

# **PATHOLOGIE MOLÉCULAIRE DU CARCINOME HEPATOCELLULAIRE**

Pierre BEDOSSA

INSERM U773, CRB3 Université Denis Diderot-Paris 7 ;

et Service d'Anatomie pathologique

Hôpital Beaujon – Clichy

Les progrès récents des techniques d'analyse moléculaire à haut débit permettent l'exploration simultanée de l'ensemble des anomalies des gènes ou de leur expression à l'échelle des transcrits (ARN) et des protéines. Appliquées à l'étude des tumeurs, ces techniques (-omics) ont permis de progresser dans la compréhension des mécanismes de la carcinogenèse et pourraient également contribuer, dans un avenir proche à une meilleure prise en charge des patients grâce à l'identification de signatures ou de marqueurs utiles pour le diagnostic et/ou le pronostic du carcinome hépatocellulaire (CHC).

Dans le domaine du CHC, les données restent cependant encore très fragmentaires compte tenu en particulier du caractère multifactoriel de la maladie. La majorité des CHC se développent sur une cirrhose qui peut être en relation avec différentes étiologies. Les mécanismes moléculaires sont en relation à la fois avec le mécanisme inflammatoire aboutissant à la constitution de la cirrhose et/ou au facteur étiologique qui est à son origine. Ce manuscrit résume les principales avancées dans le domaine de la pathologie moléculaire des CHC.

## **a- Mécanismes moléculaires du CHC liés à la cirrhose**

La carcinogenèse hépatique est dans la très grande majorité des cas un processus multi-étapes. L'hépatite chronique et la cirrhose qui précèdent l'apparition du CHC sont de véritables étapes préneoplasiques. Ces états pathologiques sont susceptibles d'induire des anomalies

moléculaires, indépendamment des facteurs étiologiques qui en sont responsables. En effet, ces lésions traduisent un mécanisme inflammatoire chronique associée à une régénération hépatocytaire excessive et à un stress oxydatif, événements qui précipitent la sénescence répllicative et l'accumulation d'altérations génétiques et épigénétiques dans les hépatocytes (1). Ainsi, les nodules cirrhotiques dysplasiques de haut grade sont de véritables lésions pré-néoplasiques fréquemment monoclonales, présentant des aberrations chromosomiques multiples et la réexpression de la télomérase, mécanismes participant à l'immortalisation des hépatocytes (2-6). Cependant, les altérations structurales de gènes impliqués dans le contrôle de la prolifération cellulaire n'ont jamais été identifiées jusqu'à présent dans les nodules cirrhotiques ou dysplasiques alors qu'elles sont très fréquentes dans les CHC constitués.

#### **b- Mécanismes moléculaires liés à l'étiologie de la cirrhose**

Il s'agit principalement de l'infection chronique par les virus de l'hépatite B et C (VHB et VHC), l'exposition à l'Aflatoxine B1, la consommation excessive d'alcool, les maladies génétiques comme l'hémochromatose ou le déficit en alpha 1 anti-trypsine. Les mécanismes moléculaires les plus étudiés concernent essentiellement le rôle des virus des hépatites dans la carcinogénèse.

Le VHB est un virus oncogène. L'étude des sites d'insertion du VHB dans le génome des cellules tumorales a permis d'identifier des gènes ciblés de manière récurrente par le VHB comme ceux de la télomérase, ou de MLL (7,8). Ces gènes ont très probablement un rôle dans la carcinogénèse hépatique comme l'ont montré plusieurs modèles animaux génétiquement modifiés et des études de fonction des protéines virales dans le contrôle de la prolifération cellulaire (9,10). Concernant les mécanismes de carcinogénèse induite par le VHC, les connaissances sont plus fragmentaires du fait, principalement, du manque de modèles expérimentaux adéquats (11). Récemment, un modèle de souris transgéniques exprimant

l'ensemble de la séquence codante d'HCV qui développe des carcinomes hépatocellulaires a suggéré le rôle transactivateur de certaines protéines virales (12).

### **c- Identification de nouvelles voies de carcinogénèse**

De nombreuses voies de signalisation sont altérées dans les CHC. Il s'agit principalement de la voie Wnt  $\beta$ -caténine activée par mutation du gène de la  $\beta$ -caténine (environ 20 à 40% des cas et l'inactivation de la voie TP53 dans 20 à 50% des CHC avec chez les malades exposés à l'Aflatoxine B1 une mutation spécifique au codon 249 (13,14). D'autres gènes peuvent contribuer à l'activation de la voie WNT/ $\beta$ -caténine comme l'axine, et d'autres voies de signalisation (Ras, TGF $\beta$ , MET, IGF, AKT...). La plupart de ces altérations ont été mises en évidence dans des CHC évolués.

Plus récemment, le rôle des altérations épigénétiques (méthylation par exemple) a été identifié dans de nombreux CHC et dans certaines cirrhoses peritumorales (15). Un des enjeux importants actuellement est d'une part de compléter le répertoire des voies de carcinogénèse altérées et de comprendre par quels mécanismes ces voies coopèrent entre elles.

### **d- Classification moléculaire des CHC**

Les analyses du transcriptome de grandes séries de CHC ont permis récemment de réaliser une véritable classification des ces tumeurs chez l'homme (16,17). Cette approche a permis en particulier d'identifier un sous-groupe de tumeur de type « hépatoblast-like » et a montré l'étroite relation existant entre les différents sous-groupes moléculaires et les facteurs de risque. Ces classifications constituent des outils de choix pour l'identification de nouveaux ciblages thérapeutiques personnalisés (18).

L'identification d'un sous-groupe de CHC exprimant des marqueurs hépatoblastiques a soulevé une nouvelle hypothèse quant à l'origine du type cellulaire donnant naissance au CHC. Celle-ci suggère que le CHC dériverait de la transformation maligne de cellules

progénitrices du foie. Cette hypothèse s'appuie sur des travaux expérimentaux qui montrent que seul un pourcentage très limité de cellules tumorales est susceptible de donner naissance à un nouveau cancer après transplantation chez l'animal (19,20). De plus ces cellules présentent un phénotype particulier de cellules progénitrices. Ces «cellules souches cancérisées» seraient donc à l'origine du développement et de la propagation du CHC. Cette théorie s'accorde tout à fait avec l'existence d'un sous-groupe particulier de CHC humains dont les cellules tumorales expriment des marqueurs de cellules progénitrices comme la cytokératine 19. Ces CHC auraient un pronostic plus péjoratif. Cette entité se rapproche des CHC de phénotype intermédiaire comme les hépatocholangiocarcinomes.

Il semble cependant que la majorité des CHC humains dérivent des cellules hépatiques différenciés qui sous l'influence d'événements oncogéniques multiples peuvent acquérir la capacité d'envahir et de diffuser le tissu cirrhotique péri-tumoral.

#### **e- Rôle du microenvironnement tumoral**

Plusieurs mécanismes moléculaires ont été décrits comme responsables de la dissémination cellulaire, de l'invasion et des métastases. En particulier, c'est le cas de la dérégulation de nm23, ostéopontine, Rho C, MMP2, MMP9, MMP14 ou TGF $\beta$  (21). Par ailleurs l'importance du microenvironnement tumoral a aussi été identifiée par la mise en évidence dans le tissu hépatique adjacent à la tumeur d'une signature de type interleukine corrélée à l'envahissement veineux et au développement de métastases et par le rôle des myofibroblastes et du remodelage de la matrice extracellulaire dans l'invasion tumorale. Enfin, l'identification récente du rôle de la matrice extra-cellulaire, et plus particulièrement du variant V3 du collagène 18, dans sa capacité à inhiber la voie WNT est une découverte récente qui pointe une nouvelle fois le rôle du microenvironnement tumoral dans le contrôle de la croissance tumorale.

## **f- Etude de la prédiction de la réponse ou de la résistance aux traitements**

Le développement récent de thérapies ciblées dont une au moins (Sorafenib) a déjà démontré son efficacité en terme de survie dans le traitement du CHC pose la question importante de l'identification des malades qui bénéficieront de ces nouveaux traitements. Cette question se pose de manière similaire pour affiner les indications des traitements curatifs classiques chirurgicaux ou par radiofréquence. Plusieurs marqueurs pronostiques ont déjà été identifiés par le biais d'analyses histologiques, génétiques, chromosomiques, transcriptomiques, protéomique ... Actuellement, les validations multicentriques de ces marqueurs sont essentielles pour identifier les plus robustes tout en tenant compte de la diversité des tumeurs.

## **Conclusions**

Les mécanismes moléculaires à l'origine du développement et de la diffusion du CHC sont complexes et multiples. Les nouveaux outils d'analyse moléculaire ont bien mis en évidence cette complexité. Actuellement, il n'existe pas de modèle murin permettant de modéliser de la manière satisfaisante la séquence de carcinogenèse foie sain => cirrhose => CHC. C'est probablement un enjeu majeur qui permettra de mieux comprendre le rôle de l'environnement tumoral à la fois dans les étapes précoces et plus tardives de la carcinogenèse.

## **RÉFÉRENCES :**

1. Thorgeirsson SS, Grisham JW. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Nat Genet* 2002;31:339-346.
2. Piao Z, Park YN, Kim H, Park C. Clonality of large regenerative nodules in liver cirrhosis. *Liver* 1997;17:251-256.
3. Paradis V, Laurendeau I, Vidaud M, Bedossa P. Clonal analysis of macronodules in cirrhosis. *Hepatology* 1998;28:953-958.
4. Yeh SH, Chen PJ, Shau WY, Chen YW, Lee PH, Chen JT, Chen DS. Chromosomal allelic imbalance evolving from liver cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2001;121:699-709.
5. Marchio A, Terris B, Meddeb M, Pineau P, Duverger A, Tiollais P, Bernheim A, et al. Chromosomal abnormalities in liver cell dysplasia detected by comparative genomic hybridisation. *Mol Pathol* 2001;54:270-274.

6. Oh BK, Jo Chae K, Park C, Kim K, Jung Lee W, Han KH, Nyun Park Y. Telomere shortening and telomerase reactivation in dysplastic nodules of human hepatocarcinogenesis. *J Hepatol* 2003;39:786-792.
7. Kremsdorf D, Soussan P, Paterlini-Brechot P, Brechot C. Hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: paradigms for viral-related human carcinogenesis. *Oncogene* 2006;25:3823-3833.
8. Murakami Y, Saigo K, Takashima H, Minami M, Okanou T, Brechot C, Paterlini-Brechot P. Large scaled analysis of hepatitis B virus (HBV) DNA integration in HBV related hepatocellular carcinomas. *Gut* 2005;54:1162-1168.
9. Tu H, Bonura C, Giannini C, Mouly H, Soussan P, Kew M, Paterlini-Brechot P, et al. Biological impact of natural COOH-terminal deletions of hepatitis B virus X protein in hepatocellular carcinoma tissues. *Cancer Res* 2001;61:7803-7810.
10. Cougot D, Wu Y, Cairo S, Caramel J, Renard CA, Levy L, Buendia MA, et al. The hepatitis B virus X protein functionally interacts with CREB-binding protein/p300 in the regulation of CREB-mediated transcription. *J Biol Chem* 2007;282:4277-4287.
11. Levrero M. Viral hepatitis and liver cancer: the case of hepatitis C. *Oncogene* 2006;25:3834-3847.
12. Lerat H, Honda M, Beard MR, Loesch K, Sun J, Yang Y, Okuda M, et al. Steatosis and liver cancer in transgenic mice expressing the structural and nonstructural proteins of hepatitis C virus. *Gastroenterology* 2002;122:352-365.
13. de La Coste A, Romagnolo B, Billuart P, Renard CA, Buendia MA, Soubrane O, Fabre M, et al. Somatic mutations of the beta-catenin gene are frequent in mouse and human hepatocellular carcinomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:8847-8851.
14. Bressac B, Kew M, Wands J, Ozturk M. Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa. *Nature* 1991;350:429-431.
15. Calvisi DF, Ladu S, Gorden A, Farina M, Lee JS, Conner EA, Schroeder I, et al. Mechanistic and prognostic significance of aberrant methylation in the molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *J Clin Invest* 2007;117:2713-2722.
16. Lee JS, Heo J, Libbrecht L, Chu IS, Kaposi-Novak P, Calvisi DF, Mikaelyan A, et al. A novel prognostic subtype of human hepatocellular carcinoma derived from hepatic progenitor cells. *Nat Med* 2006;12:410-416
17. Boyault S, Rickman DS, de Reynies A, Balabaud C, Rebouissou S, Jeannot E, Herault A, et al. Transcriptome classification of HCC is related to gene alterations and to new therapeutic targets. *Hepatology* 2007;45:42-52.
18. Villanueva A, Toffanin S, Llovet JM. Linking molecular classification of hepatocellular carcinoma and personalized medicine: preliminary steps. *Curr Opin Oncol* 2008;20:444-453.
19. Wang JC, Dick JE. Cancer stem cells: lessons from leukemia. *Trends Cell Biol* 2005;15:494-501
20. Adams JM, Strasser A. Is Tumor Growth Sustained by Rare Cancer Stem Cells or Dominant Clones? *Cancer Res* 2008;68:4018-21
21. Villanueva A, Newell P, Chiang DY, Friedman SL, Llovet JM. Genomics and signaling pathways in hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis* 2007;27:55-76.