

Mécanismes moléculaires impliqués dans la tumorigenèse et dans le comportement invasif des adénomes hypophysaires

Dans la première partie de ce travail, nous avons cherché à préciser les mécanismes moléculaires conduisant à l'expression ectopique du récepteur du GIP (Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide receptor, GIPR) dans les adénomes somatotropes. Cette expression était particulièrement importante dans les tumeurs provenant de patients présentant une acromégalie avec une réponse paradoxale (stimulation) de l'hormone de croissance au glucose par voie orale. Tous les adénomes exprimant GIPR (GIPR⁺) étaient négatifs pour les mutations du gène *GNAS*. En utilisant l'ARN FISH (Fluorescence *In Situ* Hybridization) qui permet la visualisation de l'ARN naissant dans les noyaux interphasiques, nous avons mis en évidence une activation transcriptionnelle hypomorphe du gène *GIPR* dans les adénomes GIPR⁺. Contrairement à ce que nous avons précédemment décrit dans un sous-groupe de lésions surrénaliennes exprimant GIPR et responsable d'un syndrome de Cushing lié à l'alimentation, nous n'avons pas détecté, dans les tumeurs hypophysaires GIPR⁺, de microduplications du locus *GIPR* par CGH-array (Comparative Genomic Hybridization) et par DNA FISH. Cependant, l'analyse globale de la méthylation de l'ADN a mis en évidence une hyperméthylation significative du corps du gène *GIPR* pouvant expliquer l'activation transcriptionnelle hypomorphe de GIPR. En effet, l'hyperméthylation au niveau du corps du gène est associée à une activation de la transcription. De plus, les tumeurs GIPR⁺, sans mutations dans le gène *GNAS*, présentaient, par rapport aux tumeurs mutées pour *GNAS* et n'exprimant pas *GIPR*, une hyperméthylation globale de l'ADN plus prononcée au niveau du corps des gènes. Ainsi, l'activation de la voie AMP cyclique par le GIP postprandial dans les adénomes hypophysaires exprimant GIPR pourrait représenter un mécanisme alternatif de la tumorigenèse somatotrope en l'absence de mutations de l'oncogène *GNAS*.

Nous avons ensuite réalisé une analyse pangénomique de haute résolution par CGH-array de ces adénomes somatotropes. Nous avons identifié deux groupes de tumeurs en fonction de leur instabilité génomique : les tumeurs à faible altération du nombre de copies (<12% du génome, 63% des tumeurs) et celles à forte altération du nombre de copies (24-45% du génome, 37%

des tumeurs). Les anomalies les plus fréquentes correspondaient surtout à des altérations chromosomiques extensives, intéressant les bras complets des chromosomes. Les adénomes mutés pour *GNAS* appartenaient exclusivement au groupe à faible altérations chromosomiques. Deux tumeurs présentaient des réarrangements chromosomiques complexes avec une signature typique de chromothripsis ; une provenant d'un patient muté pour *AIP* et l'autre d'un patient atteint de gigantisme sporadique. Le séquençage de l'ARN de ces deux échantillons a identifié 17 transcrits de fusion, dont la plupart résulte de réarrangements chromosomiques liés au chromothripsis. L'analyse par DNA FISH de ces échantillons a démontré une architecture sous-clonale complexe incluant jusqu'à six populations cellulaires différentes. Ainsi, nous avons démontré une grande hétérogénéité inter- et intra-tumorale dans les tumeurs somatotropes. Il reste à déterminer, si les altérations chromosomiques jouent un rôle pro-actif dans l'étiopathogénie des tumeurs hypophysaires sans mutation de *GNAS* ou si elles ne sont qu'un « ballaste » cytogénétique accumulé au cours de « l'histoire » des adénomes.

Enfin, nous avons souhaité identifier les acteurs moléculaires de l'invasion du sinus caverneux par les tumeurs hypophysaires. Les adénomes hypophysaires envahissent souvent les sinus caverneux, limitant ainsi les résultats du traitement chirurgical. Pour cela, nous avons analysé une collection unique d'adénomes hypophysaires invasifs qui comportait non seulement la portion intrasellaire de la tumeur mais aussi la portion envahissante le sinus caverneux. L'analyse comparative par RNA-seq des parties invasives et non invasives des tumeurs a montré des profils d'expression génique divergents, apportant des arguments supplémentaires en faveur de l'hétérogénéité intra-tumorale dans ces tumeurs bénignes. Les échantillons tumoraux provenant de portions invasives ont montré une surexpression de la voie de transition épithélio-mésenchymateuse et des marqueurs de cellules souches cancéreuses soulignant leur rôle potentiel dans l'acquisition du phénotype invasif des cellules adénomateuses hypophysaires. Comme l'hétérogénéité génétique entraîne une diversité phénotypique, l'architecture sous-clonale des adénomes hypophysaires et la variabilité inter-tumorale doivent être prises en compte lors de l'étude de la physiopathologie des adénomes, leur évolution, leur comportement invasif et leur réponse au traitement.