

Effet additif de l'hyperthermie modérée et des radiations ionisantes sur deux lignées tumorales de colon

F. Teyssier^{1,*}, N. Perek¹, O. Sabido¹, V. Terrasse¹, G. Puel²,
J.N. Talabard², T. Schmitt² et F. Dubois¹

¹ Faculté de Médecine J. Lisfranc, 15 rue Ambroise Paré, 42023 Saint-Étienne cedex 2, France

² CHU de Saint-Étienne, boulevard Pasteur, 42055 Saint-Étienne cedex 2, France

* Correspondance et tirés à part.

RÉSUMÉ

Nous avons étudié l'effet de l'hyperthermie modérée (42°C pendant 1 heure) sur la radiosensibilité de Colo205 et Colo320DM, deux lignées tumorales humaines de colon exprimant respectivement une protéine p53 sauvage et mutée. Dans les deux lignées cellulaires, les bénéfices de l'association hyperthermie-irradiation sont dus à un effet additif des deux traitements et non à une sensibilisation des radiations ionisantes par l'hyperthermie.

Mots clefs : Radiations Ionisantes, Hyperthermie Modérée, Effet Additif.

ABSTRACT

We have examined the effect of mild hyperthermia (42°C for 1 hour) on the radio-sensitivity of Colo205 and Colo320DM, two human colon tumor cell lines which express respectively wild-type and mutated p53 protein. In both cell lines, the benefits of the association hyperthermia-irradiation result from an additive effect of both treatments and not from an hyperthermic sensitization of radiation.

Key words : Ionizing Radiation, Mild Hyperthermia, Additive Effect.

INTRODUCTION

L'hyperthermie est un radiosensibilisateur qui peut être associé à la radiothérapie comme traitement anticancéreux. De récentes études ont montré que les protocoles cliniques actuels découlent de recherches qui avaient surestimé la thermosensibilité des cellules tumorales humaines [1]. Or, les bénéfices de la combinaison hyperthermie-irradiation pourraient résulter d'un effet cytotoxique direct des deux traite-

ments et non d'une action synergique [2]. L'efficacité thérapeutique de l'association hyperthermie-radiothérapie serait alors surestimée. Nous avons testé l'effet de la combinaison hyperthermie-irradiation sur deux lignées cellulaires humaines Colo205 et Colo320DM. Il s'agit de deux lignées tumorales de colon qui diffèrent par leur p53, sauvage pour Colo205, mutée pour Colo320DM. La perte de fonction p53 a souvent été associée à une radiorésistance [3], et les protéines du choc thermique hsp70 sont impliquées dans des mécanismes de protection de la cellule contre le choc thermique [4]. Nous nous sommes donc intéressés à l'expression thermo- et radio-induite de la protéine p53 et des protéines hsp70.

MATERIELS ET METHODES

Les deux lignées cellulaires diffèrent par leur p53, sauvage pour Colo205, mutée pour Colo320DM. La protéine mutée, un mutant 248 (Arg²⁴⁸ → Trp²⁴⁸) [5], a perdu ses propriétés biologiques [6]. L'hyperthermie a été réalisée en continu à 42°C pendant 1 heure dans un bain marie sous agitation douce. L'irradiation (2 Gy-4,7 Gy/minute) a été réalisée avec un générateur de rayonnements X Saturne 20. La viabilité cellulaire a été mesurée par essais MTT. Les protéines hsp70 et p53 ont été quantifiées en cytométrie en flux par immunomarquage indirect (DAKO QIFIKIT) [7].

RESULTATS-DISCUSSION

L'effet résultant de la combinaison de l'hyperthermie et de l'irradiation ($SF_{42^{\circ}C-2Gy}$) n'est pas significativement différent de la somme des deux effets ($SF_{42^{\circ}C} \times SF_{2Gy}$) pour les deux lignées tumorales (tableau 1). Ces résultats démontrent, dans la limite du modèle cellulaire étudié, un effet additif et non une action synergique des deux traitements.

Dans les deux lignées tumorales, l'irradiation a induit une augmentation du taux intracellulaire en p53, et le choc thermique une augmentation en hsp70. Les cellules Colo205, avec une p53 sauvage, ont été plus radiosensibles que les cellules Colo320DM qui ont perdu la fonction p53. Les cellules Colo205 chauffées ont davantage exprimé de hsp70 et ont été plus thermorésistantes que les cellules Colo320DM. Les deux traitements semblent donc induire deux réponses cellulaires distinctes, avec une mise en jeu de la p53 par les rayonnements ionisants et des hsp70 par l'hyperthermie.

Dans l'association hyperthermie-irradiation, les effets résultant de ces deux voies biologiques pourraient donc être indépendants, ce qui irait dans le sens de l'effet additif observé expérimentalement. Ainsi, l'hyperthermie modérée serait insuffisante pour avoir un effet radiosensibilisant généralement attribué à l'inhibition thermo-induite de la réparation des lésions de l'ADN radio-induites.

Tableau 1. Effet additif de l'hyperthermie et des radiations ionisantes.

traitement	42°C-1h			2 Gy			42°C-1h puis 2 Gy			
	SF _{2Gy}	p53 ¹	hsp70 ₁	SF _{42°C}	p53 ¹	hsp70 ₁	SF _{42°C-2Gy} ²	SF _{42°C} × SF _{2G} ³	p53 ¹	hsp70 ₁
Colo205	0,34	4,4	1,2	0,74	1,0	4,8	0,23	0,25	1,2	4,5
Colo320DM	0,41	1,8	1,0	0,56	1,1	1,8	0,21	0,23	1,0	2,0

SF = fraction survivante. ¹augmentation maximum après traitement par rapport aux cellules non traitées, ²effet observé; ³effet additif théorique

REFERENCES

- 1 Armour P.E., McEarchern D., Wang Z. et coll (1993) *Cancer Res.*, **53**, 2740.
- 2 Overgaard J. (1989) *Oncol. Biol. Phys.*, **16**, 535.
- 3 Lee J.M., Bernstein A. (1995) *Cancer Metastasis Rev.*, **14**, 149.
- 4 Gething M.J., Sambrook J. (1992) *Nature*, **355**, 33.
- 5 Murakami Y., Hayashi K., Sekiya T. (1991) *Cancer Res.*, **51**, 3356.
- 6 Ory K., Legros Y., Auguin C., Soussi T. (1994) *EMBO J.*, **13**, 3496.
- 7 Poncelet P., George F., Papa S., Lanza F. (1996) *Eur. J. Histochem.*, **40**, 15.
- 8 Iliakis G., Seaner R. (1991) *Int. J. Hyperthermia*, **6**, 801.