



**HAL**  
open science

## Cancérogenèse et variants faux sens pathogènes du domaine exonucléasique des ADN polymérase $\epsilon$ et $\delta$

Albain Chansavang, Benoit Rousseau, Nicolas Leulliot, Julien  
Masliah-Planchon, Ivan Bièche, Éric Pasmant, Nadim Hamzaoui

### ► To cite this version:

Albain Chansavang, Benoit Rousseau, Nicolas Leulliot, Julien Masliah-Planchon, Ivan Bièche, et al..  
Cancérogenèse et variants faux sens pathogènes du domaine exonucléasique des ADN polymérase  $\epsilon$  et  
 $\delta$  : Les risques de l'infidélité. Médecine/Sciences, 2022, 38 (10), pp.763-765. 10.1051/medsci/2022118 .  
hal-03811508

**HAL Id: hal-03811508**

**<https://hal.science/hal-03811508>**

Submitted on 11 Oct 2022

**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.



## Cancérogénèse et variants faux sens pathogènes du domaine exonucléasique des ADN polymérases $\epsilon$ et $\delta$

### Les risques de l'infidélité

Albain Chansavang<sup>1,2</sup>, Benoit Rousseau<sup>3</sup>, Nicolas Leulliot<sup>4</sup>, Julien Masliah-Planchon<sup>5</sup>, Ivan Bièche<sup>2,5</sup>, Éric Pasmant<sup>1,2</sup>, Nadim Hamzaoui<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Fédération de génétique et médecine génomique, hôpital Cochin, AP-HP, Centre-Université Paris Cité, Paris, France.

<sup>2</sup>Institut Cochin, Inserm U1016, CNRS UMR8104, université Paris Cité, CARPEM, Paris, France.

<sup>3</sup>Department of medicine, Division of solid tumor oncology, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, États-Unis.

<sup>4</sup>CiTCOM, CNRS UMR8038, université Paris Cité, France.

<sup>5</sup>Service de génétique, Institut Curie, Paris, France.

[eric.pasmant@inserm.fr](mailto:eric.pasmant@inserm.fr)

### L'importance du domaine exonucléase 3'-5' des ADN polymérases $\epsilon$ et $\delta$ pour la fidélité de la réplication de l'ADN

Les ADN polymé- **(→) Voir la Nouvelle de S.M. de Procé, m/s n° 10, octobre 2015, page 821**

rases  $\delta$  (POLD1) et  $\epsilon$  (POLE) sont les principales réplicases de l'ADN des eucaryotes, après amorçage par la polymérase  $\alpha$  (POLA) [1] (→).

Dans l'espèce humaine, les holoenzymes POLD et POLE comprennent chacune quatre sous-unités, dont les polymérases sont codées respectivement par les gènes *POLE* (*DNA polymerase epsilon, catalytic subunit*) et *POLD1* (*DNA polymerase delta 1, catalytic subunit*) [2]. Ces ADN polymérases présentent, en sus de leur domaine polymérase, un domaine exonucléase 3'-5' qui est le domaine d'édition à l'origine de la fidélité de la réplication de l'ADN [3]. Lorsque l'ADN polymérase commet une erreur d'appariement et insère un nucléotide incorrect en face du nucléotide du brin « mère » de l'ADN, la synthèse s'interrompt, le brin en cours de synthèse se détache du brin mère et s'engage dans la poche du domaine exonucléase 3'-5'. Celui-ci élimine le dernier nucléotide incorrectement inséré, et le brin d'ADN retourne dans le domaine polymérase où la synthèse de l'ADN peut reprendre (Figure 1).

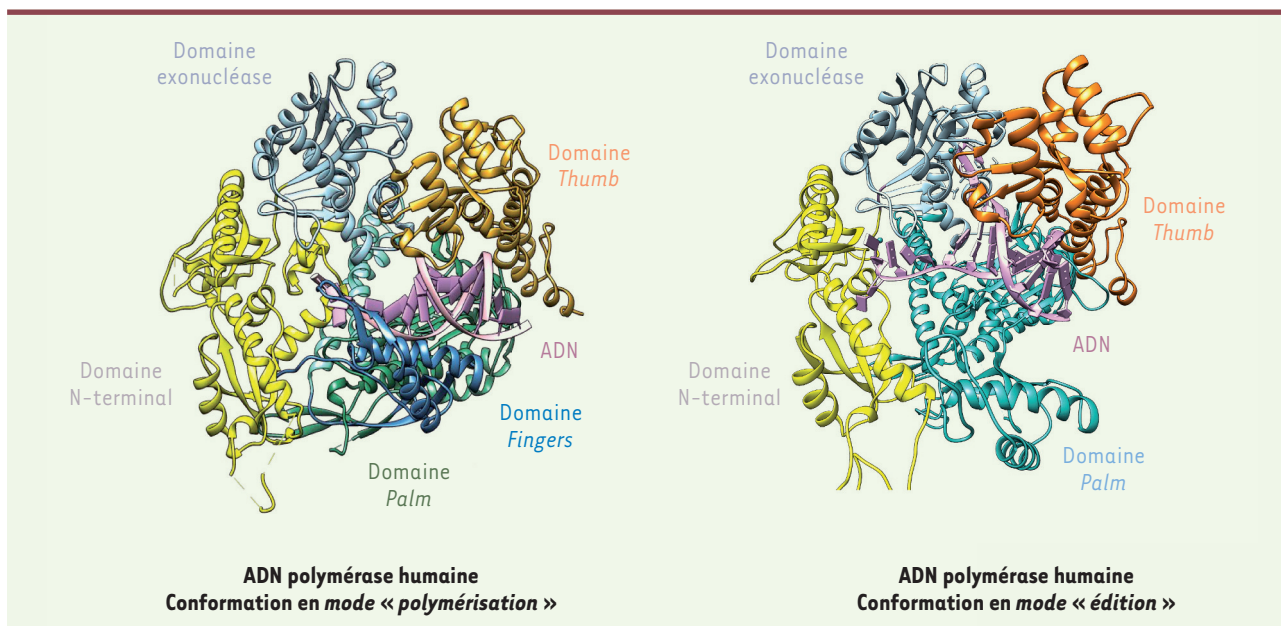
### Des variants pathogènes du domaine exonucléase de POLE identifiés dans des cancers « ultra-mutés »

L'implication du déficit de ce mécanisme de correction des mésappariements par altération du domaine exonucléase dans la tumorigénèse a été révélée par les analyses d'exomes et de génomes tumoraux grâce aux techniques de séquençage de l'ADN de nouvelle génération. En 2012, le séquençage de l'exome de 224 cancers colorectaux dans le cadre du projet TCGA (*The Cancer Genome Atlas*) a révélé un sous-ensemble de tumeurs (environ 3 %) caractérisées, sur le plan moléculaire, par une accumulation de mutations dans le génome tumoral [4]. Ces tumeurs présentaient des mutations faux sens pathogènes récurrentes du gène *POLE* à l'état hétérozygote, qui laissaient intact le domaine polymérase, mais affectaient le domaine exonucléase de l'enzyme. Par exemple, les mutations p.Pro286Arg ou p.Val411Leu étaient associées à un nombre élevé de variations du génome des cellules tumorales, souvent supérieur à 100 variations par mégabase (Mb) d'ADN. La forte charge mutationnelle<sup>1</sup> de ces tumeurs leur a valu le qualificatif « ultra-mutés » [5].

<sup>1</sup> La charge mutationnelle des cellules cancéreuses est une mesure des substitutions nucléotidiques somatiques non synonymes des régions codantes de leur génome, exprimée en nombre de variations par Mb d'ADN.

L'analyse de la signature mutationnelle trinuécléotidique selon les sous-types de substitutions et leur environnement nucléotidique immédiat a mis en évidence des profils mutationnels spécifiques des tumeurs montrant un variant pathogène de *POLE* [6, 7]<sup>2</sup>. En effet, ces variations du génome tumoral ne sont pas distribuées aléatoirement entre les différents types de substitutions. Si l'on considère les six types de substitutions possibles dans leur contexte génomique immédiat (les deux nucléotides situés de part et d'autre de la mutation, soit 96 triplets possibles), il apparaît que les tumeurs avec variant pathogène du domaine exonucléase de *POLE* sont caractérisées par une augmentation d'un facteur 100 des transversions C>A dans un contexte de triplet TCT, et par une augmentation d'un facteur 30 des transitions C>T dans un contexte de triplet TCG. Par la suite, plusieurs études ont détecté des mutations faux sens pathogènes du domaine exonucléase de *POLE* dans environ 8 % des cancers de l'endomètre [8] et dans d'autres types de tumeurs où ils définissent un phénotype ultra-muté associé à cette signature mutationnelle spécifique, dénommée SBS10 (*single-base substitution 10*) [5].

<sup>2</sup> <https://cancer.sanger.ac.uk/signatures/>



**Figure 1. Modélisation de l'ADN polymérase  $\epsilon$  (POLE) en mode « polymérisation » et en mode « édition ».** Le domaine polymérase est composé de trois parties reproduisant la configuration d'une main droite ouverte : la paume (*palm*, couleur verte) qui contient le site catalytique, les doigts (*fingers*, couleur bleu foncé) qui positionnent correctement le brin mère de l'ADN, et le pouce (*thumb*, couleur or) qui lie l'ADN à la sortie du site catalytique et est impliqué dans la processivité de l'enzyme. S'y ajoutent un domaine exonucléase (en bleu pâle), qui contient son propre site catalytique et un domaine N-terminal (en jaune). En mode « polymérisation », l'ADN (violet) est positionné dans le site polymérase. En cas de mésappariement d'un nucléotide, la synthèse s'interrompt et le brin nouvellement synthétisé entre dans la poche exonucléase pour excision du dernier nucléotide incorporé (mode « édition »).

### Des variants faux sens pathogènes « constitutionnels » du domaine exonucléase de *POLE* à l'origine d'un syndrome de prédisposition à certains cancers

Indépendamment de l'identification de variants pathogènes « somatiques » (*i.e.*, présents uniquement dans les cellules tumorales) de *POLE*, d'autres études ont montré que des variants faux sens pathogènes « constitutionnels » (*i.e.*, présents dans toutes les cellules de l'individu, à l'état hétérozygote) affectant la fonction relecture-correction de *POLD1* et *POLE* prédisposent à une polyposé et au cancer colorectal, et à d'autres types de cancers [9]. Ce syndrome héréditaire de prédisposition génétique à ces cancers, transmis selon le mode autosomique dominant, est connu sous le nom de polyposé adénomateuse associée aux ADN polymérases (*polymerase proofreading-associated polyposis*, PPAP ; MIM : 615083

et MIM : 612591). Il est associé à un risque cumulé de cancer colorectal de près de 50 % avant l'âge de 50 ans et de 74 % avant l'âge de 70 ans [10]. Ces variants pathogènes constitutionnels de *POLE* et *POLD1* peuvent également être impliqués dans la survenue d'autres cancers touchant divers organes comme le duodénum, l'endomètre ou le cerveau (glioblastome à cellules géantes, principalement). Les tumeurs survenues dans le cadre du syndrome PPAP présentent la même signature mutationnelle trinuécléotidique SBS10 que les tumeurs avec variant pathogène somatique de *POLE*.

### Des variants pathogènes de *POLE* corrélés avec l'efficacité de l'immunothérapie

Les variants faux sens pathogènes tumoraux du domaine de relecture-correction de *POLE* sont de très bon pronostic dans les cancers de l'endomètre. Les tumeurs possédant ces

variants présentent généralement un infiltrat lymphocytaire important en relation avec la forte charge mutationnelle des cellules tumorales, possiblement corrélée avec l'expression de nombreux néo-antigènes par ces cellules. Ainsi, les variants pathogènes de *POLE* pourraient être un biomarqueur de la réponse aux immunothérapies. C'est ce que montre la récente publication des résultats d'un premier essai clinique prospectif utilisant une immunothérapie anti-PD1 chez des patients ayant des tumeurs avec mutation de *POLE*, à un stade avancé [11]. Un bénéfice thérapeutique a été constaté chez les patients porteurs d'un variant pathogène du domaine exonucléase de *POLE*, mais pas chez ceux qui avaient d'autres types de variants (variants du domaine exonucléase n'affectant pas l'activité correctrice de l'enzyme ou variants localisés hors de ce domaine protéique).



## L'interprétation des variants faux sens de *POLE* : un enjeu médical

L'avènement des nouvelles techniques de séquençage de l'ADN a augmenté considérablement les capacités d'analyse du génome, avec pour conséquence l'identification d'un nombre croissant de variants génétiques. L'interprétation de ces variants est le nouvel enjeu de la médecine génomique, notamment ceux des gènes dits « actionnables », pour lesquels l'identification d'un variant pathogène peut modifier la prise en charge des patients. À ce jour, plus de 200 variants faux sens du domaine exonucléase de *POLE* et *POLD1* ont été décrits en oncologie (TCGA, <https://www.cbioportal.org/>), dont une dizaine entraînant une augmentation du risque de cancer lorsqu'ils sont présents constitutionnellement. Cependant, l'incertitude quant à la pathogénicité de ces variants est un frein à leur utilisation pour le conseil génétique ou la prise en charge thérapeutique des patients. *POLE* est un gène de grande taille susceptible de subir, dans les cellules tumorales, des mutations somatiques non pathogènes. En effet, le remplacement d'un acide aminé par un autre peut n'entraîner aucune conséquence fonctionnelle, même dans un domaine catalytique de la protéine. Une solution possible à ce problème consiste à tester dans des lignées cellulaires ou des organismes modèles comme la levure, l'activité des nouveaux variants identifiés.

Ainsi, nous avons récemment introduit, dans l'orthologue du gène *POLE* de la

levure *S. cerevisiae*, des variants du domaine exonucléase qui avaient été identifiés chez des personnes atteintes du syndrome PPAP. Nous avons montré qu'ils étaient associés à un phénotype « hypermutateur » [10]. Étonnamment, ces analyses fonctionnelles ont révélé que certains variants, en particulier les variants somatiques les plus fréquents tels que p.Pro286Arg ou p.Val411Leu, déstabilisent le génome bien plus que ne le supposerait la simple abolition de l'activité exonucléase [12]. Des études structurales fines des protéines porteuses de ces mutations récurrentes ont d'ailleurs permis de proposer une explication à ce constat [13, 14].

La découverte de variants pathogènes affectant la capacité du domaine exonucléase de l'ADN polymérase *POLE* à corriger les erreurs de réplication de l'ADN a donc permis d'identifier, d'une part, un nouveau syndrome rare de prédisposition héréditaire à certains cancers, et, d'autre part, un sous-ensemble de tumeurs sporadiques, principalement du côlon et de l'endomètre, caractérisées par une charge mutationnelle très élevée et une bonne réponse de la tumeur à l'immunothérapie. Le développement de tests fonctionnels et des analyses structurales devrait permettre de mieux comprendre les effets pathogènes des diverses mutations de *POLE* identifiées chez les patients. ♦

**Missense pathogenic variants in the exonuclease domain of polymerases *Polε* and *Polδ* in cancer: The risk of infidelity**

## LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

## RÉFÉRENCES

1. Marion de Procé S. Des fragments d'ADN synthétisés par l'ADN polymérase  $\alpha$  modifient notre génome. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 821-3.
2. Lujan SA, Williams JS, Kunkel TA. DNA polymerases divide the labor of genome replication. *Trends Cell Biol* 2016 ; 26 : 640-54.
3. Shevelev IV, Hübscher U. The 3' 5' exonucleases. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002 ; 3 : 364-76.
4. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature* 2012 ; 487 : 330-7.
5. Rayner E, van Gool IC, Palles C, et al. A panoply of errors: polymerase proofreading domain mutations in cancer. *Nat Rev Cancer* 2016 ; 16 : 71-81.
6. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature* 2013 ; 500 : 415-21.
7. Alexandrov LB, Kim J, Haradhvala NJ, et al. The repertoire of mutational signatures in human cancer. *Nature* 2020 ; 578 : 94-101.
8. Church DN, Briggs SEW, Palles C, et al. DNA polymerase  $\epsilon$  and  $\delta$  exonuclease domain mutations in endometrial cancer. *Hum Mol Genet* 2013 ; 22 : 2820-8.
9. Palles C, Cazier J-B, Howarth KM, et al. Germline mutations affecting the proofreading domains of *POLE* and *POLD1* predispose to colorectal adenomas and carcinomas. *Nat Genet* 2013 ; 45 : 136-44.
10. Hamzaoui N, Alarcon F, Leulliot N, et al. Genetic, structural, and functional characterization of *POLE* polymerase proofreading variants allows cancer risk prediction. *Genet Med* 2020 ; 22 : 1533-41.
11. Rousseau B, Bieche I, Pasmant E, et al. PD-1 blockade in solid tumors with defects in polymerase epsilon. *Cancer Discov* 2022 ; 12 : 1435-48.
12. Barbari SR, Kane DP, Moore EA, Shcherbakova PV. Functional Analysis of Cancer-Associated DNA Polymerase  $\epsilon$  Variants in *Saccharomyces cerevisiae*. *G3 Bethesda Md* 2018 ; 8 : 1019-29.
13. Xing X, Kane DP, Bullock CR, et al. A recurrent cancer-associated substitution in DNA polymerase  $\epsilon$  produces a hyperactive enzyme. *Nat Commun* 2019 ; 10 : 374.
14. Parkash V, Kulkarni Y, Ter Beek J, et al. Structural consequence of the most frequently recurring cancer-associated substitution in DNA polymerase  $\epsilon$ . *Nat Commun* 2019 ; 10 : 373.



**Tarifs d'abonnement m/s - 2022**

**Abonnez-vous**  
à *médecine/sciences*

> Grâce à *m/s*, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

**Abonnez-vous sur**  
[www.medecinesciences.org](http://www.medecinesciences.org)

