HAL open science

Vers la bioproduction de métabolites anticancéreux par les levures

Vincent Courdavault, Nicolas Papon, Marc Clastre

To cite this version:

Vincent Courdavault, Nicolas Papon, Marc Clastre. Vers la bioproduction de métabolites anticancéreux par les levures. Médecine/Sciences, 2019, 35 (5), pp.417-419. 10.1051/medsci/2019087 . hal-02483211

HAL Id: hal-02483211

https://univ-angers.hal.science/hal-02483211v1

Submitted on 17 Oct 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.

Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Vers la bioproduction de métabolites anticancéreux par les levures

Vincent Courdavault[1], Nicolas Papon[2], Marc Clastre[1]

[1]Université de Tours, EA2106 Biomolécules et biotechnologies végétales, 31, avenue Monge, 37200 Tours, France.
[2]Groupe d'étude des interactions hôte-pathogène, GEIHP, EA 3142, SFR ICAT 4208, Université d'Angers, Université de Brest, Institut de biologie en santé, IRIS, CHU d'Angers, 4, rue Larrey, 49100 Angers, France.
vincent.courdavault@univ-tours.fr

> Les cancers restent à ce jour une cause majeure de morbidité et de mortalité à travers le monde. À l'échelle du globe, on ne dénombre en effet pas moins de 8 millions de morts par an dus à des cancers [1]. En France, bien que des progrès spectaculaires soient régulièrement réalisés dans la prise en charge de ces pathologies, les chiffres demeurent accablants. C'est encore plus de 400 000 nouveaux cas qui sont diagnostiqués chaque année et ce sont 150 000 hommes et femmes qui décèdent de ces affections malignes. Chez l'homme, les nouveaux cas restent majoritairement représentés par le cancer de la prostate, le cancer du poumon, deuxième cancer le plus fréquent, suivi du cancer colorectal. Chez la femme, le cancer du sein est de loin le plus fréquent devant le cancer du côlon-rectum et le cancer du poumon [2].

Les traitements actuellement disponibles

Aujourd'hui, le schéma thérapeutique proposé dans le cadre de la prise en charge d'un cancer s'adapte à chaque situation. On peut citer parmi les stratégies curatives principales, la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie. Si, dans le traitement des cancers, les médicaments de thérapie ciblée (inhibiteurs de tyrosine kinase, anticorps monoclonaux, etc.) ont connu un très fort développement ces dernières années dans les pays développés, les cytotoxiques font toujours l'objet d'une forte demande au niveau mondial. Parmi les composés cytotoxiques anticancéreux les plus utilisés, on dénombre les agents alkylants (sels de platine), les intercalants (idarubicine), les scindants (bléomycine), les inhibiteurs de topoisomérases (irinotécan, topotécan, étoposide), les antimétabolites (raltitrexed, méthotrexate, cytarabine, etc.) et les molécules ciblant le fuseau mitotique (vinca-alcaloïdes, taxanes) [3].

Les anticancéreux d'origine végétale

Les anticancéreux ciblant le fuseau mitotique des cellules tumorales ont pour caractère commun d'être extraits de plantes médicinales. Ils sont majoritairement représentés par deux séries de molécules biologiques : les taxanes de l'if européen (*Taxus baccata*) et les vinca-alcaloïdes de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*) [3, 4] (➜).

(➜) Voir la Synthèse de L. Faye et Y. Champey, *m/s* n° 11, novembre 2008, page 939

Les vinca-alcaloïdes anticancéreux (vinblastine, vincristine et dérivés semi-synthétiques) inhibent la polymérisation de la tubuline dans les cellules en division. Ils sont utilisés dans le traitement d'un grand nombre de cancers. La vinblastine demeure un antimitotique majeur de l'arsenal thérapeutique aujourd'hui disponible pour traiter par exemple les cancers de l'ovaire, de la vessie, du rein, du sein, du testicule, les choriocarcinomes, les histiocytoses, les lymphomes non hodgkiniens, les maladies de Hodgkin, ainsi que les sarcomes de Kaposi [5].

Le faible taux de biosynthèse de ces alcaloïdes *in planta* a conduit l'industrie pharmaceutique à produire ces molécules par condensation chimique de leurs deux précurseurs, la vindoline et la catharanthine, présents en quantité plus importante dans les feuilles de la plante. Celle-ci est donc cultivée à grande échelle et utilisée comme source de matière première. De fait, l'approvisionnement en vindoline et catharanthine reste fluctuant et dépendant de divers facteurs externes, dont les aléas climatiques et géopolitiques.

Vers des alternatives de bioproduction à haut rendement

L'intérêt thérapeutique des vinca-alcaloïdes anticancéreux, la faible abondance de leurs précurseurs dans la plante et leur coût de production sont à l'origine de nombreux travaux de recherche visant à améliorer les rendements de production de ces molécules. Le marché mondial pour la vincristine et la vinblastine se situe autour de 300 millions de dollars, avec une valeur marchande, bien que très variable selon les fournisseurs, de plusieurs milliers de dollars le gramme.

Depuis de nombreuses années, un certain nombre d'équipes de recherche à travers le monde ont donc porté leurs efforts sur l'identification des enzymes impliquées dans la voie de biosynthèse des vinca-alcaloïdes anticancéreux de la pervenche de Madagascar [6]. Une fois identifiés, les gènes codant ces enzymes végétales pourraient en effet être transférés dans des microorganismes (en particulier la levure *Saccharomyces cerevisiæ*) qui seraient alors capables de produire en grande quantité les précurseurs vindoline et catharanthine. De telles approches dites « d'ingénierie métabolique » ont déjà

https://doi.org/10.1051/medsci/2019087

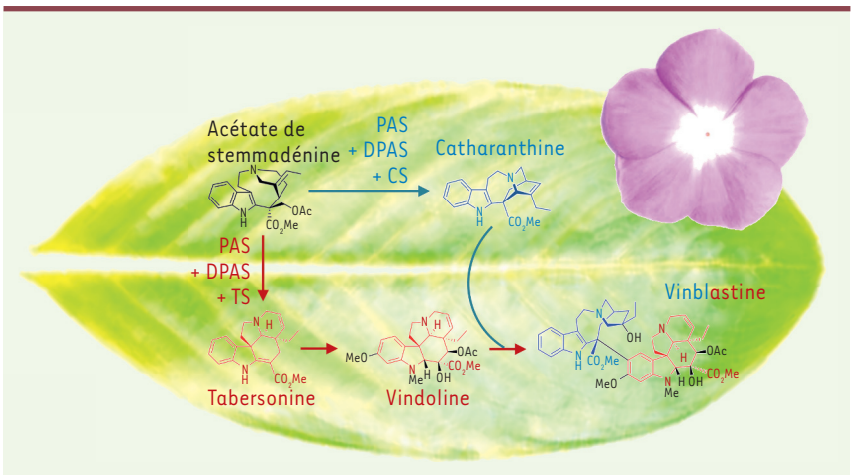

Figure 1. ***Caractérisation des enzymes de la voie de biosynthèse menant à la catharanthine et à la tabersonine.*** L'acétate de stemmadénine est converti en catharanthine par les enzymes précondylocarpine acétate synthase (PAS), dihydroprécondylocarpine synthase (DPAS) et catharanthine synthase (CS). Parallèlement, l'acétate de stemmadénine peut être également converti en tabersonine grâce à l'action des enzymes précondylocarpine acétate synthase (PAS), dihydroprécondylocarpine synthase (DPAS) et tabersonine synthase (TS). Les étapes menant de la tabersonine à la vindoline ont été caractérisées dans de précédentes études.

porté leurs fruits dans le domaine de la santé. L'incontournable artémisinine, molécule végétale antipaludique extraite initialement de l'armoise annuelle (*Artemisia annua*)[1] [7] (➜) a ainsi été le premier médicament produit par ingénierie métabolique et commercialisé en 2013. Cette molécule a en effet été biosynthétisée, par une levure modifiée, à l'échelle de plusieurs dizaines de tonnes par an [8].

(➜) Voir Repères de D. Mazet et M. Thellier, *m/s* n° 1, janvier 2016, page 106

Identification des dernières étapes inconnues menant à la vindoline et la catharanthine

Les vinca-alcaloïdes anticancéreux et leurs précurseurs, vindoline et catharanthine, appartiennent à la famille des alcaloïdes indoliques monoterpéniques (AIM) [9]. La voie de biosynthèse des AIM dans la plante est très complexe. Elle fait intervenir plus d'une trentaine d'étapes enzymatiques [10]. Si les enzymes impliquées au début et au milieu de la voie de synthèse ont été progressivement identifiées et caractérisées au cours des dernières décennies, les derniers chaînons en fin de voie restaient encore à élucider. En collaboration avec le groupe de recherche du Dr Sarah O'Connor du *John Innes Centre* (au Royaume-Uni), notre équipe a participé à une avancée majeure touchant le secteur des biotechnologies appliquées à la santé humaine et qui a été récemment publiée dans la revue *Science* [11]. Nous avons en effet identifié et caractérisé les dernières enzymes clés qui manquaient jusqu'alors pour compléter la voie de biosynthèse conduisant aux précurseurs vindoline et catharanthine *(Figure 1)*. Nous avons pu montrer l'implication de deux enzymes, une oxydase et une réductase, qui transforment l'acétate de stemmadénine en acétate de dihydroprécondylocarpine. Ce dernier est ensuite modifié et cyclisé par deux hydrolases pour aboutir soit à la catharanthine, soit à la tabersonine (les étapes menant de la tabersonine à la vindoline avaient été préalablement caractérisées). Plus précisément, l'acétate de stemmadénine est séquentiellement converti en catharanthine par les enzymes précondylocarpine acétate synthase (PAS), dihydroprécondylocarpine synthase (DPAS) et catharanthine synthase (CS). Parallèlement, l'acétate de stemmadénine peut être converti en tabersonine grâce à l'action des enzymes précondylocarpine acétate synthase (PAS), dihydroprécondylocarpine synthase (DPAS) et tabersonine synthase (TS) *(Figure 1)*.

Demain, des levures de bière produiront les précurseurs des vinca-alcaloïdes anticancéreux…

Notre équipe est à l'origine de la découverte de bon nombre d'enzymes impliquées dans la biosynthèse des AIM [12]. Il est donc envisageable dès à présent de développer à court terme des levures capables de bioproduire par ingénierie métabolique et « à grande échelle » les précurseurs vindoline et catharanthine qui pourront être utilisés pour l'hémisynthèse des vinca-alcaloïdes anticancéreux.

Au-delà de ces résultats prometteurs et en s'inscrivant dans la transition chimie-bioproduction opérée dans l'industrie pharmaceutique, il sera possible, dans un futur proche, de transposer cette approche à la bioproduction de diverses familles chimiques d'anticancéreux, mais également à d'autres molécules d'intérêts pharmaceutiques. ◊

Towards bioproduction of anticancer drugs by yeast

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Global burden of disease cancer collaboration. Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 32 cancer groups, 1990 to 2015: a systematic analysis for the global burden of disease study. *JAMA Oncol* 2017 ; 3 : 524-48.
2. Institut National du Cancer. *Projection de l'incidence et de la mortalité en France métropolitaine en 2017. Rapport technique*. Paris : INCa, janvier 2018.
3. Faure S. Anticancéreux cytotoxiques. *Actualités Pharmaceutiques* 2010 ; 49 : 51-4.
4. Faye L, Champey Y. Plantes, médicaments et génétique - Quelles applications pour demain ? *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 939-46.

[1]Sa découverte et son utilisation ont été soulignées par le Prix Nobel de médecine ou physiologie de 2015 [7].

RÉFÉRENCES

5. Vidal 2001. *Le dictionnaire*. 77e ed. Paris : Éditions Vidal, 2001 ; 2343 : 256 p.
6. Courdavault V, Papon N, Clastre M, *et al*. A look inside an alkaloid multisite plant: the Catharanthus logistics. *Curr Opin Plant Biol* 2014 ; 19 : 43-50.
7. Mazier D, Thellier M. Youyou Tu, de Mao Zedong au Prix Nobel. Prix Nobel de Médecine 2015 : William C. Campbell, Satoshi Ōmura et Youyou Tu. *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 106-9.
8. Paddon CJ, Westfall PJ, Pitera DJ, *et al*. High-level semi-synthetic production of the potent antimalarial artemisinin. *Nature* 2013 ; 496 : 528-32.
9. St-Pierre B., Besseau S., Clastre M., *et al*. Deciphering the evolution, cell biology and regulation of monoterpene indole alkaloids. *Adv Bot Res* 2013 ; 68 : 73-109.
10. Dugé de Bernonville T, Clastre M, Besseau S, *et al*. Phytochemical genomics of the Madagascar periwinkle: unravelling the last twists of the alkaloid engine. *Phytochemistry* 2015 ; 113 : 9-23.
11. Caputi L, Franke J, Farrow SC, *et al*. Missing enzymes in the biosynthesis of the anticancer drug vinblastine in Madagascar periwinkle. *Science* 2018 ; 360 : 1235-9.
12. Carqueijeiro I, Brown S, Chung K, *et al*. Two tabersonine 6,7-epoxidases initiate lochnericine-derived alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus*. *Plant Physiol* 2018 ; 177 : 1473-86.

NOUVELLE

Des organes sur puce au service de la cancérologie

Annie Molla, Jean-Luc Coll

Institut pour l'avancée des biosciences (IAB), équipe « thérapie ciblée, diagnostic précoce et imagerie du cancer », Inserm U1209, CNRS UMR5309, Université Grenoble Alpes, allée des Alpes, 38700 Grenoble, France.
annie.molla@univ-grenoble-alpes.fr

> Après des décennies à étudier les cellules cancéreuses humaines adhérant sur une surface plastique, la biologie cellulaire s'est progressivement complexifiée en intégrant la 3e dimension. Des dépôts de matrice extracellulaire peuvent être réalisés par des imprimantes 3D reconstituant ainsi *in vitro*, des réseaux de fibres de collagène [1] (➜). De nombreuses techniques de cultures cellulaires en 3D ont également été décrites ces quinze dernières années. Les cellules sont soit déposées sur un lit de matrice extracellulaire (souvent du *matrigel*™), soit cultivées dans des conditions empêchant leur adhérence (puits de faible adhérence, lit d'agarose ou en goutte pendante). Ces modèles reproduisent les interactions cellule-cellule et seule la couche externe de cellules est en contact constant avec les nutriments. Une zone hypoxique se crée ainsi progressivement au centre de l'agrégat cellulaire, nommé organoïde ou sphéroïde *(Figure 1)*. Il a été montré que les récepteurs de surface, comme l'EGFR (*epithelial growth factor receptor*), étaient plus faiblement exprimés dans les sphéroïdes, comparativement à ce qui est observé avec les mêmes cellules cultivées en 2 dimensions (2D) *(Figure 1)*. La signalisation intracellulaire y est donc différente.

(➜) Voir la Nouvelle de N. Elkahatib et G. Montagnac, *m/s* n° 6-7, juin-juillet 2018, page 522

Un des avantages des cultures 3D est également de pouvoir introduire au sein des sphéroïdes des cellules annexes qui sont présentes dans les tumeurs, comme les fibroblastes ou les cellules immunitaires. Ainsi, l'ajout de fibroblastes de patients à des cellules de mélanome cultivées en 3D modifie les voies de prolifération des cellules cancéreuses avec la réactivation de la voie ERK (*extracellular signal-regulated kinase*) *via* Fak (*focal adhesion kinase*) au détriment de BRAF (*v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1*) [2]. Toutefois, ces cultures en suspension présentent des défauts de cytodiérèse et ne peuvent donc totalement rendre compte de la croissance des tumeurs [3]. Ces cultures ne reproduisent également pas les interactions et les échanges entre la tumeur, les tissus voisins et le système vasculaire environnant, qui sont des contributeurs importants à sa progression et donc essentiels à la lutte contre le cancer. Pour pallier ces défauts et définir des modèles thérapeutiques plus prédictifs, une nouvelle technologie se développe : il s'agit d'organes sur puce[1] (OSP) intégrés dans un système de microfluidique. Le groupe de Donald Ingber, précurseur dans cette technologie, a publié récemment une revue dans *Nature Rev Cancer* [4], qui décrit les systèmes existants et leurs potentialités. Dans cette nouvelle, nous analyserons les OSP présentés dans cette revue en centrant le propos sur le cancer du poumon [4, 5].

Description de la *puce poumon*

Ces dispositifs miniaturisés utilisent la technologie de la microfluidique et de la culture cellulaire pour reproduire l'environnement complexe d'une tumeur au sein d'un organe. Les cellules tumorales reposent sur une monocouche de cellules épithéliales de poumon non transformées, elle-même en contact avec une matrice extracellulaire (MEC) enrichie en fibroblastes normaux et perfusée par du milieu de culture. La MEC est déposée sur une membrane synthétique poreuse qui assure l'interface avec le compartiment basal *(Figure 2)* [5, 6]. Ce tissu reconstitué est, dans sa partie basale,

[1]Elles sont appelées « puces » car, à l'origine, leur élaboration est adaptée des méthodes de microfabrication des composants d'ordinateurs.