figure 11

La déplétion de progastrine altère la survie et l'auto-renouvellement des cellules souches cancéreuses *in vitro*, d'après (Giraud et al., 2016)

Ces deux articles scientifiques montrent clairement que la progastrine est un **facteur de survie des cellules souches cancéreuses colorectales.**

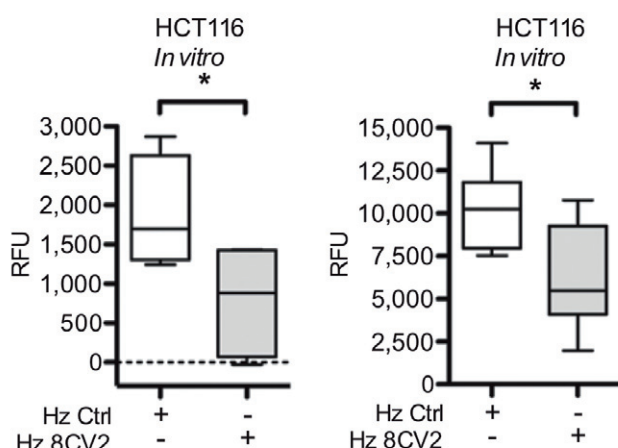
Par la suite, il a également été démontré par Prieur et al. que la migration et l'invasion, deux caractéristiques des cellules souches cancéreuses, sont fortement affectées *in vitro* et *in vivo* (► Figure 12).

En outre, la progastrine sécrétée joue le rôle de facteur de survie pour les cellules souches cancé-

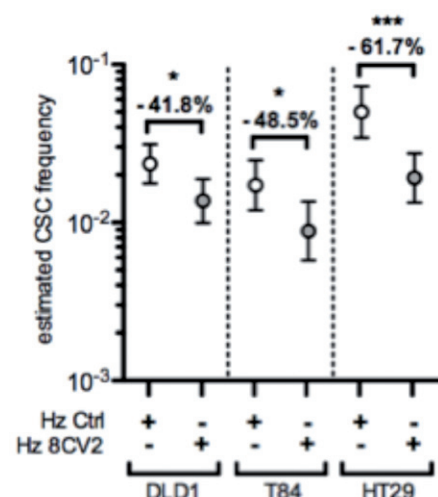
reuses. En effet, lorsqu'un anticorps neutralisant est ajouté à la culture cellulaire ou lorsque des souris greffées avec des cellules cancéreuses colorectales humaines sont traitées *in vivo* avec un tel anticorps, la fréquence des cellules souches cancéreuses est diminuée dans les mêmes proportions ((Prieur et al., 2017) et ► Figure 13).

Ces deux articles scientifiques montrent clairement que la progastrine est un facteur de survie pour les cellules souches cancéreuses colorectales.

Ainsi, la progastrine pourrait permettre de cibler le cœur de la tumeur et, par conséquent, la tumeur elle-même. ♦



► Figure 12
L'anticorps anti-progastrine (Hz 8CV2) inhibe la migration (A) et l'invasion (B) des cellules colorectales cancéreuses (HCT116), d'après (Prieur et al., 2017)



► Figure 13
L'anticorps anti-progastrine (Hz 8CV2) diminue la fréquence de cellules souches cancéreuses dans les cellules colorectales cancéreuses (DLD1, T84, HT29), d'après (Prieur et al., 2017)



PAR QUELS MÉCANISMES LA PROGASTRINE CONTRÔLE-T-ELLE LA FORMATION D'UNE TUMEUR ?

LA PROGASTRINE DIMINUE L'APOPTOSE

Comme nous l'avons mentionné précédemment, la progastrine peut stimuler la prolifération des cellules tumorales. Wu et al. ont montré qu'elle est également capable de réduire l'apoptose (Wu et al., 2003). En effet, le traitement de cellules épithéliales intestinales par de la progastrine entraîne une perte significative de l'activation des caspases 9 et 3, ainsi qu'une diminution de la fragmentation de l'ADN.

Par conséquent, l'effet de la progastrine sur la survie cellulaire résulte à la fois d'une augmentation de la prolifération et d'une diminution de l'apoptose.

•

LA PROGASTRINE RÉGULE LES JONCTIONS ADHÉRENTES ET SERRÉES

Pour qu'une cellule puisse proliférer et migrer, elle doit devenir indépendante des cellules adjacentes. L'intégrité des contacts cellulaires est essentielle pour la prévention de la formation de métastases, qui nécessite d'abord une migration cellulaire. En 2003, Hollande et al. ont démontré le rôle majeur que joue la progastrine à la fois sur les jonctions adhérentes et les jonctions serrées entre cellules voisines (Hollande et al., 2003). Dans la lignée cellulaire de carcinome colorectal humain DLD-1, sécrétant de la progastrine, l'expression d'une construction antisens ciblant l'ARNm de la progastrine rétablit la localisation membranaire des protéines constitutives de ces jonctions (zonula occludens-1 (ZO-1), occludine, β -caténine et E-cadhérine). Cet effet impliquait à la fois une régulation de l'activité de la tyrosine kinase Src et un changement de la localisation de la protéine kinase Ca (Hollande et al., 2003). •

LA PROGASTRINE EST UN FACTEUR PRO-ANGIOGÈNE

Lorsqu'une tumeur se développe, elle a besoin d'oxygène et de nutriments supplémentaires fournis par de nouveaux vaisseaux sanguins. La génération de nouveaux vaisseaux sanguins est appelée néo-angiogenèse. Récemment, en 2015, la progastrine s'est avérée être un facteur pro-angiogénique, ce qui signifie qu'elle induit la formation de vaisseaux sanguins (Najib et al., 2014). La progastrine a stimulé la prolifération et la migration des cellules endothéliales et accru leur capacité à former *in vitro* des structures similaires à des capillaires. Le blocage de la production de progastrine (par shRNA) dans des cellules xénogreffées chez des souris nude, réduit la néovascularisation tumorale. Ces observations, associées à une compréhension mécanistique au niveau de la cadhérine vasculaire endothéliale, de la p125-FAK et de la paxilline, ont fourni les preuves nécessaires à la démonstration du rôle de la progastrine en tant que facteur pro-angiogénique.

PROGASTRINE ET HYPOXIE

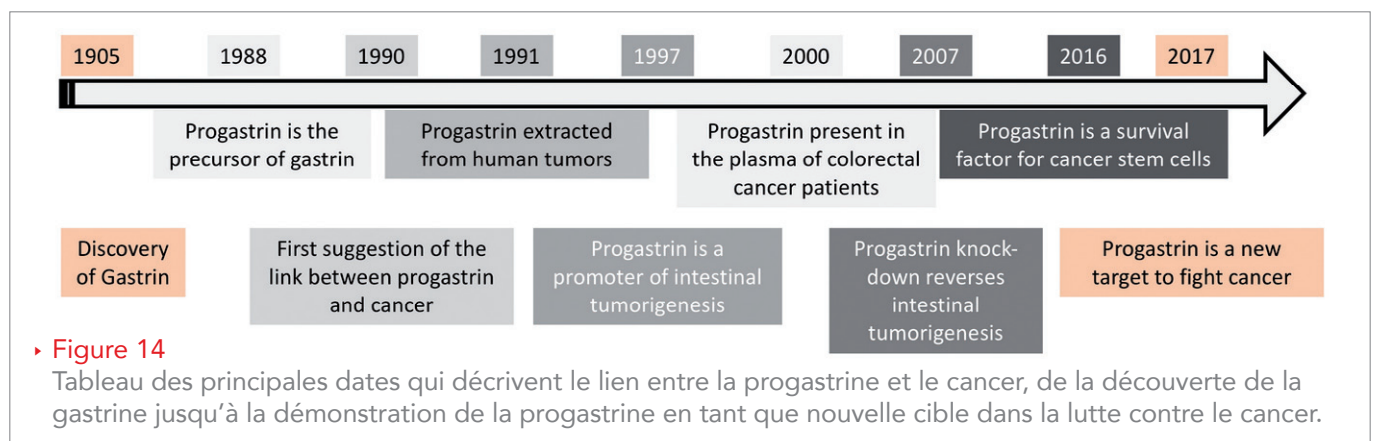
Une tumeur n'est pas constituée par un ensemble homogène de cellules. Certaines zones, principalement en son centre, sont moins vascularisées. Ces zones hypoxiques constituent une contrainte pour les cellules. Les cellules souches cancéreuses se sont adaptées pour résister aux conditions hypoxiques. Elles peuvent survivre dans cet environnement inhospitalier qui serait fatal à d'autres types cellulaires. La première preuve d'un lien entre la progastrine et l'hypoxie a été fournie par les travaux de Najib et al. qui ont montré que, *in vivo*, la surexpression de la progastrine procure un avantage physiologique aux souris dans des conditions hypoxiques (Najib et al., 2014). Plus tard, en 2017, Prieur et al. ont montré qu'*in vitro*, l'expression de la progastrine est stimulée dans des conditions hypoxiques, ce qui est conforme au fait que les cellules souches cancéreuses expriment des niveaux de progastrine plus élevés que les autres cellules tumorales (Prieur et al., 2017). La progastrine pourrait ainsi aider

les cellules souches cancéreuses à survivre dans des conditions hypoxiques.

Par conséquent, la progastrine, par le biais de divers mécanismes qui sont tous cruciaux pour la croissance et la survie des tumeurs, peut être considérée comme un promoteur majeur du développement tumoral. Sa principale fonction est d'aider les cellules souches cancéreuses à survivre et à se propager pour former des métastases, ce qui explique probablement pourquoi la progastrine peut également être considérée comme un marqueur prédictif potentiel de la présence de métastase hépatique dans le cancer colorectal (Westwood et al., 2017).

Les questions sont maintenant les suivantes:

- **Comment la progastrine peut-elle exercer ses fonctions ?**
- **Quel est le récepteur de la progastrine permettant la transmission de son signal ?**
- **Quels sont les mécanismes intracellulaires concernés ?**
- **La progastrine a-t-elle un lien direct avec les oncogènes ? ♦**





En dépit des efforts continus déployés par la communauté scientifique pour identifier et caractériser le récepteur de la progastrine, celui-ci n'a pas encore été clairement identifié. Nous allons maintenant passer en revue tous les candidats et essayer de comprendre pourquoi ils sont peu susceptibles d'être les véritables récepteurs de la progastrine.

**CE QUI EST CERTAIN :
LE RÉCEPTEUR EXISTE**

Des sites de liaison à haute affinité ont été décrits pour la première fois dans des cellules épithéliales intestinales en utilisant de la progastrine humaine recombinante iodée (Singh et al., 2003). L'affinité était de l'ordre de 0,5-1 nM, ce qui est compatible avec un récepteur. Lorsque la liaison de progastrine biotinylée a été évaluée par cytométrie de flux, une liaison forte et spécifique de la progastrine à certaines lignées cellulaires (IEC-6, IEC-18, HT-29, COLO320) a également été détectée (Dubeykovskiy et al., 2008). La spécificité de la liaison a été confirmée par compétition avec de la progastrine froide, non marquée, mais pas avec la gastrine possédant une glycine carboxy-terminale ou avec de la gastrine-17 amidée. La liaison n'a pas été influencée par la présence du récepteur CCK-2 classique.

Il ressort clairement de ces deux études qu'il existe un site/récepteur de liaison de la progastrine, distinct de la liaison à la gastrine-17 amidée et à la gastrine 17 possédant une glycine carboxy-terminale (G17-Gly). La séquence de progastrine interagissant avec ce récepteur est probablement située dans les 26 derniers résidus acides aminés de l'extrémité carboxy-terminale de la progastrine, qui se sont révélés suffisants pour sa fonction (Ottewell et al., 2005). Toutefois, l'identité de ce récepteur putatif reste une question ouverte.

Un candidat est l'Annexine A2, identifiée en 2006 par Singh et al., comme étant capable de lier la progastrine et les peptides dérivés (Singh et al., 2006). L'annexine A2 est un médiateur partiel de l'effet de la progastrine/gastrines. En particulier, l'Annexine A2 sert de médiateur dans la régulation à la hausse de NF-kappaB et de β -caténine en réponse à la progastrine chez la souris et les cellules HEK-293 (Sarkar et al., 2011). En outre, l'annexine A2 pourrait être impliquée dans l'endocytose clathrine dépendante de la progastrine (Sarkar et al., 2011). Cependant, l'affinité de la progastrine pour l'Annexine A2 n'est pas celle qui serait attendue pour un récepteur spécifique. Et, bien que l'Annexine A2 joue un rôle dans les fonctions de la progastrine, ce

ne sont pas celles d'un récepteur.

Un autre candidat récemment proposé est le récepteur 56 couplé aux protéines G (GPCR56), exprimé à la fois sur les cellules souches du côlon et les cellules cancéreuses (Jin et al., 2017). En effet, alors que la progastrine humaine recombinante favorise la croissance et la survie *in vitro* des organoïdes de colon issus de souris sauvages, ceux issus de souris déficientes pour le GPCR56 (GPCR56^{-/-}) sont résistants à la progastrine. Toutefois, bien qu'il ait été démontré que la progastrine se lie aux cellules exprimant le GPCR56, les auteurs n'ont pas fourni la preuve directe d'une liaison de la progastrine avec le GPCR56 lui-même. Le GPCR56 est un bon candidat, mais la preuve que ce soit LE récepteur de la progastrine fait encore défaut.

Le récepteur de la progastrine peut activer un certain nombre de voies de signalisation, directement ou indirectement, ce qui est plutôt inhabituel pour un récepteur. Cela pourrait indiquer une particularité de ce récepteur et la raison pour laquelle il est difficile de l'identifier.

Le récepteur non identifié de la progastrine transduit un signal de la progastrine via divers intermédiaires intracellulaires connus pour leur implication dans la tumorigénèse. ♦

LA PROGASTRINE ET LES VOIES DE SIGNALISATION ONCOGÉNIQUES



La première démonstration du lien entre la progastrine et une voie oncogénique a été décrite pour K-Ras. En effet, les lignées cellulaires et les tissus cancéreux du côlon présentant des mutations K-Ras avaient tous des taux d'ARNm du gène *GAST* significativement plus élevés que ceux de type K-Ras sauvage (Nakata et al., 1998). Les effets de K-Ras sur l'expression du gène *GAST* sont produits par l'activation de la voie de transduction du signal Raf-MEK-ERK, la dernière étape étant une activation au niveau du promoteur du gène *GAST*.

L'oncogène pp60 (c-Src) est activé dans les cellules cancéreuses du côlon et entraîne une augmentation des quantités de progastrine (Brown, 2003). Ceci signifie que la production de progastrine, qui intervient lors de la tumorigénèse précoce (Pannequin et al., 2007), pourrait jouer un rôle dans cette activation, qui est connue comme un événement précoce de tumorigénèse du côlon (Cartwright et al., 1990 ; Iravani et al., 1998). La voie PI3K/Akt, particulièrement impliquée dans la prolifération, est également activée par la progastrine (Ferrand et al., 2005 ; Pannequin et al., 2007). Le NF-kappaB est un autre messager de signalisation important régulé par la progastrine. Son implication dans les mécanismes responsables de l'effet anti-apoptotique de la progastrine a été démontrée dans les cellules cancéreuses pancréatiques *in vitro* (Rengifo-Cam et al., 2007) et *in vivo* chez les souris surexprimant le gène *GAST* (Umar et al., 2008). L'augmentation de JAK2 (Janus-activated kinase 2), STAT3 et de kinases régulées par des signaux extracellulaires a également été observée dans la muqueuse du côlon de souris hGAS (Ferrand et al., 2005).

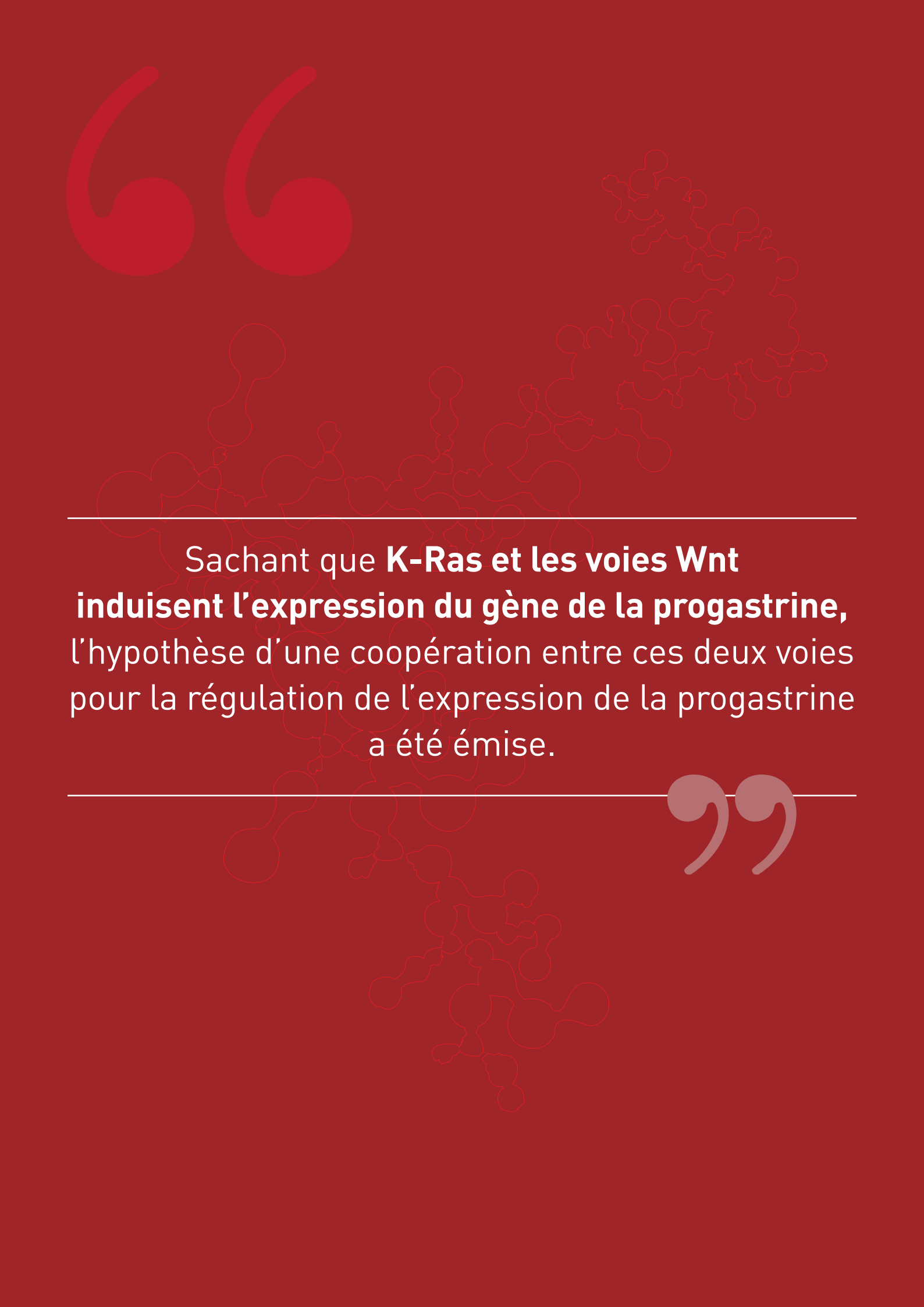
Cependant, parmi toutes ces régulations, la plus importante est le lien entre la progastrine et la voie Wnt, dont l'existence même justifie que la progastrine soit considérée aujourd'hui comme une cible dans la lutte contre le cancer. ♦

LA PROGASTRINE ET LA VOIE WNT



La voie Wnt est connue depuis de nombreuses années pour son implication dans la tumorigenèse, en particulier pour la survie des cellules souches cancéreuses (Bhavanasi et Klein, 2016 ; Nusse et Clevers, 2017). Dans le cancer colorectal, la voie Wnt est activée de manière constitutive dans 80 à 90% des tumeurs, avec une mutation somatique dans le gène *APC* dans la majorité des cas. Il existe de nombreux gènes dont l'expression est activée par la voie oncogénique Wnt. Le gène *GAST* codant la progastrine est l'un d'eux. En effet, Koh et al., ont montré que le gène *GAST* est une cible en aval de la voie de signalisation β -caténine/TCF-4 et, la transfection d'une construction exprimant une forme constitutivement active de la β -caténine triple l'activité du promoteur du gène *GAST* (Koh et al., 2000). Cette étude permet d'établir un lien entre la progastrine et le cancer à travers de nombreuses fonctions cellulaires impliquant la voie Wnt dans une cellule cancéreuse, en commençant par son importance pour la survie des cellules souches cancéreuses.

Sachant que K-Ras et la voie Wnt induisent tous deux l'expression du gène *GAST* codant la progastrine, l'hypothèse d'une coopération entre ces deux voies pour la régulation de l'expression de la progastrine a été émise. C'est en effet ce que Chakladar et al., ont observé (Chakladar et al., 2005). Ils ont trouvé une importante stimulation synergique du promoteur du gène *GAST* (par un facteur 25 à 40) par la combinaison de β -caténine oncogénique et la surexpression de K-Ras. L'activation du promoteur du gène *GAST* a également été démontrée être dépendante d'autres signaux de signalisation : renforcée ou supprimée par la co-expression de SMAD4 sauvage ou par un mutant dominant négatif de SMAD4, respectivement, et abrogée par l'inhibition de la PI3K. Ainsi, l'activation constitutive de la voie Wnt, considérée comme étant au début de la tumorigenèse du côlon, et l'oncogène K-Ras, présents dans 50 % des tumeurs colorectales humaines, stimulent de manière synergique la production de la progastrine, un promoteur de la tumorigenèse. ♦



Sachant que **K-Ras et les voies Wnt induisent l'expression du gène de la progastrine**, l'hypothèse d'une coopération entre ces deux voies pour la régulation de l'expression de la progastrine a été émise.



TOUTEFOIS, ET C'EST D'UNE IMPORTANCE CAPITALE : LA DIMINUTION DE LA PRODUCTION DE LA PROGASTRINE ENTRAÎNE L'INACTIVATION DE LA VOIE WNT ET LA RÉVERSION DU PROCESSUS DE TUMORIGENÈSE



COMMENT EST-ON ARRIVÉ À CES CONCLUSIONS ?

Comme indiqué précédemment, le gène *GAST* codant la progastrine est un gène cible des facteurs de transcription β -caténine/Tcf4. Mais la progastrine exerce-t-elle un mécanisme de rétro-contrôle sur cette voie et, si oui, est-ce une boucle de rétro-contrôle positive ou négative ?

La stratégie à suivre pour répondre à cette question était simple : diminuer la production de progastrine via l'utilisation d'un siRNA puis mesurer l'activité transcriptionnelle β -caténine/Tcf4 à l'aide d'un test luciférase. Les cellules colorectales DLD-1 ont été transfectées et le résultat a montré que, lorsque la production de progastrine est altérée,

l'activité transcriptionnelle de β -caténine/Tcf4 est profondément inhibée (Pannequin et al., 2007).

Ainsi, la progastrine exerce un rétro-contrôle positif sur l'activité β -caténine/Tcf4. Le mécanisme de ce rétro-contrôle a été découvert. Il concerne PI3K, ILK et ICAT. ICAT est un inhibiteur endogène de l'interaction β -caténine/Tcf4. Lorsqu'il est exprimé, ICAT lie la β -caténine, empêchant son association avec Tcf4. Les deux facteurs de transcription se relocalisent vers le cytoplasme, entraînant une inactivation *de facto* de la voie Wnt (Pannequin et al., 2007).

La voie Wnt, qui est activée de façon constitutive dans les cellules cancéreuses colorectales en raison d'une mutation somatique, peut être inactivée, ce qui n'avait pas été jugé possible au moment où

ce travail a été effectué. La conséquence de cette inactivation a été analysée à différents niveaux, y compris au niveau de la différenciation cellulaire. Pannequin et al. ont démontré que les cellules tumorales qui n'expriment pas de progastrine retournent à un état « normal ». Cela est dû au fait que lorsque la voie Wnt est inactivée, le gène *JAG1* est réprimé, induisant l'inactivation de la voie Notch qui joue un rôle majeur dans l'acquisition d'un phénotype de cellule différencié (Pannequin et al., 2009). Les cellules cancéreuses qui n'expriment plus le gène *GAST* commencent à ré-exprimer le gène *MUC2*, preuve de ré-acquisition de leur différenciation fonctionnelle.

La conséquence de l'inactivation des voies Wnt et Notch par inhibition de la production de progas-

trine a également été observée dans un modèle de souris qui récapitule la tumorigenèse intestinale, le modèle de souris APC^{Δ14/+}. Ces souris ont été traitées par un siRNA (Pannequin et al., 2007) ou par un anticorps anti-progastrine (Prieur et al., 2017).

Dans les deux cas, le nombre de tumeurs qui se développent spontanément dans l'intestin a diminué, ce qui indique que la tumorigenèse induite par l'activation de la voie Wnt dépend bien de la progastrine.

Le fait que l'inhibition de la voie Wnt induise une «réversion» de

la tumorigenèse a été démontré par Dow et al. en 2015 (Dow et al., 2015). Les auteurs de ce travail ont croisé des souris présentant le gène *KRAS* muté (*KRAS*^{G12D}) et le *P53* fl/fl avec des souris présentant un shRNA inductible dirigé contre APC. Lorsque APC n'était pas exprimé, l'activité Wnt était élevée et les tumeurs se développaient. Lorsque APC était exprimé, l'activité Wnt était faible et les tumeurs disparaissaient en dépit de la présence de *KRAS*^{G12D} et de *P53* fl/fl. Il s'agissait là d'une démonstration claire du fait que le ciblage de la voie Wnt suffisait à réverser la tumorigenèse.

P53 est un gène de suppression tumorale dont l'inactivation est considérée comme essentielle pour la progression tumorale. En 2012, il a été démontré que la mutation génique *P53* augmentait la prolifération des cellules du côlon dépendante de la progastrine et la formation du cancer du côlon chez la souris (Ramanathan et al., 2012). La progastrine est donc un facteur utilisé par la cellule cancéreuse pour survivre et évoluer avec le temps. Plus la tumeur progresse, plus elle devient dépendante de la progastrine. Cibler la progastrine pourrait donc constituer un outil efficace de lutte contre le cancer. ♦

Dans les deux cas, le nombre de tumeurs qui se développent spontanément dans l'intestin a diminué, ce qui indique que la **tumorigenèse induite par l'activation de la voie Wnt dépend bien de la progastrine.**

”

#11

LA PROGASTRINE EN TANT QUE CIBLE POUR COMBATTRE LE CANCER



Jusqu'à présent, la progastrine n'était pas considérée comme une cible de lutte contre le cancer. Les données précédentes constituent une base solide pour modifier cette perception : la progastrine se trouve dans le plasma de patients cancéreux et la neutralisation de la progastrine induit une réversion tumorale.

La progastrine se retrouve effectivement dans le plasma de patients atteints d'un cancer. La progastrine est détectée à partir des étapes pré-néoplasiques, tels que les polypes adénomateux. Toutefois, comme la progastrine est produite par les cellules tumorales dans la tumeur primaire et dans les métastases, il est raisonnable de proposer que la progastrine puisse être utilisée pour assurer le suivi des patients. En effet, il a été observé que les concentrations de progastrine circulantes sont augmentées chez les patients susceptibles de développer un carcinome colorectal (Paterson et al., 2014). De plus, dans les polypes

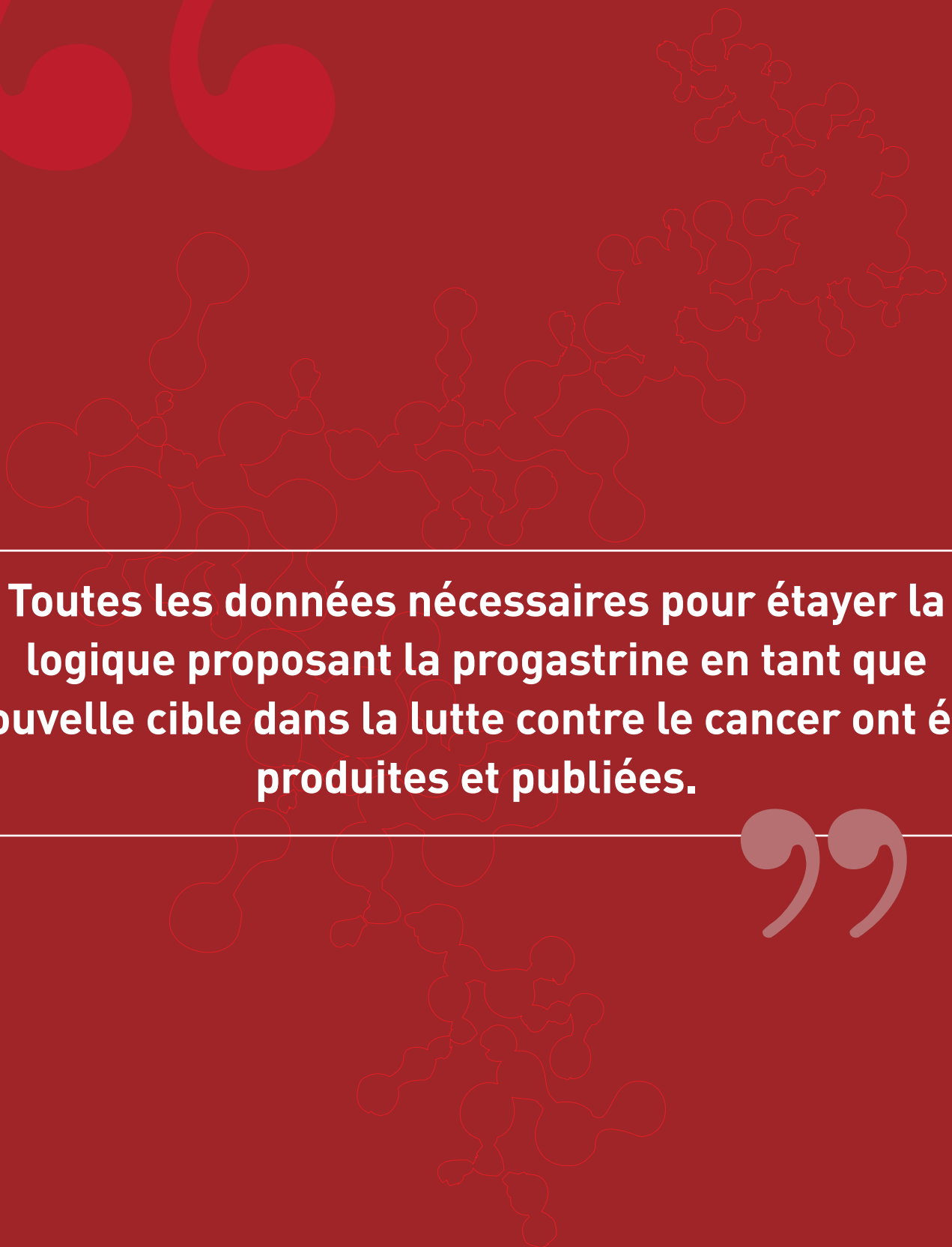
hyperplastiques l'expression de la progastrine a été détectée dans les très rares cas qui ont évolué vers un cancer (Do et al., 2012 ; Do et Seva, 2013). Enfin, la progastrine peut également être un biomarqueur de la métastase hépatique dans le cancer colorectal (Westwood et al., 2017).

L'utilisation de la progastrine en tant qu'outil thérapeutique est soulignée par le fait que les cellules souches cancéreuses aient besoin de la progastrine pour survivre. Or, à l'heure actuelle, il n'existe pas de médicaments capables de cibler les cellules souches cancéreuses (Prieur et al., 2017). Le ciblage de la progastrine sensibilise également les cellules tumorales à la radiothérapie, ce qui pourrait accroître l'efficacité de la radiothérapie (Kowalski-Chauvel et al., 2017). En outre, la chimiothérapie induit une augmentation spectaculaire de la production de progastrine dans les cellules cancéreuses colorectales, *in vitro* et *in vivo* (Prieur et al., 2017). Ces don-

nées sont conformes au fait que les cellules souches cancéreuses échappent à la chimiothérapie, la progastrine contribuant à leur survie. Ces observations indiquent qu'une combinaison de chimiothérapie (ou tout autre médicament antiprolifératif) et d'anticorps anti-progastrine pourrait être très efficace pour cibler simultanément les cellules en prolifération et les cellules souches cancéreuses.

Toutes les données nécessaires pour étayer la logique proposant la progastrine en tant que nouvelle cible dans la lutte contre le cancer ont été produites et publiées.

La communauté scientifique a reconnu le rôle de la progastrine dans le développement du cancer. Il est temps à présent que les oncologues examinent de plus près ces données et collaborent avec les scientifiques pour mettre au point les outils qui seront efficaces pour les patients dans la lutte contre le cancer. ♦



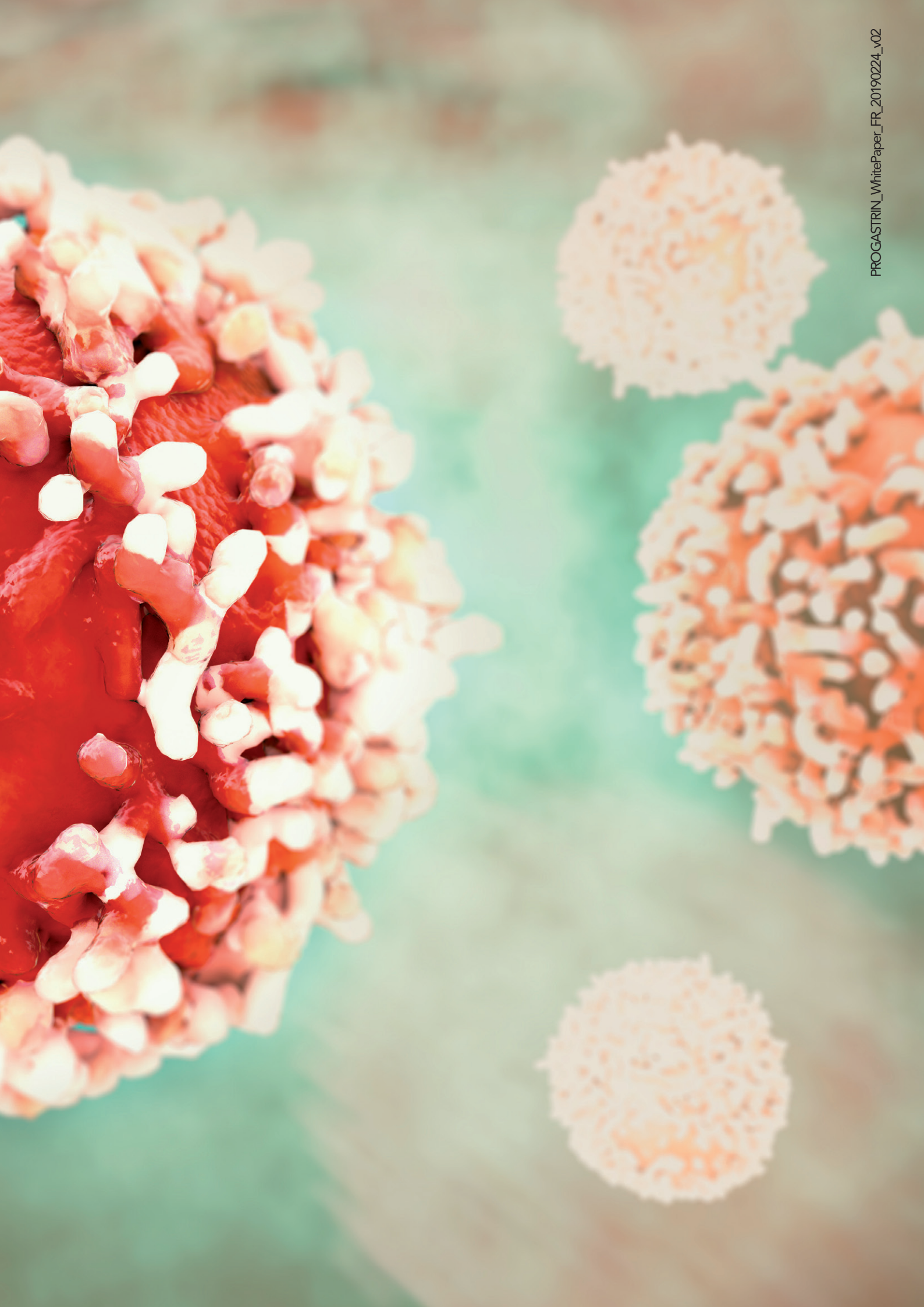
**Toutes les données nécessaires pour étayer la
logique proposant la progastatine en tant que
nouvelle cible dans la lutte contre le cancer ont été
produites et publiées.**

RÉFÉRENCES



- Bardram, L. (1990). Progastrin in serum from Zollinger-Ellison patients. An indicator of malignancy? *Gastroenterology* 98, 1420-1426.
- Battle, E., and Clevers, H. (2017). Cancer stem cells revisited. In *Nat Med*, (Nature Publishing Group), pp. 1124-1134.
- Bishop, L., Dimaline, R., Blackmore, C., Deavall, D., Dockray, G. J., and Varro, A. (1998). Modulation of the cleavage of the gastrin precursor by prohormone phosphorylation. *Gastroenterology* 115, 1154-1162.
- Brown, D. (2003). pp60c-Src Kinase Mediates Growth Effects of the Full-Length Precursor Progastrin1-80 Peptide on Rat Intestinal Epithelial Cells, in *Vitro*. In *Endocrinology*, pp. 201-211.
- Caplin, m. (2002). Expression and processing of gastrin in pancreatic adenocarcinoma. In *british journal of surgery*, pp. 1-6.
- Caplin, M., Khan, K., Savage, K., Rode, J., Varro, A., Michaeli, D., Grimes, S., Brett, B., Pounder, R., and Dhillon, A. (1999). Expression and processing of gastrin in hepatocellular carcinoma, fibrolamellar carcinoma and cholangiocarcinoma. *J Hepatol* 30, 519-526.
- Cartwright, C. A., Meisler, A. I., and Eckhart, W. (1990). Activation of the pp60c-src protein kinase is an early event in colonic carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87, 558-562.
- Chakladar, A., Dubeykovskiy, A., Wojtukiewicz, L. J., Pratap, J., Lei, S., and Wang, T. C. (2005). Synergistic activation of the murine gastrin promoter by oncogenic Ras and β -catenin involves SMAD recruitment. In *biochemical and biophysical research communications*, pp. 190-196.
- Ciccotosto, G. (1995). Expression, Processing, and Secretion of Gastrin in Patients With Colorectal Carcinoma. In *gastroenterology*, pp. 1-12.
- Cobb, S., Wood, T., Ceci, J., VARRO, A., Velasco, M., and Singh, P. (2004). Intestinal expression of mutant and wild-type progastrin significantly increases colon carcinogenesis in response to azoxymethane in transgenic mice. In *Cancer*, pp. 1311-1323.
- Copps, J., Murphy, R. F., and Lovas, S. (2009). The production and role of gastrin-17 and gastrin-17-gly in gastrointestinal cancers. *Protein Pept Lett* 16, 1504-1518.
- Da Silva-Diz, V., Lorenzo-Sanz, L., Bernat-Peguera, A., Lopez-Cerda, M., and Muñoz, P. (2018). Cancer cell plasticity_Impact on tumor progression and therapy response. In *Seminars in Cancer Biology*, (Elsevier), pp. 1-0.
- Desmond, H., Pauwels, S., Varro, A., Gregory, H., Young, J., and Dockray, G. J. (1987). Isolation and characterization of the intact gastrin precursor from a gastrinoma. *FEBS Lett* 210, 185-188.
- Do, C., Bertrand, C., Palasse, J., Delisle, M. B., Shulkes, A., Cohen-Jonathan-Moyal, E., Ferrand, A., and Seva, C. (2012). A New Biomarker That Predicts Colonic Neoplasia Outcome in Patients with Hyperplastic Colonic Polyps. In *Cancer Prevention Research*, pp. 675-684.
- Do, C., and Seva, C. (2013). Activation of pro-oncogenic pathways in colorectal hyperplastic polyps. In *BMC Cancer*, (BMC Cancer), pp. 1-9.
- Dockray, G. J. (1988). Regulatory peptides. *Sci Prog* 72, 21-35.
- Dow, L. E., O'Rourke, K. P., Simon, J., Tschaharganeh, D. F., Van Es, J. H., Clevers, H., and Lowe, S. W. (2015). Apc Restoration Promotes Cellular Differentiation and Reestablishes Crypt Homeostasis in Colorectal Cancer. In *Cell*, (Elsevier Ltd), pp. 1539-1552.
- Dubeykovskiy, A., Nguyen, T., Dubeykovskaya, Z., Lei, S., and Wang, T. C. (2008). Flow cytometric detection of progastrin interaction with gastrointestinal cells. *Regul Pept* 151, 106-114.
- Ferrand, A., Bertrand, C., Portolan, G., Cui, G., Carlson, J., Pradayrol, L., Fourmy, D., Dufresne, M., Wang, T. C., and Seva, C. (2005). Signaling pathways associated with colonic mucosa hyperproliferation in mice overexpressing gastrin precursors. In *Cancer Res*, (American Association for Cancer Research), pp. 2770-2777.
- Ferrand, A., Sandrin, M. S., Shulkes, A., and Baldwin, G. S. (2009). Expression of gastrin precursors by CD133-positive colorectal cancer cells is crucial for tumour growth. *Biochim Biophys Acta* 1793, 477-488.
- Finley, G. G., Koski, R. A., Melhem, M. F., Pipas, J. M., and Meisler, A. I. (1993). Expression of the gastrin gene in the normal human colon and colorectal adenocarcinoma. *Cancer Res* 53, 2919-2926.
- Giraud, J., Failla, L. M., Pascucci, J. M., Lagerqvist, E. L., Ollier, J., Finetti, P., Bertucci, F., Ya, C., Gasmi, I., Bourgaux, J.-F., et al. (2016). Autocrine Secretion of Progastrin Promotes the Survival and Self-Renewal of Colon Cancer Stem-like Cells. In *Cancer Res*, pp. 3618-3628.
- Hanahan, D., and Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. In *Cell*, pp. 646-674.
- Huang, M., Shen, A., Ding, J., and Geng, M. (2014). Molecularly targeted cancer therapy: some lessons from the past decade. *Trends Pharmacol Sci* 35, 41-50.
- Hollande, F., Imdahl, A., Mantamadiotis, T., Ciccotosto, G. D., Shulkes, A., and Baldwin, G. S. (1997). Glycine-Extended Gastrin Acts as an Autocrine Growth Factor in a Nontransformed Colon Cell Line. In *gastroenterology*, pp. 1-13.
- Hollande, F., Lee, D. J., Choquet, A., Roche, S., and Baldwin, G. S. (2003). Adherens junctions and tight junctions are regulated via different pathways by progastrin in epithelial cells. In *J Cell Sci*, pp. 1187-1197.
- Hollande, F., Pannequin, J., and Joubert, D. (2010). The long road to colorectal cancer therapy: searching for the right signals. *Drug Resist Updat* 13, 44-56.
- Huebner, V. D., Jiang, R. L., Lee, T. D., Legesse, K., Walsh, J. H., Shively, J. E., Chew, P., Azumi, T., and Reeve, J. R., Jr. (1991). Purification and structural characterization of progastrin-derived peptides from a human gastrinoma. *J Biol Chem* 266, 12223-12227.
- Huels, D. J., and Sansom, O. J. (2015). Stem vs non-stem cell origin of colorectal cancer. In *Br J Cancer*, (Nature Publishing Group), pp. 1-5.
- Imdahl, A., Mantamadiotis, T., Eggstein, S., Farthmann, E. H., and Baldwin, G. S. (1995). Expression of gastrin, gastrin/CCK-B and gastrin/CCK-C receptors in human colorectal carcinomas. *J Cancer Res Clin Oncol* 121, 661-666.
- Iravani, S., Mao, W., Fu, L., Karl, R., Yeatman, T., Jove, R., and Coppola, D. (1998). Elevated c-Src protein expression is an early event in colonic neoplasia. *Lab Invest* 78, 365-371.
- Jin, G., Sakitani, K., Wang, H., Jin, Y., Dubeykovskiy, A., Worthley, D. L., Taylor, Y., and Wang, T. C. (2017). The G-protein coupled receptor 56, expressed in colonic stem and cancer cells, binds progastrin to promote proliferation and carcinogenesis. *Oncotarget* 8, 40606-40619.
- Kaur, G., Sharma, P., Dogra, N., and Singh, S. (2018). Eradicating Cancer Stem Cells: Concepts, Issues, and Challenges. In, (Current Treatment Options in Oncology), pp. 1-23.
- Kochman, M. L., DelValle, J., Dickinson, C. J., and Boland, C. R. (1992). Post-translational processing of gastrin in neoplastic human colonic tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 189, 1165-1169.
- Koh, T. J., Bulitta, C. J., Fleming, J. V., Dockray, G. J., Varro, A., and Wang, T. C. (2000). Gastrin is a target of the β -catenin/TCF-4 growth-signaling pathway in a model of intestinal polyposis. In *J. Clin. Invest.*, pp. 533-539.
- Koh, T. J., Goldenring, J. R., Ito, S., Mashimo, H., Alan S Kopin, x. A. V. Ø. G. J. D. x., and Wang, T. C. (1997). Gastrin Deficiency Results in Altered Gastric Differentiation and Decreased Colonic Proliferation in Mice. In *gastroenterology*, pp. 1-11.

- Koh, T.J., Dockray, G.J., Varro, A., Cahill, R.J., Dangler, C.A., Fox, J.G., Wang, T.C. (1999). Overexpression of glycine-extended gastrin in transgenic mice results in increased colonic proliferation. In *J. Clin. Invest.* 103(8), pp. 1119-1126.
- Konturek, P. (2002). Progastrin and Cyclooxygenase-2 in Colorectal Cancer. In *digestive diseases and sciences*, pp. 1-8.
- Kowalski-Chauvel, A., Gouaze-Andersson, V., Vignolle-Vidoni, A., Delmas, C., Toulas, C., Cohen-Jonathan-Moyal, E., and Seva, C. (2017). Targeting progastrin enhances radiosensitization of colorectal cancer cells. *Oncotarget* 8, 58587-58600.
- Marshall, K. M., Patel, O., Bramante, G., Laval, M., Yim, M., Baldwin, G. S., and Shulkes, A. (2013). The C-terminal flanking peptide of progastrin induces gastric cell apoptosis and stimulates colonic cell division in vivo. In *Peptides*, (Elsevier Inc.), pp. 1-11.
- Najib, S., Kowalski-Chauvel, A., Do, C., Roche, S., Cohen-Jonathan-Moyal, E., and Seva, C. (2014). Progastrin a new pro-angiogenic factor in colorectal cancer. In *oncogene*, (Nature Publishing Group), pp. 1-11.
- Nakata, H., Wang, S. L., Chung, D. C., Westwick, J. K., and Tillotson, L. G. (1998). Oncogenic ras induces gastrin gene expression in colon cancer. *Gastroenterology* 115, 1144-1153.
- Nemeth, J., Taylor, B. G., pauwel, s., Varro, A., and Dockray, G. J. (1993). Identification of progastrin derived peptides in colorectal carcinoma extracts. In *Gut*, pp. 1-7.
- Noyes, B. E., Mevarech, M., Stein, R., and Agarwal, K. L. (1979). Detection and partial sequence analysis of gastrin mRNA by using an oligodeoxynucleotide probe. *Proc Natl Acad Sci U S A* 76, 1770-1774.
- Ottewell, P. D., Varro, A., Dockray, G. J., Kirton, C. M., Watson, A. J., Wang, T. C., Dimaline, R., and Pritchard, D. M. (2005). COOH-terminal 26-amino acid residues of progastrin are sufficient for stimulation of mitosis in murine colonic epithelium in vivo. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 288, G541-549.
- Pannequin, J., Bonnans, C., Delaunay, N., Ryan, J., Bourgaux, J. F., Joubert, D., and Hollande, F. (2009). The wnt target jagged-1 mediates the activation of notch signaling by progastrin in human colorectal cancer cells. In *Cancer Res*, (American Association for Cancer Research), pp. 6065-6073.
- Pannequin, J., Delaunay, N., Buchert, M., Surrel, F., Bourgaux, J. F., Ryan, J., Boireau, S., Coelho, J., Pélegrin, A., Singh, P., et al. (2007). β -Catenin/Tcf-4 Inhibition After Progastrin Targeting Reduces Growth and Drives Differentiation of Intestinal Tumors. In *gastroenterology*, pp. 1554-1568.
- Patel, O., Marshall, K. M., Bramante, G., Baldwin, G. S., and Shulkes, A. (2010). The C-terminal flanking peptide (CTFP) of progastrin inhibits apoptosis via a PI3-kinase-dependent pathway. In *Regulatory Peptides*, (Elsevier B.V.), pp. 224-231.
- Paterson, A. C., Macrae, F. A., Pizzey, C., Baldwin, G. S., and Shulkes, A. (2014). Circulating gastrin concentrations in patients at increased risk of developing colorectal carcinoma. In *J Gastroenterol Hepatol*, pp. 480-486.
- Prieur, A., Cappellini, M., Habif, G., Lefranc, M.-P., Mazard, T., Morency, E., Pascussi, J. M., Flacelière, M., Cahuzac, N., Vire, B., et al. (2017). Targeting the Wnt Pathway and Cancer Stem Cells with Anti-progastrin Humanized Antibodies as a Potential Treatment for K-RAS-Mutated Colorectal Cancer. In *Clin Cancer Res*, pp. 1-15.
- Ramanathan, V., Jin, G., Westphalen, C. B., Whelan, A., Dubeykovskiy, A., Takaishi, S., and Wang, T. C. (2012). P53 Gene Mutation Increases Progastrin Dependent Colonic Proliferation and Colon Cancer Formation in Mice. In *Cancer Invest*, pp. 275-286.
- Rehfeld, J. F. (1986). Accumulation of nonamidated preprogastrin and preprocholecystokinin products in porcine pituitary corticotrophs. Evidence of post-translational control of cell differentiation. *J Biol Chem* 261, 5841-5847.
- Rehfeld, J. F. (1991). Progastrin and its products in the cerebellum. *Neuropeptides* 20, 239-245.
- Rengifo-Cam, W., Umar, S., Sarkar, S., and Singh, P. (2007). Antiapoptotic effects of progastrin on pancreatic cancer cells are mediated by sustained activation of nuclear factor- κ B. *Cancer Res* 67, 7266-7274.
- Sarkar, S., Swiercz, R., Kantara, C., Hajjar, K. A., and Singh, P. (2011). Annexin A2 Mediates Up-regulation of NF- κ B, β -catenin, and Stem Cell in Response to Progastrin in Mice and HEK-293 Cells. In *gastroenterology*, pp. 583-595.e584.
- Schalling, M., Persson, H., Pelto-Huikko, M., Odum, L., Ekman, P., Gottlieb, C., Hokfelt, T., and Rehfeld, J. F. (1990). Expression and localization of gastrin messenger RNA and peptide in spermatogenic cells. *J Clin Invest* 86, 660-669.
- Siddheshwar, R. K., Gray, J. C., and Kelly, S. B. (2000). Plasma levels of progastrin but not amidated gastrin or glycine extended gastrin are elevated in patients with colorectal carcinoma. In *Gut*, pp. 1-7.
- Singh, P. (1994). Incomplete processing of progastrin expressed by human colon cancer cells: role of noncarboxyamidated gastrins. In *Am J Physiol Cell Physiol*, pp. 1-10.
- Singh, p. (2000). Mice overexpressing progastrin are predisposed for developing aberrant colonic crypt foci in response to AOM. In *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, pp. 1-10.
- Singh, P., Owlia, A., Varro, A., Dai, B., Rajaraman, S., and Wood, T. (1996). Gastrin Gene Expression Is Required for the Proliferation and Tumorigenicity of Human Colon Cancer Cells. In *Cancer Res*, pp. 1-6.
- Singh, P., Velasco, M., Given, R., Varro, A., and Wang, T. C. (2000). Progastrin expression predisposes mice to colon carcinomas and adenomas in response to a chemical carcinogen. In *gastroenterology*, pp. 162-171.
- Singh, P., Wu, H., Clark, C., and Owlia, A. (2006). Annexin II binds progastrin and gastrin-like peptides, and mediates growth factor effects of autocrine and exogenous gastrins on colon cancer and intestinal epithelial cells. In *oncogene*, pp. 425-440.
- Singh, P., Lu, X., Cobb, S., Miller, B. T., Tarasova, N., Varro, A., Owlia, A. (2003). Progastrin₁₋₈₀ stimulates growth of intestinal epithelial cells in vitro via high-affinity binding sites. in *AJP Gastrointestinal and Liver Physiology* 284(2):G328-39.
- Smith, K. A., Patel, O., Lachal, S., Jennings, I., Kemp, B., Burgess, J., Baldwin, G. S., and Shulkes, A. (2006). Production, Secretion, and Biological Activity of the C-Terminal Flanking Peptide of Human Progastrin. In *gastroenterology*, pp. 1463-1474.
- Stepan, V. M., Krametter, D. F., Matsushima, M., Todisco, A., Delvalle, J., and Dickinson, C. J. (1999). Glycine-extended gastrin regulates HEK cell growth. *Am J Physiol* 277, R572-581.
- Umar, S., Sarkar, S., Cowey, S., and Singh, P. (2008). Activation of NF- κ B is required for mediating proliferative and antiapoptotic effects of progastrin on proximal colonic crypts of mice, in vivo. *Oncogene* 27, 5599-5611.
- Van Solinge, W. W., dum, L., and Rehfeld, J. F. (1993). Ovarian Cancers Express and Process Progastrin. In *Cancer Res*, pp. 1-7.
- Van Solinge, W. W., Nielsen, F. C., Friis-Hansen, L., Falkmer, U. G., and Rehfeld, J. F. (1993b). Expression but incomplete maturation of progastrin in colorectal carcinomas. *Gastroenterology* 104, pp. 1099-1107.
- Wang, T. C., Koh, T. J., Varro, A., Cahill, R. J., Dangler, C. A., Fox, J. G., and Dockray, G. J. (1996). Processing and proliferative effects of human progastrin in transgenic mice. In *J. Clin. Invest.*, pp. 1918-1929.
- Westwood, D. A., Patel, O., Christophi, C., Shulkes, A., and Baldwin, G. S. (2017). Progastrin: a potential predictive marker of liver metastasis in colorectal cancer. In, (International Journal of Colorectal Disease), pp. 1-4.
- Wu, H., Owlia, A., and Singh, P. (2003). Precursor peptide progastrin1-80 reduces apoptosis of intestinal epithelial cells and upregulates cytochrome c oxidase Vb levels and synthesis of ATP. In *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, pp. 1-14.



Remerciements :

Nous voudrions remercier le Dr. Morency pour la lecture critique qu'il a faite de ce livre blanc.

Édité par

Association PROGASTRINE de lutte contre le cancer
9, rue Boutard - 92200 Neuilly-sur-Seine - France

Enregistrée à la Préfecture des Hauts-de-Seine (FRANCE), R.N.A. numéro W922012887.

Numéro de dépôt légal (BnF) : 10000000433753

Directeur de publication : Didier Pitarque

Numéro de déclaration :



10000000433753

PROGASTRIN
cancer control association

Bibliothèque

Nationale de France ID :



0000000026686

Ce livre blanc peut être téléchargé à partir du site Web de l'association :

www.progastrin-cancer-control.org