

FORMATION CANCER & ENVIRONNEMENT

10 et 11 décembre 2020

Mécanismes de toxicité des contaminants environnementaux



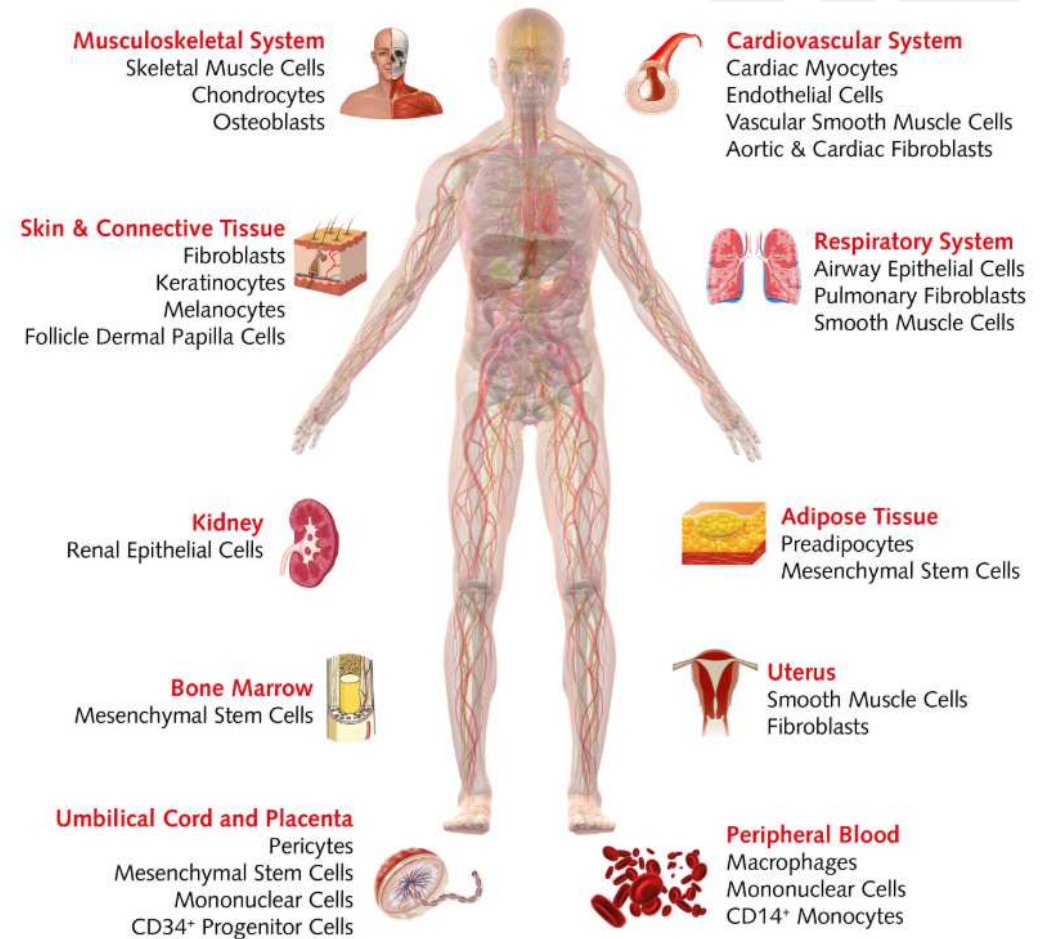
Régulations épigénétiques et contaminants environnementaux : un mécanisme de toxicité?

Sylvie Bortoli
INSERM UMR 1124 – Equipe METATOX
Paris
sylvie.bortoli@parisdescartes.fr



Un génome identique dans chaque cellule → des fonctions cellulaires différentes

- ✓ 70.000 milliards de cellules avec la même information génétique (= ADN $\approx$ 25.000 gènes)
- ✓ Cellules : fonctions très différentes → organes et tissus
- ✓ Spécialisation des cellules en partie liée à la **transcription** d'un groupe de gènes particulier à chaque type cellulaire.



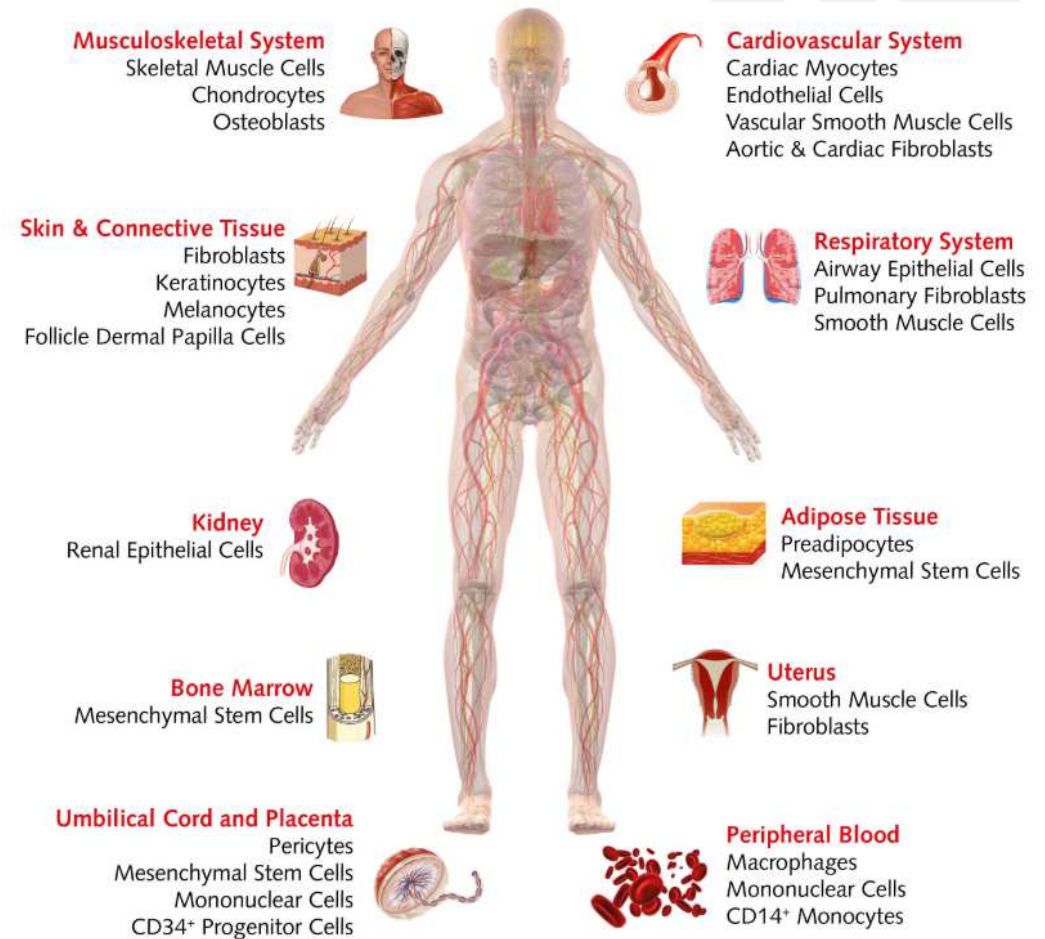
Un génome identique dans chaque cellule → des fonctions cellulaires différentes

- ✓ 70.000 milliards de cellules avec la même information génétique (= ADN $\approx$ 25.000 gènes)
- ✓ Cellules : fonctions très différentes → organes et tissus
- ✓ Spécialisation des cellules en partie liée à la **transcription** d'un groupe de gènes particulier à chaque type cellulaire

Les gènes indiquent à chaque cellule son rôle dans l'organisme. Sur leur ordre, elles synthétisent des protéines (= dizaines de milliers de protéines)

Exemple :

- hémoglobine → transport de l'oxygène dans le sang
- actine et myosine → contraction des muscles
- anticorps → protection de l'organisme vis-à-vis des corps étrangers

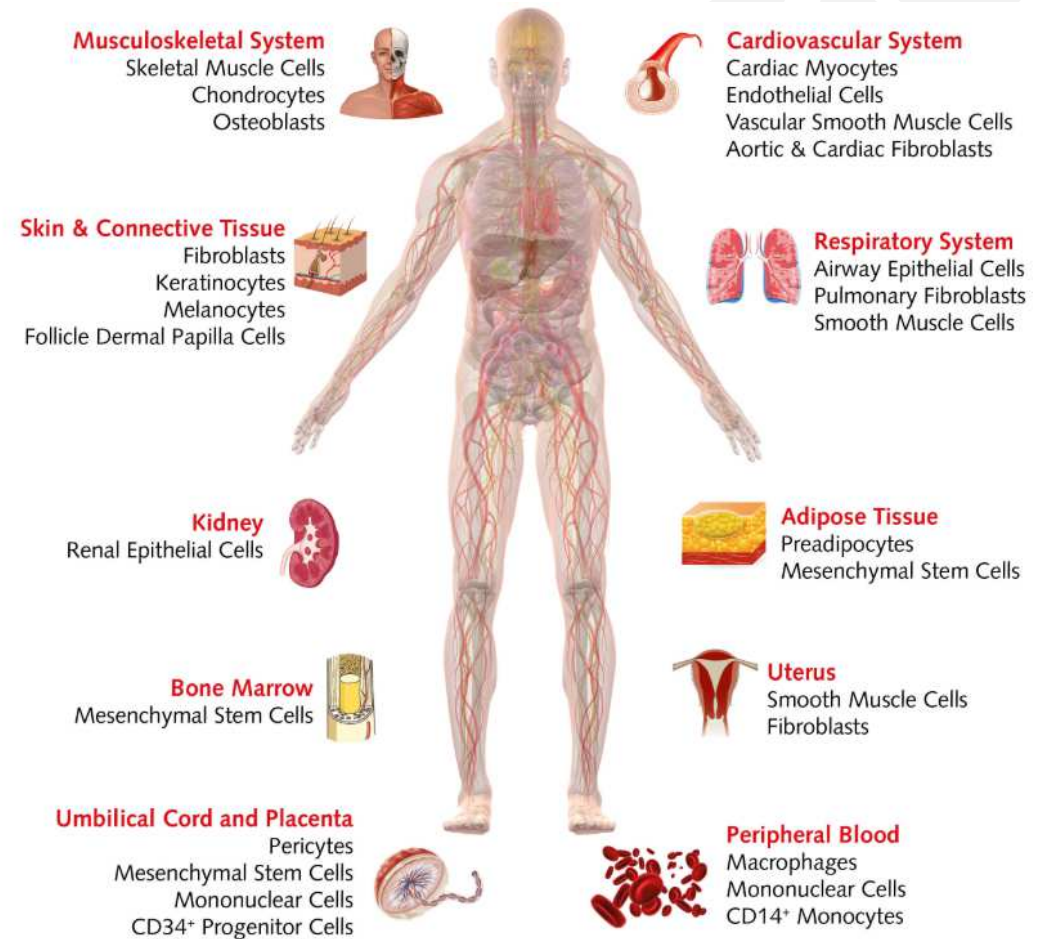


Un génome identique dans chaque cellule → des fonctions cellulaires différentes

- ✓ 70.000 milliards de cellules avec la même information génétique (= ADN $\approx$ 25.000 gènes)
- ✓ Cellules : fonctions très différentes → organes et tissus
- ✓ Spécialisation des cellules en partie liée à la **transcription** d'un groupe de gènes particulier à chaque type cellulaire.

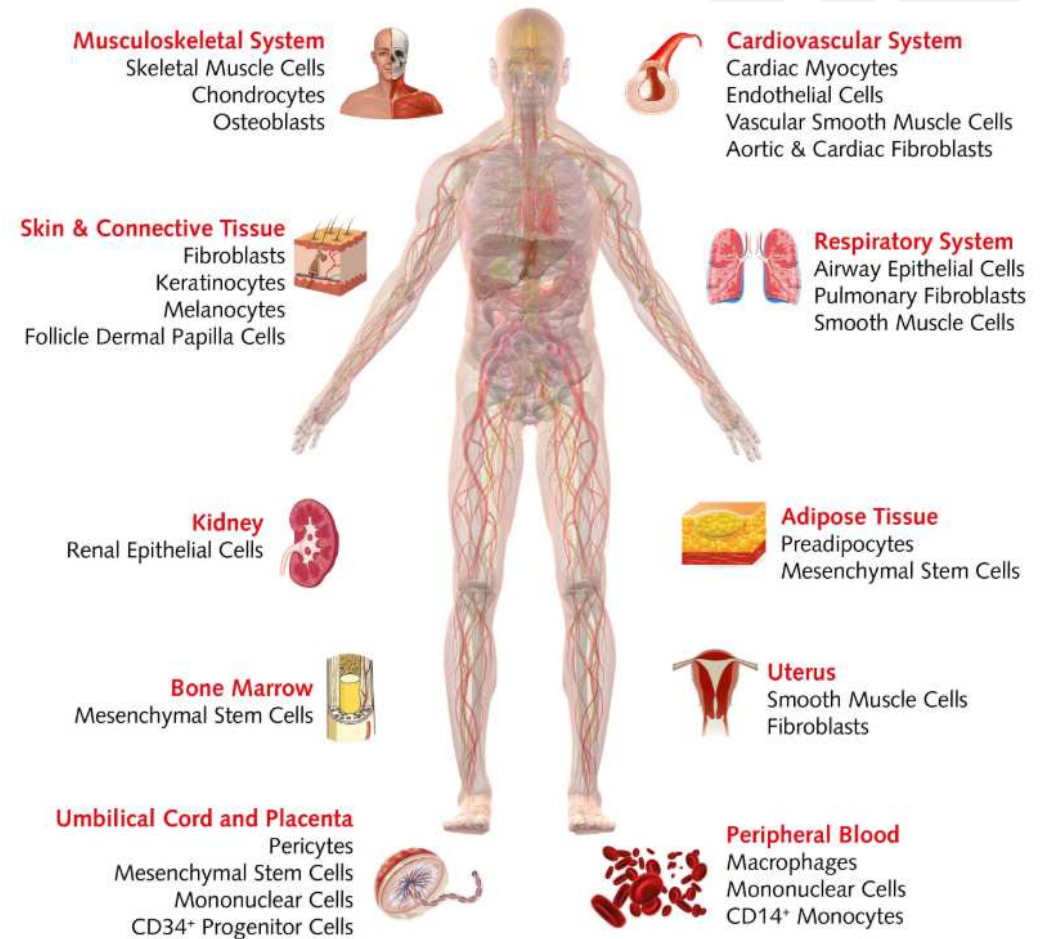
Les gènes indiquent à chaque cellule son rôle dans l'organisme. Sur leur ordre, elles synthétisent des protéines (= dizaines de milliers de protéines)

À chaque étape de sa vie (croissance, différenciation, mort ou réponse à des stimuli), une cellule doit **contrôler de façon précise** l'expression de son information génétique (= gènes)



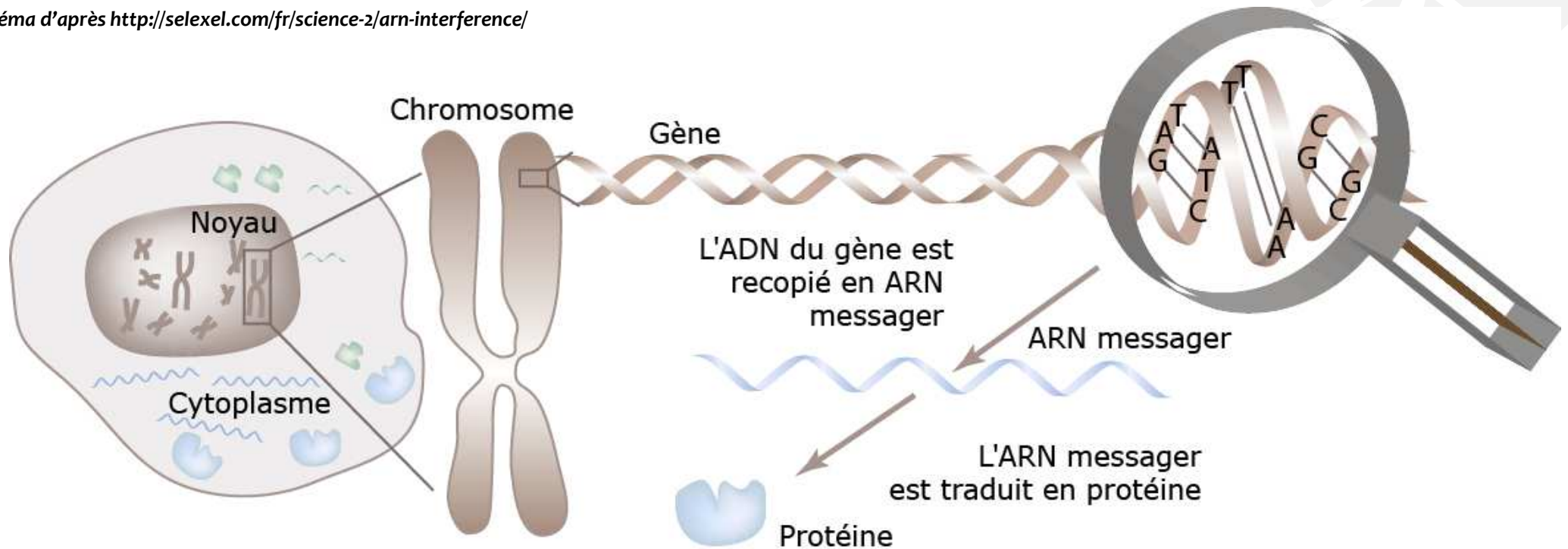
Un génome identique dans chaque cellule → des fonctions cellulaires différentes

- ✓ 70.000 milliards de cellules avec la même information génétique (= ADN $\approx$ 25.000 gènes)
- ✓ Cellules : fonctions très différentes → organes et tissus
- ✓ Spécialisation des cellules en partie liée à la **transcription** d'un groupe de gènes particulier à chaque type cellulaire.
- ✓ Régulation du **transcriptome** → adaptation de la cellule en réponse à un stimulus particulier (ex : signal électrique/neurone, signal hormonal/cellule du pancréas, ...)
- ✓ Régulation de l'**épigénome** → adaptation de la cellule aux signaux qui proviennent de l'environnement : nutrition, pollution, stress, ...



Zoom de la cellule à l'ADN... et de l'ADN à la protéine

Schéma d'après <http://selexel.com/fr/science-2/arn-interference/>

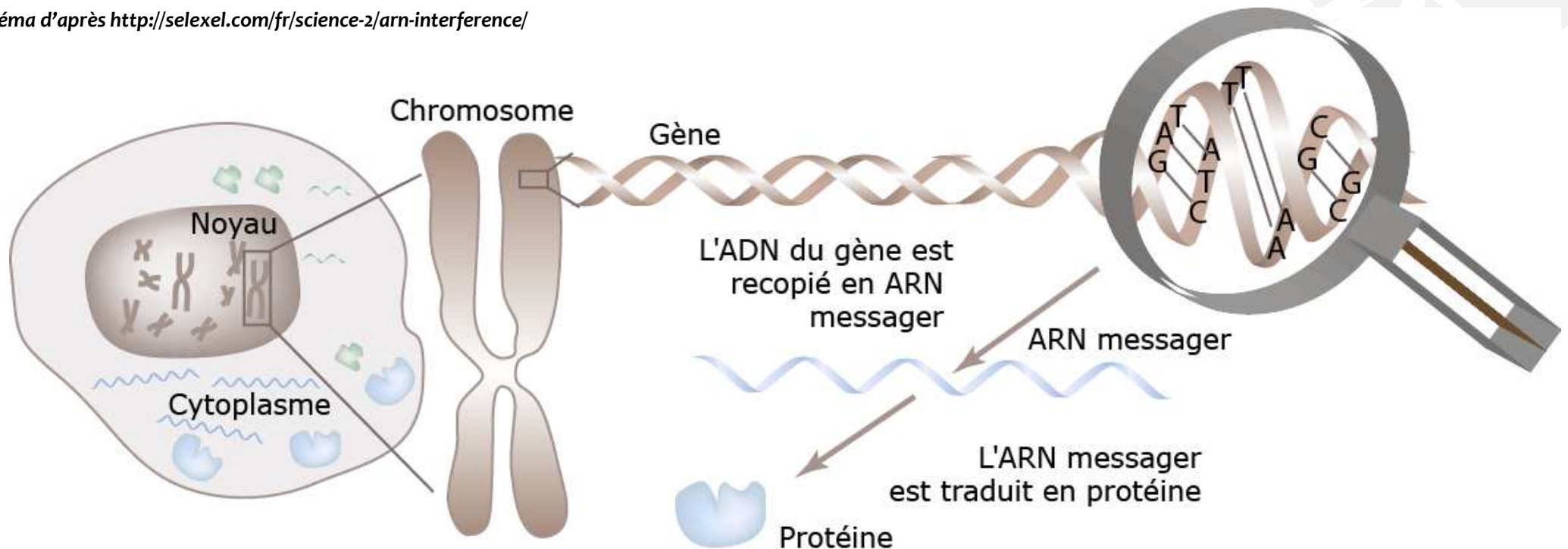


Gène = fragment d'ADN qui contient l'information nécessaire à la synthèse d'une ou de plusieurs molécules (= protéine) qui constituent l'organisme

Transcriptome = ensemble des ARN messagers transcrits dans une cellule à un instant t
= ensemble des gènes actifs

Zoom de la cellule à l'ADN... et de l'ADN à la protéine

Schéma d'après <http://selexel.com/fr/science-2/arn-interference/>



- Une anomalie génétique (mutation ou anomalie chromosomique) peut perturber la synthèse des protéines
- Elle donne en quelque sorte de « mauvais ordres » pour les fabriquer avec pour conséquence : absence de protéine, excès de protéine ou synthèse d'une protéine anormale
- La protéine ne peut donc plus jouer son rôle ce qui peut engendrer une maladie

De la génétique à l'épigénétique

Génétique

Séquence d'ADN qui définit notre patrimoine génétique
= partition sur laquelle s'alignent toutes les notes qui vont définir la manière dont nos cellules et nos organes fonctionnent

Epigénétique

Modifications chimiques qui vont indiquer comment se joue la partition du génome

Différents types d'altération du matériel génétique

Dommages primaires

Modification de la structure de l'ADN par ajout d'adduits, cassures simple- et double-brins ou pontage inter- et intra-brins

Mutations géniques

Modification de la séquence d'un gène par substitution, délétion ou insertion de bases

Mutations chromosomiques

Modification de la structure (délétion, réarrangement) ou du nombre de chromosomes

Modifications épigénétiques

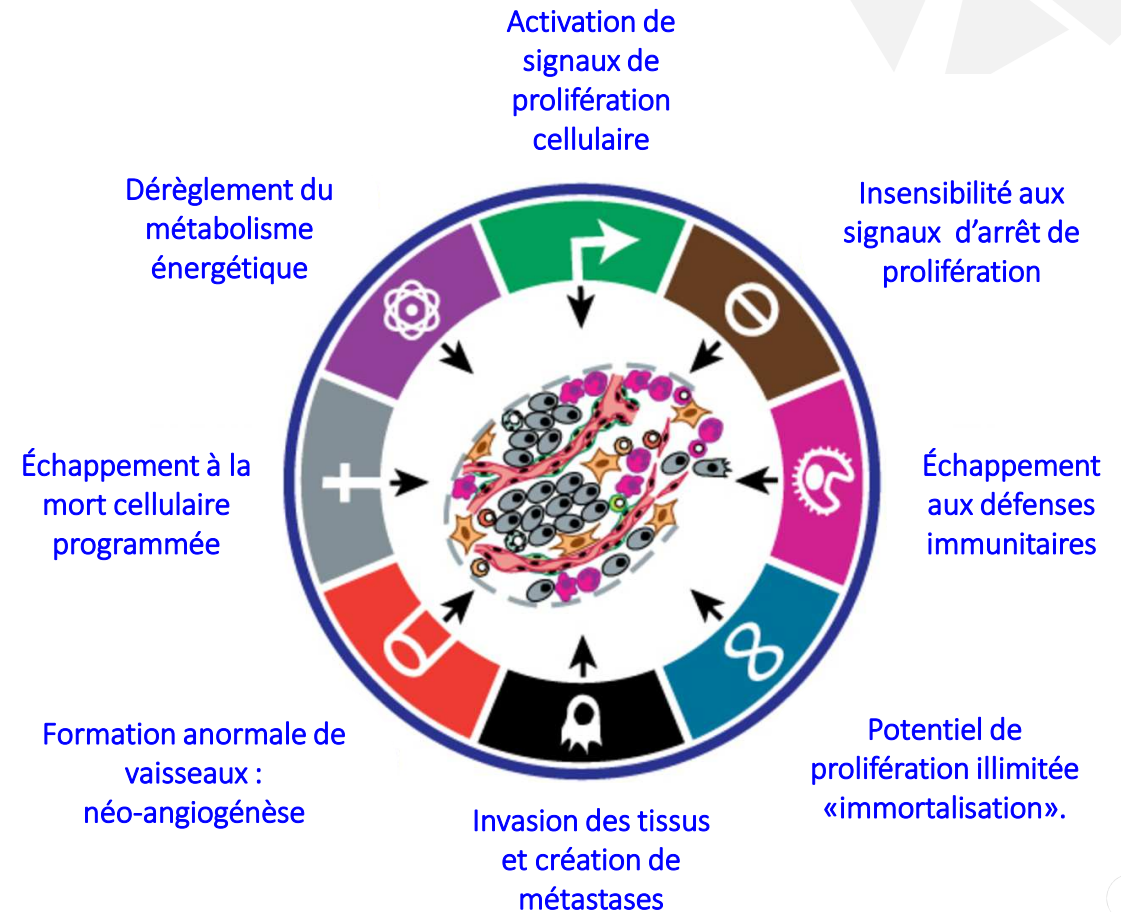
Modifications de l'expression des gènes sans affecter leur séquence, grâce à des marques chimiques sur les histones et l'ADN ou à des petits ARN interférents

→ PAS DE PROTEINE ou TROP DE PROTEINE ou PROTEINE ANORMALE

Mécanismes moléculaires de la cancérogenèse

Des évènements génétiques et des évènements épigénétiques...

L'ensemble de ces évènements confère des propriétés particulières à la cellule tumorale



Epigénétique et cancer

Quelques exemples liés au tabac

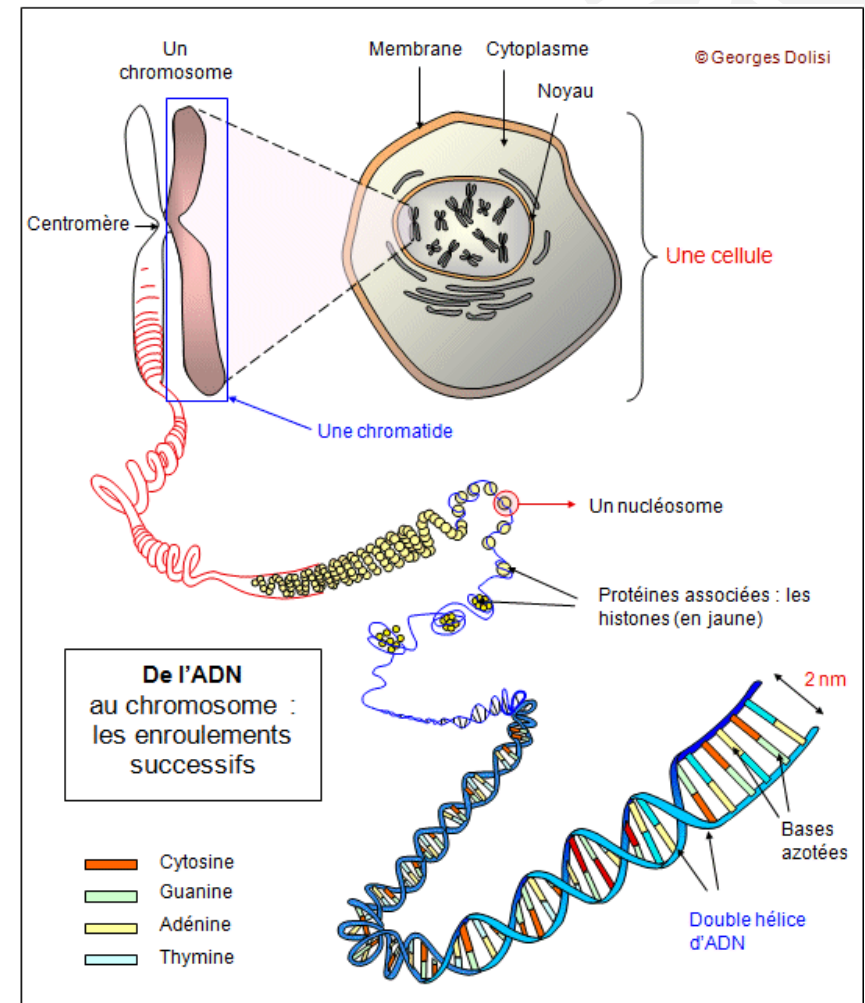
<https://www.cancer-environnement.fr/409-Epigenetique-et-environnement.ce.aspx#Tabac>

Fonction	Gènes	Rôles biologiques	Inactivation des gènes par modifications épigénétiques	Types de cancers associés
<u>Cycle cellulaire</u>	Rb	Inhibition de la transcription	+	Rétinoblastome, gliome, cancer du côlon
	P16 INK4A	Inhibiteur des CDK 4 et 6	+	Leucémie, lymphome, cancers de la peau et du poumon
	P15 INK4B	Inhibiteur des CDK 4 et 6	+	Leucémie, lymphome
<u>Maintien de l'intégrité du génome</u>	P53	Transcription de gènes (cycle et apoptose) et réparation de l'ADN	+	Cancers du poumon, de la prostate
	BRCA	Régulation de la transcription et réparation de l'ADN	+	Cancers du sein et de l'ovaire
	hMLH1	Réparation de l'ADN	+	Cancers gastrique, du côlon et de l'ovaire
<u>Réponse aux facteurs de croissance</u>	PTEN	Inhibition de la voie de la PI3-K	+	Glioblastome, cancers gastrique, du sein et de la thyroïde
	ER	Contrôle de la prolifération	+	Cancers du sein et de la prostate

Nature des modifications épigénétiques

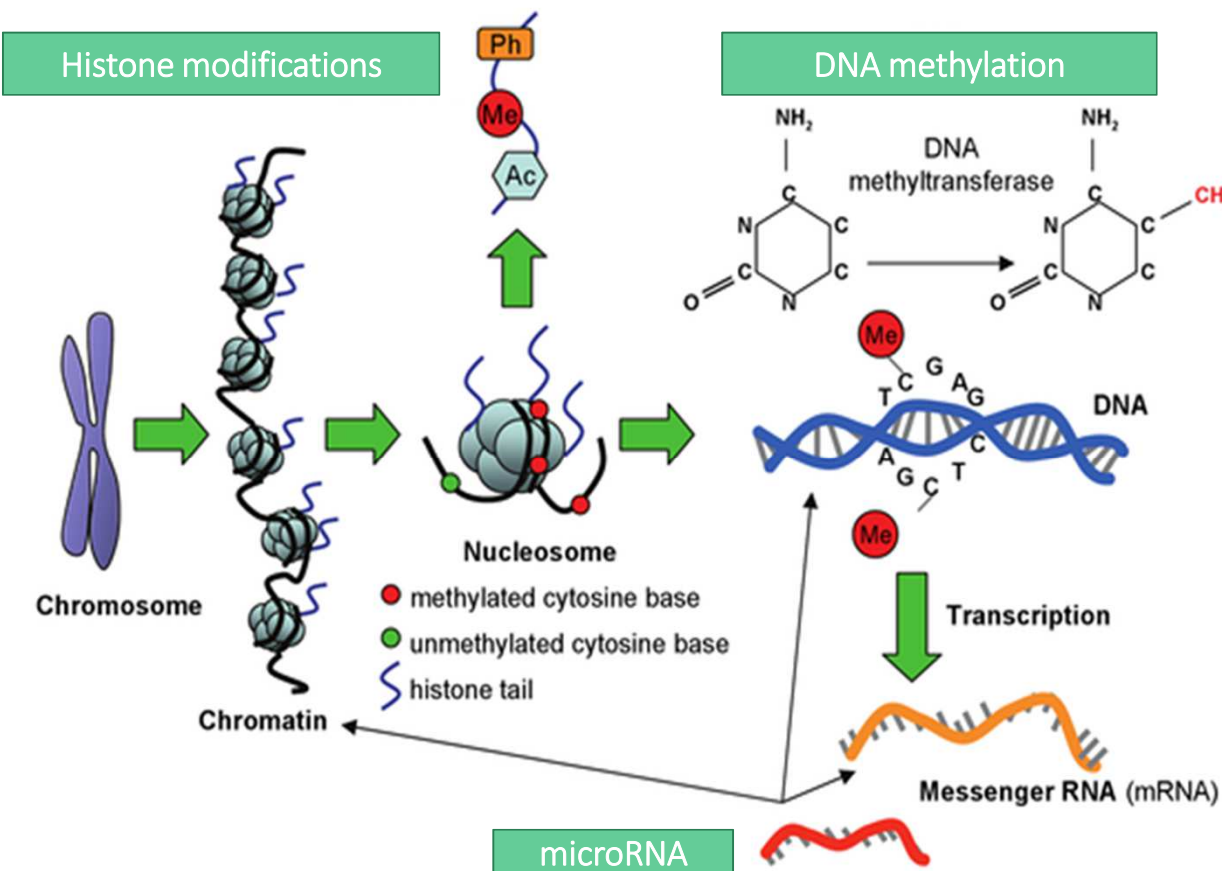
Organisation du matériel génétique de la cellule

- ✓ ADN est très fortement compacté : 2 m dans un noyau de quelques μm
- ✓ Compaction possible grâce à l'enroulement de l'ADN autour de complexes protéiques appelés nucléosomes et constitués d'histones
- ✓ Ensemble des nucléosomes (chapelet) $\rightarrow$ chromatine $\rightarrow$ chromosome
- ✓ Accessibilité de l'ADN aux différents complexes protéiques régulant la réplication, la transcription, la réparation, ...
- ✓ Modulation de cette accessibilité par le marquage épigénétique



Nature des modifications épigénétiques

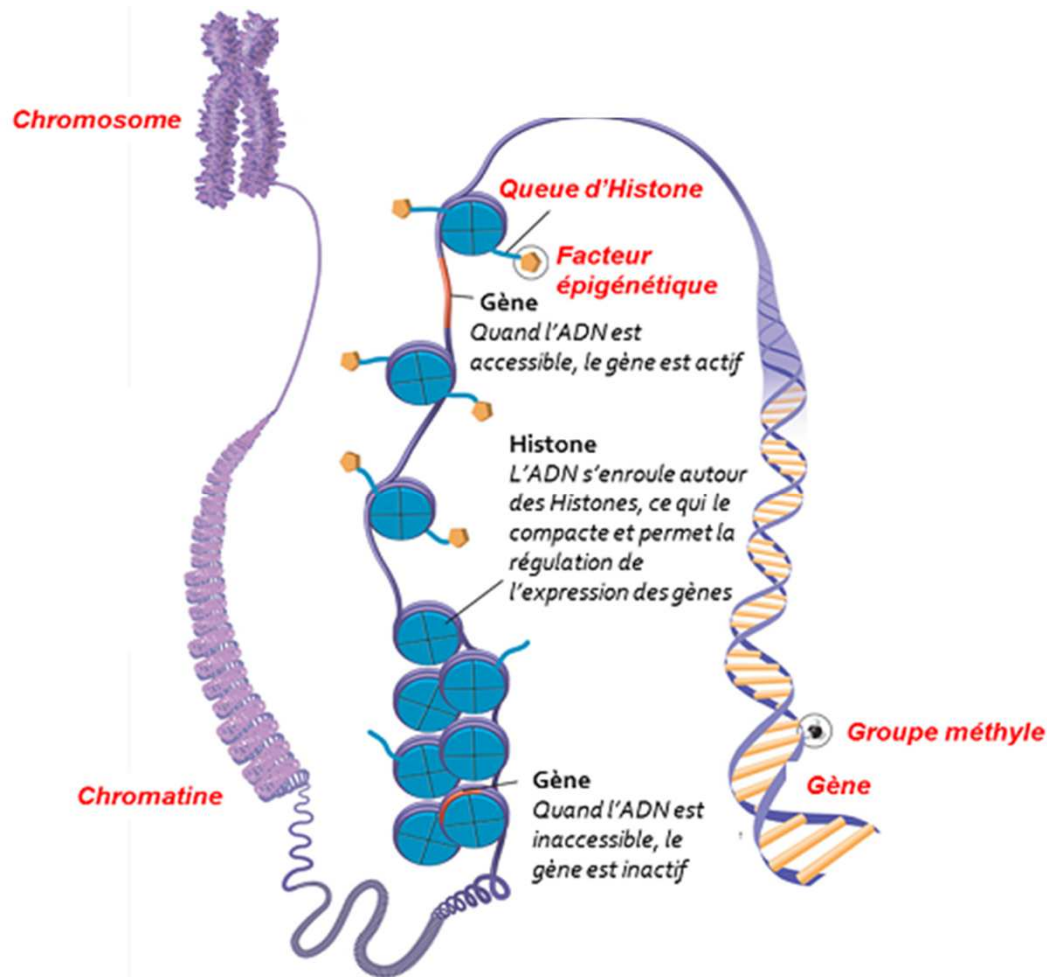
Différents niveaux de régulations



Contrairement à la séquence de l'ADN, qui est en grande partie inchangée au cours de la vie, les **profils épigénétiques varient non seulement d'un tissu à un autre mais changent avec l'âge et sont sensibles aux influences comportementales et environnementales** (pollution, qualité de la nutrition, diète, alcool, cigarette, stress, ...).

Nature des modifications épigénétiques

Modification de la chromatine



Modification des histones

La fixation des groupements chimiques sur les histones (**méthyl**, **acétyl**, phosphate, ...) modifie le niveau de compaction de l'ADN au sein de la chromatine et donc l'accessibilité des gènes par la machinerie transcriptionnelle

Histones acétylases/Histone déacétylases

Histone méthylases/Histone déméthylases

Méthylation de l'ADN

La fixation de groupes **méthyl** ($-CH_3$) sur les séquences situées en amont des gènes (séquences promotrices) compromet la fixation de la machinerie transcriptionnelle et donc la transcription des gènes

DNA méthyltransférases/TET dioxygénases

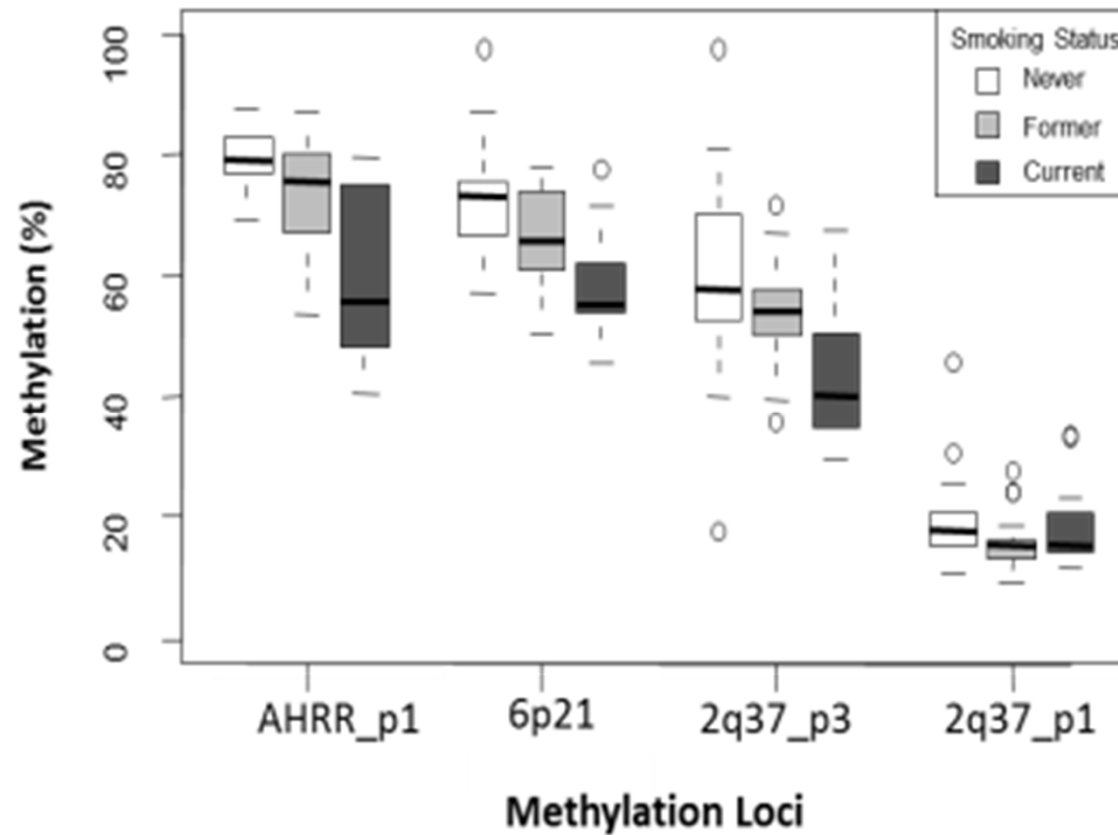
Ces marques épigénétiques peuvent être réversibles... mais pas toujours!

Nature des modifications épigénétiques

Modification de la chromatine

Guida et al, HMG, 2015

Persistence de la méthylation de l'ADN chez d'anciens fumeurs plusieurs années après l'arrêt du tabac



Formation Cancer et Environnement - 10 et 11 décembre 2020

Nature des modifications épigénétiques

Modification de la chromatine

Dioxin-induced epigenetic methylation/demethylation of target genes

Model	Target Genes	Epigenetic Mechanism: DNA Methylation/Demethylation	Refs.
Activated T cells from C57BL/6 mice	Foxp3 and IL-17	Demethylation of CpGs of Foxp3 promoter; Hypermethylation of IL-17 promoter.	[52]
Jcl:ICR mice embryos	H19 and IGF2	Hypermethylation of CpGs of H19 and IGF2 promoters; Over-expression of DNMT.	[53]
Palate tissue of fetal C57BL/6J mice	DNMT3a	Demethylation of CpGs in DNMT3a promoter; Over-expression of DNMT3a.	[54]
Zebrafish embryos	cfos and ahrra	Hypermethylation of CG dinucleotides of cfos and ahrra promoters; Up-regulation of dnmt1 and dnmt3b2; Down-regulation of dnmt3a1, dnmt3b1, dnmt3b2.	[56]
Adult C57BL/6 mice Liver	Cyp1a1	Demethylation of CpGs of Cyp1a1 promoter; Cyp1a1 transcriptional activation.	[57]

Nature des modifications épigénétiques

Modification de la chromatine

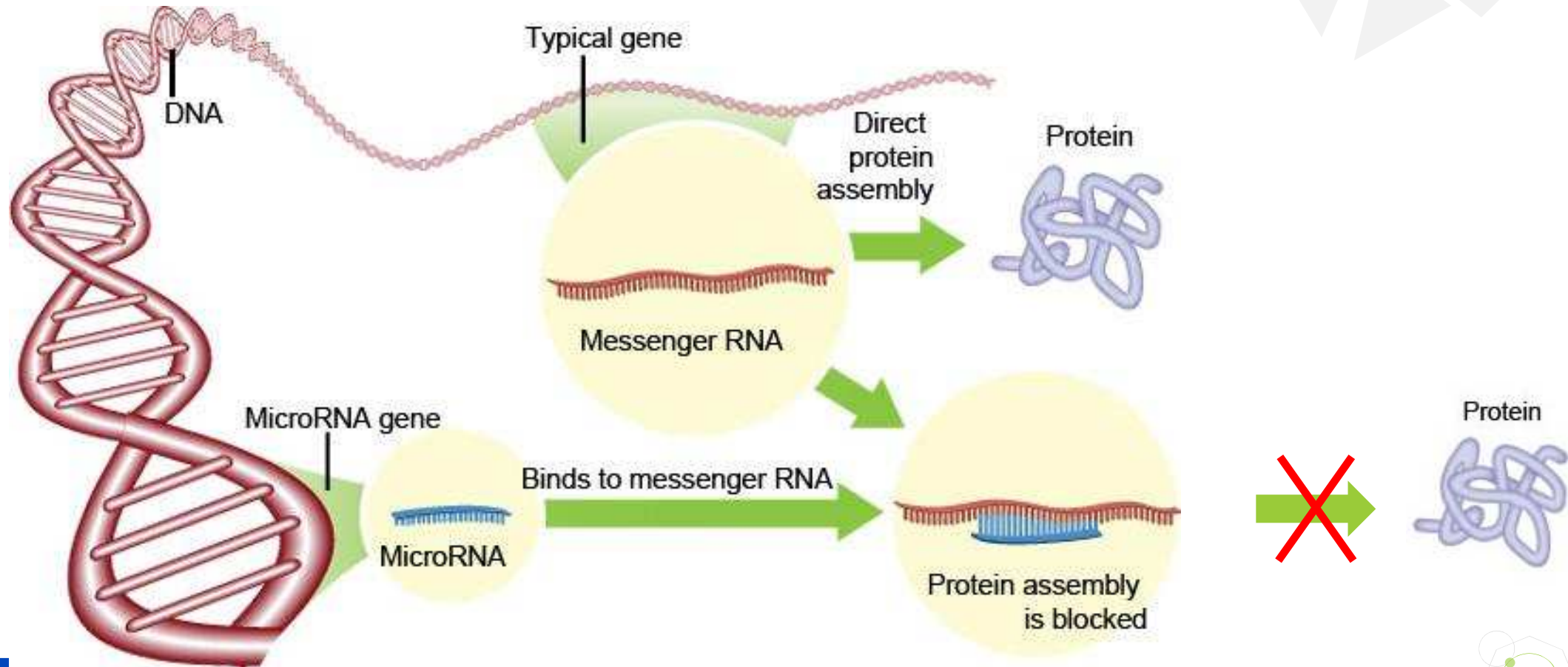
Dioxin-induced epigenetic histone modifications of target genes

Model	Target Genes	Epigenetic Mechanism: Histone Modification	Refs.
Human breast cancer MCF-7 and human hepatic cancer HepG2 cell lines	CYP1A1 and CYP1B1	Promoters of CYP1A1 and CYP1B1 of MCF-7 and HepG2 cell lines: Acetylation of Histone H3 (Lys 9 and Lys 14); Tri-methylation of Histone H3; Acetylation of Histone H4 (Lys 4).	[36]
Human prostate cell line RWPE-1	CYP1A1	Acetylation of histone H3 and H4 in CYP1A1 promoter; Histone acetylation upstream the regulatory elements of CYP1A1 gene.	[59]
Fetal mice C57BL/6J	TGF- β 3	Increased TGF- β 3 gene expression; Hyperacetylation of Histone H3; Up-regulation of HAT activity.	[60]
Hepatocytes isolated from AhR-wild type and AhR-null mice	RB1	Over-expression of HDAC8; Decreased expression of Rb1 tumor suppressor.	[61]
Cultured C57BL6 mouse primary hepatocytes	PADI2 and CPS1	Homocitrullination by CPS1 of Lys 34 of histone H1; Enhanced expression of PADI protein with consequent histone H3 citrullination.	[63]

Nature des modifications épigénétiques

Petits ARN interférents : microARNs (miARN)

Schéma adapted from <https://www.geneticistinc.com/blog/microrna>



Nature des modifications épigénétiques

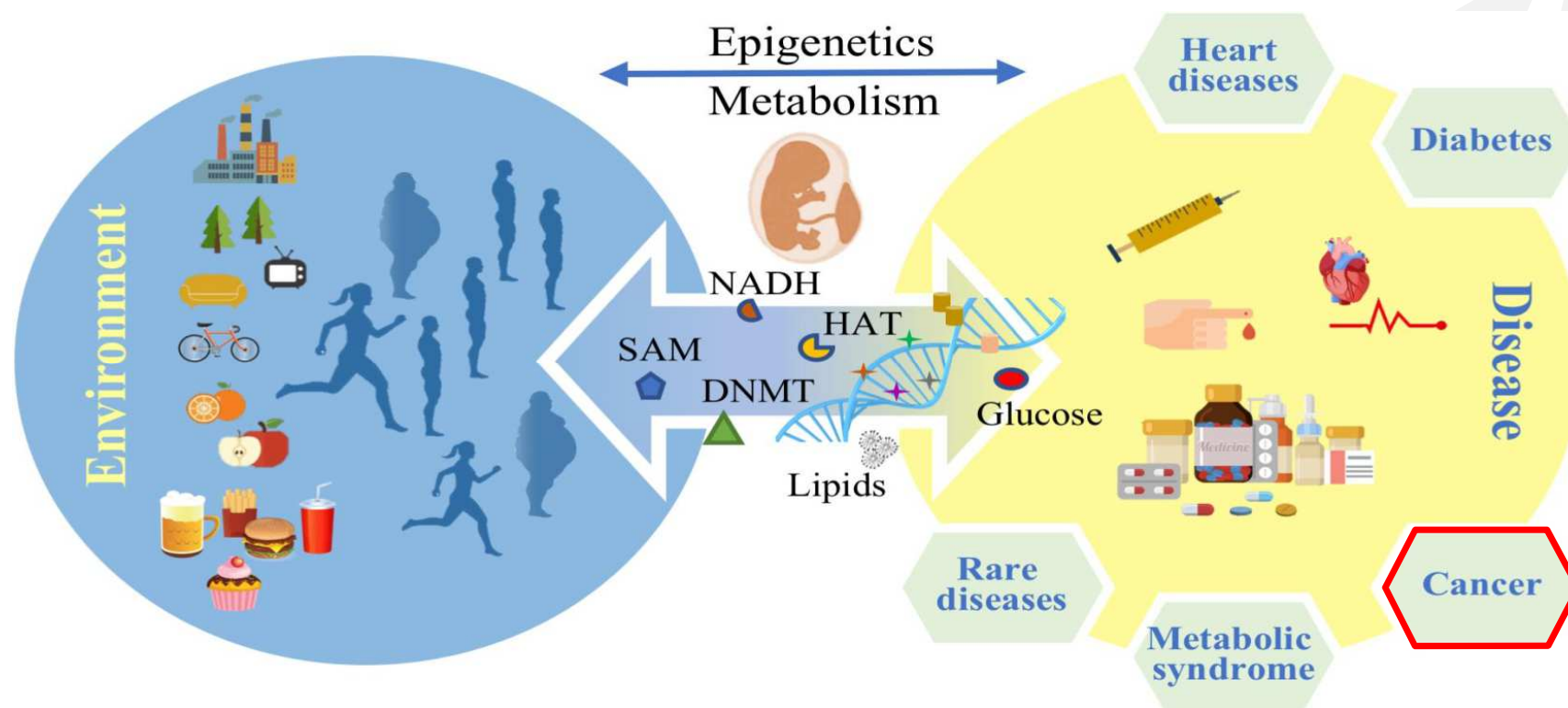
Petits ARN interférents : microARNs (miARN)

Role of ncRNAs in mediating dioxin toxicity

Model	Target Genes	Epigenetic Mechanism: Non-Coding RNAs	Refs.
Kunming mice embryos	IGF2	Lower expression levels of lncRNA H19 in TCDD-treated mice between gestation days 13.5 and 15.5, associated with augmented expression of IGF2 (on days 13.5 and 15.5); Higher expression levels of lncRNA H19 on gestation day 14.5 associated with a strong reduction of IGF2 expression.	[66]
MCF-7 and Jurkat cells	CYP1B1	The expression of miRNA-27b strongly regulates the expression of CYP1B1 protein in cancerous cells and tissues.	[70]
WT, L-E, H/W, AhR-null mice and mouse Hepa-1 hepatoma cells	CYP17a1, CYP7a1, Thrsp, Scd1, Tgfbp1i4	Very little effects in lowering levels of few miRNA (101a, 138, 203, 361, 498, 542-5p), but especially miRNA 122a.	[71]
Fetuses Thymic cells (C57BL/6 mice)	CYP1A1	Down-regulation of miRNAs 27a, 28, 29, 182, 203, 290, 31, 101b, and 335.	[69]

Expositions environnementales et santé :

Un lien fort entre dérégulations métaboliques et épigénétiques



Marques épigénétiques –acétyl et –méthyl = directement issues du métabolisme des nutriments

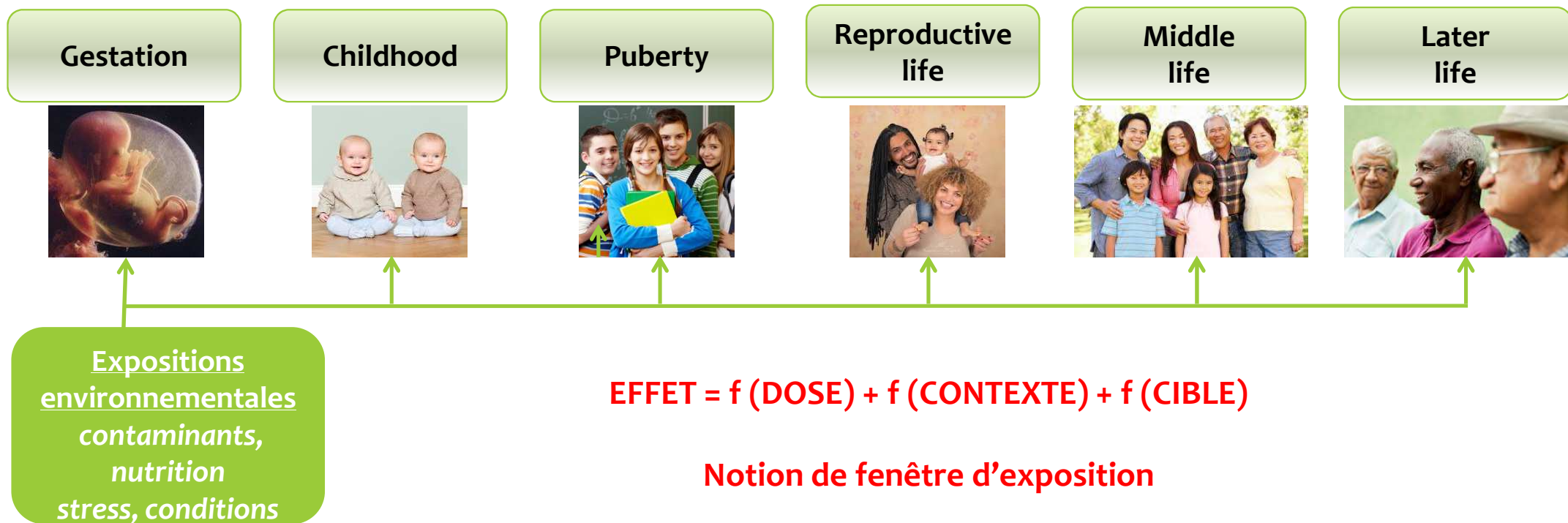
Oncométabolites = métabolites dont l'accumulation anormale provoque des dérégulations métaboliques et des dérégulations épigénétiques qui participent à la transformation maligne

Ex. fumarate, hydroxyglutarate, succinate

Formation Cancer et Environnement - 10 et 11 décembre 2020

Expositions environnementales et santé :

Une question de timing



Expositions environnementales et santé :

Une question de timing



Fenêtre d'exposition et concept DOHaD (Developmental Origins of Health and adult Diseases)

La notion de fenêtre d'exposition est renforcée par le concept DOHaD (Developmental Origins of Health and adult Diseases), qui repose sur l'idée que de nombreuses pathologies de l'âge adulte trouvent leur origine dans les expositions environnementales rencontrées pendant le développement foetal (Barker, 2004; Barker et al., 2002)

Expositions environnementales et santé :

Une question de timing



Fenêtre d'exposition et concept DOHaD (Developmental Origins of Health and adult Diseases)

Exemple de la vinclozoline (fongicide de la famille des dicarboximides)

- **Effets anti-androgéniques** → altération de la spermatogenèse (↓ nombre et motilité des spermatozoïdes, ↑ nombre des formes anormales (Anway et al., 2008)
- **Effets transgénérationnels** qui touchent non seulement la génération exposée *in utero* (F1), mais aussi les 3 générations suivantes (F2, F3, F4) qui elles, n'ont pas été exposées
- **Mécanismes épigénétiques** évoqués pour expliquer ces effets, avec la mise en évidence d'anomalies de la méthylation de fragments d'ADN du sperme des générations F1-F3 (Anway et al., 2005)

Expositions environnementales et santé :

Effets épigénétiques pérennes et transgénérationnels

Table 11.1 Epigenetic transgenerational inheritance

Environmental epigenetic transgenerational inheritance	Reference
Vinclozolin induced epigenetic transgenerational adult-onset disease in rats (F1–F4)	Anway et al. (2005)
BPA-induced transgenerational testicular abnormality (F1–F3)	Salian et al. (2009)
Dioxin induced transgenerational uterine abnormality (F1–F4)	Bruner-Tran and Osteen (2011)
Morphine induced	Vyssotski (2011)
Stress induced behavior alterations (F0–F2)	Matthews and Phillips (2010, 2011)
Nutrition induced transgenerational obesity in mice (F1–F3)	Waterland et al. (2008), Bertram et al. (2008), Pentinat et al. (2010), Kaati et al. (2007)
Transgenerational response in longevity to nutrition (F0–F2)	Waterland et al. (2008), Bertram et al. (2008), Pentinat et al. (2010), Kaati et al. (2007)
Tumor susceptibility in <i>Drosophila</i> (F1–F3)	Xing et al. (2007)
Stem cell culture-induced adult-onset disease (F0–F4)	Lee et al. (2009)

Expositions environnementales et santé :

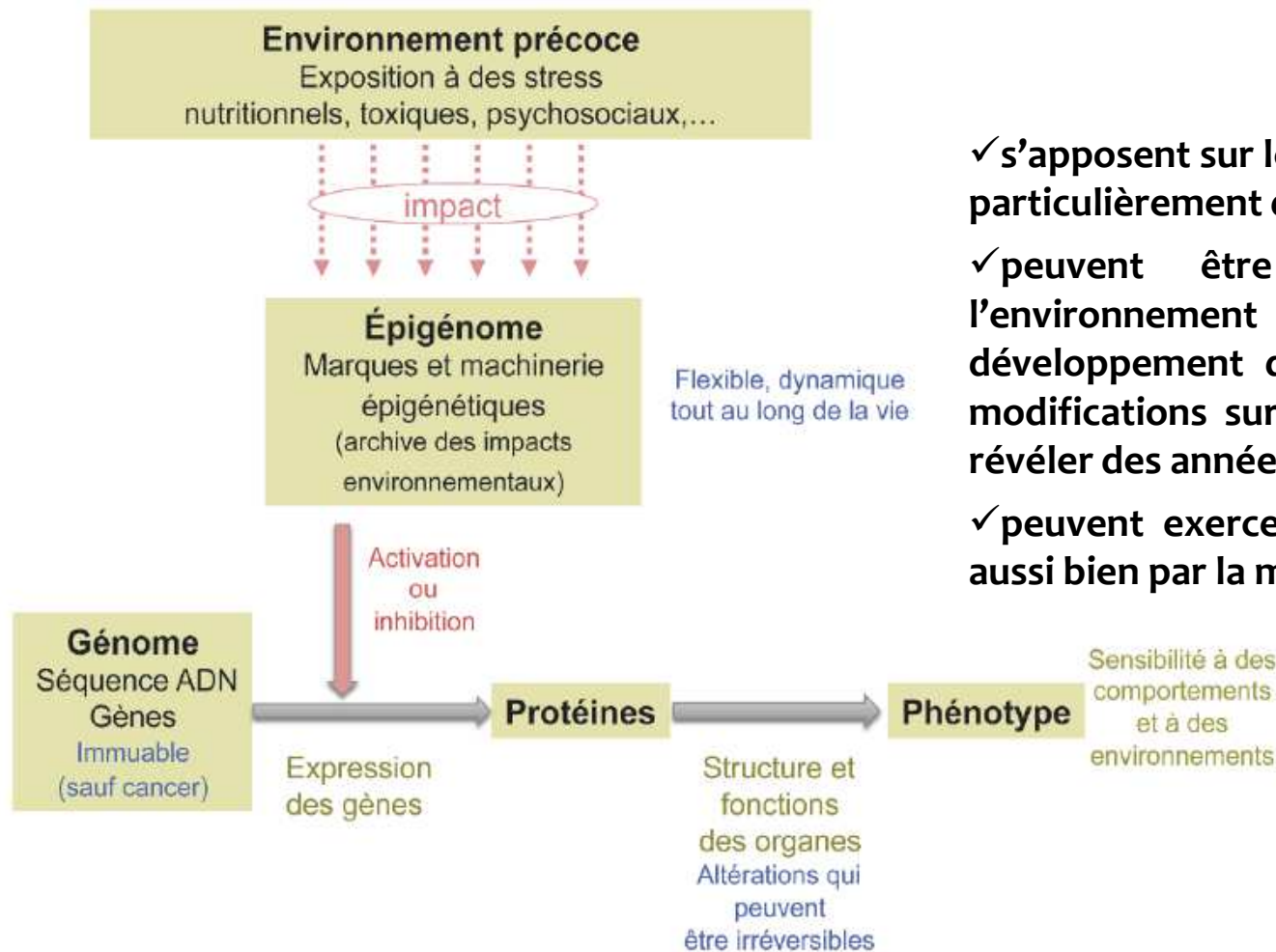
Une question de timing



Fenêtre d'exposition et concept DOHaD (Developmental Origins of Health and adult Diseases)

- **Importance de la nutrition de la mère** pendant la grossesse et la période postnatale
- **Nutrition déséquilibrée** → dérégulations métaboliques irréversibles pouvant favoriser l'émergence de pathologies chroniques (diabète, obésité...)
- **Exposition à des perturbateurs endocriniens et/ou métaboliques** pendant cette fenêtre de vulnérabilité → conséquences sur la santé de l'adulte

Conclusion



Marques épigénétiques

- ✓ s'apposent sur le génome tout au long du développement et particulièrement durant la vie *in utero*
- ✓ peuvent être à tout moment perturbées par l'environnement (réversibilité) MAIS selon le stade du développement qui a été altéré, les conséquences de ces modifications sur la santé peuvent être irréversibles et se révéler des années plus tard
- ✓ peuvent exercer des effets transgénérationnels, transmis aussi bien par la mère que par le père

Quelques pistes pour diminuer son exposition



- Diversifier les aliments et les provenances
- Fruits et légumes +++++

- Viandes, charcuteries - - - -
- Aliments ultra-transformés - - - -
- Poissons : varier espèces et provenance
- Process de préparation
- Contenants alimentaires

- Fenêtre d'exposition + effets à très faible dose
- Focus sur période foétale, enfance et adolescence**

- **AERER!!!! Air intérieur parfois plus pollué que air extérieur**
- **Tabac, alcool!!!**
- **Faire de l'exercice!!!!**