Contexte

Au début de ma thèse, une étude épidémiologique s'appuyant sur une population danoise s'est intéressée à la prévalence des cancers chez les patients atteints de la maladie de Huntington (MH) (Sørensen et al., 1999). Une plus faible incidence des cancers chez les patients atteints de la MH a été observé en comparaison aux patients non HD. Les auteurs de cette étude ont suggéré que l'apoptose dépendante de p53 pourrait expliquer cette faible incidence, cette dernière étant augmentée en condition pathologique, notamment au cours de la MH. Cependant, une autre étude contradictoire a suggéré que la répétition anormale de CAG pouvait entrainer le développement de cancer en provoquant une instabilité mitotique (Panzer et al., 1995).

Certains mécanismes sous-jacents au cancer étant modifiés dans la MH, nous avons donc cherché à déterminer si la mutation responsable de la MH participerait à la progression du cancer ainsi que les mécanismes qui y seraient associés. L'objectif de ma thèse a donc été d'étudier la fonction de la protéine huntingtin (HTT) mutée dans le cancer du sein.

Introduction

Dans le présent manuscrit, je me suis tout d'abord intéressé à la MH, ses caractéristiques et à son origine ainsi que la protéine HTT. Dans un second temps, j'ai introduit le tissu mammaire ainsi que son développement et enfin, pour terminer, j'aborde le cancer du sein, son origine et les différentes classifications utilisées actuellement.

<u>La maladie de Huntington</u>

Certains aspects de la maladie sont connus depuis longtemps, particulièrement la chorée qui a été décrite depuis le moyen âge. Au siècle dernier, la maladie a été attribuée à une cause génétique et ce n'est qu'en 1993 que le gène responsable, la *htt*, a été identifié.

Concernant son origine, la MH est une maladie génétique autosomique dominante. Une répétition de CAG supérieure à 36, présente dans la région 5' du gène *htt* entraine le développement de la MH. Ces répétitions de CAG codent pour une extension de glutamines dans la région N-terminale de la protéine correspondante, la HTT.

La MH est une maladie neurodégénérative létale, caractérisée par une trinité de symptômes: des troubles psychiatriques, cognitifs et moteurs. Les symptômes de la maladie se manifestent chez l'adulte et les patients décèdent généralement 10 à 20 ans après l'apparition des premiers symptômes.

Le cerveau est l'organe le plus touché dans la MH. Plusieurs régions du cerveau neurodegènérent, en particulier le striatum et le cortex ce qui explique la triade des symptômes observés. Cependant,

l’expression de la HTT n’est pas restreinte au cerveau, cette protéine est exprimée de façon ubiquitaire et joue de nombreuses fonctions dans certains tissus non-neuronales. Notamment, les patients atteints de la MH présentent de nombreux défauts périphériques, comprenant une perte de poids, des dysfonctionnements du métabolisme, des défauts dans l'hématopoïèse, des anomalies des tissus sanguins, une atrophie musculaire et testiculaire, ainsi qu’une dysfonction cardiaque.

La MH est une maladie rare, incurable à ce jour et qui touche moins de 1 personne sur 10000 dans le monde. Actuellement, la plupart des patients sont traités pour les symptômes connus, améliorant leur qualité de vie mais aucun traitement n’agit sur la progression de la maladie. De nouvelles approches thérapeutiques sont en cours d'élaboration, les plus prometteurs étant les thérapies géniques et cellulaires. Ainsi, en prenant des cellules provenant d’un patient, il serait possible de corriger le défaut génétique soit en supprimant le gène muté soit en remplaçant la répétition anormale de CAGs par une répétition de taille normale dans le gène muté (An et al., 2012). Ces cellules seraient ensuite dédifférenciées afin de remplacer les neurones perdus.

La protéine Huntingtine

Alors que la protéine HTT a été découverte en contexte pathologique (MH), la protéine sauvage joue un rôle crucial dans l’organisme. Elle est nécessaire notamment au cours du développement. En effet, les souris dépourvues de HTT ont une létalité précoce à 7,5 jours de la vie embryonnaire.

La HTT est une protéine de 350kDa conservée chez les vertébrés. Au niveau subcellulaire, la protéine est présente dans les différents compartiments cellulaires (cytoplasme, noyau et membrane). De plus, de nombreux partenaires de la HTT sont connus (plus de 300 protéines interagissent à ce jour). En effet, la fonction principale de HTT semble impliquer un rôle d'échafaudage. Vraisemblablement, la HTT agit dans la formation de complexes protéiques permettant l’accomplissement de diverses fonctions cellulaires. Par exemple, la HTT joue un rôle clé dans le transport des vésicules le long des microtubules en permettant l’interaction de protéines adaptatrices et motrices à la surface des vésicules, ce qui permet le transport actif de ces dernières. De plus, le contrôle directionnel du transport dépend des modifications post-traductionnelles de la HTT (Colin et al., 2008; Gauthier et al., 2004). Les fonctions de la HTT décrites impliquent en générale soit la régulation de la transcription génique (par exemple BDNF, (Zuccato et al., 2001)) soit la dynamique intracellulaire (par exemple, l'endocytose ou le transport associée aux microtubules (Schulte and Littleton, 2011)).

Dans des conditions de la MH, une partie des fonctions de la protéine sauvage est modifiée. Par exemple, le complexe impliqué dans le transport vésiculaire est perturbé lorsque la protéine est mutée, conduisant à un transport inefficace des facteurs neurotrophiques, indispensables à la survie des neurones. Ceci correspond à un des mécanismes clés sous-jacents à la pathologie.

Je termine la première partie de l'introduction en décrivant les modèles animaux les plus courants pour étudier la MH, y compris le modèle utilisé dans le présent ouvrage: le Hdh^{Q111} (Trettel et al., 2000). Il

s'agit d'un modèle de souris « knock-in », où un fragment contenant 111 répétitions CAG a été inséré dans le gène *htt* de la souris, en remplacement le fragment contenant 7 CAG (correspondant à la *htt* sauvage chez la souris). Ces souris développent les phénotypes de la MH, y compris des défauts comportementaux et moteurs.

La glande mammaire

La glande mammaire est un organe présent chez tous les mammifères dont la fonction principale est la production ainsi que la sécrétion de lait, destiné à la nutrition et donc indispensable à la survie des progénitures.

Cet organe est composé d'un épithélium confiné dans un coussin adipeux. L'épithélium est organisé en structures lobulaires qui produisent du lait et en structures tubulaires qui transportent le lait des lobules au mamelon (les canaux mammaires). Cet épithélium est organisé en une bicouche : la couche interne est composée de cellules luminales bordant l'intérieur des canaux et des lobules, et la couche externe est composée de cellules basales qui entourent les cellules luminales. L'épithélium est confiné par la membrane basale, elle-même entourée par le stroma qui est composé d'un tissu conjonctif et de graisse ainsi que du système vasculaire.

Le développement de la glande mammaire est sous le contrôle d'hormones: l'hormone de croissance, les estrogènes, la progestérone et la prolactine sont les principaux régulateurs. Le développement de cet organe est quasi nul pendant la vie embryonnaire. En effet, à la naissance, la glande mammaire est encore très rudimentaire et l'épithélium est restreint à quelques branches proximales au mamelon. Jusqu'au pic de développement lors de la puberté, le développement de la glande mammaire est principalement contrôlé par l'hormone de croissance. Puis, quand les hormones ovariennes, les estrogènes et la progestérone, sont disponibles, l'épithélium prolifère à partir de la structure arborescente rudimentaire de façon à remplir le coussin adipeux mammaire d'une structure ramifiée épithéliale canalaire qui sera complètement développée à la fin de la puberté.

A chaque grossesse, sous le contrôle de la progestérone et de la prolactine, la glande mammaire suit des cycles de prolifération, de différenciation et d'apoptose, correspondant aux périodes de gestation, de lactation et d'involution qui lui permet d'atteindre l'état le plus différencié (pendant la production de lait) et enfin de retrouver un aspect ressemblant à celui du départ jusqu'à une nouvelle grossesse.

Chez la souris, les traits majeurs du développement de la glande mammaire sont conservés. Cependant, certaines différences sont observées, notamment :

- Le nombre de glandes mammaires: il y a 5 paires de glandes mammaires chez la souris tandis que l'être humain a une unique paire ;
- L'organisation du contenu épithéliale est légèrement différente: des unités ductulo-terminales sont toujours présentes chez l'homme, la souris par-contre présente des lobules pendant

gestation et lactation et au cours du développement ce sont des structures transitoires nominées bourgeons terminaux ;

- Le contenu du stroma est plus complexe chez l'Homme que chez la souris.

Les cellules souches mammaires sont des cellules qui peuvent par elles-mêmes reformer une glande mammaire. Elles ont deux caractéristiques : elles sont pluripotentes, c'est-à-dire qu'elles sont capables de se différencier dans tous les types cellulaires mammaires, et d'autre part, elles peuvent s'auto-renouveler, c'est-à-dire qu'elles sont capables de se diviser en gardant leur identité. La majorité des cellules souches mammaires se trouvent parmi les cellules basales. Elles sont très importantes lors des cycles de l'apoptose et prolifération que les glandes mammaires subissent à chaque gestation. Etant donné ce rôle dans le tissu mammaire, les cellules souches sont de plus en plus impliquées dans le cancer mammaire. Une nouvelle cellule, la cellule souche du cancer du sein, est maintenant décrite. C'est une origine hypothétique des cancers qui pourrait expliquer par exemple la caractéristique très hétérogène de la maladie.

Le cancer du sein

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme (23% de tous les cancers) et il responsable de plus de 10000 décès féminins chaque année en France, ce qui en fait un problème majeur de santé publique.

C'est une maladie sporadique, avec des nombreux facteurs à risque identifiés, y compris environnementaux et reproductifs. A l'exception des rares cas de cancer héréditaire (environ 10% des cancers du sein), on ne peut pas prédire avec certitude quelles femmes développeront la maladie.

Le cancer du sein est une maladie qui progresse à partir de cellules mammaires normales qui prolifèrent de façon incontrôlées jusqu'au stade de malignité. Au cours de la progression du cancer, les cellules accumulent des mutations qui leur permettent de surmonter chaque étape de la progression et, finalement, dans la majorité des cas, elles deviennent invasives.

La métastase est le processus par lequel les cellules cancéreuses colonisent des tissus éloignés dans l'organisme. C'est le principal événement conduisant à la mort des patients atteints d'un cancer du sein. L'efficacité de ce processus multi-étape dépend de différentes capacités des cellules, tels qu'une migration cellulaire accrue, ou encore la transition épithélo-mésenchymateuse (TEM).

Parmi les facteurs contribuant à la progression du cancer du sein se trouvent les mutations qui inactivent des gènes suppresseurs de tumeurs ou qui activent des oncogènes. Parmi les gènes modifiés, beaucoup participent à des voies de signalisation contrôlant la prolifération ou l'apoptose. L'une des voies souvent altérée est la voie AKT. Cette voie de signalisation, qui est aussi altérée au cours de la MH, régule l'équilibre entre survie cellulaire, prolifération et apoptose.

Un exemple d'un oncogène fréquemment altéré est celui de HER2, un récepteur tyrosine kinase surexprimé dans environ 20% des cas de cancer du sein. Ce sont des types particulièrement agressifs de cancer, associé à un mauvais pronostic et à une évolution métastatique accrue. Le HER2 active les voies de signalisation AKT et ERK, déclenchant l'activation des réponses de survie cellulaire, d'angiogenèse ou de migration ce qui explique l'agressivité de ces cancers.

Les hormones contribuent également à la progression du cancer. Comme dans le développement normal du tissu, où des estrogènes et la progestérone contrôlent la croissance des tissus, dans le cancer du sein, ces mêmes hormones peuvent jouer un rôle dans la prolifération des cellules cancéreuses et la progression tumorale.

Le microenvironnement est un autre facteur très important qui contribue à la fois positivement et négativement à l'initiation et à la progression des cancers. Les cellules et les tissus à l'intérieur et autour de la tumeur, interagissant avec les cellules tumorales épithéliales, et jouent divers rôles dans la progression tumorale. Par exemple, les fibroblastes sont recrutés dans la tumeur et activés (myofibroblastes) ce qui permet la progression tumorale et le développement de métastases. En effet, les myofibroblastes peuvent conduire les cellules tumorales dans le processus d'invasion à travers le tissu stromal pour échapper à la tumeur primaire et ainsi faciliter la formation des métastases. Ils peuvent aussi fournir de l'énergie aux cellules tumorales en échangeant des métabolites avec ces dernières.

Les cellules endothéliales peuvent être recrutées sur stimuli tel que l'hypoxie (faible concentration d'oxygène), favorisant alors l'assemblage de nouveaux vaisseaux. Ce processus, appelé la néo-angiogenèse, favorise l'invasion ainsi que la croissance tumorale en assurant un apport de sang à la tumeur (oxygène et nutriments). D'autre part, les cellules immunitaires comme les cellules T peuvent également être recrutées au niveau de la tumeur mais en revanche, elles peuvent inhiber la progression tumorale via leur activité cytotoxique sur les cellules tumorales.

Le cancer du sein est une maladie extrêmement hétérogène et un grand effort est fait pour classifier et décrire cette hétérogénéité ainsi que l'agressivité des cancers du sein. La majorité des cancers du sein dérivent de l'épithélium, et sont donc dénommés adénocarcinomes.

D'une part, une analyse histologique permet de déterminer la structure épithéliale à l'origine d'une tumeur (cancers lobulaires ou canalaires). On peut également les classifier en fonction de leur état invasive (cancer *in situ* ou infiltrant). Différents sous-groupes plus rares très spécifiques ont aussi été identifiés de cette façon (tubulaire, micropapillaire ...). Selon leur organisation architecturale et l'index mitotique, les cancers du sein peuvent être classés selon leur grade (du grade I au grade III) reflétant au moins en partie, le stade de progression des tumeurs.

En plus de la classification basée sur l'aspect histologique, au début des années 2000 avec l'arrivée des techniques d'analyse d'expression génique, les signatures génétiques ont permis la classification des

cancers du sein en 4 grands groupes : luminal A, luminal B, cancers de type basal et HER2 positifs. Cette classification a valeur de pronostic, et est très utile pour déterminer les approches thérapeutiques.

Bien que le cancer du sein soit un problème majeur de santé publique, les approches thérapeutiques restent très limitées. Outre l'ablation chirurgicale de la masse tumorale (tumorectomie) ou de la totalité du sein (mastectomie), les patients sont traités dans la majorité des cas par radiothérapie et / ou chimiothérapie. Ce sont des traitements très agressifs touchant les cellules en division et ayant de graves effets secondaires sur l'organisme.

Avec l'amélioration de la classification des carcinomes mammaires, des approches thérapeutiques plus ciblées sont en cours de développement. L'exemple le plus ancien est la thérapie hormonale, utilisée pour les cancers qui expriment les récepteurs hormonaux. Malgré des effets secondaires nettement moins importants, cette thérapie n'est pas aussi efficace que la chimiothérapie, qui reste utilisée en adjuvant même pour ces tumeurs.

La prolifération des cancers du sein HER2 positifs est dépendante de ce récepteur. Des anticorps contre cette molécule (par exemple le trastuzumab) sont délivrés aux patients, bloquant l'activité de cette dernière. Ce traitement entraine une amélioration significative de la survie des patients.

Comme pour la première partie, je termine cette introduction en précisant les modèles les plus couramment utiliser pour étudier le cancer du sein, y compris les deux modèles utilisés dans le présent ouvrage : MMTV-ErbB2 et MMTV-PyVT (Guy et al., 1992; Muller et al., 1988).

Ces deux modèles surexpriment respectivement les oncogènes ErbB2 et PyVT sous le contrôle du promoteur MMTV. Ce promoteur spécifique des cellules luminales est régulé par des hormones, particulièrement par la progestérone. Il est largement utilisé dans le domaine de la glande mammaire à la fois pour étudier son développement ainsi que pour l'étude du cancer.

Les souris MMTV-ErbB2 surexpriment le récepteur HER2 (ErbB2 chez la souris) dans le tissu épithélial mammaire, entrainant la formation de tumeurs de sous-type moléculaire luminal. Dans le modèle MMTV-PyVT, plus agressif que le modèle MMTV-ErbB2, les souris surexpriment dans le tissu mammaire la protéine « middle-T » du polyoma virus, un oncogène puissant qui donne lieu à des tumeurs peu différenciées, qui évoluent du type luminal au type HER2 avec un développement fréquent de métastases dans les poumons et les os.

Résultats

Nous avons observé que la HTT est exprimée dans le tissu mammaire, dans les tissus sains et néoplasiques, à la fois humain et murin. Les résultats comprennent la partie majeure de mon travail de thèse qui a été publié cette année dans le journal EMBO Molecular Medicine. Dans cette étude, nous avons montré que lorsque les patients atteints de la MH développent un cancer du sein, malgré une

plus faible incidence de cancer, ce dernier est particulièrement agressif, et principalement du sous-type HER2. *In vivo*, nous avons montré sur les modèles MMTV-ErbB2 et MMTV-PyVT qu'en présence de la HTT mutée (*Hdh*^{Q111}), les souris développent des tumeurs plus rapidement qui sont plus agressives et métastatiques. Ces tumeurs ont un potentiel de prolifération accrue, observé par une augmentation des marqueurs de prolifération Ki67 et PCNA sans effet sur l'apoptose (le marqueur d'apoptose caspase-3 clivée reste inchangé).

Le potentiel métastatique accru a été suspecté après une analyse de l'expression génique des tumeurs MMTV-PyVT exprimant la HTT sauvage par rapport à celles exprimant la HTT mutante (microarrays affymetrix). Une signature TEM a été observée et confirmée a posteriori aux niveaux des tumeurs primaires et des lignées cellulaires dérivées de tumeurs murins.

L'expression de la HTT mutante induit une TEM, observée par une réduction des niveaux de protéines des jonctions telles que ZO-1 et E-cadhérine et une l'augmentation des marqueurs mésenchymateuses telles que la vimentine ou α-SMA. En effet, les cellules dérivées exprimant la HTT mutée présentent un aspect mésenchymateuse après quelques passages *in vitro* avec une augmentation subséquente de la motilité et de leur potentiel d'invasion.

L'accumulation de la protéine HER2 semble responsable de la prolifération et de la motilité accrues observées lorsque la HTT est mutée. Les tumeurs MMTV-PyVT *Hdh*^{111Q} ont la particularité de présenter des niveaux plus élevés de HER2 à la membrane ce qui entraine une activation des voies de signalisation subjacentes, comme par exemple, l'hyper-activation de la voie AKT. D'autres analyses ont mis en évidence que l'accumulation de HER2 n'était pas au niveau génétique, les niveaux d'ARNm n'étant pas altérés, mais due à une stabilisation au niveau protéique. En utilisant des lignées cellulaires, nous avons également montré que l'accumulation de HER2 des cellules exprimant la HTT mutée est due à un défaut d'endocytose du récepteur dépendant de la dynamine. En effet, l'expression de la HTT mutée limite l'endocytose du récepteur, car la dynamine interagit avec la HTT d'une manière anormalement forte en présence de la mutation. Ceci conduit à une mauvaise localisation de cette GTPase, entrainant la perte de sa fonction au cours de l'endocytose ce qui résulte en une accumulation de la protéine HER2 à la membrane.

L'augmentation de la prolifération et de l'invasion des cellules exprimant la HTT mutée a été ensuite confirmée comme étant dépendante de la signalisation HER2. L'inactivation de HER2 avec l'anticorps trastuzumab, bloquant spécifiquement le récepteur HER2, restaure les niveaux de motilité et d'invasion accrues en présence de HTT mutée aux valeurs basales correspondant à la motilité des cellules exprimant la HTT sauvage. De plus, la prolifération des cellules tumorales exprimant la HTT mutée est spécifiquement inhibée avec le trastuzumab.

La deuxième partie des résultats est un travail collaboratif sur le rôle de la HTT, la protéine sauvage, dans le cancer du sein et plus particulièrement dans la motilité cellulaire, l'invasion et les métastases.

Nous avons constaté que les taux de HTT sauvage étaient réduits dans les cancers du sein à mauvais pronostic. Les taux d'expression de HTT dans les tumeurs sont inversement corrélés au pronostic: les tumeurs luminales (les moins agressives) expriment les plus forts taux de HTT en comparaison aux tumeurs HER-2 positifs, eux-mêmes exprimant de plus fort taux de HTT que les tumeurs « basal-like » (les plus agressives). De plus, les cancers du sein métastatiques présentent des plus faibles niveaux d'expression de HTT que les cancers non métastatiques. Ces données ont été confirmées dans des cohortes indépendantes de tumeurs du sein humain (totalisant plus de 600 tumeurs analysées). Au niveau cellulaire, l'expression de la HTT est diminuée dans les cellules micro-invasives par rapport aux carcinomes *in situ* adjacent. En particulier, on a observé une diminution de sa localisation membranaire dans les cellules micro-invasives en comparaison aux carcinomes in situ.

Dans les cellules tumorales mammaires métastatiques, l'ablation de la HTT augmente la motilité et l'invasion *in vitro*. *In vivo*, après injection de ces cellules chez des souris, nous avons observé une forte augmentation des métastases dans les poumons lorsque les niveaux d'expression de HTT sont diminués. Ainsi, la HTT joue un rôle central comme inhibiteur de la dissémination tumorale dans la progression du cancer du sein.

Discussion

Le cancer du sein et la MH ont des voies communes que l'on trouve altérées dans les deux pathologies. La voie de signalisation AKT, par exemple, se trouve suractivée dans la MH et dans un grand nombre de cancers du sein.

D'autre part, des réponses inflammatoires sont activées par les tumeurs et elles peuvent participer à la progression tumorale. L'inflammation est donc un processus important dans la progression tumorale. Les patients de la MH ont une réponse immunitaire suractivée dans les premiers stades de la maladie. En effet, les cytokines et les chimokines, requises pour le recrutement de cellules immunitaires, se trouvent en grande quantité dans le plasma des patients atteints de la MH. En accord avec ces observations, les tumeurs murines exprimant la HTT mutée ont une signature qui suggère une augmentation du recrutement des cellules immunitaires telles que les fibroblastes ou les macrophages au sein la tumeur. Ce mécanisme similaire entre le cancer et la MH pourrait expliquer une synergie entre les pathologies.

Le travail présenté ici suggère également de nouvelles fonctions pour la HTT, importantes dans le processus métastatique.

La HTT peut être considérée comme une protéine qui régule l'équilibre entre adhésion cellulaire et motilité. Quelques articles récents (4 articles publiés entre 2010 et 2012) ont suggéré un rôle de la HTT dans l'adhésion cellulaire en montrant que la HTT contrôle les niveaux et la localisation des différentes protéines d'adhésion. Par exemple la perte de HTT perturbe la localisation de ZO-1 chez le

poisson zèbre (Lo Sardo et al., 2012). Notre travail participe à la compréhension de ce nouveau rôle de HTT dans l'adhésion et la motilité. Nous montrons que la HTT est clairement localisée à la membrane cellulaire, et que cette localisation est diminuée dans les cellules microinvasives. En diminuant les niveaux de la HTT, la motilité cellulaire est augmentée et la formation de métastases est favorisée. Cela suggère que la localisation de la HTT à la membrane est importante pour l'adhésion cellule-cellule. Dans des conditions de la MH, des résultats similaires ont été obtenus, la présence de la HTT mutée entraîne une augmentation de la motilité des cellules tumorales et de la formation des métastases. Cela pourrait être dû soit à un gain de fonction de la HTT mutante ou, comme la seconde partie des résultats pourraient le suggérer, à la diminution de l'expression de HTT sauvage. Pour déterminer plus précisément si l'effet de la HTT mutée dans la motilité cellulaire est un gain ou une perte de fonction, nous avons diminué l'expression de la HTT dans des cellules exprimant soit la HTT normale soit la HTT mutée, puis réalisé des expériences de migration. Alors que la motilité des cellules sauvages est accélérée lorsque les niveaux d'expression de HTT sont diminués (atteignant des niveaux comparables à ceux des cellules exprimant la HTT mutée), la motilité des cellules exprimant la HTT mutée n'a pas été significativement modifiée lorsqu'on diminue l'expression de cette HTT mutée. Ces résultats suggèrent que la HTT a un rôle de frein de la motilité, cette fonction est perdue en présence de la mutation. Cependant, les mécanismes moléculaires peuvent être légèrement différents. Dans la situation mutante, l'interaction HTT / dynamine est plus forte, de sorte que la HTT mutée agit comme une forme dominante-négative, correspondant à un gain de fonction toxique.

Ce rôle de la HTT régulant l'équilibre entre l'adhésion et motilité peut être lié à un autre processus, la TEM. Cette transition entraine une diminution de l'adhésion cellulaire avec une motilité accrue. Dans des tumeurs mammaires murines exprimant la HTT mutée, nous avons remarqué une transition de phénotype cellulaire épithéliale vers mésenchymateuse. Ceci pourrait être une fonction majeure de la HTT,

Dans une analyse plus générale de l'expression de la HTT, nous avons observé que l'expression de la HTT est plus importante dans différentes cellules épithéliales en comparaison à différentes cellules mésenchymateuses. Ce profil d'expression est en accord avec un rôle dans la TEM et renforce l'idée que la HTT participe au maintien de l'intégrité des tissus en régulant notamment l'homéostasie des jonctions cellulaires.

Des résultats préliminaires utilisant un modèle murin ou l'expansion CAG de la HTT n'est plus présent, le Hdh^{Q0}, ont permis d'étudier le rôle spécifique de cette expansion dans la protéine HTT. Nous avons vu que l'expansion anormale de CAG (conditions de la MH) entraine une prolifération accrue dans le cancer du sein. Ici, nous avons cherché à comprendre si l'effet dans le cancer était proportionnel à la taille de l'expansion CAG.

Lorsque la HTT est dépourvue de sa séquence polyglutaminique, il y a un délai de l'apparition des tumeurs mammaires chez les souris. Ces tumeurs expriment des taux moindres de HER2 en comparaison aux souris sauvages. Au vu des résultats obtenus, il semble donc probable que le délai de formation des tumeurs soit, au moins en partie, en lien avec une activation moindre des voies de signalisation en aval de HER2, probablement contrôlée aussi par des mécanismes d'endocytose.

D'autre part, la taille de la séquence polyglutaminique de la HTT semble jouer en rôle important lors de la mammogenèse. En effet, son absence entraîne un phénotype marqué : il y a un retard de l'envahissement du tissu graisseux par les structures canalaires, un nombre diminué de bourgeons mammaires terminaux et les ramifications sont moins nombreuses en comparaison aux souris sauvages. Inversement, les souris exprimant la HTT mutée (Hdh^{Q111}) présentent un développement mammaire accru avec l'envahissement du tissu graisseux plus important, plus de bourgeons terminaux et de ramifications en comparaison aux souris sauvages. HER2 ainsi que tous les membres de sa famille de récepteurs (récepteurs à l'EGF) sont impliqués dans la mammogenèse (Eccles, 2011). Le récepteur HER2 spécifiquement joue un rôle important lors de la puberté. La régulation des taux de HER2 en fonction de la taille de la séquence polyglutaminique de la HTT pourrait également avoir lieu dans les glandes mammaires à des stades précoces du développement, expliquant ainsi les défauts de développement observés.

Ces phénotypes observés aux cours de la mammogenèse, dépendants de la taille de l'expansion CAG, sont plus marqués pendant le développement pubertaire. Cependant, chez la souris vierge adulte, ces phénotypes sont moins évidents (non représentés). Néanmoins, cet aspect pourrait avoir un effet sur le cancer. Le surdéveloppement du tissue mammaire dans les conditions de la MH est probablement lié à une prolifération accrue, et ceci pourrait expliquer le développement précoce des cancers observés chez les souris exprimant la forme mutée de la HTT. Par contre, l'agressivité et le potentiel métastatique sont eux indépendants de cet aspect développemental comme vu *in vitro* ou en expériences de transplantations de tumeurs.

Ces résultats sont en accord avec une nouvelle hypothèse liant la taille de l'expansion CAG (dans une gamme non pathologique) a un avantage évolutif, comme suggéré dans une étude récente concernant la neurulation chez le poisson (Lo Sardo et al., 2012). Le nombre des répétitions CAG dans la HTT a évolué, et les organismes les plus complexes contiennent une expansion plus importante de CAG (par exemple, la HTT chez le poisson n'a pas de CAG, chez la souris, 7 CAGs sont présentes et chez l'homme, l'HTT contient en moyenne 17 CAGs). Ceci pourrait être important pour la régulation de processus évolutifs complexes telle que le développement de la glande mammaire.

References

An, M.C., Zhang, N., Scott, G., Montoro, D., Wittkop, T., Mooney, S., Melov, S., and Ellerby, L.M. (2012). Genetic correction of Huntington's disease phenotypes in induced pluripotent stem cells. Cell Stem Cell *11*, 253–263.

Colin, E., Zala, D., Liot, G., Rangone, H., Borrell-Pagès, M., Li, X.-J., Saudou, F., and Humbert, S. (2008). Huntingtin phosphorylation acts as a molecular switch for anterograde/retrograde transport in neurons. The EMBO Journal *27*, 2124–2134.

Eccles, S.A. (2011). The epidermal growth factor receptor/Erb-B/HER family in normal and malignant breast biology. The International Journal of Developmental Biology *55*, 685–696.

Gauthier, L.R., Charrin, B.C., Borrell-Pagès, M., Dompierre, J.P., Rangone, H., Cordelières, F.P., De Mey, J., MacDonald, M.E., Lessmann, V., Humbert, S., et al. (2004). Huntingtin controls neurotrophic support and survival of neurons by enhancing BDNF vesicular transport along microtubules. Cell *118*, 127–138.

Guy, C.T., Cardiff, R.D., and Muller, W.J. (1992). Induction of mammary tumors by expression of polyomavirus middle T oncogene: a transgenic mouse model for metastatic disease. Molecular and Cellular Biology *12*, 954–961.

Muller, W.J., Sinn, E., Pattengale, P.K., Wallace, R., and Leder, P. (1988). Single-step induction of mammary adenocarcinoma in transgenic mice bearing the activated c-neu oncogene. Cell *54*, 105–115.

Panzer, S., Kuhl, D.P., and Caskey, C.T. (1995). Unstable triplet repeat sequences: a source of cancer mutations? Stem Cells (Dayton, Ohio) *13*, 146–157.

Lo Sardo, V., Zuccato, C., Gaudenzi, G., Vitali, B., Ramos, C., Tartari, M., Myre, M. a, Walker, J. a, Pistocchi, A., Conti, L., et al. (2012). An evolutionary recent neuroepithelial cell adhesion function of huntingtin implicates ADAM10-Ncadherin. Nature Neuroscience *15*, 713–721.

Schulte, J., and Littleton, J.T. (2011). The biological function of the Huntingtin protein and its relevance to Huntington's Disease pathology. Current Trends in Neurology *5*, 65–78.

Sørensen, S. a, Fenger, K., and Olsen, J.H. (1999). Significantly lower incidence of cancer among patients with Huntington disease: An apoptotic effect of an expanded polyglutamine tract? Cancer *86*, 1342–1346.

Trettel, F., Rigamonti, D., Hilditch-Maguire, P., Wheeler, V.C., Sharp, a H., Persichetti, F., Cattaneo, E., and MacDonald, M.E. (2000). Dominant phenotypes produced by the HD mutation in STHdh(Q111) striatal cells. Human Molecular Genetics *9*, 2799–2809.

Zuccato, C., Ciammola, a, Rigamonti, D., Leavitt, B.R., Goffredo, D., Conti, L., MacDonald, M.E., Friedlander, R.M., Silani, V., Hayden, M.R., et al. (2001). Loss of huntingtin-mediated BDNF gene transcription in Huntington's disease. Science (New York, N.Y.) *293*, 493–498.