



HAL
open science

Téломères et Télomérase : des cibles toujours pertinentes en oncologie ?

Jean-louis Mergny, Lionel Guittat, Évelyne Ségal-Bendirdjian

► To cite this version:

Jean-louis Mergny, Lionel Guittat, Évelyne Ségal-Bendirdjian. Téломères et Télomérase : des cibles toujours pertinentes en oncologie?. Bulletin du Cancer, 2020, 108, pp.30-54. 10.1016/j.bulcan.2020.10.007 . hal-03030331

HAL Id: hal-03030331

<https://hal.science/hal-03030331>

Submitted on 30 Nov 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Télomères et Télomérase : des cibles toujours pertinentes en oncologie ?

Are telomeres and telomerase relevant targets in oncology?

Jean-Louis Mergny^{1*}, Lionel Guittat^{1,2} & Évelyne Ségal-Bendirdjian³

1. Laboratoire d'Optique et Biosciences, École Polytechnique, CNRS, INSERM, Institut Polytechnique de Paris, 91128 Palaiseau cedex, France.
2. Université Sorbonne Paris Nord, INSERM U978, F-93017 Bobigny, France, France.
3. Université de Paris, INSERM UMR-S 1124, Équipe : Homéostasie Cellulaire, Cancer, et Thérapies, INSERM US36/CNRS UMS 2009, BioMedTech Facilities, F-75006 Paris, France.

*Correspondence: J.-L. Mergny (jean-louis.mergny@inserm.fr).

Mots-clés : Télomères ; télomérase ; prolifération cellulaire ; inhibiteur ; G-quadruplex ; imételstat

Introduction : la découverte de la télomérase a suscité beaucoup d'espoirs

La découverte de la télomérase dans les années 90 a suscité de grands espoirs en cancérologie et en médecine régénérative. Elle a été récompensée par le prix Nobel de médecine décerné en 2009 à Elizabeth H. Blackburn, Carol W. Greider et Jack W. Szostak¹. Dans les eucaryotes unicellulaires comme les ciliés, la télomérase est exprimée de manière constitutive pour contrer l'érosion répliquative des télomères ; en revanche, dans les organismes pluricellulaires, la télomérase n'est exprimée qu'à certains stades du développement ou dans certains tissus seulement.

La télomérase est une transcriptase inverse très spécialisée, c'est-à-dire une ADN polymérase RNA-dépendante, qui n'utilise qu'un seul ARN matrice appelé hTR (ou hTERC) chez l'homme. La sous-unité catalytique, hTERT, possède des homologies de structure avec les transcriptases inverses virales. Elle ne réalise la transcription inverse de son substrat, hTR, que sur une très courte région et ce, de manière répétée, permettant l'addition de multiples copies du motif GGTTAG qui, associées à des protéines spécifiques, forment à l'extrémité des chromosomes des structures particulières appelés télomères. Les lecteurs intéressés par la compréhension de l'assemblage et de la régulation de ces complexes ribonucléoprotéiques pourront se référer à quelques revues récentes [Wang 2017 ; Schmidt 2015 ; Roake 2020]. La structure tridimensionnelle de la télomérase humaine a récemment été résolue par cryomicroscopie électronique [Nguyen 2018].

Chez l'homme, la télomérase est absente de la plupart des cellules somatiques adultes normales (avec quelques exceptions notables, les cellules souches, les cellules immunitaires et les cellules germinales), mais elle est réactivée dans la plupart des cellules cancéreuses. La télomérase constitue non seulement un **marqueur** tumoral, mais également une **cible**, puisque son activité est indispensable à la prolifération à long terme de ces cellules. Hahn et Weinberg avaient montré dès 1999 que l'inactivation de la télomérase dans des cellules cancéreuses était suffisante pour limiter la prolifération et la croissance de cellules tumorales [Hahn 1999]. Ces observations permettaient d'espérer cibler uniquement les cellules qui dépendraient de son activité. Contrairement à la plupart des agents utilisés en chimiothérapie, les agents anti-télomérase n'auraient pas d'effet sur la plupart des cellules saines. Qu'en est-il 20 ans plus tard ?

¹ <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2009/summary/>

On se placera ici uniquement du point de vue des applications thérapeutiques en oncologie. En ce qui concerne l'utilisation de la télomérase ou la longueur des télomères en tant que marqueurs de diagnostic, différentes revues ou méta-analyses [Hiyama 2003 ; Wang 2018 ; Colebatch 2019] présentent l'état de l'art.

Différentes stratégies thérapeutiques peuvent être envisagées : cibler directement l'activité télomérase ou son substrat, les télomères, chercher à réduire l'expression de la sous-unité catalytique hTERT ou bien cibler les protéines « accessoires » de la télomérase, comme la tankyrase I, une ADP-ribose polymérase, des protéines liant l'ARN et possédant un motif H/ACA (dyskérine, NHP2, NOP10, et GAR1) ou des ATPases comme la reptine et la pontine. Enfin, il est possible de viser les protéines du complexe shelterine (TRF1, TRF2, etc.) qui coiffent les télomères. En effet, des composés ciblant des protéines clés de la signalisation de RAS inhibent la phosphorylation des protéines télomériques TRF1 et TRF2, ce qui induit un effet antiprolifératif via une déprotection des télomères et l'activation des systèmes de réparation de l'ADN [Bejarano 2019 ; Picco 2016, Cherfils-Vicini 2019]. Ces dernières stratégies ne seront pas abordées dans cette mini-revue ; on pourra se référer à [Bajaj 2020 ; Berei 2020] pour avoir une vue d'ensemble des inhibiteurs agissant par ce biais.

L'action d'hTERT n'est pas limitée à son activité enzymatique d'élongation des télomères

La télomérase possède également des fonctions « extra-télomériques » (c'est à dire indépendantes de l'activité d'allongement des télomères) qui peuvent favoriser la prolifération et la survie cellulaire. Aussi une stratégie anti-télomérase peut alors entraîner des effets non-télomériques, potentiellement bénéfiques s'ils conduisent à une diminution de la prolifération tumorale, mais également délétères si ces effets concernent les cellules normales. Une discussion détaillée de ces fonctions extra-télomériques sort du cadre de cet article, et est présentée dans des revues récentes [Segal, 2019 ; Thompson 2020]. Mais il est essentiel de garder à l'esprit que l'effet d'agents anti-télomérase pourrait ne pas se limiter à un simple raccourcissement des télomères, ce qui constitue à la fois une opportunité et un risque liés à des effets secondaires indépendants de l'activité catalytique d'hTERT. On peut cependant rester optimiste : ces autres fonctions ouvrent de nouvelles perspectives de cibles, en particulier si l'on peut cibler l'interaction avec les protéines partenaires [Arndt 2016]. Inhiber l'expression spécifique de TERT devient alors une excellente option, car on éteint toutes les fonctions, et on ne se focalise plus sur le raccourcissement des télomères ou d'autres dysfonctionnements télomériques.

hTERT régule un large éventail de fonctions indépendantes de son activité d'élongation des télomères, qui concernent la transduction du signal, la régulation de l'expression de certains gènes ou la protection contre les dommages oxydatifs. Si l'on considère les « *Hallmarks of Cancer* » définis par Hanahan et Weinberg, on se rend compte que la télomérase est impliquée dans la totalité d'entre elles, et pas simplement dans l'immortalité répllicative [Thompson 2020] ! Il semble en effet que la télomérase est présente en quantités plus que suffisantes dans la cellule tumorale pour maintenir la longueur des télomères, ce qui lui permet d'assurer d'autres fonctions. hTERT peut agir comme un modulateur de la chromatine ou même comme un facteur de transcription, qui régulerait entre autres MYC... lui-même agissant sur la transcription de hTERT ! Par ailleurs, des résultats récents relient hTERT aux mitochondries et suggèrent un rôle protecteur de hTERT dans les neurones par inhibition d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) : on est bien loin des télomères et de la sénescence répllicative ! Par ailleurs, dans certains cancers, le niveau d'expression d'hTERT a parfois une valeur pronostique supérieure à celle de l'activité de la télomérase, ce qui suggère que ses fonctions non télomériques puissent être essentielles. Cependant ces conclusions sont à prendre avec précautions dans la mesure où, à ce jour de façon et surprenante, nous manquons de réels outils pour mesurer précisément l'activité de la télomérase au niveau des télomères. De la même

façon, le gène hTERT étant soumis à de multiples événements d'épissage alternatif, les données présentant des mesures d'expression ARN de hTERT sont à considérer avec prudence.

Le gène d'hTERT est composé de 16 exons et 15 introns ; il s'étend sur environ 40 kb, et peut donner lieu à un nombre important de variants d'épissage. Certains de ces variants sont catalytiquement inactifs, ce qui complique l'interprétation des données d'expression. Selon la lignée cellulaire ou le tissu étudié, la proportion de protéine complète et fonctionnelle peut aller de 1 à 90 %. Si un variant hTERT est privé de son site catalytique, il n'aura bien sûr pas de rôle dans le maintien de la longueur des télomères, ce qui n'exclut pas pourtant de conserver des fonctions extra-téломériques. L'induction de l'expression de différents variants d'hTERT a révélé que l'activité catalytique, et donc la capacité d'allongement des télomères de hTERT n'était pas requise pour certains effets observés dans les tumeurs. Une fonction essentielle de hTERT serait par exemple de stimuler la transcription des gènes cibles de la beta-caténine, par formation d'un complexe hTERT-beta-caténine, maintenant ainsi la beta-caténine localisée dans le noyau et empêchant sa dégradation (pour revue : [Hannen 2018]).

Au bilan, ces activités extra-téломériques, très variées, sont sans doute un atout pour des inhibiteurs de ce complexe ribonucléoprotéique, puisque vitales pour la cellule cancéreuse. Il n'est pas certain en revanche qu'inhiber l'activité catalytique de l'enzyme procure un quelconque bénéfice si l'on veut viser ces fonctions, l'activité catalytique n'étant pas forcément requise.

L'importance des fonctions non téломériques de la téломérase pourrait expliquer pourquoi dans la majorité des tumeurs le mécanisme prépondérant de maintien de la longueur des télomères passe par la réactivation de la téломérase.

Proliférer sans téломérase ?

Si la très grande majorité des tumeurs réactivent la téломérase pour contrer l'érosion répliquative de leurs télomères, environ 10 % à 15 % des cellules cancéreuses activent une autre voie, mise en évidence dès 1995 [Bryan 1995], dépendante de la recombinaison et appelée ALT, pour *Alternative Lengthening of Telomeres*. La proportion de tumeurs préférant cette voie dépend fortement de leur origine ; les tumeurs « ALT » sont principalement d'origine mésenchymateuse, et dans certaines (ostéosarcomes ou gliomes) cette voie peut devenir majoritaire. Cette différence pourrait s'expliquer [Kent 2020] par une régulation de la téломérase plus stringente dans les cellules d'origine mésenchymateuse, ce qui réduirait les chances d'une réactivation de cet enzyme dans ces tumeurs. Un mécanisme de maintenance des télomères étant nécessaire pour une prolifération soutenue, le mécanisme ALT prendrait alors le relais (pour revue : [Recagni 2020])

Bien qu'il ait été montré dans certains cas que les mécanismes « ALT » et activation de la téломérase ne soient pas forcément mutuellement exclusifs, en général les cellules ALT se caractérisent par l'absence d'activité téломérase, une forte hétérogénéité de longueur de répétitions téломériques qui peuvent atteindre plusieurs dizaines de kilobases, et un niveau accru d'échanges de chromatides sœurs des télomères. On retrouve également des répétitions téломériques extra-chromosomiques (et la présence de « C-circles » semble être un marqueur fiable du statut ALT [Henson, 2009]), une augmentation de la transcription de TERRA (un long ARN non codant, voir plus loin) et la présence de corps nucléaires leucémiques promyélocytaire (APB pour *ALT-associated Promyelocytic leukemia Bodies*). Malheureusement, la plupart de ces marqueurs ne sont pas facilement utilisables en clinique, et les tumeurs ALT restent donc souvent mal caractérisées. Il en est de même au niveau moléculaire, ce qui explique en partie la quasi-absence de composés ciblant cette voie ; un des événements les plus récurrents semble être la perte du répresseur ATRX, qui semble nécessaire à la mise en route de ce mécanisme. Une autre mutation fréquemment rencontrée concerne le complexe

de remodelage de la chromatine protéique associée au domaine de mort (DAXX). D'autres mutations se trouvent dans les gènes de l'histone H3.3, de SMARCA1 ou de l'isocitrate déshydrogénase (IDH1 ; mutations rencontrées presque exclusivement dans les gliomes et autres cancers du système nerveux central). De nombreuses protéines mutées dans les tumeurs ALT ont un rôle dans le stress répliatif ou la réparation des cassures de l'ADN [Kent 2020] et une revue récente sur les altérations de la chromatine télomérique, y compris dans les tumeurs ALT, suggère que les agents agissant sur la chromatine pourraient avoir un rôle bénéfique pour ces tumeurs [Cacchione 2019].

Le pronostic des tumeurs ALT est souvent mauvais, ces tumeurs étant souvent résistantes aux traitements classiques. De manière intéressante, les cellules ALT, sans doute en raison de l'absence d'ATR, sont également sensibles aux inhibiteurs de POL I, suggérant que les inhibiteurs de cette ADN polymérase pourraient être efficaces sur ces tumeurs [Udugama 2018].

Inhibiteurs catalytiques

Peu de composés sont des inhibiteurs directs de la télomérase. La structure tri-dimensionnelle du domaine catalytique est pourtant connue, et la conception rationnelle d'inhibiteurs facilitée par la connaissance de son site actif.

L'azidothymidine, ou AZT (Figure 1) est l'un des premiers inhibiteurs décrits de la télomérase, et son action n'est pas une surprise, compte-tenu de l'homologie structurale et fonctionnelle avec la transcriptase inverse d'HIV. L'AZT a été utilisé dans des essais cliniques de phases I et II sur différentes tumeurs solides, seul ou en combinaison avec d'autres agents. Le traitement par AZT pourrait constituer une thérapie adjuvante dans les cas où les traitements conventionnels réduisent le volume de la tumeur en laissant le temps à l'AZT d'agir dans les cellules tumorales survivantes restantes (pour revue : [Mengual 2016]). Compte-tenu du grand nombre d'analogues de nucléosides développés contre les rétrovirus, il n'est pas surprenant que certains de ces composés aient également une activité contre la télomérase mais, mis à part l'AZT, aucun n'est parvenu en clinique pour cette utilisation. Certains composés présentent des propriétés prometteuses, comme le 5-MeCITP, aussi efficace que l'AZT mais moins cytotoxique sur des cellules n'exprimant pas la télomérase [Hernandez 2019].

BIBR1532 est un inhibiteur de la télomérase très actif (IC_{50} : 93 nM ; formule présentée en Figure 1) dont le mécanisme d'action passerait par sa fixation sur le site actif de hTERT, perturbant ainsi l'interaction de la protéine avec son ARN matrice hTR [Pascolo 2002]. Si cette molécule continue d'être étudiée *in vitro*, seule ou en association avec d'autres traitements, elle n'a pas fait l'objet d'essais cliniques. BIBR1532 peut induire dans les vaisseaux sains un phénotype vasculaire similaire à celui observé chez les sujets atteints de coronaropathie, suggérant que ce type d'inhibiteurs de la télomérase peut avoir des effets secondaires toxiques importants qui ne seraient pas forcément liés à l'action directe de cette molécule sur l'activité télomérase mais à son action sur l'expression de gènes impliqués dans la survie cellulaire (pour revue [Ait-Aissa 2016]).

Un nombre important de composés naturels ou artificiels inhibent la télomérase *in vitro* (pour revue : [Chen 2016]); il s'agit en particulier de flavonoïdes, d'alcaloïdes ou de polyphénols bien connus, comme la berbérine, le resvératrol et la curcumine (mais cette dernière est retrouvée dans la quasi-totalité des criblages... quelle que soit la cible ! « *Curcumin will waste your time* »²). Betori *et al.* ont récemment présenté une nouvelle classe d'inhibiteurs inspirés de produits naturels et capables de se lier de manière covalente au site actif de l'enzyme [Betori 2020]

² <https://blogs.sciencemag.org/pipeline/archives/2017/01/12/curcumin-will-waste-your-time>

La plupart de ces composés n'ont hélas été testés qu'*in vitro* et, quand ils ont démontré une activité antitumorale dans un modèle animal, la démonstration que l'inhibition de la télomérase est impliquée dans l'effet observé n'est que très rarement apportée.

Enfin, s'il suffit (moyennant quelques précautions) *in vitro* de reconstituer le complexe hTR-TERT pour obtenir une activité télomérase, le complexe catalytiquement actif dans la cellule est de taille imposante (500 kDa), car il contient également des partenaires stables (dyskérine, TCAB1) ou transitoires (pontine, reptine, chaperonnes comme Hsp90). Les résultats d'inhibition ne sont donc pas forcément transposables *in vivo*. La télomérase a par ailleurs besoin d'atteindre son substrat, le télomère, dans la cellule, et cette interaction est médiée par TPP1, une des protéines du complexe shelterine. On pourrait inhiber cette interaction pour inhiber la télomérase dans la cellule, sans que cela ait un effet visible dans un test *in vitro*.

Oligonucléotides anti-télomères ou télomérase

Une stratégie alternative consiste à cibler la partie ARN de l'enzyme, hTR, qui sert de matrice à la transcription inverse. La stratégie la plus naturelle était de concevoir des oligonucléotides antisens complémentaire de cette région, et des centaines d'analogues ont été développés. La molécule la plus étudiée, GRN163L ou imételstat, est un inhibiteur sélectif *in vitro*, parvenu en essais cliniques de phase 2. L'imételstat est un oligonucléotide de chimie N3'-P5' thio-phosphoramidate, comportant 13 bases et conjugué à un groupement lipidique. Un premier dérivé dépourvu de ce groupement lipidique, GRN163, n'avait pas donné de résultats probants.

Les résultats obtenus en clinique avec le GRN163L restent très mitigés. Si pas moins de 40 essais cliniques dans clinicaltrials.gov mentionnent l'imételstat, un seul est encore en cours (NCT02598661) pour une utilisation dans les syndromes myélodysplasiques. Débuté en 2015, il comprend 225 participants et devrait se terminer en 2022. En revanche, l'imetelstat s'est révélé incapable de prolonger la survie de patients atteints de cancer du poumon non à petites cellules à un stade avancé. Les effets secondaires notables sont neutropénie, anémie et thrombocytopenie. Pire encore, une étude sur des enfants atteints de tumeurs du système nerveux central fut interrompue avant son terme en raison du décès de deux patients à la suite d'hémorragies secondaires à une thrombocytopenie, sans qu'une réponse objective soit observée, même si une inhibition de la télomérase avait bien été obtenue [Salloum 2016]. Cette toxicité (lymphopénie, neutropénie, thrombocytopenie) avait déjà été observée dans d'autres essais, chez des adultes ou des enfants, et un adulte était déjà décédé d'une hémorragie intracrânienne. En revanche, une autre étude sur la thrombocythémie essentielle s'est révélée plus prometteuse, avec 100 % des patients répondant au traitement (18/18) et 89 % (16/18) présentant une réponse complète (essai NCT01243073 ; [Baerlocher 2015]).

Une autre catégorie d'oligonucléotides agissant par un mécanisme totalement différent est constituée par les T-oligos, de courtes séquences d'ADN simple-brin riches en guanine et homologues de l'extrémité télomérique. Un exemple est T11, un ADN simple brin comprenant 11 nucléotides GTTAGGGTTAG ; il correspond donc à près de deux répétitions télomériques, mais ne comporte qu'un seul bloc GGG, ce qui minimise les chances de former un G-quadruplex (voir plus bas). Ces oligonucléotides ont démontré une activité antiproliférative dans plusieurs lignées cellulaires cancéreuses (pour revue : [Shrank, 2018]) ainsi qu'une toxicité minimale ou nulle chez les souris, les mélanocytes ou d'autres cellules normales. Pour autant, ces agents ne sont pas encore parvenus en clinique, en partie parce que leur mode d'action n'est pas totalement caractérisé.

Une stratégie récemment mise en œuvre consisterait à détourner l'action de la télomérase, protectrice des télomères, en lui faisant incorporer des nucléotides modifiés au niveau des télomères

compromettant ainsi les fonctions télomériques. C'est ce qui a été réalisé en faisant incorporer par la télomérase un analogue de la guanine, la 6-thio-désoxyguanine conduisant à une déprotection des télomères et à la mort des cellules [Mender 2015]. Cette stratégie ne repose pas sur l'inhibition directe de l'activité télomérase ; au contraire cette activité est requise pour qu'elle soit efficace. Par contre cette stratégie s'est avérée spécifique des tumeurs télomérase-positives comme le sont les stratégies par immunothérapie décrites ci-dessous.

Immunothérapie

L'immunothérapie est devenue le quatrième pilier du traitement du cancer après la chirurgie, la chimiothérapie et la radiothérapie et comprend l'utilisation de cytokines, d'anticorps, d'inhibiteurs de checkpoints ou de cellules immunitaires telles que les cellules dendritiques (CD) et les cellules T.

Pour développer une immunothérapie anticancéreuse, il est nécessaire d'identifier les antigènes cibles associés aux tumeurs (TAA) : hTERT constitue l'un de ces antigènes (pour revue : [Mizukoshi 2019][Carrozza 2018]). L'avantage de cet antigène est qu'il est quasi universel, et non spécifique à chaque patient, puisque impliqué dans la survie de toutes les tumeurs télomérase-positives. De petits fragments de protéolyse de la protéine hTERT peuvent en effet être présentés à la surface des cellules cancéreuses ; ils peuvent induire l'activation de lymphocytes T cytotoxiques et une réponse immune anti-tumorale. Ces peptides provenant de hTERT forment des complexes avec les molécules du CMH de classe I et de classe II. À ce jour, plus de 30 peptides hTERT sont utilisés comme mimotopes.

Parmi les principaux vaccins dérivés de peptides figure en bonne place le GV1001 (ou tertomotide ; 14 essais sont recensés avec ce vaccin dans clinicaltrials.gov, mais deux d'entre eux concernent la maladie d'Alzheimer), dérivé d'un peptide de 16 acides aminés (acides aminés 611–626 d'hTERT, EARPALLTSRLRFIPK). Des expériences ont montré une réponse au traitement dans des cancers du poumon non à petites cellules, ainsi que dans les mélanomes et cancers pancréatiques et hépatiques. Malheureusement, dans un essai de phase III pour des patients atteints d'un cancer du pancréas métastatique, l'ajout de GV1001 à la chimiothérapie (gemcitabine) n'a pas amélioré la survie globale ([NCT00358566](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00358566)).

GX301, parvenu en phase I/II sur des cancers de la prostate et des carcinomes rénaux, est un vaccin composé d'un mélange de 4 peptides dérivés d'hTERT (acides aminés 540-548, 611-626, 672-686 et 766-780). Un autre vaccin, appelé UV1, est composé d'un mélange de 3 peptides (691-905, 660-689, 652-665). Enfin, Vx-001, développé par Vaxon-Biotech en France, comprend lui deux peptides très proches, RLFFYRKSV et YLFFYRKSV, ce dernier ayant été optimisé. Vx-001 a été testé dans une étude clinique à relativement grande échelle sur plus de 200 patients ([NCT01935154](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01935154), [Menez 2016]).

Outre ces approches combinant des peptides d'hTERT, il est également possible d'utiliser des cellules dendritiques ciblant hTERT. Les cellules dendritiques jouent un rôle important dans l'induction d'une immunité adaptative et le soutien de la réponse immunitaire innée. GRNVAC1 est un vaccin contre le cancer à base de cellules dendritiques produit par transduction de ces cellules avec un ARNm codant hTERT (ainsi qu'une protéine lysosomique, Lamp1, pour amener hTERT dans les lysosomes où il est dégradé en petits peptides) (pour revue : [Mizukoshi 2019]).

Même si ces traitements ne provoquent pas d'effets secondaires délétères, leur efficacité est hélas modeste [Mizukoshi 2019]. En effet, hTERT reste un auto-antigène, et il est difficile d'induire des cellules T exerçant un effet contre de tels auto-antigènes. De plus, les affinités pour le TCR des cellules T induites sont faibles et, par conséquent, l'effet antitumoral est relativement limité. Par ailleurs, même dans des tumeurs possédant une activité télomérase élevée, le nombre de copies

d'hTERT présentes reste faible (quelques centaines) : la cible n'est donc pas très abondante, ce qui limite sans doute l'efficacité de l'immunothérapie.

Virus oncolytiques

Les virus oncolytiques sont conçus pour se répliquer sélectivement dans les cellules tumorales. Leur effet antitumoral s'explique par l'induction d'une immunité systémique et anti-tumorale, et par la mise à mort directe des cellules cibles. Deux virus oncolytiques spécifiques pour la télomérase ont été développés jusqu'à présent : il s'agit de la télomélysine (OBP-301) et du télomeScan (OBP-401). La télomélysine est un vecteur adénoviral atténué dans lequel le promoteur d'hTERT entraîne l'expression des gènes E1A et B, susceptible d'induire une lyse médiée par le virus des cellules surexprimant TERT. Ce composé est parvenu en phases I / II (6 essais, tous en cours, recensés dans clinicaltrials.gov) dans les hépatocarcinomes, mélanomes métastatiques et cancers de l'œsophage [Nemunaitis 2010]. OBP-401 est quant à lui un adénovirus utilisé pour détecter des cellules tumorales circulantes vivantes dans le sang.

Une approche à base de virus oncolytiques peut également être envisagée dans des cellules ALT, car ATRX joue également un rôle dans la réponse immunitaire virale innée. Certains virus étant incapables de se répliquer dans les cellules ATRX positives, on pourrait envisager de les utiliser pour délivrer une charge utile fatale aux cellules ALT déficientes en ATRX [Bommareddy 2017].

Stratégies Quadruplex

Les acides nucléiques riches en guanines peuvent adopter une conformation inhabituelle appelée G-quadruplex, ou G4, qui repose sur la formation de quartets de guanines. Ces structures se forment spontanément dans des conditions physiologiques, pour peu que les deux brins de la double-hélice soient dissociés. Une fois formées, ces structures posent des problèmes aux machineries de transcription et de réplication, et doivent être pris en charge par des hélicases spécialisées. L'extrémité simple-brin riche en G des chromosomes offre une opportunité unique à la formation de ces structures, puisque le brin complémentaire n'est pas présent. La formation *in vitro* de quadruplex par le motif télomérique humain (GGGTTA)_n a fait l'objet de nombreuses études. La formation de quadruplex sur ce brin télomérique perturbe l'extension par la télomérase, et cette inhibition est renforcée si ce quadruplex est stabilisé par l'interaction avec des ligands spécifiques. La structure G4 autorise en effet la conception de petites molécules les reconnaissant sélectivement, ce qui conduit à une inhibition indirecte de la télomérase. De très nombreux composés naturels ou synthétiques se sont révélés actifs par ce biais (pour revue [Sarawati 2019]); il faut cependant garder à l'esprit que le test TRAP (*Telomerase repeat amplification protocol*), communément utilisé pour mesurer l'activité télomérase, n'est pas adapté à l'évaluation de ces dérivés [De Cian 2007] : la télomestatine, dont la formule est présentée en **Figure 1**, peut inhiber la télomérase en stabilisant une configuration « bloquée » de son substrat, qui ne peut plus être allongée. Une telle inhibition est généralement mise en évidence par un test TRAP, et une IC₅₀ remarquable de 0,64 nM est alors déterminée. Néanmoins, cette valeur est artéfactuelle : ce n'est pas l'étape d'élongation par la télomérase qui est affectée, mais l'étape d'amplification par PCR. L'IC₅₀ apparente est identique si la télomestatine est ajoutée après l'inactivation de la télomérase ! L'IC₅₀ réelle contre la télomérase ne peut être déterminée qu'avec un test direct, sans amplification, et est en réalité de l'ordre du micromolaire : l'activité antitélomérase de ce composé était donc ainsi surestimée d'un facteur 1500 par le test TRAP ! [De Cian 2007]. Par ailleurs, une inhibition de la télomérase par les G-quadruplex n'est pas toujours observée [Moye 2015]. De plus, des sites quadruplex sont également présents en grand nombre dans d'autres régions du génome, et l'effet antiprolifératif de certains de ces composés pourrait s'expliquer par leur action sur le promoteur de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire. Au moins un ligand de quadruplex, la quarfloxine, est parvenu en essais cliniques

([NCT00955786](#)) mais le mécanisme d'action présumé n'impliquait pas de cible télomérique. Le promoteur du gène hTERT est également riche en répétitions de guanines, et la formation de G-quadruplex dans cette région a également été analysée (voir § suivant). Enfin, une synergie intéressante a été notée *in vitro* entre les radiations ionisantes et certains ligands de quadruplex [[Merle 2011 ; 2015](#)].

Une caractéristique qui rend attrayants les ligands de quadruplex est qu'ils seraient également actifs dans des cellules ALT : la sensibilité de différentes lignées cellulaires d'ostéosarcome à un ligand G4 (RHPS4) est la même, que ces cellules soient ALT-positives ou télomérase-positives. RHPS4 affecte les mécanismes ALT par l'induction d'un stress réplicatif qui à son tour est converti en dommages à l'ADN au niveau des télomères, alimentant la recombinaison. Les dommages à l'ADN télomérique induits par RHPS4 favorisent la suractivation de la recombinaison télomérique dans les cellules ALT, renforçant l'idée que des ligands de G-quadruplex ne sont pas de simples inhibiteurs de la télomérase [[Amato 2020](#)]. Par ailleurs, il est intéressant de souligner qu'au niveau moléculaire, la protéine ATRX (absente des ALT) reconnaît les G-quadruplex [[Law 2010](#)]. ATRX contribuerait à leur résolution : les cellules carencées en ATRX forment plus de ces structures, et l'on observe une augmentation des dommages à l'ADN et de la mort cellulaire induite par des ligands G4, ainsi qu'une synergie entre ces ligands et d'autres traitements endommageant l'ADN dans ces mêmes cellules [[Wang 2019](#)].

La formation de G4 ne se limite pas à l'ADN. Deux ARN non codants en rapport avec les télomères sont également susceptibles d'adopter cette conformation. Il s'agit d'abord de TERRA, résultant de la transcription de répétitions télomériques, conduisant ainsi à la production d'un ARN comportant de multiples répétitions du motif r-(GGGUAA). De plus, l'ARN matrice de la télomérase (hTR) comporte également une région riche en G à l'extrémité 5' qui peut basculer en structure G4. Nous avons d'ailleurs conçu un test à haut débit pour identifier des composés perturbant la structure d'hTR en favorisant cette conformation [[Lacroix, 2011](#)]. L'utilisation de ligands de G4 pourrait donc également interférer avec les fonctions de ces deux ARN.

Le promoteur d'hTERT

L'expression de hTERT est un élément déterminant et le facteur limitant de l'activité télomérase. Aussi la compréhension de la régulation de cette expression est fondamentale pour envisager des stratégies pouvant la cibler. Cibler cette expression permettrait de cibler toutes les fonctions de la télomérase (télomériques et extra-télomériques). C'est ce qui a été montré dans des études utilisant un agent, l'acide rétinoïque tout *trans* (ATRA), déjà utilisé en clinique pour le traitement de la leucémie aiguë promyélocytaire [[Pendino 2001](#)]. Ce dérivé de la vitamine A utilisé comme traitement de cette pathologie pour son activité cytodifférentielle induit la répression de hTERT même en l'absence de différenciation. Cette répression conduit à la diminution de la longueur des télomères et à la mort des cellules leucémiques selon un processus télomérase-dépendant. Il a aussi été démontré que la répression de hTERT par l'ATRA sensibilise les cellules à certaines thérapies anticancéreuses et permet de lever des résistances responsables des échecs thérapeutiques non seulement dans la leucémie aiguë promyélocytaire mais aussi dans la leucémie myéloïde chronique en phase blastique [[Deville 2011](#)].

La régulation transcriptionnelle d'hTERT est complexe, avec une soixantaine d'activateurs ou de répresseurs recensés. La formation de G-quadruplex en tandem par un fragment de 68 nucléotides riche en G de ce promoteur a récemment été étudiée par une approche de biologie structurale intégrée [[Monsen 2020](#)]. Mais, que l'on s'intéresse ou non à la formation de conformations inhabituelles d'acides nucléiques dans ce gène, il est frappant de constater que des mutations récurrentes dans ce promoteur sont présentes dans certaines tumeurs solides en particulier dans des

gliomes, mélanomes et hépatocarcinomes (pour revue : [Hannen 2018]). Ces mutations conduiraient à une augmentation de l'expression de hTERT et à son maintien.

Dans un article récent dans *Nature Cell Biology*, Li *et al.* ont utilisé un système CRISPR d'édition de base programmable pour déterminer le potentiel de mutations présentes dans le promoteur du gène TERT, en particulier dans des glioblastomes. Ils ont réalisé la correction de la mutation présente à la position -124 (C>T). Cette correction bloque la fixation de certains facteurs de transcription au promoteur de hTERT, réduisant ainsi son expression, induisant la sénescence des cellules cancéreuses et l'arrêt de la croissance de gliomes possédant cette mutation. Cette étude constitue la démonstration que l'édition de gènes peut constituer une approche thérapeutique pour le cancer et confirme l'intérêt de viser les mutations activatrices du promoteur de hTERT [Li 2020].

Bien que la découverte de ces mutations aient conduit à un regain d'intérêt pour l'étude de ce promoteur, force est de constater que la majorité des tumeurs humaines ne porte pas de mutations dans le promoteur de hTERT ce qui signifie l'intervention d'autres mécanismes pour expliquer son induction transcriptionnelle [Barthel 2017].

Conclusion & perspectives

Si l'on décompte à ce jour plus de 140 essais cliniques mentionnant la télomérase dans clinicaltrials.gov, il n'y a malheureusement toujours pas de traitement anticancéreux validé ciblant directement l'activité de la télomérase. Comme on pouvait le craindre dès le départ, l'inhibition seule de l'extension des télomères par la télomérase n'est sans doute pas suffisante pour conduire à un effet antitumoral significatif ; l'association à d'autres traitements est sans nul doute nécessaire. Le BIBR1532 a par exemple été associé au paclitaxel dans des études *in vitro*. Une dysfonction télomérique, même partielle, peut augmenter la sensibilité à d'autres traitements, comme cela a été démontré avec la doxorubicine, toujours *in vitro* ou dans le cas d'une combinaison ATRA/imatinib dans la leucémie myéloïde chronique [Deville 2011].

Un autre problème est la présence d'une activité télomérase dans des cellules normales, pouvant conduire à des effets secondaires indésirables, notamment dans le cas d'une utilisation prolongée d'un inhibiteur, expliquant peut-être les effets secondaires sévères observés avec l'iméltstat. Mais ce composé a des effets cellulaires parfois très éloignés de ce qui serait attendu pour un simple inhibiteur de télomérase [Jackson 2007], ce qui laisse planer un doute sur son mécanisme d'action. De manière plus prosaïque, il est important de noter qu'il n'y pas d'anticorps commercial idéal contre la télomérase, et que l'un d'entre eux reconnaît en fait la nucléoline plutôt qu'hTERT ! [Wu 2006]. Par ailleurs, les modèles murins utilisés dans de nombreuses études *in vivo* présentent certaines limites : les souches de laboratoire de *Mus musculus* ont souvent des télomères très longs et le complexe chromatinien du gène hTERT est différent, avec une régulation un peu différente, et un profil d'expression moins restreint dans les tissus sains. Les résultats obtenus chez ce rongeur ne sont donc pas forcément directement transposables à l'homme.

Enfin, l'existence de mécanismes alternatifs de maintenance des télomères laisse craindre l'apparition de résistances à des inhibiteurs de télomérase. Des travaux ont en effet révélé que l'inhibition de la télomérase peut conduire à un phénotype ALT [Hu, 2012]. Mais ce sont peut-être justement les tumeurs ALT qui offrent des perspectives intéressantes, car l'arsenal thérapeutique actuel est limité, et une marge de progression importante subsiste dans la compréhension de ces tumeurs. Nous n'avons pas exploré toutes les voies d'inhibition : comme brièvement décrit, la télomérase forme un complexe de taille imposante dans la cellule, et certains facteurs « annexes » ne sont pas si accessoires que cela, et pourraient constituer des cibles intéressantes, comme les activités extra-télomériques d'hTERT. Il reste également beaucoup à apprendre sur les mécanismes

d'activation ou de répression de TERT dans un contexte physiologique (pendant la différenciation par exemple) et cela pourrait permettre l'identification de nouveaux modes d'inhibition.

Face à l'échec relatif de certaines stratégies anti-téломérase, des auteurs proposent une approche singulière, en affirmant que la *réactivation* de la téломérase pourrait être bénéfique pour la prévention de complications liées à un traitement antitumoral, par exemple pour contrer la toxicité d'anthracyclines pour les cardiomyocytes. Les fonctions pro-angiogéniques et anti-apoptotiques ROS de TERT joueraient alors un rôle cardioprotecteur [Bär 2017].

Un partenaire relativement négligé dans ces recherches (hors oligonucléotides antisens) est l'ARN matrice de la téломérase, hTR. On a longtemps cru que hTERT était le facteur limitant. Pourtant, la surexpression de hTR comme de hTERT pourrait augmenter l'activité de la téломérase [Xi 2014], en partie parce que les deux partenaires ne sont pas forcément assemblés dans la cellule : les auteurs estiment qu'il existe 240 complexes pour 500 protéines hTERT et plus de 1100 ARN hTR dans une cellule HeLa. Même si hTR est détectée dans des cellules normales, son niveau d'expression est augmenté dans les cellules tumorales. Considérer l'ARN comme une cible "*undruggable*" serait oublier un peu vite qu'un nombre important d'antibiotiques ciblent l'ARN ribosomal bactérien (par exemple, des tétracyclines, macrolides et aminoglycosides).

Enfin, même si aucun traitement anti-téломérase n'était efficace, il faut garder à l'esprit que les mesures de l'activité téломérase, de la longueur ou du raccourcissement des télomères peuvent constituer des marqueurs tumoraux utiles pour le diagnostic et le pronostic.

Déclaration de liens d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêt.

Remerciements : Les auteurs remercient Pierre Verrelle (Institut Curie) pour une lecture critique du manuscrit. Les travaux de l'équipe d'E.S.-B. sont financés par l'INSERM, le CNRS, et la Ligue Nationale Contre le Cancer (Comité Ile de France).

Références :

Ait-Aissa K, Ebben JD, Kadlec AO, Beyer AM. Friend or Foe? Telomerase as a Pharmacological Target in Cancer and Cardiovascular Disease. *Pharmacol Res.* 2016;111:422-433. doi: 10.1016/j.phrs.2016.07.003.

Amato R, Valenzuela M, Berardinelli F, Salvati E, Maresca C, Leone S, Antoccia A, Sgura A. G-quadruplex Stabilization Fuels the ALT Pathway in ALT-positive Osteosarcoma Cells. *Genes (Basel).* 2020;11(3):304. doi: 10.3390/genes11030304.

Arndt GM, MacKenzie KL. New prospects for targeting telomerase beyond the telomere. *Nat Rev Cancer.* 2016;16(8):508-24. doi: 10.1038/nrc.2016.55

Bajaj S, Kumar MS, Peters GJ, Mayur YC. Targeting telomerase for its advent in cancer therapeutics. *Med Res Rev.* 2020, 40: 1871-1919. doi: 10.1002/med.21674.

Baerlocher GM, Oppliger Leibundgut E, Ottmann OG, Spitzer G, Odenike O, McDevitt MA, Röth A, Daskalakis M, Burington B, Stuart M, Snyder DS. Telomerase Inhibitor Imetelstat in Patients with Essential Thrombocythemia. *N Engl J Med.* 2015;373(10):920-8. doi: 10.1056/NEJMoa1503479.

Bär C, Thum T. Changing Direction: From Therapeutic Telomerase Inhibition to Activation? *Circ Res* 2017; 120(9):1393-1395. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.310316.

Barthel FP, Wei W, Tang M, Martinez-Ledesma E, Hu X, Amin SB, Akdemir KC, Seth S, Song X, Wang Q, Lichtenberg T, Hu J, Zhang J, Zheng S, Verhaak RG. Systematic analysis of telomere length and somatic alterations in 31 cancer types. *Nat Genet.* 2017;49(3):349-357. doi: 10.1038/ng.3781.

Bejarano L, Bosso G, Louzame J, Serrano R, Gómez-Casero E, Martínez-Torrecuadrada J, Martínez S, Blanco-Aparicio C, Pastor J, Blasco MA. Multiple cancer pathways regulate telomere protection. *EMBO Mol Med.* 2019; 11: e10292

Berei J, Eckburg A, Miliavski E, Anderson AD, Miller RJ, Dein J, Giuffre AM, Tang D, Deb S, Racherla KS, Patel M, Vela MS, Puri N. Potential Telomere-Related Pharmacological Targets. *Curr Top Med Chem.* 2020;20(6):458-484. doi: 10.2174/1568026620666200109114339.

Betori RC, Liu Y, Mishra RK, Cohen SB, Kron SJ, Scheidt KA. Targeted Covalent Inhibition of Telomerase. *ACS Chem Biol.* 2020;15(3):706-717. doi: 10.1021/acscchembio.9b00945.

Bommareddy PK, Peters C, Saha D, Rabkin SD, Kaufman HL. Oncolytic herpes simplex viruses as a paradigm for the treatment of cancer. *Ann Rev Cancer Biol.* (2017) 2:155–73. doi: 10.1146/annurev-cancerbio-030617-050254.

Bryan TM, Englezou A, Gupta J, Bacchetti S, Reddel RR. Telomere elongation in immortal human cells without detectable telomerase activity. *Embo J* 1995; 14 : 4240-8.

Cacchione S, Biroccio A, Rizzo A. Emerging roles of telomeric chromatin alterations in cancer. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019;38(1):21. doi: 10.1186/s13046-019-1030-5.

Carrozza F, Santoni M, Piva F, Cheng L, Lopez-Beltran A, Scarpelli M, Montironi R, Battelli N, Tamberi S. Emerging immunotherapeutic strategies targeting telomerases in genitourinary tumors. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2018;131:1-6. doi: 10.1016/j.critrevonc.2018.07.008.

Chen Y, Zhang Y. Functional and Mechanistic Analysis of Telomerase: An Antitumor Drug Target. *Pharmacol Ther.* 2016;163:24-47. doi: 10.1016/j.pharmthera.2016.03.017.

Cherfils-Vicini, Gilson E. Inhibiting TRF 1 upstream signaling pathways to target telomeres in cancer cells. *EMBO Mol Med.* 2019; 11:e10845.

Colebatch AJ, Dobrovic A, Cooper WA. TERT gene: its function and dysregulation in cancer. *J Clin Pathol.* 2019;72(4):281-284. doi: 10.1136/jclinpath-2018-205653.

De Cian A, Cristofari G, Reichenbach P, De Lemos E, Monchaud D, Teulade-Fichou MP, Shin-Ya K, Lacroix L, Lingner J, Mergny JL. Reevaluation of telomerase inhibition by quadruplex ligands and their mechanisms of action. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104(44):17347-52.

Deville L, Hillion J, Pendino F, Samy M, Nguyen E, Ségal-Bendirdjian E. hTERT promotes imatinib resistance in chronic myeloid leukemia cells: therapeutic implications. *Mol Cancer Ther.* 2011;10(5):711-9. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0979.

Hahn WC, Stewart SA, Brooks MW, et al. Inhibition of telomerase limits the growth of human cancer cells. *Nat Med* 1999;5: 1164-70.

Hannen R, Bartsch JW. Essential roles of telomerase reverse transcriptase hTERT in cancer stemness and metastasis. *FEBS Lett.* 2018;592(12):2023-2031. doi: 10.1002/1873-3468.13084

Henson JD, Cao Y, Huschtscha LI, Chang AC, Au AY, Pickett HA, Reddel RR. DNA C-circles are specific and quantifiable markers of alternative-lengthening-of-telomeres activity. *Nat. Biotechnol.* 2009; 27, 1181–11855.

Hernandez-Sanchez W, Huang W, Plucinsky B, Garcia-Vazquez N, Robinson NJ, Schiemann WP, Berdis AJ, Skordalakes E, Taylor DJ. A non-natural nucleotide uses a specific pocket to selectively inhibit telomerase activity. *PLoS Biol.* 2019;17(4):e3000204. doi: 10.1371/journal.pbio.3000204.

Hiyama E, Hiyama K. Telomerase as tumor marker. *Cancer Lett.* 2003;194(2):221-33. doi: 10.1016/s0304-3835(02)00709-7.

Hu J, Hwang SS, Liesa M, Gan B, Sahin E, Jaskelioff M, Ding Z, Ying H, Boutin AT, Zhang H, Johnson S, Ivanova E, Kost-Alimova M, Protopopov A, Wang YA, Shirihaï OS, Chin L, DePinho RA. Antitelomerase therapy provokes ALT and mitochondrial adaptive mechanisms in cancer. *Cell.* 2012;148(4):651-63. doi: 10.1016/j.cell.2011.12.028.

Jackson SR, Zhu CH, Paulson V, Watkins L, Dikmen ZG, Gryaznov SM, Wright WE, Shay JW. Antiadhesive effects of GRN163L--an oligonucleotide N3'->P5' thio-phosphoramidate targeting telomerase. *Cancer Res.* 2007;67(3):1121-9. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2306.

Kent T, Gracias D, Shepherd S, Clynes D. Alternative Lengthening of Telomeres in Pediatric Cancer: Mechanisms to Therapies. *Front Oncol* 2020; 9:1518. doi: 10.3389/fonc.2019.01518

Lacroix L, Séosse A, Mergny JL. Fluorescence-based duplex-quadruplex competition test to screen for telomerase RNA quadruplex ligands. *Nucleic Acids Res.* 2011;39(4):e21.

Law MJ, Lower KM, Voon HP, Hughes JR, Garrick D, Viprakasit V, Mitson M, De Gobbi M, Marra M, Morris A, Abbott A, Wilder SP, Taylor S, Santos GM, Cross J, Ayyub H, Jones S, Ragoussis J, Rhodes D, Dunham I, Higgs DR, Gibbons RJ. ATR-X syndrome protein targets tandem repeats and influences allele-specific expression in a size-dependent manner. *Cell.* 2010;143(3):367-78.

Li X, Qian X, Wang B, Xia Y, Zheng Y, Du L, Xu D, Xing D, DePinho RA, Lu Z. Programmable base editing of mutated TERT promoter inhibits brain tumour growth. *Nat Cell Biol.* 2020;22(3):282-288. doi: 10.1038/s41556-020-0471-6.

Mender I, Gryaznov S, Dikmen ZG, Wright WE, Shay JW. Induction of telomere dysfunction mediated by the telomerase substrate precursor 6-thio-2'-deoxyguanosine. *Cancer Discov.* 2015;5(1):82-95. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-0609.

Menez-Jamet J, Gallou C, Rougeot A, Kosmatopoulos K. Optimized Tumor Cryptic Peptides: The Basis for Universal Neo-Antigen-Like Tumor Vaccines. *Ann Transl Med.* 2016;4(14):266. doi: 10.21037/atm.2016.05.15.

Mengual Gomez DL, Armando RG, Cerrudo CS, Ghiringhelli PD, Gomez DE. Telomerase as a Cancer Target. Development of New Molecules. *Curr Top Med Chem.* 2016;16(22):2432-40. doi: 10.2174/1568026616666160212122425.

Merle P, Evrard B, Petitjean A, Lehn JM, Teulade-Fichou MP, Chautard E, De Cian A, Guittat L, Tran PL, Mergny JL, Verrelle P, Tchirkov A. Telomere targeting with a new G4 ligand enhances radiation-induced killing of human glioblastoma cells. *Mol Cancer Ther.* 2011;10(10):1784-95.

Merle P, Gueugneau M, Teulade-Fichou MP, Müller-Barthélémy M, Amiard S, Chautard E, Guetta C, Dedieu V, Communal Y, Mergny JL, Gallego M, White C, Verrelle P, Tchirkov A. Highly efficient radiosensitization of human glioblastoma and lung cancer cells by a G-quadruplex DNA binding compound. *Sci Rep.* 2015;5:16255. doi: 10.1038/srep16255.

Mizukoshi E, Kaneko S. Telomerase-Targeted Cancer Immunotherapy. *Int J Mol Sci* 2019;20(8):1823. doi: 10.3390/ijms20081823.

Monsen RC, DeLeeuw L, Dean WL, Gray RD, Sabo TM, Chakravarthy S, Chaires JB, Trent JO. The hTERT core promoter forms three parallel G-quadruplexes. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(10):5720-5734. doi: 10.1093/nar/gkaa107.

Moye AL, Porter KC, Cohen SB, Phan T, Zyner KG, Sasaki N, Lovrecz GO, Beck JL, Bryan TM. Telomeric G-quadruplexes are a substrate and site of localization for human telomerase. *Nat Commun.* 2015 Jul 9;6:7643.

Nemunaitis J, Tong AW, Nemunaitis M, Senzer N, Phadke AP, Bedell C, Adams N, Zhang YA, Maples PB, Chen S, Pappen B, Burke J, Ichimaru D, Urata Y, Fujiwara T. A phase I study of telomerase-specific replication competent oncolytic adenovirus (telomelysin) for various solid tumors. *Mol. Ther.*, 2010, 18(2), 429-434.

Nguyen THD, Tam J, Wu RA, Greber BJ, Toso D, Nogales E, Collins K. Cryo-EM structure of substrate-bound human telomerase holoenzyme. *Nature.* 2018;557(7704):190-195. doi: 10.1038/s41586-018-0062-x.

Pascolo E, Wenz C, Lingner J, Huel N, Priepke H, Kauffmann I, Garin-Chesa P, Rettig WJ, Damm K, Schnapp A. Mechanism of human telomerase inhibition by BIBR1532, a synthetic, non-nucleosidic drug candidate. *J Biol Chem.* 2002;277(18):15566-72. doi: 10.1074/jbc.M201266200.

Pendino F, Flexor M, Delhommeau F, Buet D, Lanotte M, Segal-Bendirdjian E. Retinoids down-regulate telomerase and telomere length in a pathway distinct from leukemia cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98(12):6662-7. doi: 10.1073/pnas.111464998.

Picco V, Coste I, Giraud-Panis MJ, Renno T, Gilson E, Pages G. ERK1/2/MAPK pathway-dependent regulation of the telomeric factor TRF2. *Oncotarget.* 2016; 7: 46615–46627.

Rajpar S, Guittat L, Mergny JL. [Telomeres: a Nobel Prize at the beginning...of the end]. *Bull Cancer.* 2011;98(9):999-1009.

Recagni M, Bidzinska J, Zaffaroni N, Folini M. The Role of Alternative Lengthening of Telomeres Mechanism in Cancer: Translational and Therapeutic Implications. *Cancers (Basel).* 2020;12(4):949. doi: 10.3390/cancers120409.

Relitti N, Saraswati AP, Federico S, Khan T, Brindisi M, Zisterer D, Brogi S, Gemma S, Butini S, Campiani G. Telomerase-based Cancer Therapeutics: A Review on their Clinical Trials. *Curr Top Med Chem.* 2020; 20(6):433-457. doi: 10.2174/1568026620666200102104930.

Roake CM, Artandi SE. Regulation of human telomerase in homeostasis and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020, 21(7), 384-397. doi: 10.1038/s41580-020-0234-z.

Salloum R, Hummel TR, Kumar SS, Dorris K, Li S, Lin T, Daryani VM, Stewart CF, Miles L, Poussaint TY *et al.* A molecular biology and phase II study of imetelstat (GRN163L) in children with recurrent or refractory central nervous system malignancies: a pediatric brain tumor consortium study. *J. Neurooncol.* 2016; 129, 443–451.

Saraswati AP, Relitti N, Brindisi M, Gemma S, Zisterer D, Butini S, Campiani G. Raising the bar in anticancer therapy: recent advances in, and perspectives on, telomerase inhibitors. *Drug Discov Today.* 2019;24(7):1370-1388. doi: 10.1016/j.drudis.2019.05.015.

Ségal-Bendirdjian E, Geli V. Non-canonical Roles of Telomerase: Unraveling the Imbroglia. *Front Cell Dev Biol.* 2019;7:332. doi: 10.3389/fcell.2019.00332.

Schmidt JC, Cech TR. Human telomerase: biogenesis, trafficking, recruitment, and activation. *Genes Dev.* 2015;29(11):1095-105. doi: 10.1101/gad.263863.115.

Schrank Z, Khan N, Osude C, Singh S, Miller RJ, Merrick C, Mabel A, Kuckovic A, Puri N. Oligonucleotides Targeting Telomeres and Telomerase in Cancer. *Molecules.* 2018;23(9):2267. doi: 10.3390/molecules23092267.

Thompson CAH, Wong JMY. Non-canonical Functions of Telomerase Reverse Transcriptase: Emerging Roles and Biological Relevance. *Curr Top Med Chem.* 2020;20(6):498-507. doi: 10.2174/1568026620666200131125110.

Udugama M, Sanij E, Voon HPJ, Son J, Hii L, Henson JD, et al. Ribosomal DNA copy loss and repeat instability in ATRX-mutated cancers. *Proc Natl Acad Sci USA.* (2018) 115:4737–42. doi: 10.1073/pnas.1720391115

Wang Y, Feigon J. Structural biology of telomerase and its interaction at telomeres. *Curr Opin Struct Biol.* 2017;47:77-87.

Wang K, Wang RL, Liu JJ, Zhou J, Li X, Hu WW, Jiang WJ, Hao NB. The prognostic significance of hTERT overexpression in cancers: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(35):e11794. doi: 10.1097/MD.00000000000011794.

Wang Y, Yang J, Wild AT, Wu WH, Shah R, Danussi C, Riggins GJ, Kannan K, Sulman EP, Chan TA, Huse JT. G-quadruplex DNA drives genomic instability and represents a targetable molecular abnormality in ATRX-deficient malignant glioma. *Nat Commun.* 2019;10(1):943. doi: 10.1038/s41467-019-08905-8.

Wu YL, Dudognon C, Nguyen E, Hillion J, Pendino F, Tarkanyi I, Aradi J, Lanotte M, Tong JH, Chen GQ, Ségal-Bendirdjian E. Immunodetection of human telomerase reverse-transcriptase (hTERT) re-appraised: nucleolin and telomerase cross paths. *J Cell Sci.* 2006;119(Pt 13):2797-806. doi: 10.1242/jcs.03001

Xi L, Cech TR. Inventory of Telomerase Components in Human Cells Reveals Multiple Subpopulations of hTR and hTERT. *Nucleic Acids Res* 2014;42(13):8565-77. doi: 10.1093/nar/gku560.

Légende des figures

Figure 1 : Formules ou séquences de quelques composés agissant sur télomères et télomérase.

