



HAL
open science

Cancer de la prostate et mécanismes de résistance à la castration : étude du rôle des récepteurs nucléaires LXR

Laura Bousset

► **To cite this version:**

Laura Bousset. Cancer de la prostate et mécanismes de résistance à la castration : étude du rôle des récepteurs nucléaires LXR. Génétique. Université Clermont Auvergne [2017-2020], 2019. Français. NNT : 2019CLFAS016 . tel-03132200

HAL Id: tel-03132200

<https://theses.hal.science/tel-03132200>

Submitted on 4 Feb 2021

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.

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE, SANTÉ,
AGRONOMIE ET ENVIRONNEMENT

THESE

PRESENTÉE A L'UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE

DOCTEUR D'UNIVERSITÉ

BIOLOGIE SANTÉ - SPÉCIALITÉ : GÉNÉTIQUE, PHYSIOLOGIE, PATHOLOGIES, NUTRITION,
MICROBIOLOGIE, SANTÉ, INNOVATION

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT PAR

LAURA BOUSSET

LE 17 DÉCEMBRE 2019

CANCER DE LA PROSTATE ET MÉCANISMES DE RÉSISTANCE À LA CASTRATION :
ÉTUDE DU RÔLE DES RÉCEPTEURS NUCLEAIRES LXR

RAPPORTEURS	PR. CATHERINE MULLER, IPBS, TOULOUSE
	DR. OLIVIER CUVILLIER, IPBS, TOULOUSE
	DR. VIRGINIE VLAEMINCK-GUILLEM, HOSPICES CIVILS, LYON
EXAMINATRICE	DR. ELISABETH BILLARD, M2ISH, CLERMONT-FERRAND
DIRECTEUR DE THESE	DR. SILVERE BARON, GRED, CLERMONT-FERRAND
PRESIDENT DU JURY	PR. LAURENT MOREL, GRED, CLERMONT-FERRAND

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier l'ensemble des membres de mon jury, le Dr Catherine Muller, le Dr Virginie Vlaeminck Guillem, le Dr Elisabeth Billard et le Dr Olivier Cuvillier, d'avoir accepté d'évaluer mes travaux de thèse.

Jean-Marc et Silvère, merci d'avoir mis ce projet et votre confiance dans mes mains. Jean-Marc, merci de m'avoir accueillie dans l'équipe il y a plusieurs années maintenant en L3, et de m'avoir mis le pied à l'étrier en culture cellulaire et pour l'étude du cancer de la prostate. Silvère, merci d'avoir cru en moi et d'avoir accepté d'encadrer ma thèse. Que de rebondissements, qui m'auront beaucoup appris et surtout vu murir d'un point de vue scientifique. Merci également à vous pour les bons souvenirs que je garderai des moments de convivialité, rue du Luc ou de Champréal.

Laurent, merci pour ta présence, ton soutien, ta disponibilité pour nos nombreuses discussions scientifiques, et surtout pour tout l'intérêt que tu as porté à ce projet. Merci d'avoir toujours été à mon écoute, pour tes conseils, tes relectures attentives, pour m'avoir encouragée à réfléchir, à prendre du recul et à voir plus loin. Ton accompagnement m'a été très précieux, et je t'en remercie.

Anthony, je te remercie pour les enseignements que j'aurai appris de toi. Merci de m'avoir encadrée lors de mes réels premiers pas à la paillasse, de m'avoir suivie et soutenue lors du master 2, et surtout formée à la recherche et à ses travers. Finalement, je te l'accorde, j'aurai sans doute dû aller faire de l'immuno en Italie...

Amandine, Mauricette, la meilleure geek que j'ai côtoyée ! L'initiation à la bioinfo aura été... un passage douloureux mais réussi alors merci de m'avoir formée à R ! Merci pour les potins, le réconfort, les sorties et tous les moments partagés. J'espère que tes projets aboutiront et qu'ils t'apporteront la satisfaction et le bonheur que tu mérites.

Laetitia, ton passage au labo fut bref mais réellement enrichissant pour moi. J'ai été ravie de t'avoir à mes côtés à la paillasse, ta venue m'a réellement reboosté et aidé à rebondir. J'espère que tu continueras ta route encore longtemps, tu es en bonne voie et j'ai toute confiance en toi !

A tous les autres membres de l'équipe LXR passés et présents, Marine, Sarah, Julio, Nada, Guy, Bagora, Salwan, Cyrille, Amalia, Ayhan, merci pour votre présence, pour nos échanges et pour avoir contribué à la réalisation de ma thèse.

Pierre, tu sais tout le bien que tu as fait à ce projet. Dès le début ou presque, nos discussions scientifiques ont été nombreuses mais aussi houleuses, et ont donné lieu à quelques recadrages...

REMERCIEMENTS

Mais tes conseils pour le design des manips, pour la réalisation de certaines, puis lors des différentes étapes de la rédaction, des corrections, ont été essentiels, et ça n'aurait pas eu la même tête sans toi. Merci infiniment pour tout ce que tu m'as apporté, pour avoir aidé le « bébé » chercheur que je suis à grandir. Merci pour ton soutien immense, le réconfort que tu m'as apporté, j'aimerais que tu aies conscience de tout ce que cela représente pour moi. Merci simplement d'être là, j'espère que ce n'est qu'un début et que le plus dur est derrière nous.

Cyril, gamin, mon co-bureau préféré, la réunification nous aura permis, que dis-je, t'auras donné la chance de partager mon bureau (à la mauvaise place, soit...) ! Le temps a filé à une vitesse depuis les mini-projets... J'ai toujours été impressionnée par ta capacité à raconter les histoires, que ce soit pour me divertir ou me réconforter, et j'ai pu assister aux progrès que tu as fait pendant la thèse. Et n'oublies pas pourquoi on est là, les étudiantes et le prix Nobel ! Mais si la recherche te lasse, je ne doute pas qu'une brillante carrière t'attend dans la vente d'aspirateurs ou dans la comédie, à moins qu'on parte ENFIN à Copacabana !! On en aura partagé des moments que je ne suis pas prête d'oublier, bref, ce fut un réel plaisir, cher collègue ! Futur Dr Djari deviendra grand !

Amandine, copine de paillasse depuis la réunification, tes pipettes m'ont d'ailleurs plus souvent tenues compagnie que toi à la paillasse ! Et bien que tu fasses de la pseudoscience, cela ne nous a pas empêché de nous arracher les cheveux ensemble sur la revue. Malgré tout, nous avons partagé beaucoup pendant la thèse et lors des congrès. Ton rire et tes gâteaux me manqueront sans doute autant que nos moments à débriefer nombre de situations et à faire nos langues de vip' ! Profites au maximum de ton passage au Canada tant attendu !

Allison, tu es la joie de vivre incarnée ! Toujours présente pour un débrief, une pause plus ou moins longue, ou boire un verre (au lieu d'aller à la danse...), on a formé ensemble un quatuor de choc ! Merci pour tous ces moments partagés en attendant Dragon 63, mais aussi à la paillasse. Ton enseignement de l'immuno aura été fructueux, et tu auras réussi à me convertir à la cytométrie, moi aussi ! J'ai adoré chaque moment passé ensemble et je garderai un souvenir ému de nos péripéties aux Doctoriales. Je te souhaite le meilleur pour ce post-doc, Doc', force et honneur !

Rachel, prononciation /Ray-chell/, merci pour ton soutien et ton aide précieuse dans la réalisation de mes travaux de thèse. Je te remercie de m'avoir un peu recueillie au 4^{ème}, de m'avoir gracieusement prêtée ta paillasse et tes marqueurs, et d'avoir partagé avec moi ta bonne humeur !

REMERCIEMENTS

Christelle, ta présence, ta disponibilité et ta gentillesse auront été très précieuses et auront grandement contribué à la bonne réalisation de ma thèse. La plateforme d'histo et la bonne humeur qui y règne grâce à toi et Stéphanie me manqueront. Merci infiniment.

Angélique, je ne te remercierai jamais assez pour les très nombreux génotypages que tu auras fait pour moi, qui n'auront pas toujours été simples mais ta ténacité malgré les changements de protocoles aura permis d'obtenir des résultats toujours clairs et précis ! Jean-Paul, merci pour ton aide précieuse et tes conseils techniques quant à la bonne réalisation des western blot. Je vous suis reconnaissante pour le soutien technique que vous m'avez apporté et pour votre sourire au quotidien.

JC, merci d'avoir toujours répondu présent pour les (très) nombreuses castrations que nous avons faites ensemble dans la bonne humeur.

Claude, je tiens à te remercier pour tes conseils avisés sur le projet, pour avoir toujours su répondre à mes questions, et pour avoir grandement contribué à la bonne ambiance au labo, particulièrement les midis !

Vincent, merci de m'avoir accueillie dans le laboratoire de biochimie de l'hôpital pour le dosage des cytokines, qui malgré quelques déconvenues, aura été finalement une réussite !

Sandrine, Philippe et Khirredine, les animaliers, merci d'avoir pris soin des très nombreuses souris que j'aurai générées. Merci pour votre compréhension, votre gentillesse et votre aide.

Houda, Mike, la team Val avec qui j'ai eu longtemps le plaisir de partager mon bureau ! Houda, la parfaite thérapeute, pleine de bon sens et de gaieté, merci pour nos discussions réconfortantes (en parallèle du shopping sur internet, les meilleures !). Mike, comment oublier ta bonne humeur et surtout ton après-thèse ! J'espère que vous réussirez tous les deux vos vies personnelles et professionnelles comme vous le méritez.

Aux anciennes doc', Typh et Marj avec qui les pauses clopes, les soirées au labo et les sorties avaient une autre saveur. Merci, pour vos conseils, votre soutien, et pour tous les moments de rigolades et un peu de sérieux que nous avons partagé. Merci pour le passage de relais (des clés !) fort bien effectué, on se croisera peut-être au Them's un de ces jours si on retrouve le chemin ! Prenez soin de vous et profitez de vos nouvelles vies !

Merci à tous les membres du laboratoire que je n'ai pas cité, particulièrement aux équipes du 3^{ème} et du 4^{ème}, qui auront été à mes côtés lors de mon passage au laboratoire.

REMERCIEMENTS

J'ai une pensée particulière pour Isa et Corinne, qui m'auront (presque) sauvée la vie après un accident de scalpel, ainsi que plus largement pour vos conseils techniques avisés. Aux étudiants, Maryline, Jil, Elisa, Pierre B, Max, Amy, aux plus jeunes arrivés, Julie, James, Florence, Damien, Adrien, Laura, Mélusine, Héléna, je vous souhaite de vous épanouir pleinement dans vos projets futurs.

Aux anciens de Master 2, Jérémie, Geoffroy, Elodie, Jil, Justine, Laura, Magali, Capucine, Romain, Alexandra, Jimmy, Emilie, Mathieu, Anaïs, Jeanne, Marie, Caroline, Marie-Laure, Mélody, Gwenaëlle, Justine, Hélène, et tous les autres avec qui nous avons partagé tant de soirées, au Nota, en ville, à Limoges ou chez l'un et les autres ! Je vous souhaite de réussir vos projets de vie professionnelle et personnelle.

Un grand merci à la musique, à la BF de Chapdes, et celle de Romagnat pour mon passage éclair. Merci à la Jeanne et à tous les musiciens pour les innombrables moments de convivialités passés ensemble, en répés, en sorties ; nous avons tant partagé et cela m'a énormément permis de décompresser. Merci pour la bonne humeur, la joie, les fous rires, pour tous ces moments, pour m'avoir toujours entourée et accompagnée depuis de nombreuses années.

Les lammas, que dire de vous les filles. On a grandi ensemble, fait de la musique ensemble, les 400 coups aussi, de nombreuses sorties, plus ou moins alcoolisées, vous êtes parties une fois à Vichy, une autre à Paris, à Fréjus, à Salers, en Angleterre, à la Réunion, à Bordeaux, à Toulouse, on aura partagé de grandes discussions, des fou-rires mémorables, des voyages dans des contrées plus ou moins lointaines, de la musique encore et toujours... mais pas de mecs ! On aura vécu des EVJF ensemble, des mariages, des bébés, et encore plus de bébés bientôt ! Vous avez toujours fait partie de ma vie, et vous étiez là à ma soutenance. Une page se tourne, et malgré mon indisponibilité ces derniers temps, nous avons vécu et nous vivons encore de nombreux beaux moments ensemble !

Ma famille, qui a dû encore supporter bien des colères, des épreuves, des changements et des absences tout au long de ma thèse... Merci pour votre soutien tout au long de mes longues études, pour l'appart et pour tout plus généralement. Ce n'est pas dans mon caractère de dire ces choses-là, mais profondément merci de m'avoir supportée jusque-là, de m'avoir comprise et toujours entourée. Sans votre soutien, cette thèse n'aurait sans doute pas vu le jour.

Aux grands-parents, qui ne m'auront pas vu finir mes études, je suis fière d'avoir fini ce travail de thèse, et j'aurai sincèrement aimé partager cet accomplissement et cette joie avec vous.

LISTE DES COMMUNICATIONS

Une partie de ces travaux a été présentée aux congrès suivants :

COMMUNICATIONS AFFICHEES :

- **Lipids, Nanotechnology and Cancer, Le Studium Conférences, 10-12 Octobre 2016, Tours**
« Liver X Receptors limit invasiveness of Castration-Resistant Prostate Cancer »
- **25^{ème} journée scientifique de l'ARTP (Association pour la Recherche sur les Tumeurs de la Prostate), 16 Novembre 2016, Paris**
« Liver X Receptors limit invasiveness of Castration-Resistant Prostate Cancer »
Lauréate du Prix ARTP Poster
- **Doctoriales du Collège des Écoles Doctorales de Clermont-Ferrand, 27 Mars – 1^{er} Avril 2017, Montricher-Albanne**
« Progression du cancer de la prostate : le métabolisme du cholestérol est-il le coupable idéal ? »
Lauréate du Prix Poster
- **13^{ème} Forum de la recherche en cancérologie du CLARA, 4-5 Avril 2017, Lyon**
« Modulation of androgen sensitivity by Liver X Receptors in prostate adenocarcinomas »
- **Keystone Symposia, Cancer metastasis : The role of metabolism, immunity and the microenvironment, 15-19 Mars 2019, Florence, Italie**
« Absence of Liver X Receptors impairs immune response to castration and leads to prostate intraepithelial neoplasia »

COMMUNICATIONS ORALES :

- **Journée Scientifique du CRNH, 24 Novembre 2016, Clermont-Ferrand**
« Cholestérol et résistance à la castration du cancer de la prostate »
- **Journées de l'Ecole Doctorale SVSAE, 24 Novembre 2019, Clermont-Ferrand**
« Etude du rôle des Récepteurs Nucléaires LXRs (Liver X Receptors) dans la sensibilité androgénique du cancer de la prostate »
Lauréate du Prix CLARA

Une partie de ces travaux a fait l'objet d'articles publiés, soumis ou en préparation :

- Bousset L., Septier A., Bunay J., Voisin A., Guiton G., Sapin V., Fogli A., Rambur A., De Joussineau C., Trousson A., Lobaccaro J-M., Morel L., Baron S.. Absence of nuclear receptors LXRs impairs immune response to androgen deprivation and leads to prostate neoplasia. Soumis. (Article 1)
- Celhay O., Bousset L., Guy L., Kemeny J.-L., Leoni V., Caccia C., Trousson A., Damon-Soubeyrand C., De Haze, A., Sabourin L., Godfraind C., De Joussineau C., Pereira B., Morel L., Lobaccaro J-M. and Baron S.. (2018). Individual Comparison of Cholesterol Metabolism in Normal and Tumour Areas in Radical Prostatectomy Specimens from Patients with Prostate Cancer: Results of the CHOMECAp Study. *Eur. Urol. Oncol. 0*. (Article 2, Annexe)
- Bousset L., Rambur A., Fouache A., Bunay J., Morel L., Lobaccaro J.-M.A., Baron S., Trousson A., and de Joussineau C. (2018). New Insights in Prostate Cancer Development and Tumor Therapy: Modulation of Nuclear Receptors and the Specific Role of Liver X Receptors. *Int. J. Mol. Sci. 19*. Review. (Article 3, Annexe)

RESUME

Les formes avancées du cancer de la prostate sont classiquement traitées par hormonothérapie. Malheureusement, la plupart des patients, répondant initialement à la privation androgénique, font l'expérience d'une reprise de la croissance tumorale sous traitement qui progresse inévitablement vers un stade létal de la pathologie, le cancer de la prostate résistant à la castration (CRPC).

Les altérations du métabolisme lipidique représentent une caractéristique clé des cellules tumorales prostatiques. Parmi ces anomalies, les tumeurs prostatiques accumulent de manière excessive du cholestérol. De façon cohérente, les études épidémiologiques associent de forts taux de cholestérol avec un risque plus élevé de survenue d'un cancer de la prostate et des formes agressives de la pathologie. Les récepteurs nucléaires LXR jouent un rôle important dans le maintien de l'homéostasie intracellulaire du cholestérol. Par ailleurs, ils jouent également un rôle clé dans la physiologie immunitaire en régulant notamment les processus inflammatoires. Enfin, des travaux précédemment menés notamment dans l'équipe ont démontré les effets anti-prolifératifs et pro-apoptotiques des LXR dans le cancer de la prostate.

Dans ce contexte, l'objectif de mes travaux de thèse a été d'étudier le rôle des récepteurs nucléaires LXR dans le cancer de la prostate et plus particulièrement dans sa réponse à la castration. Les résultats montrent que les souris invalidées pour les LXR présentent en réponse à la castration une inflammation chronique de la prostate qui conduit plus tardivement à l'émergence de lésions néoplasiques. En modèle murin de tumorigenèse induite par la perte du suppresseur de tumeurs *Pten*, l'inactivation des LXR ne modifie pas l'agressivité des tumeurs. Cependant, en réponse à la castration, les souris mutantes pour *Pten* et pour les LXR présentent une exacerbation de l'inflammation qui est associée à une prolifération accrue de la prostate, sans modification de l'agressivité des tumeurs. Pour s'affranchir du rôle des LXR dans le microenvironnement tumoral, et plus particulièrement dans le contrôle de la réponse immunitaire à la castration, nous avons développé et étudié le phénotype des souris invalidées de façon conditionnelle pour les LXR au niveau de l'épithélium prostatique. Des données préliminaires ont montré que l'inactivation épithéliale des LXR ne semble pas induire de phénotype épithélial prostatique.

Au final, ces résultats montrent que les récepteurs nucléaires LXR, en régulant l'inflammation en réponse à la castration, peuvent favoriser l'initiation et augmenter la prolifération de lésions tumorales de la prostate.

Mots clés : Cancer de la prostate ; Privation androgénique ; LXR ; Inflammation

ABSTRACT

Androgen deprivation therapy remains the gold standard treatment for advanced prostate cancer. Unfortunately, most of the patients who initially respond to androgen deprivation therapy, later experience tumor relapse, which inevitably progresses to a lethal pathology, named castration-resistant prostate cancer (CRPC).

Lipid metabolism anomalies are a key feature of prostate tumor cells. Among these, prostate tumors present excessive cholesterol accumulation. Consistently, epidemiologic studies associate high level of cholesterol with an increased risk of prostate cancer and advanced pathology. LXR nuclear receptors are key regulators of intracellular cholesterol homeostasis that are also implicated in immune physiology through regulation of inflammatory processes. Previous studies conducted in our lab also demonstrated the anti-proliferative and pro-apoptotic effects of LXR in prostate cancer, suggesting a potential central role of these nuclear receptors in this disease.

In this context, the goal of my work was to study the role of nuclear receptors LXR in prostate cancer and especially in response to castration. My results show that in response to castration, LXR knockout mice present chronic inflammation of the prostate that eventually induces development of neoplasia. In a *Pten*-null tumor mouse model, LXR deletion exacerbates inflammation and results in a concomitant increase in proliferation of the prostate. However, this has no significant impact on tumor aggressiveness. To bypass the role of LXR in tumor microenvironment, and especially in the control of immune response to castration, we developed and studied the phenotype mice with conditional ablation of LXR restricted to prostate epithelium. Preliminary analyses did not show a significant phenotype in the prostate of these mice, suggesting that most of the effects of LXR ablation in the prostate result from its activity in the microenvironment.

Altogether, these results demonstrate that LXR nuclear receptors, by regulating inflammation in response to castration, can favor epithelial tumor initiation and increase proliferation of the prostate.

Key words : Prostate cancer ; androgen deprivation ; LXR ; Inflammation

ABBREVIATIONS

ABBREVIATIONS

<u>A</u>			
AA	<i>Abiraterone Acetate</i>	ARA70	<i>Androgen Receptor Coactivator 70 KDa</i>
AACR	<i>American Association for Cancer Research</i>	ARE	<i>Androgen Response Element</i>
ABC	<i>ATP-binding Cassette transporters</i>	ARF1	<i>ADP Ribosylation factor 1</i>
ACACA	<i>Acetyl-CoA Carboxylase Alpha</i>	ARN	<i>Acide Ribonucléique</i>
ACBP	<i>Acetyl-CoA Binding Protein</i>	ARSi	<i>AR Signaling inhibitors</i>
ACC	<i>Acetyl-CoA Carboxylase</i>	ASAP	<i>Atypical Small Acinar Proliferation</i>
ACLY	<i>ATP Citrate Lyase</i>	ASCO	<i>American Society of Clinical Oncology</i>
ADN	<i>Acide désoxyribonucléique</i>	ASF1B	<i>Anti-Silencing Function 1B histone chaperone</i>
ADT	<i>Androgen Deprivation Therapy</i>	α SMA	<i>α-Smooth Muscle Actin</i>
AF-2	<i>Activating Function 2</i>	ASPM	<i>Abnormal Spindle-like Microcephaly-associated</i>
AFU	<i>Association Française d'Urologie</i>	ATM	<i>Ataxia Telangiectasia Mutated</i>
AHR	<i>Aryl Hydrocarbon Receptor</i>	ATP	<i>Adenosine TriPhosphate</i>
AINS	<i>Anti-Inflammatoire Non-Stéroïdien</i>	ATP5E	<i>ATP synthase F1 subunit Epsilon</i>
AJCC	<i>American Joint Comitee on Cancer</i>	ATR	<i>Ataxia Telangiectasia and Rad3-related protein</i>
AKR1C3	<i>Aldo-keto reductase family 1 member C3</i>	AZGP1	<i>Alpha-2-Glycoprotein 1, Zinc-binding</i>
AKT/PKB	<i>Protein Kinase B</i>	<u>B</u>	
AMACR	<i>α-Methylacyl-CoA Racemase</i>	BCR	<i>B-Cell Receptor</i>
AMM	<i>Autorisation de mise sur le marché</i>	BGN	<i>Biglycane</i>
AMPc	<i>Adénosine monophosphate cyclique</i>	bHLH-Zip	<i>basic-Helix-Loop-Helix leucine zipper</i>
AMPK	<i>AMP-activated protein kinase</i>	BIRC5	<i>Baculoviral IAP Repeat Containing 5</i>
ANO7	<i>Anoctamin 7</i>	BiTE	<i>Bispecific T cell Engager</i>
AP	<i>Alkaline Phosphatase</i>	BMDM	<i>Bone Marrow-Derived Monocyte</i>
AP-1	<i>Activator protein 1</i>	BMP	<i>Bone Morphogenic Protein</i>
APC	<i>Adenomatous Polyposis Coli</i>	BPCO	<i>Bronchopneumopathie Chronique Obstructive</i>
APOE	<i>Apolipoprotein E</i>	BPH	<i>Benign Prostate Hyperplasia</i>
AR	<i>Androgen Receptor</i>	BRCA1/2	<i>Breast Cancer 1/2</i>

ABBREVIATIONS

BRIP1	<i>BRCA1 Interacting Protein C-terminal helicase 1</i>	CHD1	<i>Chromodomain Helicase DNA binding protein 1</i>
BUB1B	<i>Budding Uninhibited by Benzimidazoles 1 homolog Beta</i>	CHEK1/2	<i>Checkpoint Kinase 1/2</i>
		ChREBP	<i>Carbohydrate Response Element Binding Protein</i>
<hr/>			
C			
CAB	<i>Complete Androgen Blocade</i>	CK	<i>Cytokeratin</i>
CAF	<i>Cancer Associated Fibroblast</i>	CLIA	<i>Clinical Laboratory Improvement Amendments</i>
CAMK2N1	<i>Calcium/Calmodulin dependent protein Kinase II Inhibitor 1</i>	CLTC	<i>Clathrin Heavy Chain</i>
CAMKK2	<i>Calcium/Calmodulin dependent protein Kinase Kinase 2</i>	CMH	<i>Complexe Majeur d'Histocompatibilité</i>
CaP	<i>Cancer de la Prostate</i>	CNA	<i>Copy Number Alterations</i>
CAP	<i>College of American Pathologists</i>	COL1A1	<i>Collagen type I Alpha 1 chain</i>
CAR-T	<i>Chimeric Antigen Receptor-T cells</i>	COX	<i>Cyclooxygenase</i>
CCL	<i>C-C motif Chemokine Ligand</i>	CP/CPPS	<i>Chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome</i>
CCN	<i>Cyclin</i>	CPA	<i>Cellule Présentatrice d'Antigène</i>
CCP	<i>Cell Cycle Progression</i>	CPL	<i>Lymphoid Progenitor Cell</i>
CCR	<i>CC Chemokine Receptor</i>	CRPC	<i>Castration-Resistant Prostate Cancer</i>
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>	CSF	<i>Colony Stimulating Factor</i>
CDC2	<i>Cell Cycle Controller 2</i>	CTC	<i>Circulating Tumor Cell</i>
CDC	<i>Cell Division Cycle</i>	CTL	<i>Cytotoxic T Lymphocyte</i>
CDK	<i>Cyclin Dependent Kinase</i>	CTLA	<i>Cytotoxic T Lymphocyte-Associated protein</i>
CDKN1B	<i>Cyclin Dependent Kinase Inhibitor</i>	CTNNB1	<i>Catenin Beta 1</i>
CDP	<i>Common Dendritic cell Progenitor</i>	CUL2	<i>Cullin 2</i>
CE-IVD	<i>Conformité Européenne - In Vitro Diagnostic</i>	CXCL	<i>C-X-C motif Chemokine Ligand</i>
CENPF/M	<i>Centromere Protein F/M</i>	CXCR	<i>C-X-C motif Chemokine Receptor</i>
CEP55	<i>Centrosomal Protein 55</i>	CYP17A1	<i>steroid 17-alpha-hydroxylase/17,20 lyase</i>
CETP	<i>Cholesteryl Ester Transfer Protein</i>	CYP27A1	<i>sterol 27-hydroxylase</i>
Ch25h	<i>Cholesterol 25-hydroxylase</i>	CYP46A1	<i>cholesterol 24-hydroxylase</i>
		<hr/>	
		D	
		DAPI	<i>Diamino-phénylindole</i>

ABBREVIATIONS

DBD	<i>DNA Binding Domain</i>	FAD	<i>Flavin Adenine Dinucleotide</i>
DC	<i>Dendritic Cell</i>	FAM13C	<i>Family with sequence similarity 13 member C</i>
ddPCR	<i>digital droplet Polymerase Chain Reaction</i>	FANCA	<i>FA Complementation Group A</i>
DDT	<i>Dichlorodiphényl-trichloroéthane</i>	FAO	<i>Fatty Acid Oxidation</i>
DERL1	<i>Derlin 1</i>	FAP	<i>Fibroblast Activation Protein</i>
DHCR24	<i>24-Dehydrocholesterol Reductase</i>	FASL	<i>Fas Ligand</i>
DHCR7	<i>7-Dehydrocholesterol Reductase</i>	FASN	<i>Fatty Acid Synthase</i>
DHEA	<i>Déhydroépiandrostérone</i>	FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
DHT	<i>Dihydrotestostérone</i>	FDC	<i>Follicular Dendritic Cell</i>
DLX1	<i>Distal-Less Homeobox 1</i>	FDG	<i>Fluorodésoxyglucose</i>
DNMT	<i>DNA Methyltransferase</i>	FDPS	<i>Farnesyl Diphosphate Synthase</i>
DR4	<i>Direct Repeat 4</i>	FFPE	<i>Formalin-Fixed Paraffin-Embedded</i>
DTL	<i>Denticleless E3 Ubiquitin Protein Ligase Homolog</i>	FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
E		FGFR	<i>Fibroblast Growth Factor Receptor</i>
EAU	<i>European Association of Urology</i>	FISH	<i>Fluorescence In Situ Hybridization</i>
EGF	<i>Epithelial Growth Factor</i>	FLI1	<i>FLI actin remodeling protein</i>
EGFR	<i>Epithelial Growth Factor Receptor</i>	FLNC	<i>Filamin C</i>
EGR1	<i>Early Growth Response 1</i>	FOXA1/M1/P3	<i>Forkhead box A1/M1/P3</i>
ELOVL	<i>ELongation of Very Long chain fatty acids protein</i>	FPPS	<i>Farnesyl Pyrophosphate Synthase</i>
EMA	<i>European Medicines Agency</i>	FSH	<i>Follicle Stimulating Hormone</i>
EMT	<i>Epithelial-Mesenchymal Transition</i>	FSP	<i>Fibroblast-Specific Protein</i>
EPPK1	<i>Epiplakin 1</i>	FUS	<i>FUS RNA binding protein</i>
ERK	<i>Extracellular signal Regulated Kinase</i>	G	
ETV1/4	<i>ETS Variant 1/4</i>	G6P	<i>Glucose-6-Phosphatase</i>
EZH2	<i>Enhancer of Zeste Homolog 2</i>	GAS6	<i>Growth Arrest Specific 6</i>
F		GC	<i>Germinal Center</i>
F1-6P	<i>Fructose-1,6-bisphosphatase</i>	GEO	<i>Gene Expression Omnibus</i>
FABP	<i>Fatty Acid Binding Protein</i>	GK	<i>Glucokinase</i>
		GLUT4/5	<i>Glucose Transporter 4/5</i>

ABBREVIATIONS

GLYATL1P4/PCAT-80	<i>Prostate Cancer Associated Transcript</i>	IDH1	<i>Isocitrate Dehydrogenase 1, cytosolic</i>
GM-CSF	<i>Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>	IDL	<i>Intermediate Density Lipoprotein</i>
GPS	<i>Genomic Prostate Score</i>	IDO	<i>Indolamine 2,3-Dioxygenase</i>
GPS1	<i>G protein Pathway Suppressor 1</i>	IDOL	<i>Inducible Degradator of the LDL receptor</i>
GR	<i>Glucocorticoid Receptor</i>	IFN	<i>Interferon</i>
GSN	<i>Gelsolin</i>	Ig	<i>Immunoglobuline</i>
GSTM2/P1	<i>Glutathione S-Transferase Mu 2 / Pi 1</i>	IGF	<i>Insulin Growth Factor</i>
H		IGFR	<i>Insulin Growth Factor Receptor</i>
H2AX	<i>H2A histone family member X</i>	IHC	<i>Immunohistochemie</i>
HAS	<i>Haute Autorité de Santé</i>	IKK	<i>IκB kinase</i>
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>	IKK2	<i>IκB kinase 2</i>
HF	<i>High Fat</i>	IL	<i>Interleukin</i>
HGF	<i>Hepatocyte Growth Factor</i>	IMRT	<i>Intensity Modulated Radiation Therapy</i>
HGPIN	<i>High Grade Prostate Intraepithelial Neoplasia</i>	INCa	<i>Institut National du Cancer</i>
HIFU	<i>High Intensity Focalized Ultrasound</i>	INSIG	<i>Insulin induced gene</i>
HMGCR	<i>HMG-CoA Reductase</i>	IQGAP3	<i>IQ motif containing GTPase Activating Protein 3</i>
HMGCS	<i>HMG-CoA Synthase</i>	IRF3	<i>Interferon Regulatory Factor 3</i>
HMMR	<i>Hyaluronan Mediated Motility Receptor</i>	IRM	<i>Imagerie à Rayonnement Magnétique</i>
HOXC6	<i>Homeobox C6</i>	ITF2	<i>TCF4, Transcription Factor 4</i>
HSD	<i>Hydroxysteroid Dehydrogenase</i>	J	
HSP	<i>Heat Shock Protein</i>	JAK	<i>Janus Kinase</i>
HSPA9	<i>Heat Shock Protein family A member 9</i>	JMJD3	<i>Jumonji Domain containing 3</i>
I		JNK	<i>c-Jun N-terminal Kinase</i>
IκB	<i>Inhibitor of kappa B</i>	K	
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>	KC	<i>Ketocholesterol</i>
ICAM	<i>Intercellular Adhesion Molecule</i>	KDM6A	<i>Lysine Demethylase 6A, UTX</i>
ICI	<i>Immune Checkpoints Inhibitor</i>	KDM6B	<i>Lysine Demethylase 6B, JMJD3</i>
		KGF	<i>Keratinocyte Growth Factor</i>
		KIAA0101	<i>PCNA Clamp Associated Factor, PCLAF</i>

ABBREVIATIONS

KIF11/20A	<i>Kinesin family member 11/20A</i>	MICI	<i>Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin</i>
KLK2/3	<i>Kallikrein related peptidase 2/3</i>	MMP	<i>Matrix Metalloproteinase</i>
KMT2C/2D	<i>Lysine Methyltransferase 2C/2D</i>	MPEC	<i>Mouse Prostate Epithelial Cell</i>
L		MPO	<i>Myeloperoxidase</i>
LASP1	<i>LIM and SH3 protein 1</i>	MRE11A	<i>Meiotic Recombination 11 homolog A</i>
LBD	<i>Ligand Bonding Protein</i>	MSH2/6	<i>MutS Homolog 2/6</i>
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>	MSP	<i>Methylation-specific PCR</i>
LDLR	<i>Low Density Lipoprotein Receptor</i>	MTOR	<i>mammalian Target Of Rapamycin</i>
LFA	<i>Lymphocyte Function-associated Antigen</i>	MUTYH	<i>mutY DNA glycosylase</i>
LGPIN	<i>Low Grade Prostate Intraepithelial Neoplasia</i>	MYBPC1	<i>Myosin Binding Protein C, slow type</i>
LH	<i>Luteinizing Hormone</i>	MyD88	<i>Myeloid Differentiation Primary Response 88</i>
LHRH	<i>Luteinizing Hormone Releasing Hormone</i>	N	
LKB1	<i>Liver Kinase B1</i>	NADH	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide</i>
LPS	<i>Lipopolysaccharide</i>	NCoR	<i>Nuclear receptor Corepressor</i>
LRP	<i>LDL Receptor Related Protein 1</i>	NDRG1	<i>N-myc Downstream Regulated 1</i>
LUTS	<i>Lower Urinary Tract Symptoms</i>	NET	<i>Neutrophils Extracellular Traps</i>
LXRE	<i>LXR Response Element</i>	NF- κ B	<i>Nuclear Factor kappa B</i>
M		NFIB	<i>Nuclear Factor I B</i>
MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinases</i>	NHEJ	<i>Non-Homologous End-Joining</i>
MC	<i>Monocyte-derived Cells</i>	NK	<i>Natural Killer cells</i>
MCM10	<i>Minichromosome Maintenance 10</i>	NKT	<i>Natural Killer T cells</i>
mCRPC	<i>metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer</i>	NKX3.1	<i>NK3 homeobox 1</i>
MDP	<i>Méthylène Diphosphonate</i>	nmCRPC	<i>non metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer</i>
MDSC	<i>Myeloid-Derived Suppressor Cells</i>	NOS	<i>Nitric Oxyde Synthase</i>
MFGE8	<i>Milk Fat Globule-EGF Factor 8</i>	NTD	<i>N-Terminal Domain</i>
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>	NUSAP1	<i>Nucleolar and Spindle Associated Protein 1</i>
		O	
		OHC	<i>Hydroxycholesterol</i>

ABBREVIATIONS

OOHC	<i>Hydroperoxycholesterol</i>	PHLPP	<i>PH-domain leucine-rich-repeat-containing protein phosphatases</i>
ORC6L	<i>Origin Recognition Complex, subunit 6</i>		
P			
P501	<i>Prostein</i>	PI3K	<i>Phosphatidylinositol-bisphosphate 3-kinase</i>
P504s	<i>AMACR</i>	PIA	<i>Proliferative Inflammatory Atrophy</i>
P53	<i>Tumor Protein P53</i>	PIK3CA/B/D	<i>Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-Kinase Catalytic subunit A/B/D</i>
PALB2	<i>Partner and Localizer of BRCA2</i>	PIN	<i>Prostate Intraepithelial Neoplasia</i>
PAP	<i>Prostate Acid Phosphatase</i>	PINATYP	<i>High Grade PIN with Adjacent Small Atypical Glands</i>
PARP	<i>PolyADP Ribose Polymerase</i>	PIP2/3	<i>Phosphatidylinositol bi/trisphosphate</i>
PBK	<i>PDZ Binding Kinase</i>	PK	<i>Pyruvate Kinase</i>
PBX1	<i>Pre-B-Cell Leukemia Homeobox 1</i>	PLK1	<i>Polo Like Kinase 1</i>
PCA3	<i>Prostate Cancer Associated 3</i>	PML	<i>Promyelocytic Leukemia Protein</i>
PCAT	<i>Prostate Cancer Associated Transcript</i>	PMS2	<i>PMS1 Homolog 2</i>
PCB	<i>Polychlorinated Biphenyl</i>	PP2A	<i>Protein Phosphatase 2A</i>
PCDH7	<i>Protocadherin 7</i>	PRC1	<i>Protein Regulator of Cytokinesis 1</i>
PD-1	<i>Programmed Cell Death 1</i>	pS6	<i>Ribosomal Protein S6</i>
PD-L1/2	<i>Programmed Cell Death Ligand 1/2</i>	PSA	<i>Prostate Specific Antigen</i>
PDE4D7	<i>Phosphodiesterase 4D</i>	PSA-DT	<i>Prostate Specific Antigen-Doubling Time</i>
PDGF	<i>Platelet-derived Growth Factor</i>	PSAV	<i>Prostate Specific Antigen Velocity</i>
PDH	<i>Pyruvate Dehydrogenase</i>	PSCA	<i>Prostate Stem Cell Antigen</i>
PDK1/2	<i>Pyruvate Dehydrogenase Kinase 1/2</i>	PSCK9	<i>Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin 9</i>
PDSS2	<i>Decaprenyl Diphosphate Synthase Subunit 2</i>	PSMA	<i>Prostate-Specific Membrane Antigen</i>
PEPK	<i>Phosphoenolpyruvate carboxylase</i>	PTEN	<i>Phosphatase and Tensin homolog</i>
PET	<i>Positron Emission Tomography</i>	PTTG1	<i>Pituitary Tumor-Transforming Gene 1</i>
PGC1a	<i>PPAR gamma Coactivator 1 alpha</i>		
PGK1	<i>Phosphoglycerate Kinase 1</i>		
PHI	<i>Prostate Health Index</i>		

ABBREVIATIONS

R

RABGAP1	<i>RAB GTPase Activating Protein 1</i>	SFRP4	<i>Secreted Frizzled Related protein 4</i>
RAC	<i>Rac Family small GTPase 1</i>	SHBG	<i>Sex Hormone-Binding Protein</i>
RAD51	<i>RAD51 Recombinase</i>	SIAH2	<i>Siah E3 Ubiquitin protein ligase 2</i>
RAD54L	<i>RAD54 Like</i>	SKP2	<i>S-Phase Kinase associated Protein 2</i>
RANK	<i>Receptor activator of nuclear factor kappa-B</i>	SLC45A3	<i>Protein</i>
RANKL	<i>Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand</i>	SMAD	<i>Mothers against Decapentaplegic</i>
RASSF1	<i>Ras Associated domain family member 1</i>	SMRT	<i>Silencing Mediator for Retinoid and Thyroid-hormone receptors</i>
RB1	<i>Retinoblastoma protein</i>	SNV	<i>Single Nucleotide Variant</i>
RBPJ	<i>Recombining binding protein suppressor of hairless</i>	SOAT1	<i>Sterol O-Acyltransferase 1</i>
RHO	<i>Rhodopsin</i>	SOX2	<i>SRY-box 2</i>
RNF43	<i>Ring Finger Protein 43</i>	SPDEF	<i>SAM Pointed Domain Containing ETS Transcription Factor</i>
RNI	<i>Reactive Nitrogen Intermediates</i>	SPECT	<i>Single Photon Emission Computed Tomography</i>
ROR2	<i>Receptor tyrosine kinase like Orphan Receptor 2</i>	SPOP	<i>Speckle Type BTB/POZ Protein</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>	SQLE	<i>Squalene Epoxidase</i>
RRM2	<i>Ribonucleotide Reductase Regulatory subunit M2</i>	SQS	<i>Squalene Synthase</i>
RSPO2	<i>R-Spondin 2</i>	SRC1	<i>Steroid Receptor Coactivator 1</i>
RT	<i>Radiation Therapy</i>	SRD5A	<i>5-alpha reductase</i>
RTK	<i>Récepteur Tyrosine Kinase</i>	SREBP	<i>Sterol Regulatory Element Binding Protein</i>
RXR	<i>Retinoid X Receptor</i>	STAR	<i>Steroidogenic Acute Regulatory Protein</i>

S

S1/2P	<i>Site 1/2 Protease</i>	STAT	<i>Signal Transducer and Activator of Transcription</i>
S1PR4	<i>Sphingosine-1-Phosphate Receptor 4</i>	STS	<i>Steroid Sulfatase</i>
SBP	<i>Sex Binding Protein</i>	SUFU	<i>Suppressor Of Fused homolog</i>
SCAP	<i>SREBP Cleavage Activating Protein</i>	SULT2A1	<i>Hydroxysteroid sulfotransferase</i>
SCARB1	<i>Scavenger Receptor class B type 1</i>	SULTE1E	<i>Estrogen sulfotransferase</i>
SCD	<i>Stearoyl-CoA Desaturase</i>	SUMO	<i>Small Ubiquitin like Modifier</i>

ABBREVIATIONS

<u>T</u>			
TAB2	<i>TGF-Beta Activated kinase 1 Binding protein 2</i>	Treg	<i>Regulatory T cells</i>
TAK	<i>Tat-Associated Kinase</i>	TSBP	<i>Testis Expressed Basic Protein</i>
TAM	<i>Tumor-Associated Macrophages</i>	TSC1/2	<i>Tuberous Sclerosis 1/2</i>
TAM	<i>Tyros3, Axl, Mer receptors</i>	TSP	<i>Thrombospondin</i>
TCA	<i>Tricarboxylic Acid Cycle</i>	<u>U</u>	
TCGA	<i>The Cancer Genome Atlas</i>	UBE2C	<i>Ubiquitin conjugating Enzyme E2 C</i>
TCR	<i>T-Cell Receptor</i>	uPA	<i>Plasminogène</i>
TEP	<i>Tomographie à Émission de Positons</i>	USPSTF	<i>United-States Preventive Service Task Force</i>
TERC	<i>Telomerase RNA Component</i>	UTR	<i>Untranslated Transcribed Region</i>
TERT	<i>Telomerase Reverse Transcriptase</i>	UTX	<i>Ubiquitously transcribed Tetratricopeptide repeat, X chromosome</i>
TGF	<i>Transforming Growth Factor</i>	UV	<i>Ultra-Violet</i>
Th	<i>Helper T cells</i>	<u>V</u>	
THBS2	<i>Thrombospondin 2</i>	VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
TIC	<i>Tumor Initiating Cells</i>	VEGFR	<i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor</i>
TIL	<i>Tumor Infiltrating Leukocytes</i>	<u>W</u>	
TIMP	<i>Tissue Inhibitors of Metalloproteinases</i>	WHO	<i>World Health Organization</i>
TK1	<i>Thymidine Kinase 1</i>	WHSC1L1	<i>Wolf-Hirschhorn Syndrome Candidate 1-like protein 1</i>
TLR	<i>Toll-Like Receptor</i>	WNT	<i>Wingless-Type MMTV Integration Site</i>
TLS	<i>Tertiary Lymphoid Structure</i>	<u>Y</u>	
TMA	<i>Tissue Microarray</i>	YBOX1	<i>Y-Box binding protein 1</i>
TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i>	<u>Z</u>	
TNFRSF19	<i>TNF Receptor superfamily member 19</i>	ZBTB7a	<i>Zinc Finger and BTB domain containing 7A</i>
TNM	<i>Tumor, Node, Metastasis</i>	ZIP1	<i>Zrt and Irt-like Protein 1</i>
TOP2A	<i>DNA Topoisomerase II Alpha</i>	ZNRF3	<i>Zinc and Ring Finger 3</i>
TPM2	<i>Tropomyosin 2</i>	ZO1	<i>Zona Occludens 1</i>
TPX2	<i>TPX2 Microtubule Nucleation Factor</i>	ZWILCH	<i>Zwilch Kinetochores protein</i>
TR	<i>Toucher Rectal</i>		
TRAMP	<i>Transgenic Adenocarcinoma of the Mouse Prostate</i>		

SOMMAIRE

Introduction Bibliographique

Préambule	1
I. Le cancer de la prostate	4
A. Généralités et épidémiologie	4
1. Anatomie de la prostate	4
2. Épidémiologie de l'adénocarcinome prostatique	4
3. Facteurs de risques	4
a. Facteurs génétiques	5
b. Facteurs exogènes	6
B. Diagnostic du cancer de la prostate	6
1. Détection précoce : Toucher rectal et dosage du PSA	6
2. Autres biomarqueurs du cancer de la prostate	8
a. Tests sériques de kallikreines	9
b. Tests urinaires PCA3	9
i. PCA3®	9
ii. MiPS	10
iii. ExoDx®	10
iv. SelectMDx®	10
c. Tests tissulaires de signatures moléculaires	11
i. Oncotype DX® GPS	11
ii. Prolaris®	11
iii. Decipher®	12
d. Autres tests sur échantillons anatomopathologiques	13
i. ProMark®	13
ii. ConfirmMDx®	14
iii. InformMDx™	14
iv. PTEN	15
e. Cellules tumorales circulantes	15
i. CellSearch	15
ii. Oncotype DX® AR-V7 Nucleus Detect	16
3. Anatomopathologie	17
a. Analyse histologique	17
b. Gradation des lésions	18
4. Imagerie	19
a. Échographie	19
b. IRM (Imagerie à Rayonnement Magnétique)	19

c.	Tomodensitométrie (scan) et scintigraphie -----	20
d.	Tomographie par émission de positons (TEP scan)-----	20
5.	Classification des stades du cancer de la prostate -----	21
a.	Classification TNM (AJCC) -----	21
i.	Tumeur -----	21
ii.	<i>Node</i> (ganglion)-----	22
iii.	Métastases-----	22
b.	Groupe de stadification-----	23
C.	Traitements du cancer de la prostate -----	24
1.	Traitement différé -----	24
a.	Abstention-surveillance-----	24
b.	Surveillance active -----	24
2.	Traitement local et loco-régional-----	24
a.	Prostatectomie totale-----	25
b.	Radiothérapie -----	25
i.	Radiothérapie externe-----	25
ii.	Curiethérapie-----	26
c.	HIFU -----	26
d.	Cryothérapie-----	26
3.	Traitements systémiques-----	26
a.	Hormonothérapie -----	26
i.	Agonistes et antagonistes de la LHRH-----	27
ii.	Anti-androgènes -----	27
iii.	Effets secondaires de l'hormonothérapie-----	28
iv.	Hormonothérapie continue <i>versus</i> intermittente ?-----	28
b.	Anti-androgènes de seconde génération -----	29
c.	Chimiothérapie -----	30
4.	Traitements ciblant l'os-----	30
i.	Bisphosphonates -----	30
ii.	Anticorps anti-RANKL-----	31
iii.	Chlorure de radium 223-----	31
II.	Initiation et progression du cancer de la prostate -----	32
A.	Origine et diversité du cancer de la prostate -----	32
1.	Initiation et progression tumorale-----	32
2.	Hétérogénéité des tumeurs : le modèle clonal -----	33
3.	Sous-types moléculaires des adénocarcinomes prostatiques-----	35

B.	Compréhension moléculaire de la carcinogenèse prostatique	35
1.	Instabilité génomique et mutations	35
a.	Réarrangement chromosomique : la fusion TMPRSS2:ETS	35
b.	Altérations du nombre de copies (CNA)	36
c.	Mutations ponctuelles (SNV)	37
d.	Mécanismes de réparation des dommages à l'ADN	37
e.	Altérations épigénétiques	38
2.	Signalisation pro-proliférative	39
a.	Voie PTEN/PI3K/AKT	39
b.	Voie des MAPK	41
c.	MYC	41
3.	Échappement au suppresseur de croissance	42
a.	RB	42
b.	TP53	43
4.	Immortalité répllicative	44
a.	Maintenance des télomères	44
b.	Sénescence	45
5.	Réactivation de voies de signalisation développementale	46
a.	Signalisation Hedgehog	46
b.	Signalisation Notch	46
c.	Signalisation WNT/ β -caténine	47
C.	Dissémination métastatique du cancer de la prostate	48
1.	La transition épithélio-mésenchymateuse (EMT)	48
2.	Rôle du stroma dans la dissémination métastatique	50
a.	Remodelage matriciel	50
b.	Stroma réactif	50
c.	Angiogenèse	51
3.	Colonisation métastatique	52
D.	Résistances thérapeutiques du cancer de la prostate – CRPC	52
1.	Récepteur des androgènes	53
2.	Mécanismes de résistance à la castration	54
a.	Surexpression de AR	54
b.	Mutation de AR	55
c.	Sur-activation de co-régulateurs de AR	55
d.	Activation de AR par des RTK	56
e.	Synthèse intra-tumorale d'androgènes	56
3.	Nouvelles molécules dans le traitement du cancer de la prostate (métastatique)	58

a.	ADT-----	58
b.	Inhibiteurs de PARP-----	59
c.	Chimiothérapie et radiothérapie ciblant le PSMA -----	60
III.	Métabolisme des tumeurs prostatiques -----	61
A.	Métabolisme cellulaire en condition normale et tumorale-----	61
1.	Énergétique cellulaire-----	61
2.	Altérations métaboliques des cellules tumorales-----	62
3.	Métabolisme des cellules prostatiques normales et tumorales-----	63
B.	Métabolisme lipidique du cancer de la prostate -----	64
1.	Altérations du métabolisme lipidique-----	64
2.	Altérations de la lipogenèse-----	65
3.	Androgènes et régulation du métabolisme lipidique -----	67
4.	Oncogènes et régulation du métabolisme lipidique-----	68
C.	Cholestérol et cancer de la prostate -----	71
1.	Cholestérol et données épidémiologiques-----	71
2.	Homéostasie du cholestérol en condition normale -----	72
3.	Altération du métabolisme du cholestérol -----	73
4.	Cholestérol et radeaux lipidiques -----	75
5.	Cholestérol et stéroïdogénèse-----	76
D.	Homéostasie cellulaire du cholestérol : la balance SREBP/LXR-----	76
1.	Les facteurs de transcription SREBP -----	77
2.	Les récepteurs nucléaires LXR-----	77
3.	Régulation de la balance SREBP/LXR par les oxystérols -----	78
4.	Fonctions biologiques régulées par LXR -----	79
a.	LXR et métabolisme lipidique-----	80
b.	LXR et métabolisme glucidique-----	81
c.	LXR et stéroïdogénèse-----	81
5.	Rôle des récepteurs nucléaires LXR dans le cancer -----	82
IV.	Microenvironnement immunitaire du cancer de la prostate -----	85
A.	Immunité -----	85
1.	Cellules du système immunitaire-----	85
a.	La lignée lymphoïde-----	85
b.	La lignée myéloïde -----	87
2.	Régulation des réponses immunes par les récepteurs nucléaires LXR-----	89
a.	LXR et macrophages -----	89

b.	LXR et lymphocytes -----	91
c.	LXR et immunité tumorale -----	92
B.	Immunité et cancer de la prostate -----	93
1.	Inflammation pro-tumorale -----	94
a.	Prostatite -----	94
b.	PIA -----	96
c.	Inflammation et cancer -----	97
i.	Inflammation et initiation tumorale -----	98
ii.	Inflammation et promotion tumorale -----	99
iii.	Inflammation et résistances thérapeutiques -----	100
2.	Immuno-édition du cancer -----	101
a.	Élimination -----	101
b.	Équilibre -----	102
c.	Échappement -----	102
3.	Immunologie du cancer de la prostate -----	104
a.	Classifications immunologiques des tumeurs -----	104
b.	Infiltration immunitaire du cancer de la prostate -----	105
i.	Infiltration lymphocytaire -----	105
ii.	Leucocytes et immunosuppression -----	106
iii.	Infiltration par les macrophages -----	107
iv.	Structures lymphoïdes tertiaires -----	108
c.	Facteurs modulant l'infiltration immunitaire des tumeurs prostatiques -----	109
C.	Immunothérapie du cancer de la prostate -----	110
1.	Vaccination -----	111
2.	Inhibiteurs du point de contrôle immunitaire -----	112
3.	Immunothérapies émergentes -----	113
a.	Bispecific T cell engager (BiTE®) -----	113
b.	Thérapie cellulaire adoptive -----	114
i.	Cellules CAR-T -----	114
ii.	Cellules dendritiques -----	114
iii.	Cellules NK -----	114
c.	Inhibiteur de CSF1-R -----	115
d.	Anticorps monoclonal ciblant les cellules B -----	115

Résultats

Projet de recherche -----	116
I. L'absence des récepteurs nucléaires LXR module-t-elle la réponse à la castration de la prostate <i>in vivo</i> ?-----	120
A. Présentation du contexte de l'étude-----	120
B. Résultats : Article 1 -----	122
C. Conclusion-----	131
II. Invalidation des LXR et réponse à la privation androgénique du cancer de la prostate : étude de la réponse à la castration des souris <i>Pten^{pc-/-};LxrDKO</i> -----	132
A. Présentation du contexte de l'étude-----	132
B. Matériels et méthodes-----	132
C. Résultats-----	133
D. Conclusion-----	140
III. Effets de l'invalidation épithéliale des récepteurs nucléaires LXR dans la réponse de la prostate bénigne et tumorale à la castration -----	141
A. Présentation du contexte de l'étude-----	141
B. Matériels et méthodes-----	141
C. Résultats-----	143
D. Conclusion-----	147

Discussion

I. Par quels mécanismes les LXR, et plus largement les altérations du métabolisme lipidique peuvent-ils initier et/ou promouvoir le développement du cancer de la prostate ?	149
II. Quel est le rôle de l'ostéopontine dans l'initiation et la progression du cancer de la prostate ?	152
III. Comment les récepteurs nucléaires LXR et les altérations du métabolisme du cholestérol peuvent-ils perturber l'activité des macrophages ?	155
IV. Les signalisations dépendantes des LXR et de PTEN peuvent-elles moduler la signalisation androgénique et la réponse à la castration ?	157
V. L'inactivation de <i>Pten</i> est-elle associée à une perturbation du métabolisme du cholestérol ?	159
VI. Perspectives, ou comment mieux définir le lien entre obésité, inflammation et cancer	162

Annexes

Article 2	165
Article 3	166
Références Bibliographiques	167

INTRODUCTION
BIBLIOGRAPHIQUE

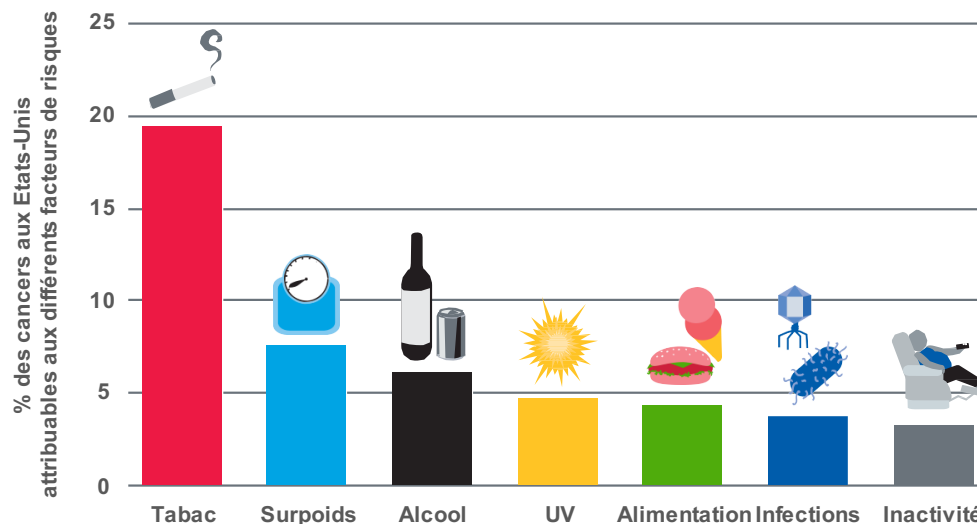


FIGURE 1 | FACTEURS DE RISQUE CONNUS DES CANCERS

Les chercheurs ont identifié plusieurs facteurs de risque individuels associés à la survenue de cancers. Le tabac reste à l'heure actuelle le premier facteur comportemental responsable de près de 20 % des cas de cancers aux États-Unis, non seulement du cancer du poumon mais aussi de 17 autres types de cancers. Il est suivi par le surpoids et la prise d'alcool, puis concernant moins de 5 % des cas de cancer, l'exposition aux rayonnements ultra-violet (UV), l'alimentation, les infections et l'inactivité. Ceci pour illustrer qu'en modifiant les comportements individuels, il est virtuellement possible de réduire de façon très importante l'incidence des cancers. *Modifié d'après American Association for Cancer Research (AACR) Cancer Progress Report 2018.*

PREAMBULE

En France, parmi les personnes de plus de 15 ans vivant en 2008, 3 millions ont déjà eu un cancer au cours de leur vie, soit 1.412.000 femmes et 1.570.000 hommes d'après l'INCa (Institut National du Cancer) ; et un américain sur trois sera touché par le cancer (Siegel et al., 2019). Comment définir le cancer, « cette » pathologie si fréquente qui ne cesse de tuer ? Une cellule tumorale est définie par ses capacités de prolifération et de survie accrues, doublées d'un potentiel de migration et d'invasion lui conférant la capacité de dissémination. Ainsi, ces cellules pourront reformer une tumeur à distance, appelée métastase, qui est le signe de leur agressivité et de leur caractère tumoral et non bénin.

En d'autres termes, une cellule tumorale découle d'une cellule normale ayant subi des altérations suite à un stress. Ce stress peut être endogène ou exogène, d'origine physique (comme des radiations ionisantes ou ultra-violettes), chimique (comme l'amiante, la fumée de tabac, les dioxines ...), ou biologique (infections virale, bactérienne, parasitaire), nutritionnel, ou encore lié à l'environnement ou au mode de vie. Les principaux facteurs de risque associables aux cancers aux États-Unis, sont, selon les données fournies par l'AACR (*American Association for Cancer Research*) (Sengupta and Honey, 2018) (Figure 1) :

- La cigarette, en premier facteur de risque, attribuable à près de 20 % des cas de cancer ;
- Pour 7 % des cas, le surpoids et l'obésité ;
- L'alcool pour 6 % des cas ;
- Le rayonnement ultraviolet pour près de 5 % des cas ;
- Une mauvaise alimentation dans 4.5 % des cas ;
- Pour 4 % des cas, des infections ;
- Et l'inactivité physique dans 3 % des cas.

Ces dernières années ont été marquées par de nombreuses et rapides avancées dans la recherche en cancérologie. Les articles scientifiques fondateurs de la cancérologie ont mis en lumière le rôle clé des altérations géniques dans le développement des tumeurs, avec des anomalies de l'expression d'oncogènes, dont la surexpression induit le cancer, ou à l'inverse, la perte de l'expression de gènes dits suppresseurs de tumeurs, conduisant également au cancer. De plus, des altérations de nature épigénétique, métabolique, ou du microenvironnement tumoral, peuvent également initier et participer à la progression des tumeurs. De nombreux éléments concordent pour dire que la tumorigenèse est le fait d'une accumulation d'anomalies se déroulant en plusieurs étapes. Si ces altérations peuvent concerner une grande variété d'acteurs

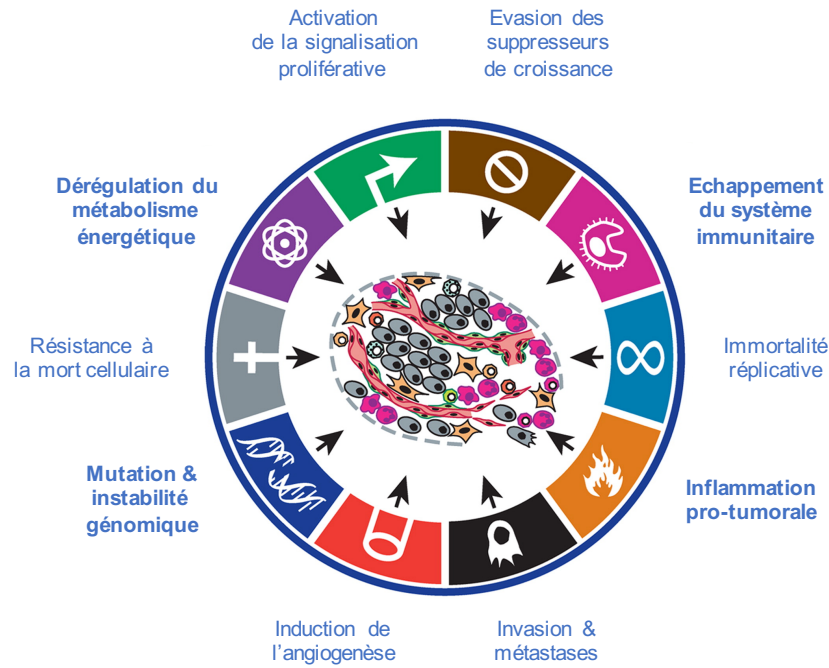


FIGURE 2 | LES « HALLMARKS » DU CANCER

On retrouve les 6 caractéristiques initialement décrites par Weinberg en 2000 auxquelles sont désormais rajoutées la dérégulation du métabolisme énergétique des cellules tumorales ainsi que leur capacité à échapper à la surveillance du système immunitaire. Deux nouvelles caractéristiques émergent également dans la nouvelle version : la présence de mutations et l'instabilité génomique des tumeurs ainsi que le rôle pro-tumoral de l'inflammation. *Modifié d'après (Hanahan and Weinberg, 2011).*

moléculaires et perturber l'activité de nombreuses voies de signalisation et de processus biologiques, certaines caractéristiques sont communes à tous les cancers. En l'an 2000, Weinberg propose et décrit les « *hallmarks* » du cancer, 6 marques caractéristiques pour relier et comprendre la diversité des pathologies regroupées sous le terme de cancer (Hanahan and Weinberg, 2000) (Figure 2) :

- Augmentation de la signalisation cellulaire pro-proliférative ;
- Échappement aux régulateurs de la croissance cellulaire ;
- Accroissement des capacités d'invasion et dissémination métastatique ;
- Immortalité répliquative ;
- Induction de l'angiogenèse ;
- Résistance à la mort cellulaire.

Aussi, il est aujourd'hui important de prendre en compte le potentiel global des cellules tumorales. Pour rajouter un niveau de complexité supplémentaire, un premier événement oncogénique isolé est très souvent suivi d'autres, dérégulant d'autres fonctions biologiques différentes, pour ainsi renforcer ces « *hallmarks* ».

Le premier fait important pour expliquer les capacités accrues des cellules tumorales est leur instabilité génomique, qui par le biais de mutations, de réarrangement chromosomique, de pertes d'expression, ou de surexpressions de gènes, va leur conférer une ou plusieurs des « *hallmarks* ». Pour soutenir ses capacités de croissance et de prolifération accrues, la cellule tumorale doit être capable de fournir suffisamment d'énergie. Le deuxième fait important est donc l'accroissement et la reprogrammation du métabolisme des cellules tumorales pour l'adapter à leurs nouvelles fonctions biologiques, plus gourmandes en énergie ; tout comme ce dernier est capable d'influer sur leurs caractéristiques.

Les tumeurs sont plus que de simples cellules hyper-prolifératives. Elles se développent, tel un nouvel organe se formant là où il n'est pas requis. Ces cellules sont capables d'interagir avec leur environnement, d'envoyer et de recevoir des signaux, de recruter des cellules. Aussi il est désormais important de considérer le microenvironnement tumoral local et à distance dans la compréhension de la tumorigenèse. Les cellules non tumorales associées au cancer, qu'elles soient de nature stromale, vasculaire ou encore immunitaire, ont un rôle à jouer dans la progression des tumeurs.

En effet, le système immunitaire a pour rôle de lutter contre toutes les attaques extérieures, considérées comme du non soi, et possède également un système de surveillance capable de

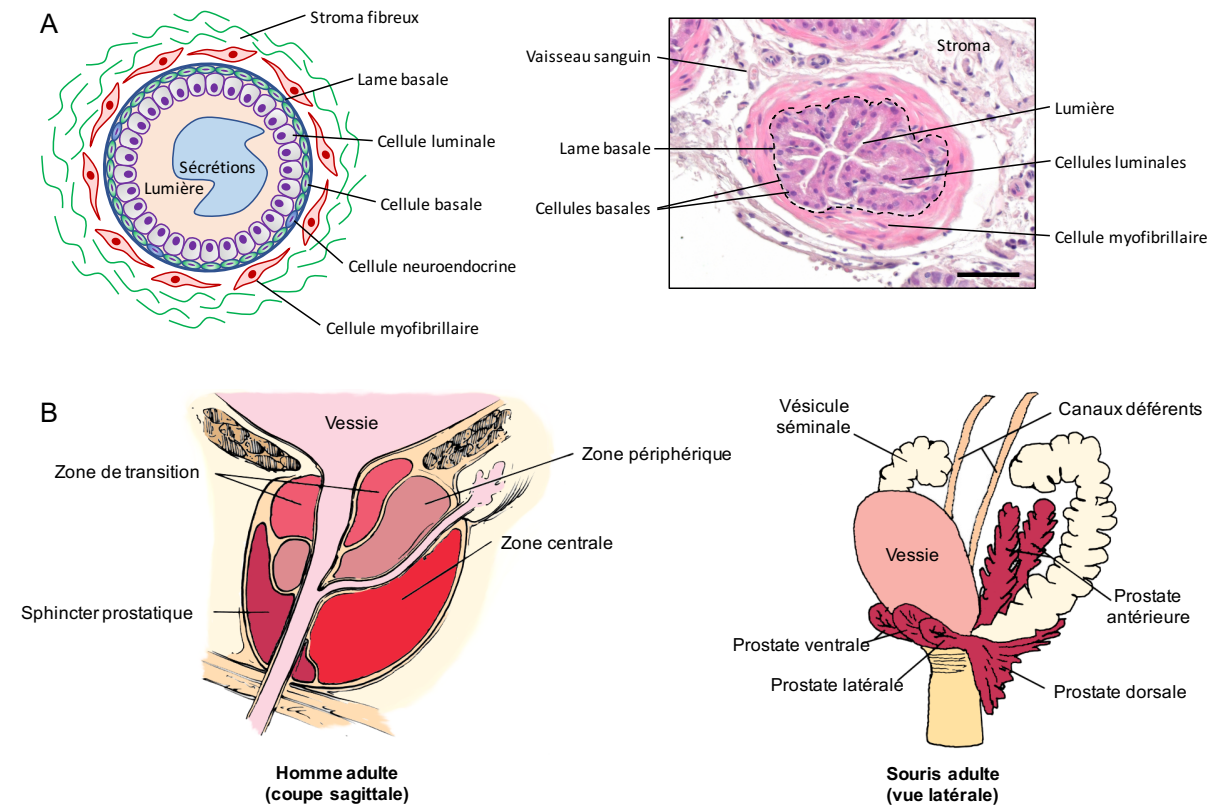


FIGURE 3 | ANATOMIE DE LA PROSTATE

(A) Représentation schématique d'un acinus prostatique et observation microscopique après coloration hématoxyline éosine d'un acinus prostatique du lobe dorsal de la prostate murine.

(B) Représentation schématique des prostates humaines et murines. *Modifié d'après (Abate-Shen and Shen, 2000).*

reconnaitre et d'éliminer les cellules tumorales. De façon paradoxale, les cellules immunitaires peuvent être à l'origine d'un environnement pro-inflammatoire, favorisant les lésions pré-tumorales mais également la progression des tumeurs déjà établies. Ainsi, d'un côté, le système immunitaire est capable d'éliminer les cellules tumorales, ayant un rôle anti-tumoral, et d'un autre côté le système immunitaire peut pencher vers une activité pro-toléro-gène, en favorisant un environnement pro-tumoral.

C'est ainsi qu'émerge le concept de deux nouvelles « *hallmarks* », importantes et partagées par les cancers : la capacité de modifier ou de reprogrammer le métabolisme cellulaire dans le but de soutenir de façon efficace la prolifération néoplasique et la capacité d'échapper à la surveillance du système immunitaire (Hanahan and Weinberg, 2011).

Mes travaux de thèse s'inscrivent dans ce contexte. L'objectif de ce travail a été de caractériser le rôle de régulateurs du métabolisme intracellulaire du cholestérol, les récepteurs nucléaires LXR (*Liver X Receptors*), dans le cancer de la prostate. Pour ce faire, j'ai étudié différentes hypothèses quant à leur rôle au sein de la cellule tumorale, en influant sur les « *hallmarks* » directement (que ce soit sur la capacité proliférative, anti-apoptotique, ou la régulation du métabolisme) ou également, concernant le microenvironnement tumoral et leur capacité à moduler l'activité du système immunitaire. Aussi, l'introduction bibliographique de ma thèse se présentera en plusieurs parties distinctes. La première partie traitera du cancer de la prostate, du diagnostic au traitement puis seront abordés les processus de carcinogenèse connus dans une deuxième partie. Une troisième partie s'attardera sur les aspects métaboliques des tumeurs prostatiques. Enfin, dans une quatrième partie, j'aborderai des notions de microenvironnement tumoral prostatique et de l'immunité de ces tumeurs.

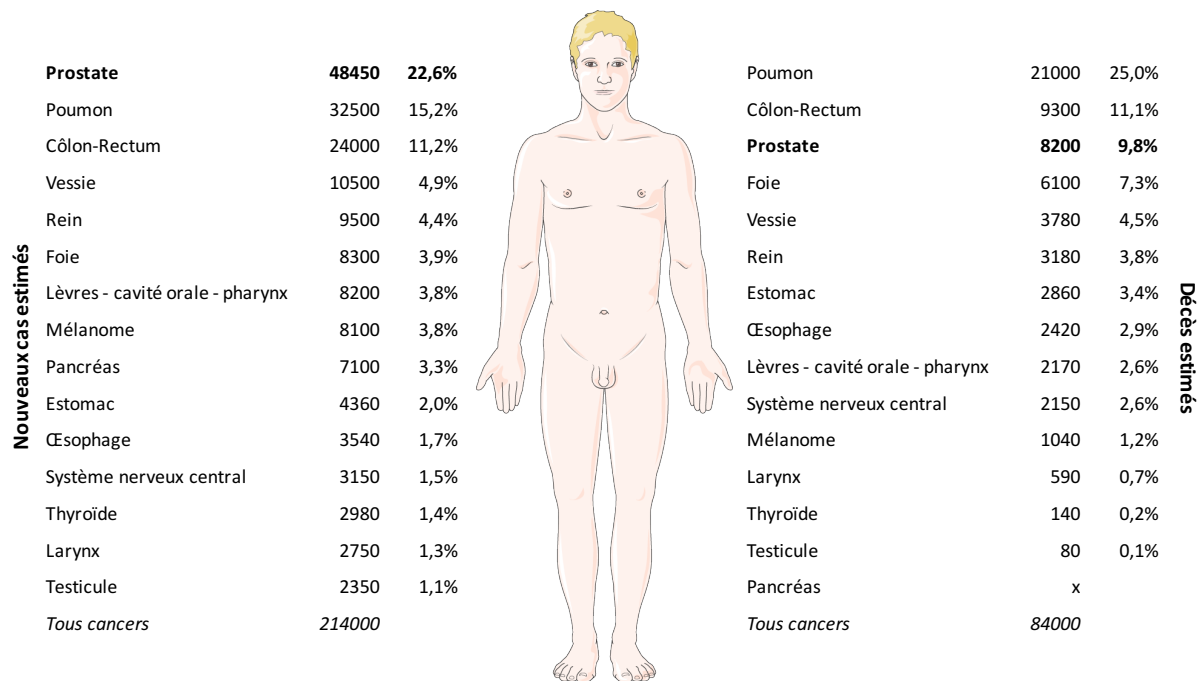


FIGURE 4 | LES CHIFFRES 2017 DU CANCER EN FRANCE

Les chiffres 2017 du cancer en France répertoriés par l'INCa placent le cancer de la prostate comme le premier en terme d'incidence avec près de 50.000 cas en 2013. Il représente actuellement la troisième cause de mortalité par cancer chez les hommes après les cancers du poumon et colorectal. Les projections ne permettent pas de donner le nombre des nouveaux de cancer de la prostate estimés en France pour 2017, et correspondent aux cas répertoriés pour l'année 2013. De plus, les données concernant la mortalité du cancer du pancréas ne sont pas disponibles. *D'après les chiffres de l'INCa 2019.*

I. LE CANCER DE LA PROSTATE

A. Généralités et épidémiologie

1. Anatomie de la prostate

La prostate est une glande exocrine de l'appareil génital masculin, une masse unique située à la base de la vessie et entourant l'urètre (Figure 3). Chez l'homme, elle peut être histologiquement subdivisée en trois zones dites périphériques, centrales et transitoires (McNeal, 1969). Sa croissance et son activité sécrétoire sont directement placées sous le contrôle des androgènes. Les sécrétions de l'épithélium prostatique entrent dans la composition du sperme et jouent un rôle protecteur et nourricier pour les spermatozoïdes.

Histologiquement, la prostate est structurée en tubes, des acini faits d'un épithélium simple de cellules luminales sécrétantes, de cellules de soutien basales, et de quelques cellules neuroendocrines (Figure 3A). Les cellules épithéliales reposent sur une lame basale entourée d'une couche myofibrillaire, assurant la contraction pour permettre l'éjection du fluide prostatique, et d'un stroma fibreux lâche.

La prostate murine présente des différences anatomiques par rapport à la prostate humaine (Figure 3B). En effet, la souris possède quatre lobes pairs dits ventraux, latéraux, dorsaux et antérieurs. D'un point de vue histologique et moléculaire, les lobes dorso-latéraux présentent la plus forte homologie avec la zone périphérique de la prostate humaine (Berquin et al., 2005).

2. Épidémiologie de l'adénocarcinome prostatique

En France, le cancer de la prostate (CaP) est de loin le cancer le plus fréquent chez l'homme avec une incidence projetée pour 2015 de 53.000 nouveaux cas (Figure 4). Il représente la troisième cause de mortalité par cancer chez l'homme, ce qui le place juste après les cancers du poumon et du colon (INCa, 2019). L'adénocarcinome en est la forme la plus fréquente, et concerne plus de 95 % des patients. Les autres formes sont beaucoup plus rares et agressives, comme les tumeurs neuroendocrines ou les carcinomes des cellules basales. L'adénocarcinome se développe préférentiellement au niveau de la zone périphérique. La zone de transition est plutôt touchée par des adénomes bénins, ou BPH (*Benign Prostatic Hyperplasia*). Pour plus de clarté, ce manuscrit se concentrera sur l'adénocarcinome prostatique.

3. Facteurs de risques

Le premier facteur de risque du cancer de la prostate est l'âge du patient (Figure 5). En effet, le cancer de la prostate est un cancer à progression lente. L'âge moyen au diagnostic est de 70 ans bien que les premières lésions cancéreuses puissent être présentes autour de 40 ans (Sakr et al.,

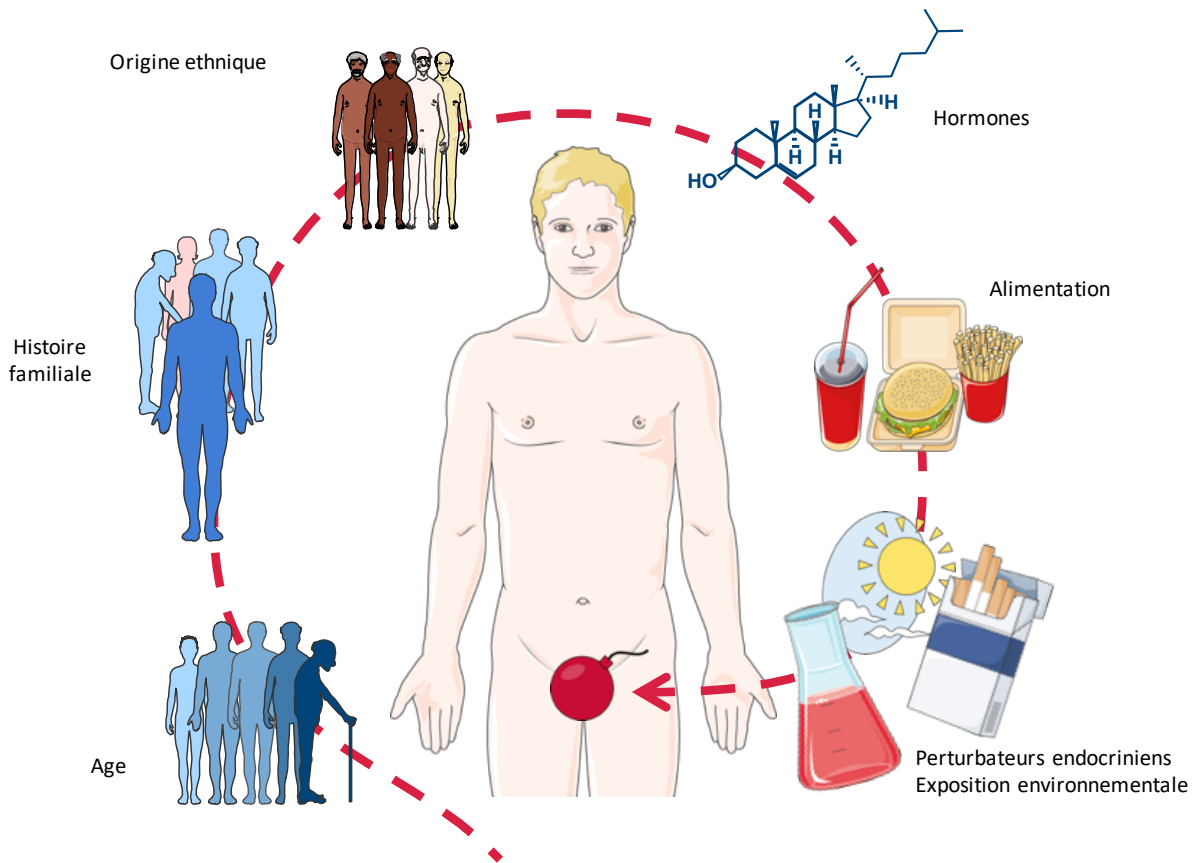


FIGURE 5 | FACTEURS DE RISQUE DU CANCER DE LA PROSTATE

Parmi les facteurs de risque connus du cancer de la prostate, le premier facteur à prendre en compte est l'âge du patient. L'histoire familiale et l'origine ethnique du patient comptent également comme des facteurs génétiques du cancer de la prostate. Enfin les hormones, l'alimentation et l'exposition environnementale, notamment à des perturbateurs endocriniens, sont considérés comme des facteurs de risque exogènes du cancer de la prostate.

1994). L'incidence tend à baisser avec la diminution du nombre de faux positifs causés par le sur-diagnostic dû à l'utilisation systématique du dosage du PSA (*Prostate Specific Antigen*). En Europe, la survie à 5 ans tend à augmenter légèrement de 73.4 % pour la période 1999-2001 à 81.7 % pour 2005-2007 (De Angelis et al., 2014).

a. Facteurs génétiques

Parmi les risques génétiques connus du cancer de la prostate, deux facteurs importants ont été identifiés : l'ethnicité et l'histoire familiale du patient. On distingue l'hérédité monogénique (rare, dans 5 à 9 % des cas (Ferlay et al., 2013)) du cancer de la prostate de l'hérédité polygénique (95 %). Ces cancers héréditaires sont de survenue plus précoce et sont plus agressifs. Ils surviennent 6 à 7 ans plus tôt en moyenne et 43 % des cancers diagnostiqués avant l'âge de 55 ans le sont pour cause génétique (Bratt, 2002).

L'histoire familiale du patient peut orienter le diagnostic. En effet, des méta-analyses ont montré que les hommes dont le père a ou a eu un cancer ont un risque de 2.1 à 2.4 fois plus élevé d'en développer également un. Le risque est 2.9 à 3.3 fois plus élevé si un frère est concerné, et 1.9 fois plus élevé quand il s'agit d'un parent au second degré (grand-père, oncle, neveu...) (Bruner et al., 2003) (Johns and Houlston, 2003) (Kiciński et al., 2011). Le risque est augmenté de 19 à 24 % pour ceux dont la mère est touchée par un cancer du sein (Hemminki and Chen, 2005) (Chen et al., 2008).

Sur la base de l'histoire familiale des patients, des études génétiques ont permis d'identifier différents gènes associés à des formes héréditaires de cancer de la prostate (Rozet et al., 2016). Pour la prédisposition monogénique, les gènes le plus souvent incriminés sont *BRCA2* et *HOXB13* ; mais d'autres gènes sont aussi désignés comme *ATM*, *BRCA1*, *BRIP1*, *CHEK2*, *MUTYH*, *PALB2*, *PMS2*, *FLII*, *MSH2*, *MSH6* (Leongamornlert et al., 2014). Ces gènes sont pour la plupart impliqués dans la réponse aux dommages de l'ADN. Le risque est 5 fois plus élevé chez les hommes ayant une mutation *BRCA2* par rapport à la population générale (Breast Cancer Linkage Consortium, 1999). Ces patients ont plus de risques de développer un cancer précoce, avant 65 ans. Les données concernant les mutations *BRCA1* ne sont pas claires.

La prédisposition polygénique est plus difficile à déterminer, et des variants génétiques identifiés dans diverses populations d'origines ethniques différentes sont associés à une augmentation du risque. En effet, les patients ne présentent pas les mêmes risques selon leur origine ethnique. Les hommes noirs présentent un risque plus élevé de développer un cancer de la prostate (1/4) que les caucasiens (1/8) et que les asiatiques (1/13) (Lloyd et al., 2015). D'après

l'étude GLOBOCAN réalisée en 2012 par l'IARC (*International Agency for Research on Cancer*), ces patients présentent également un taux de mortalité accru du cancer de la prostate (Ferlay et al., 2013).

b. Facteurs exogènes

Le cancer de la prostate est plus fréquent dans les pays occidentaux, en Océanie, en Amérique du Nord, en Europe et aux Caraïbes, et moins fréquent en Asie, en Afrique, en Amérique centrale et du sud (Torre et al., 2015). Des études épidémiologiques ont montré que des populations migrantes, en l'occurrence des populations asiatiques émigrant aux États-Unis, présentent un facteur de risque diminué par rapport à cette même population native de ce pays (Kolonel et al., 2004) ; et inversement pour les populations noire-américaines (Kheirandish and Chinegwundoh, 2011). Ceci sous-entend qu'au-delà des facteurs génétiques, l'environnement, et particulièrement l'alimentation riche en soja peut influencer sur la prévalence du cancer de la prostate (Kimura, 2012).

Les perturbateurs endocriniens présents dans l'environnement sont connus pour influencer sur le développement et la progression du cancer de la prostate. Parmi les plus connus, citons des pesticides comme le chlordécone ou le DDT, les PCB, les bisphénols, qui peuvent notamment moduler la signalisation des œstrogènes ou du métabolisme des stéroïdes plus généralement (pour revue (Prins, 2008)).

Les facteurs de risque plus spécifiques, relatifs à l'alimentation, au métabolisme lipidique et aux pathologies et comorbidités associées seront discutés dans la seconde partie de cette introduction bibliographique.

B. Diagnostic du cancer de la prostate

1. Détection précoce : Toucher rectal et dosage du PSA

La stratégie de détection précoce du cancer de la prostate (proposée par l'AFU (Association Française d'Urologie)) repose en France sur le dépistage par la recherche de facteurs de risque (familiaux et ethniques), le dosage du PSA et le toucher rectal (TR). La zone périphérique, où se déclarent la grande majorité des tumeurs prostatiques, est accessible par ce geste qui permet de détecter de faibles anomalies. Des signes d'appel peuvent aussi amener le patient à consulter un clinicien de lui-même tels que des infections de l'appareil urinaire, une hématurie, une rétention aiguë ou chronique d'urine, et des lombalgies ou des douleurs osseuses si la pathologie est avancée.

Le dosage sérique du PSA total recherche un taux en dehors des valeurs normales qui sont encore à l'heure actuelle mal déterminées, même si un taux est considéré comme suspect entre 4 et 10 ng/mL. En dessous de 4 ng/mL, les risques sont jugés faibles, comme en attestent les chiffres communiqués par l'EAU (*European Association of Urology*) (Mottet et al., 2017) :

Taux du PSA (ng/mL)	Risque de cancer de la prostate (%)	Risque d'un score de Gleason ≥ 7 (%)
0.0 – 0.5	6.6	0.8
0.6 – 1.0	10.1	1.0
1.1 – 2.0	17.0	2.0
2.1 – 3.0	23.9	4.6
3.1 – 4.0	26.9	6.7

D'autres valeurs du PSA peuvent alors être déterminées pour aider au diagnostic comme la densité du PSA, soit le rapport entre la valeur du PSA rapportée au volume de la prostate déterminé par ultra-sons (échographie). La cinétique du PSA doit plutôt être utilisée pour le suivi du traitement ; il s'agit du temps de doublement du PSA (PSA-DT) exprimé en mois, ou de la vélocité du PSA (PSAV), qui correspond à l'augmentation annuelle absolue de la valeur du dosage (ng/mL/an). Pour les hommes ayant un PSA ≤ 10 ng/mL (compris entre 4 et 10), le rapport PSA libre/total peut aiguiller avec plus de précision sur un diagnostic positif ou non de cancer de la prostate. Mais ce dernier test requiert une attention particulière lors du prélèvement et de l'analyse due à la faible stabilité du PSA. Un ratio faible étant en faveur d'un cancer de la prostate ; un ratio L/T de 0.23 présente une sensibilité 90.4%, et pourrait ainsi augmenter la spécificité du diagnostic, et réduire le taux de biopsies inutiles (de la Taille et al., 1997).

Ces dernières années, l'incidence du cancer de la prostate a diminué des suites d'une diminution du sur-diagnostic. En effet, il avait été observé une forte augmentation de l'incidence entre les années 1980 et 2005 (de 20.000 à 64.500 cas par an) due, d'une part à l'utilisation massive et précoce du dosage de la PSA, et d'autre part à l'amélioration des outils diagnostic plus généralement. Puis il a été observé après 2011 une diminution de l'incidence (54.000 nouveaux cas cette année-là), suite à un recours plus raisonné au dosage du PSA dans le but de prévenir le sur-diagnostic (d'après les données de l'INCa).

Malgré son utilisation en routine, ERSPC est la seule étude à avoir déterminé l'intérêt du dosage du PSA (Schröder et al., 2014) quand une méta-analyse des données de la littérature en 2010 n'avait montré aucun apport du dosage du PSA avec ou sans TR sur la mortalité totale ou spécifique due au cancer de la prostate (Djulfbegovic et al., 2010). Dans cette étude, il a été montré une diminution de 21% de la mortalité du cancer de la prostate et une augmentation de

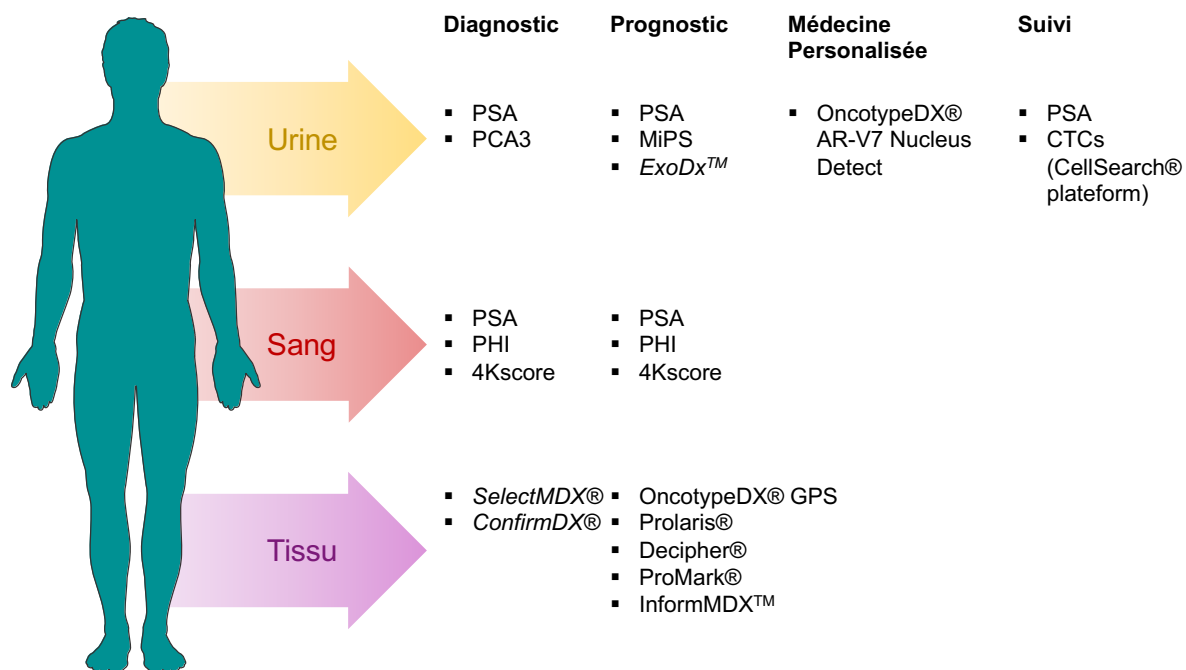


FIGURE 6 | UTILISATION DIAGNOSTIQUE ET PRONOSTIQUE DES BIOMARQUEURS

De nouveaux tests et biomarqueurs peuvent désormais être utilisés pour informer les cliniciens sur le cancer de la prostate de leurs patients. Certains seront plutôt utilisés pour confirmer le diagnostic de cancer, et éviter de rebiopsier les patients. D'autres sont à visée pronostique, et chercheront à prédire le risque pour le patient de développer une pathologie agressive, la survenue de métastases ou encore sa survie. Enfin, certains tests plus spécifiques orienteront le choix du clinicien concernant la prise en charge thérapeutique, ou affineront le suivi du patient. *Modifié d'après (Filella et al., 2018).*

1.6 fois de l'incidence sur la base du dosage du PSA dans les années 95-98 à 2010 en Europe. Ceci s'explique par une forte diminution du diagnostic des cancer à un stade déjà métastatique relative à une augmentation de la détection précoce, limitant ainsi la mortalité et le coût pour la société (Buzzoni et al., 2015). A l'inverse, aux États-Unis, suite aux recommandations de l'USPSTF (*United-States Preventive Service Task Force*) en 2008 et 2012 de ne plus informer la population sur le dosage du PSA, une augmentation de l'incidence des cancers de la prostate métastatiques (de 92 %) a été observée entre 2004 et 2013.

Aussi, ses données nous interrogent sur la notion de bénéfice (détection du cancer de la prostate à un stade précoce, favorable) et de risques (dus à la détection tardive, à un stade métastatique de la pathologie mais également dus au sur-traitement et à tous les risques de comorbidités et de diminution de qualité de vie engendrés) pour la bonne mise en place du diagnostic. Ainsi, selon les recommandations actuelles de l'AFU, de l'INCa et de la HAS (Haute Autorité de Santé), le TR et le dosage du PSA doivent être encouragés à 50 ans en absence de facteur de risques et à 45 ans en présence de facteurs de risque, chez les hommes dont l'espérance de vie est de plus de 10 à 15 ans. Cette campagne de dépistage doit être renouvelée s'il existe des facteurs de risque tous les 2 ans, sinon moins fréquemment, et est généralement interrompue après 75 ans.

La complexité à prédire la présence d'un cancer de la prostate lorsque le taux du PSA est faible, dans la zone grise 4-10 ng/mL, appelle à réfléchir sur la nécessité de poser un diagnostic de cancer de prostate chez ces patients. En effet, ces patients sont considérés à faible risque de progression (groupe de stadification I) et seront candidats pour un traitement différé du cancer (non interventionnel). Cependant, la prise en charge variera en cas de signe d'extension de la pathologie, ou la présence de lésions histologiques plus agressives, mais qui seront le plus souvent associées à une élévation du taux du PSA. Il importe donc de limiter cette incertitude qui pèse sur les patients dans la zone grise du PSA par l'utilisation d'autres marqueurs à visée diagnostique et pronostique.

2. Autres biomarqueurs du cancer de la prostate

Aujourd'hui, d'autres nouveaux dosages et tests peuvent être utilisés pour augmenter la sensibilité et la spécificité du diagnostic, et ainsi espérer réduire le sur-diagnostic et améliorer la prise en charge (Figure 6). Récemment, le groupement ICFuro (Intergroupe Coopérateur Francophone de Recherche en Onco-urologie), composé de chercheurs et de médecins français a publié une revue sur 6 nouveaux biomarqueurs et tests, approuvés par la FDA (*Food and*

Drug Administration) ou l'EMA (*European Medicines Agency*), ou ayant obtenu des accréditations telles que CLIA (*Clinical Laboratory Improvement Amendment*) ou CAP (*College of American Pathologists*).

a. Tests sériques de kallikreines

Le PHI (*Prostate Health Index*), a été approuvé par la FDA et certifié CE-IVD (Conformité Européenne - *In Vitro* Diagnostic) et combine après dosage sérique, le ratio du précurseur le plus stable du PSA [-2]proPSA (p2PSA) sur le PSA libre sur la forme total. Il s'agit d'un test immunologique commercialisé par le laboratoire Beckman Coulter.

Le 4KScore permet le dosage de 4 kallikréines : les PSA intacte, libre et totale et hK2 (KLK2). Il repose également sur un dosage immunologique. Il est produit par le laboratoire OPKO Diagnostics, et possède l'accréditation CAP. Le score obtenu combine grâce à un algorithme les résultats du dosage, l'âge du patient, les données du TR et de la biopsie pour calculer le risque pour le patient de développer un cancer de haut grade.

Une méta-analyse des données de la littérature a montré en 2012 la supériorité du PHI à prédire la détection d'un cancer de la prostate sur une biopsie future, en particulier pour les patients dans la zone grise du PSA par rapport à l'utilisation seule du dosage du PSA ou de la forme libre (Filella and Giménez, 2012). Ce test présente une sensibilité de 90 % mais une faible spécificité autour de 30 %. Il pourrait toutefois permettre de réduire le nombre de biopsies inutiles. Concernant le 4KScore, une méta-analyse a montré qu'il présente une sensibilité plus faible de 74 % mais une augmentation de la spécificité de 61 % (Russo et al., 2017). Ainsi, ces deux tests ont montré leur supériorité dans la détection clinique des cancers de la prostate par rapport au dosage du PSA seul.

b. Tests urinaires PCA3

i. PCA3®

ProgenSA PCA3®, développé par Hologic et approuvé par la FDA, est un test urinaire permettant de mesurer par RT-qPCR l'expression du gène PCA3. La valeur du PCA3 urinaire est ensuite rapporté sur le PSA urinaire. Ce test présente une meilleure spécificité que le dosage sérique du PSA total ou du ratio libre sur total pour le diagnostic du cancer de la prostate, particulièrement quand la valeur du PSA est comprise entre 2-10 ng/mL (Vlaeminck-Guillem et al., 2011).

ii. MiPS

MiPS, par MLabs, est un autre test urinaire, combinant le score du PCA3 (de la même façon, ratio de la valeur de l'ARNm du PCA3 sur celui du PSA, ayant reçu l'approbation de la FDA) et du score T2 (ratio de l'ARNm de la fusion TMPRSS2:ERG sur celui du PSA, non approuvé par la FDA mais certifié CLIA). Les auteurs ont montré dans leur cohorte de validation la supériorité de l'incorporation du dosage urinaire de la fusion TMPRSS2:ERG par rapport à l'utilisation seule du dosage PCA3 + PSA pour la prédiction du cancer de la prostate (Tomlins et al., 2016).

iii. ExoDx®

Des chercheurs américains ont développé une nouvelle approche de dosage de marqueurs prostatiques basée sur le dosage par RT-qPCR de l'expression de gènes présents dans les exosomes urinaire, le test ExoDx® Prostate IntelliScore. Après un TR, les exosomes prostatiques sont relargués dans les urines du patient qui sont collectées puis purifiées pour isoler les ARN exosomiques urinaires. C'est à partir de ce matériel biologique que seront quantifiées l'expression des ARNm de *PCA3* et *TMPRSS2:ERG* (expression normalisée sur *SPDEF*). Ce test à visée pronostique permet de mieux discriminer les cancers de haut grade (score de Gleason ≥ 7) des cancers de bas grade (score de Gleason 6) et des lésions bénignes en comparaison au standard diagnostique (dosage sérique du PSA, âge, ethnie, et histoire familiale) (McKiernan et al., 2016).

iv. SelectMDx®

Le test SelectMDx® (MDxHealth) consiste à analyser, après la réalisation d'un toucher rectal, l'expression urinaire des marqueurs de progression *DLX1* et de prolifération *HOXC6* (et du gène de référence *KLK3*) (Van Neste et al., 2016a). Ce test permet de déterminer, en tenant compte des facteurs de risque cliniques du patient, si la réalisation d'une biopsie semble nécessaire selon que le patient soit considéré comme à faible risque ou à risque plus important de cancer de la prostate.

SelectMDx® se place comme une aide au diagnostic non invasive pour les cancers de la prostate de haut grade. Il offrirait un meilleur bénéfice et une meilleure stratification du risque comparé à d'autres outils cliniques tel que le test PCA3. Ainsi ce test de risque pourrait permettre de réduire le nombre de biopsies non nécessaires.

c. Tests tissulaires de signatures moléculaires

i. Oncotype DX® GPS

Des analyses rétrospectives à partir des données de microarray ont permis d'identifier 732 gènes candidats capables de prédire la récurrence, la mortalité spécifique due au cancer et la survenue d'une pathologie dite agressive. Cette liste a été affinée et validée en RT-qPCR à partir d'échantillons FFPE (*Formalin-Fixed Paraffin-Embedded*) issus de biopsies et de prostatectomies, pour en extraire 17 gènes (Klein et al., 2014). Le test Oncotype DX® GPS (*Genomic Prostate Score*) (Genomic Health Inc) propose ainsi l'analyse de l'expression de 12 gènes impliqués dans diverses fonctions biologiques ayant un rôle connu dans le cancer de la prostate : la signalisation des androgènes (*AZGP1, FAM13C, KLK2, SRD5A2*), l'organisation cellulaire (*FLNC, GSN, GSTM2, TPM2*), la prolifération (*TPX2*), et la réponse du stroma (*BGN, COL1A1, SFRP4*) rapportée sur l'expression de 5 gènes de ménages (*ARF1, ATP5E, CLTC, GPS1, PGK1*). Sur la base d'un algorithme combinant les données d'expression et les données cliniques du patient, ce test pronostique donne un score de 0 à 100. Oncotype DX® GPS est approuvé par la FDA et est actuellement commercialisé.

L'intérêt de cette signature multigénique est, pour le clinicien, de prédire au moment du diagnostic à partir des échantillons de biopsies positives de tumeurs à faible risque ou intermédiaire de progression, si le patient est à faible ou à haut risque de développer une pathologie agressive, et ainsi de l'orienter dans le premier cas vers la surveillance active, ou dans le second cas vers le traitement immédiat. De plus, ce test est capable de prédire le comportement futur de la tumeur et ainsi la mortalité spécifique au cancer et la survenue de métastases à 10 ans. Dans la cohorte de patient interrogée, aucun des patients avec un GPS < 20 n'a développé de métastases ni de mortalité spécifique au cancer de la prostate (Van Den Eeden et al., 2018).

ii. Prolaris®

Le test Prolaris® développé par Myriad Genetics prend en compte le taux du PSA et le score de Gleason auxquels est ajouté le score Prolaris® pour déterminer un risque de mortalité spécifique au cancer à 10 ans. Le calcul du score CCP (*Cell Cycle Progression*) repose également sur l'extraction d'ARN à partir de coupes FFPE (d'échantillons de biopsies ou de pièces opératoires de prostatectomie) et l'analyse en RT-qPCR de 31 gènes impliqués dans la progression du cycle cellulaire (*ASF1B, ASPM, BIRC5, BUB1B, C18orf24, CDC2 (CDK1), CDC20, CDCA3, CDCA8, CDKN3, CENPF, CENPM, CEP55, DLGAP5, DTL, FOXM1, KIAA0101, KIF11, KIF20A, MCM10, NUSAP1, ORC6L, PBK, PLK1, PRC1, PTTG1, RAD51,*

RAD54L, *RRM2*, *TK1*, *TOP2A*) et de 15 gènes de ménages. Les 31 gènes de la signature moléculaire CCP ont été retenus à partir d'une liste de 126 gènes candidats impliqués dans la progression du cycle cellulaire obtenue suite à l'analyse de la banque de données GEO (*Gene Expression Omnibus*) (Cuzick et al., 2011).

Un modèle multivarié comprenant le score CCP, le taux du PSA, la classification TNM « T », l'état des marges chirurgicales et le score de Gleason donne un score Prolaris® qui est noté sur une échelle de 1 à 10. Ce score est < 3 lorsque le cancer est moins agressif que la moyenne des cancers de la classification d'Amico à laquelle appartient le patient (faible ou intermédiaire) et > 4 s'il est plus agressif. Ce test a démontré son utilité pour orienter le traitement des hommes nouvellement diagnostiqués avec un cancer de la prostate, vers un traitement interventionnel en cas de haut score ou non interventionnel (surveillance active) dans le cas inverse. Ceci a pour objectif de réduire le sur-traitement des patients selon leur risque de progression et de mortalité spécifique au cancer à 10 ans (Crawford et al., 2014). Ce test est actuellement commercialisé et approuvé par la FDA.

iii. Decipher®

Suite à l'analyse de données de microarray, les auteurs ont sélectionné 22 ARN issus de régions codantes et non codantes du génome (*ANO7*, *CAMK2N1*, *EPPK1*, *GLYATLIP4/PCAT-80*, *IQGAP3*, *LASPI*, *MYBPC1*, *NFIB*, *NUSAPI*, *PBX1*, *PCAT-32*, *PCDH7*, *RABGAPI*, *SIPR4*, *THBS2*, *TNFRSF19*, *TSBP*, *UBE2C*, *ZWILCH* et un ARN codant anti-sens, un ARN non codant et une séquence intronique) pour définir leur signature génomique (*Genomic Classifier*, GC) (Erho et al., 2013). Les gènes de cette signature sont impliqués dans divers processus biologiques relatifs à la progression tumorale tels que la progression du cycle cellulaire, l'adhésion cellulaire, la mobilité des cellules tumorales, la migration et la modulation du système immunitaire. De plus, plusieurs gènes sont impliqués dans la signalisation des androgènes. De façon intéressante, cette signature comprend 2 longs ARN non-codant déjà connus pour être différentiellement exprimés dans le cancer de la prostate : *PCAT* (*Prostate Cancer Associated Transcript*) 32 et 80.

Après la prostatectomie, Decipher® (GenomeDX Biosciences) est capable d'évaluer l'agressivité du cancer et le risque de survenue de métastases d'après l'expression des gènes GC sur des échantillons FFPE (Klein et al., 2016). Concernant les patients atteints de cancer de la prostate à risque intermédiaire et à haut risque, 60 % d'entre eux ont été reclassifiés à faible risque suite au test Decipher® ; 98.5 % de ces patients n'ont effectivement pas développé de métastases dans les 5 ans suivant leur prostatectomie (Karnes et al., 2013). Ainsi ce test a valeur

pronostique permet d'orienter le choix des cliniciens vers la surveillance de la rechute biochimique pour les patients classifiés à faible risque et vers la radiothérapie précoce pour ceux à haut risque. En effet, les hommes à haut risque Decipher® qui ont reçu une radiothérapie adjuvante présentent une diminution de 80 % de l'incidence des métastases par rapport aux hommes qui ont eu de la radiothérapie de rattrapage.

Au final ce test Decipher® oriente la décision clinique : 39 % des praticiens ont changé leurs recommandations de traitement auprès des patients après notification du test Decipher® qui s'est traduit en une diminution de 50 % des recommandations de radiothérapie chez les patients considérés à faible risque par Decipher®.

Malgré la validation clinique de ces tests sur des cohortes de patients très larges (plusieurs milliers), on peut s'interroger sur la pertinence biologique de ces signatures, et de leurs gènes qui, malgré leur implication dans diverses fonctions biologiques relatives au cancer, n'ont pas pour autant de rôle clé dans la tumorigenèse. De plus, il est important de noter la diversité et la variabilité de ces signatures. Concernant Oncotype DX® GPS, Prolaris® et Decipher®, un total de 85 gènes est analysé dont seulement un (*NUSAPI*, connu pour son rôle dans l'organisation du fuseau mitotique) est commun aux signatures Prolaris® et Decipher®.

Au-delà de l'apport sur la qualité de vie des patients à très faible ou faible risque de développer un cancer de la prostate agressif que peut représenter un traitement différé, comme la surveillance active, par rapport à un traitement interventionnel comme la prostatectomie ou la radiothérapie, il est aussi important de prendre en compte des considérations économiques. Car même si les tests restent chers (4500 \$ pour Oncotype DX® GPS), l'économie réalisée sur 6 mois après notification du résultat des tests et l'éventuelle réorientation du traitement par le clinicien est estimée au total à près de 2300 \$ par patient (Albala et al., 2016) (Filson, 2018).

d. Autres tests sur échantillons anatomopathologiques

i. ProMark®

ProMark® (Metamark) est un test pronostique basé sur une étude protéomique quantitative qui a permis l'identification de 160 protéines candidates, dont 12 biomarqueurs ont été retenus pour prédire l'agressivité du cancer de la prostate (Shipitsin et al., 2014). Actuellement, ce test utilise 8 marqueurs (CUL2, DERL1, FUS, HSPA9, PDSS2, pS6, SMAD4, YBOX1) choisi notamment pour la reproductibilité et la robustesse de leur immuno-marquage.

La prédiction de l'agressivité tumorale repose sur l'étude des marquages immunofluorescents multiplexés de ces marqueurs réalisés à l'aide d'anticorps monoclonaux et du DAPI sur des

coupes FFPE. La mesure quantitative des biomarqueurs de la région d'intérêt des tissus par une plateforme automatisée d'analyse d'images fournit un score noté de 0 à 1, avec un risque dit « favorable » (<0.33) ou « non favorable » (>0.8) concernant l'agressivité de la tumeur et le risque de mortalité spécifique (Blume-Jensen et al., 2015).

ii. ConfirmMDx®

Le test ConfirmMDx® (MDxHealth) associe, à partir d'échantillons FFPE issus de biopsies, la technique de PCR spécifique de la méthylation (MSP) et l'utilisation de marqueurs épigénétiques associés au cancer, pour déterminer un EpiScore (Van Neste et al., 2016b). La détermination de l'EpiScore combiné aux données cliniques du patient permet de détecter la présence de cancer de façon plus précise que l'analyse histopathologique. Ce test s'intéresse à la méthylation ADN de *GSTP1*, *RASSF1* et *APC* sur des biopsies identifiées comme négatives. En effet, les auteurs partent du postulat que des anomalies génétiques, épigénétiques ou biochimiques pourrait se retrouver sur les tissus adjacents d'apparence non tumorale (effet « champ ») (Chai and Brown, 2009). Cependant, l'effet de champ semble limité spatialement, et pourrait souffrir des biais induits par les expositions environnementales et les facteurs de risque propres à chaque patient. De plus, concernant le cancer de la prostate, aucun effet de champ ne semble avoir été observé pour *GSTP1*, quant à *RASSF1* et *APC*, l'atteinte semble limitée à une distance de 3 mm de la lésion tumorale (Mehrotra et al., 2008).

L'intérêt de ce test étant de réduire le nombre de faux négatifs induit par le biais d'échantillonnage lors de la réalisation de la biopsie (qui avec 10 à 12 prélèvements, échantillonne moins d'1 % de la glande prostatique) (Kronz et al., 2001). Ainsi on peut espérer réduire le nombre de biopsies répétées chez les patients avec une élévation persistante du taux de PSA, un TR anormal ou la présence d'autres facteurs de risque.

iii. InformMDx™

PDE4D7 est une phosphodiesterase, une enzyme impliquée dans la dégradation de l'AMPc et la régulation des voies de signalisations impliquées notamment dans la prolifération et la signalisation androgénique. Le test InformMDx™ propose de quantifier l'expression de *PDE4D7* pour suivre la progression du cancer après prostatectomie (Henderson et al., 2019). L'expression de *PDE4D7* est inversement corrélée avec l'agressivité du cancer de la prostate. Ainsi les patients présentant un faible score *PDE4D7* ont un risque de progression du cancer de la prostate après prostatectomie moindre que les patients avec un score élevé (Alves de Inda et al., 2018).

iv. PTEN

Parmi les altérations géniques les plus fréquemment retrouvées dans le cancer de la prostate, on note la présence de la fusion de gène *TMPRSS2:ERG* et la perte de l'expression du suppresseur de tumeur *PTEN* (dont il sera rediscuté par la suite). Yoshimoto et ses collaborateurs ont montré que ces deux anomalies étaient positivement associées, de façon dose dépendante, à la récurrence biochimique après traitement local et à la survie du cancer de la prostate (Yoshimoto et al., 2008).

Sur des pièces opératoires de prostatectomies, le statut *PTEN* a été analysé par IHC (Immunohistochimie) et FISH (*Fluorescence In Situ Hybridization*). La perte de l'expression de *PTEN* visible en IHC, présente dans 18 % des cas (675 patients), est associée à une élévation de la mortalité spécifique du cancer. Cependant les auteurs n'ont retrouvé qu'une faible association entre les données de FISH et d'IHC. Le statut de *PTEN* obtenu suite à l'analyse des données de FISH ne semble pas associé à la mortalité des patients (Cuzick et al., 2013). Une récente méta-analyse a pourtant confirmé en IHC l'association entre la perte d'expression de *PTEN* et la récurrence biochimique des patients (Xie et al., 2017). De même, une étude IHC de *PTEN* sur des échantillons FFPE de prostatectomies montre qu'une faible expression de *PTEN* est associée avec un risque accru de développer une pathologie métastatique et une diminution de la survie totale. L'ajout des données cliniques du patient augmente la valeur du modèle pour la prédiction de la survenue de pathologie métastatique à 10 ans (Hamid et al., 2018). Enfin, la perte d'expression de *PTEN* est également associée à une diminution de la survie des patients atteints de mCRPC (*metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer*) avancé traités par acétate d'abiratéron post-docetaxel (Ferraldeschi et al., 2015). L'étude histologique de la perte d'expression de *PTEN* n'est pour autant pas utilisée et n'est pas recommandée pour la clinique.

e. Cellules tumorales circulantes

i. CellSearch

Concernant le pronostic et le suivi des patients lors du traitement, la recherche des cellules tumorales circulantes (CTC) chez les patients apparaît comme un test novateur et prometteur. A l'heure actuelle, seul le test CellSearch® développé par Janssen Diagnostic est approuvé par la FDA pour la recherche des CTC chez les patients métastatiques des cancers du sein, de la prostate et colorectal. Il s'agit du seul test sur CTC approuvé par la FDA.

A partir d'un échantillon sanguin, la numération des CTC d'origine épithéliale sera réalisée après capture des CTC grâce à des billes magnétiques couplées à l'anticorps EpCAM et au tri de ces dernières sur les critères d'absence du marqueur de cellules immunitaires CD45, de

présence de marqueurs épithéliaux (CK8/18⁺ ou CK19⁺) et d'un noyau (DAPI). Sur un échantillon sanguin de 7.5 mL, un nombre de CTC < 5 est considéré comme favorable et non favorable lorsque ce nombre est ≥ 5. Ce test présente un intérêt pronostique pour le CRPC mais le suivi des CTC avant et après traitement pourrait également prédire la survie des patients (Bono et al., 2008).

ii. Oncotype DX® AR-V7 Nucleus Detect

Concernant les patients mCRPC, un nouveau test sanguin, Oncotype DX® AR-V7 Nucleus Detect (Genomic Health) repose sur la détection nucléaire du variant V7 de AR (AR-V7) au sein des CTC, dont la présence est associée à la résistance aux ARSi (*AR Signaling inhibitors* ; enzalutamide et acétate d'abiratéronne) (Antonarakis et al., 2014). Ce test permettrait de distinguer les patients négatifs, susceptibles de répondre aux ARSi, de ceux positifs qui seraient potentiellement non répondeurs et qu'il serait préférable de les traiter par chimiothérapie ou autres (Scher et al., 2016). Concernant les patients AR-V7 négatif, il a été relevé une meilleure survie sous ARSi que sous chimiothérapie (19.8 *versus* 12.8 mois). Ainsi la localisation nucléaire de AR-V7 dans les CTC aurait une valeur prédictive sur la pertinence du traitement des patients mCRPC (Scher et al., 2018). La localisation autre que nucléaire de AR-V7 n'a pas été prise en compte dans l'étude.

L'essai clinique PROPHECY est actuellement en cours (NCT02269982), mais des premiers résultats ont été présentés à l'ASCO 2018. L'analyse comparée des biomarqueurs des CTC a été faite selon 3 techniques : le test AdnaTest de Johns Hopkins, le test Oncotype DX® AR-V7 Nucleus Detect de EPIC Sciences, et un troisième test sur CTC développé par le Weill Cornell, basé sur la technique de ddPCR (*digital-droplet PCR*). Des échantillons sanguins de patients mCRPC chimio-naïfs ont été collectés avant traitement, pendant la progression de la maladie sous ARSi, puis pendant la progression sous chimiothérapie (taxanes). La concordance entre AdnaTest et Oncotype DX® AR-V7 Nucleus Detect est de 82 %. L'hétérogénéité de la présence de AR-V7 (63 % des patients positifs et 14 % négatifs) dans les CTC peut s'expliquer par l'existence d'un sous-groupe agressif de tumeurs CRPC AR^{low/-}. Cette étude valide pour l'instant la détection de AR-V7 dans les CTC et son association avec une diminution de la survie sans récurrence et de la survie totale des patients sous ARSi. Cependant la présence d'autres altérations géniques (gain de *AR*, *MYCN*, *MYC* ou perte de *PTEN*, *TP53*, et enzymes de réparation de l'ADN) pourrait également être associée à l'agressivité (Armstrong et al., 2018).

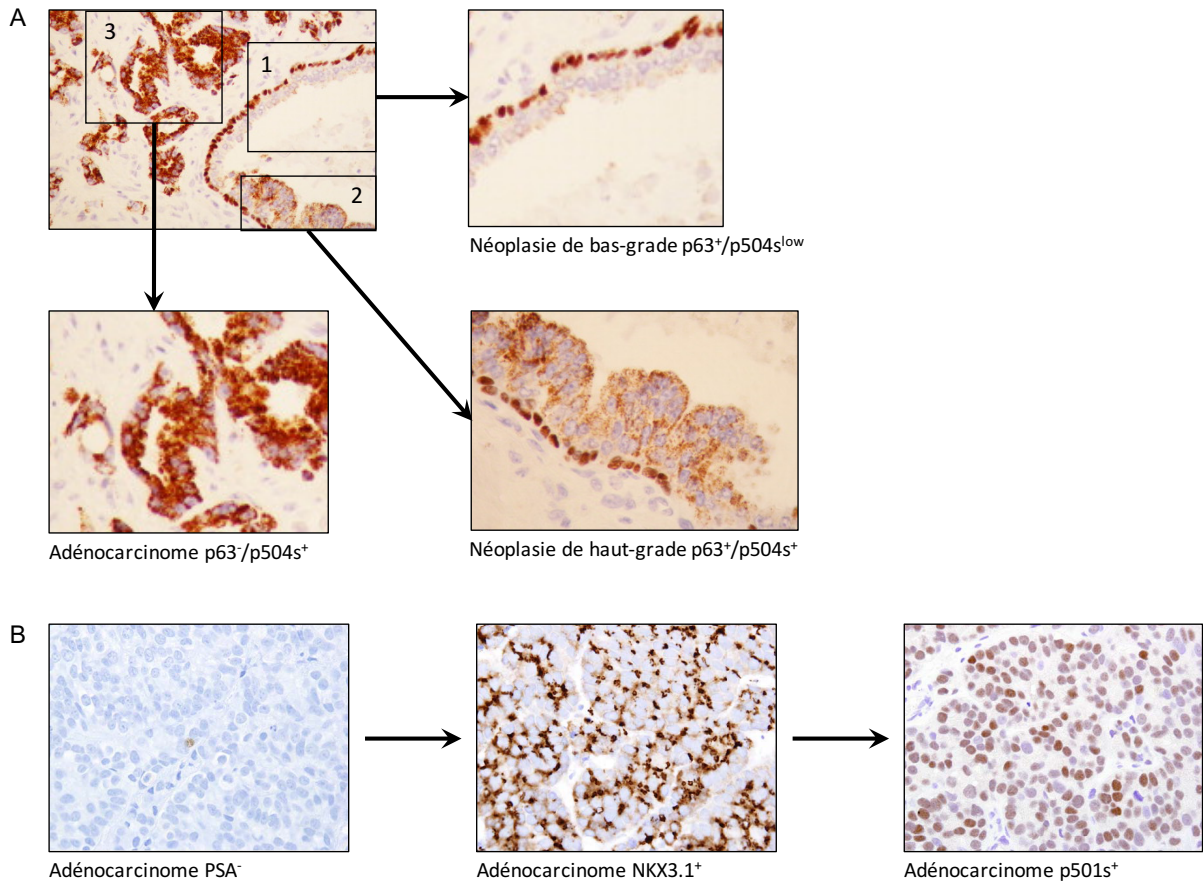


FIGURE 7 | DETECTION IMMUNOHISTOCHIMIQUE DES MARQUEURS P63 ET P504S

(A) Le marquage nucléaire p63 révèle la présence de cellules basales ; l'anticorps dirigé contre la racémase (anti-AMACR/p504s) révèle un marquage cytoplasmique. L'utilisation combinée des anticorps dirigés contre p63 et p504s permet, en cas d'interprétation difficile des analyses histologiques, de distinguer le tissu sain $p63^+/p504s^-$, des lésions néoplasiques $p63^+/p504s^+$ et des lésions tumorales $p63^-/p504s^+$. *Modifié d'après (Molinié et al., 2008)*. (B) Le même adénocarcinome prostatique, négatif pour le marquage PSA, se révèle être positif pour les marquages NKX3.1 et p501s. *Modifié d'après (Epstein et al., 2014)*.

3. Anatomopathologie

Si un patient est suspecté de présenter un cancer de la prostate, suite à un TR anormal, un taux du PSA élevé et la présence de critère de risques, une biopsie écho-guidée, qui est désormais l'approche standard, sera réalisée. Les approches périnéale et transrectale sont considérées comme équivalentes. La biopsie doit être bilatérale, réalisée de l'apex vers la base et de latéral à postérieur autant que possible dans la zone périphérique. Le nombre de prélèvements recommandés est de 10 à 12. La taille et la longueur du prélèvement influe aussi sur le taux de détection. Une biopsie peut être répétée si la première biopsie est négative mais que le patient présente des signes de progression, ou si la suspicion persiste. La technique de biopsie de saturation (> 20 carottes) est plus sensible mais présente plus de risques (de rétention urinaire notamment) ; elle sera réservée à des cas spécifiques. Une biopsie des vésicules séminales et de la zone de transition peut également être réalisée au besoin. Le tissu collecté suite à la biopsie sera inclus en paraffine et analysé en histologie par un anatomopathologiste.

a. Analyse histologique

L'analyse anatomopathologique est réalisée sur une coupe FFPE préparée à partir des prélèvements obtenus par biopsie ou sur la pièce de prostatectomie, après coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (safran). Différentes conclusions peuvent être rendues :

- Lésion bénigne ou négative ;
- Inflammation active ;
- Inflammation granulomateuse ;
- PIN (Prostate Intraepithelial Neoplasia) de haut-grade ;
- PIN de haut-grade avec glande atypique, suspicion d'adénocarcinome (PINATYP) ;
- Glande atypique, lésions suspectant un adénocarcinome, petite prolifération acinaire atypique (ASAP), suspicion de cancer ;
- Adénocarcinome en précisant le type histologique, le groupe de gradation, et en cas d'extension extra-capsulaire, l'infiltration péri-nerveuse, l'invasion vasculaire.

En cas de doute sur la présence de néoplasie, en cas de lésion suspecte, ou tout simplement pour affiner le diagnostic, l'anatomopathologiste peut réaliser une détection par immunohistochimie des marqueurs p63 (marqueur des cellules basales) et p504s (AMACR, racémase) pour lui permettre de distinguer les lésions bénignes (p63+/p504s-) des néoplasies (p63+/p504s+) et des adénocarcinomes (p63-/p504s+) (Figure 7A) (Molinié et al., 2008). D'autres marqueurs peuvent également être utilisés en immunohistochimie, comme le PSA, PAP (*Prostate Acid Phosphatase*), p501s (*prostein*) ou NKX3.1. L'utilisation d'anticorps dirigés contre NKX3.1

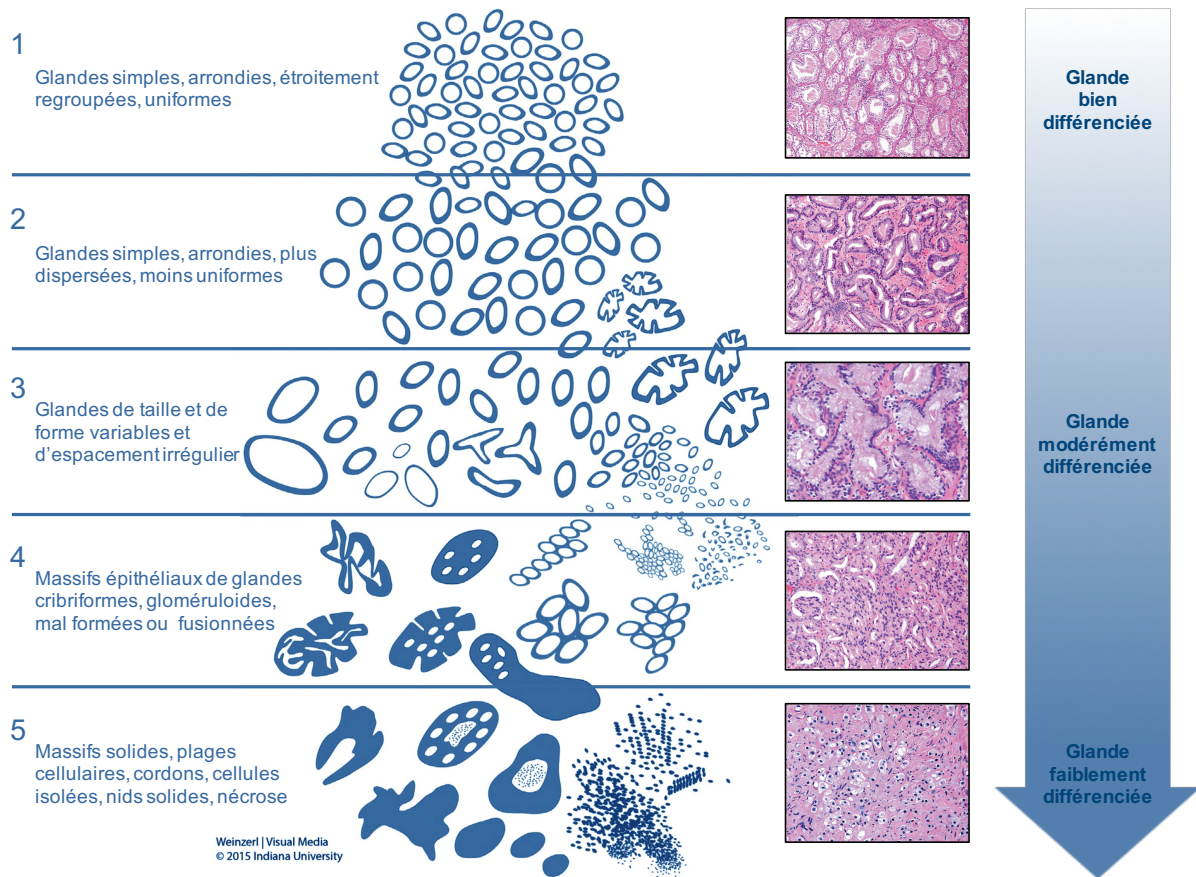


FIGURE 8 | SCORE DE GLEASON

Ce schéma reprend la nouvelle représentation de la classification de Gleason proposée par la conférence de consensus de l'ISUP en 2014 et validée par le WHO lors de l'édition 2016 de la classification des tumeurs. *Modifié d'après (Humphrey et al., 2016).*

ou p501s peut être particulièrement intéressante devant des lésions qui peuvent faiblement exprimer PSA ou PAP, notamment dans les cancers peu différenciés et les métastases, ou après privation androgénique, p501s ne diminuant pas avec l'hormonothérapie (Figure 7B) (Epstein et al., 2014).

b. Gradation des lésions

Afin de grader les lésions tumorales, un score histopronostique (score de Gleason) sera déterminé sur la base de la structuration tissulaire de la glande prostatique selon l'état de différenciation de la tumeur après une coloration hématoxyline et éosine. L'anatomopathologiste classe de 1 (architecture différenciée) à 5 (dédiérenciée) les lésions retrouvées sur les biopsies (Figure 8) (Humphrey et al., 2016). La somme des deux lésions les plus représentées correspond au score de Gleason.

Ces dernières années, le WHO et l'ISUP tendent à changer la classification du cancer de la prostate du score de Gleason vers des groupes de gradation numérotés de 1 à 5 (Epstein et al., 2016). Initialement décrit en 2013 par une étude de l'hôpital Johns Hopkins, l'ISUP a revu et adopté ce nouveau système de gradation des tumeurs basé sur le score de Gleason en 2014 :

- Groupe de grade 1 : \leq Gleason 6 ;
- Groupe de grade 2 : Gleason 7 (3+4) ;
- Groupe de grade 3 : Gleason 7 (4+3) ;
- Groupe de grade 4 : Gleason 8 (4+4, 3+5 et 5+3) ;
- Groupe de grade 5 : Gleason 9 et 10.

Parmi les avantages de ce système, on note une meilleure prise en compte de la réalité clinique des cancers les moins agressifs. L'échelle du score histopronostique va possiblement de 2 à 10, contre 5 désormais. Cependant, ces dernières années, les anatomopathologistes n'assignaient que rarement des scores 2-5, et on commence généralement à compter les lésions tumorales à 3+3 (6). Désormais, le grade 1 (Gleason \leq 6) regroupe dans une même catégorie les cancers les moins agressifs dont l'orientation du traitement sera la même. Un autre problème posé par l'ancienne classification était l'hétérogénéité du Gleason 7 (3+4 ou 4+3) en termes d'histologie et de potentiel d'agressivité. En effet, le score 3+4 a un meilleur pronostic que le 4+3, dont les lésions peu différenciées (4) sont le plus représentées. La distinction entre le grade 2 (3+4) et le grade 3 (4+3) permettra d'influencer les stratégies de traitement notamment concernant les patients sous RT (*Radiation Therapy*). De la même façon, les Gleason 8 et 9, classiquement regroupés ensemble sous le terme de lésions de haut grade, ont pour autant des valeurs

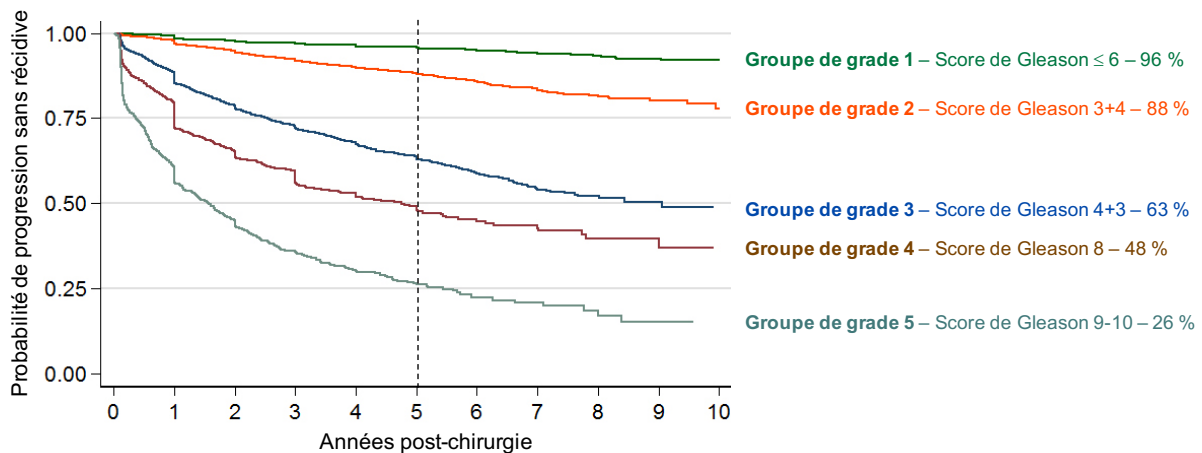


FIGURE 9 | GROUPES DE GRADE ET PRONOSTICS ASSOCIES

Analyse à 10 ans de la progression des tumeurs prostatiques sans récurrence biochimique après prostatectomie déterminée d'après l'étude de près de 21.000 cas. Le groupe de grade 1 correspond à la présence de glandes individuelles, discrètes et bien délimitées. Le groupe de grade 2 comprend de façon prédominante des glandes individuelles, discrètes et bien délimitées et de façon moindre, des glandes faiblement délimitées, fusionnées ou cribriformes. Le groupe de grade 3 comprend de façon prédominante des glandes faiblement délimitées, fusionnées ou cribriformes et de façon moindre des glandes bien délimitées. Le groupe de grade 4 correspond à des glandes faiblement délimitées, fusionnées ou cribriformes ou à des glandes bien formées présentes de façon prédominante avec une moindre représentation d'absence de glandes ou à une absence de glandes de façon prédominante avec une moindre représentation de glandes bien formées. Le groupe de grade 5 correspond à une absence de glandes, ou à la présence de nécrose avec ou non présence de glandes faiblement délimitées, fusionnées ou cribriformes. Selon le groupe de grade assigné aux lésions, on note très clairement un pronostic graduellement défavorable pour les tumeurs gradées de 1 à 5. Ces groupes de grades sont ainsi plus précis que les précédents grades de Gleason ≤ 6 , 7, 8-10. *Modifié d'après (Epstein et al., 2016).*

pronostiques différentes et seront classifiés dans des groupes de grades différents (4 et 5 respectivement). Ce nouveau système de gradation présente l'avantage d'être de meilleure valeur pronostique et a été validé sur des cohortes de patients traités par chirurgie ou par RT (Figure 9) (Epstein et al., 2016) (Berney et al., 2016).

4. Imagerie

L'imagerie a également un rôle à jouer dans la classification des tumeurs. En effet, lorsque sur une suspicion de cancer de la prostate les biopsies se révèlent être positives, un bilan d'extension par imagerie sera par la suite réalisé. Le bilan d'extension vise à déterminer la localisation exacte de la tumeur, ses limites et un possible envahissement local (au niveau de la « capsule », de l'urètre, du col vésical et/ou des vésicules), puis à évaluer l'extension aux ganglions pelviens, ou à distance.

a. Échographie

L'échographie n'est que peu sensible et peu spécifique, elle n'est donc pas indiquée pour un bilan d'extension. Son usage sera limité pour l'évaluation du volume prostatique, et la réalisation des biopsies.

b. IRM (Imagerie à Rayonnement Magnétique)

La technique d'imagerie recommandée pour la réalisation du bilan d'extension est l'IRM. Elle donne les meilleures informations concernant l'extension extra-prostatique mais n'est pas assez sensible pour justifier une utilisation en routine, hormis pour les lésions à haut risque. En effet, la sensibilité est très bonne pour les scores de Gleason ≥ 7 mais les cancers de faible agressivité ou de petites tailles sont plus difficiles à détecter. L'IRM peut aussi avoir un intérêt avant la réalisation d'une biopsie, dite alors biopsie ciblée. Ceci permet de détecter plus de lésions significatives, et ainsi d'avoir un taux de détection plus élevé. En routine, peu d'arguments justifient son utilisation avant une première biopsie mais plutôt avant une seconde série de biopsies, quand la première s'est révélée peu concluante ou négative.

La tomodensitométrie (scanner à rayon X) ou l'IRM du pelvis sont très souvent utilisées pour évaluer l'atteinte ganglionnaire locorégionale mais ces deux techniques montrent des limites concernant leur sensibilité. Elles viseront à visualiser une élévation du diamètre des ganglions, à condition qu'ils présentent une taille conséquente, et une forme plutôt ronde qu'ovale.

Concernant la recherche de métastases à distance, l'IRM corps entier montre une meilleure sensibilité que la tomoscintigraphie mais cette technique est moins spécifique, notamment pour les métastases osseuses.

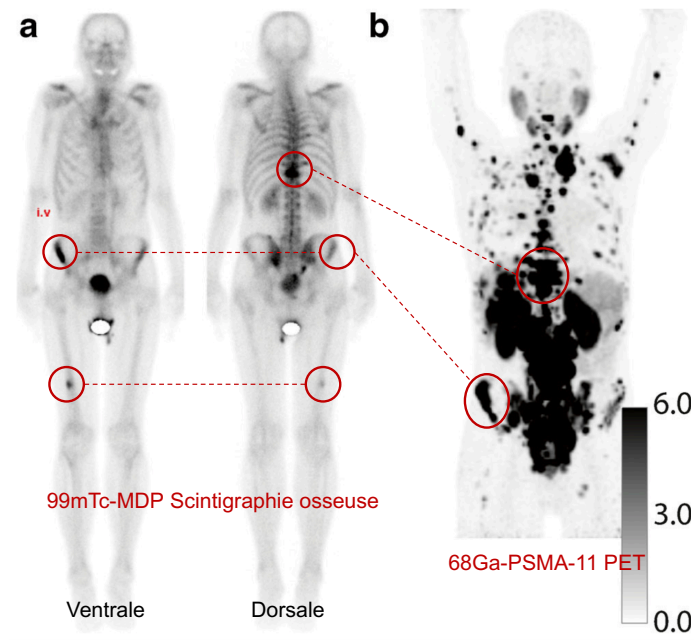


FIGURE 10 | APPORT DE L'IMAGERIE 68GA-PSMA SCAN DANS L'IMAGERIE DES METASTASES OSSEUSES

Exemple de la différence de sensibilité du PET scan au 68Ga-PSMA (b) par rapport à la scintigraphie (99mTc-MDP) (a) pour la détection de métastases osseuses chez un même patient mCRPC de 67 ans sous hormonothérapie. Le PET scan (b) révèle de nombreuses métastases au niveau du pelvis, de la colonne vertébrale, de la cage thoracique, des membres supérieurs ainsi qu'une atteinte ganglionnaire à distance. *Modifié d'après (Pyka et al., 2016).*

c. Tomodensitométrie (scan) et scintigraphie

Il existe des techniques d'imagerie visant à visualiser spécifiquement les atteintes osseuses. Parmi elles, la scintigraphie osseuse utilise un radiopharmaceutique ayant une affinité particulière pour les lésions osseuses, le méthylène diphosphonate marqué au technécium 99 (^{99m}Tc -MDP). Malgré une bonne spécificité, cette technique présente une sensibilité faible et donne des images de faible qualité. C'est pourquoi on préférera aujourd'hui le SPECT (*Single Photon Emission Computed Tomography*) ou la tomoscintigraphie qui combine les images du scanner osseux avec les données de la scintigraphie. Elle ne détectera cependant de façon significative que les lésions chez des patients avec un taux du PSA > 20 ng/mL ; ou les patients à haut risque. Concernant la recherche des métastases osseuses à distance, le scanner osseux reste la technique la plus utilisée même si elle reste peu spécifique. Il sera préféré chez les patients à risque intermédiaire et à haut risque. Le scanner thoraco-abdominopelvien sera utilisé pour rechercher des lésions des tissus mous.

Peu de techniques « classiques » présentent une assez bonne sensibilité et une bonne spécificité pour déterminer avec suffisamment de précision et de certitude une atteinte ganglionnaire et/ou la présence de métastases osseuses. D'où l'intérêt aujourd'hui de développer de nouvelles techniques d'imagerie.

d. Tomographie par émission de positons (TEP scan)

Le TEP scan repose sur le même principe que la tomoscintigraphie, à savoir l'utilisation couplée d'un scanner et d'un radiopharmaceutique cherchant ici à visualiser le métabolisme des cellules tumorales. Il s'agit donc d'une technique dite d'imagerie fonctionnelle. L'utilisation de traceurs radioactifs spécifiques des tumeurs, permet de repérer avec plus de spécificité les lésions tumorales au scanner. Parmi eux, le ^{18}F -FDG (^{18}F -fluoro-déoxy-glucose) n'est pas indiqué pour les patients atteints de cancer de la prostate, car ce type de tumeur ne présente que peu d'affinité pour le glucose. La ^{18}F -choline peut être utilisée pour l'analyse des ganglions pelviens et des métastases osseuses. Elle présente une bonne spécificité mais est peu sensible pour les ganglions de petite taille, inférieurs à 5 mm. Elle sera d'autant plus efficace couplée à l'IRM. Cependant, le manque de données cliniques et la disparité des résultats obtenus conduisent à ne pas recommander l'usage de cette technique pour la recherche de métastases.

Concernant les métastases osseuses, le TEP-scan au ^{18}F -Na, un traceur osseux, est une technique plus sensible mais de faible spécificité. Elle ne permet pas de détecter les métastases des tissus mous. Le TEP scan au ^{18}F -Na semble équivalent à la scintigraphie et n'est pas recommandée pour la réalisation des bilans d'extension du cancer de la prostate.

Catégories	Critères
Clinique (cT)	
Catégorie T	
TX	Tumeur primaire non évaluée
T0	Pas de preuves de tumeur primaire
T1	Tumeur non apparente cliniquement, non détectable au TR
T1a	Tumeur occupant moins de 5% du tissu réséqué
T1b	Tumeur occupant plus de 5% du tissu réséqué
T1c	Tumeur identifiée par biopsie à l'aiguille, unilatérale ou bilatérale, mais non palpable
T2	Tumeur palpable et confinée à la prostate
T2a	Tumeur atteignant la moitié d'un lobe ou moins
T2b	Tumeur atteignant plus de la moitié d'un lobe mais pas les deux lobes
T2c	Tumeur atteignant les deux lobes
T3	Extension extra-prostatique de la tumeur non fixée ou qui n'a pas envahie de structures adjacentes
T3a	Extension extra-prostatique (unilatérale ou bilatérale)
T3b	Tumeur envahissant les vésicules séminales
T4	Tumeur fixée ou envahissant les structures adjacentes autres que les vésicules séminales, telles que le sphincter externe, le rectum, la vessie, le muscle élévateur et/ou la paroi pelvienne
Pathologie (T)	
Catégorie T	
T2	Tumeur limitée à la prostate
T3	Extension extra-prostatique
T3a	Extension extra-prostatique (unilatérale ou bilatérale) ou invasion microscopique du col vésical
T3b	Tumeur envahissant les vésicules séminales
T4	Tumeur fixée ou envahissant les structures adjacentes autres que les vésicules séminales, telles que le sphincter externe, le rectum, la vessie, le muscle élévateur et/ou la paroi pelvienne
Catégorie N	
NX	Ganglions régionaux non évalués
N0	Absence de métastase ganglionnaire régionale
N1	Atteinte ganglionnaire régionale
Catégorie M	
MX	Métastases à distance non évaluées
M0	Absence de métastases à distance
M1	Présence de métastases à distance
M1a	Ganglions lymphatiques non régionaux
M1b	Os
M1c	Autres sites avec ou sans atteinte osseuse

FIGURE 11 | CLASSIFICATION TNM DU CANCER DE LA PROSTATE

Classification TNM selon la révision 2016 de l'AJCC. *Issu de (Brierley et al., 2017).*

Récemment, un nouveau radiopharmaceutique, spécifique du cancer de la prostate, a été développé. Il repose sur l'utilisation du PSMA (*Prostate-Specific Membrane Antigen*), une protéine membranaire des cellules épithéliales prostatiques, couplée à un isotope du gallium. Le PSMA-Ga68 montre une meilleure sensibilité que la 18F-choline. Une récente méta-analyse a effectivement confirmé la meilleure sensibilité de cette technique pour la détection précoce et précise des métastases ganglionnaires et osseuses (Perera et al., 2019). Les études cliniques sont toujours en cours pour déterminer son efficacité mais il apparaît que cette technique devrait devenir un outil clé pour le bilan d'extension des cancers de la prostate (Figure 10).

Le premier intérêt de ces nouvelles techniques d'imagerie est d'avoir des images plus sensibles et ainsi d'espérer mieux diagnostiquer les cancers oligométastatiques. Les définitions diffèrent mais le cancer oligométastatique constitue un relais intermédiaire entre les patients M0 (avec un cancer localisé) et M1 (avec un cancer métastatique), avec possiblement la présence de métastases non diagnostiquées. L'intérêt est pour ces patients de traiter la tumeur localement mais peut être aussi de bénéficier d'un traitement local des oligométastases.

5. Classification des stades du cancer de la prostate

L'intérêt de classer les tumeurs selon leurs caractéristiques biochimiques, histologiques, et leur progression est de pouvoir regrouper les patients au sein d'un même groupe de tableau clinique équivalent et ainsi d'aiguiller leur prise en charge selon les connaissances actuelles de la médecine sur les risques et les chances de réussite des traitements existants.

a. Classification TNM (AJCC)

La classification TNM (*Tumor, Node, Metastasis*) des cancers est un système international de classification des tumeurs qui rend compte du stade d'avancement du cancer. La classification la plus utilisée est celle émise par l'AJCC (*American Joint Committee on Cancer*) dont la dernière mise à jour est effective depuis janvier 2018. Cette classification doit être là d'une part pour assister le clinicien quant à la décision de traitement et d'autre part comme un indicateur pronostic. Elle s'intéresse à la progression locale de la tumeur (T), à l'infiltration ganglionnaire (N) et à la présence ou non de métastases à distance (M). A chaque lettre est associée un coefficient, correspondant à différentes intensités des atteintes (Figure 11).

i. Tumeur

Le cancer de la prostate n'apparaît pas de façon uniforme dans la glande. Il est souvent multifocal, et les lésions sont principalement issues de la zone périphérique (dans 80 à 85 % des cas), puis de la zone de transition (10 à 15 %) et rarement de la zone centrale (5 à 10 %).

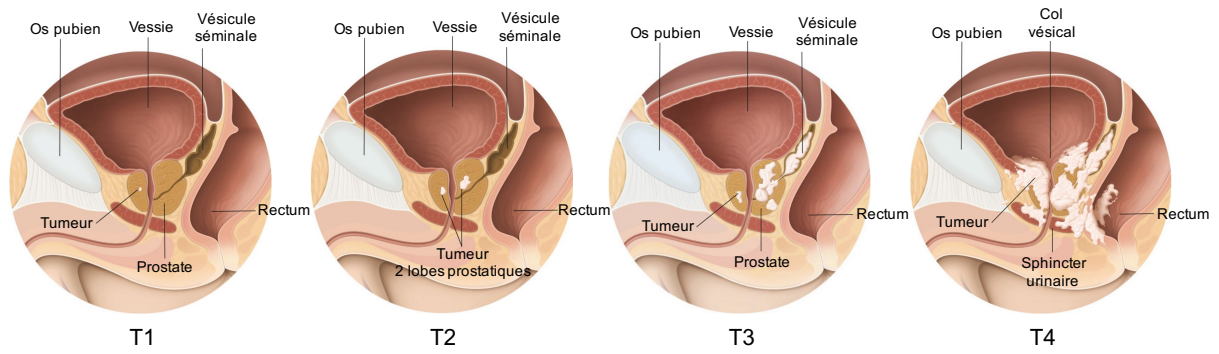


FIGURE 12 | CLASSIFICATION TNM : EXTENSION LOCALE DE LA TUMEUR

Lorsque la tumeur est non palpable et non visible en imagerie, elle est classée en T1. Le T2 correspond à une localisation limitée à la prostate. Si la tumeur est extra-prostatique, a atteint la capsule voire les vésicules séminales, elle est considérée comme T3. Enfin, lorsque la tumeur a atteint le col vésical, le sphincter urinaire ou le rectum, elle est classée en T4. *Modifié d'après EAU 2017, patient.uroweb.*

Concernant la classification de la tumeur, elle est subdivisée en deux catégories : la catégorie cT qui tient compte des données cliniques du patient (TR, dosage du PSA, biopsie(s) et imagerie(s)) et la catégorie pT qui est déterminée selon les données pathologiques, obtenues suite à l'analyse des pièces opératoires de prostatectomies. La catégorie cT1 regroupe les tumeurs intra-prostatiques non visualisable ou non palpable au TR. La catégorie T2 répertorie les tumeurs confinées à la glande. La catégorie pT2 n'est plus subdivisée sur la base de la bilatéralité, ni de l'extension des lésions et ne tient pas compte de l'imagerie car il n'a pas été trouvé de consensus quant à la reproductibilité et l'interprétation des données et que ceci ne reflétait aucune réalité pronostique. Dans la nouvelle mise à jour est par contre conservée la sous-classification cT, déterminée par le TR, car il reste important pour la détermination du risque et la prise en charge des tumeurs localisées. L'observation de la « capsule », la couche fibromusculaire condensée délimitant la prostate, permet de définir la présence d'une extension extra-prostatique, classée en T3, ou en T4 en cas d'invasion des tissus adjacents (Figure 12).

ii. *Node* (ganglion)

Le « N » de la classification correspond à l'atteinte, ou non, des ganglions lymphatiques régionaux, à savoir ceux de la cavité pelvienne (iliaques externes avec le ganglion obturateur drainant la prostate, iliaques internes ou hypogastrique, et sacraux). Il s'agit d'une invasion de la tumeur à distance, suite à la migration des cellules tumorales via la circulation lymphatique, mais qui n'est pas considérée comme une métastase.

iii. Métastases

Les métastases peuvent toucher les ganglions lymphatiques à distance (iliaques communs, inguinaux, aortiques, mésentériques, cervical, scalène, supraclaviculaire notamment). L'os reste le site de métastases préférentiel chez l'homme (près de 90 % des cas), avec des lésions plutôt ostéoblastiques qu'ostéolytiques. Selon une étude sur autopsie, les sites préférentiels du cancer de la prostate sont après l'os, le poumon et le foie (Figure 13) (Bubendorf et al., 2000). Une autre étude a analysé les sites de métastases du cancer de la prostate avec des chiffres différents : os (83%), ganglions distants (7%), foie (3%), thorax (2.6%), cerveau (1%), système digestif (1.6%), rétropéritone (0.9%), rein et glande surrénale (0.3%) (Gandaglia et al., 2014). De façon intéressante, les auteurs s'interrogent aussi sur les sites touchés chez les patients sans atteintes osseuses. En effet, concernant ces patients, 42 % ont des métastases sur les ganglions à distance, 24% au niveau du foie, 21% pour le thorax, 11% dans le système digestif, 7% dans le cerveau, 6.5% dans le rétropéritone et 3% dans le rein et les surrénales. Ainsi, plus de 15 %

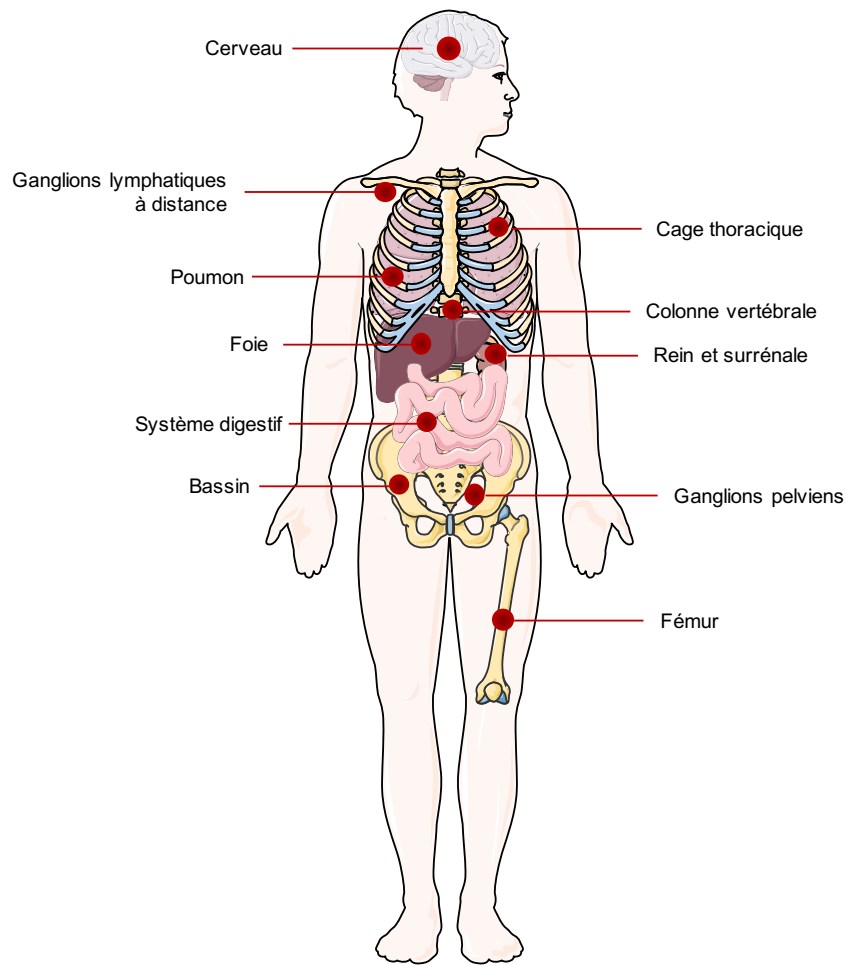


FIGURE 13 | LOCALISATION DES SITES METASTATIQUES

Le cancer de la prostate dissémine dans un premier temps de façon locorégionale, au niveau de la zone pelvienne. Le principal site de dissémination métastatique du cancer de la prostate est l'os dans près de 90 % des cas. Pour autant, les poumons, le foie, le système digestif, le cerveau et le rein et les surrénales peuvent constituer d'autres sites de localisation des métastases prostatiques.

des patients présentent des métastases non osseuses, et pour les patients avec des atteintes osseuses, plus de 20% d'entre eux ont également des métastases ailleurs.

De plus, la localisation des métastases influe sur la survie des patients. En effet, dans une étude réalisée sur près de 9000 patients mCRPC sous traitement par docetaxel, la plupart (72.8 %) présentait des métastases osseuses, 20.8 % des métastases viscérales et 6.4 % des métastases ne touchant que les ganglions lymphatiques. Alors que la survie totale des patients avec des métastases osseuses, non viscérales est de 21.3 mois, la présence de métastases viscérales réduit significativement la survie totale des patients (13.5 mois en cas de métastases hépatiques et 19.4 mois si présence de métastases pulmonaires). A l'inverse, la présence de métastases restreintes aux ganglions est associée à une meilleure survie totale avec une médiane de 31.6 mois (Halabi et al., 2016).

b. Groupe de stadification

La classification des tumeurs localisées en groupes de risques de progression est basée sur la classification d'Amico. L'EAU en présente dans ses recommandations 2016 de la prise en charge du cancer de la prostate une version modifiée (Mottet et al., 2017) :

	Faible risque	Risque intermédiaire	Haut risque	
Définition	PSA < 10 ng/mL et Gleason < 7 et cT1-2a	PSA 10 - 20 ng/mL ou Gleason 7 ou cT2b	PSA > 20 ng/mL ou Gleason > 7 ou cT2c	Peu importe PSA Peu importe Gleason cT3-4 ou cN1
	Localisé			Localement avancé

Dans la même logique, l'AJCC propose une stadification des tumeurs correspondant à des groupes pronostic. Cette classification prend en compte la biochimie (PSA), la détermination de la classification TNM puis du groupe de gradation (score de Gleason) pour donner 4 groupes de stadification notés de I à IV comme suit :

Stade	T	N	M	PSA (ng/mL)	Groupe de gradation
Stade I	cT1, cT2a, pT2	N0	M0	< 10 ng/mL	1
Stade IIa	cT1, cT2a cT2b-c	N0	M0	≥ 10 et < 20	1
		N0	M0	< 20	1
Stade IIb	T1-2	N0	M0	< 20	2
Stade IIc	T1-2	N0	M0	< 20	3-4
Stade IIIa	T3, T4	N0	M0	≥ 20	1-4
Stade IIIb	T1-2	N0	M0	Peu importe	1-4
Stade IIIc	T3-4	N0	M0	Peu importe	5
Stade IVa	Peu importe	N1	M0	Peu importe	Peu importe
Stade IVb	Peu importe	N0-1	M1	Peu importe	Peu importe

Les apports importants de la médecine personnalisée ont encouragé les révisions récentes de la classification des tumeurs prostatiques (AJCC 2017 8th edition) sur la base de facteurs non anatomiques pour définir des groupes pronostic. En effet sans ces facteurs non anatomiques, la gradation perd en pertinence clinique pour les cancers localisés. Parmi les changements importants de l'édition 2017 de classification des cancers de l'AJCC, on note l'inclusion de modèles de prédictions statistiques des risques. Les modèles de risques parus dans la littérature entre janvier 2011 et décembre 2015 ont été analysés mais seulement 2/15 ont été retenus par l'AJCC comme correspondant aux critères d'inclusion et d'exclusion. Ces modèles reposent sur des essais de phase III sur des patients mCRPC (Buyyounouski et al., 2017).

C. Traitements du cancer de la prostate

1. Traitement différé

L'adénocarcinome est la forme majoritaire du cancer de la prostate, qui progresse lentement. Certains cancers de la prostate ont une période de latence supérieure à 15 ou 20 ans. Dans les faits, ils sont histologiquement présents mais les patients ne présentent que peu ou pas de signes de la pathologie. Seulement 5 à 10 % de patients avec un cancer de la prostate de bas grade vont faire l'expérience d'une progression de leur pathologie dans les 10 ans suivant le diagnostic (Albertsen, 2015). Comme le cancer de la prostate est une pathologie latente, et que les patients ont un âge avancé au moment du diagnostic (> 70 ans), il est maintenant discuté de proposer un traitement différé dans le but de ne pas affecter la qualité de vie du patient et de prévenir le sur-traitement.

a. Abstention-surveillance

Quand l'espérance de vie est inférieure à 10 ans, à n'importe quel stade de la pathologie, mais principalement pour les pathologies localisées, l'abstention surveillance (*watchful waiting*) peut être envisagée comme traitement à visée palliative, guidée par les symptômes du patient.

b. Surveillance active

Le traitement différé consiste en la surveillance active du patient (à visée curative) seulement pour les patients avec un cancer de la prostate à faible risque et une espérance de vie > 10 ans, qui seront alors sous surveillance rapprochée.

2. Traitement local et loco-régional

Environ 80 % des hommes avec un cancer de la prostate présentent une pathologie localisée (Siegel et al., 2016). Pour les pathologies localisées ou localement avancées, le choix du traitement est dépendant du risque de progression de la tumeur, de l'espérance de vie, et doit se

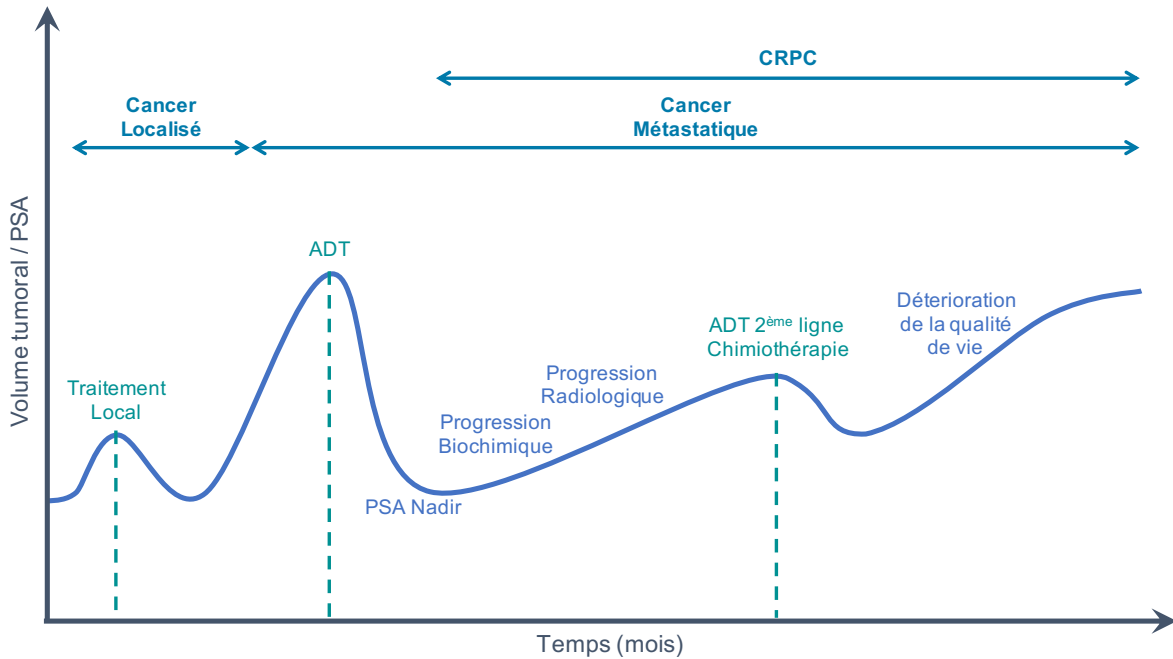


FIGURE 14 | PROGRESSION DU CANCER DE LA PROSTATE ET TRAITEMENTS

Le cancer de la prostate est une pathologie vouée à évoluer au fil des vagues de traitements et de rechutes du patient. Lorsque la tumeur est confinée à la prostate ou ne présente qu'une extension locorégionale, le traitement local visera à réduire l'extension et le volume de la tumeur. En cas de rechute et de dissémination métastatique, le traitement de première ligne sera alors l'hormonothérapie. Si la tumeur devient androgéno-indépendante (CRPC), la rechute du patient sera traitée par hormonothérapie de 2^{ème} ligne, ou ARSi, ou par chimiothérapie.

faire en accord avec le choix du patient. D'après les recommandations de l'EAU, la prostatectomie totale doit être proposée aux patients de faible à haut risque de progression avec une pathologie localisée, si leur espérance de vie est supérieure à 10 ans. La radiothérapie est une option souhaitable pour les cancers à faible risque, et devrait être utilisée en combinaison avec l'hormonothérapie pour les formes intermédiaires ou à haut risque de progression ainsi que pour les formes localement avancées (Figure 14).

a. Prostatectomie totale

La prostatectomie totale reste le traitement de référence du cancer de la prostate localisé. Elle consiste à retirer entièrement la glande et les vésicules séminales, tout en conservant des marges d'exérèse négatives. Cette procédure est souvent complétée par la dissection des ganglions pelviens bilatéraux. Il n'y a pas d'âge pour réaliser cette chirurgie, mais ce sont les patients avec une espérance de vie supérieure à 10 ans qui en retirent le plus grand bénéfice sur la survie globale. La préservation nerveuse, pour les patients à faible risque de pathologie extra-prostatique, peut être effectuée dans un désir de conservation des fonctions érectiles. Concernant les patients présentant une pathologie déjà avancée localement, la prostatectomie a longtemps été découragée en raison du risque de marges chirurgicales positives, et d'atteinte probable des ganglions loco-régionaux. Cependant, la radiothérapie adjuvante, en cas d'extension prostatique, ou l'hormonothérapie en cas d'atteinte ganglionnaire locale, peuvent être bénéfiques en complément de la prostatectomie.

b. Radiothérapie

i. Radiothérapie externe

L'IMRT (*Intensity Modulated Radiation Therapy*) est la technique de choix pour la radiothérapie externe. Elle permet de moduler l'intensité des rayonnements avec une escalade de dose possible (de 74 à 80 Gy par rapport à 65 à 70 Gy pour une dose conventionnelle), avec une augmentation de la survie sans récurrence biochimique à 5 ans. La radiothérapie peut être proposée aux patients de tous les groupes de risques ne présentant pas de métastases. Elle peut être réalisée en combinaison avec l'hormonothérapie pour les patients localement avancés ou présentant une atteinte ganglionnaire.

Concernant les patients métastatiques, l'étude STAMPEDE a montré un apport de la radiothérapie par rapport au traitement de première ligne (privation androgénique avec un agoniste de la LHRH +/- chimiothérapie au docetaxel) pour les patients métastatiques, avec une augmentation de la survie sans rechute, mais pas de la survie totale des patients nouvellement diagnostiqués métastatiques. Cependant, il a été noté une augmentation de la survie totale pour

les patients avec une faible charge métastatique (e.g. oligométastatiques) (Parker et al., 2018), par rapport aux patients avec une forte charge métastatique. La définition des cancers oligométastatiques varient selon les études, avec des métastases sur les ganglions et le squelette axial (colonne vertébrale, côtes, sternum, crâne) selon la définition de l'étude CHAARTED, et avec une absence de métastases viscérales et < 3 métastases osseuses selon l'étude LATITUDE.

ii. Curiethérapie

Les patients à faible risque seront plutôt orientés vers la curiethérapie. Ce traitement consiste en l'implantation permanente de grains d'iode 125 (le plus souvent) visant à détruire les tissus tumoraux adjacents aux grains.

c. HIFU

L'HIFU (*High Intensity Focused Ultrasound*) doit être réservée pour des patients avisés, > 70 ans dont l'espérance de vie est supérieure à 7 ans. Elle peut aussi être proposée suite à un échec de la radiothérapie. L'HIFU consiste à chauffer les tissus à 65 °C pour entraîner leur nécrose.

d. Cryothérapie

De la même façon, la cryothérapie est principalement proposée pour le rattrapage de la radiothérapie. Son principe repose sur la congélation à – 40 °C de la tumeur conduisant à une destruction des tissus. Les candidats à ce traitement doivent présenter une glande de taille limitée (< 40 mL), une condition technique requise pour le passage de la sonde. La cryothérapie concerne surtout des patients à faible risque, avec un score de Gleason ≤ 7 et un taux du PSA < 20 ng/mL ou à risque intermédiaire si la chirurgie et la radiothérapie ne sont pas possible.

3. Traitements systémiques

La médiane de survie pour les patients nouvellement diagnostiqués avec un cancer métastatique de la prostate (environ 5 % des patients) est d'au moins 42 mois mais est largement hétérogène (James et al., 2015). Le traitement de première ligne pour ces patients avec un cancer avancé métastatique de la prostate est l'hormonothérapie (Figure 14).

a. Hormonothérapie

Depuis 1941 et la démonstration par Huggins et ses collègues de l'androgéno-dépendance de la prostate, le bénéfice de la privation en androgènes dans le traitement du cancer de la prostate métastatique a été validé (Huggins and Hodges, 1941). Historiquement, la privation androgénique était réalisée par la castration physique du patient, l'orchidectomie. Dans les années 70, les chercheurs ont développé des composés à activité anti-androgénique pour prévenir des effets secondaires et aussi de l'impact psychologique de l'orchidectomie.

i. Agonistes et antagonistes de la LHRH

Le seuil de castration est considéré comme atteint quand la testostérone plasmatique est en dessous de 50 ng/dL ou 1.7 nmol (Nishiyama, 2014). Il est atteint après 2 à 4 semaines de traitement avec des agonistes de la LHRH (Klotz et al., 2008). Ces composés, principalement la goséréline (Zoladex®), la leuproréline (Eligard®, Enantone®, Gonapeptyl®, Leptoprol®) et la triptoréline (Decapeptyl®) ont une longue période d'action et induisent en premier lieu une augmentation de la sécrétion de LH et de FSH, responsables d'une augmentation de la production de testostérone qui survient dans les 2 à 3 jours après le début du traitement et ce, pour une semaine. Cette augmentation transitoire de la production d'androgènes (effet « flare-up ») peut être contrecarré avec l'utilisation concomitante d'anti-androgènes. Ensuite le récepteur de la LHRH est désensibilisé, et son expression diminuée ; il en résulte une forte diminution de la sécrétion de LH et de FSH et de la production de testostérone *in fine*.

Inversement, les antagonistes lient les récepteurs de la LHRH pour rapidement inhiber la production de LH/FSH et finalement la production de testostérone. Le dégarélix (Firmagon®) peut aussi être utilisé indifféremment avec des agonistes de la LHRH même s'il n'existe pas sous une formulation à longue action, mais il a l'avantage d'éviter l'effet « *flare up* » d'augmentation de la sécrétion d'androgènes et sera donc préféré en présence de compression de la moelle épinière par des métastases osseuses.

ii. Anti-androgènes

La première génération de composés anti-androgéniques agissent comme des antagonistes de AR (*Androgen Receptor*) et inhibent l'action des androgènes. Ils peuvent appartenir à la classe des stéroïdes e.g. l'acétate de cyprotérone (Androcur®) ou des molécules non stéroïdiennes e.g. le bicalutamide (Casodex®), le flutamide, le nilutamide (Anandron®). De nos jours, le bicalutamide reste l'anti-androgène le plus prescrit.

La privation androgénique peut être réalisée à la fois en supprimant les androgènes ou en inhibant leur action sur leur récepteur, AR. Mais la monothérapie anti-androgénique n'est pas souhaitable pour les patients métastatiques. La combinaison des deux méthodes, comme le blocage androgénique complet (CAB), est recommandée pour les patients métastatiques.

L'utilisation de la privation androgénique retarde la progression du cancer chez les patients métastatiques asymptomatiques et chez les patients symptomatiques, elle permet de réduire la douleur et le risque de séquelles dues à la progression de la pathologie.

iii. Effets secondaires de l'hormonothérapie

L'hormonothérapie n'est pas dénuée d'effets secondaires. La première cause de plainte concerne les bouffées de chaleur, qui apparaissent dans les 3 mois suivant le début du traitement et qui persistent, ayant un fort impact sur la qualité de vie du patient. Les patients font aussi souvent l'expérience d'une diminution des fonctions sexuelles (dysfonction érectile, libido), d'une fatigue et d'une asthénie prolongées ainsi que de troubles cognitifs (de la concentration et de la mémoire) et de l'humeur (dépression).

Par ailleurs, l'hormonothérapie est liée à l'apparition d'une résistance précoce à l'insuline et donc à un risque de diabète. Ceci est cumulé à un risque d'altération du métabolisme lipidique, l'hormonothérapie étant responsable d'une dyslipidémie pouvant être accompagnée d'une hypercholestérolémie. Ainsi, l'hormonothérapie induirait un pseudo-syndrome métabolique, avec des risques de complications cardio-vasculaires. La définition du syndrome métabolique repose sur l'association de facteurs de risques cardiovasculaires et une résistance à l'insuline ; elle comprend au moins 3 de ces critères :

- Circonférence > 102 cm ;
- Triglycérides sériques > 1.7 mmol/L ;
- Pression sanguine > 130/80 mmHg ;
- Cholestérol HDL < 1 mmol/L ;
- Glycémie > 5.6 mmol/L.

On constate aussi chez les patients une perte de la masse maigre et une augmentation de la masse grasse. Mais plus important encore, ces patients présentent aussi une perte de leur capital osseux (ostéopénie), se traduisant par une ostéoporose pouvant être plus marquée que chez les femmes ménopausées. Cette ostéopénie conduit à une augmentation du risque de fracture.

iv. Hormonothérapie continue *versus* intermittente ?

La privation androgénique, si elle induit dans un premier temps la mortalité des cellules tumorales prostatiques, va conduire à la progression de la pathologie, une rechute et l'apparition du cancer de la prostate résistant à la castration (CRPC). Le concept d'hormonothérapie intermittente pourrait limiter la sélection de clones tumoraux résistants aux androgènes et ainsi retarder l'apparition du CRPC. L'hormonothérapie intermittente pourrait aussi être bénéfique pour la qualité de vie du patient, en favorisant la préservation du capital osseux mais également en ayant un effet protecteur sur l'apparition du syndrome pseudo-métabolique.

Malheureusement, les données actuelles de la littérature scientifique et médicale ne permettent pas de conclure sur son bénéfice par rapport à l'hormonothérapie continue (Hussain et al., 2013). Elle ne devra être une option thérapeutique que pour des patients métastatiques asymptomatiques, informés des incertitudes et volontaires. Il n'existe pas de recommandations actuellement.

b. Anti-androgènes de seconde génération

Depuis quelques années, les stratégies thérapeutiques cherchent à réduire le sur-traitement des patients mCRPC, qui n'offre qu'un bénéfice limité sur l'espérance de vie, mais qui a un effet non négligeable sur la qualité de vie des patients. Comme la mortalité du cancer de la prostate est due à la progression de la maladie, le traitement des cancers avancés et métastatiques constitue le nouveau challenge des chercheurs et médecins. La recherche sur le cancer de la prostate métastatique et le mCRPC est actuellement active.

Même dans le CRPC, AR demeure actif et les cellules tumorales prostatiques sont sensibles à l'hormonothérapie de deuxième génération. De nouveaux composés destinés aux patients CRPC ont été développés ces 10 dernières années : l'acétate d'abiratéronne (AA) (Attard et al., 2009) et l'enzalutamide (Tran et al., 2009). Ces derniers sont qualifiés d'ARSi (*AR Signaling inhibitors*). L'acétate d'abiratéronne (Zytiga®) est un nouvel inhibiteur stéroïdien de CYP17A1, une enzyme clé impliquée dans la conversion surrénalienne et testiculaire des précurseurs androgéniques en testostérone. Cette molécule a reçu en 2011 l'approbation de la FDA pour le traitement des patients métastatiques. L'enzalutamide (Xtandi®) est un anti-androgène non stéroïdien qui agit à la fois comme un antagoniste de AR et qui empêche également sa translocation nucléaire. Ce composé a une meilleure affinité pour AR que le bicalutamide.

L'étude STAMPEDE a démontré une augmentation du bénéfice concernant l'utilisation combinée de l'acétate d'abiratéronne avec l'hormonothérapie pour les patients avec un cancer de la prostate avancé ou métastatique (James et al., 2017). La même observation a été rapportée par l'essai LATITUDE portant uniquement sur des patients métastatiques (Fizazi et al., 2017). Sur la base de ces récents essais cliniques, l'hormonothérapie combinée à l'abiratéronne devrait devenir le nouveau traitement de référence pour les patients métastatiques (Small, 2017).

Ces deux composés sont classiquement utilisés en monothérapie pour le mCRPC. Mais leur utilisation combinée, couplée à l'hormonothérapie classique est pertinente. Un bras de l'essai STAMPEDE s'intéresse actuellement à la combinaison enzalutamide/AA (Attard et al., 2014).

De nombreuses publications récentes décrivant les résultats des études LATITUDE-CHAARTED-STAMPEDE incitent leurs auteurs à proposer de nouveaux standards de traitement pour les patients métastatiques mais l'utilisation de nouvelles molécules, en monothérapie ou en thérapie combinée pose la question de l'émergence de nouvelles résistances thérapeutiques et de leurs explications.

c. Chimiothérapie

La chimiothérapie de première ligne pour le cancer de la prostate métastatique est le docetaxel. De récentes études cliniques et méta-analyses démontrent une augmentation de 9 % du bénéfice sur la survie à 4 ans de l'utilisation du docetaxel en combinaison avec l'hormonothérapie pour le cancer de la prostate métastatique hormono-naïf (Vale et al., 2016) (James et al., 2016) (Sweeney et al., 2015). En accord avec ces données, le docetaxel en combinaison avec la privation androgénique devrait être le nouveau traitement de référence du cancer de la prostate métastatique hormono-naïf.

La chimiothérapie avec du cabazitaxel (Jevtana®), un nouveau composé dérivé des taxanes, est maintenant une option de deuxième ligne pour les cancers résistant au docetaxel. L'essai clinique de phase III TROPIC a démontré un bénéfice sur la survie totale du docetaxel (15.1 mois) par rapport au mitoxantrone (12.7 mois) dans les CRPC résistants au docetaxel. Deux autres études de phase II, FIRSTANA et PROSELICA, ont également démontré des résultats comparables à une dose moindre, ce qui permet d'envisager de moduler la dose selon le rapport bénéfice/risque pour chaque patient (Sartor et al., 2016) (Bono et al., 2010).

4. Traitements ciblant l'os

Le cancer de la prostate métastase préférentiellement dans l'os, formant principalement des lésions ostéoblastiques, et de façon moindre, dans les poumons, le foie, et les autres organes mous (Bubendorf et al., 2000). Les métastases osseuses sont incurables et contribuent à la morbidité spécifique au cancer et à la mortalité des patients. Elles sont responsables de fortes douleurs et de sévères complications du CRPC, incluant fractures et compression de la moelle épinière (Weinfurt et al., 2005). Environ 30 % des patients avec un cancer de la prostate vont présenter des métastases osseuses et 10 % au moment du diagnostic (Coleman, 2006).

i. Bisphosphonates

Les bisphosphonates diminuent la résorption osseuse et préviennent la perte de masse osseuse. Les bisphosphonates sont des analogues du pyrophosphate, qui lie l'hydroxyapatite et limite

l'activité ostéoclastique. L'acide zolédronique (Zometa®) retarde l'émergence des lésions osseuses de 36 % (Saad et al., 2004).

ii. Anticorps anti-RANKL

Cibler le microenvironnement osseux peut également réduire le nombre d'atteintes osseuses. Le Denosumab (Xgeva®) est un anticorps monoclonal capable de lier RANKL, et d'interférer avec l'activation du récepteur RANK à la surface des ostéoclastes, inhibant ainsi leur formation, leur fonction et leur survie pour diminuer la résorption osseuse *in fine*. Cette molécule retarde l'apparition des premières métastases osseuses de 4 mois (Smith et al., 2012).

iii. Chlorure de radium 223

Le radium 223 (Alpharadin®) est une molécule radiopharmaceutique, similaire au calcium, qui peut se lier à l'os nouvellement formé et émettre des radiations pour induire l'apoptose des cellules tumorales avoisinantes. Il s'agit du seul traitement ciblant l'os qui ait démontré une augmentation de la survie totale des patients, d'après l'étude ALSYMPCA (Parker et al., 2013).

II. INITIATION ET PROGRESSION DU CANCER DE LA PROSTATE

A. Origine et diversité du cancer de la prostate

1. Initiation et progression tumorale

Les néoplasies de haut grade (HGPN) sont considérées comme les lésions précancéreuses du cancer de la prostate. Une étude sur autopsie a révélé la présence de foyers microscopiques de HGPN dès 30 ou 40 ans alors que l'âge médian du diagnostic de cancer de la prostate est de 70 ans (Sakr et al., 1996). Les HGPN sont caractérisées par la présence d'anomalies progressives du phénotype et du génotype qui sont distinctes et constituent une étape intermédiaire entre le tissu bénin et le cancer. Histologiquement, ces néoplasies sont caractérisées par une prolifération accrue des cellules épithéliales, par un encombrement des cellules et leur stratification. Ces cellules présentent des changements cytologiques mimant les lésions tumorales, soit un élargissement du noyau, une chromatine dense et un nucléole proéminent. Contrairement aux tumeurs, la néoplasie n'induit pas de rupture de la lame basale, n'envahit pas le stroma et l'architecture de l'acinus n'est que peu perturbée. Ces lésions sont, comme les tumeurs, retrouvées préférentiellement dans la zone périphérique de la prostate (Tosoian et al., 2018). De multiples foyers de néoplasies peuvent survenir indépendamment dans la prostate d'un même individu, ce qui suggère une évolution et une expansion clonale de ces lésions (Bostwick et al., 1998).

Afin de caractériser les anomalies moléculaires associées à la progression des lésions précancéreuses vers la formation de tumeurs, Ashida et ses collaborateurs ont analysé et comparé le profil d'expression génique de PIN (*Prostate Intraepithelial Neoplasia*) et de cancers de la prostate (Ashida et al., 2004). Cette étude a montré une clusterisation séparée des PIN et des carcinomes, hormis pour 3 cancers de bas grade qui présentent des caractéristiques de PIN, supportant l'idée d'une évolution progressive de la néoplasie vers le cancer. Dans la signature génique commune aux PIN et aux cancers de la prostate, les gènes codant pour les protéines AMACR, ABCC4 et PSA sont surexprimés tandis que certaines protéinases sont réprimées, comme SERPINB1, SRPING1, MMP7 (Ashida et al., 2004). L'existence d'une signature moléculaire similaire entre les PIN et les tumeurs a été confirmée par le groupe de Tomlins (Tomlins et al., 2007). A l'inverse, les PIA (*Proliferative Inflammatory Atrophy*) ne présentent que peu de similitudes avec les cancers, suggérant soit qu'elles représentent un précurseur très éloigné, soit qu'elles ne progresseraient pas vers la formation de cancers.

Le cancer de la prostate est un cancer à progression lente, dont la tumorigenèse est associée à l'apparition séquentielle de nombreuses anomalies moléculaires et métaboliques. La fréquence

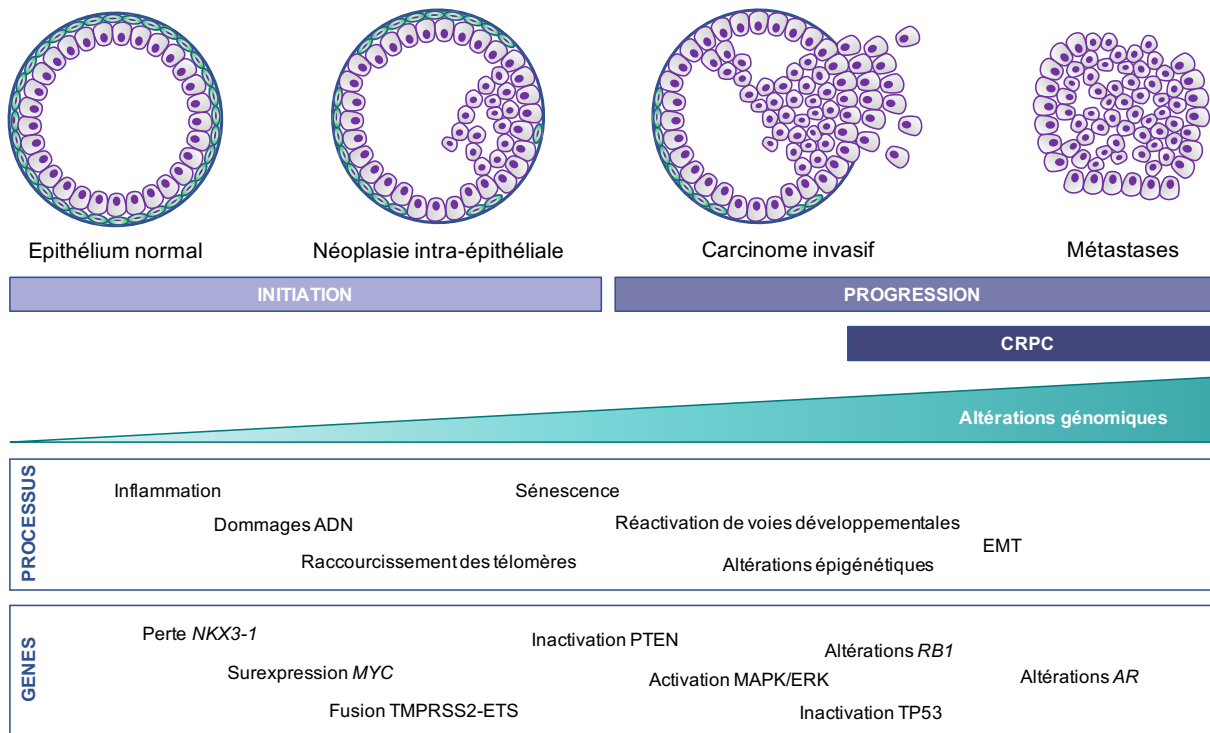


FIGURE 15 | PROCESSUS IMPLIQUES DANS LA PROGRESSION TUMORALE

L'initiation de la tumorigenèse prostatique est associée à la présence de lésions précancéreuses, les néoplasies intra-épithéliales. Ces lésions progressent ensuite vers la formation de carcinomes invasifs puis éventuellement de métastases. Différents processus et altérations génomiques sont associés à la tumorigenèse prostatique. *Modifié d'après (Shen and Abate-Shen, 2010).*

des altérations du nombre de copies (CNA, *Copy Number Alteration*) est significativement supérieure dans le cancer de la prostate que celle des mutations ponctuelles (SNV, *Single Nucleotide Variant*), suggérant que la carcinogenèse et la progression des tumeurs sont associées à de l'instabilité chromosomique. Le taux de CNA corrèle avec le grade des tumeurs, la récurrence biochimique, et la dissémination métastatique ; il est d'environ 32 % dans les métastases et de seulement de 5 % dans les tumeurs primaires (Baca et al., 2013) (Hieronymus et al., 2014). Lors de la progression tumorale, l'une des principales altérations concerne des gains de chromosomes, dont le locus 8q24 codant pour l'oncogène *MYC* (Tomlins et al., 2007). De plus, la formation de PIN est associée à la surexpression des gènes de la famille ETS, dont la fusion avec *TMPRSS2* représente également une des premières altérations retrouvées lors de la progression tumorale (Tomlins et al., 2007). A l'inverse, on observe une perte de l'expression du gène androgéno-régulé *NKX3-1* normalement fortement exprimé dans le tissu sain, précocement dans les lésions néoplasiques et de façon plus importante dans les tumeurs primaires et les métastases (Bowen et al., 2000). L'inactivation de *Nkx3-1* conduit d'ailleurs, en modèle murin, à l'apparition tardive de lésions néoplasiques (Kim et al., 2002). D'autres altérations moléculaires s'accumuleront par la suite dans les tumeurs favorisant leur progression, leur agressivité et éventuellement leur dissémination métastatique (Figure 15).

2. Hétérogénéité des tumeurs : le modèle clonal

De multiples foyers tumoraux d'origines distinctes sont communément détectés chez les patients (Cooper et al., 2015). Cette caractéristique multifocale du cancer de la prostate est prise en compte lors de la détermination du score de Gleason de la tumeur, puisque son calcul résulte de l'addition du score des deux grades histologiques les plus représentés.

Les cancers de la prostate présentent une forte hétérogénéité intra-tumorale au niveau génomique (réarrangements chromosomiques, inversions, amplifications ou délétions, mutations) (Boutros et al., 2015). Selon les patients, on note également une forte variation du pourcentage de CNA, de 0 à 39.2 %. De même, le nombre de réarrangements chromosomiques est relativement variable, de 0 à 499 avec une médiane à 19. Les tumeurs présentent individuellement entre 0 et 98 SNV exomiques et peu de mutations concernent plus de 2 % des patients (Fraser et al., 2017).

Le concept d'évolution clonale du cancer implique l'existence d'une diversité génique au sein des tumeurs, et de l'expansion clonale d'une sous-population sélectionnée pour ces capacités de résistance à la pression de sélection existant au sein de la tumeur et de son microenvironnement, ou induite par les traitements. L'analyse de multiples tumeurs de patients

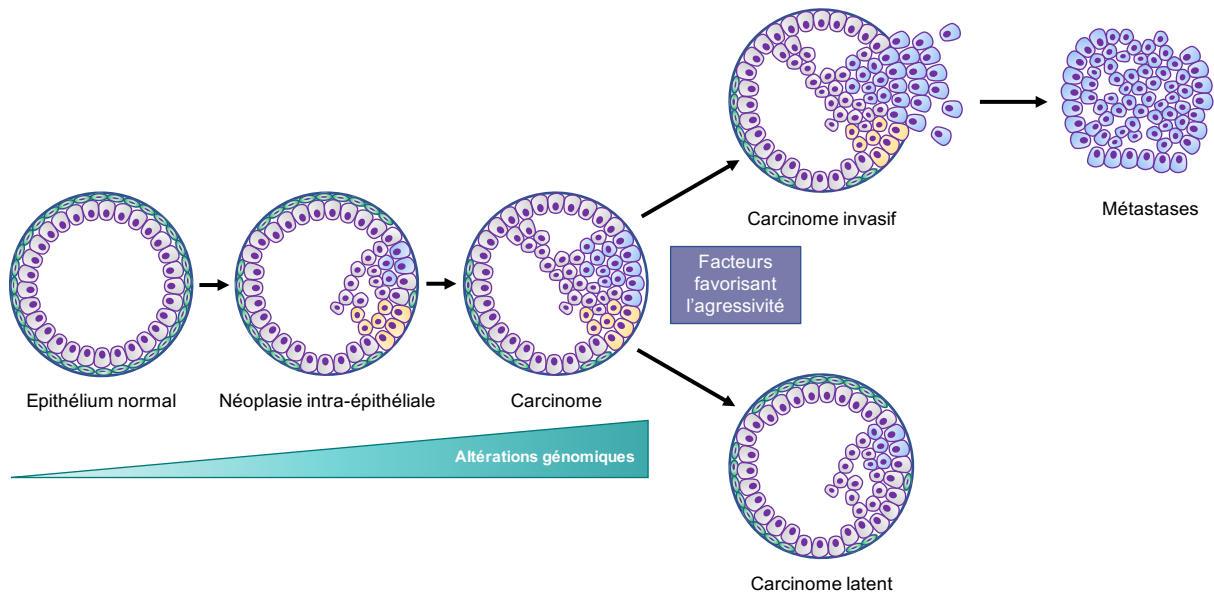


FIGURE 16 | ÉVOLUTION CLONALE DU CANCER DE LA PROSTATE

Différents clones tumoraux peuvent émerger au sein d'une même tumeur. Certaines altérations génomiques vont alors favoriser l'agressivité de certains clones tandis que d'autres, au contraire ne progresseront pas vers des lésions agressives. *Modifié d'après (Witte, 2009).*

mCRPC a apporté la preuve de la dissémination clonale voire polyclonale des cellules tumorales prostatiques (Gundem et al., 2015). Pour la majorité des patients analysés, les données moléculaires montrent plus de similitudes entre les tumeurs distantes qu'avec la tumeur primaire. Ces analyses génomiques ont en effet montré que plusieurs sites métastatiques contenaient 40 à 90 % de la totalité des mutations retrouvées et la majorité des mutations initiatrices. Les cellules métastatiques semblent présenter d'un point de vue génétique un ancêtre commun qui possède la majorité des altérations retrouvées dans les métastases. Ceci suggère qu'un clone ayant acquis les capacités de dissémination métastatique par l'accumulation de nombreuses altérations, pourra disséminer entre les différents sites métastatiques, et donc que les différentes métastases d'un individu ne font pas suite à différentes vagues de dissémination depuis la tumeur primaire. D'autres études ont confirmé l'hypothèse que, malgré l'hétérogénéité intra-tumorale, les différentes tumeurs d'un même individu présentent des altérations homogènes (CNA, mutations, activité de AR, signature du cycle cellulaire) (Cooper et al., 2015) (Kumar et al., 2016). Ainsi de nombreux cancers de la prostate ont des origines indépendantes jusqu'à leur évolution branchée depuis un clone dominant (Mitchell and Neal, 2015).

Il a été estimé à des dizaines d'années le temps nécessaire pour qu'une cellule touchée par une altération initiatrice du cancer acquière suffisamment d'altérations secondaires pour lui conférer la capacité de disséminer. Au contraire, l'intervalle entre l'acquisition des capacités de dissémination et celle de croître à distance n'est que de quelques mois ou années. Ainsi, les premières lésions précancéreuses apparaissent vers 30-40 ans, soit des dizaines d'années avant le diagnostic d'une pathologie métastatique. Cette période serait suffisante pour l'acquisition de diverses altérations au sein des cellules tumorales et pour permettre la génération de tumeurs primaires complexes, hétérogènes. Les tumeurs métastatiques présentent au contraire de grandes similarités concernant leur génome et leur épigénome. Cet argument est en faveur de l'hypothèse du « seed and soil », de l'émergence de rares sous-clones au potentiel de dissémination métastatique au sein de la tumeur, plutôt que de l'hypothèse selon laquelle la capacité de dissémination métastatique est une caractéristique intrinsèque aux tumeurs primaires (Figure 16).

Comprendre l'hétérogénéité du cancer de la prostate dans sa globalité ainsi que son histoire naturelle est une nécessité importante pour mieux appréhender l'étiologie du cancer de la prostate d'une part, et la réponse aux thérapies ciblées d'autre part. En effet, ces données posent

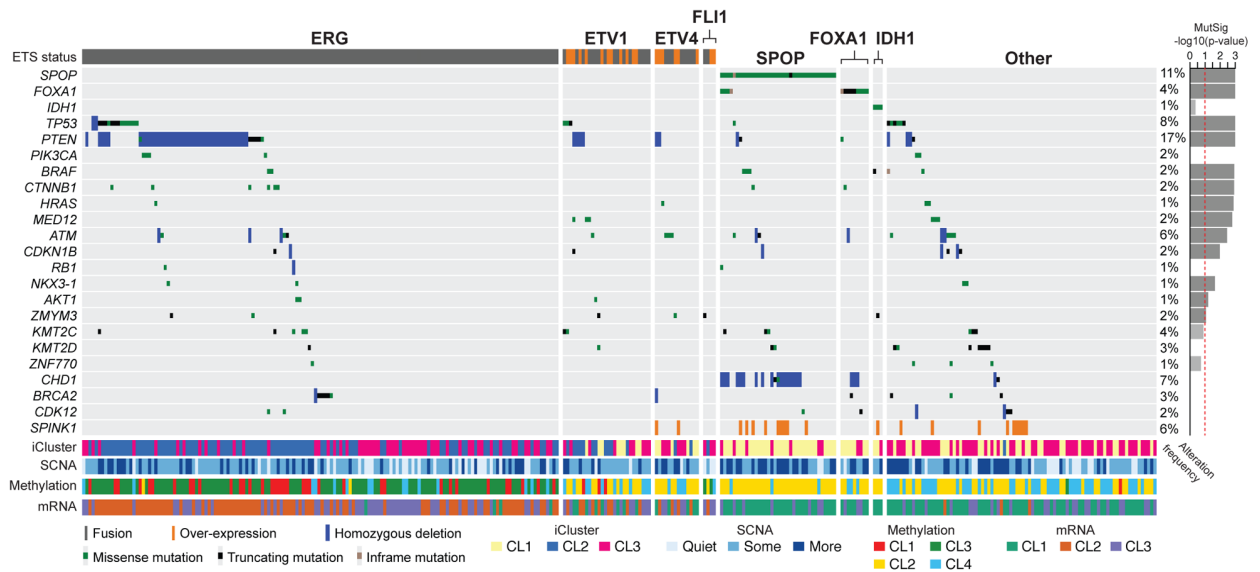


FIGURE 17 | SOUS-GROUPES D'ADENOCARCINOMES PROSTATIQUES

Les adénocarcinomes prostatiques peuvent être regroupés selon les altérations génomiques et les principaux gènes mutés en différents sous-groupes comme représenté ci-dessus. Les principales mutations retrouvées, sur la gauche, sont associées à un pourcentage de représentativité et à une significativité statistique, sur la droite. *Issu de (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2015).*

la question de la pertinence clinique des thérapies ciblées concernant les tumeurs primaires hétérogènes et l'émergence de clones résistants induits par le traitement.

3. Sous-types moléculaires des adénocarcinomes prostatiques

Récemment, de nombreuses analyses génomiques du cancer de la prostate ont permis de confirmer la présence des principales altérations connues du cancer de la prostate, mais aussi de montrer que certaines d'entre elles étaient mutuellement exclusives (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2015). Tout d'abord, il est possible de distinguer les tumeurs positives pour les fusions ETS des tumeurs négatives. Près de 60 % des tumeurs sont positives pour les fusions ETS, dont la majorité (46 %) implique *ERG*. Les fusions *ETV1*, *ETV4* et *FLII* correspondent respectivement à 8 %, 4 % et 1 % des tumeurs. Parmi les autres altérations, les délétions de *PTEN* sont prépondérantes dans les tumeurs positives pour la fusion *ERG*. Concernant les tumeurs négatives pour les fusions ETS, les analyses génomiques n'ont permis d'identifier que peu de gènes fréquemment mutés, distinguant ainsi 3 nouveaux sous-groupes de tumeurs : *SPOP* (11 %), *FOXA1* (3 %) et *IDH1* (1%). Les mutants *SPOP* présentent un profil CNA distinct des autres sous-groupes, dont des délétions de *CHD1* au locus 5q21, de 6q et de 2q. Les mutants *IDH1* présentent quant à eux un phénotype d'hyperméthylation de l'ADN. Au final, 26 % des tumeurs n'appartiendraient à aucun de ces sous-groupes (négatives pour les fusion ETS et pour les mutation *SPOP*, *FOXA1* et *IDH1*) et pour lesquelles aucune autre altération n'a pu être identifiée (Figure 17).

B. Compréhension moléculaire de la carcinogenèse prostatique

En 1985, Atkin et Baker ont rapporté une délétion du chromosome 10q24 dans des cas de cancer de la prostate (Atkin and Baker, 1985). Cette altération fut confirmée par la suite et des analyses cytogénétiques ont, dans les années 90, permis d'identifier plus précisément la délétion en 10q23.1 comme le site potentiel d'un suppresseur de tumeur. Ce suppresseur de tumeur sera finalement identifié comme *MMAC1/PTEN* en 1997 (Li et al., 1997) (Steck et al., 1997). De nombreuses autres études génomiques et transcriptomiques ont depuis exploré les bases moléculaires du cancer de la prostate.

1. Instabilité génomique et mutations

a. Réarrangement chromosomique : la fusion *TMPRSS2:ETS*

Les réarrangements chromosomiques ont principalement lieu entre la région 5'-UTR du gène androgéno-dépendant *TMPRSS2* (21q22.3) et les facteurs de la famille ETS, dont *ERG* (21q22.2), *ETV1* (7p21.2) (Tomlins et al., 2005), *ETV4* (17q21.31) (Tomlins et al., 2006) et *FLII* (11q24.3) (Paulo et al., 2012). Ces fusions de gènes sont mutuellement exclusives.

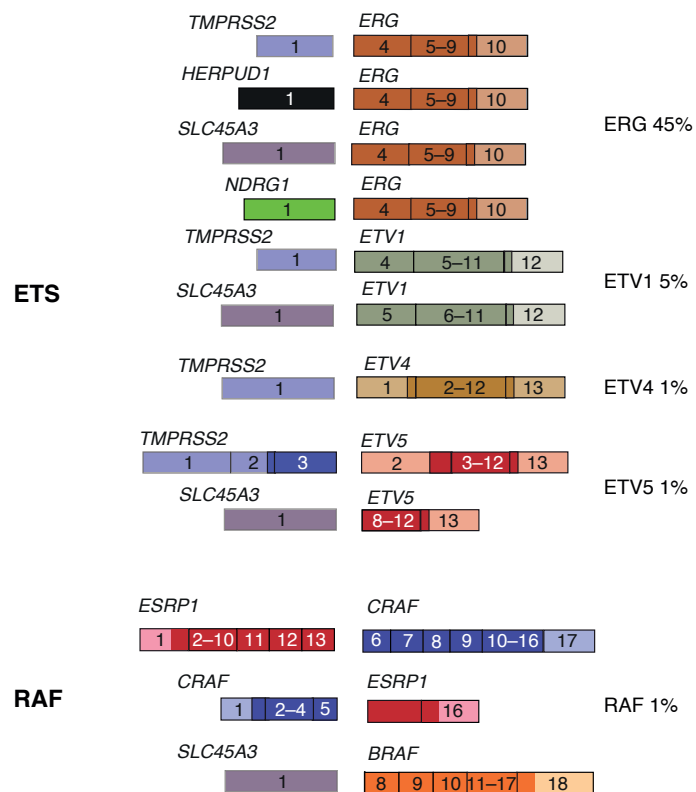


FIGURE 18 | CLASSIFICATION DES FUSIONS DE GENES DU CANCER DE LA PROSTATE

Les avancées récentes des analyses génomiques ont permis de mieux caractériser et d'identifier de nouvelles fusions de gènes retrouvées dans le cancer de la prostate. Il a notamment été identifié des fusions des gènes ETS avec des gènes androgéno-régulés autres que TMPRSS2, ainsi que des fusions impliquant l'oncogène RAF. *Issu de (Rubin and Demichelis, 2019).*

Ces fusions de gènes sont faiblement retrouvées dans les PIN (environ 15 % des lésions) et sont présentes dans environ 50 % des carcinomes, suggérant que ces réarrangement surviennent précocement lors de l'initiation tumorale, et favorisent l'expansion clonale et le développement tumoral (Tomlins et al., 2007) (Clark et al., 2008) (Mosquera et al., 2008). L'activité androgénique est un axe central de la pathogenèse du cancer de la prostate et conduit à la création et à la surexpression de la plupart des fusions ETS. Il s'agirait donc ainsi d'une des premières altérations hormono-dépendantes du cancer de la prostate. Récemment, des analyses ont confirmé les fusions de gènes de la famille ETS avec leur partenaire *TMPRSS2* et ont par ailleurs décrit leur fusion avec d'autres gènes androgéno-régulés, dont *SLC45A3* et *NDRG1* (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2015) (Figure 18).

Bien que la fusion *TMPRSS2-ERG* soit l'une des principales altérations du cancer de la prostate, des études fonctionnelles et l'utilisation de modèles murins transgéniques n'ont montré qu'un modeste effet oncogénique (Carver et al., 2009) (King et al., 2009) (Klezovitch et al., 2008) (Tomlins et al., 2008). Les fusions ETS coopèrent néanmoins avec la perte de *PTEN* dans la progression des néoplasies vers les adénocarcinomes (Carver et al., 2009) (King et al., 2009) (Zong et al., 2009). Une étude a tenté de démontrer le rôle de la fusion des facteurs ETS dans le cancer de la prostate. *ERG* est capable de perturber la signalisation AR en se liant directement à AR et en inhibant son activité par la répression épigénétique médiée par la méthyltransférase *EZH2* (Yu et al., 2010). Ainsi l'activité de *ERG* perturberait la différenciation de la prostate pour favoriser la tumorigenèse.

b. Altérations du nombre de copies (CNA)

La plus fréquente des anomalies moléculaires du cancer de la prostate implique des altérations du nombre de copies. Ces altérations, plus fortement retrouvées dans les tumeurs agressives, sont ainsi associées à la récurrence et à la dissémination métastatique des tumeurs primaires (Taylor et al., 2010). La classification des tumeurs basée sur le taux de CNA a par ailleurs permis de montrer que le groupe avec la plus forte charge de CNA avait significativement un score de Gleason et des taux de PSA significativement plus élevés (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2015). De plus, les gains des chromosomes 7, 8q et X seraient plus souvent observés dans les cas de CRPC (Visakorpi et al., 1995a). Les pertes de copies seraient 5 fois plus communes que les gains. Les gains du nombre de copies concernent le plus fréquemment les chromosomes 7 et 8q (dont *MYC*, 8q24.21) ; les chromosomes les plus fréquemment touchés par une perte du nombre de copies sont les chromosomes 8p (*NKX3-1*, 8p21.2), 13q (*RBI*, 13q14.1), 16q et 18. Par ailleurs, d'autres amplifications ou délétions focales concernent

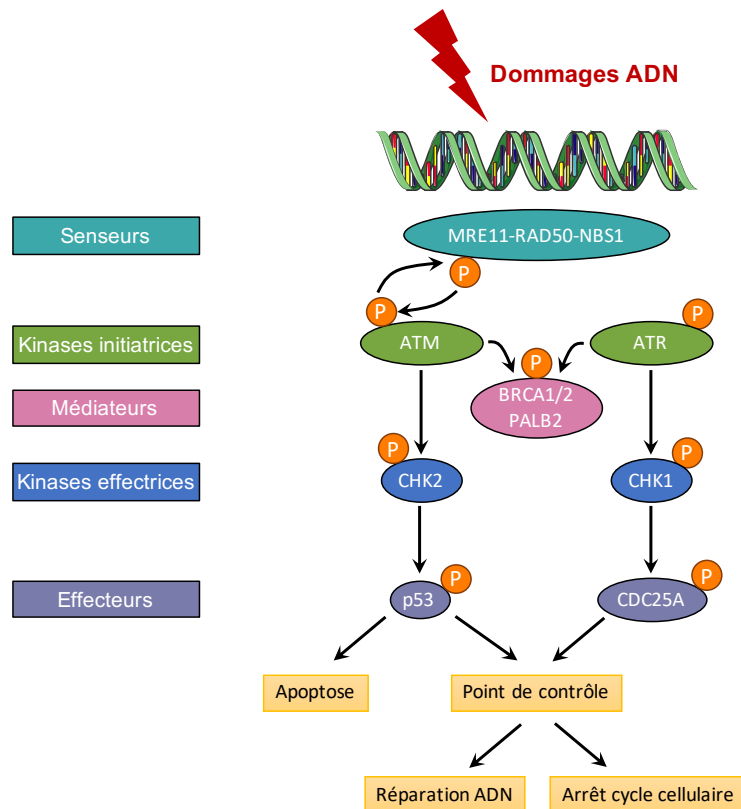


FIGURE 19 | VOIE DE REPARATION DES DOMMAGES A L'ADN

En présence de dommages à l'ADN, l'activation des kinases ATM/ATR conduit à une cascade d'activation de protéines dont la fonction sera de conduire soit à la réparation de l'ADN et au maintien de l'intégrité de la cellule, soit à la mort de la cellule en cas de dommages non réparables. *Modifié d'après (Sulli et al., 2012).*

CCND1 (11q13.2), *FGFR1/WHSC1L1* (8q11.23), *TP53* (17q13.1), *CDKN1B* (12.13.1), *PTEN* (10q23.31) et *CHD1* (5q15-q21).

c. Mutations ponctuelles (SNV)

Le cancer de la prostate présente un taux de SNV relativement faible par rapport aux autres tumeurs solides (Barbieri et al., 2012). Selon les études, le taux de SNV des tumeurs primaires varie de 0.3 mutations/mégabase (Taylor et al., 2010), à 0.94 (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2015), voire 1.36 (Armenia et al., 2018). Pour autant, ce chiffre reste bien moindre que celui retrouvé pour les mCRPC, 2.0 mutations/mégabase (Grasso et al., 2012), 2.93 (Armenia et al., 2018) ou 4.4 (Robinson et al., 2015). Ces variations peuvent s'expliquer par la représentativité des tumeurs, où les patients porteurs de mutations touchant les voies de réparation de dommages à l'ADN peuvent présenter un nombre de SNV bien plus important, jusqu'à 50 mutations/mégabase (Robinson et al., 2015). De plus, le taux de SNV est positivement associé au score de Gleason et à l'âge des patients (Armenia et al., 2018). Les dernières études ont permis de recenser 97 mutations récurrentes, dont l'immense majorité représente moins de 3 % des tumeurs, reflétant ainsi la forte hétérogénéité des tumeurs prostatiques. Les principales mutations concernent les gènes *TP53*, *SPOP*, *PTEN*, *CDKN1B*, *CTNNB1*, *ATM*, *APC*, *FOXA1*, *PIK3CA* (Barbieri et al., 2012) (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2015) (Armenia et al., 2018).

d. Mécanismes de réparation des dommages à l'ADN

Comme précédemment rapporté, des altérations inactivatrices des gènes impliqués dans la réparation des dommages à l'ADN sont fréquemment retrouvées dans les tumeurs de la prostate, et concerneraient 10 % des tumeurs primaires et 27 % des métastases (Armenia et al., 2018). Les principales altérations concernent directement les gènes *BRCA2*, *CDK12* et *ATM*, bien que des altérations d'autres gènes impliqués dans ces voies aient également été rapportées (*PALB2*, *ATR*, *BRCA1*, *FANCA*, *MRE11A*) (Figure 19). Les altérations des voies de réparations des dommages ADN sont également enrichies dans les mCRPC (Grasso et al., 2012) (Robinson et al., 2015) (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2015). Ces données suggèrent un potentiel intérêt pour les inhibiteurs de PARP chez les patients mCRPC, plus sensibles aux dommages ADN. Pour revue sur les réponse aux dommages à l'ADN dans le cancer de la prostate : (Schiewer and Knudsen, 2019).

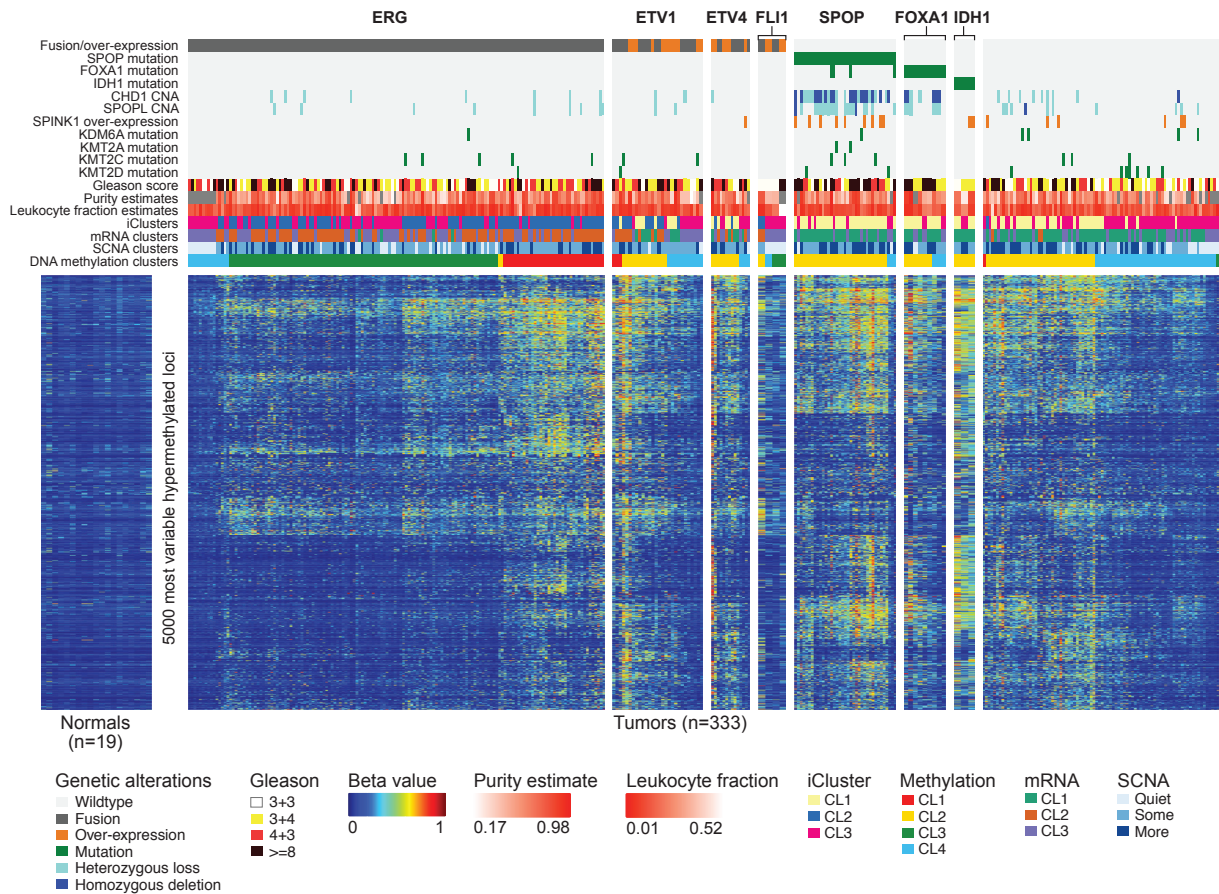


FIGURE 20 | METHYLATION ADN DES TUMEURS PROSTATIQUES

Les tumeurs primaires de la prostate présentent des taux de méthylation ADN bien supérieurs à ceux des zones prostatiques saines. Le clustering non-supervisé des 5.000 loci les plus hyperméthylés a permis d'identifier 4 clusters de tumeurs selon leur degré d'hyperméthylation décroissant : CL1, CL2, CL3, CL4. Les tumeurs mutantes pour SPOP, FOXA1 et IDH1 présentent une forte hyperméthylation ADN homogène, et sont majoritairement classifiées CL2. A l'inverse, les tumeurs positives pour les fusions ETS présentent une certaine hétérogénéité, bien qu'un sous-groupe de tumeurs positives pour la fusion ERG présente la plus forte hyperméthylation ADN, noté CL1. *Issu de (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2015).*

e. Altérations épigénétiques

Les altérations épigénétiques sont aussi présentes tout au long de la carcinogenèse prostatique, et peuvent être plus particulièrement impliquées dans l'agressivité des tumeurs, la résistance à la castration mais également servir de marqueurs de l'agressivité tumorale.

Dans le but d'identifier des altérations motrices dans la mise en place de la résistance à la castration du cancer de la prostate, Grasso et ses collaborateurs se sont notamment intéressés aux altérations du nombre de copies et ont relevé la perte fréquente du locus 5q21, portant le gène *CHD1*, qui code pour une enzyme de remodelage de la chromatine (Grasso et al., 2012). La perte de *CHD1* est significativement enrichie dans les tumeurs négatives pour les fusions ETS. D'autres altérations concernant l'histone H3K4 méthyltransférase *KMT2D* (*MLL2*), ou d'autres gènes codant pour des modificateurs d'histones et de la chromatine (*KMT2C/MLL3*, *KDM6A/UTX*) ont aussi été rapportées. Nombre de ces protéines de remodelage sont capables d'interagir physiquement avec AR et pourraient ainsi jouer un rôle important dans le CRPC.

Par la suite, l'analyse du TCGA a clusterisé les tumeurs prostatiques selon leur profil de méthylation de l'ADN pour déterminer 4 groupes distincts (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2015) (Figure 20). Si les tumeurs positives pour la fusion *ERG* constituent un groupe très hétérogène, un sous-groupe hyperméthylé se détache, et n'est quasiment pas retrouvé dans les autres groupes de tumeurs, négatifs pour la fusion *ERG*. De façon intéressante, les fusion *ETV1/4* se détachent des fusions *ERG* d'un point de vue de la méthylation ADN, et présentent une méthylation hétérogène. A l'inverse, les tumeurs mutantes pour *SPOP*, *FOXA1* et *IDH1* présentent une forte méthylation homogène de l'ADN. Il est important de noter que les mutations *IDH1/2* ont précédemment été associées à un phénotype d'hyperméthylation de l'ADN dans d'autres cancers, comme les glioblastomes (Noushmehr et al., 2010) ou les leucémies aiguës myéloïdes (Figuerola et al., 2010). Bien que des gènes codant pour des régulateurs épigénétiques soient associés à un score de Gleason plus élevé et préférentiellement enrichis dans les métastases, les mutants *IDH1* sont au contraire enrichis dans les tumeurs primaires (Armenia et al., 2018).

Par ailleurs, la H3K27 méthyltransférase *EZH2* est surexprimée dans les cas de CRPC et sa surexpression est associée à un mauvais pronostic des cancers localisés (Varambally et al., 2002) (Saramäki et al., 2006) (Bachmann et al., 2006) (van Leenders et al., 2007). Des analyses menées sur des lignées cellulaires prostatiques ont montré son rôle dans la prolifération cellulaire et dans la répression transcriptionnelle, suggérant un rôle important dans la progression du cancer de la prostate (Varambally et al., 2002) (Yang and Yu, 2013). Cependant,

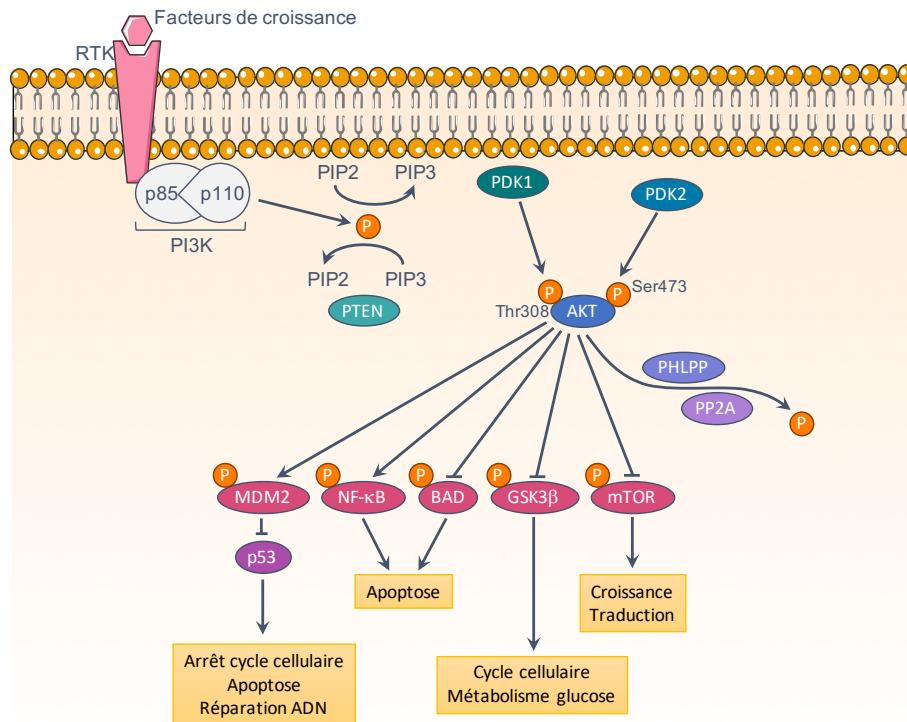


FIGURE 21 | VOIE DE PROLIFERATION ET DE SURVIE PI3K/AKT

Suite à l'activation de récepteurs tyrosine kinase (RTK) par la fixation de facteurs de croissance, la sous-unité catalytique de la PI3K (p110) phosphoryle le PIP2 en PIP3 ce qui autorise le recrutement de AKT à la membrane et sa phosphorylation par la kinase PDK1 sur le résidu Thr308. Par ailleurs, la kinase PDK2 peut phosphoryler le résidu Ser473 de AKT. *In fine*, l'activation de AKT conduit à l'activation de différentes cibles impliquées principalement dans la prolifération et la survie cellulaire. L'activité de la voie PI3K/AKT est négativement régulée par la phosphatase PTEN qui déphosphoryle le PIP3 en PIP2. De plus, les phosphatases PHLPP et PP2A inactivent la kinase AKT.

en modèle murin, l'invalidation de *Ezh2* ne module pas la tumorigenèse induite par la perte de *Pten* (Wassef et al., 2015).

2. Signalisation pro-proliférative

a. Voie PTEN/PI3K/AKT

PTEN (*Phosphatase and Tensin homolog*) est une enzyme à activité phosphatase, agissant comme le principal régulateur négatif de la voie de survie et de prolifération cellulaire PI3K/AKT. Cette voie est notamment activée en réponse à des facteurs de croissance en aval des RTK, tels que les récepteurs des facteurs de croissance EGFR ou IGFR. L'effecteur primaire de la voie est la PI3K (Phosphatidylinositol-bisphosphate 3-kinase). Classiquement, les enzymes de la famille PI3K sont divisées selon 3 classes I, II et III. La PI3K de la classe IA est un hétérodimère composé d'une sous-unité régulatrice (dont la plus abondante, p85 α , est codée par le gène *PIK3R1*) et d'une sous-unité catalytique (p110 $\alpha/\beta/\delta$, codées respectivement par les gènes *PIK3CA*, *PIK3CB* et *PIK3CD*), portant l'activité kinase. Elle catalyse la conversion du PIP2 (phosphatidylinositol bisphosphate) en PIP3 (phosphatidylinositol triphosphate) à la membrane, permettant le recrutement des kinases PDK1 et AKT, et la phosphorylation de la Thr308 de AKT par PDK1. AKT peut également être phosphorylé par la PDK2 (mTORC2) sur la Ser473. AKT phosphoryle par la suite différentes cibles impliquées dans la survie cellulaire et la prolifération mais aussi dans la synthèse protéique, la régulation du métabolisme du glucose. Elle est considérée à ce titre comme un oncogène. La phosphatase PTEN peut inhiber la voie en déphosphorylant le PIP3. De plus, l'activité de AKT peut être inhibée suite à sa déphosphorylation par les phosphatases PP2A et PHLPP1/2 (Figure 21).

L'altération de la voie PI3K/AKT est bien documentée dans les tumeurs prostatiques. Elle serait présente dans 17 % des tumeurs primaires et 40 % des métastases, et principalement due à la délétion ou à des mutations inactivatrices de *PTEN* dans 16 % des cas (Armenia et al., 2018). De plus, de nombreuses études ont identifié des altérations d'autres acteurs de la voie, dont la PI3K (*PIK3CA/B*, *PIK3R1/2/3*), *AKT1*, *PHLPP1* ou encore *TSC1/2* ou *MTOR* (Pourmand et al., 2007) (Taylor et al., 2010) (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2015) (Armenia et al., 2018). De façon intéressante, la perte de *PTEN* est généralement mutuellement exclusive avec d'autres altérations génomiques du cancer de la prostate telles que les mutations *SPOP* et *CHD1*. Au contraire, on observe de façon prépondérante les délétions de *PTEN* dans les tumeurs positives pour les fusions *TMPRSS2/ERG* (Taylor et al., 2010) (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2015). Les altérations de *PTEN* sont par ailleurs enrichies dans les métastases.

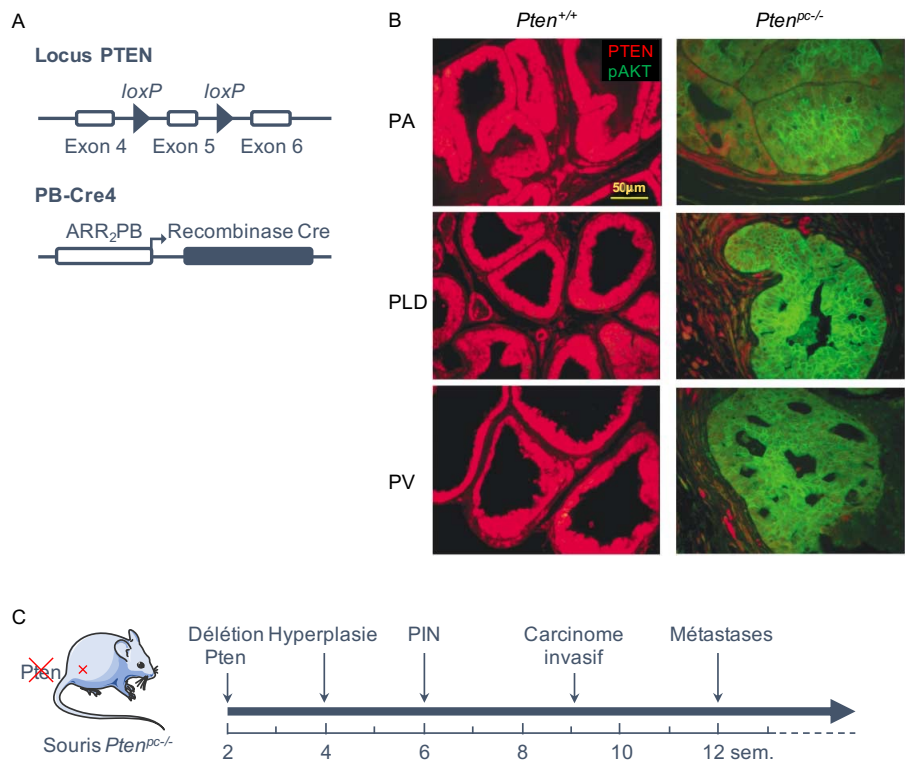


FIGURE 22 | MODELE MURIN DE TUMORIGENESE PROSTATIQUE *PTEN*^{PC-/-}

(A) La recombinaise Cre, sous le contrôle du promoteur modifié de la probasine de rat, permet l’excision de l’exon 5 de *Pten*, portant l’activité phosphatase, spécifiquement dans les cellules épithéliales prostatiques. (B) En conséquence de l’invalidation de *Pten*, on observe une perte de son expression dans l’épithélium prostatique des souris mutantes (*Pten*^{PC-/-}) par rapport aux souris contrôles (*Pten*^{+/+}), et une sur-activation de la voie PI3K/AKT reflétée par l’augmentation du marquage épithélial de pAKT dans les lobes prostatiques antérieurs (PA), dorso-latéraux (PDL) et ventraux (PV). (C) Les souris *Pten*^{PC-/-} présentent une carcinogénèse similaire à celle observée chez l’homme avec, suite à la délétion de *Pten* à 15 jours de vie, l’apparition d’hyperplasies, de néoplasies puis de carcinomes invasifs à 9 semaines, puis éventuellement des métastases à partir de 12 semaines. *Modifié d’après (Wang et al., 2003).*

Parmi les différents modèles murins de carcinogenèse prostatique, l'un des modèles les plus couramment utilisé est le modèle *Pten*^{pc/-} (Wang et al., 2003). Ce modèle d'inactivation conditionnelle prostatique de *Pten* repose sur l'activité de la recombinaison Cre, exprimée sous le contrôle de 2 séquences ARE (*Androgen Response Element*) du promoteur de la probasine (ARR₂PB-Cre4) qui permet l'excision de l'exon 5 floxé codant l'activité phosphatase de *Pten*. L'expression de la Cre et l'inactivation subséquente de *Pten* surviennent à environ 15 jours post-partum. Ce modèle présente l'avantage d'induire, suite à la sur-activation de la voie PI3K/AKT, une tumorigenèse prostatique avec une cinétique progressive et lente, similaire à celle observée chez l'homme. Cependant, peu de souris présentent une dissémination métastatique, avec principalement des métastases des ganglions lymphatiques et rarement des métastases pulmonaires ou hépatiques vers l'âge d'un an (Figure 22).

Une étude a par ailleurs identifié la phosphatase PHLPP1 comme un suppresseur de la tumorigenèse prostatique. En modèle murin, l'inactivation prostatique de *Phlpp1* induit le développement de néoplasies et, combinée à la perte partielle de *Pten*, au développement de carcinomes (Chen et al., 2011a). L'inactivation de *Phlpp1* induit une augmentation de l'accumulation de p53 sans augmentation de l'activité de p21. Ceci est dû à des mutations secondaires, inactivatrices de p53, qui favorisent l'échappement des cellules tumorales à la sénescence et donc la progression des lésions. De façon intéressante, la co-délétion de *PTEN/PHLPP1* est uniquement observée dans les métastases et non dans les tumeurs primaires. PHLPP1 a également un rôle à jouer dans la résistance à la castration du cancer de la prostate. Une étude a montré que l'inactivation conditionnelle de *Ar* dans l'épithélium prostatique des souris *Pten*^{pc/-} favorise la prolifération des cellules tumorales, et ce, en réprimant la dégradation de PHLPP1 induite par le gène cible de AR *Fkbp5* (Mulholland et al., 2011). Ainsi, la perte d'activité de AR prévient l'inhibition de l'activité de AKT médiée par PHLPP1. Cette même étude a par ailleurs démontré l'existence d'un dialogue entre la voie PI3K/AKT et AR médiée par PTEN. *In vivo*, la perte de *Pten* conduit à une diminution de l'expression de gènes androgéno-régulés. Les auteurs ont ainsi posé l'hypothèse que PTEN contrôle l'activité transcriptionnelle de AR en régulant négativement l'expression des facteurs EGR1, c-JUN et EZH2, connu pour inhiber la transcription des gènes cibles de AR. L'inhibition de l'activité transcriptionnelle de AR suite à la perte de *PTEN* a été confirmée par la suite (Carver et al., 2011). La diminution de l'activité transcriptionnelle de AR induite par la perte de *PTEN* favoriserait ainsi intrinsèquement la résistance à la castration des cellules tumorales.

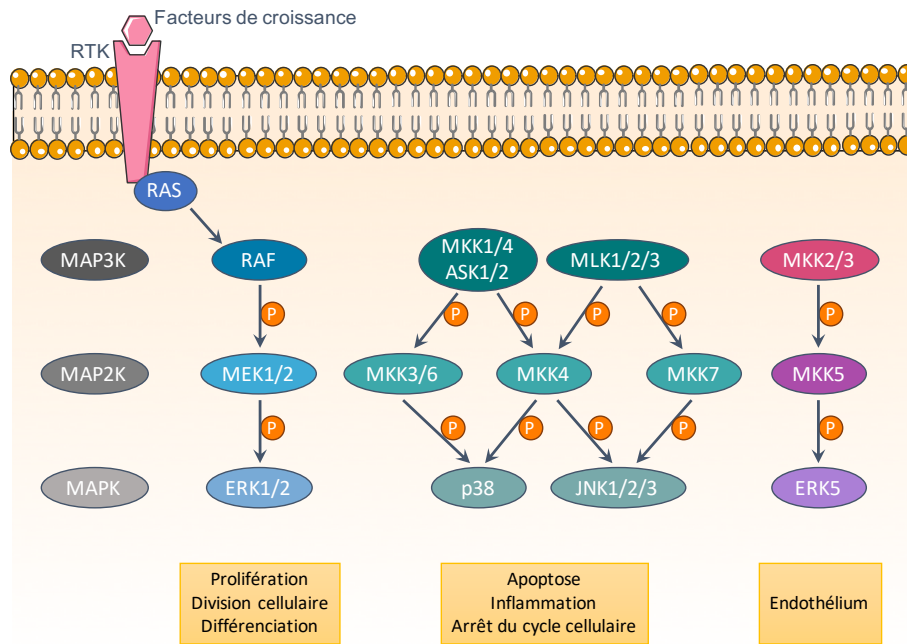


FIGURE 23 | VOIE DES MAPK

La signalisation des MAPK, en aval des récepteurs tyrosines kinases (RTK), fait intervenir 3 niveaux de kinases, MAP3K, MAP2K et MAPK pour réguler différentes fonctions cellulaires, notamment la prolifération et la division cellulaire pour la signalisation ERK.

b. Voie des MAPK

La voie des MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinases*) implique la phosphorylation en chaîne de 3 niveaux de kinases, MAPKKK, MAPKK puis MAPK en réponse à divers stimuli notamment mitogènes, en amont du récepteur tyrosine kinase (RTK) EGFR. En réponse aux facteurs de croissance, l'activation de la kinase Ras conduira à l'activation des kinases MEK1/2 puis des kinases effectrices ERK1/2. Ces dernières phosphoryleront à leur tour nombre de substrats impliqués dans la prolifération, la division, la différenciation ou encore le cycle cellulaire. Les kinases p38 et JNK sont communément impliquées dans la réponse au stress et à l'inflammation. Le rôle de la kinase ERK5 est moins bien décrit, bien qu'elle semble impliquée dans la formation de l'endothélium (Figure 23).

La voie RAS/RAF/MAPK est fréquemment altérée, à hauteur de 5 % des tumeurs primaires et 8 % des métastases (Armenia et al., 2018). Ces altérations comprennent des délétions des *MAP3K1*, *MAP3K7* et des mutations de *HRAS*, *KRAS* et *BRAF* (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2015) (Armenia et al., 2018). Chez la souris, l'activation constitutive de RAS (mutant *Ras*^{V12}) au sein de l'épithélium prostatique conduit au développement de néoplasies de bas grade dans 60 % des cas, et plus rarement, dans 7 % des cas, à la formation de carcinomes (Pearson et al., 2009). Cependant, combinée à d'autres altérations comme la perte de *Pten* ou la sur-activation de la voie WNT, l'activation de RAS favorise la survenue de carcinomes agressifs voire de métastases (Pearson et al., 2009) (Mulholland et al., 2012) (Jefferies et al., 2017).

c. MYC

L'un des gains de chromosomes le plus fréquent lors de l'initiation et de la progression tumorale concerne le chromosome 8q, et plus particulièrement le locus 8q24, codant l'oncogène MYC (Tomlins et al., 2007). L'amplification de *MYC* est retrouvée dans 8 % des tumeurs primaires et plus fréquemment encore dans les métastases (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2015) (Armenia et al., 2018). Le proto-oncogène MYC (c-MYC) est un facteur de transcription impliqué dans la régulation de nombreux gènes pro-prolifératifs. En modèle murin, la surexpression prostatique de *c-Myc* conduit au développement de néoplasies puis d'adénocarcinomes invasifs (Ellwood-Yen et al., 2003). En modèle cellulaire, la surexpression de *c-MYC* conduit à l'androgéno-indépendance des cellules LNCaP (Bernard et al., 2003).

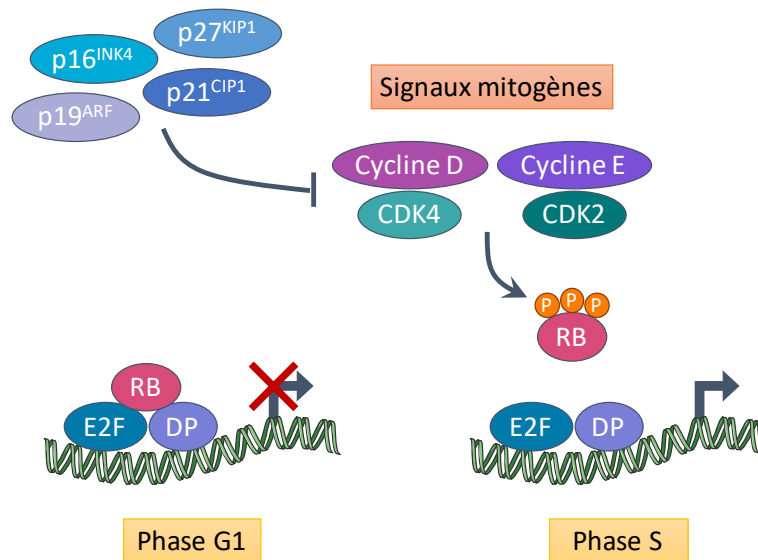


FIGURE 24 | SIGNALISATION RB

La protéine du rétinoblastome (RB) inhibe la progression du cycle cellulaire de la phase G1 vers la phase S en se liant au facteur E2F et à son partenaire DP afin de réprimer leur activité transcriptionnelle. En réponse aux signaux mitogènes, les complexes CyclineD/CDK4 et CyclineE/CDK2 favorisent la phosphorylation de RB, inhibant sa liaison au complexe E2F/DP et permettant ainsi l'entrée des cellules en phase S.

3. Échappement au suppresseur de croissance

a. RB

RB1 (*Retinoblastoma protein*) est un gène suppresseur de tumeurs, qui contrôle la progression du cycle cellulaire en inhibant la progression G1/S. Cette protéine inhibe l'activité des facteurs de transcription E2F, impliqués dans la progression vers la phase S du cycle, maintenant ainsi les cellules dans la phase G1 (Figure 24).

Des altérations de la signalisation RB (*CDKN1B*, *CCNE1*, *CDK2*, *RB1*) ont été retrouvées dans les cancers de la prostate (Taylor et al., 2010) (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2015) (Armenia et al., 2018). Ces études ont également montré que les altérations du cycle cellulaire sont enrichies dans les métastases par rapport aux tumeurs primaires (24 % *versus* 9 % des tumeurs) et touchent principalement les gènes *CDKN1B* et *RB1*. *RB1* est communément muté ou délété dans le cancer, et notamment dans les CRPC ; la perte de *RB1* étant le seul facteur génomique associé significativement avec la survie totale des patients CRPC (Abida et al., 2019).

En modèle murin, l'inactivation hétérozygote de *Rb1* induit la formation d'hyperplasies qui ne progressent cependant pas vers la formation de tumeurs malignes, suggérant un rôle de RB1 dans l'initiation tumorale (Maddison et al., 2004). De façon concomitante à l'inactivation de *Rb1*, l'augmentation de l'expression des gènes cibles de E2F est associée à l'augmentation de la prolifération épithéliale. L'inactivation homozygote de *Rb1* induit quant à elle la formation de PIN, mais que très tardivement chez des souris de plus de 18 mois (Zhou et al., 2006). Ces données montrent que la dérégulation du cycle cellulaire médiée par la perte de *Rb1* favorise la prolifération de l'épithélium prostatique mais n'est pas suffisante pour induire la formation de carcinomes. L'inactivation de *Rb1* dans le modèle *Pten*^{pc-/-} est par contre associée à la dissémination métastatique des tumeurs et à une diminution de la survie des souris (Ku et al., 2017). De même que l'inactivation de *Trp53*, l'inactivation de *Rb1* n'affecte pas significativement la prolifération mais inhibe la sénescence induite par la perte de *Pten* dans les lésions pré-cancéreuses.

Une étude récente a montré que la perte de RB, fréquemment observée dans les tumeurs et l'ADN circulant des patients CRPC, agit indépendamment du cycle cellulaire, en induisant une expansion et la reprogrammation de l'occupation de la chromatine par le facteur E2F1 (McNair et al., 2018). En effet, la perte de *RB1* favorise la progression et la résistance à la castration des tumeurs en augmentant l'activité de AR via le facteur E2F1 (Sharma et al., 2010). Par ailleurs, l'axe RB/E2F est également capable de réguler l'activité du récepteur HMMR (*Hyaluronan*

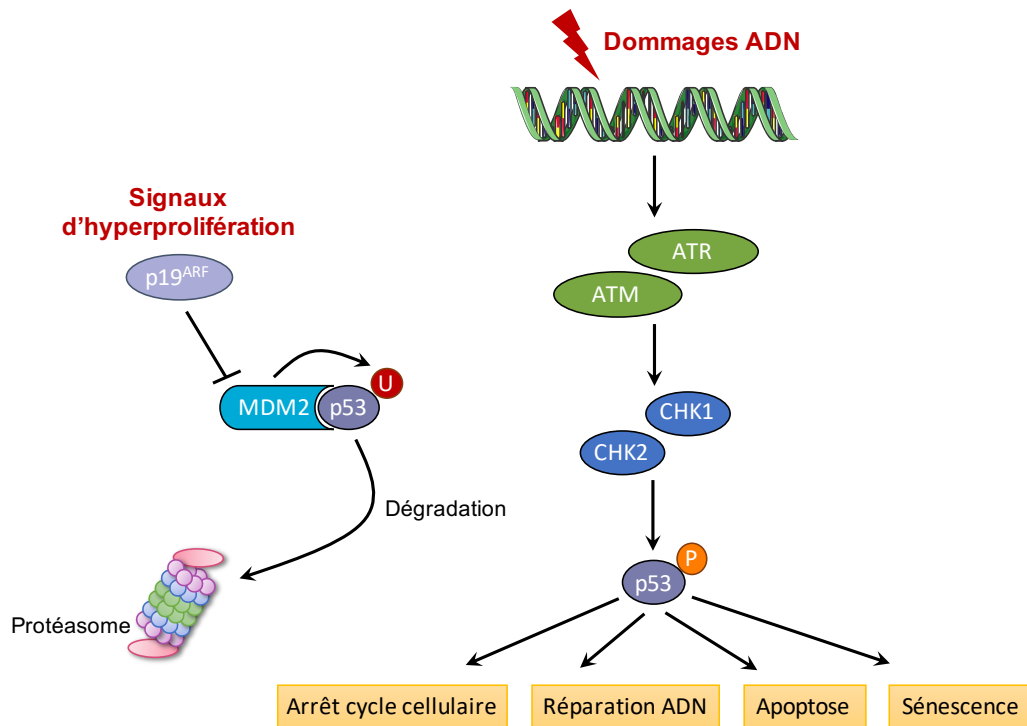


FIGURE 25 | p53

L'E3 ubiquitin ligase MDM2 favorise la dégradation de p53 par le protéasome en médiant son ubiquitinylation. En réponse à la présence de dommages à l'ADN, l'axe ATM-ATR/CHK1-CHK2 active la protéine p53 par phosphorylation pour conduire soit à la réparation de l'ADN soit à la mort de la cellule. De plus, des signaux d'hyper-prolifération peuvent inhiber la dégradation de p53 via l'action de p19^{ARF}.

Mediated Motility Receptor) de façon à favoriser la migration, l'invasion et l'EMT (*Epithelial-Mesenchymal Transition*) des cellules tumorales prostatiques (Thangavel et al., 2017).

b. TP53

La protéine p53 est un facteur de transcription impliqué dans la régulation de multiples fonctions telles que le cycle cellulaire, l'autophagie ou encore l'apoptose et la sénescence (Figure 25). *TP53* est sans doute le gène le plus fréquemment muté dans les tumeurs. Il est également fréquemment délété (Taylor et al., 2010) (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2015), dans près de 20 % des tumeurs et constitue ainsi le seul gène muté dans plus de 10 % des tumeurs (Armenia et al., 2018). De plus, les altérations de *TP53* sont enrichies dans les métastases par rapport aux tumeurs primaires.

De même que la perte de *Rb1*, la perte de *Trp53 in vivo* n'induit le développement de néoplasies que très tardivement (Zhou et al., 2006), alors que son invalidation favorise l'apparition précoce de carcinomes invasifs, létaux, dans le modèle de tumorigenèse prostatique *Pten^{pc-/-}* (Chen et al., 2005). Toutefois, l'invalidation combinée des suppresseurs de tumeurs *Rb1* et *Trp53* conduit au développement de carcinomes invasifs, résistants à la castration et de métastases à distance, suggérant un rôle important de la coopération de ces deux facteurs dans l'agressivité des tumeurs.

Plus récemment, deux études se sont penchées sur le rôle de RB1 et p53 et leur coopération dans l'agressivité des tumeurs prostatiques. Les souris triples mutantes *Pten^{pc-/-}; Rb^{pc-/-}; p53^{pc-/-}* présentent des carcinomes invasifs précocement, résistants à la castration, des métastases à distance et une faible survie. Les protéines RB1 et p53 sont capables de réprimer des facteurs de reprogrammation épigénétique tels que SOX2 et EZH2. Ainsi, leur invalidation favorise l'activité de ces facteurs, augmentant la plasticité de lignage des cellules tumorales, et leur conférant un avantage sélectif lors de la dissémination métastatique ou de la mise en place de l'ADT (Ku et al., 2017). La progression tumorale des patients traités par l'enzalutamide ou l'acétate d'abiratéronne est associée à des altérations de *RB1* et de *TP53*, ce qui est cohérent avec l'hypothèse que la perte de *RB1/TP53* confère un phénotype de résistance à la castration. Des analyses plus poussées ont révélé que l'inhibition de SOX2 restaurait la sensibilité à l'enzalutamide *in vitro* et *in vivo* (Mu et al., 2017). Au final, dans les adénocarcinomes initiés par la perte de *Pten*, la perte de *Rb1* favoriserait la plasticité de lignage des cellules tumorales et leur dissémination métastatique, tandis que la perte additionnelle de *Trp53* induirait la résistance à l'ADT.

4. Immortalité réplivative

Les cellules tumorales acquièrent une capacité illimitée de réplication pour former des tumeurs contrairement aux cellules normales qui possèdent un nombre limité de cycles de réplication. Cette acquisition d'une certaine immortalité réplivative est associée à deux processus limitant classiquement la prolifération : la sénescence, soit l'entrée des cellules dans un stade viable mais non prolifératif, et la crise cellulaire, qui implique la mort des cellules. Le nombre de réplivations d'une cellule est étroitement lié à la protection des télomères de la fin de chromosome, qui en temps normal raccourcissent progressivement à chaque cycle de réplication. La transition vers l'immortalisation sous-entend donc l'émergence d'une population cellulaire qui survit à cette crise et gagne la capacité de proliférer de façon non limitée.

a. Maintenance des télomères

Les télomères sont des séquences hautement répétitives de l'ADN, présentes aux extrémités des chromosomes, qui préviennent leur raccourcissement lors de la réplication car l'ADN polymérase est incapable de copier les derniers nucléotides de la séquence chromosomique. L'extrémité distale des télomères forme une boucle, une *T-loop*, maintenue par la présence de protéines *shelterin*, le tout stabilisant l'extrémité des chromosomes. La télomérase, une enzyme à activité transcriptase inverse, s'assure de la synthèse et du maintien des télomères, et est particulièrement active dans les cellules à fort renouvellement telles que les cellules souches. Cependant, dans la plupart des types cellulaires, l'expression du gène *TERT* codant la télomérase est réprimée, ce qui induit le raccourcissement des télomères à chaque division cellulaire. Au fur et à mesure des cycles de divisions et des raccourcissements télomériques, les cellules se dirigent vers une forme de crise, impliquant la sénescence ou la mort.

Les télomères sont essentiels au maintien de l'intégrité génomique. Leur raccourcissement est associé à la perte de chromosomes, à des réarrangements chromosomiques, des anomalies chromosomiques retrouvées dans les cellules tumorales notamment induites par le stress oxydant et l'inflammation (Graham and Meeker, 2017). Le raccourcissement des télomères est observé précocement dans les épithéliums HGPIN (Meeker et al., 2002) (Vukovic et al., 2003), mais également de façon plus fréquente dans les lésions cancéreuses par rapport au tissu sain. Concernant les patients, la diminution du contenu tumoral en ADN télomérique est associée à une plus forte probabilité de récivide à 6 ans (Fordyce et al., 2005). De plus, les tumeurs présentant une plus forte variabilité de la longueur des télomères dans les cellules tumorales prostatiques sont plus susceptibles de progresser vers la dissémination métastatique et le décès

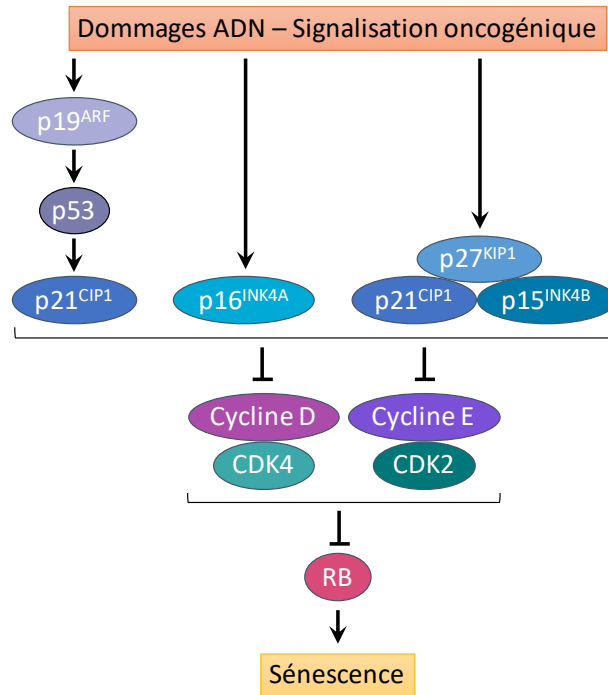


FIGURE 26 | SENESCENCE

En réponse à des dommages de l'ADN ou à l'activation de signalisation oncogéniques, les inhibiteurs du cycle cellulaire répriment l'activité des complexes cyclines/CDK impliqués dans la régulation de l'activité de RB, favorisant l'entrée en sénescence des cellules.

du patient (Heaphy et al., 2013). Ces observations suggèrent ainsi l'implication du raccourcissement des télomères dans le processus précoce d'initiation mais aussi dans l'agressivité du cancer de la prostate.

La progression tumorale est classiquement associée avec la réexpression de la télomérase afin de maintenir la capacité répliquative illimitée des cellules tumorales. Pour le cancer de la prostate, les données semblent peu claires. Le gène *TERT* n'est pas exprimé en condition basale dans les cellules prostatiques saines et ne semble pas présenter d'altérations dans les cellules tumorales (Graham and Meeker, 2017). *In vivo*, la réactivation de la télomérase dans le modèle murin de cancer de la prostate invalidé pour *Pten* et *Trp53* favorise l'apparition de dommages à l'ADN au sein des tumeurs qui acquièrent ainsi un phénotype agressif, avec la formation de métastases (Ding et al., 2012). L'oncogène *MYC* est connu pour réguler l'expression de *TERT* (Wu et al., 1999). Dans le cancer de la prostate, la surexpression de *MYC* corrèle avec l'expression de *TERT* (Latil et al., 2000). Par ailleurs, des analyses ont récemment montré la capacité de *MYC* à réguler l'expression de *TERC* codant pour un ARN non-codant entrant dans la composition de la télomérase, et ce dans des lignées cellulaires de cancer de la prostate (Valle et al., 2018).

b. Sénescence

La sénescence correspond à une forme d'arrêt du cycle cellulaire, et constitue un état viable mais non prolifératif des cellules. La sénescence pourrait s'opposer à la transformation tumorale induite par les oncogènes. En effet, les oncogènes peuvent induire un état sénescence via différents mécanismes moléculaires, impliquant notamment un stress répliquatif ou oxydatif, ou une réponse aux dommages à l'ADN (Figure 26).

Des analyses *in vitro* et *in vivo* ont montré que la perte homozygote et non hétérozygote de *PTEN* était associée à l'induction de la sénescence des cellules invalidées. Cette induction de la sénescence est perdue suite à l'inactivation de *TP53* ce qui suggère le rôle important de la sénescence induite par p53 en réponse à l'inactivation de *PTEN*. L'inactivation de *TP53* conduit *in vitro* à une augmentation de la prolifération cellulaire et *in vivo* à l'apparition plus rapide de carcinomes invasifs. Ainsi, les auteurs ont démontré l'importance de l'axe $p19^{Arf} \rightarrow p53 \rightarrow p21$ dans l'initiation de la sénescence et le contrôle de l'agressivité des tumeurs induites par l'inactivation de *Pten* (Chen et al., 2005). Une autre étude *in vivo* a montré que l'expression constitutive de *Atk1* induit l'apparition de néoplasies concomitantes à l'induction de $p27^{Kip1}$ et la sénescence des cellules luminales (Majumder et al., 2008). L'inactivation de $p27^{Kip1}$ induit une diminution de la sénescence et la progression des lésions

vers la formation de cancers. Par ailleurs, l'inactivation de SKP2 peut favoriser la sénescence induite par la perte d'expression de suppresseurs de tumeurs (Lin et al., 2010).

5. Réactivation de voies de signalisation développementale

La dérégulation d'un nombre important de gènes impliqués dans les signalisations WNT/APC/ β -caténine, Notch/Delta/Jagged et Hedgehog/Patched/Smoothed ont suggéré le rôle de la réactivation de voies développementales dans la tumorigenèse prostatique.

a. Signalisation Hedgehog

La signalisation Hedgehog joue un rôle important dans le développement embryonnaire de la prostate, dans le bourgeonnement des canaux et leur extension. Bien que l'on note une augmentation des données de la littérature sur le rôle de la signalisation Hedgehog dans le développement et la progression du cancer de la prostate, des controverses subsistent quant à son mode d'action. De plus, à ce jour, aucune altération évidente des acteurs de la voie n'a été retrouvée dans les analyses génomiques du cancer de la prostate si ce n'est une mutation perte de fonction de *SUFU* (Sheng et al., 2004) ; pour revue sur la signalisation Hedgehog dans le cancer de la prostate (Gonnissen et al., 2013). *In vivo*, la modulation de la voie en modèle murin n'induit pas de phénotype probant (Chen et al., 2011b).

b. Signalisation Notch

Le rôle de la signalisation Notch est également controversé dans le cancer de la prostate ; les données de la littérature en modèle cellulaire suggèrent une augmentation des capacités d'agressivité suite à l'activation de la voie Notch. Cependant, un rôle suppresseur de tumeurs lui a aussi été attribué. De même, les données issues de patients suggèrent à la fois un rôle pro ou anti-tumoral de Notch ; pour revue sur la voie Notch et le cancer de la prostate (Su and Xin, 2016). Une étude a pourtant montré une corrélation entre l'augmentation de la signalisation Notch et la dissémination métastatique, ainsi qu'une plus faible survie des patients (Kwon et al., 2016a). En modèle murin invalidé pour *Pten*, l'invalidation du facteur de transcription *Rbpj* a révélé que la voie de signalisation Notch endogène n'est pas requise pour l'initiation et la progression des tumeurs induites par la perte de *Pten*. Mais l'activation constitutive de Notch induit à la fois une augmentation de la prolifération et de l'apoptose des cellules tumorales prostatiques, ce qui conduit dans un premier temps à une réduction de la charge tumorale à 16 semaines, puis dans un second temps au développement de métastases à distance à 30-40 semaines, mais pas à l'émergence de la résistance à la castration (Kwon et al., 2016a).

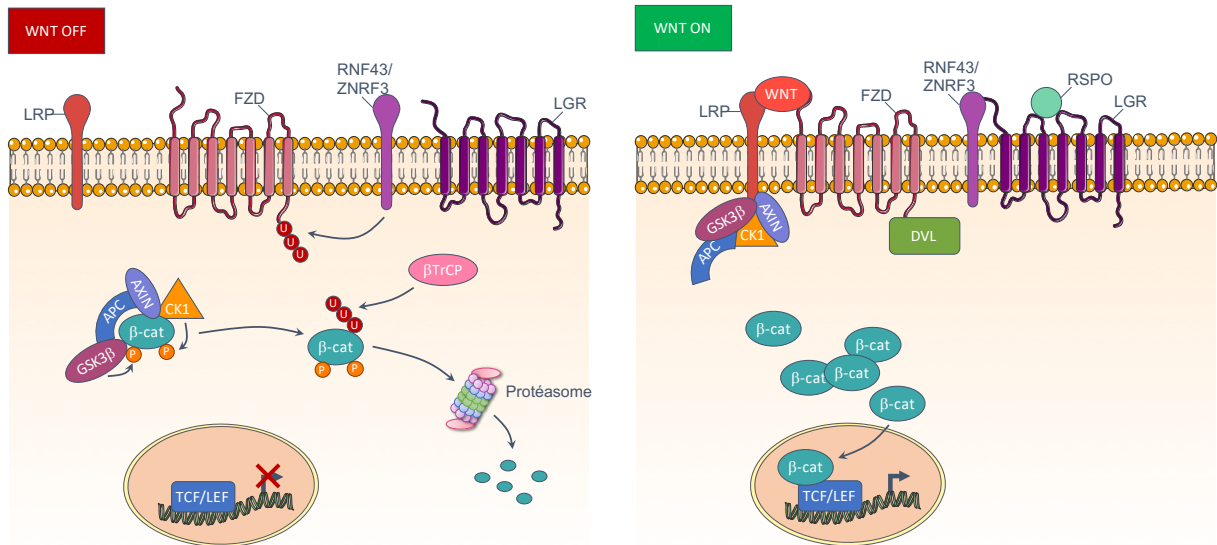


FIGURE 27 | VOIE WNT CANONIQUE

En l'absence de ligand WNT, la β -caténine est phosphorylée par le complexe de destruction composé des protéines APC, AXIN, GSK3 β et CK1, ce qui conduira à son ubiquitinylation par l'E3 ubiquitin ligase β TrCP et à sa dégradation subséquente par le protéasome. La liaison de WNT sur les récepteurs LRP et Frizzled (FZD) recrute le complexe de destruction à la membrane, empêchant ainsi la dégradation de la β -caténine. Celle-ci s'accumule alors dans le noyau et, après sa translocation nucléaire, elle se fixera sur des éléments TCF/LEF sur le promoteur de ses gènes cibles, favorisant leur transcription. La présence de ligands Rspodin sur le récepteur LGR séquestre les E3 ubiquitin ligase RNF43/ZNRF3, inhibant la dégradation du récepteur Frizzled. *Modifié d'après (Murillo-Garzón and Kypta, 2017).*

c. Signalisation WNT/ β -caténine

La voie WNT/ β -caténine joue également un rôle important dans le développement embryonnaire de la prostate, plus particulièrement dans le bourgeonnement des canaux (Francis et al., 2013). La β -caténine est l'effecteur clé de la voie WNT canonique. Sa stabilité est régulée par un complexe de destruction, comprenant les protéines AXIN et APC, qui induit sa phosphorylation, son ubiquitinylation et sa dégradation. La présence de la β -caténine à la membrane, par sa liaison avec les cadhérines, la protège de la dégradation (Figure 27). Il existe également une voie WNT non canonique qui fait suite à l'activation de différents récepteurs par la fixation des ligands WNT. Des études ont notamment impliqué le rôle de WNT5A et de WNT7B dans le CRPC ; pour revue sur la voie WNT et le cancer de la prostate voir (Murillo-Garzón and Kypta, 2017).

Les récentes analyses génomiques du cancer de la prostate ont permis d'identifier le gène *APC* comme fréquemment muté dans les tumeurs prostatiques (Barbieri et al., 2012) (Grasso et al., 2012) (Robinson et al., 2015) (Armenia et al., 2018). De manière générale, la voie WNT est altérée dans 6 % des tumeurs primaires et 19 % des métastases (Armenia et al., 2018) ; les altérations de la voie comprennent principalement des mutations inactivatrices de *APC* mais aussi des régulateurs négatifs de la voie *RNF43/ZNRF3*, des mutations activatrices *CTNNB1*, et plus rarement des altérations de *RSPO2* et *AXINI/2*. De façon intéressante, les altérations des E3 ubiquitin ligase *RNF43* et *ZNRF3* sont mutuellement exclusives des altérations de *APC* (Robinson et al., 2015).

En modèle murin, la surexpression de la forme active de la β -caténine conduit à la formation d'hyperplasies à 12 semaines et à l'initiation de HGPIN à 6 mois. De plus, l'activation constitutive de la β -caténine au sein de l'épithélium prostatique lui confère la capacité de proliférer en absence d'androgènes, contrairement à ce qui est observé dans la prostate sauvage (Yu et al., 2009b). Le développement de néoplasies suite à l'activation de la voie est associé à la réexpression de *FOXA2*, un facteur de transcription capable de réguler l'activité transcriptionnelle de AR, dont l'expression est normalement restreinte au développement embryonnaire de la prostate (Yu et al., 2009b) (Yu et al., 2011). Le modèle murin mutant *APC^{Min/+}* présente quant à lui une accumulation de la β -caténine associée à une hyperplasie observée à 1 mois, qui évoluera à 7 mois vers la formation d'adénocarcinomes, également résistants à la castration (Bruxvoort et al., 2007). Bien que l'interaction entre la β -caténine et AR ne soit pas complètement comprise à l'heure actuelle, les données de la littérature ont donné lieu à l'émission de plusieurs hypothèses quant à leur rôle dans la progression du cancer

de la prostate et plus particulièrement du CRPC. La question est de savoir s'ils interagissent de façon synergique ou opposée, les deux situations coexistant probablement (Schneider and Logan, 2018). Une autre étude intéressante a permis de montrer que la β -caténine n'était ni requise pour le maintien de la prostate à l'âge adulte, ni pour dans la tumorigenèse induite par la perte de *Pten* (Francis et al., 2013). A l'inverse, l'activation constitutive de la β -caténine favorise le développement de lésions plus précoces et invasives du cancer de la prostate initié chez les souris *Pten*^{pc-/-}. Ainsi, les données de la littérature montrent que la signalisation WNT est un contributeur important dans la progression du cancer de la prostate.

C. Dissémination métastatique du cancer de la prostate

La cascade métastatique désigne le processus par lequel les cellules d'une tumeur primaire acquièrent la capacité de former une nouvelle tumeur à distance (Lambert et al., 2017). Ce processus, en plusieurs étapes, requiert la formation de vaisseaux sanguins et lymphatiques, essentiels à la survie et au transport des cellules tumorales. Les cellules, suite à la perte d'adhésion locale, pourront se détacher de la tumeur primaire, envahir le stroma, et migrer pour s'échapper par les circulations sanguine et/ou lymphatique. Seul un nombre restreint de cellules ont la capacité de survivre hors de la tumeur primaire. Pour ces dernières, elles devront enfin s'échapper de la circulation, s'implanter et établir une colonie à distance, qui donnera lieu à une nouvelle tumeur, une métastase (Arya et al., 2006).

La formation des métastases est donc un processus lent et complexe qui nécessite des interactions permanentes entre les cellules tumorales et les cellules du microenvironnement. L'accumulation des nouvelles altérations moléculaires, la mobilisation de voies de signalisation impliquées dans l'adhésion cellulaire, le remodelage matriciel, la migration cellulaire et l'angiogenèse, sont autant de facteurs requis pour la dissémination métastatique.

1. La transition épithélio-mésenchymateuse (EMT)

L'EMT joue un rôle critique dans la progression du cancer et la dissémination métastatique. Les cellules tumorales d'origine épithéliale, détournent le processus de l'EMT pour devenir invasives, migrer et acquérir la capacité de disséminer à distance. Cependant, toutes les cellules tumorales ne sont pas capables de s'échapper de la tumeur primaire, et cette caractéristique semble spécifique à une sous-population de la tumeur primaire (Lamouille et al., 2014).

L'EMT n'est pas un programme binaire de différenciation des cellules tumorales, mais plutôt un processus par lequel les cellules acquièrent des caractéristiques de cellules mésenchymateuses tout en conservant certains marqueurs épithéliaux. Ce processus

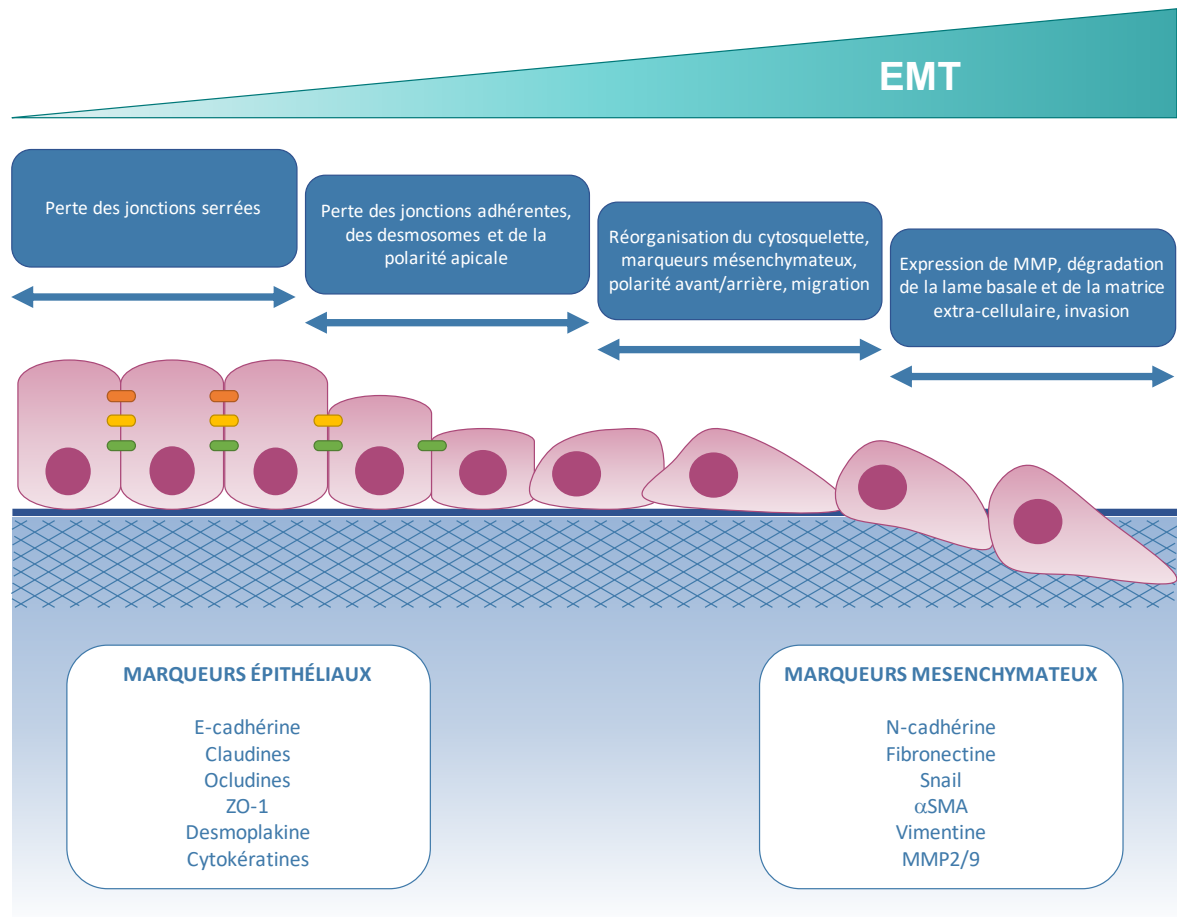


FIGURE 28 | TRANSITION ÉPITHÉLIO-MESENCHYMATEUSE

La transition épithélio-mésenchymateuse est caractérisée par la perte de marqueurs épithéiaux et par l'acquisition de marqueurs mésenchymateux par les cellules tumorales. Ce changement d'identité est associé à la perte d'adhésion cellulaire, et l'acquisition de la motilité et de capacités de migration et d'invasion. *Modifié d'après (Angadi and Kale, 2015).*

s'accompagne de plus de la dissolution des jonctions cellules-cellules, de la perte de la polarité apicale/basale et de l'acquisition d'une polarité avant/arrière, de la réorganisation du cytosquelette et d'un changement de la forme cellulaire, de la formation de protrusions, de l'acquisition de la motilité, et de la capacité des cellules à dégrader la matrice extracellulaire (Figure 28) ; pour revue sur l'EMT dans le cancer de la prostate (Montanari et al., 2017).

L'EMT est orchestrée par plusieurs facteurs de transcription, notamment pour les plus importants SNAIL, SLUG, TWIST et ZEB1. Différents signaux peuvent contribuer à l'EMT, dont principalement le TGF- β et les facteurs de croissance EGF, bFGF, IGF, HGF et PDGF. En aval de la voie du TGF- β , la signalisation implique principalement la voie des SMAD mais on observe également l'activation des voies PI3K/AKT, MAPK et des RHO GTPases.

Lors de l'EMT, la perte d'adhérence est due à la dissolution des jonctions serrées induite par la diminution de l'expression des claudines et occludines et la diffusion de ZO1. La perte des jonctions adhérentes est quant à elle accompagnée du clivage et de la dégradation de la E-cadhérine membranaire. La répression de la E-cadhérine est associée en parallèle à l'expression de la N-cadhérine. On observe également une perturbation des desmosomes et de l'intégrité des jonctions gap par une diminution des taux de connexines (Huang et al., 2012a).

L'invasion cellulaire est un processus qui requiert des changements profonds des cellules tumorales, concernant leur morphologie et leur motilité. Ainsi les cellules tumorales remanient leur cytosquelette suite à la polymérisation des filaments d'actine, changent de forme, avec la formation de protrusions qui favoriseront leur motilité. Ces processus sont principalement contrôlés par les GTPases Rac, Rho ou Cdc42 (Friedl and Alexander, 2011). En effet, les RHO GTPases régulent la dynamique de l'actine et contrôlent le réarrangement de filaments pendant l'EMT (Yilmaz and Christofori, 2009). L'avancement des cellules dans le tissu fait suite à la contraction des chaînes de myosine. Enfin, on observe un changement du répertoire des intégrines, impliquées dans la signalisation avec la matrice extracellulaire (Nisticò et al., 2012).

Selon le maintien ou non des capacités d'adhésion cellule-cellule, les cellules tumorales peuvent migrer soit seules, soit en cluster de cellules, ce qui a récemment été montré dans le cancer du sein et de la prostate (Aceto et al., 2014). La migration des cellules tumorales en cluster implique le maintien de l'expression de marqueurs de surfaces épithéliaux, comme l'E-cadhérine, pour permettre l'adhésion cellule-cellule.

2. Rôle du stroma dans la dissémination métastatique

a. Remodelage matriciel

Le remodelage de la matrice, par les changements dans sa composition et son organisation, favorise la survie, la migration et donc la dissémination des cellules tumorales. La rupture de la lame basale et la dégradation de la matrice localisée à proximité immédiate des cellules tumorales, implique l'action des métalloprotéinases (MMP), des endopeptidases zinc-dépendantes. Chez l'homme, les MMP exprimées sont au nombre de 23 (Kessenbrock et al., 2010). D'autres enzymes, telles que des sérines protéases comme l'activateur du plasminogène (uPA), ainsi que des cystéine/aspartate protéinases peuvent participer à la dégradation de la matrice. Concernant le cancer de la prostate, des études ont démontré plus particulièrement le rôle des MMP2 et MMP9 dans l'invasion et la dissémination des cellules tumorales prostatiques (Brehmer et al., 2003) (London et al., 2003) (Mehta et al., 2003). Leur action est à mettre en balance avec l'activité des inhibiteurs des MMP, les TIMP (*Tissue Inhibitors of MetalloProteinases*), dont la régulation en faveur de l'activité protéolytique est fréquemment observée dans le cancer.

b. Stroma réactif

Pendant la progression tumorale, le stroma (composé de fibroblastes, myofibroblastes, de cellules endothéliales et de cellules immunitaires) devient réactif et présente un état similaire à celui observé lors de la réparation des blessures. Le développement d'un stroma réactif chez les patients est un processus dynamique caractérisé par des altérations des voies de signalisation et de la production de facteurs de croissance (Dakhova et al., 2009). Il produit à ce titre un grand nombre de facteurs diffusibles, notamment du TGF- β , des ligands WNT et des cytokines, favorisant l'EMT des cellules tumorales. Les altérations du stroma ont été mises en évidence par une augmentation des marquages α -SMA (*α -Smooth Muscle Actin*) et vimentine indiquant un phénotype myofibrillaire, dans les zones tumorales par rapport au tissu sain des patients. *In vitro*, le traitement par le TGF- β induit la différenciation myofibroblastique des fibroblastes (Tuxhorn et al., 2002). Une étude a noté une augmentation des métabolites et de l'expression de gènes impliqués dans les fonctions immunitaires et le remodelage de la matrice. La présence d'un stroma réactif est de plus associée à la récurrence biochimique à 5 ans (Andersen et al., 2018).

Les CAF (*Cancer-Associated Fibroblast*), des fibroblastes aux caractéristiques de myofibroblastes exprimant notamment les marqueurs α -SMA, Vimentine, FSP-1, FAP, sont retrouvés dans un contexte de stroma réactif associé au cancer (Barron and Rowley, 2012). Leur

action serait pro-tumorale par la sécrétion de divers facteurs pro-angiogéniques ou pro-inflammatoires notamment (Gascard and Tlsty, 2016). Si la nature et le rôle des signaux produits ne sont pas très bien connus à ce jour, la sécrétion de TGF- β est sans doute la mieux décrite. En effet, la sécrétion de TGF β module l'activité des fibroblastes et induit une réponse adjacente de l'épithélium prostatique (Bhowmick et al., 2004). Les CAF peuvent aussi favoriser l'EMT et ainsi l'agressivité et la dissémination métastatique des cellules tumorales prostatiques (Giannoni et al., 2010). Enfin, les CAF peuvent coopérer avec les macrophages M2 pour favoriser également la motilité et la dissémination métastatique des cellules tumorales prostatiques (Comito et al., 2014).

c. Angiogenèse

Tout comme les tissus sains, les tumeurs requièrent un apport constant et adapté en nutriments et en oxygène, et doivent éliminer leurs déchets via la circulation générale. Le processus d'angiogenèse est donc un processus essentiel et concomitant à la formation des tumeurs. Ce processus, lié à la sécrétion de facteurs pro-angiogéniques (VEGF-A, bFGF, HGF, PDGF) et à l'inhibition de facteurs anti-angiogéniques (TSP1, angiostatine) permet l'induction de la prolifération des cellules endothéliales, leur migration et la formation de nouveaux vaisseaux ; pour revue sur l'angiogenèse et le cancer de la prostate (Russo et al., 2012). La production d'enzymes protéolytiques telles que les MMP est essentielle pour permettre la dégradation de la matrice extracellulaire et la formation des nouveaux vaisseaux.

Les facteurs pro et anti-angiogéniques sont sécrétés à la fois par les cellules tumorales et les cellules du microenvironnement (Carmeliet and Jain, 2011). L'expression du VEGF peut être régulée par l'hypoxie, via la protéine HIF-1 α , ou par les signalisations dépendantes des oncogènes, dont la voie PI3K/AKT (Zhong et al., 2000)(Bao et al., 2012). Par ailleurs, AR est également capable de contrôler l'expression de VEGF (Joseph et al., 1997).

Dans le cancer de la prostate, bien que la densité en microvasculature soit difficile à déterminer, elle ne semble pas être corrélée avec le score de Gleason, l'agressivité des tumeurs ou la survie des patients (Rubin et al., 1999). Le marqueur CD34, une glycoprotéine membranaire impliquée dans l'adhésion cellule-cellule, semble être cependant plus adapté pour estimer la microvasculature et son augmentation serait associée à la récurrence biochimique des patients (de la Taille et al., 2000).

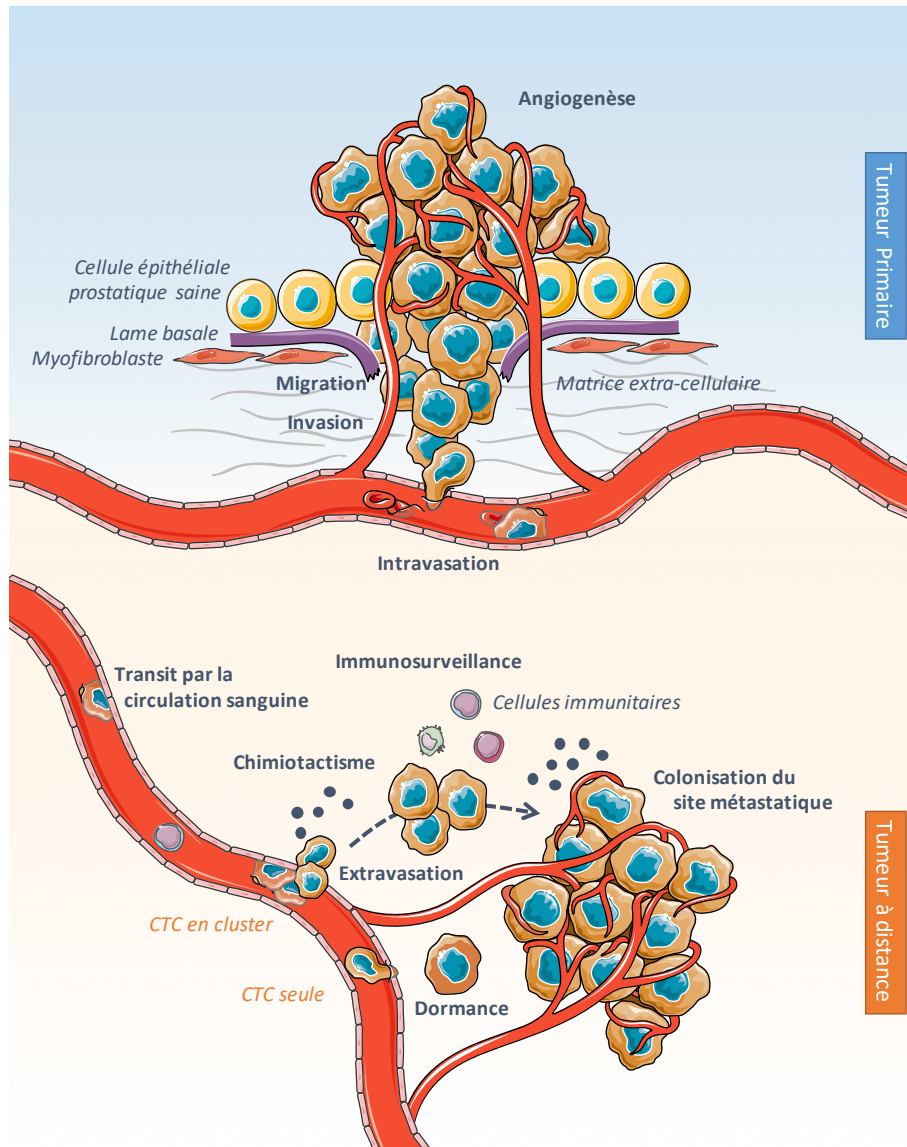


FIGURE 29 | DISSEMINATION METASTATIQUE DES CELLULES TUMORALES PROSTATIQUES

Les cellules de la tumeur primaire, après rupture de la lame basale, vont migrer et envahir la matrice extracellulaire avant de disséminer par la circulation sanguine (étape d'intravasation). Les cellules tumorales circulantes (CTC), qu'elles soient seules ou en cluster, pourront ensuite sortir de la circulation sanguine (étape d'extravasation) sous l'influence de signaux chimiotactiques. Pour les cellules tumorales qui auront échappé à la surveillance du système immunitaire, la colonisation du site métastatique conduira à terme à la formation d'une nouvelle tumeur à distance du site primaire. D'autres cellules tumorales n'auront pourtant pas la capacité de coloniser et entreront en dormance.

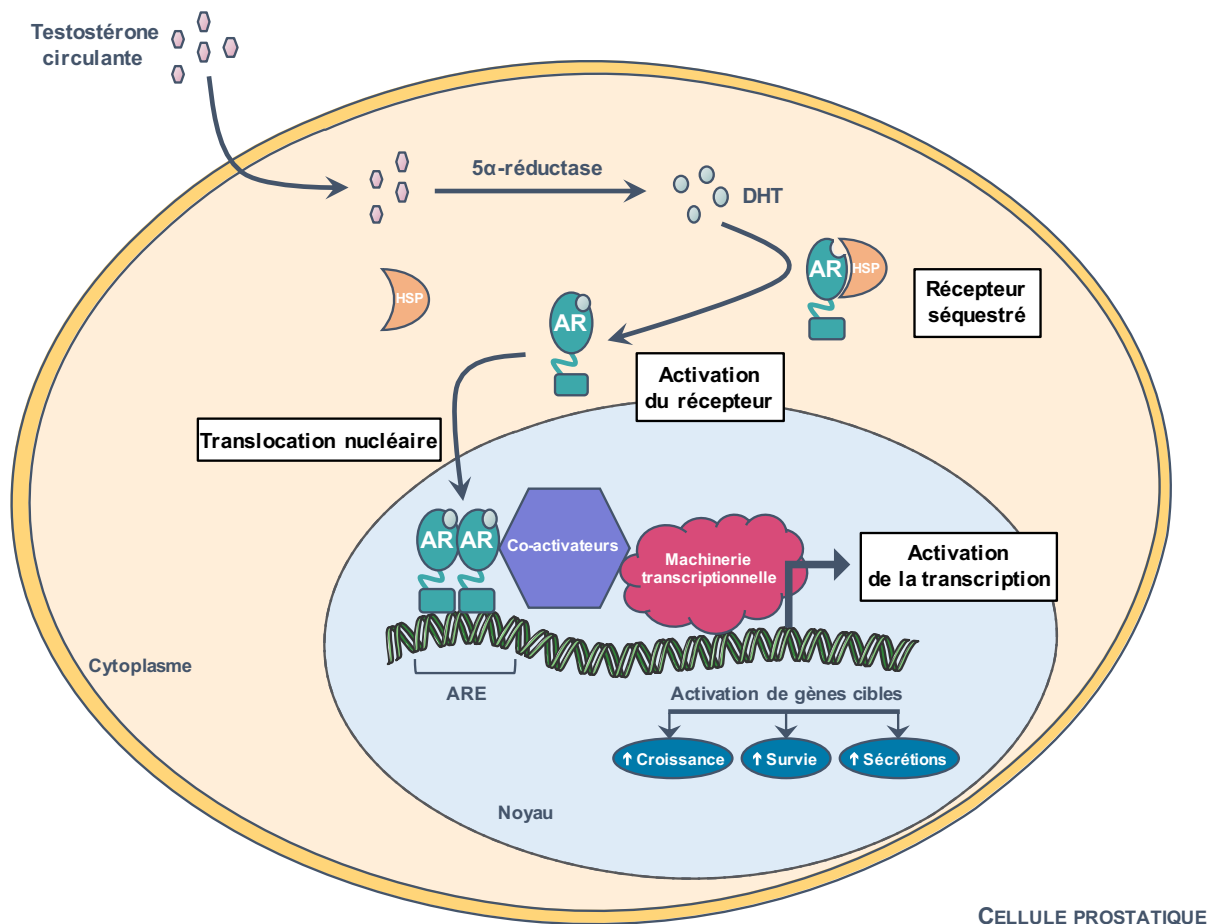
3. Colonisation métastatique

La croissance d'une colonie à distance représente l'étape finale de la dissémination métastatique. Cela requiert tout d'abord que les cellules tumorales traversent le mur endothélial des vaisseaux (étape d'extravasation). *In fine*, peu de cellules parviennent à coloniser le site distant, soit parce qu'elles sont éliminées, ou parce qu'elles entrent dans un état de dormance, dans lequel elles peuvent rester plusieurs jours à plusieurs années (Figure 29). Dans cet état, leur incapacité à proliférer, à induire de l'angiogenèse ou à échapper à la surveillance du système immunitaire peut être due à la présence de facteurs spécifiques à leur nouvel microenvironnement qui les maintiennent dormantes, ou au contraire à l'absence des facteurs qui leur sont nécessaires et qui étaient initialement présents dans la tumeur primaire. L'absence d'interaction avec la matrice peut aussi favoriser la dormance des cellules tumorales. Par exemple, le facteur BMP7, produit par les cellules stromales osseuses, peut induire la dormance des cellules tumorales prostatiques (Kobayashi et al., 2011). WNT5A induit également et maintient l'état de dormance dans l'os, de façon dépendante de ROR2 et SIAH2, en induisant l'inhibition de la voie WNT/ β -caténine (Ren et al., 2019). Le récepteur AXL via le TGF β induit aussi la dormance des cellules tumorales prostatiques (Yumoto et al., 2016). En miroir, l'échappement de la dormance pourrait être lié à diminution du TGF- β 2 et à l'adhésion cellulaire (Ruppender et al., 2015).

La propension des cellules tumorales prostatiques à disséminer vers l'os doit impliquer la capacité intrinsèque de ces cellules à s'adapter à ce microenvironnement particulier, alors que s'implanter dans d'autres tissus nécessiterait plus d'adaptation de leur part. Ainsi, l'axe CXCR4/CXCL12 semble jouer un rôle important dans le tropisme osseux des cellules tumorales prostatiques. En effet, la migration des cellules tumorales prostatiques et l'expression de MMP9 semblent dépendantes de l'axe CXCR4/CXCL12 *in vitro* (Chinni et al., 2006) (Singh et al., 2004) (Uygur and Wu, 2011).

D. Résistances thérapeutiques du cancer de la prostate – CRPC

Les formes avancées du cancer de la prostate sont classiquement traitées par hormonothérapie. Malheureusement, la plupart des patients, répondant initialement à la privation androgénique, font l'expérience d'une reprise de la croissance tumorale sous traitement, avec une médiane de 18 à 24 mois (Sharifi et al., 2005). La réponse des patients à la privation androgénique varie de quelques mois à des années mais progresse inévitablement vers un stade létal de la pathologie, le cancer de la prostate résistant à la castration (CRPC). L'émergence de cet état agressif, résistant à la castration, est défini par une ré-augmentation du PSA malgré un taux de testostérone faible (< 50 ng/dL) obtenu grâce à l'hormonothérapie (progression biochimique).



CELLULE PROSTATIQUE

FIGURE 30 | SIGNALISATION AR

La testostérone circulante, produite par les cellules de Leydig du testicule, pourra être captée par les cellules prostatiques. Au sein de ces dernières, elle pourra être convertie en DHT par l'enzyme 5 α -réductase. En se fixant sur AR, la DHT va permettre sa libération des protéines HSP. AR, ainsi activé, pourra alors transloquer dans le noyau, se dimériser et se fixer sur le promoteur de ses gènes cibles au niveau d'une séquence ARE. S'en suit alors le recrutement de co-activateurs et la transcription des gènes cibles, impliqués notamment dans la survie, la croissance mais aussi dans les fonctions de sécrétions des cellules prostatiques.

Il s'en suit une progression de la pathologie reflétée par la survenue de nouveaux symptômes et l'apparition de lésions des tissus mous et des os (progression radiologique).

1. Récepteur des androgènes

Parmi les androgènes, le principal circulant dans le plasma est la testostérone. Dans le plasma des hommes normaux, la testostérone libre représente seulement 2 % de la testostérone totale plasmatique, dont environ 40 % est liée par la SHBG et le reste (60 %) est lié par l'albumine et d'autres protéines avec moins d'affinité. L'androgène le plus actif dans la prostate est la DHT (dihydrotestostérone), qui est produit suite à la conversion de la testostérone par la 5 α -réductase ; elle lie le LBD de AR avec 2 à 10 fois plus d'affinité que la testostérone.

Les androgènes exercent leur activité à travers leur récepteur, AR, pour contrôler la différenciation cellulaire, le développement, la survie et la fonction de la prostate à l'âge adulte. AR (*NR3C4*) est un récepteur nucléaire activé par la fixation des androgènes, principalement la testostérone et la DHT. Le gène humain codant AR est situé sur le chromosome Xq12 et encode une protéine qui a les domaines caractéristiques des récepteurs nucléaires :

- Un domaine N-terminal (NTD) contenant le domaine d'activation,
- Un domaine de liaison à l'ADN (DBD), permettant la fixation de ce facteur de transcription sur les éléments de réponse aux androgènes (ARE), à proximité du promoteur des gènes cibles et ainsi leur transcription,
- Un domaine de liaison au ligand (LBD), dans le domaine C-terminal, le domaine responsable de la fixation des androgènes.

En l'absence de ligand, AR non lié est séquestré dans le cytoplasme par des protéines chaperonnes, principalement HSP90, ce qui prévient sa translocation nucléaire (Pratt and Toft, 1997). Suite à la fixation du ligand, AR change de conformation, induisant sa dissociation des HSP, sa phosphorylation et son homodimérisation. Ensuite, l'homodimère va transloquer dans le noyau et lier l'ADN au niveau d'un ARE sur le promoteur d'un de ses gènes cibles. Finalement, le recrutement de co-activateurs et de la machinerie transcriptionnelle permettra la transcription du gène cible (Figure 30).

Cependant, les androgènes peuvent avoir une rapide activité AR-dépendante sans fixation du récepteur sur l'ADN. Ces processus sont connus comme les activités non génomiques de AR. AR cytoplasmique peut induire des voies de signalisation comme les voies MAPK ou PI3K/AKT et ainsi influencer sur la signalisation AR, à travers la phosphorylation de AR lui-même ou de ses co-régulateurs ; pour revue : (Heinlein and Chang, 2002).

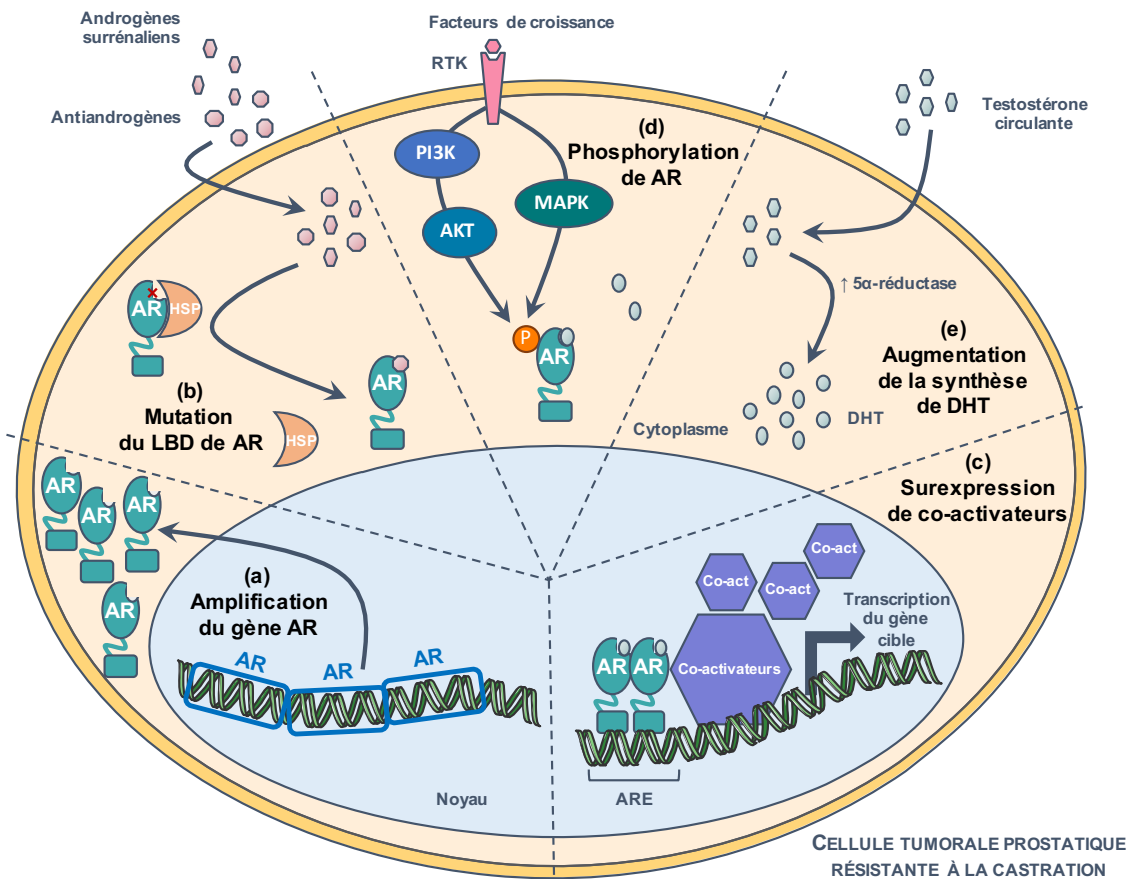


FIGURE 31 | MÉCANISMES DE RÉSISTANCE À LA CASTRATION DU CANCER DE LA PROSTATE

Différents mécanismes moléculaires peuvent expliquer la mise en place de la résistance à la castration du cancer de la prostate : (a) l'amplification du gène codant AR, présent ainsi en plusieurs copies, conduit à une augmentation de la synthèse protéique de AR ; (b) des mutations de *AR*, majoritairement au niveau du LBD, permettent son activation par des ligands non classiques, à savoir des androgènes surrénaliens ou des anti-androgènes ; (c) la surexpression de co-activateurs de AR permet de favoriser son activité transcriptionnelle en présence d'une faible quantité de ligand ; (d) l'activation par phosphorylation de AR en réponse à l'activité des voies PI3K/AKT ou MAPK et enfin (e) la surexpression de *SRD5A*, codant pour l'enzyme 5 α -réductase, permet d'accroître la conversion de la testostérone en DHT, et de fait, l'activation de AR.

2. Mécanismes de résistance à la castration

Le CRPC est associé à l'accumulation de nombreuses anomalies génomiques, avec un taux de mutations plus élevé que celui retrouvé dans les tumeurs primaires (4.4 mutations/mégabase), et de fréquentes altérations du nombre de copies et de fusions de gènes. Robinson et ses collaborateurs ont également rapporté que plus de 70 % des cas présentaient des altérations de la signalisation AR mais aussi de la voie PI3K (49 %), de la voie WNT (18 %) et du cycle cellulaire ou des processus de réparation de l'ADN (Robinson et al., 2015). Ainsi, les gènes les plus fréquemment altérés du CRPC sont *AR*, la famille ETS, *TP53*, *PTEN*, *RBI* (Grasso et al., 2012) (Robinson et al., 2015) (Abida et al., 2019). Les altérations de la signalisation AR sont relativement rares dans les tumeurs primaires, naïves, alors même que 63 % des métastases CRPC présentent des mutations ou des amplifications de *AR*, ainsi que des altérations touchant d'autres acteurs de la signalisation (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2015) (Kumar et al., 2016). Ces données soutiennent l'hypothèse d'une évolution clonale de la progression métastatique des patients CRPC.

La plupart du temps, la progression vers le statut résistant à la castration est associée avec la réactivation de la signalisation AR ; ainsi, AR continue de réguler l'expression de ses gènes cibles, comme la PSA. De plus, Wang a démontré que AR peut réguler un programme transcriptionnel distinct dans les cancers de la prostate androgéno-indépendants par rapport aux cancers androgéno-dépendants (Wang et al., 2009a). Ainsi dans le CRPC, AR va préférentiellement et sélectivement conduire à la surexpression de gènes mitotiques impliqués dans la phase M. Plus récemment, Han et ses collaborateurs ont examiné le cistrome d'AR *in vitro* et ont montré que la biosynthèse des lipides était réactivée et associée à la progression du CRPC (Han et al., 2017).

Dans le CRPC, et malgré l'hormonothérapie, la signalisation AR demeure active malgré de faibles taux de testostérone plasmatique. Malgré la diminution du taux de DHT plasmatique (7.5 % du taux avant l'hormonothérapie), la concentration intra-prostatique en DHT reste forte, et représente environ 25 % des taux contrôle (Nishiyama et al., 2004). De nombreux mécanismes sont responsables de cette transition. Actuellement, un consensus se dégage autour de 5 grands mécanismes pour expliquer l'augmentation de la signalisation AR dans l'émergence du CRPC (Figure 31).

a. Surexpression de *AR*

Parmi les anomalies observées dans le CRPC, les amplifications géniques au locus de *AR* sont retrouvées chez environ 30 % des patients sous hormonothérapie alors qu'elles sont absentes

chez les mêmes patients avant le début du traitement (Visakorpi et al., 1995b). Il est proposé que ce mécanisme permettrait aux cellules tumorales de s'adapter à de faibles taux en androgènes. *In vitro*, Chen et ses collaborateurs démontrèrent que l'amplification de *AR* seule était suffisante pour convertir les cellules de cancer de la prostate androgéno-sensibles en cellules androgéno-indépendantes, si *AR* présente un LBD intact (Chen et al., 2004).

Il existe cependant une hétérogénéité importante de l'expression de *AR* dans les biopsies de CRPC. Ainsi, dans 13 échantillons tumoraux analysés sur un total de 17, plus de 80 % des cellules tumorales étaient *AR*⁺, mais, pour un des échantillons analysés, la quasi-totalité des cellules était *AR*⁻ (van der Kwast et al., 1991). Ces variations à travers les échantillons tumoraux ont aussi été observées par Shah, dont environ 30 % des échantillons analysés avaient plus de 50 % de cellules *AR*⁺ et environ 40 % avaient moins de 10 % de cellules *AR*⁺ (Shah et al., 2004). Enfin, l'expression de *AR* est perdue dans certains mCRPC (Komiya et al., 2013). Les mécanismes expliquant la complète androgéno-indépendance des tumeurs restent inexplicés.

b. Mutation de *AR*

Les principales aberrations géniques de *AR* sont relativement bien décrites dans le CRPC et résultent en un « super *AR* » qui reste actif malgré l'hormonothérapie. Des mutations de *AR* sont retrouvées dans 10 à 30 % des CRPC (Waltering et al., 2012). Ceci permet aux tumeurs résistantes à la castration de devenir hypersensibles aux faibles taux d'androgènes circulants (Taplin et al., 1995).

De récurrentes mutations ponctuelles ont été observées, le plus souvent au niveau du LBD de *AR*, et ont été rapportées comme étant à l'origine d'une transition antagoniste vers agoniste : T878A pour le flutamide (Veldscholte et al., 1990) ou W742C pour le bicalutamide (Hara et al., 2003). D'autres mutations répertoriées permettent à *AR* de répondre à des agonistes non canoniques comme les androgènes surrénaliens, la progestérone, les glucocorticoïdes, les œstrogènes, ou des molécules anti-androgéniques (Mizokami et al., 2004) (Veldscholte et al., 1992) (Culig et al., 1993) (Zhao et al., 2000).

c. Sur-activation de co-régulateurs de *AR*

Un autre mécanisme responsable de la réactivation de la signalisation *AR* dans le CRPC mobilise les co-activateurs du récepteur. Par exemple, ARA70 joue un rôle important dans la transition antagoniste vers agoniste dans les cellules tumorales prostatiques DU145 (Miyamoto et al., 1998). *FOXAI*, un autre co-activateur des récepteurs nucléaires, est surexprimé dans les métastases du cancer de la prostate et particulièrement dans le CRPC (Gerhardt et al., 2012).

ITF2 et *SRC1* ont aussi été retrouvés comme surexprimés dans le CRPC (Gregory et al., 2001). De façon intéressante, certaines protéines peuvent jouer le rôle de co-activateurs de AR dans un contexte de résistance à la castration. Récemment, Xu et ses collègues ont montré que la lysine méthyltransférase EZH2 peut agir non pas comme un répresseur transcriptionnel mais comme un co-activateur de AR dans la lignée cellulaire androgéno-indépendante LNCaP-abl, contrairement à ce qui est observé dans la lignée parentale hormono-sensible LNCaP, et ainsi réguler un programme transcriptionnel distinct (Xu et al., 2012). AKR1C3 peut également jouer le rôle de co-activateur de AR (Yepuru et al., 2013). Pour l'instant, dans le cancer de la prostate et contrairement au cancer du sein, aucune diminution de co-répresseurs n'a été rapportée.

d. Activation de AR par des RTK

La progression du cancer de la prostate est associée à des anomalies de la signalisation des facteurs de croissance. La signalisation AR peut être activée dans le CRPC malgré de faibles taux d'androgènes, par des cascades de signalisation dépendantes de RTK comme celles de l'IGF ou de l'EGF qui conduisent à la phosphorylation de AR lui-même ou de ses co-régulateurs. Il en résulte une activation du récepteur en réponse à l'IGF-1, KGF et l'EGF même en l'absence de ligands androgéniques (Culig et al., 1994).

La surexpression de Her-2/neu (ERBB2, un membre des RTK de la famille de l'EGFR) a été observée dans 67 % des tissus de CRPC par rapport à 20 % des tissus hormono-naïfs analysés (Signoretti et al., 2000) (Osman et al., 2001). Dans la lignée cellulaire de cancer de la prostate LAPC-4, la surexpression de HER-2/neu tout comme son expression forcée dans des cellules androgéno-dépendantes, active la signalisation AR en l'absence de ligand et sensibilise AR à de faibles taux d'androgènes (Craft et al., 1999).

Yeh et ses collaborateurs ont trouvé que l'activation de AR via HER-2/neu était médiée par la voie MAPK qui phosphoryle AR sur le résidu Ser514 et induit ainsi le recrutement de co-activateurs (Yeh et al., 1999). De la même façon, AKT est un autre intermédiaire de l'activation de AR par HER-2/neu. HER-2/neu induit l'activation de AKT *in vitro* qui en retour phosphoryle AR sur les résidus Ser213/791 (Wen et al., 2000). Ces résultats ont été confirmés par Mellingshoff et son équipe qui ont observé une augmentation de la stabilité de AR et de son activité transcriptionnelle, en aval de l'activation de HER-2/neu (Mellingshoff et al., 2004).

e. Synthèse intra-tumorale d'androgènes

Le cancer de la prostate se nourrit des androgènes comme la testostérone ou la DHT. La première source d'androgènes pour les cellules tumorales est le testis et dans une moindre

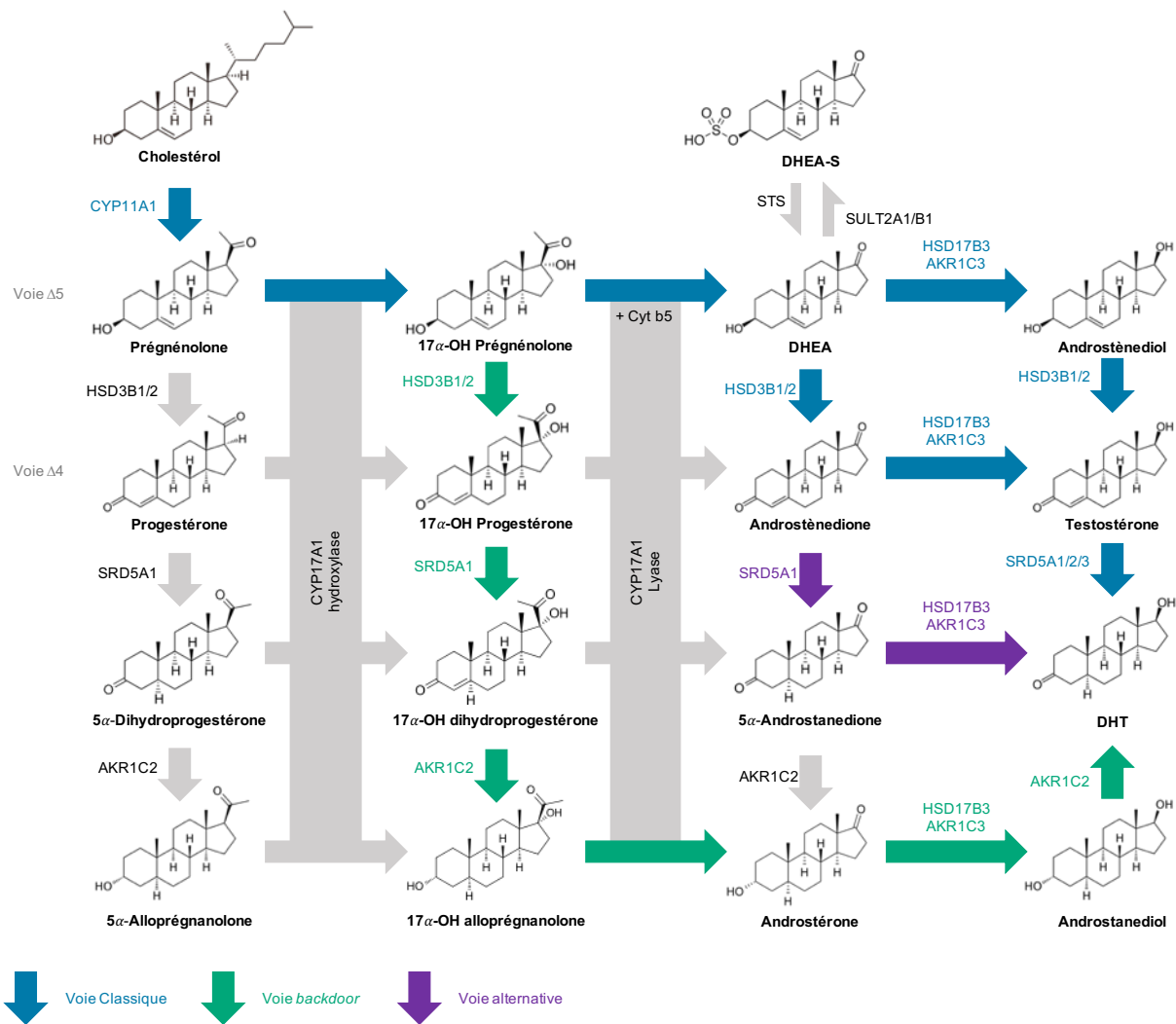


FIGURE 32 | STEROÏDOGENESE – VOIES DE SYNTHÈSE DES ANDROGENES

Le cholestérol est converti en précurseur C21 (prégnénone et progestérone) sous l'action de CYP11A1. Dans la voie classique (bleu), les stéroïdes C21 sont convertis en androgènes C19 (DHEA et androsténone) par CYP17A1, qui possède deux activités : hydroxylase et lyase. L'activité lyase de CYP17A1 nécessite le cofacteur cytochrome b5 et favorise la production de DHEA. La DHEA est ensuite convertie en testostérone sous l'action des enzymes HSD3B et HSD17B3 (ou AKR1C3). Enfin la 5 α réductase (SRD5A) convertit la testostérone en DHT. Dans la voie *backdoor* (vert), la 17 α -OH prégnénone est convertie en intermédiaires de la progestérone puis en androsténone. L'androsténone est ensuite convertie en androstanediol et enfin en DHT. Dans la voie alternative, l'androsténone est d'abord convertie en 5 α -androsténone puis en DHT sans l'intermédiaire de la testostérone. *Modifié d'après (Mostaghel, 2013).*

mesure, 5 à 10 %, la glande surrénale (Labrie, 2004). Dans les tissus tumoraux de CRPC, la persistance des taux d'androgènes malgré la privation androgénique suggère la synthèse intra-tumorale d'androgènes qui n'est pas complètement décrite (Locke et al., 2008) (Page et al., 2006) (Mostaghel et al., 2007).

Dans la stéroïdogénèse, plusieurs enzymes clés assurent les étapes de transformation et/ou de conversion de la prégnénolone en DHT (Figure 32). Parmi elles, CYP17A1, l'enzyme limitante pour la production d'androgènes, régule deux réactions successives pour convertir la prégnénolone en DHEA ; cette enzyme est surexprimée dans le CRPC (Montgomery et al., 2008). Une autre enzyme de la biosynthèse des androgènes est HSD3B1, qui convertit la DHEA en androstènedione dans la prostate comme dans la glande surrénale. Dans certains échantillons de patients CRPC et certaines lignées cellulaires (LNCaP, VCaP), un gain de fonction de la protéine accroît sa stabilité et augmente la conversion de la DHEA en DHT intra-prostatique (Chang et al., 2013). Un autre mécanisme important de la réactivation de AR dans le CRPC est la surexpression d'enzymes qui convertissent les androgènes surrénaux DHEA et androstènedione en testostérone et en DHT, parmi lesquelles AKR1C3 (Hamid et al., 2013).

Dans la voie classique, les androgènes sont convertis en DHT par une enzyme, la 5 α -réductase codée notamment par le gène *SRD5A2*. Cependant, dans les échantillons de CRPC, son expression est diminuée (Montgomery et al., 2008). Mitsiades et ses collaborateurs ont observé une augmentation de l'expression de *SRD5A1/3* qui continuent de convertir la testostérone en DHT malgré la faible expression de *SRD5A2* (Mitsiades et al., 2012).

Au-delà de la voie classique, il existe une voie *backdoor* qui permet la production d'androgènes via la surexpression de *AKR1C3* qui convertit l'androstènedione en DHT, sans l'intermédiaire de la testostérone (Stanbrough et al., 2006). Dans la voie alternative, la surexpression de *HSD17B6* permet la conversion de l'androstènedione en DHT (Mohler et al., 2011).

Des analyses récentes sur les taux d'androgènes plasmatiques révèlent l'importance de conjugués sulfatés comme des sources méconnues d'androgènes intra-tumoraux. La DHEA-S est un androgène surrénaux, et le précurseur prédominant pour la stéroïdogénèse intra-tumorale, particulièrement après traitement par l'acétate d'abiratéron (Tamae et al., 2015). De façon intéressante, les androgènes surrénaux 5-androstènediol-S et épi-androstérone-S sont aussi identifiés comme d'importants précurseurs pour la biosynthèse d'androgènes intra-prostatiques (Zang et al., 2017).

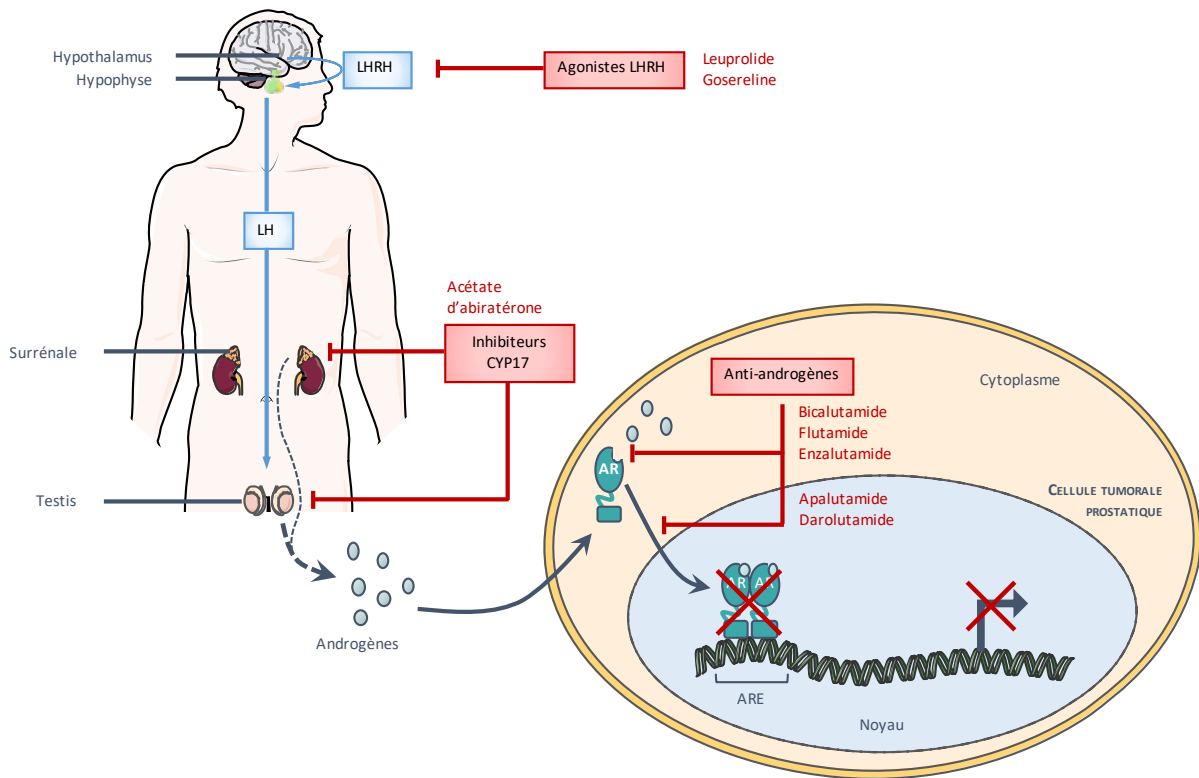


FIGURE 33 | L'HORMONOTHERAPIE DU CANCER DE LA PROSTATE

La privation androgénique peut être réalisée soit en diminuant les taux d'androgènes circulants soit en inhibant l'action des androgènes sur leur récepteur en utilisant des anti-androgènes. La combinaison des deux thérapies est connue sous le nom de blocage androgénique complet. L'administration d'agonistes de la LHRH va sur-stimuler le récepteur de la LHRH au niveau de l'hypophyse, induisant par la suite la désensibilisation et la perte d'expression de ce récepteur. Ainsi, la répression de la synthèse de LH supprime la synthèse de testostérone testiculaire par les cellules de Leydig. Les anti-androgènes agissent quant à eux en entrant en compétition avec les androgènes pour leur récepteur. Plus récemment, l'acétate d'abiratérone, un inhibiteur de CYP17A1, une enzyme de la stéroïdogénèse surrénalienne, a été développé dans le but de bloquer la synthèse d'androgènes testiculaire, surrénalienne mais aussi tumorale. Enfin une nouvelle génération d'anti-androgènes permet à la fois d'antagoniser le récepteur AR et d'inhiber sa translocation nucléaire.

Définir les mécanismes de résistance à l'hormonothérapie doit être le nouveau challenge pour le traitement des patients. Comprendre à la fois la réponse et la résistance à cette approche thérapeutique pourra permettre aux praticiens de proposer aux patients le traitement le plus approprié. Ainsi, le développement de nouvelles molécules ou d'approches combinées pour contrecarrer la résistance mais aussi augmenter la survie et la qualité de vie des patients est actuellement actif, comme en atteste le nombre croissant de publications d'essais cliniques de phase III dans le but de déterminer l'efficacité de ces nouvelles molécules selon l'histoire thérapeutique du patient.

3. Nouvelles molécules dans le traitement du cancer de la prostate (métastatique)

a. ADT

Malheureusement, les patients qui répondent initialement à la seconde génération d'anti-androgènes développent des résistances thérapeutiques. Il est connu qu'approximativement 20 à 40 % des patients présentent une résistance primaire à l'enzalutamide et à l'acétate d'abiratérone (i.e. ne répondent pas à ces traitements), les autres développant une résistance acquise (Antonarakis et al., 2014). Ainsi, ces dernières années, des études ont été entreprises pour comprendre les mécanismes de résistances à ces deux composés.

Comme pour la privation androgénique classique, un syndrome de rechute a été observé en réponse à l'enzalutamide dans la lignée cellulaire LNCaP quand AR présente la mutation F876L (Korpala et al., 2013). Cette mutation permet à l'enzalutamide de se comporter en agoniste de AR. Un autre mécanisme est la surexpression de *AKR1C3* qui est au moins en partie responsable de la résistance à l'enzalutamide dans les lignées cellulaires de CRPC (Liu et al., 2015). Un inhibiteur de *AKR1C3* a été évalué dans un essai clinique de phase I/II pour sensibiliser les patients mCRPC à l'enzalutamide (Pan et al., 2017). De plus, parmi les variants de AR observés dans les tumeurs CRPC, AR-V7 est associé avec les résistances à l'enzalutamide et à l'acétate d'abiratérone (Antonarakis et al., 2014).

La découverte de nouveaux mécanismes de résistance doit encourager le développement de nouvelles molécules (Figure 33). Actuellement, de nouveaux anti-androgènes de seconde génération sont en cours de développement pour le traitement du cancer de la prostate. L'apalutamide (ARN-509 ; Janssen) est un antagoniste de AR. Cette molécule indiquée dans le traitement des patients mCRPC a obtenu son AMM en janvier 2019. Les résultats de l'étude SPARTAN ont montré une augmentation du temps de survie sans survenue de métastases de 24 mois, ainsi qu'une augmentation du temps sans progression symptomatique des patients nmCRPC (non métastatique) (Smith et al., 2018). Le darolutamide (ODM-201 ; Orion, Bayer

HealthCare) est également un antagoniste de AR et un inhibiteur de sa translocation nucléaire. Les résultats de l'étude ARAMIS ont montré chez des patients nmCRPC un prolongement de 22 mois de la survie sans survenue de métastases, avec des bénéfices sur la survenue d'une symptomatologie douloureuse, ainsi que la survie totale (Fizazi et al., 2019). L'étude ARASENS a quant à elle étudié l'effet du darolutamide chez des patients mHSPC en addition avec le traitement de référence, ADT et docetaxel, et a montré une augmentation de la survie totale des patients. L'étude ARAMIS étudie actuellement l'effet du darolutamide chez des patients nmCRPC (NCT02799602). D'autres antagonistes de AR, le SHR3680 (Jiangsu Hengrui Medicine Co.) (NCT03520478) et le HC-1119 (Hinova Pharmaceuticals USA, Inc.) (NCT03850795), sont actuellement en essais cliniques de phase III. Le seviteronel (VT-464 ; Viamet Pharmaceuticals/Innocrin Pharmaceuticals) (NCT02130700, NCT02445976, NCT02012920), un inhibiteur de CYP17A1 et le proxalutamide (GT0918 ; Suzhou Kintor Pharmaceuticals) (NCT03899467), un antagoniste de AR qui inhibe également sa translocation nucléaire, sont actuellement en essai clinique de phase II.

D'autres molécules se sont révélées décevantes lors des essais cliniques. L'orteronel (TAK-700 ; Takeda Pharmaceutical Company) est un inhibiteur de CYP17A1. Les deux essais cliniques de phase III n'ayant pas montré d'effets sur la survie des patients, le développement de la molécule a été arrêté (Saad et al., 2015) (Fizazi et al., 2015). Le galeterone (TAK-001) est un inhibiteur de CYP17A1 et est également un antagoniste de AR. Ciblant les patients mCRPC, AR-V7⁺, l'essai ARMOR3-SV utilisant le galeterone a été arrêté suite à l'absence d'effet sur la survie sans progression en comparaison à l'enzalutamide (NCT02438007). Le ketoconazole, un inhibiteur de CYP17A1 non-sélectif a été testé en thérapie de deuxième ligne pour les CRPC. Bien que ce traitement induise une réponse biochimique, à ce jour, aucune étude n'a montré d'effet sur la survie totale des patients (Patel et al., 2018).

b. Inhibiteurs de PARP

L'intérêt pour les inhibiteurs de PARP est venu de l'observation que près de 20 % des patients présentent des altérations des voies de réparation des dommages à l'ADN (Mateo 2014). La molécule pour laquelle le développement est le plus avancé est l'olaparib. L'olaparib est le seul inhibiteur de PARP qui a montré une efficacité clinique dans des essais cliniques de phase III chez des patients atteints de cancer de l'ovaire, du sein, du pancréas et de la prostate présentant des mutations de l'un des 15 gènes des voies de réparation de l'ADN dont *BRCA1/2*, *ATM*, *CDK12*, *CHEK2* ou *PALB2*. Les premiers résultats de l'étude PROfound ont pour l'instant montré une augmentation de la progression sans récurrence chez des patients mCRPC en

comparaison avec l'enzalutamide ou l'acétate d'abiratéron (NCT02987543). L'essai PROpel teste quant à lui l'olaparib en thérapie de première ligne chez patients mCRPC en combinaison avec l'acétate d'abiraterone (NCT03732820).

D'autres inhibiteurs de PARP sont actuellement testés en clinique : le niraparib, essai de phase II GALAHAD (NCT02854436), le talazoparib, essai de phase III TALAPRO-2 (NCT03395197) et le rucaparib, essai de phase III TRITON3 (NCT02975934).

c. Chimiothérapie et radiothérapie ciblant le PSMA

Les thérapies ciblant le PSMA, un antigène présent à la surface des cellules prostatiques et surexprimé dans le cancer de la prostate, représentent une avancée majeure de ces dernières années.

Le BIND-014 (Hrkach et al., 2012) est une nanoparticule de docetaxel ciblant le PSMA. Plus précisément, cette nanoparticule est composée d'une couche superficielle hydrophile qui protège la nanoparticule du système immunitaire, d'un cœur hydrophobe composé d'un polymère biodégradable qui permet l'encapsulation et le relargage contrôlé du principe actif, et d'un ligand permettant de cibler l'interaction entre la nanoparticule et le PSMA, l'ACUPA, un dérivé de l'acide pentanedioïque, qui constitue un inhibiteur analogue du substrat du PSMA. Le test de cette nanoparticule lors d'un essai clinique de phase II a confirmé son action chez l'homme, avec une réponse observée chez environ un tiers des patients mCRPC, et sa relativement bonne tolérance (Autio et al., 2018).

L'utilisation de radioligands se liant au PSMA pour la réalisation de radiothérapies internes vectorisées est actuellement à l'étude. L'avantage de la radiothérapie ciblée étant de pouvoir délivrer de hautes doses de radiations spécifiquement aux cellules métastatiques et ce, en limitant les dommages aux cellules saines adjacentes. Le LuPSMA (^{177}Lu -PSMA-617) a montré lors d'un essai clinique de phase II sur des patients mCRPC une réponse biochimique et biologique, avec une diminution du taux de PSA de 50 % ou plus et une régression des métastases chez près de la moitié des patients (Hofman et al., 2018). Le même ligand couplé à un autre radioélément, l'actinium 225 (^{225}Ac -PSMA-617), offrirait une réponse biologique encore plus remarquable, avec 40 % des patients mCRPC en rémission biochimique 1 an après le traitement (Sathekge et al., 2019). De même, le terbium 161 (^{161}Tb -PSMA-617) semble offrir une réponse supérieure au LuPSMA (Müller et al., 2019). Différemment, des composés tels que le BAY2315497 utilisent un anticorps anti-PSMA couplé à un radioélément pour cibler spécifiquement les cellules tumorales prostatiques (NCT03724747).

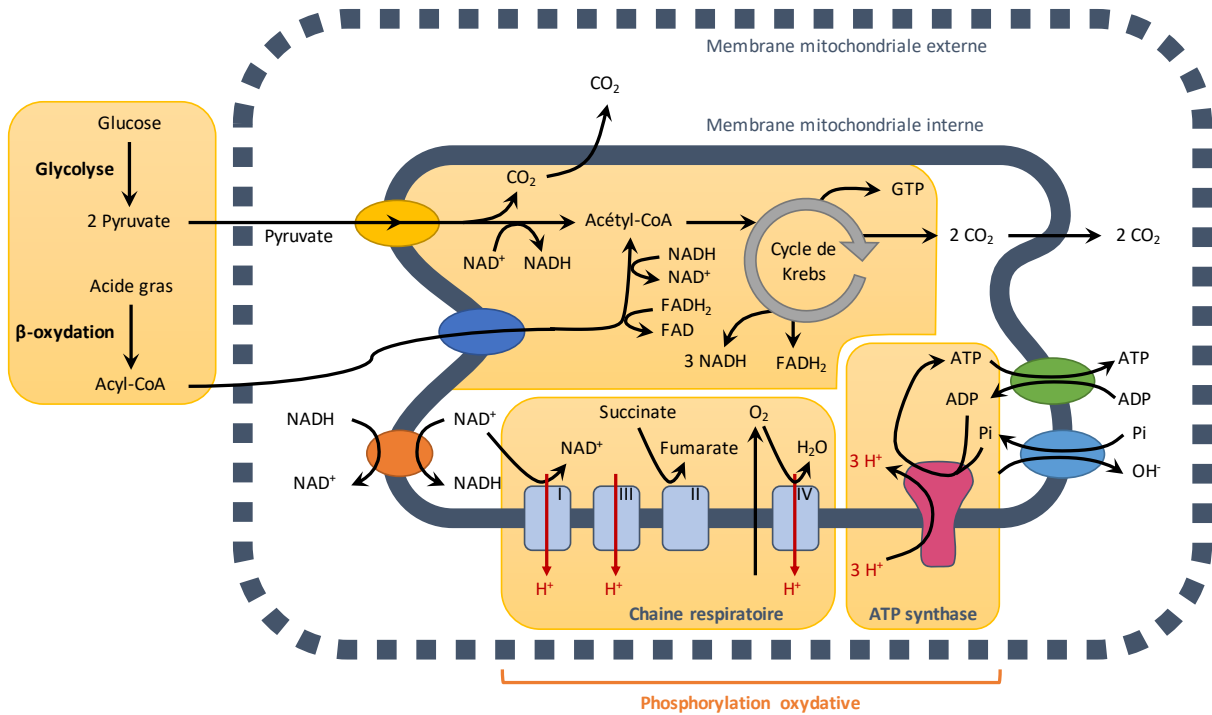


FIGURE 34 | ENERGETIQUE CELLULAIRE

Dans le cytosol, la glycolyse convertit le glucose en pyruvate et les acides gras sont convertis en acyl-CoA par la β -oxydation. Le pyruvate et l'acyl-CoA passent ensuite dans les mitochondries où ils seront convertis en acétyl-CoA. Dans la matrice mitochondriale, l'acétyl-CoA sera utilisé par le cycle de Krebs. Ces réactions produisent des accepteurs d'électrons, FAD/NAD. Dans la chaîne respiratoire, le transport d'électrons réduit l'oxygène en eau et crée une force proton-motrice vers l'espace inter-membranaire mitochondrial. L'ATP synthase utilisera cette force proton-motrice pour synthétiser l'ATP dans la matrice mitochondriale.

III. METABOLISME DES TUMEURS PROSTATIQUES

A. Métabolisme cellulaire en condition normale et tumorale

Des changements importants du métabolisme cellulaire s'opèrent lors de la transformation tumorale des cellules. Il est aujourd'hui clair que des modulations de l'activité de voies de signalisation, affectées par des anomalies moléculaires, s'accompagnent de changements métaboliques pour soutenir la croissance tumorale. Ces changements métaboliques concernent les quatre grandes familles de macromolécules (les sucres, les lipides, les protéines et les acides aminés) et ont pour but la génération rapide d'ATP et de substrat pour soutenir la croissance cellulaire. Il est donc important de comprendre les changements métaboliques qui s'opèrent pour mieux décrire les processus de tumorigenèse.

Ainsi, comme les « *hallmarks* » répondent aux caractéristiques qui permettent la survie, la prolifération et la dissémination des cellules tumorales, la dérégulation du métabolisme peut être considérée comme une « *hallmark* » émergente. En effet, la reprogrammation de l'énergétique de la cellule tumorale par rapport à la cellule non transformée contribue également à soutenir et favoriser la tumorigenèse.

1. Énergétique cellulaire

L'ATP est la molécule clé de l'énergétique cellulaire. Elle est produite au niveau de la mitochondrie par une suite de réactions enzymatiques, la phosphorylation oxydative. Au-delà de cette réaction, si l'accepteur final d'électrons est l'oxygène, on parle de la respiration cellulaire aérobie ; si l'oxygène est présent en quantité insuffisante, en anaérobie, la cellule utilisera la fermentation du lactate pour produire de l'énergie. L'oxydation aérobie du glucose, par la glycolyse au niveau du cytosol, ou des acides gras, par la β -oxydation (ou FAO, *Fatty Acid Oxidation*) au niveau de la matrice mitochondriale, permet *in fine* la génération d'ATP (Figure 34). La glycolyse conduit, à partir du glucose, à la production du pyruvate qui sera transféré à la mitochondrie et transformé par la PDH (Pyruvate Déshydrogénase) en acétyl-CoA. La β -oxydation oxyde les acides gras en acyl-CoA de façon à ce que chaque cycle libère 2 unités de carbone sous forme d'acétyl-CoA et ce, jusqu'à ce que la chaîne carbonée soit complètement dégradée en acétyl-CoA. L'acétyl-CoA sera alors pris en charge par le cycle de Krebs (ou TCA, *Tricarboxylic Acid Cycle*) pour produire de l'énergie, stockée sous forme d'ATP.

Le cycle de Krebs permet la synthèse de transporteurs d'électrons à haute énergie : le NADH et le FADH₂. Ces transporteurs joueront ensuite un rôle important dans l'étape suivante d'oxydation mitochondriale : le transport d'électrons dans la chaîne respiratoire, permettant de

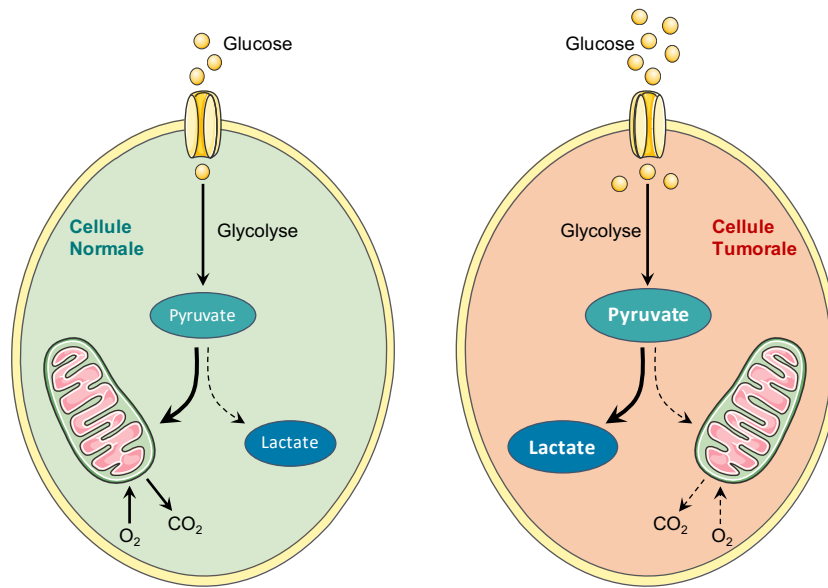


FIGURE 35 | EFFET WARBURG

Classiquement, les cellules saines utilisent le pyruvate issu de la glycolyse pour la production d'énergie par la mitochondrie en condition aérobie. Le pyruvate pourra en condition anaérobie être transformé en lactate. A l'inverse, les cellules tumorales nécessitent un apport plus important en glucose pour produire de façon accrue du pyruvate qui sera ensuite transformé préférentiellement en lactate, indépendamment des conditions d'oxygénation. Ce processus est connu sous le nom d'effet Warburg.

généraliser une force proton-motrice, nécessaire à l'activité de l'ATP synthase et ainsi à la génération d'ATP. Chez l'homme, l'oxydation des graisses permet la synthèse de davantage d'ATP que celle du glucose (environ 6 fois plus).

2. Altérations métaboliques des cellules tumorales

Les cellules tumorales ont un important besoin en énergie pour assurer leur croissance et leur prolifération. Contrairement aux cellules non transformées, qui dans des conditions normales d'aérobie, utilisent de faibles quantités de glucose pour générer du pyruvate qui sera ensuite oxydé par la mitochondrie via la phosphorylation oxydative, les cellules tumorales utilisent de grandes quantités de glucose par la glycolyse où le pyruvate sera utilisé pour la formation et la sécrétion de lactate et ce, non pas en condition anaérobie comme on pourrait le voir dans des conditions normales mais bien en condition aérobie. Ainsi, les cellules tumorales utilisent la fermentation lactique et s'affranchissent de la phosphorylation oxydative en condition aérobie : c'est l'effet Warburg. Ceci permet la production d'ATP de façon plus rapide mais moins efficace que via la phosphorylation oxydative par unité de glucose consommée, puisque chaque molécule de glucose a un rendement de seulement 2 molécules via la fermentation du lactate dans le cytoplasme au lieu d'environ 36 molécules d'ATP par la respiration cellulaire. Cette réorientation du métabolisme cellulaire est une caractéristique commune des cellules tumorales relativement bien caractérisée (Warburg et al., 1927) (Warburg, 1956). Il en résulte une augmentation de la consommation du glucose et une diminution de la phosphorylation oxydative, en faveur de la production de lactate par la cellule tumorale (Figure 35).

Ainsi, l'imagerie TEP scan FDG (FluoroDéoxyGlucose) s'appuie sur cette capacité des cellules tumorales à capter de façon importante le glucose, afin d'imager et de distinguer les cellules tumorales en utilisant le glucose comme traceur radioactif, le ¹⁸F-FDG. Le glucose radiomarqué sera préférentiellement absorbé par les cellules tumorales, reflétant leur activité métabolique accrue par rapport aux cellules saines. Cependant, le cancer de la prostate présente un phénotype métabolique différent. Les cellules prostatiques normales échappent de base à la phosphorylation oxydative et les tumeurs de la prostate utilisent préférentiellement les lipides et d'autres molécules énergétiques pour la production d'énergie (Dueregger et al., 2015). Du fait de la faible activité glycolytique du cancer de la prostate, cette technique n'est pas assez sensible et les tumeurs prostatiques n'apparaissent que peu ou mal avec cette technique d'imagerie. On lui préférera comme traceurs la choline ou l'acétate radiomarqués : la choline est utilisée par la cellule pour la synthèse de sa membrane cellulaire et l'acétate est un marqueur indirect de la synthèse des acides gras (Schöder and Larson, 2004) (Schuster et al., 2016).

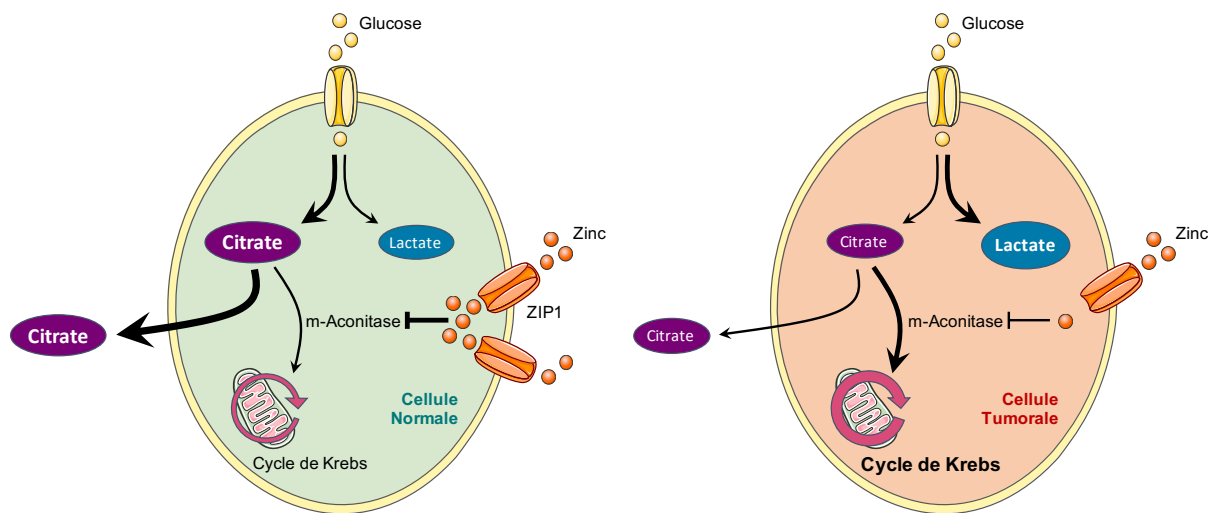


FIGURE 36 | UTILISATION DU CITRATE PAR LES CELLULES PROSTATIQUES

Les cellules prostatiques normales présentent un métabolisme particulier. La forte expression du transporteur ZIP1 conduit les cellules prostatiques à accumuler fortement le zinc, inhibant ainsi l'activité de l'enzyme m-Aconitase. Le citrate produit est alors majoritairement excrété par la cellule pour entrer dans la composition des sécrétions prostatiques. Les cellules tumorales prostatiques présentent au contraire une diminution de l'accumulation de zinc, ce qui lève la répression sur la m-Aconitase, favorisant l'utilisation du citrate par le cycle de Krebs.

3. Métabolisme des cellules prostatiques normales et tumorales

Les altérations métaboliques jouent un rôle crucial dans le développement, la progression et la résistance thérapeutique du cancer de la prostate (Giunchi et al., 2019). Dans l'idée de comprendre les altérations métaboliques qui surviennent en contexte tumoral, il est important de comprendre le métabolisme basal des cellules prostatiques saines. Dans la mitochondrie de la plupart des mammifères, le pyruvate produit par la glycolyse est décarboxylé pour générer de l'acétyl-CoA, qui va ensuite réagir avec l'acide oxaloacétique pour générer du citrate qui sera ensuite oxydé dans le cycle de Krebs pour fournir *in fine* de l'énergie à la cellule.

Les cellules prostatiques normales présentent un métabolisme particulier lié à leur fonction (Eidelman et al., 2017). Notamment, les cellules épithéliales de la zone périphérique de la prostate humaine présentent la particularité de produire et d'excréter le citrate, qui entre ainsi dans la composition des sécrétions prostatiques, et qui ne sera donc pas oxydé pour produire de l'énergie. Ceci est dû à l'accumulation de zinc dans la mitochondrie qui prévient la fonction de la m-aconitase (Tsui et al., 2006), l'enzyme mitochondriale qui catalyse l'oxydation du citrate par le cycle de Krebs (Costello et al., 1997) (Costello and Franklin, 1998). Ainsi le citrate s'accumule dans la cellule et est excrété comme un composant des sécrétions prostatiques. La capacité des cellules épithéliales prostatiques à accumuler le zinc s'explique par la forte expression du transporteur du zinc ZIP1 (Costello et al., 2011). En accumulant le zinc et donc le citrate, les cellules épithéliales prostatiques présentent un métabolisme particulier et unique concernant la production d'ATP, qui se traduit par une activité limitée du cycle de Krebs. Elles se comportent donc différemment de la majorité des cellules et sont caractérisées par une certaine inefficience énergétique (Figure 36).

Comme l'accumulation du zinc dans la mitochondrie est toxique pour la cellule et a une action pro-apoptotique (Feng et al., 2002), les cellules tumorales préfèrent diminuer leur accumulation de zinc afin de limiter la mortalité cellulaire (Costello et al., 2005). Dès lors, les taux de zinc ne sont plus suffisants pour inhiber l'activité de la m-aconitase. Un changement métabolique s'opère ainsi lors de la transformation tumorale des cellules prostatiques en faveur de l'élimination du zinc et de l'oxydation du citrate. En effet, la transformation tumorale s'accompagne d'une altération de l'expression des transporteurs du zinc (de la famille SLC30 et SLC39) dont *ZIP1* (SLC39A1) (Franz et al., 2013). Ceci permet aux cellules tumorales l'utilisation du citrate par le cycle de Krebs, favorisant ainsi la phosphorylation oxydative. Ainsi la réduction de l'accumulation du zinc présente un double intérêt, celui d'inhiber l'apoptose due à sa toxicité et celui d'augmenter le métabolisme cellulaire en faveur de la respiration

	Cellules normales	Cellules tumorales	Cellules métastatiques
Phosphorylation oxydative	Inactive	Active	Inactive
Cycle de Krebs	Inactive	Active	Inactive
Glucose	Consommé	Consommé	Consommé
Lactate	-	Consommé	Accumulé
Citrate	Sécrété	Consommé	-

FIGURE 37 | ALTERATIONS METABOLIQUES DES CELLULES PROSTATIQUES

Modifié d'après (Cutruzzola et al., 2017).

cellulaire. Ainsi, contrairement à la majorité des cellules tumorales, les cellules tumorales prostatiques ne se conforment pas à l'effet Warburg et présentent une augmentation de l'utilisation du citrate et de l'activité du cycle de Krebs en comparaison avec les cellules prostatiques normales (Costello et al., 2004) (Costello and Franklin, 2006) (Figure 37).

B. Métabolisme lipidique du cancer de la prostate

Le cancer de la prostate est considéré comme une tumeur non glycolytique, avec un phénotype lipogénique, caractérisé par une augmentation de la lipogenèse, où les acides gras sont utilisés de façon prédominante comme substrat énergétique (Liu et al., 2010). Des altérations du métabolisme lipidique stimulent le phénotype tumoral des cellules prostatiques, en favorisant l'énergétique cellulaire, mais aussi en modifiant la signalisation cellulaire (en modulant la synthèse et la composition des membranes, la signalisation membranaire, par des modifications post-traductionnelles ou en agissant comme des molécules de signalisation).

1. Altérations du métabolisme lipidique

Les principales voies métaboliques altérées dans le cancer de la prostate incluent la synthèse *de novo* des lipides, la β -oxydation, la phosphorylation oxydative en plus de la glycolyse et du cycle de Krebs (Giunchi et al., 2019). L'altération de la glycolyse et de la phosphorylation oxydative supporte la réorientation du métabolisme vers une augmentation de la glycolyse aérobie dans les tumeurs létales, de même que l'on observe une altération du métabolisme des acides gras dans les tissus tumoraux par rapport aux tissus sains (Kelly et al., 2016).

Les acides gras qui sont synthétisés *de novo* ou captés par les cellules tumorales seront catabolisés par la β -oxydation pour permettre la production d'énergie, stockés au niveau du cytoplasme dans des gouttelettes lipidiques pour les protéger de l'oxydation, ou seront convertis en phospholipides pour entrer dans la composition des membranes (Carracedo et al., 2013). Cette accumulation de gouttelettes lipidiques est particulièrement retrouvée dans les cancers de la prostate agressifs et métastatiques (Yue et al., 2014) ainsi que dans les cellules tumorales circulantes (CTC) (Mitra et al., 2012). La lipogenèse n'est pas la seule source de lipides pour la cellule tumorale. En effet, les cellules tumorales peuvent capter les lipides circulants ou provenant des adipocytes du microenvironnement, mais aussi mobiliser et relarguer des lipides stockés dans les gouttelettes lipidiques (Gazi et al., 2007) (Kuemmerle et al., 2011) (Zaidi et al., 2013). Les adipocytes du tissu adipeux péri-tumoral jouent ainsi un rôle important dans la progression du cancer (Nieman et al., 2013). Une plus forte activité de MMP9 est mesurée au sein du tissu adipeux péri-prostatique chez des sujets obèses en comparaison avec des sujets normaux (Ribeiro et al., 2012a). De plus, l'utilisation de milieu conditionné issu de la culture

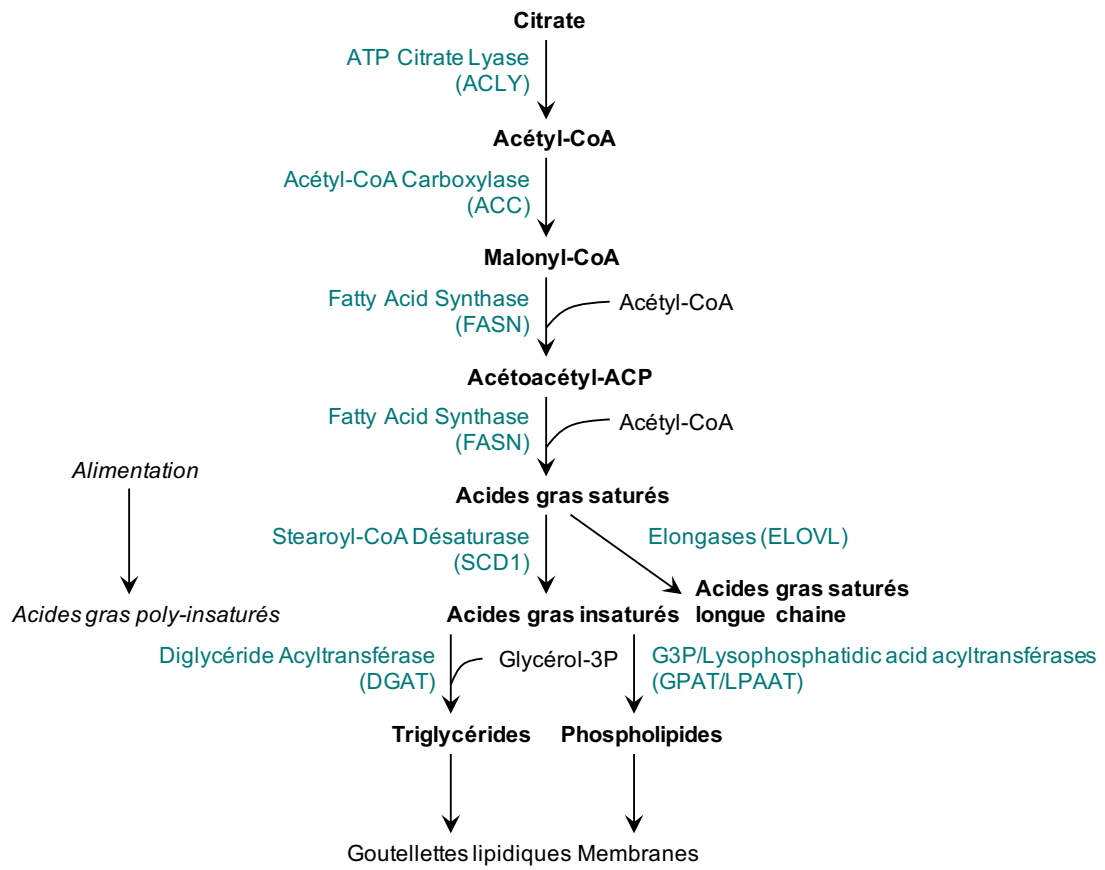


FIGURE 38 | LIPOGENESE

Représentation schématique des principales enzymes impliquées dans la lipogénèse.

d'explants de tissu adipeux péri-prostatique montre une augmentation de la prolifération et des capacités migratoires des cellules tumorales prostatiques (Ribeiro et al., 2012a) (Sacca et al., 2012). Ces données suggèrent un rôle du tissu adipeux péri-prostatique dans l'agressivité et la dissémination du cancer de la prostate. D'autres résultats indiquent que le tissu adipeux péri-prostatique, qui présente d'important taux d'IL-6, pourrait constituer une source de cytokines et moduler ainsi l'agressivité du cancer de la prostate (Finley et al., 2009).

De fait, l'augmentation de la lipogenèse, caractéristique clé des cellules tumorales prostatiques, est liée à une surexpression de *FASN* (*Fatty Acid Synthase*) dans les lésions précancéreuses et tumorales par rapport aux tissus sains ou aux lésions bénignes (Swinnen et al., 2002). De plus, son expression tend à augmenter avec la progression de la tumeur, de LGPIN vers HGPIN puis vers le stade carcinome invasif (Rossi et al., 2003). L'enzyme AMACR est également surexprimée dans les cancers de la prostate et représente un marqueur plus spécifique des tumeurs que ne l'est FASN (Rubin et al., 2002). Même si sa fonction reste à éclaircir, cette enzyme est impliquée dans la β -oxydation des acides gras ainsi que dans la fonction péroxysomale.

2. Altérations de la lipogenèse

Les cellules tumorales nécessitent plus de lipides, qui peuvent notamment être issus d'une augmentation de leur synthèse *de novo* (Figure 38). L'enzyme cytosolique ACLY (*ATP citrate lyase*) catalyse la génération d'acétyl-CoA, à l'origine de la synthèse des acides gras et du cholestérol. La lipogenèse permet ensuite la conversion de l'acétyl-CoA en acides gras saturés. L'enzyme limitante est l'ACC (*Acetyl-CoA Carboxylase*) qui convertit l'acétyl-CoA en malonyl-CoA. L'enzyme FASN combine les groupements acétyl et malonyl pour produire des acides gras saturés à longue chaîne puis l'enzyme SCD (*Stearoyl-CoA Desaturase*) convertit les acides gras saturés en acides gras monoinsaturés. Les élongases ELOVL1-7 (*ELongation of Very Long chain fatty acids protein*) catalysent l'élongation des acides gras. Des données de la littérature montrent que l'ensemble des enzymes précédemment citées sont surexprimées dans le cancer de la prostate (Swinnen et al., 1997a) (Gorlov et al., 2009) (Massie et al., 2011) (Sharma et al., 2013). De plus, l'augmentation de l'expression des enzymes impliquées dans la synthèse *de novo* de lipides est associée à un plus mauvais pronostic du cancer (Swinnen et al., 2006) (Menendez and Lupu, 2007). L'activation de la lipogenèse intervient à tous niveaux (génétique, augmentation de la transcription et de la traduction, stabilisation de la protéine et phosphorylation, régulation allostérique, flux de substrat) et se passe en aval de différents événements oncogéniques (perte du suppresseur de tumeurs *PTEN*, activation de AKT, perte

ou mutation de *TP53* ou de *BRCA1*, sous l'action des hormones stéroïdes, en contexte d'hypoxie ...) (Currie et al., 2013).

En modèle cellulaire, l'inhibition de *ACLY* induit un arrêt de la prolifération dû à la privation en acides gras et/ou en cholestérol des cellules (Zaidi et al., 2012), et inhibe également la croissance des cellules tumorales xéno greffées (Hatzivassiliou et al., 2005). Par ailleurs, cette enzyme est à la fois une cible de AR et de pAKT dont l'accumulation est augmentée en réponse à la perte de *PTEN* dans le cancer de la prostate (Berwick et al., 2002) (Massie et al., 2011).

L'augmentation de l'expression de l'enzyme *FASN* joue un rôle majeur dans la synthèse des phospholipides qui entrent dans la composition des radeaux lipidiques, d'importantes plateformes de signalisation membranaire ; elle contrôle donc ainsi leur composition (Swinnen et al., 2003). La surexpression de *FASN* est également associée à l'augmentation des acides gras saturés et mono-insaturés et à une diminution des acides gras polyinsaturés en comparaison aux tissus bénins. Ainsi la lipogenèse est couplée à une augmentation de la saturation des phospholipides dans les tumeurs (Rysman et al., 2010). Ceci rend les lipides moins sensibles à la peroxydation ; ces cellules sont donc moins sensibles à la mort cellulaire médiée par le stress oxydant. Ceci peut également affecter la fluidité de la membrane et sa perméabilité aux agents chimiothérapeutiques. Des inhibiteurs de *FASN* (C75), de *ACC* (Soraphen) ou de *ACLY* (SB-204990) induisent une diminution de la viabilité des cellules tumorales prostatiques seulement lorsqu'elles sont cultivées en absence de lipoprotéines, qui représentent une source exogène de lipides (Beckers et al., 2007) (Hatzivassiliou et al., 2005).

La surexpression de *SCD1* est associée à l'augmentation de la prolifération cellulaire *in vitro* des cellules tumorales prostatiques, en favorisant l'activité transcriptionnelle de AR (Kim et al., 2011). A l'inverse, son inhibition perturbe la synthèse lipidique et diminue la prolifération des cellules tumorales prostatiques xéno greffées, qu'elles soient androgéno-dépendantes ou indépendantes (Fritz et al., 2010).

Dans les cellules tumorales prostatiques, la surexpression de *ELOVL7* est régulée par les androgènes via *SREBP1* (*Sterol Regulatory Element Binding Protein*), à l'image d'autres enzymes de la lipogenèse (Tamura et al., 2009). Les auteurs ont démontré qu'*in vitro*, *ELOVL7* était préférentiellement impliquée dans l'élongation des très longues chaînes d'acides gras saturés. L'inhibition de *ELOV7* réduit la croissance des cellules tumorales prostatiques et affecte leur lipidome, notamment les phospholipides et les esters de cholestérol.

3. Androgènes et régulation du métabolisme lipidique

De nombreux gènes impliqués dans le métabolisme cellulaire, qu'il soit glucidique, lipidique ou anabolique, sont dépendants des androgènes et régulés par AR à la fois en condition normale et tumorale (Massie et al., 2011) (Sharma et al., 2013). Si les androgènes ont un effet stimulant sur de multiples voies métaboliques, ceci est plus particulièrement vrai concernant le métabolisme lipidique. En effet, le traitement de cellules LNCaP par des androgènes naturels ou synthétiques conduit à une augmentation de l'accumulation des gouttelettes lipidiques (composées de triglycérides et d'esters de cholestérol) dans le cytoplasme des cellules, qui est expliquée par une augmentation de la synthèse des acides gras et du cholestérol (Swinnen et al., 1996). Ce phénotype est inversé avec l'utilisation d'antagonistes de AR ou dans des cellules n'exprimant pas AR. Plus récemment, une autre étude a confirmé l'augmentation de l'absorption cellulaire d'acides gras, de cholestérol, et de LDL en réponse au traitement par des androgènes de cellules tumorales prostatiques exprimant AR (Tousignant et al., 2019). Cet effet est réversé *in vitro* par l'utilisation d'un antagoniste de AR, l'enzalutamide, ou *in vivo*, par la castration des souris porteuses de tumeurs xénogreffées. Par ailleurs, les auteurs ont noté une augmentation de l'expression des transcrits et des protéines de transporteurs lipidiques dans les métastases osseuses par rapport au tissu primaire. Ceci peut être expliqué par le rôle inhibiteur de AR sur l'absorption de lipides exogènes par les cellules tumorales prostatiques, notamment via l'expression de *FABP* (*Fatty Acid Binding Protein*), une protéine impliquée dans le transport et le captage des acides gras (Pinthus et al., 2007).

L'un des mécanismes les mieux décrits par lesquels les androgènes stimulent la lipogenèse *de novo* est via la régulation de l'activité des facteurs SREBP (Swinnen et al., 1997b) (Swinnen et al., 2000a) (Heemers et al., 2006). En modèle cellulaire LNCaP, la stimulation de l'expression de *FASN* par les androgènes est associée avec l'accumulation de lipides dans les cellules (Swinnen et al., 1997a). De plus, ces mêmes auteurs ont démontré que les androgènes stimulent l'expression des transcrits SREBP, ainsi que l'accumulation des précurseurs immatures et de formes nucléaires matures dans les cellules. Cela atteste du rôle central de SREBP dans la régulation par les androgènes de l'expression de gènes lipogéniques tels que *FASN* (Swinnen et al., 1997b). Par la suite, il a été confirmé que les androgènes stimulent l'expression de *FASN* et de *HMGCS*, des enzymes impliquées dans la synthèse des acides gras et du cholestérol respectivement, et ce de façon dépendante de l'activité transcriptionnelle de SREBP (Heemers et al., 2001). Cette même étude a également noté la capacité des androgènes à induire l'expression de *SCAP*, une protéine impliquée dans l'activation des facteurs SREBP. Des

GENES	FONCTIONS	REFERENCES
Fatty acid synthase (FASN)	Synthèse des acides gras	(Swinnen et al., 1997a)
Acétyl-CoA carboxylase (ACC)	Synthèse des acides gras	(Swinnen et al., 1997b)
Enzyme malique (malate deshydrogenase)	Synthèse des acides gras	(Swinnen et al., 1997b)
ATP citrate lyase (ACLY)	Synthèse des acides gras	(Swinnen et al., 1997b)
Stearoyl-CoA désaturase (SCD)	Déasturation des acides gras	(Nelson et al., 2002)
Elongation of very long chain fatty acid protein 5 (ELOVL5)	Elongation des acides gras	(Nelson et al., 2002)
Acyl-CoA synthetase long chain family member 3 (ACSL3)	Activation des acides gras	(Nelson et al., 2002)
Fatty acid amide hydrolase (FAAH)	Signalisation lipidique	(Segawa et al., 2002)
Phospholipid phosphatase 1 (PLPP1)	Signalisation lipidique	(Ulrix et al., 1998)
Acyl-CoA binding protein (ACBP)	Transport des acides gras	(Nelson et al., 2002)
HMG-CoA synthase (HMGCS)	Synthèse du cholestérol	(Swinnen et al., 1997b)
HMG-CoA réductase (HMGCR)	Synthèse du cholestérol	(Swinnen et al., 1997b)
Farnesyl diphosphate synthase (FDPS)	Synthèse du cholestérol	(Swinnen et al., 1997b)
24-dehydrocholesterol reductase (DHCR24)	Synthèse du cholestérol	(Nelson et al., 2002)
Low density lipoprotein receptor (LDLR)	Captage du cholestérol	(Segawa et al., 2002)
SREBP-cleavage-activating protein (SCAP)	Régulateur lipogénèse	(Heemers et al., 2001)
Sterol-regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c)	Facteur de transcription lipogénique	(Swinnen et al., 1997b)
Sterol-regulatory element-binding protein-2 (SREBP-2)	Facteur de transcription lipogénique	(Swinnen et al., 1997b)

FIGURE 39 | GENES ANDROGENO-REGULES IMPLIQUES DANS LE METABOLISME LIPIDIQUE

Modifié d'après (Swinnen et al., 2004).

analyses moléculaires plus précises ont démontré la présence d'un ARE au niveau de l'intron 8 de *SCAP*, responsable de sa régulation directe par les androgènes (Heemers et al., 2004). De façon intéressante, SREBP peut réciproquement réguler l'expression de *AR* par la présence d'un élément de réponse SRE dans la séquence 5'UTR de *AR* (Huang et al., 2010) (Huang et al., 2012b) (Li et al., 2014).

Si en modèle de xénogreffes de cellules CWR22, la castration diminue l'expression de *FASN*, la reprise de la croissance tumorale, et la progression androgéno-indépendante des tumeurs est associée à l'augmentation de l'expression de *FASN* (Myers et al., 2001). Une autre étude utilisant des xénogreffes de cellules LNCaP a confirmé que la progression androgéno-indépendante est associée à la surexpression de SREBP et des gènes en aval impliqués dans la synthèse des lipides (*ACBP*, *FAS*, *FDPS*) (Ettinger et al., 2004). Ainsi, l'inhibition de *FASN* par un nouvel inhibiteur, l'IPI-9119, inhibe la croissance et induit l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose de cellules androgéno-dépendantes et androgéno-indépendantes (Zadra et al., 2019). Cet effet passe par une profonde reprogrammation du métabolome des cellules tumorales de la prostate, par l'induction d'un stress du réticulum endoplasmique et par l'inhibition subséquente de l'expression des protéines AR-FL et AR-V7, impliquées dans la mise en place du CRPC. *In vivo*, l'IPI-9119 inhibe la croissance tumorale des xénogreffes de cellules de CRPC et la formation d'organoïdes.

Au final, les androgènes peuvent stimuler l'expression d'une multitude d'enzymes impliquées dans la synthèse des lipides, leur métabolisme, leur absorption par la cellule, leur liaison ou encore leur transport et ainsi modifier le profil lipidique des cellules tumorales prostatiques (Swinnen et al., 1997a) (Swinnen et al., 2004) (Barfeld et al., 2014) (Figure 39).

4. Oncogènes et régulation du métabolisme lipidique

Si les altérations du métabolisme représentent une caractéristique commune aux cellules tumorales, et méritent ainsi d'être reconnues comme une « *hallmark* » émergente à part entière, elles sont aussi étroitement liées aux autres « *hallmarks* » canoniques. En effet, de nombreuses enzymes métaboliques sont régulées par des oncogènes qui interfèrent ainsi dans le métabolisme, notamment lipidique, pour altérer la survie et l'agressivité des cellules tumorales (Barfeld et al., 2014).

L'étude de données génomiques et métabolomiques a permis à Massie et ses collaborateurs d'identifier la kinase CAMKK2 comme une cible importante en aval de AR. Sa surexpression dans le cancer de la prostate stimule la croissance des cellules tumorales tout en modulant le

métabolisme anabolique dépendant des androgènes (Massie et al., 2011). *In vivo*, la délétion ou l'inhibition de CAMKK2 prévient le développement tumoral des souris invalidées pour *Pten* et est associé à une diminution de l'expression des enzymes lipogéniques *ACC* et *FASN* (Penfold et al., 2018). De même, l'activation de l'AMPK réduit la croissance tumorale en inhibant la lipogénèse. Ainsi, bien que l'AMPK soit une cible de CAMKK2, ces deux protéines semblent avoir des effets indépendants et opposés dans le cancer de la prostate. L'AMPK est également une cible de LKB1. Cependant l'inactivation de *LKB1* conduit au développement de néoplasies prostatiques, par un mécanisme indépendant de l'AMPK qui impliquerait la signalisation WNT (Pearson et al., 2008).

Parmi les anomalies génomiques décrites dans le cancer de la prostate, il est fréquemment retrouvé des réarrangements chromosomiques impliquant les facteurs ETS, comme ERG ou ETV1. En modèle murin, la fusion TMPRSS2-ETV1 conduit, en coopération avec la perte de *PTEN*, au développement de tumeurs invasives. Cet effet est spécifique à ETV1, qui coopère avec AR pour stimuler son activité transcriptionnelle (Baena et al., 2013). De façon intéressante, la fusion ETV1 est capable de favoriser un programme transcriptionnel différent de ERG, impliquant notamment le métabolisme lipidique et la signalisation de l'oncostatine M. Les auteurs expliquent le phénotype agressif des tumeurs présentant la fusion TMPRSS2-ETV1 notamment par un enrichissement des voies de biosynthèse du cholestérol et des stéroïdes.

En utilisant le modèle de tumorigenèse prostatique murine invalidé pour *Pten* (*Pten*^{pc-/-}), l'équipe de Carracedo a démontré le rôle inhibiteur de PGC1 α (*Peroxisome proliferator-activated receptor Gamma Co-activator 1 α*) dans la progression et la dissémination métastatique du cancer de la prostate (Torrano et al., 2016). L'expression de PGC1 α est associée à une augmentation des processus oxydatifs tels que la β -oxydation des lipides ou le cycle de Krebs, soulignant l'effet catabolique de ce facteur et sa capacité à réverser l'effet Warburg.

Dans ce même modèle murin de tumorigenèse prostatique *Pten*^{pc-/-}, une autre étude a démontré le rôle inhibiteur sur le développement tumoral de l'inactivation de la PDHA1 (*Pyruvate Dehydrogenase A1*), une sous-unité du complexe de la pyruvate déshydrogénase, en régulant négativement le métabolisme lipidique (Chen et al., 2018a). PDHA1 régule dans ce modèle le métabolisme lipidique de deux façons différentes. Sa forme nucléaire contrôle l'expression des gènes cibles des facteurs SREBP en favorisant l'acétylation des histones de façon concomitante à l'expression de gènes lipogéniques cibles de SREBP (*ACLY* et *SQLE*). La forme

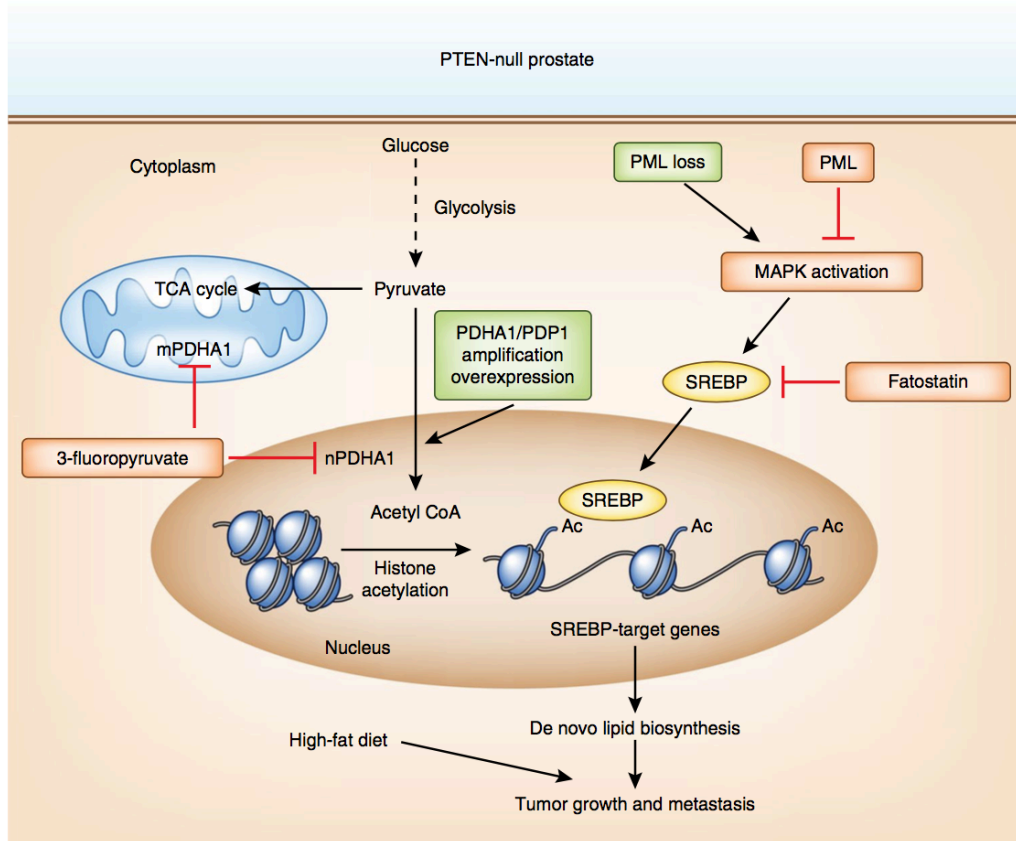


FIGURE 40 | ALTERATION DU METABOLISME LIPIDIQUE PAR PDHA1 ET PML DANS LE CANCER DE LA PROSTATE METASTATIQUE

Les deux voies ciblent la lipogénèse dépendante des facteurs SREBP. Les fréquentes amplifications et surexpressions de *PDHA1* observées dans le cancer de la prostate affectent le métabolisme tumoral en régulant la production d'acétyl-CoA et l'acétylation des histones au niveau des régions liées par SREBP au niveau nucléaire, des flux afférents du cycle de Krebs au niveau de la mitochondrie, via les formes nucléaires ou mitochondriales de la PDHA1 respectivement. La perte de *PML* conduit à l'hyperactivation de la transcription dépendante de SREBP induite par la suractivation de la voie MAPK. La biosynthèse lipidique et la croissance tumorale peuvent être à la fois inhibées par le traitement par la fatostatine, un inhibiteur de SREBP, par l'inactivation génique de *PDHA1* ou par l'utilisation de 3-fluoropyruvate, un inhibiteur compétitif de la PDHA1. Au contraire, un régime riche en lipides induit une accumulation de lipides suffisante pour favoriser la dissémination métastatique des souris mutantes pour *Pten*. Issu de (Poulose et al., 2018).

mitochondriale quant à elle favorise la disponibilité en citrate pour permettre la synthèse de lipides. Au final, l'inhibition de PDHA1 diminue l'accumulation de gouttelettes lipidiques et est associée à l'inhibition de la prolifération des cellules tumorales prostatiques et de la croissance des tumeurs xénotransplantées *in vivo*.

La perte du suppresseur de tumeurs *PML* est fréquemment retrouvée chez les patients mCRPC. Cette altération génétique est associée avec l'agressivité des tumeurs prostatiques (Gleason >7), et sa co-délétion avec *PTEN* est associée à une diminution de la survie des patients (Chen et al., 2018b). Dans le modèle murin de cancer de la prostate invalidé pour *Pten*, la délétion de *Pml* conduit au développement de tumeurs plus agressives, qui présentent une augmentation de la dissémination métastatique au niveau des ganglions lymphatiques. Cet effet est expliqué par les auteurs par la réactivation de la voie MAPK qui conduit à l'augmentation subséquente des formes matures de SREBP-1/2 et de l'expression de leurs gènes cibles. *In fine*, l'invalidation de *Pml* dans le modèle invalidé pour *Pten* induit une augmentation de la lipogenèse, qui se traduit par une accumulation importante de lipides dans les tumeurs. Ainsi, si l'administration d'un régime riche en lipides induit une augmentation de la dissémination métastatique des tumeurs des souris invalidées pour *Pten*, cet effet est d'autant plus important en l'absence de *Pml* (Figure 40).

L'analyse métabolomique de cellules épithéliales prostatiques humaines transformées par AKT ou MYC, a montré que la surexpression de *MYC* était associée à une dérégulation du métabolisme lipidique, quand la suractivation de AKT favorise plutôt la glycolyse aérobie (Priolo et al., 2014). Ces données ont été confirmées en modèle murin et par l'étude de tissus humains. Les voies PI3K/AKT et MAPK sont également des régulateurs majeurs de l'expression des enzymes lipogéniques *ACLY*, *FASN*, *ACC* (Berwick et al., 2002) (Yang et al., 2002) (Van de Sande et al., 2002) (Wang et al., 2005a) (Porstmann et al., 2005). En effet, une corrélation inverse est retrouvée entre l'expression de *PTEN* et celle de *FASN* (Bandyopadhyay et al., 2005) et réciproquement une corrélation positive avec l'activation de AKT dans le cancer de la prostate (Van de Sande et al., 2005). En modèle cellulaire, le facteur de croissance EGF est capable de stimuler l'expression et l'activité de *FASN*, de façon dépendante des facteurs SREBP (Swinnen et al., 2000b). En effet, le traitement par l'EGF induit l'expression de SREBP-1c et l'augmentation de sa forme mature, et la présence d'un site de fixation à SREBP est essentielle à la transcription de *FASN* induite par l'EGF. Cet effet a été par la suite démontré comme étant lié à l'activité de la voie PI3K/AKT où la perte de *PTEN* induit une surexpression de *FASN*, tandis que l'inhibition de la PI3K inhibe son expression, de façon dépendante de

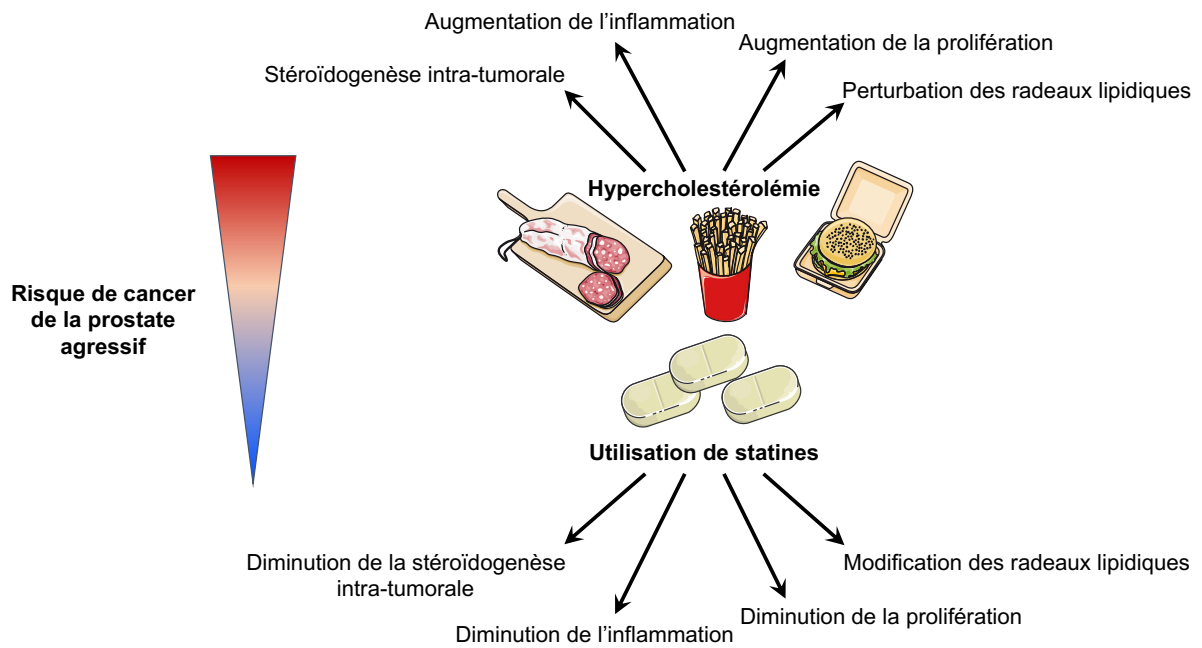


FIGURE 41 | CHOLESTEROL ET AGRESSIVITE DU CANCER DE LA PROSTATE

L'hypercholestérolémie est associée chez les patients à une augmentation du risque d'agressivité du cancer de la prostate. A l'inverse, l'utilisation de statines est associée à une diminution du risque. *Modifié d'après (Pelton et al., 2012).*

l'activité de AKT (Van de Sande et al., 2002). Ainsi, bien qu'il existe un lien de cause à effet entre la voie PI3K/AKT, les facteurs SREBP et la lipogenèse, les mécanismes précis par lesquels AKT pourrait réguler directement SREBP restent encore à élucider (pour revue, (Krycer et al., 2010)).

Ainsi les altérations du métabolisme cellulaire par les oncogènes représentent une nouvelle piste à explorer pour mieux comprendre comment les oncogènes peuvent favoriser le développement, la progression et/ou l'agressivité tumorale de façon synergique avec leur action directe sur les voies de survie et/ou de prolifération cellulaire.

C. Cholestérol et cancer de la prostate

Depuis la découverte d'une accumulation excessive de cholestérol dans les tumeurs prostatiques (White, 1909) (Swyer, 1942), la recherche s'est notamment focalisée sur son rôle important dans le cancer et plus particulièrement dans le cancer de la prostate (Brown, 2007). Le cholestérol joue un rôle essentiel dans la fonction et le maintien de l'architecture de la membrane plasmique (Spector and Yorek, 1985), en plus de son rôle de précurseur des acides biliaires et des hormones stéroïdiennes chez les mammifères. Il s'agit d'un composant essentiel des radeaux lipidiques et des microdomaines de la membrane plasmique, impliqués dans la signalisation membranaire et le trafic cellulaire (Simons and Ikonen, 2000). Le cholestérol constitue donc une brique fondamentale du vivant et une molécule essentielle au développement tumoral.

1. Cholestérol et données épidémiologiques

Le lien entre le cholestérol et le cancer de la prostate n'est pas récent et fut notamment établi grâce à l'étude de migrants japonais, qui présentent 4 à 6 fois plus de risques de développer un cancer de la prostate après qu'ils aient immigré aux États-Unis (Haenszel and Kurihara, 1968) (Shimizu et al., 1991). Ce risque est similaire pour les japonais nés aux États-Unis suggérant le rôle de l'environnement, et plus particulièrement de l'alimentation riche en lipides et en cholestérol (*western diet*), plutôt que celui de facteurs génétiques dans le risque de survenue du cancer de la prostate. Depuis, de nombreuses publications ont analysé les liens entre le cholestérol et le cancer de la prostate (Solomon and Freeman, 2011) (Pelton et al., 2012). Bien que cette association ait été longtemps controversée à cause de l'hétérogénéité des études et des critères de définition des taux de cholestérol, plusieurs analyses associent de forts taux de cholestérol plasmatique à un risque plus élevé de survenue d'un cancer de la prostate et à des formes agressives de la pathologie (pour revue, (Pelton et al., 2012)) (Figure 41). De plus, l'utilisation de statines (des inhibiteurs de la HMGCR, à action hypolipémiante) diminue le

risque de survenue de cancer de la prostate, tout comme le risque de développer des formes agressives de la pathologie (Freeman et al., 2006).

Il est aujourd'hui clairement admis que les tumeurs solides présentent d'une part, une perturbation du métabolisme du cholestérol et d'autre part, la possibilité de l'accumuler (Freeman and Solomon, 2004) (Krycer and Brown, 2013a) (Cruz et al., 2013). L'hypothèse est que les cellules tumorales ont un besoin accru en cholestérol, bien que les mécanismes par lesquelles elles l'obtiennent restent à préciser (Murtola et al., 2012). Les particules de LDL et de HDL sont les principales sources de cholestérol pour les tumeurs. Pour autant, les cellules sont également capables de synthétiser du cholestérol ; ainsi les cellules prostatiques produisent plus de cholestérol que le foie (Krycer and Brown, 2013a). De plus, les cellules prostatiques sont capables de sécréter du cholestérol au sein des prostasomes, les exosomes produits par les cellules prostatiques. En effet, le cholestérol et les phospholipides sont présents environ à hauteur de 0.8 $\mu\text{mol/mg}$ de protéines dans les prostasomes, avec un ratio cholestérol/sphingomyéline/glycérophospholipides de 4/1/1 (Arvidson et al., 1989). Une autre étude a comparé les prostasomes du liquide séminal, de la glande prostatique et des métastases osseuses de cancer de la prostate (Carlsson et al., 2003). Ces prostasomes, bien qu'ils diffèrent par leur origine, présentent des caractéristiques communes comme un fort ratio cholestérol/phospholipides et l'expression de certaines enzymes métaboliques. L'étude des prostasomes produits par les cellules PC-3, dérivées de métastases osseuses de cancer de la prostate, a montré par analyse lipidomique, leur enrichissement en cholestérol et en sphingomyéline par rapport aux cellules mères, avec un ratio lipides/protéines 8 fois supérieur (Llorente et al., 2013).

2. Homéostasie du cholestérol en condition normale

Dans des conditions normales d'homéostasie, les taux de cholestérol sont régulés par la balance entre la synthèse de cholestérol au sein des cellules, l'élimination de l'excès de cholestérol par les tissus périphériques et l'apport de cholestérol par l'alimentation, qui capté au niveau de l'intestin grêle, transitera jusqu'au foie avant d'être redistribué vers l'ensemble des organes. (Simons and Ikonen, 2000). Le cholestérol est une molécule lipophile, hautement insoluble, qui est transportée dans la circulation par des transporteurs protéiques, les apolipoprotéines. Classiquement, les particules de LDL (composées d'une molécule d'ApoB-100 et transportant principalement du cholestérol) acheminent le cholestérol du foie jusqu'aux tissus périphériques tandis que les HDL (composées des apolipoprotéines ApoA-I/II, ApoC ou ApoE et transportant du cholestérol et des phospholipides) favorisent le retour hépatique du cholestérol pour

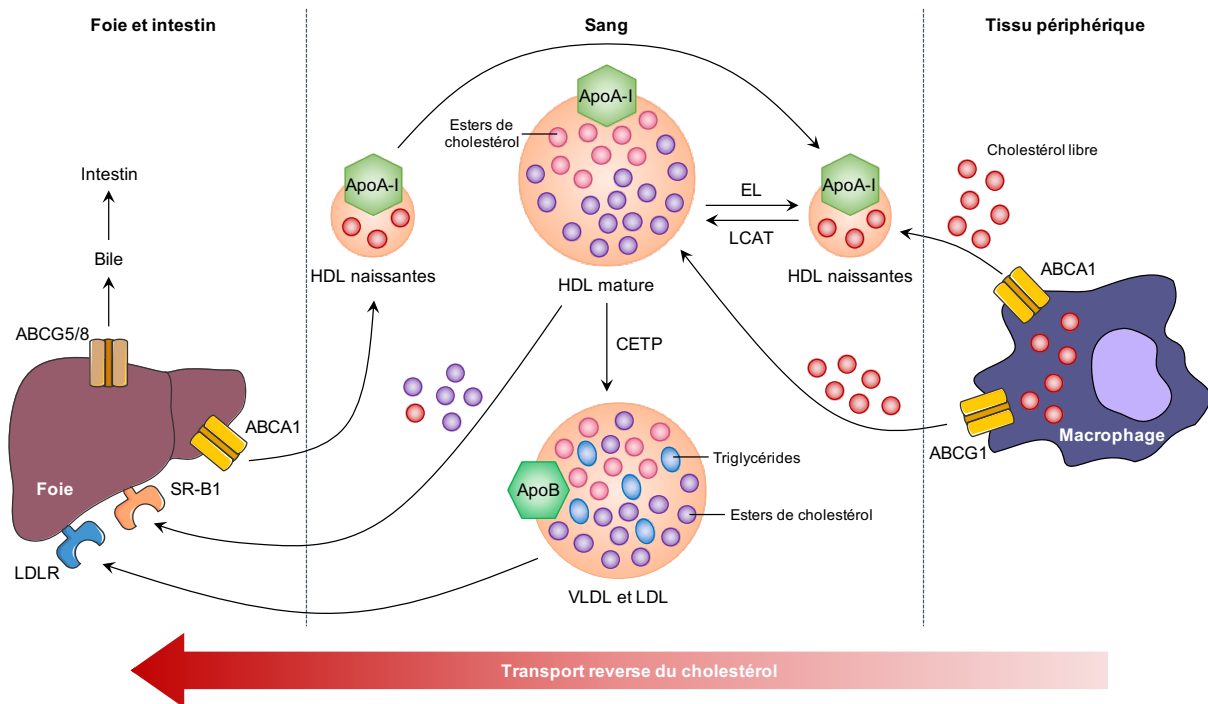


FIGURE 42 | TRANSPORT DU CHOLESTEROL

Le foie et l'intestin synthétisent les apolipoprotéines A-I (ApoA-1) qui seront sécrétées sous une forme faiblement chargée en lipides. Elles se gorgeront en phospholipides et en cholestérol libre délivrés par le transporteur ABCA1 au niveau des hépatocytes ou au niveau des tissus périphériques, pour donner les particules de HDL naissantes. L'enzyme LCAT (*Lecithin Cholesterol Acyltransferase*) estérifie le cholestérol libre en ester de cholestérol pour générer les HDL matures. Ces particules de HDL plus massives servent d'accepteurs du cholestérol notamment fourni par la cassette d'efflux ABCG1. Les HDL peuvent être remodelées par des lipases, telles que les lipases hépatiques (HL) ou endothéliales (EL), qui hydrolysent les triglycérides et les phospholipides respectivement. Les particules de HDL matures peuvent directement ramener le cholestérol au foie via le récepteur SR-B1. Par ailleurs, CETP (*Cholesteryl Ester Transfer Protein*) peut transférer les esters de cholestérol des HDL matures aux particules de VLDL et de LDL, qui seront captées par le foie via le récepteur LDLR. Le cholestérol hépatique peut également être excrété par la bile via les transporteurs ABCG5/G8, puis éliminé par l'intestin. *Modifié d'après (Khera and Rader, 2010).*

décharger les cellules et permettre son élimination (Feingold and Grunfeld, 2000). Chez l'homme, le cholestérol est transporté majoritairement par les LDL. Il est capté à la membrane plasmique de la cellule cible par le récepteur aux LDL, LDLR. Le récepteur SR-B1 internalise quant à lui sélectivement les particules HDL. L'élimination du cholestérol par la cellule correspond au transport réverse du cholestérol. Les cassettes d'efflux membranaires ABCA1 et ABCG1 vont permettre le transfert du cholestérol intracellulaire aux particules de HDL, avant son retour au foie pour être métabolisé (Figure 42).

Le cholestérol est synthétisé *de novo* à partir de l'acétyl-CoA par la voie du mévalonate (Figure 43). La voie du mévalonate produit également de nombreux autres métabolites, impliqués dans la synthèse des terpénoïdes et des stéroïdes, dans la prénylation des protéines, la N-glycosylation, ou plus généralement dans la maintenance et l'ancrage des protéines à la membrane plasmique. L'enzyme limitante de cette voie de biosynthèse est la HMG-CoA réductase, qui catalyse la conversion du HMG-CoA en mévalonate. Il s'agit de la cible pharmaceutique des molécules de la classe des statines, à action hypocholestérolémiante. Une autre classe de molécules, les biphosphonates inhibent l'action de l'enzyme farnesyl pyrophosphate synthase (FPPS). Plusieurs enzymes clés, dont les HMG-CoA réductase (HMGCR) et synthase (HMGCS), sont régulées par les facteurs SREBP (Horton et al., 1998).

3. Altération du métabolisme du cholestérol

L'analyse transcriptomique et lipidomique de données de patients confirme la présence d'anomalies du métabolisme lipidique dans les tissus tumoraux par rapport aux tissus sains (Li et al., 2016). Si les auteurs ont confirmé une augmentation de l'expression d'enzymes lipogéniques (*ACACA*, *FASN*, *SCD*, *ELOVL6/7*) et du facteur *SREBF1*, ils ont également noté une augmentation de l'expression du récepteur aux HDL, SR-B1 (codé par le gène *SCARB1*), qui jouerait un rôle clé dans l'accumulation de lipides dans la cellule. En effet, l'accumulation d'esters de cholestérol est associée dans leur étude à la progression tumorale. Les tissus tumoraux présentent également une diminution de l'expression des gènes codant les enzymes HMGCS1 et FDPS impliquées dans la voie du mévalonate, sans altérations d'autres acteurs de la voie du mévalonate (Celhay et al., 2018). Ces données transcriptomiques sont corrélées avec une diminution de l'accumulation des précurseurs du cholestérol : lanostérol, desmostérol et lathostérol mais pas avec des variations des taux de cholestérol intra-tumoraux, suggérant une augmentation du captage du cholestérol circulant comme l'atteste la surexpression de *SRB1* dans les tumeurs. Le récepteur SR-B1 aurait donc un rôle à jouer dans le cancer de la prostate et plus particulièrement dans la progression androgéno-indépendante des tumeurs. Ainsi,

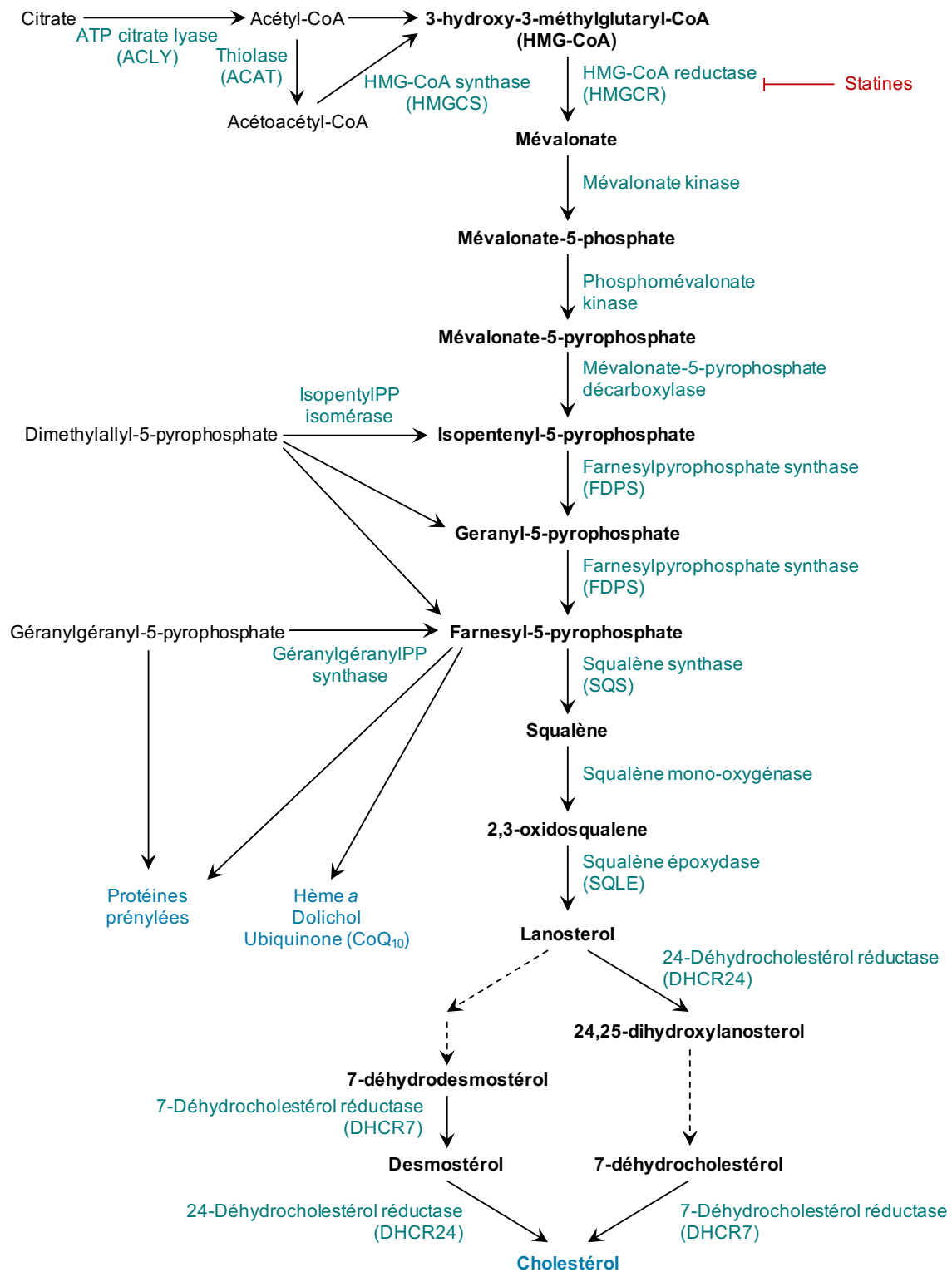


FIGURE 43 | VOIE DU MEVALONATE

Représentation schématique des principales enzymes impliquées dans la voie du mévalonate. Les statines, des inhibiteurs de la HMGCR, ont un effet hypolipémiant.

l'expression protéique de SR-B1 est plus importante dans la lignée C4-2 androgéno-indépendante que dans la lignée parentale LNCaP, androgéno-dépendante (Twiddy et al., 2012). L'inhibition de SR-B1 est associée à une diminution de la sécrétion de PSA et de la viabilité cellulaire. A l'inverse, chez les patients, une forte expression de SR-B1 est associée à une diminution de la survie sans récurrence des patients (Schörghofer et al., 2015).

Une analyse réalisée sur le modèle murin de tumorigenèse prostatique TRAMP a montré qu'un régime riche en lipides et en cholestérol (*western diet*) augmente l'incidence et accélère la survenue du cancer de la prostate et la dissémination métastatique pulmonaire (Llaverias et al., 2010). Les souris nourries par ce régime présentent une augmentation de l'expression de *SCARB1* qui permettrait d'associer une augmentation du captage du cholestérol avec l'augmentation de la tumorigenèse. Dans le même temps a été effectuée une analyse métabolomique comparative entre des métastases osseuses, du tissu osseux sain, des prostates tumorales et saines, et le plasma (Thysell et al., 2010). Les résultats ont montré que les métastases osseuses du cancer de la prostate avaient un profil métabolomique différent de l'os sain ou des métastases osseuses provenant d'autres cancers, avec une augmentation des taux intra-tissulaires de cholestérol des métastases osseuses du cancer de la prostate. Cette accumulation de cholestérol semble être associée à une plus forte expression de *LDLR* et de *SCARB1* dans les métastases osseuses du cancer de la prostate par rapport aux métastases osseuses d'autres origines. Ceci confirmerait une augmentation du captage du cholestérol par les cellules tumorales prostatiques, et ce particulièrement par les cellules métastatiques.

Concernant la progression tumorale, une plus faible expression de *LDLR* et de *SOAT1* (une enzyme impliquée dans l'estérification du cholestérol) a été observée dans les tumeurs agressives, avec un score de Gleason 9-10, par rapport aux tumeurs à faible risque de progression, de scores 5-6 (Stopsack et al., 2017). Par contre l'enzyme SQLE, la deuxième enzyme limitante de la synthèse du cholestérol, est plus fortement exprimée dans les tumeurs agressives, dans lesquelles elle est associée positivement avec la létalité du cancer. Aucune corrélation n'a pu être faite entre les protéines ABCA1, PCSK9 (un inhibiteur de LDLR) ou SCARB1 et le score de Gleason ou la létalité des lésions tumorales. Ainsi cette étude montre que la progression du cancer de la prostate vers une pathologie létale serait associée à une anomalie de la synthèse du cholestérol plutôt que de son captage ou de son estérification. De façon intéressante, une étude réalisée sur la lignée cellulaire LNCaP a identifié une hyperméthylation du promoteur de ABCA1, le rendant insensible à la transactivation et se traduisant par une augmentation des taux de cholestérol (Lee et al., 2013). Cette anomalie, qui

est retrouvée dans les lésions intermédiaires et de haut grade du cancer de la prostate et non dans les prostatites bénignes, pourrait contribuer à accroître les taux de cholestérol intracellulaire en limitant l'efflux de cholestérol. De plus, l'expression de *ABCA1* est inversement corrélée avec le score de Gleason des tumeurs. Toujours concernant la voie du mévalonate, l'expression de *DHCR24*, une autre enzyme de la synthèse du cholestérol, dont l'expression est connue pour être ciblée par AR, est augmentée dans les tumeurs par rapport au tissu sain (Bonaccorsi et al., 2008). De plus, son expression est corrélée à la classification T des tumeurs, d'après la classification TNM.

4. Cholestérol et radeaux lipidiques

Les radeaux lipidiques constituent des plateformes de signalisation membranaire, riches en cholestérol. La perturbation de l'intégrité des radeaux conduit dans la lignée cellulaire LNCaP à l'inhibition de l'axe EGFR/AKT qui se traduit par une diminution de la survie cellulaire (Zhuang et al., 2002). Ces effets sont annulés par la restauration de la composition en cholestérol des radeaux. Aussi la composition en cholestérol membranaire, particulièrement au niveau des radeaux lipidiques, est importante pour la survie cellulaire. Dans les radeaux lipidiques, la sous-population active de AKT est surreprésentée tout comme les substrats phosphorylés de AKT, démontrant ainsi que la forme active, oncogénique, de AKT résidait dans les radeaux lipidiques (Adam et al., 2007).

A l'inverse, le traitement de cellules par une statine, la simvastatine, conduit à une diminution de la phosphorylation de AKT et à l'induction d'apoptose ; cet effet est réversé par la restauration de la composition en cholestérol des radeaux lipidiques (Zhuang et al., 2005). *In vivo*, l'administration d'un régime riche en cholestérol à des souris porteuses de xénotransplantes induit une augmentation de la phosphorylation de AKT corrélée à une augmentation du cholestérol dans les radeaux, qui est de plus associée à une augmentation de la taille des tumeurs et à une diminution de l'apoptose. De façon intéressante, les cellules tumorales prostatiques, tout comme celles du cancer du sein, contiennent plus de radeaux lipidiques et sont donc plus sensibles à la mort cellulaire induite par la déplétion en cholestérol que les cellules saines (Li et al., 2006) (Oh et al., 2007).

Enfin, la destruction des radeaux lipidiques inhibe l'expression de marqueurs neuroendocrines induite par le traitement des cellules par l'IL-6. Ainsi, les radeaux lipidiques pourraient jouer un rôle mécanistique dans la progression et la différenciation neuroendocrine du cancer de la prostate médiée par l'IL-6, qui s'expliquerait par la présence de son récepteur IL-6R et de sa cible pSTAT3 au niveau de ces domaines membranaires (Kim et al., 2004).

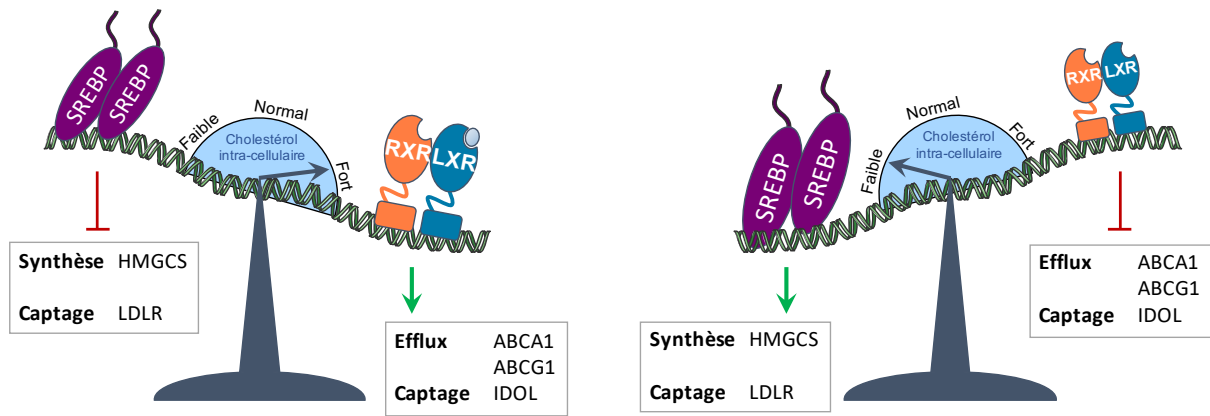


FIGURE 44 | BALANCE SREBP/LXR

En présence de forts taux intracellulaires de stérols, l'activation des récepteurs nucléaires LXR favorise l'efflux du cholestérol par les transporteurs ABCA1/G1 et inhibe son absorption par le récepteur LDLR via l'expression de IDOL. A l'inverse, en présence de faible taux de stérols, l'activation des facteurs SREBP favorise la synthèse *de novo* de cholestérol et le captage via le récepteur LDLR. *Modifié d'après (Spann and Glass, 2013).*

5. Cholestérol et stéroïdogénèse

La privation androgénique du cancer de la prostate conduit inévitablement à une forme résistante de la pathologie, le CRPC. La synthèse intra-tumorale d'androgènes fait partie des explications avancées pour maintenir une activité pro-tumorale de AR en l'absence de stéroïdogénèse testiculaire consécutive à l'ADT. Ainsi de nombreuses études ont montré chez des patients CRPC la capacité des cellules tumorales prostatiques à synthétiser des hormones stéroïdiennes en utilisant le cholestérol comme précurseur (Dillard et al., 2008) (Montgomery et al., 2008) (Locke et al., 2008). Par l'utilisation d'un modèle *in vivo* de xéno greffes, il a été observé une corrélation entre les taux de cholestérol circulants, la croissance des tumeurs et la synthèse intra-tumorale d'androgènes, reflétée par une augmentation de l'expression de *CYP17A1*, l'enzyme responsable de la synthèse de précurseurs androgéniques (Mostaghel et al., 2012). De même, les cellules androgéno-indépendantes LNCaP C33 surexpriment les enzymes de la stéroïdogénèse contrairement à la lignée androgéno-dépendante C81 (Dillard et al., 2008). La lignée androgéno-indépendante présente de plus une sécrétion accrue de testostérone, qui serait issue de l'utilisation et de la conversion du cholestérol par les cellules. Pour autant, d'autres analyses *in vitro* ont montré que si la progression vers l'androgéno-indépendance s'accompagne d'une surexpression de *AR* et d'une réduction de son activité, les taux de cholestérol cellulaire total et de stérols restent inchangés, bien que les auteurs aient noté une influence sur la balance LXR/SREBP-2 (Krycer and Brown, 2013b). De même, l'étude *in vivo* de xéno greffes réalisées sur des souris castrées montre une augmentation de la forme mature de SREBP-2 (Ettinger et al., 2004) et de la synthèse de cholestérol (Leon et al., 2010), associées à l'émergence d'une résistance à la castration des tumeurs, mais sans effet sur les taux de cholestérol. Pour autant, l'expression de protéines impliquées dans le captage (LDLR, SR-B1), la synthèse (HMGCR), l'estérification (ACAT1/2) ou l'efflux de cholestérol (ABCA1) semble altérée durant la progression tumorale de façon à accroître la disponibilité en cholestérol pour la cellule. L'augmentation parallèle de l'efflux de cholestérol permettrait le maintien de l'homéostasie du cholestérol, qui présent en excès, est toxique pour la cellule.

D. Homéostasie cellulaire du cholestérol : la balance SREBP/LXR

La régulation de l'homéostasie cellulaire du cholestérol fait classiquement intervenir deux familles de facteurs de transcription. Les facteurs SREBP ont une action stimulante sur la synthèse et l'apport de cholestérol à la cellule tandis que les récepteurs nucléaires LXR (*Liver X Receptors*) ont un rôle de régulateur négatif des taux intracellulaires de cholestérol (Figure 44).

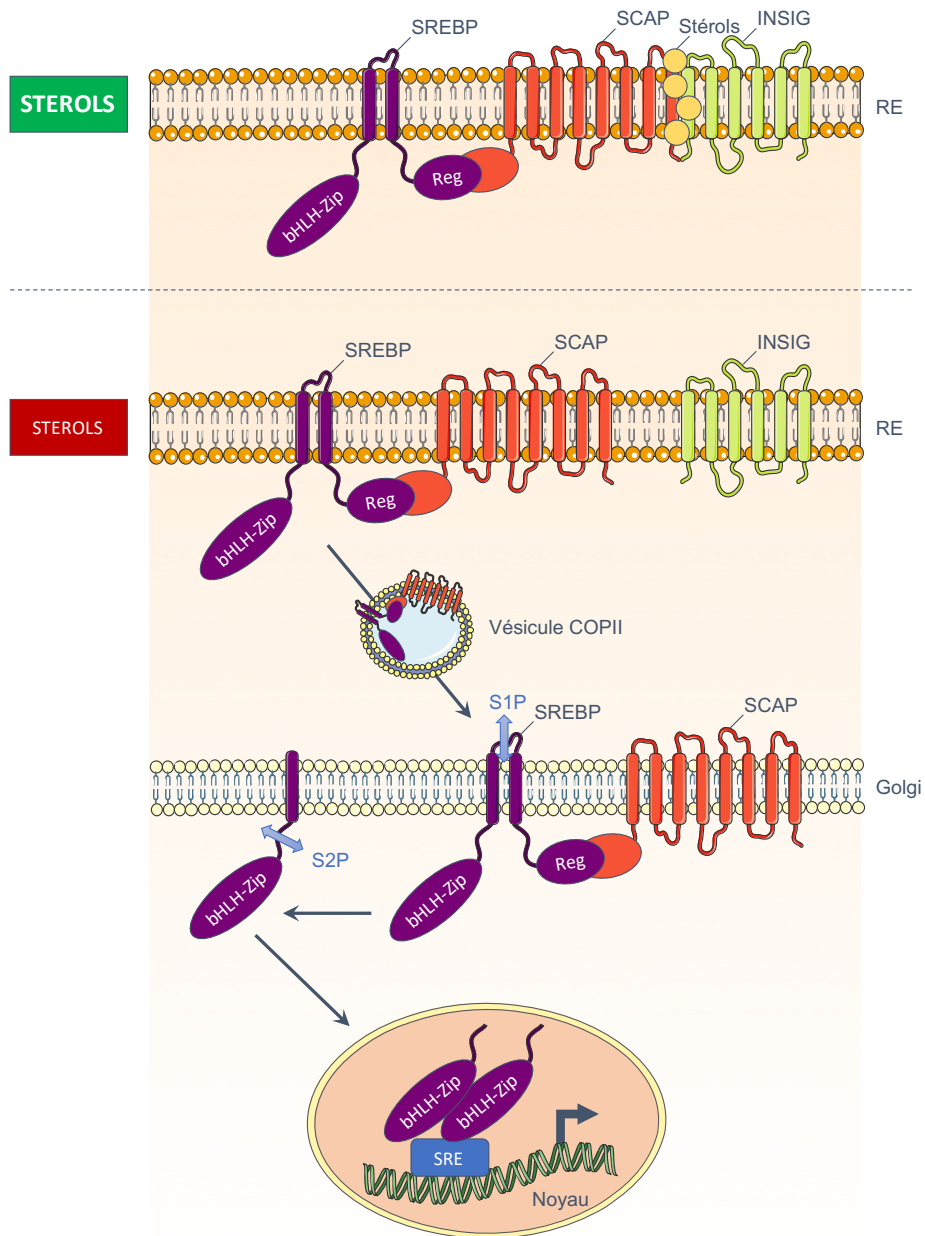


FIGURE 45 | MECANISME D'ACTIVATION DES FACTEURS SREBP

En présence de stérols, SREBP est maintenu inactif à la membrane du réticulum endoplasmique (RE). De faibles taux de stérols libèrent la liaison entre les protéines SCAP et INSIG. La protéine SCAP redirige alors SREBP à la membrane de Golgi via des vésicules COPII. Les protéases S1P et S2P cliveront alors le domaine cytoplasmique et le premier domaine transmembranaire de SREBP, respectivement. La forme mature de SREBP ainsi libérée, pourra migrer jusqu'au noyau et se lier en dimère sur des éléments de réponse SRE (*Sterol Binding Element*) pour initier la transcription des gènes cibles.

1. Les facteurs de transcription SREBP

Les protéines SREBP font partie de la famille des facteurs de transcription bHLH-Zip (*basic-Helix-Loop-Helix leucine zipper*) capables de se lier au niveau d'un élément de réponse SRE (de séquence TCACNCCAC) sur le promoteur de leurs gènes cibles. Le gène *SREBF1* code pour les isoformes SREBP-1a et SREBP-1c (Yokoyama et al., 1993) (Shimomura et al., 1997) ; *SREBF2* code la protéine SREBP2 (Hua et al., 1993) (Miserez et al., 1997).

Suite à leur traduction, les précurseurs SREBP sont complexés à la protéine SCAP (*SREBP Cleavage Activating Protein*) et maintenus à la membrane du réticulum endoplasmique par la liaison entre les protéines SCAP et INSIG (*Insulin Induced Gene*). En présence de faible taux de stérols, l'interaction entre SCAP et INSIG s'affaiblit, permettant à SCAP de rediriger SREBP à la membrane de l'appareil de Golgi. Les protéases S1P et S2P (*Site 1/2 Protease*) peuvent cliver le précurseur SREBP au niveau de la boucle luminale hydrophile et du premier fragment transmembranaire respectivement. La forme mature de SREBP sera ensuite relarguée, puis elle migrera jusqu'au noyau pour se fixer en homodimère sur le promoteur de ses gènes cibles sur une séquence SRE (Eberlé et al., 2004) (Figure 45).

Les facteurs SREBP stimulent l'expression de nombreux gènes impliqués dans la synthèse et l'absorption par la cellule du cholestérol et des acides gras (Brown and Goldstein, 1997) (Horton and Shimomura, 1999). SREBP-1a est de façon générale impliqué dans la synthèse et le stockage des acides gras et du cholestérol (Shimano et al., 1996). SREBP-1c est plus spécifiquement impliqué dans la régulation de l'expression des gènes de la lipogenèse *de novo* (*FASN*, *ACC*, *SCD1*) (Shimano et al., 1997), quant à SREBP2, il régule principalement l'expression des gènes du métabolisme du cholestérol (dont HMGCR, HMGCS ou LDLR) (Horton et al., 1998) (Sato, 2010).

2. Les récepteurs nucléaires LXR

Les récepteurs nucléaires LXR existent sous deux isoformes, LXR α (Willy et al., 1995a) et LXR β (Song et al., 1994) (Shinar et al., 1994), codés respectivement par les gènes *NR1H3* et *NR1H2*. Ces gènes partagent environ 75 % d'homologie de séquence (Repa and Mangelsdorf, 2000). LXR β présente une expression ubiquiste tandis que LXR α montre une plus forte spécificité tissulaire avec une expression importante dans les tissus métaboliques tels que le foie, le tissu adipeux ou l'intestin. Tous les deux sont exprimés dans la prostate. Ces facteurs de transcription sont activés suite à la fixation de leurs ligands, les oxystérols, des dérivés oxydés du cholestérol (Janowski et al., 1996). Ils ont été premièrement décrit pour leur rôle

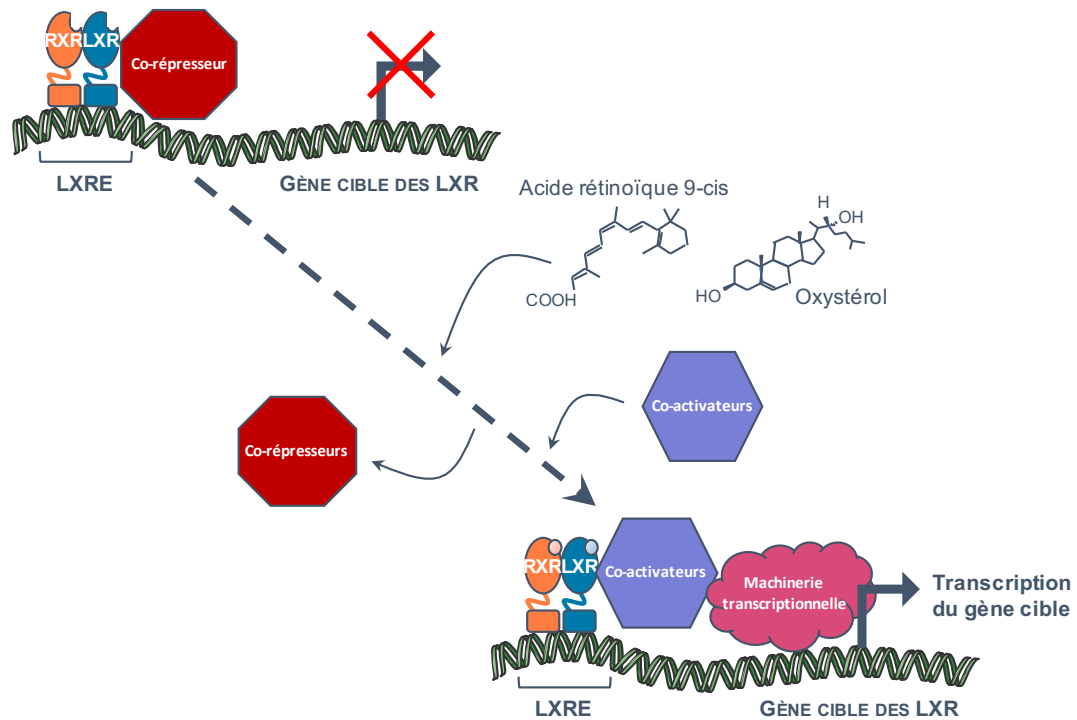


FIGURE 46 | RECEPTEURS NUCLEAIRES LXR

Les LXR et leur partenaire obligatoire, RXR, sont fixés de façon constitutive sur le promoteur de leurs gènes cibles au niveau de leur élément de réponse LXRE. Cet hétérodimère est maintenu inactif par la présence de co-répresseurs. Suite à la fixation du ligand, les oxystérols pour les LXR ou l'acide rétinoïque 9-cis pour RXR, on assiste au relargage des co-répresseurs et au recrutement de co-activateurs puis de la machinerie transcriptionnelle pour permettre la transcription du gène cible.

régulateur du métabolisme lipidique et leur importance dans la physiopathologie de l'athérosclérose (Repa and Mangelsdorf, 2000) (Tangirala et al., 2002).

Les récepteurs nucléaires LXR sont maintenus de façon constitutive sur le promoteur de leurs gènes cibles, au niveau d'un élément de réponse LXRE (*LXR Response Element*) (Willy et al., 1995b). Le plus souvent, la fixation de ces récepteurs nucléaires se fait par l'interaction du domaine DBD avec un élément de réponse de l'ADN de type DR4 (soit 2 motifs hexanucléotidiques directement répétés et espacés de 4 nucléotides). La séquence LXRE DR4 correspond à un motif dégénéré de la séquence canonique des récepteurs nucléaires (AGGTCA), soit GGTTTAnnnnAGTTCA. Les LXR sont fixés sur l'ADN avec leur partenaire obligatoire, RXR (*Retinoid X Receptor*), le récepteur nucléaire de l'acide rétinoïque 9-cis. Cet hétérodimère permissif est maintenu inactif par la présence de co-répresseurs tels que NCoR ou SMRT. Suite à la fixation d'un ligand au niveau de la poche hydrophobe de fixation du ligand (domaine LBD), l'activation du complexe permet le relargage des co-répresseurs et le recrutement de co-activateurs sur le promoteur de leurs gènes cibles, autorisant ainsi leur expression (Hu et al., 2003). En effet, au niveau du LBD est située la fonction activatrice dépendante du ligand, ou AF-2, capable de recruter des co-activateurs à la suite du changement de conformation de la poche survenu après la fixation du ligand (Figure 46).

Les récepteurs LXR peuvent être sujets à des modifications post-traductionnelles capables de moduler leur activité transcriptionnelle. La déacétylation des lysines des LXR (K432 pour LXR α et K433 pour LXR β) par la déacétylase SIRT1 favorise l'ubiquitination du récepteur et sa dégradation subséquente par le protéasome bien qu'elle soit médiée par la fixation du ligand ; la déacétylation favorise également l'activité transcriptionnelle des LXR (Li et al., 2007). La phosphorylation de LXR α sur la sérine 196/198 (des séquences murine et humaine respectivement) diminue l'activité transcriptionnelle de LXR α de façon gène-spécifique (Chen et al., 2006) (Torra et al., 2008) (Wu et al., 2015). D'autres résidus des LXR peuvent également être phosphorylés, conduisant à des modulations de leur activité (pour revue (Becares et al., 2016)). Le rôle de la SUMOylation de LXR est actuellement débattu ; il en sera discuté ultérieurement dans ce manuscrit (Ghisletti et al., 2009) (Pascual-García et al., 2013) (Ito et al., 2015).

3. Régulation de la balance SREBP/LXR par les oxystérols

Comme évoqué précédemment, les récepteurs nucléaires LXR sont activés suite à la fixation de leurs ligands, les oxystérols, des dérivés oxydés du cholestérol. Les oxystérols sont produits suite à l'attaque du cholestérol par des espèces réactives de l'oxygène (ROS, *Reactive Oxygen*

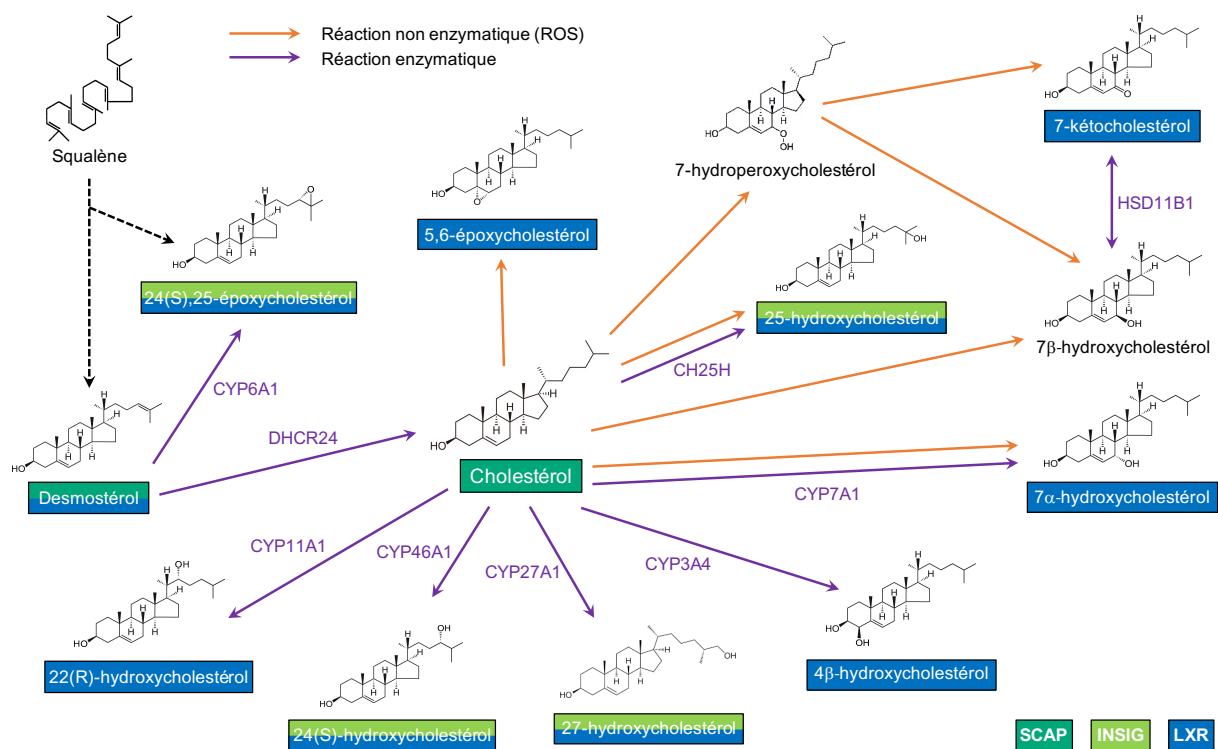


FIGURE 47 | OXYSTEROLS

Les oxysterols sont des dérivés oxydés du cholestérol. Ils peuvent être générés passivement par l'attaque du cholestérol par des dérivés oxydés (ROS) ou activement à la suite de réactions enzymatiques. Si certains stérols sont capables de lier SCAP, d'autres oxysterols peuvent lier INSIG et/ou se comporter comme des ligands agonistes de LXR. *Modifié d'après (Spann and Glass, 2013).*

Species) ou par des réactions enzymatiques spécifiques ; ils peuvent également être apportés de façon exogène par l'alimentation (Lehmann et al., 1997).

L'attaque du cholestérol par des ROS au niveau de l'atome C7 du groupement stérol conduit à la formation de radicaux peroxydes pour générer les 7 α / β -hydroperoxycholestérol (7 α / β -OOHC). Ces hydroperoxydes pourront être oxydés de façon passive, afin de donner les formes 7 α / β -hydroxycholestérol (7 α / β -OHC) ou 7-kétocholestérol (7-KC), les oxystérols non enzymatiques majoritaires dans la plupart des tissus, ou de manière enzymatique pour produire l'époxycholestérol. Les oxystérols 24, 25 et 27-OHC sont obtenus par hydroxylation enzymatique du cholestérol (via l'action des enzymes stérol 27-hydroxylase CYP27A1, cholestérol 24-hydroxylase CYP46A1 et cholestérol 25-hydroxylase Ch25h). Le 25-OHC peut aussi être formé de façon non enzymatique bien qu'il soit principalement issu de la voie enzymatique. Le 7 α -OHC peut être généré par la 7 α -hydroxylase (CYP7A1) et par la 7-kétone déshydrogénase. L'enzyme 5 α ,6 α -époxydase réduit les hydroperoxydes en 5,6-époxycholestérol ; pour revue sur les oxystérols (Otaegui-Arrazola et al., 2010) (Mutemberezi et al., 2016) (Figure 47).

De façon intéressante, les dérivés des stérols et plus particulièrement du cholestérol jouent un rôle important dans le maintien de la balance SREBP/LXR, garante de l'homéostasie cellulaire du cholestérol. La plupart des ligands agonistes naturels des LXR (les oxystérols 22(R)-OHC, 24(S)-OHC, 24(S),25-époxycholestérol, 25-OHC et 27-OHC), sont également capables de lier INSIG et de favoriser son interaction avec SCAP afin de réprimer l'activité de SREBP de façon concomitante à l'activation des LXR. Le cholestérol et le desmostérol peuvent se lier à SCAP et prévenir son interaction avec les protéines de transport COPII afin d'empêcher son transport vers le réticulum endoplasmique. Ainsi, la présence d'oxystérols dans la cellule fait pencher la balance SREBP/LXR en faveur de l'activité anti-cholestérolémiant des LXR (Spann and Glass, 2013).

4. Fonctions biologiques régulées par LXR

Les récepteurs nucléaires LXR sont impliqués dans diverses fonctions biologiques qui ont été caractérisées grâce à l'étude du modèle murin invalidé pour *Lxr α / β* (Peet et al., 1998) (Repa et al., 2000a). En plus de leur rôle clé dans le maintien de l'homéostasie cellulaire du cholestérol, ces derniers participent à la régulation de plusieurs grandes fonctions physiologiques tels que le métabolisme lipidique, le métabolisme glucidique, la stéroïdogénèse et l'immunité qui sera discutée ultérieurement dans le manuscrit (Viennois et al., 2011) (Figure 48).

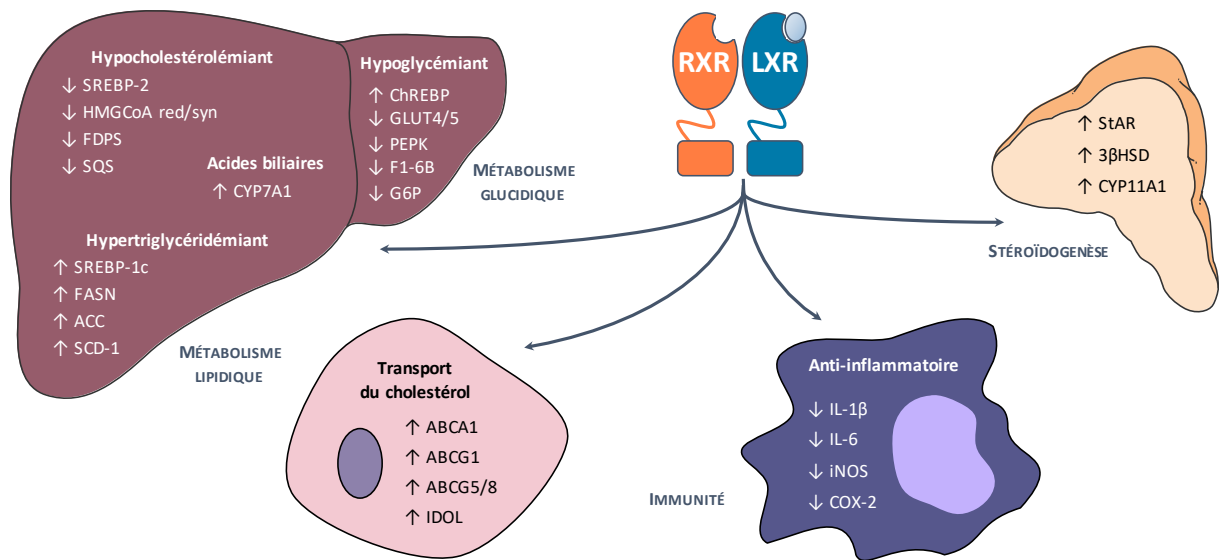


FIGURE 48 | FONCTIONS BIOLOGIQUES REGULEES PAR LES LXR

Les récepteurs nucléaires LXR participent principalement à la régulation de 4 grandes fonctions biologiques : 1) le métabolisme lipidique, où ils contrôlent l'expression de gènes cibles impliqués dans le transport inverse et la synthèse *de novo* du cholestérol mais aussi dans la synthèse des triglycérides ; 2) le métabolisme glucidique, où ils exercent une action hypoglycémiante ; 3) l'immunité, où ils répriment l'expression d'acteurs pro-inflammatoires ; et enfin 4) la stéroïdogénèse, où ils sont capables de moduler l'expression d'enzymes intervenant dans ce processus.

a. LXR et métabolisme lipidique

L'identification des oxystérols comme ligands des récepteurs LXR ainsi que la découverte de CYP7A1, la cholestérol 7 α hydroxylase, comme un gène cible des LXR ont suggéré que les LXR jouaient un rôle important dans le contrôle du métabolisme du cholestérol (Janowski et al., 1996) (Lehmann et al., 1997). Ces données ont par la suite été confirmées dans le modèle murin invalidé pour LXR α qui, nourri avec un régime riche en cholestérol, présente une dérégulation du gène CYP7A1, l'enzyme limitante de la synthèse des acides biliaires, associée à une moindre capacité à sécréter les acides biliaires, et d'autres gènes impliqués dans le métabolisme des acides biliaires et du cholestérol (Peet et al., 1998). Par ailleurs, ces souris présentent également une accumulation hépatique de cholestérol anormalement élevée (stéatose hépatique) et une hypercholestérolémie plasmatique, et une augmentation du ratio HDL/LDL cholestérol suite à l'administration du régime riche en cholestérol. En effet, les souris invalidées pour LXR α présentent une augmentation de l'expression hépatique des gènes codant des enzymes du métabolisme du cholestérol, dont SREBP-2, HMGCS, HMGCR, l'enzyme limitante de la synthèse du cholestérol, FDPS ou SQS (Peet et al., 1998).

De plus, une autre étude a confirmé en modèle murin invalidé pour *Lxr $\alpha\beta$* la nécessité des LXR pour l'activation de la lipogenèse dépendante de SREBP1c ainsi que l'effet hypertriglycéridémiant de l'activation des LXR (Schultz et al., 2000). En effet, SREBP1c est une cible transcriptionnelle des LXR, par laquelle les LXR régulent la lipogenèse via l'activation subséquente de gènes tels que *ACC*, *FASN*, ou *SCD1* (Repa et al., 2000a). Ces derniers sont par ailleurs également des cibles directes des LXR ; *ACC* (Talukdar and Hillgartner, 2006), *FASN* (Joseph et al., 2002) et *SCD1* (Chu et al., 2006). Ainsi les récepteurs nucléaires LXR sont capables de réguler le métabolisme des acides gras, en contrôlant notamment l'expression de *ACC*, *FASN* et *SCD1* au niveau du foie.

Le cholestérol circulant est majoritairement transporté dans le plasma sous forme de LDL-cholestérol. Ainsi acheminé, le récepteur LDLR permettra l'entrée de cholestérol dans la cellule. La disponibilité de LDLR à la membrane plasmique est négativement régulée par la protéine IDOL. Cette E3 ligase ubiquitinyne LDLR sur son domaine cytoplasmique, ce qui permet sa dégradation subséquente par le protéasome. *IDOL* est une cible transcriptionnelle des LXR, ce qui permet aux LXR de réguler le captage du cholestérol circulant via l'axe IDOL/LDLR, une voie complémentaire à celle des facteurs SREBP (Zelcer et al., 2009).

A l'inverse, les LXR peuvent également modifier l'efflux du cholestérol de la cellule vers son retour hépatique. Les cassettes d'efflux du cholestérol ACBA1 et ABCG1 prennent en charge le cholestérol intracellulaire afin de les transférer aux particules de HDL qui assureront son retour vers le foie. *ABCA1* (Costet et al., 2000) (Repa et al., 2000b) et *ABCG1* (Kennedy et al., 2001) sont tous les deux des gènes cibles des LXR. Par ailleurs, les récepteurs nucléaires LXR contrôlent également l'expression des transporteurs *ABC8* (Venkateswaran et al., 2000), *ABCG4* (Engel et al., 2001) ou encore *ABCG5/8* (Repa et al., 2002). La protéine CETP (*Cholesterol Ester Transferase Protein*) qui permet le transfert du HDL-cholestérol plasmatique aux cellules hépatiques est également un gène cible des LXR (Luo and Tall, 2000).

b. LXR et métabolisme glucidique

ChREBP (*Carbohydrate Response Element Binding Protein*) est un facteur de transcription impliqué dans le contrôle de l'homéostasie lipidique et glucidique dans le foie. L'expression de ce facteur de transcription est notamment directement régulée par les LXR (Cha and Repa, 2007). Les facteurs de transcriptions ChREBP, SREBP-1c et LXR sont capables de réguler l'expression d'un set commun de gènes. Il est ainsi difficile de dissocier *in vivo* les effets directs des LXR de ceux dépendant de SREBP-1c et ChREBP dans la régulation du métabolisme des acides gras. En effet, en modèle murin invalidé pour ChREBP, l'activation de SREBP-1c, FASN, et SCD-1 suite à l'administration d'un régime riche en glucides est plus faible, montrant le rôle important de ces facteurs dans la régulation de la lipogenèse hépatique, alors que l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme glucidique n'est pas affectée par l'invalidation génique (glucokinase GK, pyruvate kinase L-PK) (Denechaud et al., 2008).

Les LXR sont également capables d'inhiber la néoglucogenèse en régulant négativement l'expression des gènes codant pour les enzymes PEPCCK (phospho-enolpyruvate carboxykinase), F1-6B (fructose-1,6-bisphosphatase), G6P (glucose-6-phosphatase) ainsi que l'expression de *GLUT4*, un transporteur du glucose sensible à l'insuline (Laffitte et al., 2003) et du transporteur du fructose, *GLUT5* (Zwarts et al., 2019).

c. LXR et stéroïdogenèse

Peu d'études ont décrit le rôle des récepteurs nucléaires LXR dans le contrôle de la stéroïdogenèse. Concernant la stéroïdogenèse surrénalienne, les travaux de Cummins ont montré que les souris invalidées pour *Lxr α* présentaient une augmentation des taux de corticostérone, corrélée à une augmentation de l'expression d'enzymes clés de la stéroïdogenèse, *Star*, *Cyp11a1* et *Hsd3b* (Cummins et al., 2006). Par ailleurs, le traitement de souris par un agoniste synthétique des LXR, le T0901317, conduit également à une élévation

CANCER	LIGAND	IN VITRO	IN VIVO	EFFET	REFERENCES
MELANOME	T0901317	B16F10 A-375	Xénotreffes B16F10	Inhibition de la prolifération, apoptose, inhibition de la croissance tumorale	(Zhang et al., 2014)
OVAIRE	T0901317	CaOV3 SKOV3 A2780		Inhibition de la prolifération, apoptose, arrêt du cycle cellulaire	(Rough et al., 2010)
OVAIRE	T0901317	CaOV3 OVCAR3 SKOV3		Inhibition de la prolifération	(Scoles et al., 2010)
PANCREAS	GW3965/T0901317	BxPC-3 Mia-PaCa-2 PANC-1		Inhibition de la prolifération et de la formation de colonies, arrêt du cycle cellulaire	(Candelaria et al., 2014)
SEIN	T0901317	MCF-7 T47D MDA-MB231 SK-BR3	Xénotreffes MCF-7/VEGF	Inhibition de la croissance tumorale	(Gong et al., 2007)
SEIN	GW3965/T0901317	MCF-7	Xénotreffes MCF-7/VEGF	Inhibition de la prolifération, arrêt du cycle cellulaire	(Vedin et al., 2009)
SEIN	T0901317/22R-OHC	MCF-7		Mort cellulaire	(Roz et al., 2012)
ORAL	T0901317	SAS HSC-4 HO-1-U-1 HaCaT	Xénotreffes SAS	Inhibition de la prolifération, apoptose, inhibition de la croissance tumorale	(Kaneko et al., 2015)
FOIE	T0901317	HepG2 Hep3B	Xénotreffes HepG2	Inhibition de la prolifération, arrêt du cycle cellulaire, inhibition de la croissance tumorale	(Xiong et al., 2017)
GLIOBLASTOME	GW3965	U87 U87/EGFRvIII	Xénotreffes U87/EGFRvIII	Mort cellulaire, inhibition de la croissance tumorale	(Guo et al., 2011)
GLIOBLASTOME	24OHC/LXR623	NHA U87/EGFRvIII GBM39 U251 T98G U373 A172 GBM6 HK301 GSC11 GSC23 H827-7-2 H827-7-4 A549 H1650	Xénotreffes Xénotreffes Greffes orthotopiques U87/EGFRvIII turbo FP 635	Mort cellulaire, inhibition de la croissance tumorale	(Villa et al., 2016)
POUMON	GW3965	H827-7-2 H827-7-4		Apoptose, inhibition de la formation de colonies	(Liu et al., 2018)
POUMON	T0901317	A549 H1650		Mort cellulaire	(Cao et al., 2017)
POUMON	T0901317		Traitement MCA/BHT ou urethane	Inhibition de la formation de tumeurs, augmentation de la survie	(Wang et al., 2016)
COLON	T0901317	HCT116		Inhibition de la prolifération	(Uno et al., 2009)
COLON	T0901317/GW3965/25OHC	HCT116 HT29 HCT8 SW480	Xénotreffes CT26	Mort cellulaire, pyroptose, inhibition de la croissance tumorale	(Derangère et al., 2014)
COLON	GW3965	HT29	Xénotreffes HT29 + Activation constitutive LXR α	Inhibition de la prolifération, arrêt du cycle cellulaire, inhibition de la croissance tumorale	(Lo Sasso et al., 2013)
COLON	GW3965	Colo205 HCT116		Inhibition de la prolifération	(Vedin et al., 2013)
PROSTATE COLON	SR9243	PC-3 DU145 SW620 HT29	Xénotreffes SW620	Mort cellulaire, apoptose, inhibition de la formation de colonies, inhibition de la croissance tumorale	(Flaveny et al., 2015)
POUMON	T0901317/22R-OHC/24SOHC	HOP-62 NCI-H23 LNCaP PC-3 DU145	Xénotreffes LNCaP	Inhibition de la prolifération, arrêt du cycle cellulaire, inhibition de la croissance tumorale	(Fukuchi et al., 2004)
PROSTATE	T0901317/22R-OHC	LNCaP PC-3 DU145		Inhibition de la prolifération, arrêt du cycle cellulaire	(Chuu and Lin, 2010)
PROSTATE	T0901317/22ROHC/25ROHC/7aOHC	LNCaP	Xénotreffes LNCaP	Apoptose, inhibition de la croissance tumorale	(Pommier et al., 2010)
PROSTATE	T0901317	LNCaP PC-3		Inhibition de la prolifération, arrêt du cycle cellulaire	(Kim et al., 2010)
PROSTATE	T0901317		Xénotreffes LNCaP 104-S	Inhibition de la croissance tumorale	(Chuu et al., 2006)

FIGURE 49 | EFFETS DES LIGANDS DES LXR *IN VITRO* ET *IN VIVO* EN MODELE TUMORAL

des taux de corticostérone ainsi qu'à l'expression accrue de ces mêmes gènes. Des analyses moléculaires ont mis en évidence un contrôle direct de l'expression de *Star* par la fixation de LXR sur son promoteur. Par la suite, il a été confirmé que *STAR* était une cible transcriptionnelle directe des LXR dans la cellule de Leydig (Volle et al., 2007). De même, l'activation des LXR *in vivo* en modèle murin par le même agoniste synthétique induit une augmentation des taux de testostérone intra-testiculaire, corrélée à la surexpression des gènes codants les enzymes STAR et 3 β HSD. Cette observation semble confirmée dans l'ovaire où le traitement de souris par le T0901317 induit l'expression de *Star*.

5. Rôle des récepteurs nucléaires LXR dans le cancer

Les récepteurs nucléaires LXR sont impliqués dans différents cancers, aussi bien de la prostate que le cancer colorectal, de la glande mammaire ou de l'ovaire (De Boussac et al., 2013). De façon générale, l'utilisation d'agonistes des LXR sur des lignées cellulaires tumorales *in vitro* ou *in vivo*, après des xéno greffes ou des greffes orthotopiques, conduit à une action anti-tumorale, en inhibant la prolifération et en favorisant la mort cellulaire par apoptose et par un arrêt du cycle (Figure 49).

L'étude de modèles cellulaires d'adénocarcinomes prostatiques humains et des souris invalidées pour LXR $\alpha\beta$ a confirmé leurs propriétés antiprolifératives et pro-apoptotiques. Ainsi, le traitement de cellules LNCaP par le T0901317, un ligand agoniste synthétique des LXR, conduit à une diminution de l'accumulation protéique de SKP2 puis à l'augmentation de l'accumulation protéique de p27^{kip1} dont il résulte un arrêt des cellules en phase G1 (Fukuchi et al., 2004) (Chuu and Lin, 2010). Des données obtenues sur des modèles cellulaires de divers cancers (de l'ovaire, du pancréas, du sein, du foie ou colorectal) ont confirmé l'inhibition de SKP2 et/ou la surexpression de p27 suite à l'activation des LXR (Rough et al., 2010) (Candelaria et al., 2014) (Vedin et al., 2009) (Xiong et al., 2017) (Lo Sasso et al., 2013).

Par ailleurs, les travaux du laboratoire ont montré que l'activation des LXR, dans un modèle de cellules épithéliales prostatiques murines (MPEC, *Mouse Prostate Epithelial Cells*), réduit la prolifération cellulaire via notamment une diminution de la phosphorylation de AKT (Dufour et al., 2013). Parallèlement, l'activation des LXR au sein de ces mêmes cellules induit l'expression de *Abcg1*. Cette cible des LXR favorise l'efflux du cholestérol et conduit ainsi à une perturbation de la signalisation dépendante des radeaux lipidiques. Il en résulte une diminution de l'activité de la voie de survie PI3K/AKT et ainsi la mort par apoptose des cellules traitées *in vitro* et *in vivo* (Pommier et al., 2010). Inversement, l'utilisation d'un agoniste inverse des LXR, le SR9243, inhibe l'expression de gènes de la glycolyse et de la lipogenèse, dont

notamment *SREBP-1c*, *FASN*, *SCD1*, ce qui conduit à une diminution de l'accumulation de lipides neutres dans la cellule. Ainsi, le SR9243 induit l'apoptose des cellules tumorales et réduit la croissance tumorale de xénogreffes de cellules de cancer colorectal (Flaveny et al., 2015).

In vivo, l'inactivation de *Lxrαβ* conduit à l'apparition de PIN chez des souris nourries avec un régime riche en cholestérol. Ce phénotype est associé à des perturbations de l'expression d'acteurs clés de la carcinogenèse prostatique à savoir une surexpression des gènes *Ccnd1* et *Ccnd2* et de l'oncogène *Ezh2* et une répression des gènes suppresseurs de tumeurs *Nkx3.1* ou *Msmb* (Pommier et al., 2013). Ces données montrent que les récepteurs nucléaires LXR, en contrôlant les concentrations intracellulaires de cholestérol, exercent un rôle protecteur dans l'apparition des lésions précancéreuses de la prostate. Les poumons des souris invalidées pour LXRαβ accumulent également progressivement des cellules spumeuses dès 3 mois. Ainsi ces souris présentent une inflammation pulmonaire chronique associée à l'accumulation de lipides dans les pneumocytes de type I et II, mais également au sein des fibroblastes et des macrophages. A 14 mois, ces souris présentent des lésions mimant une hyperplasie adénomateuse, une métaplasie squameuse, puis des carcinomes à cellules squameuses. Au final, l'inactivation des LXR, en perturbant l'homéostasie du cholestérol et en favorisant l'inflammation, conduit au développement de lésions malignes pulmonaires (Dai et al., 2016).

De façon intéressante, les récepteurs nucléaires LXR peuvent interférer avec la signalisation AR. L'activation des récepteurs nucléaires LXR, par l'utilisation d'agonistes synthétiques ou d'un modèle murin de surexpression de LXRα, conduit *in vitro* et *in vivo* à une diminution de l'activité androgénique de la prostate. En effet, l'activation des LXR régule positivement l'expression de *SULT2A1*, ou hydroxystéroïde sulfotransférase, une enzyme impliquée dans la désactivation des androgènes. L'activation des LXR inhibe également l'expression de *STS*, stéroïde sulfatase, qui catalyse la conversion des stéroïdes sulfatés en stéroïdes libres, actifs. L'activation de *SULT2A1* consécutive à l'utilisation d'agonistes des LXR est requise pour leur effet inhibiteur sur la croissance des cellules tumorales prostatiques (Hoon Lee et al., 2008). Dans cette même logique, une autre étude menée sur des lignées cellulaires de cancer du sein a montré que l'activation des LXR induit l'expression de l'œstrogène sulfotransférase *SULTE1E*, l'enzyme responsable de la désactivation des œstrogènes, et inhibe ainsi la croissance de cellules tumorales du sein xénogreffées (Gong et al., 2007). Des analyses réalisées en modèle murin ont montré que l'inactivation de *Lxrα* conduisait à une hypertrophie de la prostate ventrale, et à une production anormalement élevée de sécrétions prostatiques, notamment de la

protéine SBP et à des anomalies du trafic vésiculaire dans les cellules prostatiques. Ceci suggère que l'inactivation de LXR α se traduit par une hypersensibilité de la prostate ventrale murine à la signalisation androgénique (Viennois et al., 2012).

A l'inverse, AR peut réguler négativement l'activité des récepteurs nucléaires LXR. Les auteurs ont démontré que cet antagonisme direct ne nécessitait pas de synthèse protéique, et n'affectait ni l'expression transcriptomique et protéique des LXR ni leur liaison à l'ADN. Cet antagonisme est aussi observé avec ER, GR et PR. L'absence de liaison directe entre les récepteurs LXR et AR a amené les auteurs de cette étude à suggérer une compétition entre ces deux récepteurs pour les co-activateurs (Krycer and Brown, 2011). Ces données restent en accord avec l'effet positif de AR sur la régulation du métabolisme du cholestérol, en favorisant l'activité de SREBP-2 et en inhibant celle des LXR.

L'ensemble de ces résultats suggèrent que les récepteurs nucléaires LXR jouent un rôle important dans la physiologie et la physiopathologie prostatique en régulant notamment l'homéostasie du cholestérol et la signalisation androgénique. En tenant compte de leur activité anti-proliférative et pro-apoptotique, les récepteurs nucléaires LXR ont un potentiel anti-tumoral certain, bien que leur rôle reste à éclaircir dans le développement et la progression du cancer de la prostate *in vivo*.

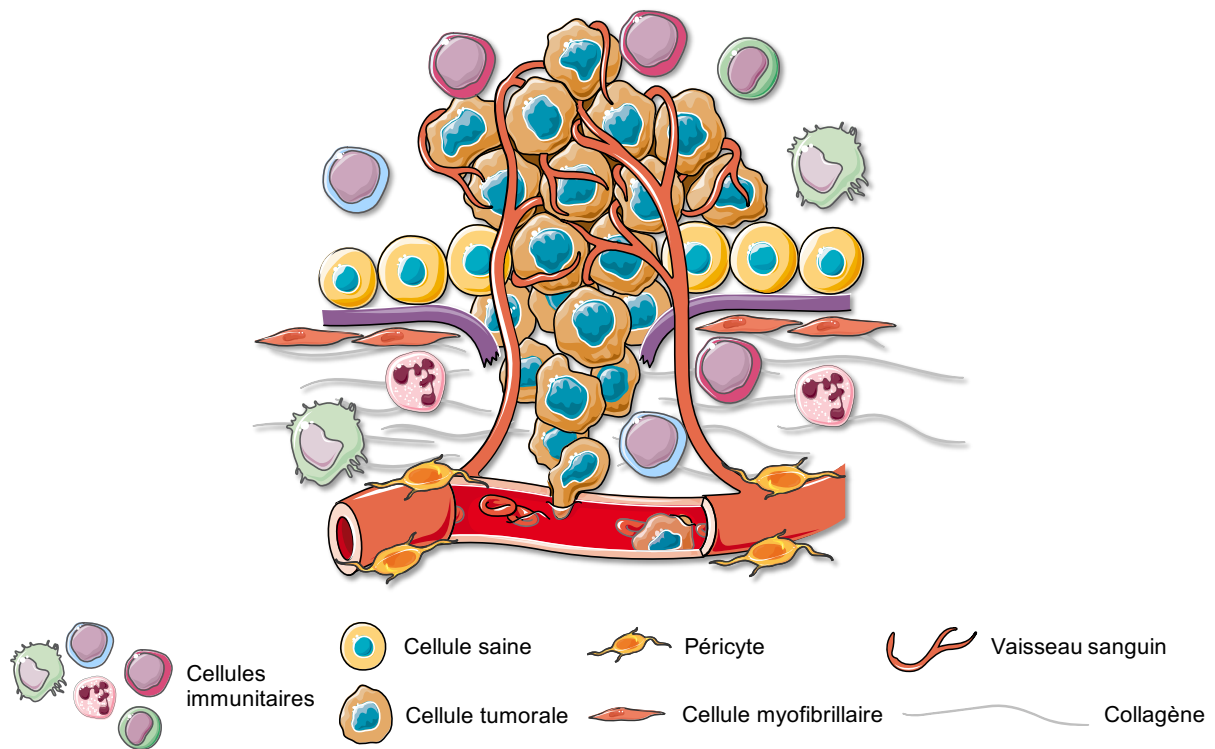


FIGURE 50 | MICROENVIRONNEMENT TUMORAL

Les cellules tumorales ne sont pas isolées dans leur environnement et interagissent avec d'autres types cellulaires et molécules, formant ainsi un écosystème particulier, le microenvironnement tumoral. Ce dernier comprend des cellules de l'immunité, des éléments du stroma comme la matrice, les cellules fibroblastiques, les vaisseaux sanguins et les péricytes, capables de soutenir l'activité des cellules tumorales.

IV. MICROENVIRONNEMENT IMMUNITAIRE DU CANCER DE LA PROSTATE

A. Immunité

Le microenvironnement tumoral contient des cellules de l'immunité innée (macrophages, neutrophiles, mastocytes, MDSC (*Myeloid-Derived Suppressor Cells*), cellules dendritiques (DC, *Dendritic Cells*), NK (*Natural Killer cells*) et des cellules de l'immunité adaptative (lymphocytes B et T) en plus des cellules tumorales et du stroma adjacent (composé de fibroblastes, de la matrice, des vaisseaux, de cellules endothéliales, de péricytes, de cellules mésenchymateuses) (Figure 50). Ces cellules communiquent entre elles par contact direct mais aussi via le relargage de cytokines et de chimiokines de façon autocrine et paracrine pour contrôler la croissance tumorale. L'expression, l'abondance, la disponibilité, et l'état d'activation de ces cellules et facteurs constituent une balance immunitaire qui favorisera soit une inflammation pro-tumorale soit une immunité anti-tumorale (Lin and Karin, 2007). Il semble aujourd'hui vrai de dire que les deux coexistent tout au long du développement tumoral, et que des facteurs environnementaux ou microenvironnementaux dictent l'état d'activation.

Cette dualité d'activité dans le contexte des tumeurs s'explique par la nature très plastique du système immunitaire. Classiquement, la détection et le ciblage des agents infectieux sont assurés par la réponse immunitaire adaptative, supporté par l'immunité innée. D'un autre côté, l'immunité innée est impliquée dans des processus de réparation comme la cicatrisation et l'élimination des débris cellulaires et des cellules mortes. Ces tâches spécialisées sont réalisées par différents types de cellules inflammatoires, les macrophages conventionnels et les neutrophiles (avec le support de l'immunité adaptative), mais aussi par des macrophages activés alternativement et des progéniteurs myéloïdes. De plus, les lymphocytes T et B peuvent soutenir ces cellules, pour faciliter leur recrutement et leur activation.

1. Cellules du système immunitaire

a. La lignée lymphoïde

A partir des cellules souches hématopoïétiques, le progéniteur lymphoïde commun (CPL) va donner naissance aux cellules de la lignée lymphoïde. Les lymphocytes T et B de l'immunité adaptative expriment des récepteurs spécifiques aux antigènes : le récepteur des cellules T (TCR) et le récepteur des cellules B (BCR) respectivement.

Une définition simple des cellules B est qu'elles possèdent divers récepteurs aux immunoglobulines (Ig) capables de reconnaître une variété d'épitopes antigéniques. L'activation des cellules B est induite par l'antigène par l'engagement du BCR et leur

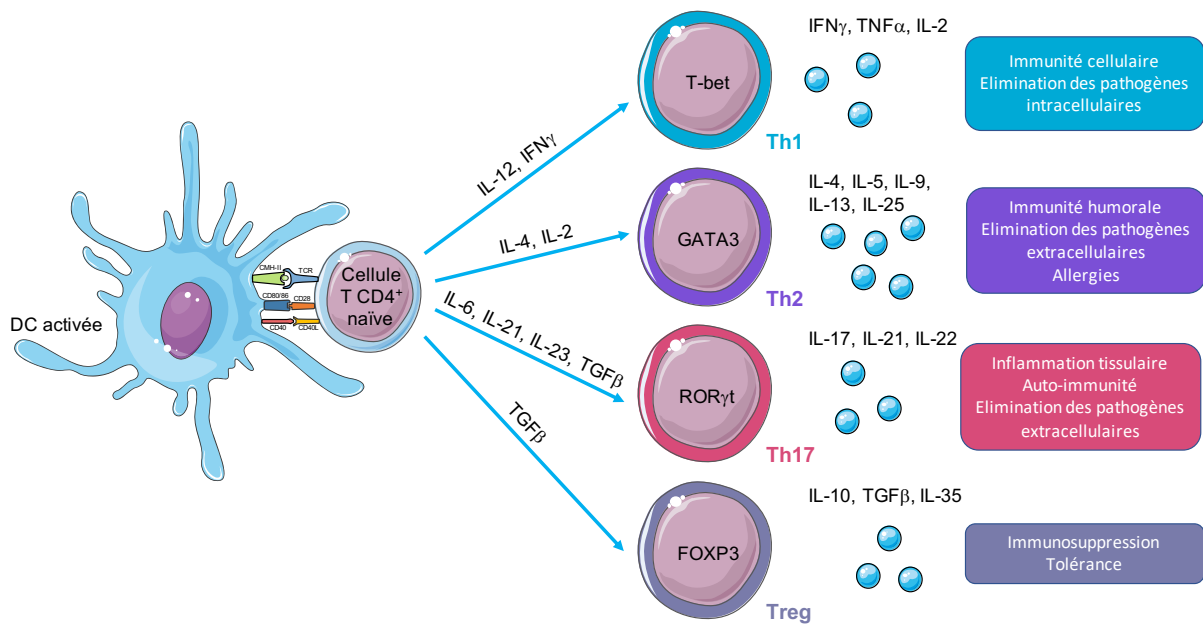


FIGURE 51 | DIFFERENCIATION DES CELLULES T CD4⁺ NAÏVES

La différenciation des cellules T CD4⁺ naïves fera suite à la présentation de signaux d'activation par une DC activée. Les cytokines critiques pour la différenciation Th1 sont l'IL-12 et l'IFN γ et le régulateur majeur est le facteur de transcription T-bet. Les cellules Th1 sont impliquées dans l'élimination des pathogènes intracellulaires et elles sécrètent principalement de l'IFN γ , du TNF α et de l'IL-2. La différenciation Th2 est dépendante des interleukines IL-2 et IL-4 et du facteur de transcription GATA3. Elles participent à la lutte contre les pathogènes extracellulaires en sécrétant de l'IL-4, de l'IL-5, de l'IL-9, de l'IL-13 et de l'IL-25. Les cellules Th1 sont plutôt impliquées dans la réponse cellulaire (stimulation des macrophages et des CTL), les cellules Th2 dans la réponse humorale (cellules B, éosinophiles, mastocytes). Les cellules Th17, ROR γ t⁺, sont induites après stimulation par l'IL-6, l'IL-21, l'IL-23 ou le TGF β . Elles contrôlent la réponse immunitaire contre les champignons et les bactéries extracellulaires et sont aussi impliquées dans les pathologies auto-immunes. Dans la réponse inflammatoire médiée par les cellules T, elles sécrètent de l'IL-17A, de l'IL-17F, de l'IL-21 et de l'IL-22. Le TGF β régule la différenciation des Treg, FOXP3⁺. Ces cellules participent à la tolérance immunitaire contre le soi et le non-soi. Après l'élimination des pathogènes, elles permettent également la résolution de l'inflammation en sécrétant principalement de l'IL-10, de l'IL-35 et du TGF β . *Modifié d'après (Bailey et al., 2014).*

coopération avec des lymphocytes T auxiliaires (Th, *helper*). Elle a lieu tout comme leur différenciation subséquente dans les tissus lymphoïdes secondaires (rate, ganglions...) au niveau du centre germinatif. Pour revue sur les cellules B, voir (LeBien and Tedder, 2008). Les cellules B matures participeront alors à la réponse immunitaire humorale via la production d'anticorps spécifiques de l'antigène rencontré. Les cellules B activées peuvent également agir comme des CPA (Cellules Présentatrices d'Antigènes) capables d'activer les lymphocytes Th. La première molécule décrite comme spécifique des cellules B est le marqueur CD20 (Stashenko et al., 1980). D'autres molécules de surface sont préférentiellement exprimées par les cellules B comme le CD19.

Les lymphocytes T peuvent être distingués des autres lymphocytes par la présence du TCR à leur surface. Les cellules $\text{TCR}\alpha\beta^+$ possèdent un TCR composé des chaînes α et β et sont appelées cellules T adaptatives conventionnelles. Elles expriment également à leur surface le co-récepteur CD3. Selon qu'elles présentent le co-récepteur CD4 ou CD8, on distinguera les cellules Th CD4^+ des cellules T cytotoxiques CD8^+ (CTL, *Cytotoxic T Lymphocyte*).

Les cellules Th assistent les autres lymphocytes, dont les cellules B, dans leur maturation, et activent les CTL et les macrophages. Elles sont activées suite à la présentation des antigènes via des molécules du CMH-II (Complexe Majeur d'Histocompatibilité), exprimées à la surface des CPA, sur leur TCR. Parmi les CPA, les cellules dendritiques sont considérées comme les plus importantes grâce à leur capacité accrue à stimuler les cellules T naïves (pour revue, voir (Jenkins et al., 2001)). Une fois activées, les cellules Th peuvent se différencier en différents sous-types, capables de sécréter des cytokines et de réguler des réponses immunitaires différentes, qui sont classiquement au nombre de 4 : Th1, Th2, Th17, Treg (Figure 51). Pour revue sur les cellules T CD4^+ , voir (Luckheeram et al., 2012).

Les CTL sont activées suite à la présentation des cellules infectées via des molécules du CMH-I et l'émission de signaux de co-stimulation par les CPA. Elles interviennent dans la lutte contre les pathogènes intracellulaires en induisant la mort des cellules infectées. Leur action cytotoxique permet la destruction de la cellule cible par le relargage de toxines comme le granzyme et la perforine qui induiront une apoptose ou une nécrose dépendantes des caspases, ou via l'expression du ligand FASL à leur membrane qui activera la signalisation FAS après contact avec la cellule cible pour provoquer également son apoptose dépendante des caspases (Figure 52). Pour revue sur l'activité cytotoxique des CTL, voir (Barry and Bleackley, 2002).

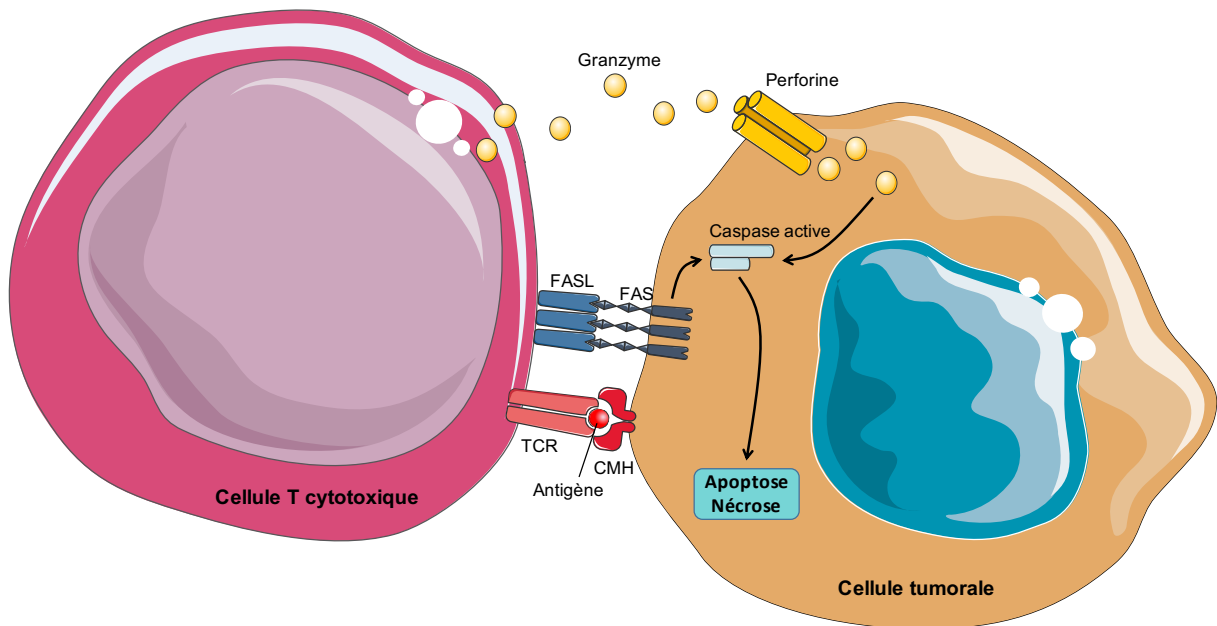


FIGURE 52 | CELLULES T CYTOTOXIQUES

Les cellules T cytotoxiques peuvent induire la mort de leur cellule cible de plusieurs façons. Après fixation du ligand FASL (présent à la membrane de la CTL) sur son récepteur FAS (à la membrane de la cellule cible), l'activation de la signalisation dépendante des caspases va induire l'apoptose de la cellule. De plus, la CTL peut relarguer des granules cytotoxiques composées de perforine et de granzyme. Les molécules de perforine pourront former des pores à la membrane de la cellule cible, permettant l'entrée du granzyme dans le cytoplasme. Le granzyme peut alors induire l'apoptose dépendante des caspases ou le dysfonctionnement de la mitochondrie pour causer la mort de la cellule par nécrose. *Modifié d'après (Barry and Bleackley, 2002).*

D'autres lymphocytes T non conventionnels n'expriment pas le TCR $\alpha\beta$ mais le TCR $\gamma\delta$ à leur surface. Ces lymphocytes dits T $\gamma\delta$ sont retrouvés plus spécifiquement au niveau des épithéliums et des muqueuses (peau, intestin, poumon, utérus). Ils jouent un rôle important dans la réponse inflammatoire et ont classiquement une activité anti-tumorale, mais ils peuvent également favoriser la croissance des tumeurs dans certains cas, par la sécrétion d'IL-17 (Silva-Santos et al., 2015).

Les cellules NK sont également des cellules cytotoxiques de l'immunité innée. Elles interviennent dans la réponse aux cellules infectées par des virus mais aussi contre les cellules tumorales. Les NK proviennent du progéniteur commun aux lymphocytes et diffèrent des cellules NKT (*Natural Killer T cells*) par leur origine et leur fonction. Contrairement aux NKT, les cellules NK ne possèdent pas de TCR ou de CD3. Les cellules NK expriment classiquement les marqueurs CD16 et CD56 et sont capables de stimuler la maturation et l'activité des DC, des macrophages et des cellules B (pour revue, voir (Vivier et al., 2008)). Les cellules NKT partagent les propriétés des cellules T et des cellules NK. En effet, les NKT sont un sous-type de cellules T exprimant le TCR $\alpha\beta$ mais aussi d'autres marqueurs spécifiques des NK comme NK1.1. Les cellules NKT sécrètent des cytokines comme l'IFN γ , l'IL-4, le TNF α et le GM-CSF pour lutter contre les infections et participer à l'immunité humorale, en supportant l'activité des cellules B (pour revue, voir (Godfrey et al., 2004)).

b. La lignée myéloïde

Historiquement, les macrophages, les monocytes et les DC ont été regroupés sous le même terme de phagocytes mononucléaires car, même si les monocytes présentent des fonctions uniques, ils sont aussi considérés comme les précurseurs des macrophages et des DC. Les macrophages sont des cellules avec un large cytoplasme particulièrement habilitées pour l'élimination des cellules apoptotiques, des débris cellulaires et des pathogènes. Ils sont phénotypiquement décrits chez la souris comme les cellules F4/80^{hi}. Au contraire, les DC sont définies par leur morphologie étoilée, et peuvent efficacement présenter des antigènes sur des molécules du CMH pour activer les cellules T naïves. Chez la souris, les DC sont définies comme les cellules CD11c^{hi} MHCII⁺.

Des études de lignages ont permis de démontrer plus récemment que la plupart des macrophages de l'adulte sont maintenus par auto-renouvellement, indépendamment des monocytes circulants (Schulz et al., 2012). De même, les cellules dendritiques classiques de l'adulte émanent d'un progéniteur commun aux DC, dérivé des cellules souches

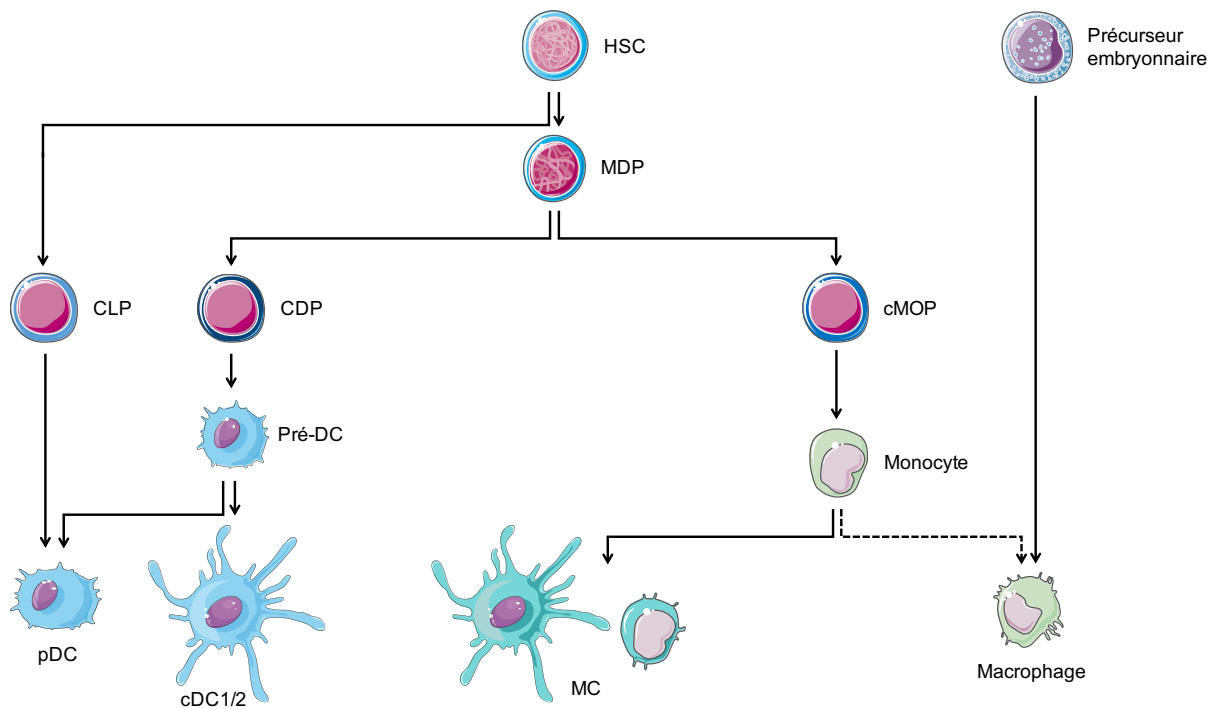


FIGURE 53 | ONTOGÉNIE DU SYSTÈME MPS (*MONONUCLEAR PHAGOCYTE SYSTEM*)

A partir d'une cellule souche hématopoïétique (HSC), le progéniteur commun aux macrophages et aux DC (MDP, *Macrophage DC Progenitor*) donnera les lignages myéloïdes à partir du CDP (*Common DC Progenitor*) pour les DC classiques (cDC) et plasmacytoïdes (pDC) ou à partir du cMOP (*common Monocyte Progenitor*) pour les cellules dérivées des monocytes (MC, ou MoDC). Les pDC peuvent également découler du progéniteur commun aux cellules lymphoïdes (CLP, *Common Lymphoid Progenitor*). Les MC correspondent, chez la souris, à un groupe de cellules hautement hétérogènes, $Ly6C^+$, pouvant également exprimer les marqueurs CD11c, CMH-II ou F4/80. Enfin, si les macrophages sont principalement maintenus à l'âge adulte par auto-renouveau à partir d'un progéniteur embryonnaire, quelques cellules pourront se différencier à partir des monocytes. *Modifié d'après (Eisenbarth, 2019).*

hématopoïétiques (CDP), distinct des monocytes (Schraml et al., 2013). Ces cellules, macrophages, monocytes (et cellules dérivées des monocytes ou MC), et DC, sont plus généralement nommées phagocytes mononucléaires en l'absence de données quant à leur origine (Figure 53). Pour revue sur le système des phagocytes mononucléaires, voir (Guilliams et al., 2014).

Les phagocytes mononucléaires jouent un rôle clé lors d'une infection ou d'une inflammation. Les monocytes circulants sont recrutés sur le site de l'atteinte cellulaire pour se différencier en macrophages ou en DC. Selon les signaux présents dans leur environnement, les macrophages se différencient selon deux phénotypes polarisés fonctionnellement distincts : M1 ou M2. La distinction entre les macrophages M1 (dits classiquement activés) et les macrophages M2 (dits alternativement activés) est faite sur la base des cytokines qui leur sont associées ; $IFN\gamma$ pour les macrophages M1 inflammatoires, dont l'action est liée à l'activité des cellules Th1 et l'IL-4 et l'IL-13 pour les macrophages M2 associés à une réponse Th2, au rôle immuno-régulateur (Figure 54). Pour revue sur la polarisation des macrophages, voir (Lawrence and Natoli, 2011). Les TAM (*Tumor-Associated Macrophages*) constituent un autre type de polarisation des macrophages infiltrant les tumeurs. Par leur localisation et le contexte particulier de leur recrutement, les TAM possèdent un profil transcriptionnel distinct des macrophages associés aux tissus bénins, bien qu'ils présentent certaines caractéristiques des macrophages M2 (Biswas et al., 2006).

Les granulocytes, ou polymorphonucléaires, sont déterminés selon la capacité de leur cytoplasme à fixer les colorants acides et/ou basiques de la coloration May-Grünwald Giemsa : neutrophiles, éosinophiles, basophiles (et mastocytes). Originaires d'un précurseur myéloïde, ils jouent un rôle essentiel dans l'inflammation, qu'elle soit stérile ou induite par des micro-organismes. La maturation des granulocytes a lieu dans la moelle osseuse avant leur relargage dans la circulation. En absence de signal, les neutrophiles circulant entrent rapidement en apoptose et sont éliminés par phagocytose dans le foie, la rate ou la moelle osseuse (Summers et al., 2010).

Les neutrophiles sont les premiers leucocytes recrutés sur le site d'une inflammation et sont capables d'éliminer les pathogènes par divers mécanismes : phagocytose, dégranulation de protéines anti-bactériennes (cathepsines, défensines, lysozyme, lactoferrine) ou piégeage grâce à des NET (*Neutrophils Extracellular Traps*) qui permettent d'immobiliser les pathogènes avant de les éliminer. Trois types de granules de neutrophiles seront produits selon leur maturation : les granules primaires azurophiles (myeloperoxidase (MPO), une enzyme anti-

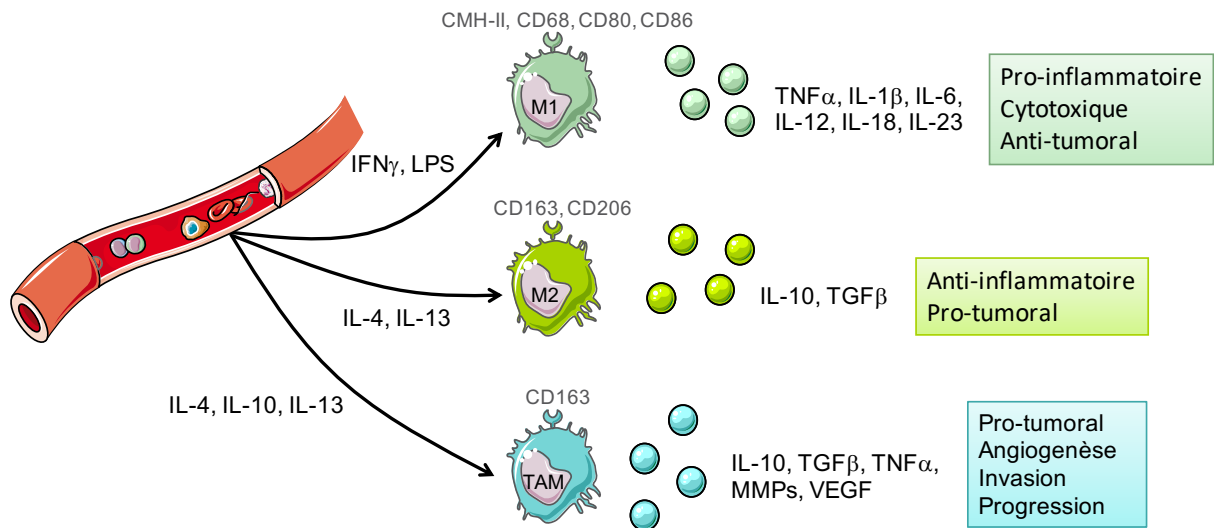


FIGURE 54 | POLARISATION DES MACROPHAGES

Selon les cytokines en présence, les macrophages pourront se différencier en différents sous-types. Exposés à l' $IFN\gamma$ ou au LPS, les macrophages dits M1 exprimeront en autres le marqueur CD68 et sécrèteront un profil de cytokines inflammatoires. Ils exercent dans un contexte de cancer une action anti-tumorale. Les M2 se différencieront en présence d'IL-4 ou d'IL-13 et expriment le marqueur CD163. Leur rôle est plutôt anti-inflammatoire et pro-tumoral. Enfin, les TAM, au niveau des tumeurs, pourront favoriser la croissance et la progression du cancer. Ils ont classiquement un profil proche des M2, et ont une action anti-inflammatoire et immunosuppressive.

bactérienne), les granules secondaires spécifiques (lactoferrine), et les granules tertiaires gélatinases (MMP9). Bien que leurs sécrétions soient efficaces dans la lutte contre les pathogènes, elles induisent également des dommages aux cellules saines environnantes. Ainsi la réponse doit être équilibrée entre une défense efficace contre les pathogènes et la protection de l'organisme. De plus, les granulocytes possèdent d'importantes propriétés immuno-modulatrices et sont capables de produire un vaste répertoire de cytokines, chimiokines et médiateurs de l'inflammation. Pour revue sur les neutrophiles, voir (Kolaczowska and Kubes, 2013).

2. Régulation des réponses immunes par les récepteurs nucléaires LXR

Peu de temps après la découverte des récepteurs nucléaires LXR et de leur rôle dans la régulation du métabolisme lipidique et plus particulièrement du cholestérol, la question a été posée de leur implication dans les pathologies cardiovasculaires et plus particulièrement dans l'athérosclérose (Tangirala et al., 2002) (Calkin and Tontonoz, 2010). Des travaux menés depuis lors ont confirmé l'importance des LXR dans la régulation du métabolisme lipidique et de l'inflammation, dans la pathogenèse de l'athérosclérose, mais également dans d'autres pathologies inflammatoires. Pour autant leurs rôles dans le contrôle de l'inflammation et plus généralement dans l'immunité sont encore mal connus et continuent d'être attentivement étudiés.

a. LXR et macrophages

Au début des années 2000, Joseph et ses collaborateurs ont montré l'importance des LXR dans la régulation de l'inflammation. En effet, l'activation *in vitro* des LXR par un ligand synthétique, le GW3965, inhibe l'expression de gènes pro-inflammatoires tels que iNOS et COX2 après la stimulation de macrophages par des bactéries *E. coli* ou par du LPS (Joseph et al., 2003). Cet effet serait dépendant du facteur de transcription NF- κ B et non de AP-1. Réciproquement, les macrophages invalidés pour les LXR sont plus sensibles à l'inflammation induite par un traitement au LPS. *In vivo*, l'utilisation d'agonistes réduit l'inflammation dans un modèle de dermatite de contact et inhibe l'expression de gènes inflammatoires dans l'aorte athérosclérotique observée dans le modèle murin mutant pour *ApoE*. Peu après, le rôle des LXR a été validé dans l'inflammation pulmonaire. L'activation des LXR induit une diminution de la production de cytokines par les macrophages pulmonaires et les cellules THP-1 en réponse au LPS (Birrell et al., 2007). Pour autant, les auteurs montrent que cet effet est indépendant d'une modulation de la fixation de NF- κ B ou de AP-1 sur l'ADN *in vivo* dans des animaux traités par

voie aérienne pour induire une inflammation pulmonaire, en présence ou en absence d'agonistes synthétiques des LXR.

Enfin, dans le foie, l'inactivation des LXR entraîne une augmentation du nombre de cellules mononucléaires de type cellules de Kupffer ou macrophages (F4/80⁺ CD11b⁺) par rapport aux individus sauvages, en plus d'une augmentation des cytokines inflammatoires (IL-1 β , IL-6, TNF α , iNOS) (Endo-Umeda et al., 2018). Cela s'accompagne d'une perturbation de la balance M1/M2 en faveur des macrophages M1, de type inflammatoire. Chez l'homme, le traitement de monocytes circulants par un agoniste synthétique des LXR (GW3965) en réponse au LPS de *E. coli* ou au peptidoglycane de *S. aureus* inhibe également la production de cytokines pro-inflammatoires (Myhre et al., 2008). Les LXR sont également capables de réguler la prolifération des macrophages induite par le M-CSF. Cet effet est dépendant d'un contrôle des protéines du cycle cellulaire CCND1/B1 et CDK2/4 et semble indépendant de la signalisation ERK (Pascual-García et al., 2011).

Ainsi, les LXR sont capables de réprimer l'inflammation notamment en inhibant la production et la libération de cytokines pro-inflammatoires. Mais les mécanismes par lesquels les LXR répriment les processus inflammatoires sont encore mal connus. L'absence de séquence LXRE dans le promoteur des gènes réprimés sous-entend l'existence d'un mécanisme indirect de régulation. Les études menées jusqu'alors suggèrent surtout l'implication de la voie NF- κ B, bien que son inhibition suite à l'activation des LXR semble indépendante de sa translocation nucléaire, de sa liaison à l'ADN ou de la dégradation de l'inhibiteur de NF- κ B I κ B. Ghisletti a proposé un mécanisme de transrépression par LXR des gènes inflammatoires exprimés en réponse au LPS (Ghisletti et al., 2009). Ce mécanisme serait dépendant de la SUMOylation des LXR et de sa présence sur le promoteur des gènes concernés. La description initiale de l'activité de transrépression des LXR fut basée sur l'étude de iNOS qui a permis d'identifier des caractéristiques biochimiques nécessaires : (1) la SUMOylation des LXR, (2) la localisation des LXR sur le promoteur des gènes cibles, (3) l'inhibition de l'élimination de NCoR en réponse au LPS (Ghisletti 2007). Dans ce contexte, la transrépression par LXR peut être vue comme le maintien d'une répression basale en réponse à un signal d'activation des LXR.

Plus récemment, Ito et ses collaborateurs ont cependant émis une tout autre hypothèse pour expliquer l'inhibition de l'expression des gènes inflammatoires en réponse à l'activation des LXR (Ito et al., 2015). Ils pointent le rôle clé de la cassette d'efflux du cholestérol ABCA1, un gène cible des LXR, et du contrôle qu'exerce ce transporteur sur le métabolisme cellulaire du

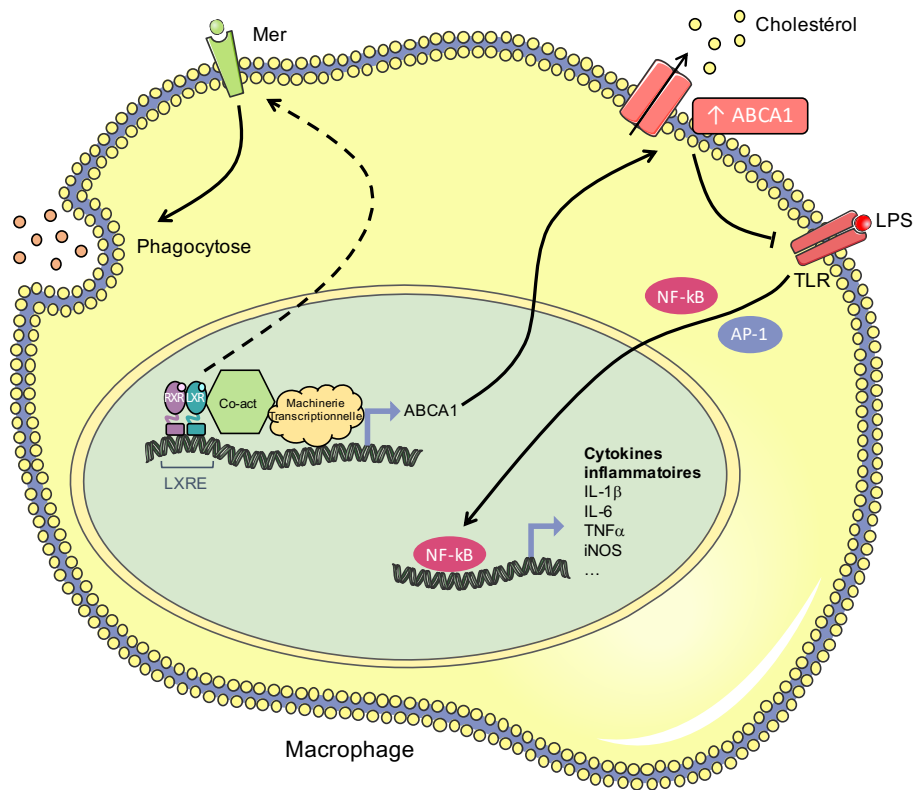


FIGURE 55 | REGULATION DE L'ACTIVITE DES MACROPHAGES PAR LES RECEPTES LXR

L'activation des récepteurs nucléaires LXR régule négativement l'expression de gènes codant des cytokines inflammatoires tels que l'IL-1β, l'IL-6 ou le TNFα. Ce mécanisme nécessite l'activation de la transcription de ABCA1, cible de LXR, qui en favorisant l'efflux de cholestérol membranaire, perturbera la signalisation TLR. Ainsi, en réponse au LPS, l'activation des LXR diminue l'activité transcriptionnelle de NF-κB et réprime ainsi l'expression des cytokines inflammatoires. De plus, les LXR favorisent la signalisation MerTK, nécessaire à la phagocytose par les macrophages de sorte que leur absence est associée à une diminution des capacités de phagocytose des macrophages.

cholestérol. L'altération de la composition membranaire en cholestérol, au niveau des radeaux lipidiques induit une augmentation de la fluidité membranaire, ce qui perturbe la signalisation TLR (TLR2, 4, 9) en aval et conduit *in fine* à l'inhibition des voies NF- κ B et MAPK. Ces effets sont dépendants de l'activité transcriptionnelle des LXR et indépendants de sa SUMOylation, et ont été observés *in vitro* sur des BMDM et *in vivo* (Figure 55). De façon intéressante, cette même équipe avait publié une dizaine d'années auparavant l'existence d'un contrôle de l'activité de LXR par la signalisation TLR (Castrillo et al., 2003). En effet, dans les macrophages, l'activation de la signalisation TLR par des bactéries ou virus (*E. coli* et Influenza) réprime l'expression de gènes cibles des LXR dont ABCA1, inhibant ainsi l'efflux de cholestérol et ce, via les protéines MyD88/IRF3 en aval des TLR.

Un autre acteur clé de l'activité des macrophages est le récepteur tyrosine kinase Mer. Ce récepteur inhibe la réponse inflammatoire à la fois en réponse aux pathogènes et dans un modèle d'inflammation stérile induit par le zymosan, en corrélation avec une diminution de l'activité des LXR (Choi et al., 2015). Mer est un acteur clé de la phagocytose des cellules apoptotiques. En effet, en réponse à l'apoptose, on observe une oxydation des phospholipides à la surface des cellules. Ces derniers seront liés par des molécules telles que les opsonines MFGE8, GAS6 ou le facteur du complément C1q qui seront alors reconnues par des récepteurs spécifiques exprimés par les macrophages et les cellules dendritiques, notamment ceux de la famille TAM (Tyro3, Axl et Mer). Après la phagocytose des corps apoptotiques, les macrophages sécrèteront des molécules tolérogènes dans le but de prévenir une réponse immunitaire contre le soi et l'induction d'inflammation non contrôlée. L'absence des LXR est ainsi responsable d'une perte de la tolérance et d'une glomérulonéphrite, liées à un défaut de phagocytose des cellules apoptotiques dépendant de la signalisation Mer, induisant en conséquence une inflammation chronique (A-Gonzalez et al., 2009). Par la suite, Hong et ses collaborateurs ont confirmé que la régulation par les LXR de l'élimination efficace des neutrophiles sénescents via leur phagocytose par les macrophages et les DC était dépendante de Mer (Hong et al., 2012). De plus, les LXR contrôlent l'homéostasie des neutrophiles en inhibant les cytokines IL-23, IL-17 et G-CSF qui stimulent la production de neutrophiles par la moelle osseuse. En effet, un agoniste spécifique des LXR, le BMS-852927, tout comme le GW3965, induit une neutropénie chez la souris et le sujet sain, via l'inhibition de l'IL-23 (Kirchgesner et al., 2016).

b. LXR et lymphocytes

L'activité principale des récepteurs nucléaires LXR dans la régulation du système immunitaire, comme évoqué précédemment, vise à contrôler la réponse inflammatoire des macrophages.

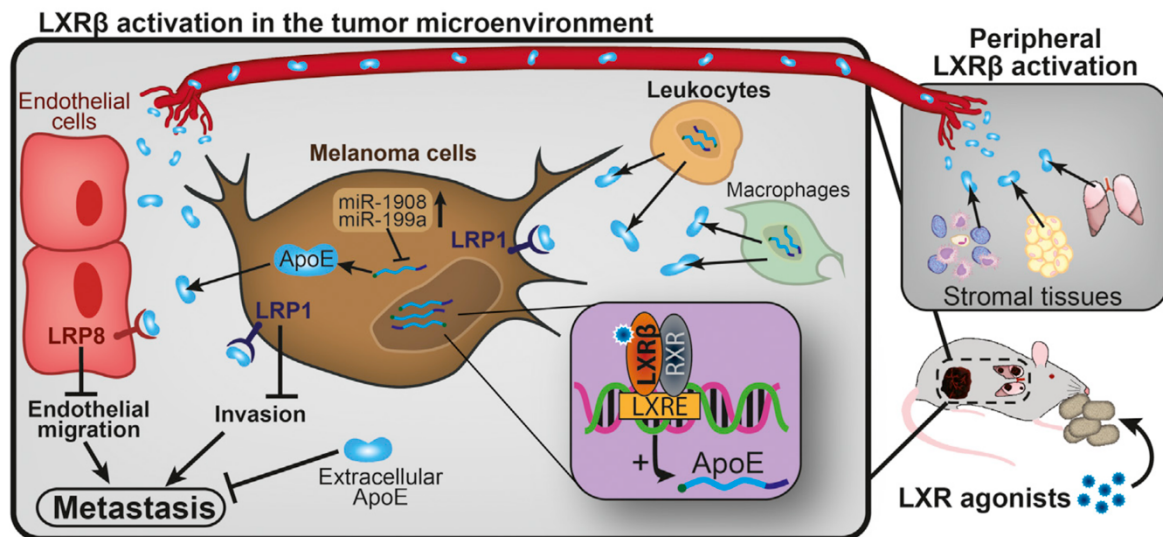


FIGURE 56 | MODELE D'ACTION DES LXR DANS LE MICROENVIRONNEMENT DU MELANOME

L'expression de ApoE, induite par l'activation des LXR, et sa sécrétion sont associées à une inhibition de la progression et de la dissémination métastatique du mélanome. En se fixant sur le récepteur LRP8, ApoE inhibe la migration des cellules endothéliales. Sa fixation sur les cellules tumorales via le récepteur LRP1 est associée à une diminution de leur potentiel d'invasion. *Issu de (Pencheva et al., 2014).*

Pour autant, les LXR sont également capables de moduler la prolifération, la différenciation et la fonction des lymphocytes. En effet, l'activation des LXR altère le métabolisme du cholestérol, de façon dépendante de ABCG1 et non de ABCA1, qui se traduit par une inhibition de la prolifération des lymphocytes. Ainsi les souris invalidées pour les LXR présentent une expansion importante des lymphocytes et une splénomégalie (Bensinger et al., 2008).

L'activation des LXR permet également de favoriser *in vitro* la différenciation des cellules T en Treg au détriment des Th1 et Th17 (Herold et al., 2017) (Wu et al., 2014). Cui et ses collaborateurs ont montré que réciproquement, la perte de l'expression des LXR *in vitro* favorise la différenciation en Th17. Ces données ont été confirmées *in vivo* dans le système nerveux central, les ganglions lymphatiques et la rate (Cui et al., 2011). Les auteurs ont observé qu'en réponse à l'activation des LXR, l'induction de SREBP-1 inhibe la transcription de *Il17* par sa liaison sur son promoteur, au niveau d'un élément de réponse de type E-box. Ce site correspond au site de fixation de AHR (*Aryl Hydrocarbon Receptor*), un facteur de transcription connu pour réguler l'expression de l'IL-17, et dont l'interaction avec SREBP-1 conduit à l'inhibition de la transcription de *Il17*. Ces données restent en accord avec l'action anti-inflammatoire des LXR, les Th17 ayant un profil cytokinique inflammatoire et jouant un rôle important dans la production et le recrutement de neutrophiles.

Concernant les cellules B, peu de données sont disponibles dans la littérature scientifique. Heine et son équipe ont montré qu'*in vitro*, l'activation des LXR réduit spécifiquement la sécrétion d'IgE par les cellules B activées. Cet effet est corrélé à une diminution de la phosphorylation de JNK et une augmentation de l'expression membranaire de CD23 (récepteur de faible affinité pour les IgE, exprimé notamment à la surface des cellules B) et serait indépendant d'un effet inhibiteur sur la phosphorylation de NF- κ B (Heine et al., 2009).

c. LXR et immunité tumorale

Si le rôle des récepteurs nucléaires LXR dans la régulation de l'inflammation est avéré, l'intérêt qu'ils suscitent dans la régulation du microenvironnement immunitaire tumoral est plus récent, et leur fonction, plus contradictoire dans ce contexte, reste à étudier.

L'activité anti-tumorale des DC est dépendante de leur migration dans les organes lymphoïdes dictée par CCR7. De façon inattendue, l'activation des LXR par un ligand synthétique, le T0901317, diminue l'expression de CCR7 par les MC et leur migration dépendante de CCL21 (Bruckner et al., 2012). La production de ligands intra-tumoraux des LXR (cancer du poumon, du colon ou du rein) inhibe l'expression de CCR7 à la surface des DC matures (Villablanca et

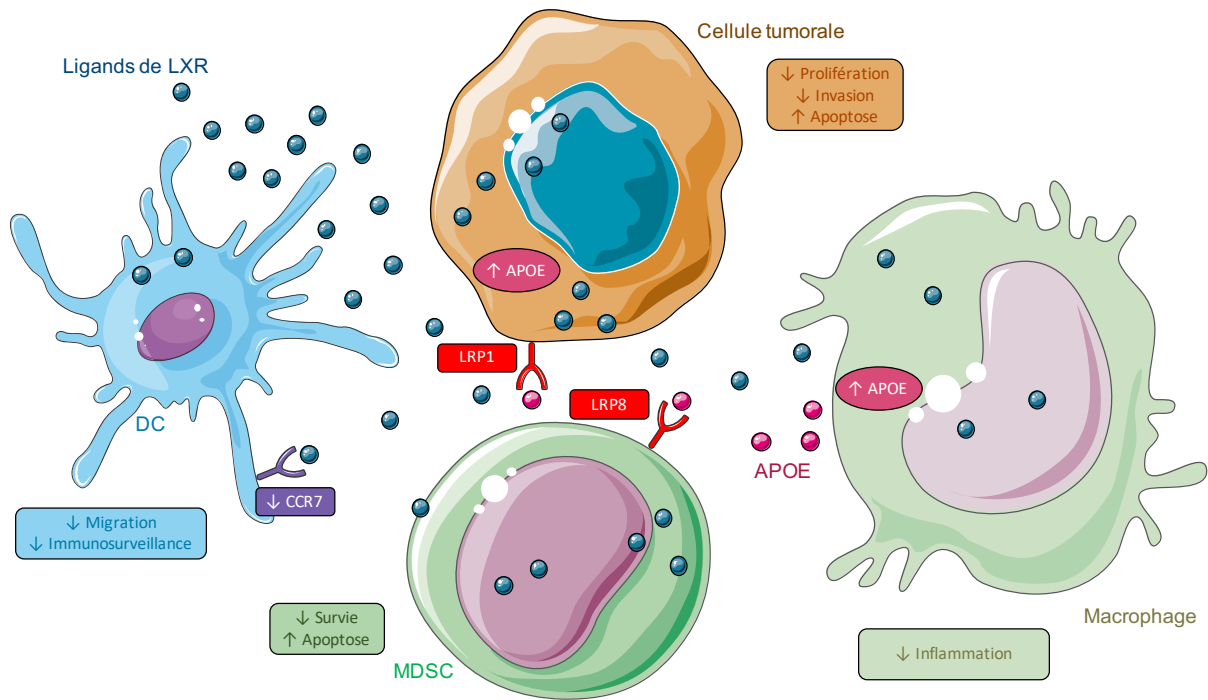


FIGURE 57 | LXR ET IMMUNITE TUMORALE

L'activation des LXR contrôle la prolifération et l'invasion des cellules tumorales en plus d'induire leur apoptose. Au sein du microenvironnement tumoral, les LXR sont également capables de moduler l'activité des cellules immunitaires. En diminuant l'expression de CCR7 à la surface des DC, les LXR réduisent leur migration vers les ganglions lymphatiques et empêche ainsi leur immunosurveillance. La sécrétion de ApoE par les cellules tumorales et les macrophages en réponse à l'activation des LXR diminue la survie et favorise l'apoptose des MDSC, à activité pro-tumorale.

al., 2010). En accord avec ces données, la surexpression de SULT2B1b, une enzyme capable d'inhiber la production de ligands des LXR, restaure la migration des DC, favorisant le développement d'une inflammation et le contrôle de la croissance des tumeurs en modèle murin de xéno greffes de lymphomes. Cet effet a été confirmé dans un modèle murin invalidé pour LXR α . Ainsi les ligands des LXR auraient une action pro-tumorale en inhibant la migration des DC.

Dans un modèle murin de mélanome, Pencheva et ses collaborateurs ont montré que l'activation de LXR β inhibe l'invasion des cellules de mélanome *in vitro* ainsi que leur croissance tumorale et leur dissémination métastatique *in vivo* (Pencheva et al., 2014). APOE, une cible des LXR, est produite et sécrétée par les cellules de mélanome en réponse à l'activation des LXR, et serait un médiateur de l'inhibition de la progression du mélanome (Figure 56). Cette même équipe avait en effet précédemment montré que la forme sécrétée de APOE peut se lier aux récepteurs LRP1, pour inhiber l'invasion des cellules tumorales, et LRP8, pour inhiber la migration des cellules endothéliales (Pencheva et al., 2012). Ces résultats vont dans le même sens que l'étude publiée par El Roz. *In vitro*, le traitement de macrophages THP-1 par des ligands naturels ou synthétiques des LXR conduit à une diminution de la prolifération et à une augmentation de l'apoptose des cellules MCF-7 (cancer du sein) en réponse à la sécrétion de APOE (El Roz et al., 2013).

Plus récemment, Tavazoie a développé un nouvel agoniste synthétique des LXR, le RGX-104, capable d'inhiber en modèles murins la croissance tumorale et la dissémination métastatique (tout comme le GW3965, un agoniste synthétique des LXR confirmé) (Tavazoie et al., 2018). De façon intéressante, l'utilisation thérapeutique d'agonistes des LXR réduit l'abondance des MDSC (CD11b⁺ Gr1⁺) en inhibant leur survie et en induisant leur apoptose, en modèle murin et chez les patients enrôlés dans le premier essai clinique de phase I mené chez l'homme pour le test du RGX-104. L'apoptose des MDSC chez la souris est dépendante de la fixation de APOE sur le récepteur LRP8 présent à leur surface. Pour les 6 patients enrôlés dans l'essai clinique (atteints de mélanome, de sarcome, ou de cancers rénal, utérin ou colorectal), la déplétion en MDSC circulants est associée à une augmentation des cellules T CD8⁺ circulantes (NCT02922764). Ainsi, la thérapie ciblant LXR/APOE semble favoriser une réponse anti-tumorale robuste ainsi qu'une stimulation de l'activité des cellules T (Figure 57).

B. Immunité et cancer de la prostate

La présence de cellules immunitaires a été observée dans les tumeurs dès le 19^{ème} siècle par Rudolf Virchow. De par ses observations, il a évoqué pour la première fois en 1863 l'hypothèse

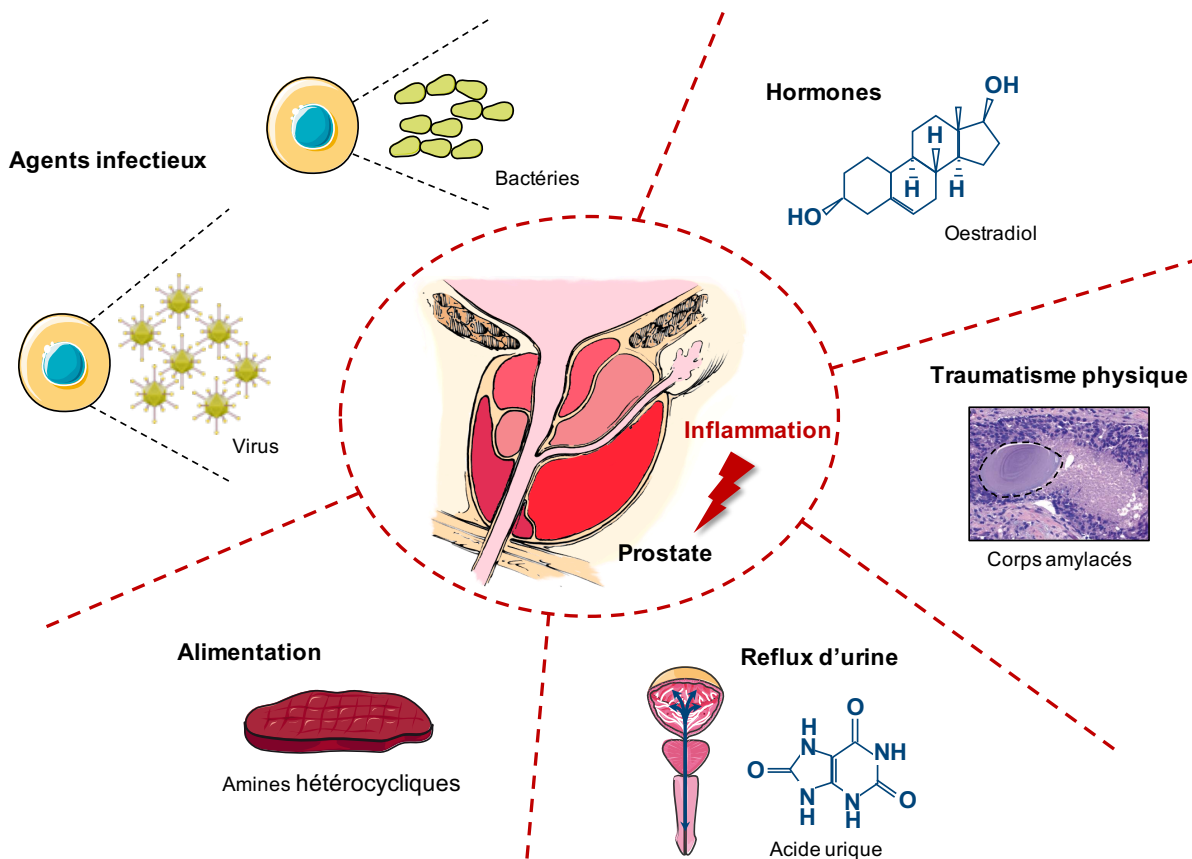


FIGURE 58 | ÉTIOLOGIE DE L'INFLAMMATION DE LA PROSTATE

Les infections, qu'elles soient causées par des bactéries ou des virus, conduisent à une inflammation localisée de la prostate. L'exposition hormonale, notamment à l'œstradiol, par la réorganisation de l'architecture tissulaire qu'elle induit, peut favoriser le développement d'une inflammation. De même, un traumatisme physique induit par la présence de corps amylacés dans la lumière des acini peut léser et déstructurer le tissu. Les reflux d'urine peuvent activer les cellules inflammatoires prostatiques via l'acide urique qu'ils contiennent. Enfin, l'alimentation, par l'apport de carcinogènes comme les amines hétérocycliques, est une autre source d'inflammation de la prostate. *Modifié d'après (De Marzo et al., 2007) ; Corps amylacé obtenu de (Christian et al., 2005).*

d'un lien entre inflammation et cancer (Mantovani et al., 2008). A l'heure actuelle, il est accepté que toutes les tumeurs sont infiltrées de cellules immunitaires, ce qui est aussi vrai pour les lésions précancéreuses, à des densités et des proportions variables (Pagès et al., 2010). La diversité des cellules en présence, possédant une activité anti ou pro-tumorale, régit une balance qui déterminera la progression de la tumeur, un concept reconnu sous le terme d'immuno-édition des tumeurs.

Parmi les « *hallmarks* » émergentes associées au cancer, on note l'importance de la composante microenvironnementale, inflammatoire, et de sa capacité à moduler le cancer, aussi bien à un stade précoce, lors de l'initiation du cancer, que pendant sa progression (Hanahan and Weinberg, 2011). Aujourd'hui, l'inflammation chronique est reconnue comme un facteur de risque voire un stade précédant l'apparition de lésions tumorales dont les liens sont bien décrits pour certains cancers : la bronchite chronique (BPCO) et le cancer du poumon ; les maladies inflammatoires de l'intestin (MICI, rectocolite hémorragique et maladie de Crohn) et le cancer colorectal ; les hépatites et le cancer hépatique... (Kuraishy et al., 2011). Concernant les facteurs de risque identifiés du cancer de la prostate, l'âge, le mode de vie notamment occidental, l'alimentation et les expositions environnementales sont autant de conditions également favorables à la survenue d'une inflammation. Ainsi, l'inflammation chronique de la prostate, qui peut potentiellement être due à de multiples causes, dont les infections, peut jouer un rôle important à toutes les étapes du développement du cancer : de l'initiation tumorale jusqu'à la dissémination métastatique des cellules tumorales en passant par la carcinogenèse et la progression de la tumeur.

1. Inflammation pro-tumorale

Différentes étiologies possibles d'inflammation sont évoquées dans les pathologies de la prostate : une infection, des facteurs alimentaires, un traumatisme, des changements hormonaux ou un reflux d'urine (Figure 58) (De Marzo et al., 2007).

a. Prostatite

Les prostatites sont hétérogènes et complexes. Plusieurs sous-types sont distingués : la prostatite bactérienne aigue, la prostatite bactérienne chronique, les prostatites chroniques, regroupées sous le terme CP/CPPS (*Chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome*), et la prostatite inflammatoire asymptomatique (Nickel et al., 2007). L'infection par des bactéries de la famille *Enterobacteriaceae* est la plus fréquente (87 %) des formes bactériennes aiguës et particulièrement du genre *Enterococcus* spp. Elle représente près de 10 % des cas (Brede and Shoskes, 2011). L'inflammation asymptomatique de la prostate apparait avoir une prévalence

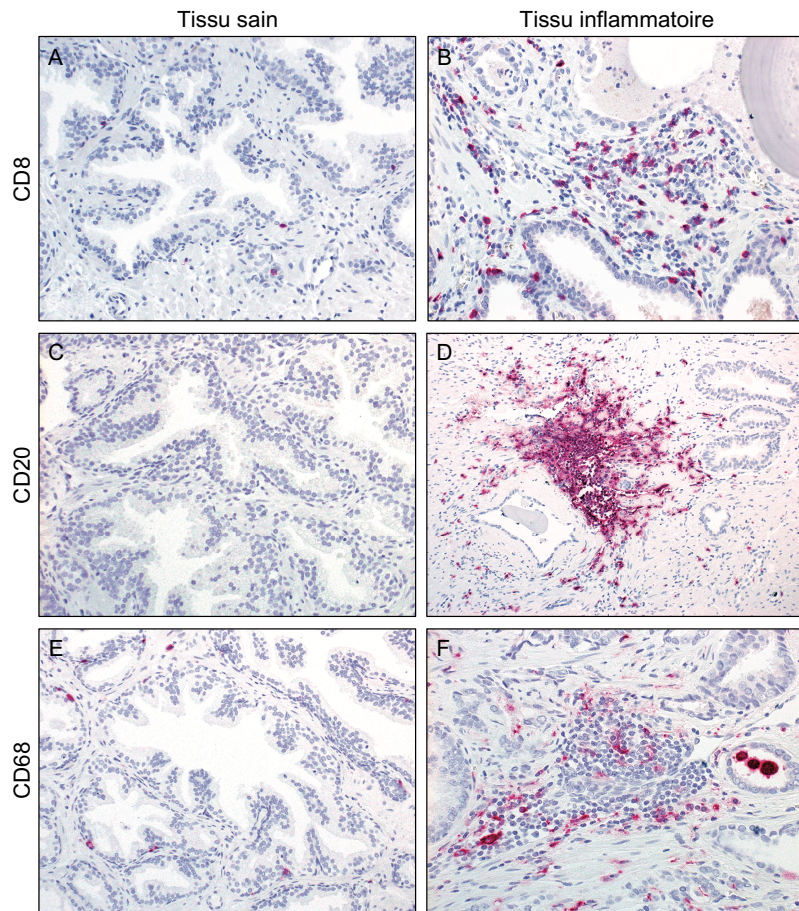


FIGURE 59 | ANALYSE DE L'INFILTRAT IMMUNITAIRE DE PROSTATES SAINES ET INFLAMMATOIRES
 Analyse immunohistochimique de l'infiltration par des cellules T cytotoxiques CD8⁺, des cellules B CD20⁺, ou par des macrophages CD68⁺ de prostatites humaines saines et inflammatoires. (A et B) On note la présence de rares CTL CD8⁺ péri-épithéliaux en condition saine et une importante infiltration stromale en condition d'inflammation. (C et D) Les lymphocytes B CD20⁺ sont pratiquement absents du tissu sain mais sont fortement recrutés en cas d'inflammation. (E et F) Les macrophages CD68⁺ sont normalement situés de façon préférentielle à la base de l'épithélium, et plus rarement au niveau du stroma. Dans les zones inflammées, les cellules CD68⁺ infiltrent fortement le stroma et peuvent également être retrouvées dans la lumière des acini. *Modifié d'après (Sfanos et al., 2018).*

plus élevée que ce qui est suggéré (de 16 %) comme le montre l'analyse de Sfanos et de Marzo (Sfanos and De Marzo, 2012). L'essai clinique REDUCE a ainsi noté, chez près de 80 % des patients inclus, la présence d'inflammation chronique sans cancer, faiblement associée à la présence de LUTS (*Lower Urinary Tract Symptoms*) mais sans exclure une possible association avec la présence de BPH (Karazanashvili, 2008) (Nickel et al., 2008). Cependant, l'analyse de prostates après autopsie a relevé la présence d'inflammation dans 68 % des cas, associée dans 56 % des cas avec la présence de BPH (*Benign Prostatic Hyperplasia*) et pour 29 % avec un cancer de la prostate. D'après les conclusions de cette étude, l'inflammation chronique de la prostate est plutôt commune sur autopsie, et semble associée avec la BPH mais pas avec la survenue de cancer (DeLongchamps et al., 2008). Cependant, une étude plus récente publiée en 2016 démontra d'après l'étude de biopsies prostatiques, et ce indépendamment de leur indication, une absence d'association entre LUTS et inflammation de la zone périphérique (Kulac et al., 2016). Ainsi, l'inflammation, qui est le plus souvent chronique, semble commune dans les tissus prostatiques sains ou présentant des lésions bénignes, et est positivement associée avec la présence de cancer de la prostate, plus spécifiquement avec les lésions de haut grade (Gurel et al., 2014). Les auteurs soulignent que les résultats de leur étude ne semblent pas dus à un biais de détection.

Histologiquement, le tissu prostatique présentant une inflammation chronique est semblable aux tissus bénins et malins. L'infiltrat immunitaire est principalement composé de lymphocytes T CD3⁺ (70 à 80 %, majoritairement CD4⁺), de macrophages (15 %), et moins fréquemment de lymphocytes B CD19⁺ ou CD20⁺ (10 à 15 %) (Steiner et al., 2003) (De Nunzio et al., 2011). Alors que dans la prostate normale les lymphocytes se concentrent majoritairement dans le stroma, les CTL CD8⁺ sont enrichis dans le compartiment épithélial, et plus encore en cas d'infections, soulignant leur importance dans la lutte anti-infectieuse (Bostwick et al., 2003). Des cellules de l'immunité innée, *i.e.* les macrophages et les mastocytes, sont également présentes dans les prostates adultes, mais leurs proportions relatives dans les différents compartiments sont moins bien caractérisées. Des analyses immunohistochimiques ont montré leur présence au niveau du stroma, et occasionnellement au niveau intra-épithélial (Figure 59). Les granulocytes, comme les neutrophiles, les basophiles et les éosinophiles sont rarement observés dans la prostate, même si leur nombre augmente dans les zones inflammées (Sfanos et al., 2018). Selon les cas, différents profils d'inflammation prostatique peuvent être observés, avec une infiltration à prédominance luminale ou stromale (Figure 60).

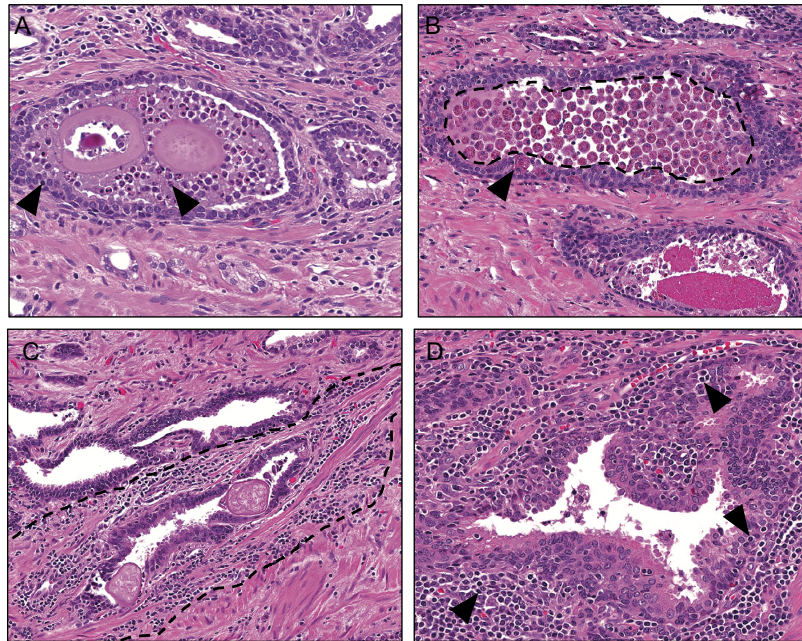


FIGURE 60 | DIFFERENTS PROFILS HISTOLOGIQUES D'INFLAMMATION PROSTATIQUE

Coloration hématoxyline éosine de différents profils d'inflammation de la prostate. (A) Inflammation aiguë caractérisée par une importante infiltration de neutrophiles dans la lumière de l'acinus avec la présence de quelques cellules immunitaires au niveau de l'épithélium (flèches). Présence de cellules mononucléées dans le stroma. (B) Importante infiltration luminale de macrophages (pointillés) et présence de quelques macrophages intra-épithéiaux. (C) Inflammation importante caractérisée par l'infiltration stromale de leucocytes (pointillés). (D) Inflammation modérée au niveau du stroma et présence de leucocytes intra-épithéiaux (flèches). *Modifié d'après (Sfanos et al., 2018).*

b. PIA

L'atrophie inflammatoire proliférative (PIA, *Proliferative Inflammatory Atrophy*) a été décrite pour la première fois par De Marzo en 1999 (De Marzo et al., 1999). Cette lésion non tumorale correspond à des foyers prolifératifs de l'épithélium glandulaire avec l'apparence morphologique d'une atrophie ou d'une hyperplasie post-atrophique, associés à une inflammation de la zone. L'analyse anatomopathologique décrit plusieurs caractéristiques de la PIA : deux couches cellulaires épithéliales distinctes, la présence de cellules inflammatoires au niveau des compartiments épithéliaux et stromaux, et la présence d'une atrophie du stroma avec des signes variables de fibrose. Ces lésions seraient à risque de développer un cancer de la prostate.

Trois études ont cherché à corrélérer la présence de PIA et de HGPIN dans des échantillons issus de prostatectomie radicale. Dans une première étude, sur les 629 lésions analysées issues de 14 prostatectomies, 42.5 % des HGPIN colocalisent avec des zones de PIA ; alors que les carcinomes ne colocalisent pas avec les PIA. Au final, les auteurs concluent que des transitions morphologiques entre les PIA et les PIN surviennent fréquemment, ce qui est cohérent avec l'idée que la PIA pourrait progresser vers le développement de lésions précancéreuses puis tumorales (Putzi and De Marzo, 2000). Dans une autre étude menée sur 50 prostatectomies, 17 % des HGPIN retrouvées colocalisent avec les zones de PIA, et seulement quelques PIA colocalisent avec des lésions tumorales. De plus, des clusters d'hyperplasie de cellules épithéliales atypiques présentant un phénotype intermédiaire (exprimant le marqueur de cellules basales CK5) pourraient représenter un état de transition entre la PIA et les HGPIN (Wang et al., 2009b). Cependant, l'importante variabilité observée dans les chiffres donnés par ces études interroge sur la représentativité des patients et les potentiels biais d'échantillonnage.

Une étude plus poussée a été menée sur un nombre conséquent d'échantillons issus de 528 biopsies et 200 prostatectomies afin de déterminer l'incidence de la PIA. Des lésions de type PIA ont été retrouvées dans 30 % des cas, indifféremment de l'origine de l'échantillon ; les HGPIN ont quant à elles une incidence de 54 %. Aucune association n'a été trouvée entre les PIA et les HGPIN. Par contre, une analyse multivariée a révélé que la présence de PIA était associée à une diminution du risque de survenue de cancer de la prostate, sans pour autant montrer de corrélation avec le score de Gleason ou la classification TNM. Les tumeurs associées à la présence de PIA semblent donc être moins agressives (Servian et al., 2015).

La prévalence de lésions de type PIA semble controversée et le lien avec le développement de tumeurs prostatiques reste encore à démontrer. Pour autant, certaines études épidémiologiques

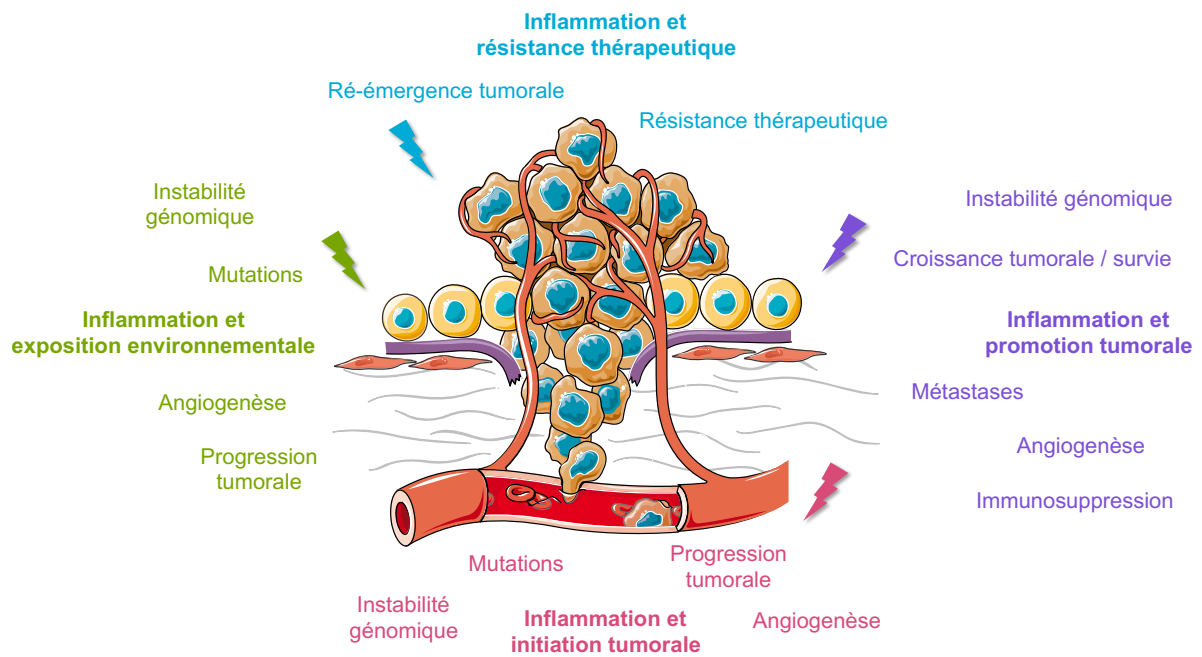


FIGURE 61 | INFLAMMATION ET CANCER

L'inflammation chronique peut contribuer de différentes façons au cancer. Les expositions environnementales contribuent à l'instabilité génomique, à la survenue de mutations, mais aussi à la progression tumorale et à l'angiogenèse. Lors du développement du cancer, l'inflammation contribuera de la sorte à l'initiation et à la promotion du cancer. De plus, dans les stades plus tardifs, l'inflammation favorisa la mise en place d'un microenvironnement immunosuppresseur et la dissémination métastatique des cellules tumorales. Enfin, elle pourra influencer sur la survenue de résistances thérapeutiques. *Modifié d'après (Grivennikov et al., 2010).*

ont mis en évidence un lien entre prostatite et risque de cancer de la prostate, mais ces études pourraient être remises en cause par un biais de sélection. Les prostatites étant associées à une augmentation des taux sériques du PSA, ceci expliquerait d'une part, une virtuelle hausse de la prévalence des prostatites dans les cohortes de patients examinés pour une suspicion de cancer de la prostate sans découverte de lésions cancéreuses et d'autre part, le fait que ces patients seraient plus facilement diagnostiqués pour un cancer de la prostate. De plus, l'inflammation de la prostate peut survenir de façon asymptomatique, et les patients concernés ne seront pas examinés ni inclus dans les études épidémiologiques. Aussi l'absence de marqueurs spécifiques d'une inflammation rend difficile l'établissement d'un lien entre sa survenue et celle d'un cancer de la prostate.

Au final, il est difficile de déterminer si la PIA peut être un stade précurseur du cancer de la prostate, mais la présence d'un infiltrat immunitaire et de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires peuvent par contre favoriser l'immuno-édition des cellules néoplasiques et la progression tumorale. Pour autant, l'infiltration de cellules immunitaires inflammatoires ne peut être utilisée pour prédire le risque de développement tumoral ; les cytokines et chimiokines pro-inflammatoires jouant également un rôle important dans la contribution du microenvironnement au développement tumoral.

c. Inflammation et cancer

L'inflammation joue un rôle clé à différents stades du développement tumoral, en favorisant la survenue de mutations, en créant de l'instabilité génomique, ou plus généralement en contribuant à la croissance, la progression et l'agressivité des tumeurs (Figure 61) (Grivennikov et al., 2010). Les cellules immunitaires infiltrant les tumeurs communiquent avec les cellules tumorales adjacentes par l'intermédiaire de biomolécules actives, dont des facteurs de croissance, des facteurs pro-angiogéniques, des modificateurs de la matrice, ou encore des ROS/RNI (*Reactive Oxygen Species/Reactive Nitrogen Intermediates*) mais surtout via la production et la sécrétion de cytokines et chimiokines. Les TAM représentent un des types cellulaires immunitaires les plus importants dans la communication entre l'inflammation et le cancer car ils sont producteurs d'une grande quantité de cytokines (Mantovani et al., 2008). Les neutrophiles peuvent être à la fois pro ou anti-tumoral selon leur statut de différenciation et la présence de TGF β (Fridlender et al., 2009). Les lymphocytes B sont aussi impliqués dans la régulation de la croissance tumorale de même que les macrophages conventionnels et les DC pour la présentation antigénique et l'immunité anti-tumorale ainsi que la production de cytokines. Ainsi les profils de cytokines et chimiokines présentes dans le microenvironnement

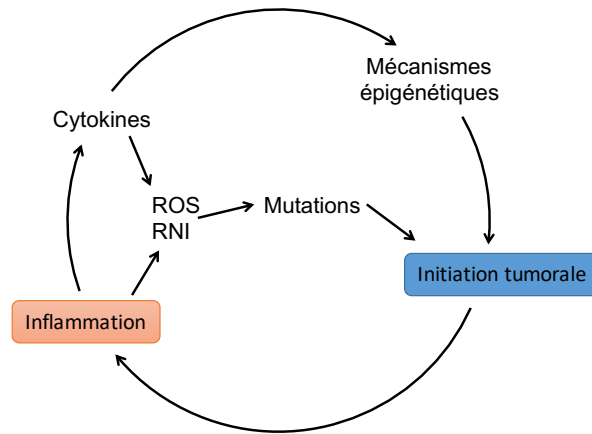


FIGURE 62 | INFLAMMATION ET INITIATION TUMORALE

Les espèces réactives de l'oxygène et du nitrogène (ROS/RNI) ainsi que les cytokines produites par l'inflammation peuvent causer des mutations et initier ainsi le processus de tumorigenèse. De plus, l'inflammation peut être à l'origine de modifications épigénétiques, qui participent à l'initiation tumorale. Enfin, les lésions précancéreuses et la tumeur naissante contribueront à maintenir l'inflammation de la prostate. *Modifié d'après (Grivennikov et al., 2010).*

peuvent être plus indicatifs que la présence de tel ou tel sous-type de cellules immunitaires. En effet, ces molécules au travers des différentes cibles qu'elles peuvent atteindre pourront orienter la balance en faveur d'une inflammation pro-tumorale ou d'une immunité anti-tumorale (Grivennikov et al., 2010). Ces cytokines pourront alors activer différentes cibles et facteurs de transcription dont il sera plus précisément discuté du rôle de NF- κ B, AP-1 et STAT3.

i. Inflammation et initiation tumorale

L'initiation tumorale est le processus par lequel des cellules saines, vont, par le biais de différentes altérations, accroître leur capacité de croissance, de prolifération et de survie afin de former des tumeurs (Figure 62). Des études en modèles murins ont cherché à déterminer comment l'inflammation et les signaux inflammatoires pouvaient conduire à la formation de lésions précancéreuses. La surexpression de la cytokine inflammatoire IL-1 β conduit au développement d'une inflammation aigüe puis chronique de la prostate, caractérisée par l'infiltration de cellules T CD4⁺ et la surexpression de cytokines. En histologie, ces altérations de l'architecture glandulaire se traduisent par une hausse de l'index de prolifération et une diminution de l'expression de NKX3.1 dans les prostatites inflammatoires, évoquant le développement de lésions pré-tumorales (Ashok et al., 2019).

Un microenvironnement inflammatoire peut accroître le taux de mutations, de même que stimuler la prolifération des cellules mutées. La sécrétion de ROS et RNI par les cellules immunitaires peut induire des dommages à l'ADN et une instabilité génomique en créant un stress oxydant au sein du microenvironnement (Khandrika et al., 2009). Il n'est par contre pas clairement défini si les ROS et RNI relargués par les macrophages et les neutrophiles pendant la phase inflammatoire peuvent parvenir jusqu'aux cellules pré-tumorales et générer des altérations initiatrices. Par ailleurs, la sécrétion de TNF α par les cellules immunitaires peut favoriser l'accumulation de ROS à proximité des cellules épithéliales (Hussain et al., 2003).

L'exposition *in vitro* au stress oxydant induit par l'inflammation peut également favoriser la fusion de gènes. Les mécanismes précis ne sont pas connus mais la signalisation dépendante des cytokines inflammatoires dans les cellules épithéliales, notamment via le TNF α , pourrait induire la production de ROS et engendrer des cassures double brin. Associé à la signalisation AR, le stress oxydant pourrait conduire à la fusion TMPRSS2:ERG (Mani et al., 2016). Ces réarrangements génomiques induits par l'inflammation seraient bloqués par la recombinaison homologue mais favorisés par les recombinaisons NHEJ (*non-homologous end-joining*).

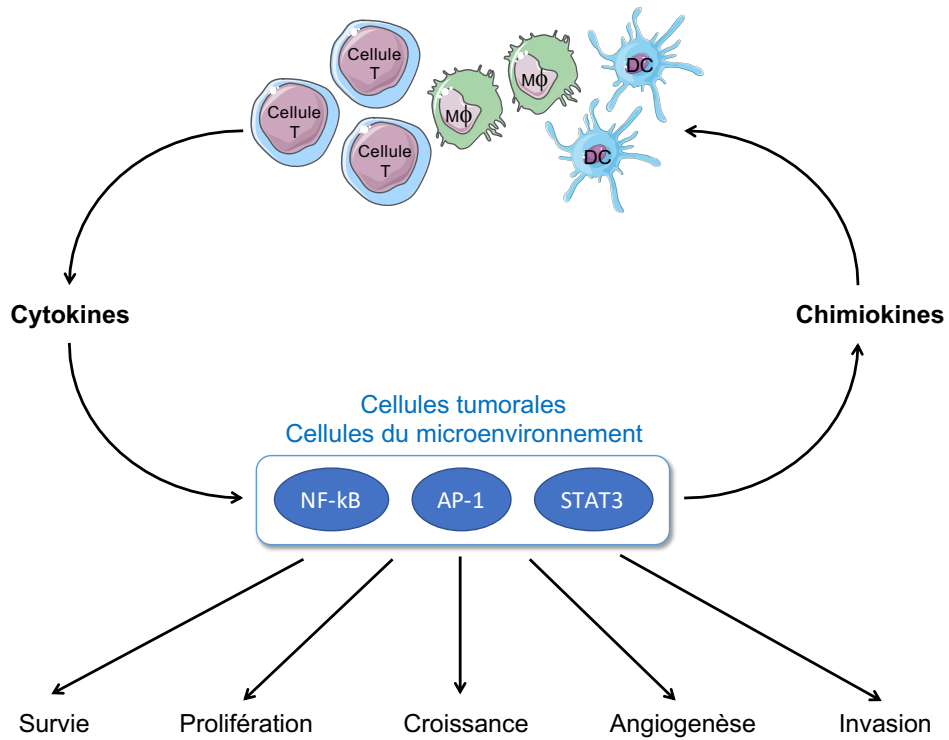


FIGURE 63 | INFLAMMATION ET PROMOTION TUMORALE

Les cytokines produites par les cellules immunitaires du microenvironnement tumoral pourront activer différents facteurs de transcription tels que NF- κ B, AP-1 ou STAT3. L'activation de ces facteurs de transcription stimulera la survie, la prolifération, la croissance, et l'invasion des cellules tumorales ainsi que l'angiogenèse. Par une boucle de régulation positive, ces facteurs de transcription permettront la sécrétion de chimiokines et le recrutement de cellules immunitaires pour soutenir la croissance tumorale. *Modifié d'après (Grivennikov et al., 2010).*

La présence de dommages à l'ADN induits par le stress oxydant résulte en une augmentation du marqueur de phosphorylation γ H2AX et la concomitante dégradation de AR, p53 et NKX3.1 *in vitro*. Ainsi le microenvironnement inflammatoire, par les dommages à l'ADN qu'il induit, pourrait aussi favoriser l'hétérogénéité tumorale dans la progression du cancer de la prostate (Debelec-Butuner et al., 2015). De plus, une étude a montré que les cytokines inflammatoires IL-1 β et TNF α accélèrent la perte de NKX3.1 dans des lignées cellulaires de cancer de la prostate en induisant son ubiquitination et sa dégradation par le protéasome (Markowski et al., 2008).

L'inflammation est également liée à des mécanismes épigénétiques. Dans les macrophages, l'induction de l'inflammation en réponse au LPS stimule l'expression de la déméthylase H3K27 JMJD3 via l'activité du facteur de transcription NF- κ B. Ainsi, des mécanismes épigénétiques peuvent accroître la plasticité des macrophages en contexte d'inflammation (Santa et al., 2007).

Pour autant, si l'inflammation joue un rôle important dans la tumorigenèse prostatique, l'apport des AINS (Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens) dans la prévention du cancer de la prostate reste discuté. Malgré tout, les données de l'essai REDUCE suggèrent que l'utilisation d'aspirine ou d'autres AINS réduit le risque de survenue de cancer de la prostate (Vidal et al., 2015), ce qui a été confirmé par une étude française (Doat et al., 2017).

ii. Inflammation et promotion tumorale

Les cellules immunitaires du microenvironnement produisent des cytokines pro-tumorales dont le TNF α ou l'IL-6 (Figure 63). Ces cytokines activent en cascade les voies NF- κ B, STAT3 et AP1 dans la plupart des cancers, pour contrôler la survie cellulaire, la prolifération et la croissance ainsi que l'invasion, la migration, l'angiogenèse, et la production de cytokines elles-mêmes (Yu et al., 2009a) (Grivennikov and Karin, 2010). De plus, il a été démontré l'existence de boucles de régulation positives pour maintenir l'activation de NF- κ B, dans le cas de cancers avancés de la prostate (Nguyen et al., 2014). Par ailleurs, si les cytokines pro-tumorales agissent classiquement de façon paracrine, plusieurs types de cellules cancéreuses peuvent produire leurs propres cytokines, et notamment de l'IL-6 (Gao et al., 2007). L'IL-6 est exprimée dans les tissus sains comme malins, et son expression augmente avec la progression de la pathologie, stimulant ainsi le cycle cellulaire et la prolifération des cellules tumorales prostatiques (Culig et al., 2005). De façon intéressante, l'IL-6 est capable de moduler l'activité de AR via l'activation des voies PI3K/AKT, MAPK et JAK/STAT3. Concernant la voie PI3K/AKT, l'effet de l'IL-6 sur la prolifération et la survie cellulaire ainsi que sur l'activité

transcriptionnelle de AR semble controversé, et dépendant du type cellulaire étudié. L'activation des MAPK et de STAT3 est associée à une augmentation de l'activité transcriptionnelle de AR qui peut ainsi contribuer à la progression tumorale (Heinlein and Chang, 2004). Si STAT3 peut interagir directement avec AR pour augmenter son activité transcriptionnelle (de Miguel et al., 2003) (Yamamoto et al., 2003), il peut également favoriser la progression du cancer de la prostate en permettant son activation par des mécanismes alternatifs, indépendamment de la fixation du ligand (Bishop et al., 2014). Ainsi, un rôle central de la réponse inflammatoire dans le cancer de la prostate peut être attribué à STAT3 (Culig and Puhr, 2018).

L'activation constitutive de la voie NF- κ B a été associée à la progression tumorale et à l'androgéno-indépendance des tumeurs (Gasparian et al., 2002) (Jin et al., 2008). Cette activation constitutive de la voie NF- κ B, même en l'absence de signaux inflammatoires, peut être reliée à l'activation constitutive de STAT3, confirmant l'importance de ces facteurs dans l'initiation et la promotion des tumeurs prostatiques (Lee et al., 2009). Enfin, l'utilisation d'un modèle murin invalidé pour le suppresseur de tumeurs *Pten*, a mis en évidence le rôle clé de l'axe IL-6/STAT3 dans la régulation de la sénescence, ce mécanisme impliquant ARF. Les souris doublement invalidées pour STAT3 et *Pten* présentent une augmentation de la progression tumorale et de la dissémination métastatique (Pencik et al., 2015). Les auteurs postulent que cet effet pourrait être à l'origine de l'échec de la thérapie ciblant l'IL-6/STAT3 chez les patients atteints de cancer de la prostate.

Au-delà de son action sur les cellules tumorales, l'inflammation est capable de favoriser l'angiogenèse par la sécrétion de divers facteurs, dont le VEGF. Le relargage de cytokines par les macrophages ou les cellules T dans un contexte d'inflammation chronique, conduit à la surexpression de COX2, une enzyme impliquée dans la production des prostaglandines, et stimule ainsi l'angiogenèse au niveau des tumeurs (Wang et al., 2005b).

iii. Inflammation et résistances thérapeutiques

L'inflammation contribue à l'émergence de résistances thérapeutiques. Une étude intéressante a montré comment les interactions entre les macrophages et les cellules tumorales prostatiques pouvaient convertir *in vivo* des antagonistes de AR en agonistes (Zhu et al., 2006). Cet effet fait intervenir des signaux pro-inflammatoires, médiés par l'IL-1 β , impliqués dans le recrutement de la protéine TAB2 afin de déréguler AR en présence d'inhibiteurs, grâce à l'exclusion du co-répresseur NCoR. L'action de la voie NF- κ B/IKK peut également favoriser la résistance des

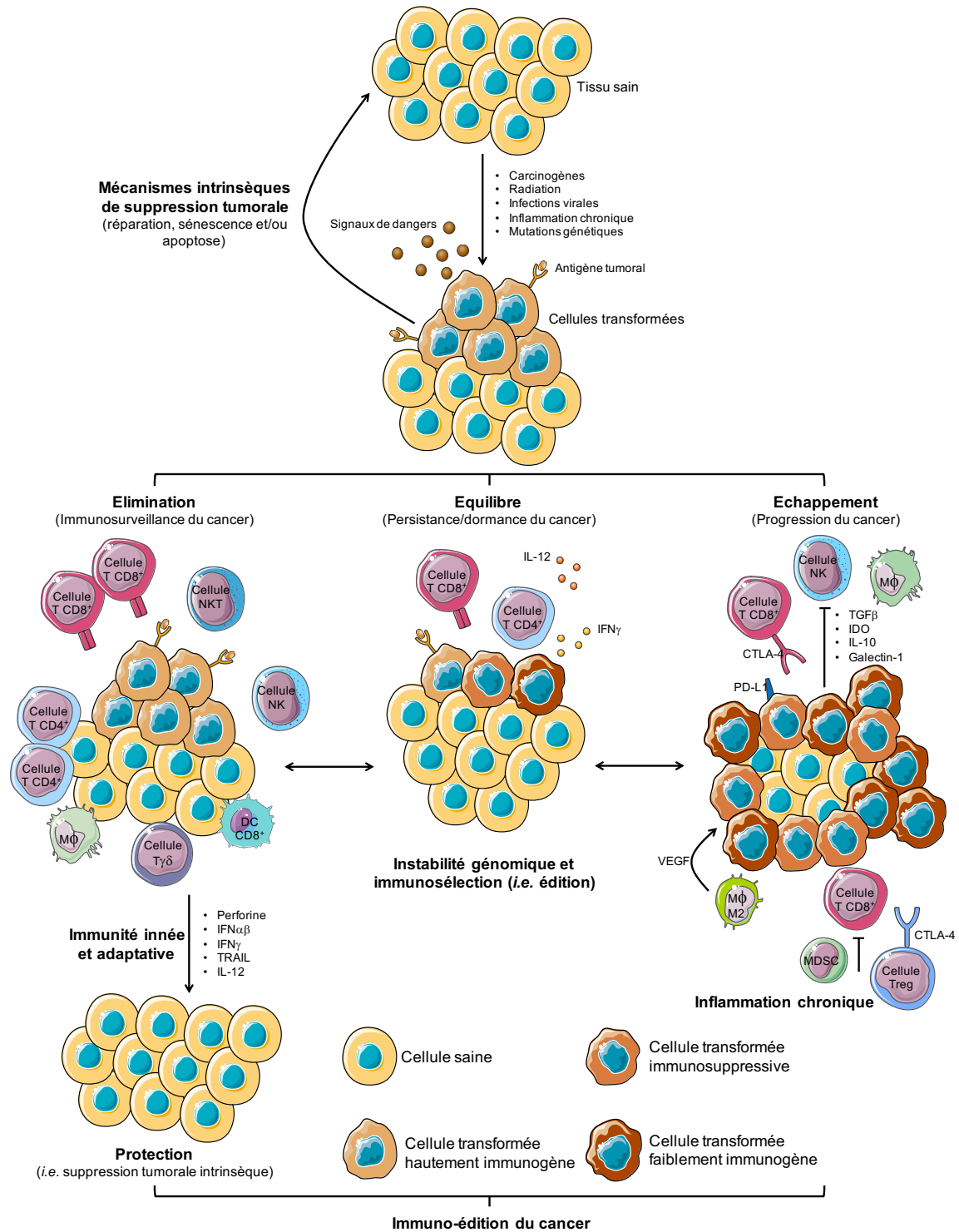


FIGURE 64 | IMMUNO-ÉDITION DES TUMEURS

L'apparition de cellules tumorales pourra tout d'abord être limitée par l'existence de mécanismes intrinsèques de suppression tels que la réparation des dommages ADN, la sénescence ou l'apoptose. Si tel n'est pas le cas, l'immunosurveillance initiée à la fois par les cellules de l'immunité innée et adaptative permettra d'éliminer les cellules tumorales naissantes et de favoriser le retour à la normale du tissu. Une seconde phase latente d'équilibre sera maintenue par la suite tant que le système immunitaire ne parviendra à éliminer toutes les cellules tumorales. Certaines pourront alors muter pour échapper au système immunitaire, processus connu sous le nom d'immunosélection. Enfin, à un certain moment, des clones tumoraux pourront échapper à la surveillance du système immunitaire, et un microenvironnement inflammatoire pourra participer à la progression tumorale. *Modifié d'après (Vesely et al., 2011).*

tumeurs à l'ADT. *In vivo*, la privation androgénique induit l'infiltration de cellules immunitaires, notamment de cellules B. L'activation de IKK β au sein de ces cellules induit la production de cytokines, capables d'activer de façon paracrine IKK α et STAT3 dans les cellules tumorales et ainsi favoriser leur survie en absence d'androgènes (Ammirante et al., 2010). Par ailleurs, une autre étude a démontré une augmentation de l'activité de NF- κ B spécifiquement dans une population de TIC (*Tumor-Initiating Cells*) n'exprimant ni AR ni le PSA. Ces cellules possèdent de façon intéressante des capacités similaires à celles des cellules souches pour la formation de sphères *in vitro* et l'initiation de tumeurs *in vivo* (Rajasekhar et al., 2011). Ainsi les auteurs ont posé l'hypothèse d'un rôle de NF- κ B dans la reprogrammation des cellules tumorales pour leur conférer des propriétés d'agressivité et de résistance à la privation androgénique.

2. Immuno-édition du cancer

Le concept original de l'immunosurveillance du cancer vient de l'hypothèse de Burnet et Thomas sur la capacité du système immunitaire à reconnaître et détruire les cellules transformées (Burnet, 1970) (Thomas, 1982). Aujourd'hui ce concept a évolué vers celui d'immuno-édition, qui tient mieux compte des interactions du système immunitaire avec les tumeurs, où les cellules immunitaires peuvent à la fois lutter contre et sculpter les tumeurs. L'immuno-édition du cancer comprend schématiquement trois étapes clés, les « 3E ». La première correspond à une phase d'élimination, ou immunosurveillance du cancer. La deuxième est une phase d'équilibre, où l'action du système immunitaire sélectionne des clones tumoraux résistants. Enfin, la troisième et dernière étape concerne l'échappement de la tumeur à la surveillance du système immunitaire (Figure 64).

a. Élimination

Ce processus se déroule en 4 phases. Dans la première phase d'élimination, la croissance de la tumeur, en perturbant l'homéostasie tissulaire, favorise la production de signaux inflammatoires et le recrutement sur le site du lit tumoral des cellules de l'immunité innée (DC, macrophages, cellules NKT, NK, T γ δ). De plus, les motifs immunogéniques à la surface des cellules tumorales (résultant du processus de transformation tumorale ou de l'inflammation) sont reconnus par les lymphocytes ainsi que par les cellules NKT, NK et T γ δ qui, activées, produiront de l'INF γ .

Dans une seconde phase, en plus d'induire l'apoptose et d'exercer une action anti-proliférative sur les cellules tumorales, l'INF γ stimule la production de chimiokines comme CXCL9,

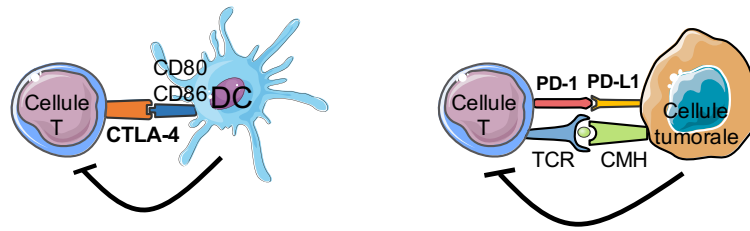


FIGURE 65 | POINT DE CONTROLE IMMUNITAIRE

Les points de contrôle immunitaires sont des régulateurs du système immunitaire. Ils jouent un rôle crucial dans le maintien de la tolérance envers le soi. Cependant, les cellules tumorales peuvent utiliser les points de contrôle immunitaires pour inhiber l'action anti-tumorale du système immunitaire. Ainsi la surexpression du ligand CTLA-4 par les cellules T inhibe leur activation par les DC après sa liaison avec les récepteurs CD80/86. Les cellules tumorales peuvent exprimer à leur membrane le ligand PD-L1 dont la liaison avec le récepteur PD-1 empêchera l'activation des cellules T.

CXCL10 et CXCL11 par les cellules avoisinantes. Par leur action angiostatique, ces chimiokines augmentent la mortalité des cellules tumorales. Les débris cellulaires résultants sont ensuite pris en charge par les DC.

Lors d'une troisième phase, les chimiokines inflammatoires produites par le processus pourront recruter plus de NK et de macrophages. Ces cellules vont se transactiver et produire de l'IFN γ et de l'IL-12, pour conduire à la mort des cellules par nécrose ou apoptose, par l'action des toxines perforine/granzyme, des ROS et RNI. Les DC quant à elles induisent la différenciation des cellules T CD4⁺ en Th1 qui exprimeront l'IFN γ pour *in fine* activer les T CD8⁺.

Enfin, dans une quatrième phase, les cellules T CD4⁺ et CD8⁺ spécifiques de la tumeur sont attirées sur le site tumoral où les CTL pourront détruire les cellules tumorales immunogènes, tout en voyant leur activité augmentée grâce à la présence d'IFN γ (favorisant l'expression du CMH-I par les cellules tumorales).

b. Équilibre

Cette phase correspond à l'installation d'une balance dynamique entre la tumeur et le système immunitaire, où la réponse anti-tumorale est forte mais insuffisante pour éradiquer la tumeur. Cette phase d'équilibre est principalement dépendante de l'action des cellules de l'immunité adaptative (T CD4⁺ et CD8⁺). Dans cette phase, les lymphocytes et l'IFN γ exercent une pression de sélection sur les cellules tumorales, qui mutent pour échapper au système immunitaire ou qui sont éliminées. Si beaucoup de clones tumoraux sont éliminés à cette étape, ceux présentant une résistance accrue à la réponse immunitaire anti-tumorale pourront permettre à la tumeur de continuer son développement.

Parmi les mécanismes qui confèrent aux cellules tumorales une résistance face à l'action anti-tumorale du système immunitaire, on retrouve l'expression de molécules impliquées dans le point de contrôle immunitaire, crucial pour la tolérance (Figure 65). Parmi elles, la protéine PD-L1 pourra, après fixation sur son récepteur PD-1 présent à la surface des cellules T, bloquer leur activité. Cette phase d'équilibre est sans doute la plus longue et peut s'étaler sur plusieurs années.

c. Échappement

Si les étapes précédentes ont échoué à détruire les cellules tumorales, la tumeur échappe alors au contrôle du système immunitaire. Les cellules tumorales restantes sont en effet devenues indétectables ou insensibles aux réponses du système immunitaire via différents mécanismes génétiques ou épigénétiques. Ainsi, le système immunitaire contribue malgré lui à la

progression tumorale en sélectionnant les clones tumoraux les plus agressifs, en favorisant la prolifération des cellules tumorales, ou en supprimant la réponse immunitaire anti-tumorale. En effet, on observe de façon concomitante au développement tumoral l'installation d'un microenvironnement immunosuppresseur. Cet état d'immunosuppression est atteint par l'inhibition de la fonction des cellules immunitaires ou par le recrutement de populations immunitaires régulatrices. Les cellules tumorales peuvent sécréter des facteurs bloquant l'action des cellules T, NK ou encore des DC, notamment le TGF β . Ainsi, la sécrétion de métabolites des stérols supprime l'expression de CCR7 à la surface des DC, et perturbe leur migration vers les ganglions lymphatiques. De même, la sécrétion d'IL-10 supprime la fonction des DC et différencie les cellules T vers un phénotype Th2, moins efficace contre les cellules tumorales. Par un autre mécanisme agissant sur le métabolisme des cellules immunitaires, l'expression d'IDO par les cellules tumorales permet la métabolisation du tryptophane en kynurenines pour inhiber la prolifération des T CD8⁺ et favoriser l'apoptose des cellules T CD4⁺. Parallèlement, la production de TGF β conduit à la conversion des cellules T en Treg. Le recrutement de Treg inhibe la fonction des CTL, via la production de TGF β et d'IL-10. La production de GM-CSF et d'IL-1 β entre autres conduit à l'expansion et à l'accumulation de MDSC au sein de la tumeur. Ces cellules immunosuppressives produisent des cytokines comme le TGF β , peuvent dépléter le microenvironnement en cystéine ou en arginine, et ainsi induire les Treg. Les pDC peuvent également être recrutées pour leur activité immunosuppressive. Enfin, les cellules tumorales peuvent attirer les TAM via la sécrétion d'IL-4 et IL-13. Les macrophages M2 peuvent également inhiber l'immunité anti-tumorale via la production de TGF β et d'IL-10. Pour revue sur l'immuno-édition, voir (Dunn et al., 2002) et (Vesely et al., 2011).

L'inflammation est un processus physiologique complexe qui permet de maintenir l'intégrité des tissus en réponse à un stress, que ce soit une infection ou un dommage cellulaire. Pour autant, l'inflammation chronique peut contribuer au cancer : (1) à l'initiation tumorale, en générant un stress oxydant, (2) à la promotion tumorale en induisant la prolifération des cellules cancéreuses, et (3) à la progression tumorale en favorisant l'angiogenèse et l'invasion tissulaire. Ainsi, l'intérêt est de ré-initier sans cesse le premier cycle d'immunosurveillance, de l'amplifier et le propager pour cibler un maximum si ce n'est la totalité des cellules tumorales, et ce, sans générer de réponse inflammatoire exagérée et non contrôlée qui pourrait à l'inverse favoriser la progression tumorale. De façon surprenante, les processus d'inflammation et d'immuno-édition ne sont pas mutuellement exclusifs. Des études menées sur des modèles animaux ont

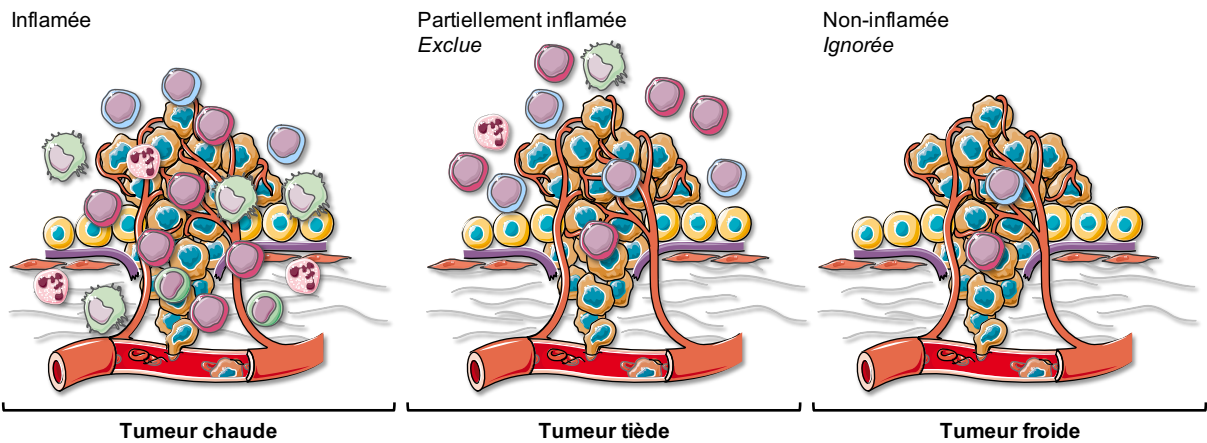


FIGURE 66 | INFILTRATION IMMUNITAIRE DES TUMEURS

Il est possible de classer les tumeurs selon l'infiltrat immunitaire qu'elles présentent. Les tumeurs chaudes, dites inflammées, sont fortement infiltrées de cellules immunitaires, au contraire des tumeurs dites froides, faiblement infiltrées. On fera la nuance entre les tumeurs tièdes, où les cellules immunitaires sont exclues à la périphérie de la tumeur et où seulement quelques cellules sont retrouvées au sein de la tumeur, et les tumeurs froides, ignorées, où l'on ne retrouve que quelques rares cellules immunitaires infiltrantes.

en effet confirmé que l'inflammation pro-tumorale et l'immunosurveillance pouvaient coexister, sans forcément être temporellement associées. Aussi, l'inflammation participe au processus d'immuno-édition durant la phase d'échappement, où les cellules inflammatoires et régulatrices sont recrutées et activées par les cellules tumorales pour contrer l'action anti-tumorale du système immunitaire et ainsi favoriser la progression tumorale.

3. Immunologie du cancer de la prostate

a. Classifications immunologiques des tumeurs

Différentes études conduites ces vingt dernières années se sont intéressées à la caractérisation des TIL (*Tumor Infiltrating Leukocytes*) dans le cancer de la prostate. Pour revue, voir (Strasner and Karin, 2015). Différents outils tels que CIBERSORT (Newman et al., 2015) et XCell (Aran et al., 2017) peuvent estimer l'abondance et le type d'infiltrat immunitaire par des approches de mesure de l'expression génique sur tissu. L'immunoscore combine lui des données d'immunohistochimie et d'expression génique pour déterminer à la fois le type et la densité mais aussi et surtout la localisation des cellules immunitaires, afin de stratifier les patients selon des critères immunologiques et ainsi prédire la progression du cancer (Bindea et al., 2013).

Ainsi sur la base de l'étude du microenvironnement immunitaire tumoral, il est possible de catégoriser les tumeurs en immunologiquement « chaudes » ou « froides » (Palucka and Coussens, 2016). Les tumeurs « chaudes » présentent un nombre important de cellules T infiltrant le cœur de la tumeur ainsi que de forts taux d'antigènes, rendant les tumeurs plus reconnaissables par le système immunitaire et donc plus susceptibles d'entraîner une forte réponse anti-tumorale. Ces tumeurs présentent en principe une bonne réponse à l'immunothérapie. A l'inverse, les tumeurs « froides » présentent peu de lymphocytes infiltrants, avec néanmoins la présence de leucocytes cantonnés à la périphérie de la tumeur (Figure 66).

Concernant le cancer de la prostate, qualifié d'immunologiquement « froid », les données semblent contradictoires sur le lien entre l'infiltration immunitaire et l'agressivité des tumeurs. Une étude a montré que la forte présence de TIL dans les marges invasives était associée à une plus faible survie sans récurrence biochimique après prostatectomie (Kärjä et al., 2005) quand une autre étude a montré que l'absence ou la faible présence de TIL était associée à un haut risque de progression de la pathologie (Vesalainen et al., 1994). Pour autant, l'élévation des marqueurs M-CSF, CSF1-R et CD3 en histologie corrèle avec les formes métastatiques de la pathologie (Richardson et al., 2008).

Plus récemment, l'étude *The immune landscape of cancer* s'est intéressée à caractériser les infiltrats immunitaires à partir des données de cancers disponibles dans la base de données TCGA (*The Cancer Genome Atlas*), et à catégoriser les tumeurs selon 6 sous-types : C1, *wound-healing* ; C2, *IFN γ dominant* ; C3, *inflammatory* ; C4, *lymphocyte depleted* ; C5, *immunologically quiet* ; C6, *TGF β dominant*. La catégorie C3, pour laquelle le cancer de prostate est majoritairement enrichi, est définie comme présentant un nombre élevé de gènes Th17 et Th1, avec un faible à modéré taux de prolifération tumorale, et un plus faible taux d'aneuploïdie et d'altérations du nombre de copies que les autres sous-types (Thorsson et al., 2018). La proportion de leucocytes dans le stroma est faible (< 10 %). De façon intéressante, la catégorie C3, qui présente le pronostic le plus favorable avec la catégorie C2, est aussi celle qui a une plus forte signature Th17, en accord avec une récente revue de la littérature qui suggère effectivement que l'expression d'un phénotype Th17 est généralement associée à une augmentation de la survie associée au cancer (Punt et al., 2015).

Une caractéristique importante du cancer de la prostate est son relativement bas taux de mutations, ce qui diminue en conséquence l'expression de néoantigènes par rapport à d'autres cancers (fréquence de mutations de 0.9/mégabase, soit 10 fois moins que les mélanomes) (Lawrence et al., 2013). Ce manque de néoantigènes est donc logiquement associé avec une plus faible attirance pour les cellules immunitaires des tumeurs prostatiques, et une diminution de la présentation par les CPA aux TIL. Ceci correspond au microenvironnement froid des tumeurs prostatiques expliquant la plus grande facilité des cellules tumorales à échapper au système immunitaire et à une moindre réponse à l'immunothérapie. Cependant, l'étude de la signature des cellules T disponible dans la base de données TCGA ne trouve pas de corrélation entre l'expression génique de cette signature et la survenue de mutations dans le mélanome ni dans aucun des autres types de cancers. Ces résultats suggèrent ainsi que l'infiltration immunitaire spontanée des tumeurs ne serait donc pas due à un manque d'antigènes (Spranger et al., 2016).

b. Infiltration immunitaire du cancer de la prostate

i. Infiltration lymphocytaire

La plupart des études immunologiques du cancer de la prostate se concentrent sur l'infiltration par les cellules T, CD4⁺, CD8⁺ qui semblent être pro-tumorales. Dans de nombreuses tumeurs solides, la présence de TIL CD8⁺ cytotoxiques est associée à un meilleur pronostic, cependant ceci est moins clair pour le cancer de la prostate. En analysant les marqueurs de lymphocytes CD3, CD4, CD8 et CD20, Ness et ses collaborateurs ont montré qu'une forte densité de

lymphocytes CD8⁺ était un facteur pronostic négatif de la survie sans rechute biochimique (Ness et al., 2014). L'hypothèse émise par les auteurs est que les TIL CD8⁺ du microenvironnement du cancer de la prostate peuvent être dysfonctionnels, autorisant une mauvaise réponse cytotoxique malgré leur stimulation par les antigènes anti-tumoraux. En effet, pas ou peu d'études ont été réalisées pour déterminer l'état d'activation des lymphocytes dans les tumeurs prostatiques. Au final, l'infiltration tumorales par des cellules T CD8⁺ semble donc être de mauvais pronostic pour le cancer de la prostate (Leclerc et al., 2016) (Petitprez et al., 2019).

Plus récemment, sur un total de près de 10.000 échantillons, Zhao et ses collaborateurs ont montré, via l'utilisation de CIBERSORT, que la présence de macrophages et de cellules T était associée à un mauvais pronostic quant à la survie sans survenue de métastases (Zhao et al., 2019). L'expression de PD-L2 est fortement associée à la signature immunologique, suggérant que cette protéine pourrait jouer un rôle important dans la modulation de l'immunité dans les échantillons de cancer de la prostate analysés.

Concernant les cellules B, les données semblent peu claires, mais elles n'auraient globalement pas d'effet sur le cancer de la prostate. L'infiltration tumorale par des cellules B est visiblement augmentée dans les tumeurs à haut risque mais aucune corrélation n'a été retrouvée avec les autres paramètres cliniques (Woo et al., 2014). Leur impact est considéré neutre sur le développement du cancer de la prostate (Gannon et al., 2009) (Flammiger et al., 2012).

ii. Leucocytes et immunosuppression

Le microenvironnement immunitaire des tumeurs oscille entre une activité immunosuppressive et une activité anti-tumorale, dont l'équilibre est dépendant de la sécrétions de divers facteurs et cytokines. Les cellules T CD8⁺, classiquement anti-tumorales, semblent de mauvais pronostic dans le cancer de la prostate. Si on s'intéresse aux cellules immunosuppressives, à savoir les cellules Treg et MDSC, la plupart des études concordent pour dire qu'elles sont positivement associées à la progression tumorale. Leur présence dans le cancer de la prostate est associée avec des formes plus agressives de la pathologie.

De façon intéressante, Sfanos et ses collaborateurs ont montré que les cellules T CD4⁺ infiltrantes sont faiblement Th2, et qu'elles semblent se réorienter vers un phénotype Treg (FOXP3⁺) ou Th17 (Il-17⁺) (Sfanos et al., 2008). De fait, une infiltration plus importante de cellules Treg est retrouvée dans les tissus tumoraux en comparaison avec les tissus sains issus des mêmes patients. Les cellules se localisent dans les zones d'atrophie, ce qui suggère que

l'atrophie pourrait être un précurseur de lésions tumorales. Aucune corrélation n'a pu cependant être faite entre l'infiltration par les cellules Treg et le score de Gleason (Valdman et al., 2010). Des cellules Treg CD25⁺ FOXP3⁺ ont également été retrouvées dans des clusters de lymphocytes adjacents aux zones tumorales, indiquant la présence d'un microenvironnement immunitaire avec un impact négatif sur la réponse immunitaire anti-tumorale. Peu de cellules ont pour autant été retrouvées dans les lésions tumorales et de même, aucune corrélation n'a pu être faite avec le score de Gleason ou la classification TNM (Ebelt et al., 2009).

iii. Infiltration par les macrophages

La présence de TAM au sein des tumeurs est associée à un mauvais pronostic du cancer de la prostate est corrélée avec la prolifération des cellules tumorales et la vascularisation de la tumeur (Lissbrant et al., 2000). L'analyse de TMA (*Tissue Microarray*) a mis en évidence un nombre accru de TAM dans les lésions tumorales par rapport aux PIN et aux tissus sains, suggérant le rôle potentiel des TAM dans la progression du cancer de la prostate. Ces données ne sont cependant pas corrélées avec la récurrence biochimique après prostatectomie, ne faisant pas des TAM un marqueur pronostic prédictif pour les rechutes (Gollapudi et al., 2013). Pourtant, une étude menée ultérieurement a confirmé ces données et a par ailleurs pu associer la présence de TAM à une plus faible survie totale, mais toujours sans corrélation avec la survie sans récurrence (Cao et al., 2017).

Lanciotti et ses collaborateurs se sont intéressés à étudier le phénotype des macrophages sur des pièces de prostatectomies. S'ils ont confirmé l'association entre une forte densité de macrophages et un mauvais pronostic, aucun phénotype M1 ou M2 n'est associé à la récurrence biochimique. Pour autant, les macrophages M2 sont significativement associés à l'extension tumorale alors que les macrophages M1 sont plus fréquemment retrouvés dans les pathologies confinées (Lanciotti et al., 2014). Très récemment, l'utilisation de l'outil CIBERSORT a permis d'identifier une plus forte proportion de mastocytes et de macrophages M1 dans les tissus tumoraux que dans les tissus sains. La présence de macrophages M1 semble associée à un meilleur pronostic (Zhang et al., 2019). Enfin, s'il est généralement accepté que les cellules immunosuppressives tels que les macrophages M2 et les cellules Treg peuvent contribuer à la progression du cancer par leur activité pro-tumorale, une étude a effectivement montré qu'une forte infiltration par des macrophages M2 est associée à un risque plus important de décès lié au cancer (Erlandsson et al., 2019).

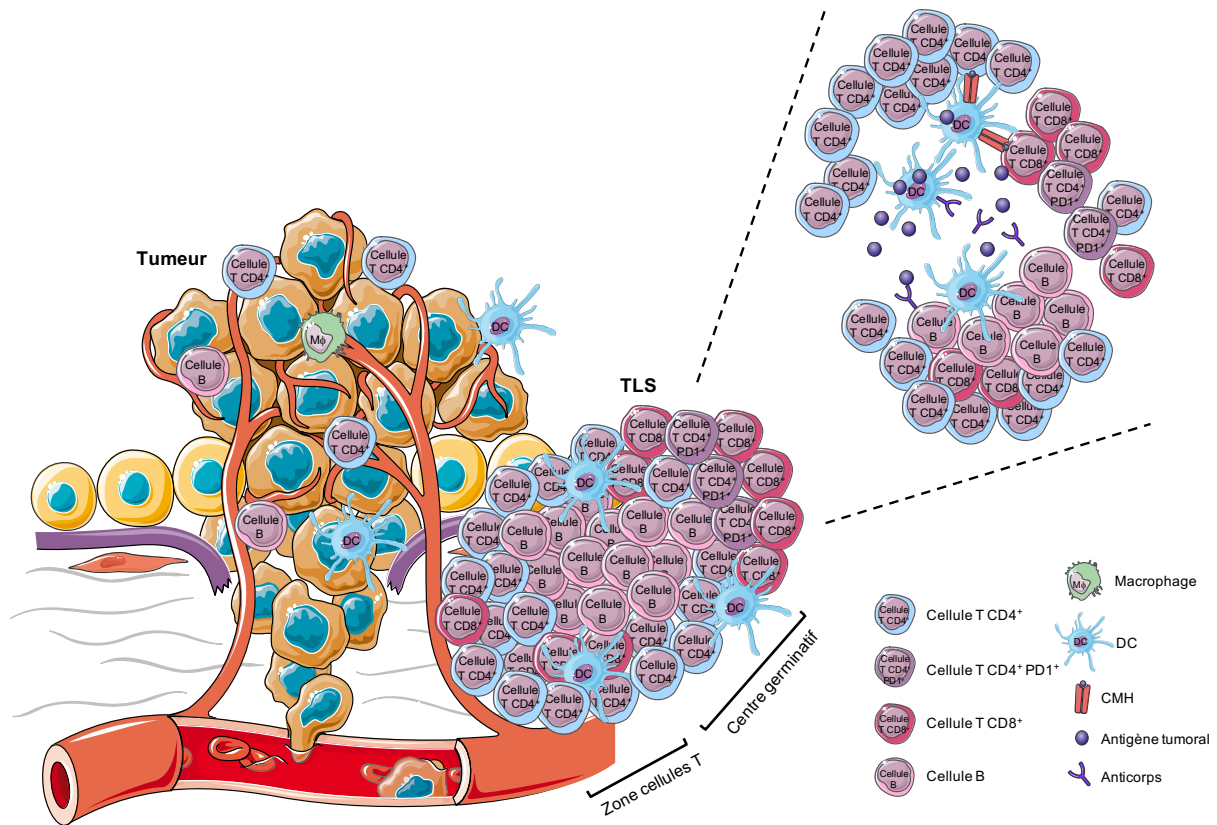


FIGURE 67 | STRUCTURES LYMPHOÏDES TERTIAIRES

Les structures lymphoïdes tertiaires, ou TLS, correspondent à une agglutination structurée de cellules immunitaires à proximité d'une tumeur. Elles peuvent être adjacentes ou présentes dans le stroma avoisinant la tumeur, ou directement établies au cœur de la tumeur. Ces TLS reprennent l'architecture retrouvée dans les ganglions lymphatiques avec un centre germinatif composé de cellules B, entourées de cellules T et de DC. Ces structures favoriseraient la destruction des tumeurs par la production d'anticorps ciblant les cellules tumorales par les cellules B activées et l'activation des cellules T par les DC, qui exerceront également une action anti-tumorale. *Modifié d'après (Sautès-Fridman et al., 2019).*

iv. Structures lymphoïdes tertiaires

Les TLS (*Tertiary Lymphoid Structures*) sont comme leur nom l'indique des structures lymphoïdes dites tertiaires qui se développent de façon ectopique dans des tissus non lymphoïdes, sur des sites d'inflammation chronique, dont les tumeurs. Si les mécanismes contrôlant leur apparition ainsi que leur rôle sont encore mal connus, il semblerait que leur présence soit associée à un cancer de pronostic favorable. Ces structures sont retrouvées au niveau du stroma et des marges invasives de différents cancers (poumon, colon, sein, foie, ovaire et mélanome pour les plus décrits). L'attraction des lymphocytes vers les TLS fait intervenir des chimiokines, principalement CXCL13, CCL19 et CCL21. Une signature de 12 chimiokines a été établie à partir de l'étude de cancers colorectal, du sein, de mélanomes et de carcinomes hépatocellulaires : CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL8, CCL18, CCL19, CCL21, CXCL9, CXCL10, CXCL11 et CXCL13. Ces structures joueraient un rôle important dans le contrôle de l'invasion tumorale et de la dissémination métastatique en favorisant la présentation des antigènes par les DC et l'activité cytotoxique des T CD8⁺ directement *in situ* (Figure 67). Elles ont par conséquent un impact favorable sur la survie d'une majorité de cancers. Pour revue sur les TLS, voir (Sautès-Fridman et al., 2019).

Une seule étude a noté leur présence chez des patients atteints de cancer de la prostate. Sur les 17 patients étudiés, 4 ont présenté un cancer dit « évanescent » : un cancer a été détecté sur la biopsie mais n'a pas été retrouvé sur la pièce de prostatectomie. Aucune donnée n'indique le nombre de patients chez lesquels des TLS ont été retrouvées. Cependant les auteurs font état qu'une diminution de la taille des TLS est associée à une augmentation du risque de progression du cancer de la prostate. Ces TLS sont constituées de follicules de cellules B entourant un réseau de FDC (DC Folliculaire), le tout étant encerclé de cellules CD8⁺. Les auteurs ont également noté la présence de cellules COX2⁺, PD-L1⁺, ainsi que de cellules Th1 Tbet⁺ et Treg FOXP3⁺, conférant un environnement plutôt immunosuppresseur (García-Hernández et al., 2017).

La principale limite de ces analyses est le manque d'uniformisation quant à la localisation des cellules, les techniques et les marqueurs utilisés, ainsi que le biais induit par les champs observés en histologie. Ainsi, l'importance de la localisation des cellules immunitaires (au sein de l'épithélium ou du stroma, au niveau des lésions inflammatoires ou non, adjacentes aux zones tumorales, au niveau des marges invasives de la tumeur) n'est que peu prise en compte et ne permet pas de comparer réellement les analyses entre elles. Au final, des recherches futures seront nécessaires pour mieux caractériser l'infiltration immunitaire des tumeurs

prostatiques, mais aussi et surtout pour décrire fonctionnellement leur état d'activation afin d'affiner le pronostic des patients et de définir la pertinence des cibles thérapeutiques.

c. Facteurs modulant l'infiltration immunitaire des tumeurs prostatiques

Plusieurs éléments propres au cancer de la prostate peuvent influencer sur son microenvironnement immunitaire. La perte du suppresseur de tumeurs *Pten* est parmi les altérations les plus fréquentes du cancer de la prostate. Des données de la littérature suggèrent qu'elle pourrait moduler le microenvironnement immunitaire du cancer de la prostate.

Des études menées sur des modèles murins ont montré que le statut moléculaire des tumeurs, ici l'inactivation de *Pten*, pouvait favoriser le recrutement de cellules immunosuppressives, les MDSC (CD11b⁺ Gr1⁺). En l'absence de *Pten*, la présence de MDSC protège les cellules tumorales de la sénescence, via l'axe IL1 α /IL1RA (Di Mitri et al., 2014). Ce modèle présente en effet un enrichissement en MDSC, particulièrement dans les carcinomes invasifs. Leur recrutement est notamment induit par l'expression des cytokines inflammatoires CSF1 et de IL-1 β , connues pour favoriser l'expansion et l'activité immunosuppressive des MDSC (Garcia et al., 2014). Plus récemment, il a également été montré en modèle murin invalidé pour *Pten* que les MDSC pouvaient permettre le développement de CRPC via la production d'IL-23 (Calcinotto et al., 2018). Par ailleurs, la perte de *Pten* dans les mélanomes métastatiques est associée à une diminution de l'infiltration de cellules T dans les tumeurs ainsi qu'à une diminution de la réponse à l'immunothérapie anti-PD-1 (Peng et al., 2016). Le laboratoire de Pandolfi a récemment publié une approche novatrice de comparaison de modèles murins dans le but d'étudier si et comment différentes altérations génétiques sur un même fond inducteur de tumeurs pouvaient affecter le paysage immunitaire. En modèle murin invalidé pour *Pten*, l'induction d'altérations moléculaires secondaires différentes, à savoir les invalidations de *Zbtb7a*, *Trp53*, ou *Pml*, conduit à des variations de l'infiltration immunitaire, concernant notamment les MDSC (Bezzi et al., 2018).

Dans la même logique, Vidotto et ses collaborateurs ont analysé via CIBERSORT l'abondance relative des différents types de cellules immunitaires selon les données de patients présentant une tumeur localisée ou métastatique. Dans les cas de cancers mutés pour *Pten* a été observée une augmentation de l'infiltration par des cellules Treg FOXP3⁺, d'autant plus importante dans les tumeurs métastatiques que localisées. L'atteinte ganglionnaire est corrélée à de forts taux de cellules T CD8⁺ quand la présence de métastases osseuses est associée à une plus faible abondance de cellules T CD8⁺. Les métastases hépatiques, quant à elles, sont enrichies en Treg.

Les auteurs lient ainsi la perte de *Pten* avec la présence d'un environnement immunosuppresseur (Vidotto et al., 2019).

La privation androgénique est également capable de remodeler le microenvironnement immunitaire tumoral. En effet, les patients sous ADT présentent une augmentation de l'infiltration par des cellules T CD3⁺ et CD8⁺, ainsi que par des macrophages CD68⁺ et des DC CD83⁺ (Mercader et al., 2001). L'étude menée par Gannon confirme ces données et note de plus qu'une infiltration par les cellules NK CD56⁺ est associée avec un plus faible risque de récurrence biochimique et d'invasion des vésicules séminales (Gannon et al., 2009). L'infiltration par des macrophages CD68⁺ est quant à elle associée avec une augmentation du risque de récurrence biochimique, ce qui a été confirmé par la suite (Nonomura et al., 2011). Par ailleurs, l'ADT module également le profil d'expression des cytokines, favorisant l'infiltration par des cellules Treg et CD8⁺ mais sans avoir d'impact sur la survie (Sorrentino et al., 2011)

Enfin, si l'inflammation induite par l'ADT est observée depuis longtemps, les mécanismes n'ont pas été élucidés (Spinedi et al., 1992). Deux hypothèses sont actuellement proposées : (1) l'ADT, en réduisant les taux systémiques de testostérone, pourrait favoriser la thymopoïèse, induisant une augmentation du nombre de cellules T circulantes, particulièrement des T naïfs (Sutherland et al., 2005) ; (2) l'apoptose des cellules tumorales observée en réponse à l'ADT induit la libération d'antigènes qui, combinée à une augmentation de l'abondance de CPA (macrophages et DC) pourrait favoriser un environnement inflammatoire (Mercader et al., 2001) (Haverkamp et al., 2008). Ainsi des études complémentaires seront nécessaires pour mieux comprendre l'influence des androgènes et de l'ADT sur la modulation de la réponse immunitaire. Par ailleurs, l'infiltration immunitaire observée en réponse à l'ADT pourrait justifier l'utilisation de l'immunothérapie dans les stades avancés du cancer de la prostate.

C. Immunothérapie du cancer de la prostate

La thérapie anti-tumorale est maintenant confrontée à la nouvelle ère de l'immunothérapie. Récemment, le focus est fait sur l'immunothérapie du cancer de la prostate depuis que le sipuleucel-T a démontré un bénéfice sur la survie totale dans un essai clinique sur des patients mCRPC asymptomatiques ou peu symptomatiques (Kantoff et al., 2010) (Higano et al., 2009).

A contrario, l'immunothérapie ciblant le point de contrôle immunitaire (ICI, *Immune Checkpoint Inhibitor*) comme les anticorps anti-PD-1, PD-L1 ou CTLA-4 n'a pas démontré son efficacité dans le cancer de la prostate. La survenue de mutations au sein des tumeurs, concernant ou non les gènes de la réparation des dommages ADN, la composition en cellules

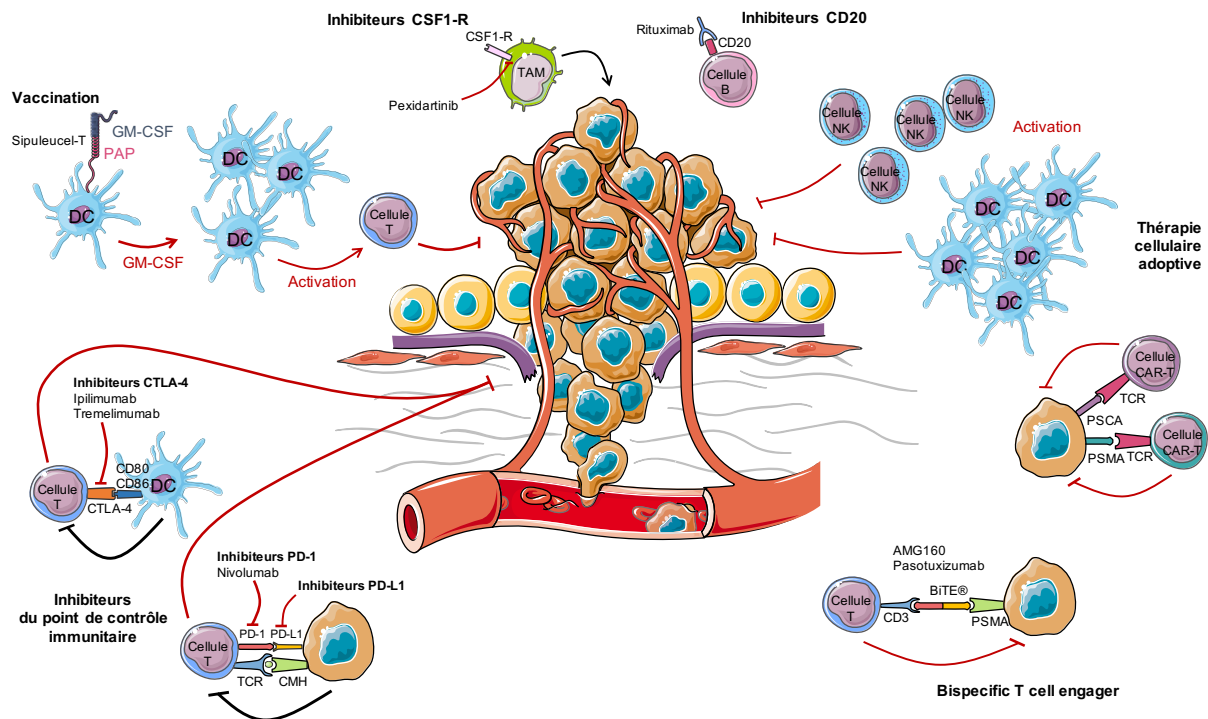


FIGURE 68 | IMMUNOTHERAPIE DU CANCER DE LA PROSTATE

Parmi les immunothérapies ciblant le cancer de la prostate, la vaccination par le sipuleucel-T consiste à injecter au patient des DC capables de produire du GM-CSF à proximité des cellules tumorales exprimant l'antigène PAP, afin de recruter d'autres DC *in situ* et favoriser l'activité anti-tumorale des cellules T. De façon semblable, il est possible par la thérapie cellulaire adoptive d'injecter directement des cellules NK ou des DC activées qui lutteront contre la tumeur, ou des cellules CAR-T, capables de cibler spécifiquement les cellules tumorales exprimant les antigènes PSCA ou PSMA. L'utilisation d'anticorps bispécifiques des cellules T et tumorales (BiTE®) favorisera la reconnaissance et l'action anti-tumorale des cellules T envers les cellules tumorales. Enfin, il existe également différents types d'inhibiteurs capables de réorienter les actions du système immunitaire contre la tumeur. Les inhibiteurs du point de contrôle immunitaire, anti-PD-1, anti-PD-L1 ou anti-CTLA-4, réactiveront les cellules T pour attaquer les cellules tumorales. Les inhibiteurs de CSF1-R viseront eux à inhiber l'action des TAM, pro-tumorale. Les anti-CD20 cibleront quant à eux les cellules B.

immunitaires du microenvironnement, ainsi que leur densité combinée avec leur organisation spatiale, et l'expression de protéines du point de contrôle immunitaire sont autant de facteurs qui peuvent influencer sur la réponse aux thérapies. Ainsi, la faible réponse à l'immunothérapie des patients atteints d'un cancer de la prostate est probablement corrélée au microenvironnement immunitaire de ces tumeur, considéré comme « froid ».

Mais l'émergence de nouvelles données sur le microenvironnement immunitaire du cancer de la prostate ouvre la voie pour le développement de nouvelles thérapies dans le but de cibler ou de stimuler des cellules immunitaires. Si à l'heure actuelle l'immunothérapie du cancer de la prostate semble faire preuve d'un bénéfice clinique limité sur la survie des patients, de nouvelles molécules couvrant un large spectre de l'immunothérapie sont actuellement en développement voire en phase de tests cliniques (Figure 68).

1. Vaccination

En avril 2010, le Sipuleucel-T (Provenge®) a été la première immunothérapie approuvée par la FDA pour le traitement du cancer de la prostate. Ce vaccin thérapeutique personnalisé consiste à collecter par leucaphérèse les DC du patient et à les activer contre l'antigène prostatique PAP fusionné au GM-CSF. Les DC activées sont ensuite réinjectées au patient pour conduire à la production de GM-CSF sur le site de la tumeur et ainsi recruter le système immunitaire pour lutter contre le cancer. Deux essais cliniques de phase III sur des patients mCRPC, (Kantoff et al., 2010) et (Higano et al., 2009) ont démontré une diminution du risque de décès de 22 % et une augmentation de la survie totale d'une médiane de 4.1 à 4.5 mois.

Plus récemment, l'efficacité du Prostavac-VF/TRICOM™, un autre vaccin thérapeutique basé sur un vecteur viral Pox recombinant et le TRICOM, une combinaison de 3 molécules immunogènes (B7-1 (CD80), ICAM-1 et LFA-3), a été testée dans un essai clinique de phase III +/- GM-CSF contre double placebo à la fin de l'année 2017. Mais l'essai PROSPEC sur des patients mCRPC a été arrêté car les premiers résultats suggéraient qu'il n'était pas aussi efficace qu'attendu pour prolonger la survie. Des essais sont actuellement en cours pour déterminer l'efficacité de Prostavac en combinaison avec d'autres agents immunothérapeutiques ou en cas d'administration plus précoce dans la survenue de la pathologie.

DCVAC/PCa est une autre immunothérapie cellulaire active également basée sur les cellules dendritiques (DC + LNCaP). Les résultats de l'essai de phase I/II sur des patients après prostatectomie ou radiothérapie montrent la présence de lymphocytes T réactifs au PSA et une augmentation du temps de doublement du PSA (Fucikova et al., 2018). Un essai clinique de

phase III est actuellement en cours pour le tester en combinaison avec la chimiothérapie, docetaxel +/-DCVAC chez des patients mCRPC (Beer et al., 2015).

ProstAtak® (AdV-tk + valacyclovir) consiste en une injection intra-tumorale d'un vecteur adénoviral contenant les gènes de la thymidine kinase de l'herpès simplex suivi par l'administration de valacyclovir, un anti-herpétique. Ce vaccin est actuellement en essai de phase III (valacyclovir +/- ProstAtak) en combinaison avec de la radiothérapie chez des patients présentant une pathologie localisée à intermédiaire/haut risque de progression (NCT01436968) et en essai de phase II/III pendant la surveillance active des cancers localisés *versus* placebo (NCT02768363).

Ainsi, les vaccins thérapeutiques n'ont pas encore démontré une réelle efficacité dans le traitement des formes avancées du cancer, qui est possiblement due à l'âge avancé des patients du cancer de la prostate et au déclin de leur réponse immunitaire. Le sipuleucel-T reste la seule immunothérapie qui a prouvé son efficacité dans l'augmentation de la survie des patients atteint de cancer de la prostate. D'autres vaccins sont actuellement testés dans des essais de phase I/II.

2. Inhibiteurs du point de contrôle immunitaire

Le premier inhibiteur de point de contrôle immunitaire (ICI) approuvé par la FDA est l'ipilimumab, un anti-CTLA-4, approuvé en 2011. CTLA-4 est exprimé par les Treg de façon constitutive, et surexprimé dans les cellules T conventionnelles consécutivement à leur activation. Cette protéine fonctionne comme un mode « *off* » en induisant un signal inhibiteur quand elle se retrouve liée aux molécules CD80 ou CD86 à la surface d'une CPA. Ainsi son blocage permet l'activation de la cellule T suite à la présentation. L'ipilimumab a montré dans le mCRPC une augmentation de la survie sans progression mais sans effet sur la survie totale (Beer et al., 2015). Cependant il a été rapporté le cas de 2 patients présentant une rémission complète à long terme après un suivi à 52 et 64 mois respectivement (Cabel et al., 2017).

Une autre molécule ciblant CTLA-4, le tremelimumab, a montré dans un essai de phase I en combinaison avec l'ADT des résultats encourageants pour 3 patients qui ont vu une prolongation du temps de doublement du PSA plusieurs mois après la fin du traitement (McNeel et al., 2012). Il est actuellement en cours d'essai de phase II chez des patients mCRPC, durvalumab (Imfinzi®, anti-PD-L1) +/- tremelimumab (NCT02788773).

Pour se prémunir d'une attaque par une cellule immunitaire cytotoxique, la cellule tumorale peut exprimer à sa surface le ligand PD-L1 qui en se liant au récepteur PD-1 présent à la surface de la cellule immunitaire, empêchera sa reconnaissance et donc l'initiation d'une réponse anti-

tumorale. Le nivolumab (Opdivo), un anti-PD-1, est actuellement en cours d'essai clinique de phase II sur des patients à haut risque après chirurgie ou radiothérapie (NCT03637543). La combinaison des deux inhibiteurs nivolumab (Opdivo) et ipilimumab (Yervoy) pour le traitement de patients mCRPC est actuellement en essai clinique de phase II (NCT02985957). Un résultat initial encourageant montre une certaine activité du traitement, sans risque pour les patients. L'objectif de réponse semble atteint bien que faible, et serait meilleur si les patients présentent une expression de PD-L1 > 1%.

D'autres molécules ciblant PD-1/PD-L1 sont en cours de développement voire en essai clinique. Cependant l'utilisation des ICI dans le traitement des patients atteints de cancer de la prostate et particulièrement de mCRPC ne semble que peu pertinente à la vue de ces résultats. Il est en effet possible que les patients avec une pathologie avancée (i.e. mCRPC) ne soient pas répondeurs à ce type de thérapies et qu'un ciblage plus précoce du système immunitaire dans le développement de la pathologie apporterait peut être de meilleurs résultats. Le ciblage d'autres cellules immunitaires ou par d'autres approches est le virage pris par la recherche ces dernières années comme en atteste le développement d'autres formes d'immunothérapies.

3. Immunothérapies émergentes

a. Bispecific T cell engager (BiTE®)

La technologie BiTE® (*Bispecific T cell engager*) est une approche innovante pour aider à engager les cellules T endogènes et à cibler les cellules tumorales. Il s'agit d'un anticorps à la demi-vie prolongée, composé de deux fragments variables simple chaîne (scFv), l'un ciblant un antigène associé à la tumeur (comme le PSMA) fusionné à un second dirigé contre le CD3 présent à la surface des lymphocytes T. Une fois administré, cet anticorps bi-spécifique pourra se lier à la fois sur le CD3 des CTL et sur le PSMA exprimé à la membrane des cellules tumorales dans le but d'induire l'activation, la prolifération et la libération de cytokines par les CTL et *in fine* la mort des cellules tumorales.

Parmi les BiTE® actuellement disponible, l'AMG160 (PSMA x CD3) a démontré son efficacité *in vitro* en induisant la mort de cellules tumorales, même celles exprimant de faibles taux de PSMA ou androgéno-indépendantes. Un essai clinique de phase I est actuellement en cours pour évaluer le risque et sa tolérance (NCT03792841). De même, l'ES414 (PSMA x CD3) est actuellement en cours d'essai clinique (NCT02262910).

Le pasotuxizumab (BiTE® PSMA x CD3) a démontré dans un essai de phase I une diminution du taux du PSA de façon dose-dépendante sur des patients mCRPC. Parmi les patients traités,

un patient fut répondeur à long terme, traité pendant 14 mois (40 µg/jour) et un second pendant 19.4 mois (80 µg/jour). Le second a présenté une régression complète des métastases des tissus mous et une régression marquée des métastases osseuses observées par PSMA-PET/CT, avec une diminution de plus de 90% des taux du PSA et de l'AP (*Alkaline Phosphatase*), et surtout une amélioration significative et durable de ses symptômes. Ces résultats ont été présentés au congrès de l'ASCO (*American Society of Clinical Oncology*) en juin 2019 (NCT01723475). Il s'agit de la première étude clinique démontrant l'efficacité clinique de l'immunothérapie BiTE® dans le traitement des tumeurs solides.

b. Thérapie cellulaire adoptive

i. Cellules CAR-T

L'immunothérapie par les cellules CAR-T (*Chimeric Antigen Receptor-T*) repose sur une technique de thérapie génique visant à modifier les propres cellules immunitaires du patient pour rediriger leur activité vers le ciblage des cellules tumorales. Cette thérapie repose sur l'utilisation de cellules T génétiquement modifiées grâce à un vecteur viral pour produire un TCR artificiel dirigé contre les cellules tumorales. Après amplification, ces cellules seront réinjectées au patient pour avoir une activité anti-tumorale spécifique.

Il existe actuellement un essai clinique de phase I pour le traitement du mCRPC utilisant des cellules CAR-T dirigées contre le PSMA, (NCT01140373) et contre le PSCA (NCT03873805).

ii. Cellules dendritiques

Cette technique repose sur l'obtention par leucaphérèse des cellules dendritiques autologues qui seront ensuite purifiées et stimulées par des cytokines. Les cellules dendritiques activées qui répondent aux critères de viabilité, d'immunophénotypage et de stérilité seront réinjectées au patient dans la zone tumorale après cryoablation, en association avec un traitement immunomodulateur. Un essai clinique de phase I sur 20 patients mCRPC invasif est actuellement en cours de recrutement (NCT02423928).

iii. Cellules NK

De la même façon, il est possible de prélever par leucaphérèse les cellules NK d'un patient avant d'induire leur expansion et de les réinjecter après une chimiothérapie par pentostatine pour supprimer le système immunitaire et prévenir la destruction des cellules NK. Une chimiothérapie par bortezomib est ensuite administrée pour accroître la fonction des cellules NK. Un traitement par IL-2 permet de maintenir par la suite l'activité des cellules NK. Un essai clinique de phase I est actuellement en cours de recrutement de patients présentant des tumeurs

solides métastatiques ou des cancers hématologiques, +/- CliniMACs® anti-CD3 et anti-CD56 (afin de sélectionner les cellules NK CD3⁻ CD56⁺) (NCT00720785).

c. Inhibiteur de CSF1-R

Ces dernières années, la recherche montre un intérêt grandissant pour les inhibiteurs de CSF1-R afin de cibler spécifiquement les TAM. En effet, les inhibiteurs de CSF1-R visent à inhiber la signalisation CSF1/CSF1-R qui contrôle la différenciation et la fonction des macrophages. Parmi eux, le pexidartinib (PLX3397) ciblant les TAM des tumeurs prostatiques est en essai clinique de phase I, actuellement suspendu pour une révision de la sécurité du programme (NCT02472275). Pour autant, le pexidartinib est sur le point d'obtenir l'approbation de la FDA pour le traitement des tumeurs à cellules géantes des gaines synoviales. Chez la souris, le pexidartinib a été testé sur des modèles de xéno greffes et de greffes orthotopiques et a montré son efficacité à bloquer l'influx de TAM et ainsi à réverser la résistance à l'ADT (Escamilla et al., 2015). Un autre inhibiteur de CSF1-R, l'emactuzumab, est actuellement en essai clinique de phase II (Aterolizumab, un anti-PD-L1 + enzalutamide ou emactuzumab) (NCT03821246).

d. Anticorps monoclonal ciblant les cellules B

L'intérêt pour le ciblage des cellules B est notamment venu de plusieurs rapports de cas de patients atteints de cancer de la prostate qui ont présenté une amélioration de leur pathologie suite au traitement par le rituximab, un anticorps anti-CD20 cytotoxique pour les cellules B. Le cas d'un patient est particulièrement intéressant. Après avoir présenté un cancer de la prostate localisé traité par prostatectomie et subi une progression biochimique et radiologique après plusieurs cycles de privation androgénique, ce patient a développé un lymphome folliculaire à un œil, alors traité par bandamustine et rituximab. Suite à ce traitement, son taux du PSA s'est normalisé au-delà de 12 mois après la fin du traitement (Bindal et al., 2018). Les auteurs expliquent l'effet délétère des cellules B par la sécrétion de lymphotoxine B capable de stimuler la prolifération et la survie des cellules tumorales. Les cas similaires de deux autres patients présentant de façon concomitante un cancer de la prostate métastatique et une lymphadénopathie ont été rapportés (lymphome B non Hodgkinien et lymphangite carcinomateuse respectivement) (Hanna et al., 2018) (Dalglish et al., 2014).

L'essai clinique PROTUX (NCT01804712) a testé le traitement par le rituximab néoadjuvant à la prostatectomie chez des patients de cancer de la prostate à haut risque. Les auteurs ont démontré la capacité du rituximab à réduire l'infiltration tumorale par les cellules B de près de 40 % et à modifier la composition du microenvironnement immunitaire. Cependant, les effets cliniques de la thérapie néoadjuvante par le rituximab n'ont pas encore été rapportés.

RESULTATS

PROJET DE RECHERCHE

En France, le cancer de la prostate (CaP) est de loin le cancer le plus fréquent chez l'homme avec une incidence projetée pour 2015 de 53.000 nouveaux cas. Il représente la troisième cause de mortalité par cancer chez l'homme, ce qui le place juste après les cancers du poumon et du colon (INCa, 2019). Si la prostatectomie totale reste le traitement de référence des patients à faible ou à haut risque de progression avec une pathologie localisée, les formes avancées du cancer de la prostate sont classiquement traitées par hormonothérapie. La privation androgénique vise comme son nom l'indique à priver la tumeur en androgènes. Le cancer de la prostate étant un cancer androgéno-dépendant, on assiste suite à l'hormonothérapie à une régression des tumeurs. Malheureusement, la plupart des patients répondant initialement à la privation androgénique font l'expérience d'une reprise de la croissance tumorale sous traitement, qui progresse inévitablement vers un stade léthal de la pathologie, le cancer de la prostate résistant à la castration (CRPC). La progression vers le statut résistant à la castration est associée à la réactivation de la signalisation AR ; ainsi, AR continue, malgré l'hormonothérapie, de réguler l'expression de ses gènes cibles, comme le PSA.

La recherche sur le cancer de la prostate s'est récemment intéressée au rôle du cholestérol dans le développement et la progression de cette pathologie (Brown, 2007). Le lien entre le cholestérol et le cancer de la prostate n'est pas récent : l'accumulation excessive de cholestérol dans les tumeurs prostatiques fut établie dans la première moitié du 20^{ème} siècle (White, 1909) (Swyer, 1942), et son association au risque de développer un cancer de la prostate dans les années 60 grâce à des études épidémiologiques sur les migrants japonais aux États-Unis (Haenszel and Kurihara, 1968). Ces migrants présentent en effet un risque 4 à 6 fois plus élevé de développer un cancer de la prostate après qu'ils aient immigré aux États-Unis par rapport aux populations japonaises n'ayant pas émigré (Shimizu et al., 1991). Ce risque est similaire pour les japonais nés aux États-Unis suggérant le rôle de l'environnement, et plus particulièrement de l'alimentation riche en lipides et en cholestérol (*western diet*) plutôt que celui de facteurs génétiques dans le risque de survenue du cancer de la prostate. Depuis, la littérature scientifique abonde d'études sur le lien entre le cholestérol et le cancer de la prostate (Freeman and Solomon, 2011). Bien que cette association fut longtemps controversée, plusieurs analyses associent de forts taux de cholestérol plasmatique et un risque plus élevé de survenue d'un cancer de la prostate et des formes agressives de la pathologie (Pelton et al., 2012). Par ailleurs, l'utilisation de statines diminue le risque de survenue de cancer de la prostate, tout comme le risque de développer des formes agressives de la pathologie (Freeman et al., 2006).

Les récepteurs nucléaires LXR jouent un rôle important dans le maintien de l'homéostasie intracellulaire du cholestérol et ont été étudiés à ce titre dans des pathologies cardiovasculaires et plus particulièrement dans l'athérosclérose (Tangirala et al., 2002) (Calkin and Tontonoz, 2010). Les récepteurs nucléaires LXR sont également impliqués dans différentes pathologies cancéreuses, comme le cancer de la prostate, le cancer colorectal, les cancers de la glande mammaire ou de l'ovaire (De Boussac et al., 2013). De façon générale, l'utilisation d'agonistes des LXR sur des lignées cellulaires tumorales *in vitro* ou *in vivo* conduit à une action anti-tumorale, en inhibant la prolifération et en favorisant la mort cellulaire par apoptose et par un arrêt du cycle cellulaire. Concernant le cancer de la prostate, l'étude de modèles cellulaires d'adénocarcinomes prostatiques humains et des souris invalidées pour LXR $\alpha\beta$ a confirmé leurs propriétés antiprolifératives et pro-apoptotiques. Ainsi, le traitement de cellules LNCaP par le T0901317, un ligand agoniste synthétique des LXR, conduit à un arrêt des cellules en phase G1 (Fukuchi et al., 2004a) (Chuu and Lin, 2010). Parallèlement, des travaux précédemment menés dans l'équipe ont montré que l'activation des LXR au sein de cellules tumorales prostatiques induit l'expression de *ABCG1*. Cette cible des LXR favorise l'efflux du cholestérol et conduit ainsi à une perturbation de la signalisation dépendante des radeaux lipidiques. Il en résulte une diminution de l'activité de la voie de survie PI3K/AKT et ainsi la mort par apoptose des cellules traitées *in vitro* et *in vivo* (Pommier et al., 2010). *In vivo*, l'inactivation de LXR $\alpha\beta$ conduit à l'apparition de PIN chez des souris nourries avec un régime riche en cholestérol. Ce phénotype est associé à des perturbations de l'expression d'acteurs clés de la carcinogenèse prostatique à savoir une surexpression des gènes *Cnd1* et *Cnd2* et de l'oncogène *Ezh2* et une répression des gènes suppresseurs de tumeurs *Nkx3.1* ou *Msmb* (Pommier et al., 2013). Ces données montrent que les récepteurs nucléaires LXR, en contrôlant les concentrations intracellulaires de cholestérol, exercent un rôle protecteur dans l'apparition des lésions précancéreuses de la prostate.

De façon intéressante, les récepteurs nucléaires LXR peuvent interférer avec la signalisation AR. L'activation des récepteurs nucléaires LXR, par l'utilisation d'agonistes synthétiques ou d'un modèle murin de surexpression de LXR α , conduit *in vitro* et *in vivo* à une diminution de l'activité androgénique de la prostate (Hoon Lee et al., 2008). De plus, des analyses précédemment réalisées dans l'équipe en modèle murin ont montré que l'inactivation de LXR α conduisait à une hypertrophie de la prostate ventrale, à une production anormalement élevée de sécrétions prostatiques et à des anomalies du trafic vésiculaire dans les cellules prostatiques. Ainsi l'inactivation de LXR α se traduirait par une hypersensibilité à la signalisation

androgénique dans la prostate ventrale murine (Viennois et al., 2012). A l'inverse, AR peut réguler négativement l'activité des récepteurs nucléaires LXR. Les auteurs ont démontré que cet antagonisme direct ne nécessite pas de synthèse protéique, et n'affecte ni l'accumulation des messagers et des protéines, ni la liaison des LXR à l'ADN. L'absence d'interaction physique entre les récepteurs LXR et AR a amené les auteurs de cette étude à suggérer une compétition entre ces deux récepteurs pour les co-activateurs (Krycer and Brown, 2011). Ces données soulignent l'existence d'interférences entre les signalisations AR et LXR.

Dans ce contexte, nous nous sommes interrogés sur le rôle des récepteurs nucléaires LXR dans le cancer de la prostate et plus particulièrement dans sa réponse à la privation androgénique. Afin de répondre à ces questions, l'équipe a généré différents modèles murins d'inactivation totale ou conditionnelle (spécifique de l'épithélium prostatique grâce à l'utilisation de la recombinase Pb-Cre4 (Wu et al., 2001)) de ces récepteurs que nous avons croisés avec le modèle murin de tumorigenèse prostatique *Pten^{pc-/-}* (Wang et al., 2003). L'objectif initial de ma thèse étant de caractériser le rôle des récepteurs nucléaires LXR dans le CRPC, nous avons orienté nos travaux de recherche autour de trois étapes clés du CRPC : la réponse à la privation androgénique de la prostate, la tumorigenèse prostatique et la résistance à la castration des tumeurs. Aussi, les résultats de mes recherches seront articulés autour des questions suivantes :

- L'absence des récepteurs nucléaires LXR module-t-elle la réponse à la castration de la prostate *in vivo* ?

Pour répondre à ce premier objectif, nous avons analysé la réponse à la castration des souris invalidées pour les récepteurs nucléaires LXR α et β (LXR DKO), en comparaison avec des souris sauvages pour ces récepteurs. Les résultats de cette étude ont montré l'installation d'une inflammation chronique de la prostate en réponse à la castration des souris déficientes pour les LXR. Cette inflammation, que nous interprétons comme résultant d'un défaut de la phagocytose des cellules apoptotiques induites par la castration, conduit à une hyperprolifération prostatique et plus tardivement, à la formation de néoplasies.

- L'inactivation des récepteurs nucléaires LXR a-t-elle un effet sur l'agressivité des tumeurs prostatiques présentées par le modèle murin *Pten^{pc-/-}* et sur la mise en place d'une résistance à la castration des tumeurs ?

Dans cet axe de recherche, l'utilisation du modèle murin *Pten^{pc-/-}* nous a permis d'étudier, en contexte tumoral, l'effet de l'absence des récepteurs nucléaires LXR sur la tumorigenèse prostatique induite par la perte de *Pten* et sur la réponse à la castration des tumeurs prostatiques.

Si les résultats obtenus ne semblent pas montrer d'effets de l'absence des LXR sur la tumorigenèse ainsi induite, les individus *Pten^{pc/-};LxrDKO* présentent une exacerbation de la réponse inflammatoire en réponse à la castration, par rapport aux souris *Pten^{pc/-}* sauvages pour les récepteurs nucléaires LXR. De même qu'en contexte non tumoral, cette inflammation est associée à une augmentation de la prolifération, sans que nous n'ayons pu mettre en évidence une augmentation de l'agressivité des lésions tumorales.

- L'invalidation épithéliale des récepteurs nucléaires LXR modifie-t-elle la tumorigenèse et la réponse à la privation androgénique des cellules épithéliales prostatiques saines et tumorales ?

Enfin, pour nous affranchir du rôle des récepteurs nucléaires LXR sur le microenvironnement tumoral et plus particulièrement dans le contrôle de la réponse immunitaire à la castration, nous avons développé et étudié le phénotype des souris invalidées de façon conditionnelle pour les récepteurs nucléaires LXR dans l'épithélium prostatique. Ces données préliminaires semblent montrer une absence de réponse immunitaire suite à la castration, en contexte bénin comme en contexte tumoral. Pour autant, l'invalidation épithéliale des LXR ne semble pas induire de phénotype épithélial prostatique. De même, en contexte de tumorigenèse induite par la perte de *Pten*, l'invalidation des LXR ne semble pas moduler l'agressivité des lésions tumorales. Nous avons par contre souligné une potentielle anomalie du métabolisme lipidique qui devra être confirmée par des analyses ultérieures.

I. L'ABSENCE DES RECEPTEURS NUCLEAIRES LXR MODULE-T-ELLE LA REPONSE A LA CASTRATION DE LA PROSTATE *IN VIVO* ?

ARTICLE 1

Absence of nuclear receptors LXRs impairs immune response to androgen deprivation and leads to prostate neoplasia.

Bousset L., Septier A., Bunay J., Voisin A., Guiton G., Sapin V., Fogli A., Rambur A., De Jousineau C., Trousson A., Lobaccaro J-M., Morel L., Baron S.

Article soumis.

A. Présentation du contexte de l'étude

L'inflammation contribue au cancer à la fois lors de l'initiation tumorale, mais également lors des étapes de promotion et de progression. Des études réalisées en modèles murins ont en effet démontré que l'inflammation chronique de la prostate pouvait conduire au développement de lésions précancéreuses (Ellem et al., 2009) (Birbach et al., 2011). S'il s'agit le plus souvent d'inflammation résultant d'une infection bactérienne ou virale, des données suggèrent que des pathologies telles que l'obésité ou le syndrome métabolique peuvent être à l'origine d'une inflammation systémique, qui pourrait influencer sur la tumorigenèse (De Marzo et al., 2007) (Hotamisligil, 2017). De récentes études ont mis en évidence l'existence d'une corrélation entre la présence d'un syndrome métabolique et d'une inflammation avec une augmentation du risque de survenue d'une pathologie à haut risque de progression associée à une plus mauvaise issue (Gacci et al., 2017) (Conteduca et al., 2018) (De Nunzio et al., 2016). Ainsi ces données suggèrent l'existence d'un lien entre obésité, syndrome métabolique et initiation et progression tumorale, via la stimulation de l'inflammation. Cependant le lien entre le métabolisme lipidique, inflammation et tumorigenèse reste à ce jour mal compris.

Les récepteurs nucléaires LXR sont à la fois des régulateurs clés de l'homéostasie intracellulaire du cholestérol et de la physiologie immunitaire (Joseph et al., 2003). Ils régulent notamment l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme des lipides et du cholestérol, tels que les transporteurs d'efflux du cholestérol *ABCA1* et *ABCG1*, l'acide gras synthase *FASN*, ou l'apolipoprotéine *APOE*. De plus, les récepteurs nucléaires LXR régulent négativement la réponse inflammatoire en réprimant l'expression de gènes codant pour des cytokines inflammatoires, particulièrement dans les macrophages (Ito et al., 2015) (Birrell et al., 2007)

(Myhre et al., 2008). Par ailleurs, des données de la littérature suggèrent l'existence d'un dialogue entre les signalisation AR et LXR (Hoon Lee et al., 2008) (Krycer and Brown, 2011).

Le cancer de la prostate est un cancer androgéno-dépendant. L'hormonothérapie est ainsi utilisée dans les formes avancées de la pathologie pour induire la régression des tumeurs. Des études ont montré que la privation androgénique induit le recrutement de cellules immunitaires au sein des tumeurs prostatiques, principalement des lymphocytes T, B et des macrophages (Mercader et al., 2001) (Gannon et al., 2009) (Nonomura et al., 2011). Cependant, le lien entre l'infiltration immunitaire observée en réponse à l'hormonothérapie, l'inflammation de la prostate et le métabolisme lipidique n'a jamais été évalué.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à la réponse à la castration des souris invalidées pour les récepteurs nucléaires LXR, des régulateurs du métabolisme du cholestérol, et au rôle de ces récepteurs dans la réponse du système immunitaire *in vivo*.

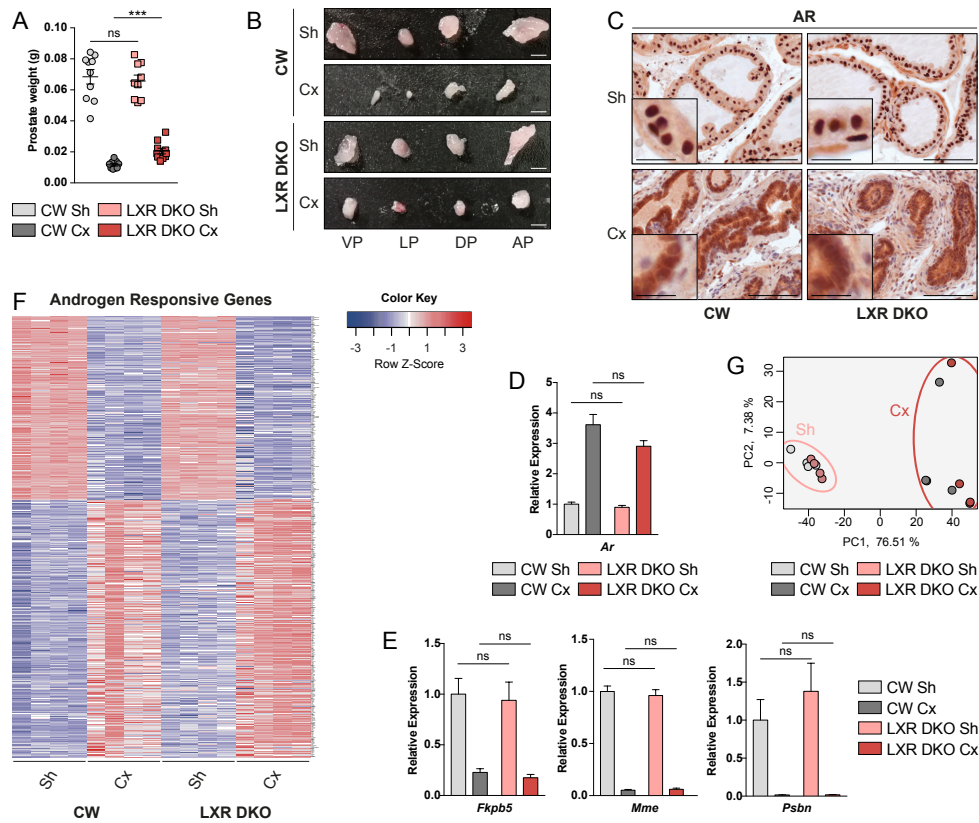


Figure 1 : LXR deficiency impairs response to androgen deprivation in an androgen-independent manner. (A and B) Whole prostate weight analysis and (B) macroscopic observation of ventral (VP), lateral (LP), dorsal (DP) and anterior (AP) prostate lobes of 1 month castrated (Cx) or sham-operated (Sh) male control wild-type (CW) and LXR alpha and beta double knock out (LXR DKO) mice, reveal a marked difference in response to castration in the absence of LXRs. (C) Immunohistochemical detection of AR showing nuclear to cytoplasmic relocalization following 1 month castration. (D and E) RT-qPCR analysis of mRNAs encoding *Ar* (D) and its target genes *Fkbp5*, *Mme* and *Pbsn* (E). (F) RNA-sequencing analysis of Androgen Responsive Genes (ARG) demonstrates no difference in gene expression changes in response to 1 month castration between LXR DKO and CW prostates. (G) Principal component analysis based on ARG expression confirms distinct clustering of castrated mice from sham-operated mice. Groups are composed of at least four animals. Bars represent mean \pm SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ and ns: non-significant. Scale bars, 100 μ m, insets 20 μ m.

B. Résultats : Article 1

Absence of nuclear receptors LXRs impairs immune response to androgen deprivation and leads to prostate neoplasia

Laura Bousset^{1,2}, Amandine Septier^{1,2}, Julio Bunay^{1,2}, Allison Voisin¹, Rachel Guiton¹, Vincent Sapin¹, Anne Fogli¹, Amandine Rambur^{1,2}, Cyrille De Jossineau^{1,2}, Amalia Trousson^{1,2}, Jean-Marc Lobaccaro^{1,2}, Laurent Morel^{1,2}, Silvère Baron^{1,2}

¹Université Clermont Auvergne, GReD, CNRS UMR 6293, INSERM U1103, 28, place Henri Dunant, BP38, F63001 Clermont-Ferrand, France; ²Centre de Recherche en Nutrition Humaine d'Auvergne, 58 Boulevard Montalembert, F63009 Clermont-Ferrand, France

Abstract

Chronic inflammation is now a well-known precursor for cancer development. Infectious prostatitis are the most common causes of prostate inflammation but emerging evidence points the role of metabolic disorders as a potential source of cancer-related inflammation. Although the widely used treatment for prostate cancer based on androgen deprivation therapy (ADT) effectively decreases tumor size, it also causes profound alterations in immune tumor microenvironment within the prostate. Here we demonstrate that prostates of a mouse model invalidated for nuclear receptors LXRs, crucial lipid metabolism and inflammation integrators, respond in a unexpected way to androgen deprivation. Indeed, we observed profound alterations in immune cells composition, which was associated with chronic inflammation of the prostate. This was explained by the recruitment of phagocytosis-deficient macrophages leading to aberrant hypo-response to castration. This phenotypic alteration was sufficient to allow prostatic neoplasia. Altogether, these data suggest that ADT and inflammation resulting from metabolic alterations interact to promote aberrant proliferation of epithelial prostate cells and development of neoplasia. This raises the question of the benefit of ADT for patients with metabolic disorders.

Introduction

It is becoming increasingly clear that inflammation contributes to prostate cancer. This is supported by studies of genetically engineered mouse models, which demonstrate that chronic inflammation of the prostate can lead to development of neoplasia (1)(2). In most cases, prostate inflammation can be the result of bacterial or viral infections (3). However, emerging evidence suggests that obesity as well as metabolic syndrome are also associated with systemic inflammation, a concept called metaflammation (4). Consistent with this idea, mice fed a high fat diet present systemic low-grade inflammation, and NF- κ B-dependent chronic prostate inflammation (5). In human, chronic inflammation of the prostate is characterized by infiltration of mostly CD4⁺ T cells (70-80%), B cells (10-15%) and macrophages (6). A review of the literature suggests an association between an inflammatory state and prostate cancer development in patients, but there is still no evidence of causal relationship (7). In support of this idea, a meta-analysis found a correlation between the presence of metabolic syndrome and a worse outcome of prostate cancer, but only observed a weak association with prostate cancer incidence (8). Consistent with this, a recent study in mCRPC (metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer) patients, identified a high-risk prognostic group based on criteria of metabolic syndrome and inflammation, which was associated with decreased progression-free and overall survival (9). This is further supported by a prospective study that demonstrated an increased risk of high grade and advanced prostate cancer in patients with metabolic syndrome (10). Altogether, these data suggest that obesity and

metabolic syndrome could be associated with cancer initiation and progression, through stimulation of inflammation. However, the links between lipid metabolism, cytokines and inflammation-related factors released by immune cells and tumorigenesis within the prostate are poorly understood.

Nuclear receptors Liver X Receptors (LXRs) are integrators of lipid metabolism and inflammation response (11). They were first described for their role in pathophysiology of atherosclerosis as endogenous inhibitors of atherosclerosis by limiting lipid overload in macrophages (12). Effectively, these transcription factors control expression of cholesterol and lipid metabolism related genes, such as cholesterol efflux cassette transporters ABCA1 and ABCG1/5/8, fatty acid synthase FASN or apolipoprotein APOE. Most importantly, LXRs also negatively regulate inflammatory response by downregulating proinflammatory cytokines coding genes expression, especially in macrophages (13)(14)(15). However, reciprocal interactions of lipid metabolism and inflammation mediated by LXRs has not been extensively analyzed in the context of prostate cancer.

Classically, prostate cancer is treated by androgen deprivation therapy (ADT) to induce tumor regression. If it is now well known that ADT induces apoptosis of prostate tumor cells and adjacent normal cells thus allowing tumor regression, ADT can also affect tumor immune microenvironment. Many studies show an increasing infiltration of immune cells in prostate tumors in response to androgen deprivation (16)(17)(18). Moreover, an elevated infiltration of macrophages after ADT is associated with an increased

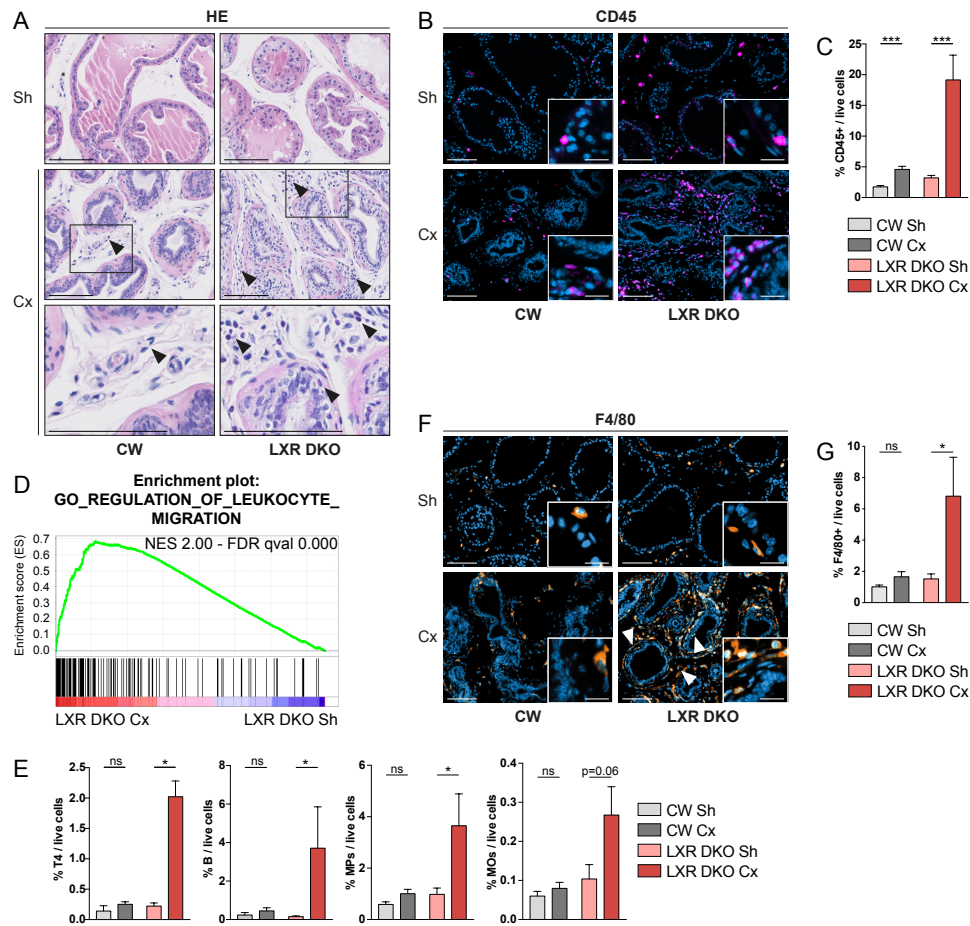


Figure 2 : Androgen deprivation-induced immune infiltration in LXR-null prostates is composed of a majority of F4/80⁺ macrophages. (A) Hematoxylin and eosin staining of prostates from 1 month castrated or sham operated male CW and LXR DKO mice. Arrowheads indicate immune cells infiltration. (B) Immunohistological staining of the pan-leucocytes marker CD45 in 1 month castrated or sham-operated CW and LXR DKO prostates. (C) Flow cytometry analysis of CD45⁺ leucocytes representation in whole prostates. (D) Gene ontology analysis of RNA-sequencing reveals enrichment in regulation of leukocyte migration gene set, after 1 month of castration in LXR DKO mice. (E) Castration of LXR DKO mice induces a marked increase in infiltration of T4 lymphocytes, B cells, mononuclear phagocytes (MPs) and macrophages (MOs) in comparison to CW mice. CD45⁺ immune cells were defined as : CD4⁺ T4 lymphocytes, CD19⁺ B cells, CD11b⁺ Ly6C⁻ Ly6G⁻ F4/80⁺ SCC^{low} macrophages (MOs) and CD11b⁺ Ly6C⁻ Ly6G⁻ F4/80⁻ and CD11b⁻ CD11c⁻ F4/80⁺ others mononuclear phagocytes (MPs). (F and G) Immunohistological staining (F) and flow cytometry analysis (G) of F4/80⁺ macrophages representation in 1 month castrated or sham-operated CW and LXR DKO prostates. Groups are composed of at least four animals. Bars represent mean +/- SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 and ns: non-significant. Scale bars, 100 μ m, insets 20 μ m.

risk of biochemical recurrence (17)(18). However, the relationship between ADT-induced immune cells infiltration, prostate inflammation and cancer initiation has not been evaluated. More generally, this raises the question of an aberrant response of the immune microenvironment to ADT, in the context of metabolic alteration and its potential role as a paracrine stimulator of epithelial tumorigenesis and tumor recurrence.

In the present study, we investigated prostate response to androgen deprivation in a mouse model invalidated for LXRs. We demonstrate that castration induces chronic inflammation of LXRs-null prostates. This is associated with recruitment of macrophages defective for apoptotic cells clearance, which in turn allows production of inflammatory cytokines. Among them, we show that osteopontin (OPN) induces proliferation of epithelial cells in a paracrine manner. As a result, chronic inflammation observed in LXRs null prostates stimulates the proliferation rate of epithelial cells, which progressively form neoplastic precancerous lesions.

Results

Invalidation of nuclear receptors LXRs impairs regression of prostate in response to androgen deprivation

To evaluate how LXRs invalidation can affect response to androgen deprivation, we performed 1 month castration on LXRs-null mice in comparison with LXRs sufficient mice. Consistent with previously published data (19), we found no difference of whole prostate weight and macroscopic aspect between LXR-sufficient (noted as CW) and LXR-null groups (noted as LXR DKO), in the absence of metabolic stress (Fig. 1A, B). As expected, we observed a drastic reduction in whole prostate weight of CW mice in response to 1 month castration. Regression of the highly androgen-sensitive seminal vesicles further confirmed efficacy of castration (Fig. 1A, B and SI Appendix Fig. S1A). Interestingly though, LXR DKO prostates were 2 fold heavier than CW, following 1 month castration (Fig. 1A, B). This suggested hyposensitivity of LXR knockout mice to androgen deprivation. To identify the underpinnings of this hypo-response to castration, androgen receptor (AR) expression was analyzed by immunohistological detection. AR was expressed in epithelial cells as well as some stromal cells and presented the expected relocalization from nuclei to cytoplasm in the absence of androgens, independent of LXRs status (Fig. 1C). Likewise, *Ar* mRNA accumulation did not differ between LXR DKO and CW prostates in castrated or sham-operated conditions (Fig. 1D). Expression of direct AR target genes *Fkbp5*, *Mme* and *Pbsn* was strongly downregulated in response to castration both in CW or LXR DKO prostate. This suggested that aberrant response to castration in LXR DKO prostates was not associated with aberrant AR signaling. To further evaluate this hypothesis, we performed RNA sequencing analysis of the four different models and identified an androgen responsive

genes signature (ARG signature) as genes differentially expressed in response to androgen deprivation in CW prostates (SI Appendix Dataset S1). Interestingly, modulation of expression of the ARG signature was equivalent in CW and LXR DKO prostates in response to 1 month castration (Fig. 1E). Principal component analysis relying on the ARG signature confirmed that castrated mice clustered separately from sham-operated mice, independently of LXRs status (Fig. 1F). Therefore, we concluded that the milder regression in LXR DKO castrated mice occurred independently of the androgen signaling pathway.

Androgen deprivation induces immune cells infiltration mostly composed of F4/80⁺ macrophages

To further understand hypo-response to castration in LXR DKO mice, we performed hematoxylin eosin staining of tissue sections. Interestingly, we observed an increased number of mononuclear cells in the stromal compartment in response to castration, both in CW and LXR DKO (Fig. 2A). However, this was further increased in LXR DKO prostates and was accompanied by the presence of eosinophilic cells. This suggested immune cells infiltration. Consistent with this hypothesis, immunohistological detection of CD45 pan-leukocyte marker confirmed increased immune cells infiltration in response to castration in LXR DKO mice, compared with CW (Fig. 2B). Estimation of immune cells infiltration within the prostates was further refined by flow cytometry. In these analyses, CD45⁺ leukocytes represented more than 19% of live cells in LXR DKO castrated prostates (6 fold increase compared to sham-operated LXR DKO), whereas this proportion was reduced to 5% in CW castrated prostates (2,6 fold increase compared to sham-operated CW) (Fig. 2C). These data showed that LXR DKO mice presented a massive increase in immune cells infiltration in response to androgen deprivation, which was associated to hypo-response to castration compared to CW mice.

To gain insight into the relative contribution of LXR in prostate epithelium versus stroma, we developed a model of conditional LXR $\alpha\beta$ ablation within prostate epithelial cells (*Lxr $\alpha\beta$* ^{pe/-}). Interestingly, these mice presented no signs of excessive immune cells infiltration in response to 1 month of castration (SI Appendix Fig. S2A). Moreover, epithelial ablation of LXR did not induce obvious histological alterations or differential regression in response to castration (SI Appendix Fig. S2B and S2C). This demonstrated that the differential response to castration observed in LXR DKO prostates compared to CW prostates, was not the result of a cell-autonomous effect of LXR within epithelial cells, but rather involved LXR function in immune cells. To better characterize the immune infiltration in castrated LXR DKO prostates, we made use of RNA seq data. Gene Set Enrichment Analyses (GSEA) identified regulation of leukocyte migration as one of the most significantly deregulated gene sets in response to castration in LXR DKO prostates (Fig. 2D

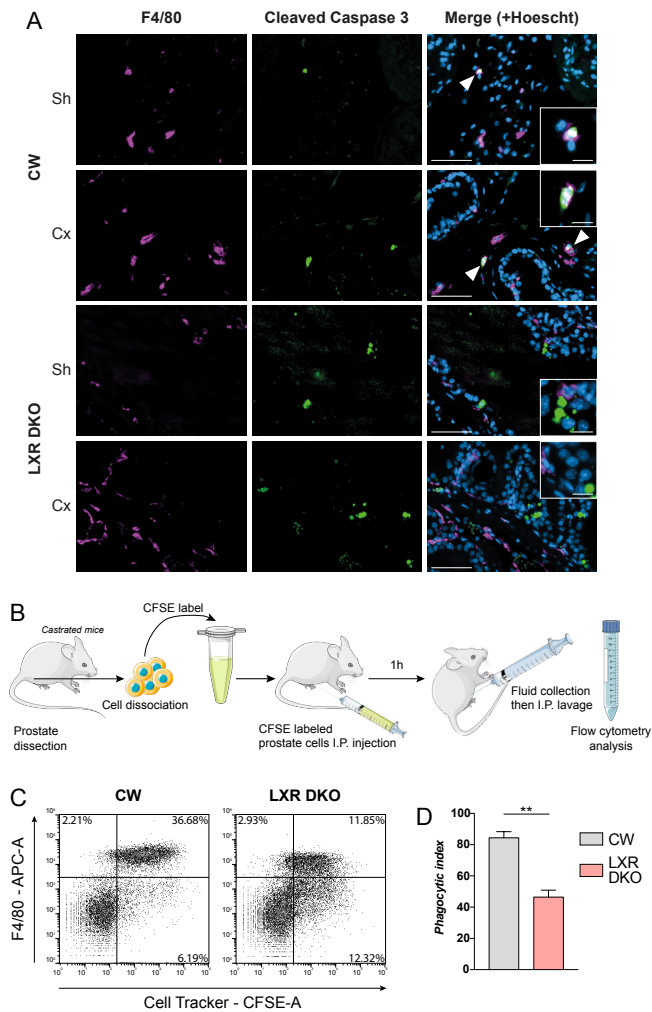


Figure 3 : LXR deficient mice present defective castration-induced apoptotic prostate cells clearance. (A) Immunohistological detection of macrophages marker F4/80⁺ and cleaved caspase 3-positive apoptotic cells in prostates of 1 week castrated mice or sham-operated mice indicates no colocalization of F4/80⁺ macrophages with cleaved caspase 3 positive apoptotic cells in LXR DKO mice in contrary to CW mice. (B) *In vivo* phagocytosis assay. CW or LXR DKO castrated for 4 days were culled and whole prostates was dissected. Prostate cells were then dissociated and labeled with CFSE to allow tracking of cells from donor mice. Labeled cells were injected in the abdominal cavity of receiver mice and incubated for 1 hour. Abdomens of receiver mice were washed and the collected fluid was analyzed by flow cytometry. (C and D) Flow cytometry analysis (C) of phagocytosed CFSE-labeled prostate cells by F4/80⁺ cells. Phagocytic index (D) shows a dramatic decrease of phagocytosis capacities of LXR DKO F4/80⁺ cells. Groups are composed of at least four animals. Bars represent mean +/- SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 and ns: non-significant. Scale bars, 50 μm, insets 10 μm.

and SI Appendix Fig. S3). To further characterize the immune infiltrate, we performed flow cytometry analyses on different immune populations. These showed that both lymphoid and myeloid cells were recruited in response to androgen deprivation, specifically in LXR-null mice (Fig. 2E). Indeed, we found an increase in CD4⁺ T4 cells, CD19⁺ B cells, and particularly in CD11b⁺ or F4/80⁺ mononuclear phagocytes and F4/80⁺/CD11b⁺ macrophages. This indicated that androgen deprivation had a prominent effect on phagocytes recruitment in the absence of LXRs. We further analyzed the localization of F4/80⁺ cells by immunohistochemistry. They were mostly present in the stromal compartment and fibromuscular layer surrounding acini even though some rare cells were found in epithelia (Fig. 2F, arrowheads). Flow cytometry analysis confirmed that F4/80⁺ cells were specifically deregulated in LXR DKO castrated prostates to represent up to 7 % of live cells within the tissue (Fig. 2G). Altogether, these data indicated that androgen deprivation in LXR DKO mice resulted in a massive immune cells infiltration mostly composed of F4/80⁺ macrophages.

Castration-induced apoptotic prostate cells are not effectively eliminated in LXR-null mice

Macrophages play an important role in clearance of apoptotic cells. As androgen deprivation induces apoptosis of androgen-sensitive prostate cells (20)(21), we then asked if LXR-deficient macrophages were able to eliminate these apoptotic cells. To evaluate the phagocytosis of apoptotic cells, we performed co-immunohistological detection of F4/80⁺ and cleaved caspase 3 as a marker of apoptosis. In CW mice, apoptotic prostatic cells colocalized with F4/80⁺ macrophages after 1 week of castration, as well as in sham-operated mice (Fig. 3A). This indicated that in basal condition, F4/80⁺ cells were efficient to clear apoptotic cells through phagocytosis. However, F4/80⁺ and cleaved caspase 3 double-positive cells were not observed in LXR DKO prostates after 1 week castration or sham operation (Fig. 3A). This suggested that LXR-deficient macrophages had impaired phagocytosis abilities. To evaluate this hypothesis, we performed an *in vivo* phagocytosis assay as described in Fig. 3B. Prostates from CW or LXR DKO mice were dissected and cells were dissociated before labeling with CFSE cell tracker. Labeled cells were i.p. injected in CW or LXR-DKO mice and incubated for 1 hour. Peritoneal fluid was then collected, and macrophages were immunodetected with an APC labeled F4/80 antibody, before flow cytometry analysis. Most of cell tracker labeled-prostate cells were phagocytized by F4/80⁺ cells in control wild-type mice whereas half of them were not in LXR DKO mice (Fig. 3C). This was reflected by the phagocytic index, which was dramatically decreased when LXRs were invalidated (Fig. 3D). Altogether, these data demonstrate that F4/80⁺ macrophages are responsible for clearance of castration-induced apoptotic prostate cells, a process that is impaired in LXR-deficient mice.

Phagocytosis-deficient macrophages infiltration is associated with chronic inflammation of LXR-null prostate

To further evaluate the impact of phagocytosis-deficient macrophages accumulation, we performed further GSEA analyses using “hallmarks” gene sets. This revealed significant positive enrichment of immunity-related gene sets as well as an expected significant negative enrichment of androgen response and protein secretion gene sets in LXR DKO prostates in response to 1 month castration compared to sham operation (Fig. 4A and SI Appendix Dataset S2). Interestingly, inflammatory response was one of the most positively enriched gene sets (Fig. 3B). Consistent with this, analysis of a curated inflammatory gene signature in RNA-sequencing data, showed a marked up-regulation which was restricted to LXR DKO castrated prostates (Fig. 4C). Increased expression of major inflammatory cytokines *Il1b*, *Il6* and *Tnf* was confirmed by RT-qPCR (Fig. 4D). This was further confirmed by multiplex assays, which showed increased production of inflammatory cytokines in response to 1 month castration in LXR DKO prostates (Fig. 4E). Altogether, these results demonstrated that impaired phagocytosis of apoptotic cells induced by androgen deprivation was associated with the development of chronic inflammation of the prostate.

Osteopontin inflammatory cytokine produced by LXR-deficient macrophages stimulates proliferation of epithelial prostatic cells

Given the central role of cytokine-mediated dialog between immune cells and adjacent epithelial cells to maintain tissue homeostasis, we characterized cytokine function in chronic inflammation observed in the context of androgen deprivation. GSEA analysis with GO terms showed a significant positive enrichment of cytokine activity in LXR DKO castrated compared to sham operated mice (Fig. 5A). Extraction of gene expression from our RNA sequencing data demonstrated that a set of cytokines coding genes present in the AmiGO cytokine activity gene set (GO:0005125) were specifically increased in 1 month castrated LXR DKO prostates (Fig. 5B and SI Appendix Dataset S3). Interestingly, SPP1, which encodes the Osteopontin (OPN) cytokine was the most deregulated (by Log Fold change) in LXR DKO compared to sham operated mice (Fig. 5C&D). Osteopontin deregulation was further confirmed by RT-qPCR analysis of *Spp1* gene expression (Fig. 5E) and western-blot analysis (Fig. 5F). Immunohistochemical detection of OPN revealed that this cytokine was mostly produced by stromal cells and some cells localized within the myofibrillar layer surrounding acini (Fig. 5G). To assess if stromal secretion of osteopontin could influence the epithelial compartment, we treated human benign epithelial prostatic P69 cells with increasing amounts of human recombinant osteopontin for 24 hours. Interestingly, osteopontin stimulated proliferation of non-tumor prostatic cells in a dose-dependent manner (Fig. 5H). This suggested that the

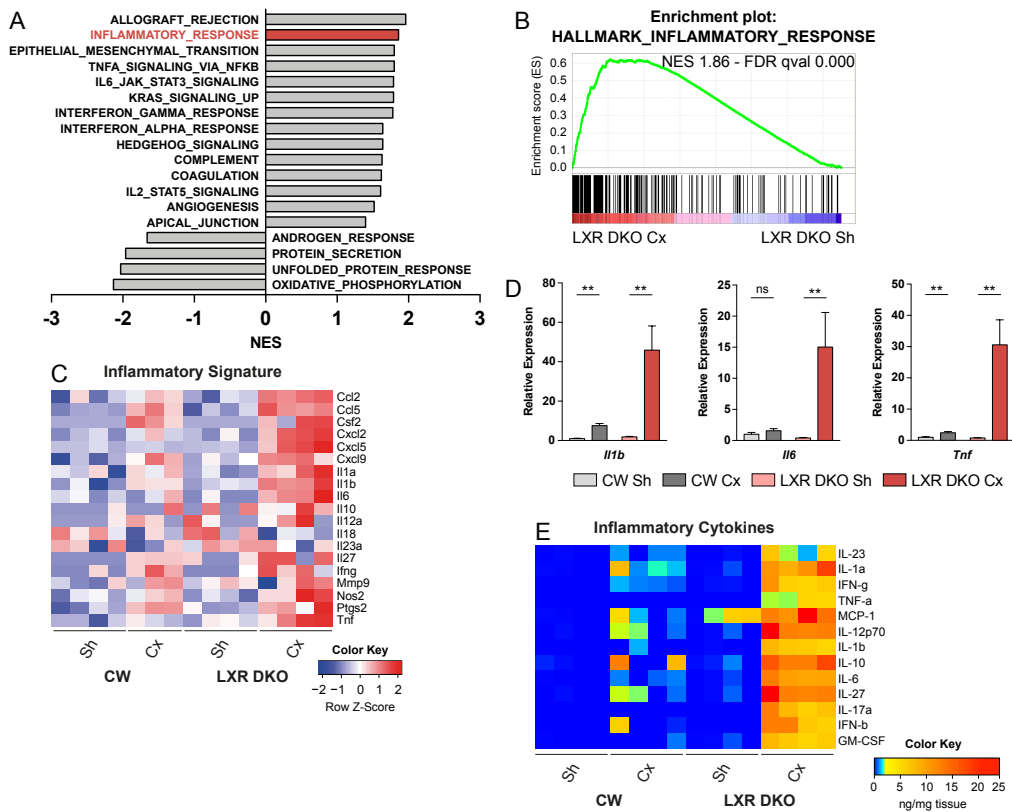


Figure 4 : Androgen deprivation promotes chronic inflammation in LXR-null prostates. (A and B) Hallmark gene sets enrichment scores (A) and enrichment plot of inflammatory gene set (B) by GSEA analysis of RNA-sequencing showing an inflammatory response following 1 month castration in LXR DKO. (C) RNA-sequencing analysis of pro-inflammatory genes expression (log2FC) confirms a proinflammatory environment in 1 month castrated LXR DKO mice. (D) Inflammatory *Il1b*, *Il6* and *Tnf* gene expression analysis by RT-qPCR. (E) Quantification of intra-prostatic inflammatory cytokines by multiplex beads-based immunoassay. Data are expressed in nanograms per micrograms of tissue. Groups are composed of at least four animals. Bars represent mean +/- SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 and ns: non-significant.

inflammatory cytokine osteopontin produced in the context of chronic inflammation, induced hyperproliferation of adjacent epithelial cells.

Androgen deprivation-induced chronic inflammation promotes hyperproliferation of epithelial cells and emergence of prostate neoplasia

To further evaluate a potential role of inflammatory cytokines in modulating proliferation of epithelial cells *in vivo*, we analyzed the expression of proliferation markers by RT-qPCR (Fig. 6A). This showed a dramatic increase in expression of *CyclinB2*, *CyclinE2* and *Ki67* following 1 month of castration in LXR DKO mice, whereas castration had little to no impact in CW prostates (Fig 6A). Immunohistochemical detection of Ki67 further confirmed a specific increase in proliferation rate in response to 1 month of castration in LXR DKO but not CW mice (Fig. 6B and C). Hyperproliferative cells were mostly epithelial cells as confirmed by colocalization of Ki67 proliferation with the epithelial cell marker CK8 (Fig. 6D). To determine if hyperproliferation of epithelial cells could initiate tumor development, we performed 3 and 6 months castrations in CW and LXR DKO mice. Although long-term castration had little to no impact in control wild-type mice, it resulted in the development of Ki67⁺ hyperproliferative, neoplastic lesions in LXR DKO mice (Fig. 6E). Altogether, these data showed that chronic inflammation resulting from aberrant accumulation of phagocytosis-deficient macrophages in LXR DKO prostates, could result in epithelial neoplasia.

Discussion

Cancer-related inflammation can contribute to both cancer initiation and progression. While chronic inflammation is a well-known risk factor for some cancers like colon, liver or lung, the causal relationship for prostate cancer is more debated. Here, we show that chronic inflammation can be the result of impaired apoptotic cells clearance by macrophages in response to androgen deprivation in mice deficient for LXRs, key sensors of cholesterol homeostasis. We further show that this state of chronic inflammation, through the cytokine osteopontin, can cause aberrant proliferation of prostate epithelial cells and eventually tumor initiation. This robust pro-inflammatory effect of castration, associated with blunted prostate regression, is mostly observed in mice deficient for LXRs. This suggests a strong interaction between deregulation of cholesterol metabolism and the effects of androgen deprivation, the mainstay of treatment, since the demonstration by Huggins et Hodges of the androgen-dependence of the prostate and the efficacy of castration to induce tumor regression (22).

This interaction could be the result of a more or less direct effect of LXRs ablation on AR stability and/or activity. However, our data show no difference in expression or localization of AR within the prostate of LXR DKO mice compared with control wild-type.

Moreover, validated AR target genes as well as androgen responsive genes (defined by our RNA sequencing analyses) respond in a similar manner to castration, independently of LXR status. In contrast, we demonstrate that castration in LXR DKO prostates is associated with robust recruitment of immune cells, in particular macrophages. Interestingly, some studies in patients highlighted that androgen deprivation not only induced regression of prostate gland but also caused profound alterations in immune microenvironment. Indeed, ADT induces prostate cancer infiltration by immune cells, predominantly characterized as CD3⁺ CD4⁺ and CD8⁺ T cells and CD68⁺ macrophages (16)(17)(18)(25). How these cells are recruited is unclear.

One hypothesis for increased T cell infiltration is that epithelial cells that undergo apoptosis following ADT (26)(27) could represent a source of antigens favoring antigen presenting cells (APC) recruitment and the subsequent activation of T cells, which would eventually result in clearance of apoptotic cells by macrophages (28)(29)(30). The release of antigens in response to androgen deprivation, could also be the result of some other forms of programmed cell death such as necroptosis, which is known to initiate an inflammatory response (31). Here, we demonstrate that LXR DKO mice present an impaired phagocytosis activity towards prostate apoptotic cells. This is consistent with data showing that LXRs are critical for apoptotic cell clearance and maintenance of immune tolerance following phagocytosis in a model of autoimmune glomerulonephritis (32). This effect is dependent on the LXR target gene *Mertk*, a tyrosine kinase receptor involved in the recognition of apoptotic cells through the expression of phosphatidyl serine-bound Gas6 opsonin, exposed at the outer cell membrane, *i.e.* a “eat-me” signal for phagocytes (33). Interestingly, analysis of our RNA sequencing data shows decreased expression of *Mertk* in LXR DKO 1 month castrated mice compared to CW mice, suggesting that this may also participate in decreased phagocytic activity in the prostate. Another study demonstrated that LXR-dependent RAR α transcriptional activity could enhance phagocytosis of apoptotic cells by macrophages via the expression of TGM2, a key factor for macrophage phagocytosis (34). Whether this mechanism also plays a role in the prostate remains to be determined.

Our data relying on RNA sequencing and cytokine arrays clearly demonstrate that LXR DKO prostates develop a state of chronic inflammation following castration. In a normal situation, efficient phagocytosis of dead cells is accompanied by a switch from a pro-inflammatory to a immunosuppressive environment associated with production of tolerogenic cytokines TGF β and IL-10 (reviewed in (35)). This process of resolution has been shown to be impaired in LXR DKO macrophages (32). In the case of LXR DKO prostates, deficient phagocytosis would result in maintenance of a

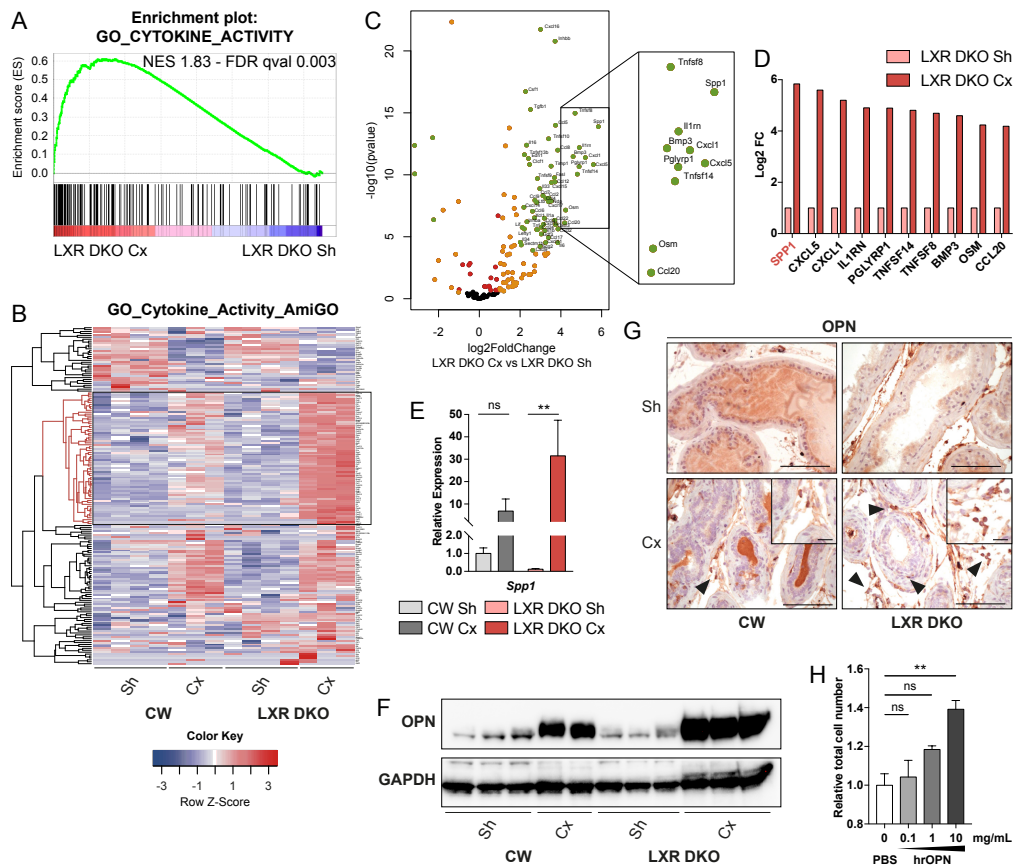


Figure 5 : Inflammatory cytokine osteopontin is upregulated in LXR-null prostate in response to androgen deprivation. (A) Gene ontology analysis of RNA-sequencing reveals enrichment in genes annotated by the cytokine activity GO term GO:0005125 from MSigDB after 1 month of castration in LXR DKO mice in comparison to sham-operated mice. (B) RNA sequencing analysis of cytokine activity coding genes annotated by the GO term GO:0005125 according to AmiGO 2 annotation. (C) Volcano plot of cytokine activity coding genes shows differential gene expression in 1 month castrated LXR DKO compared with sham operated LXR DKO mice. Most of the genes are statistically deregulated ($p_{adj} < 0.05$ - red), with a $abs(logFC) > 1$ (orange). Among them, a large number of genes are strongly upregulated ($abs(logFC) > 2$, $p_{adj} < 0.001$ - green). (D) Top 10 list of the most upregulated genes in the 1 month castrated vs sham operated LXR DKO mice. (E) RT-qPCR analysis of the most deregulated gene osteopontin coding gene *Spp1*, in response to 1 month castration in LXR DKO prostates. (F and G) Western blot analysis (F) and immunohistochemical detection (G) of osteopontin (OPN). OPN protein is expressed at high levels in prostate stroma and low levels in epithelial cells of LXR DKO mice, in response to 1 month castration. Groups are composed of at least four animals. Bars represent mean \pm SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. Scale bars, 100 μ m, insets 20 μ m. (H) P69 benign epithelial prostate cells were treated by increasing doses of human recombinant osteopontin (hrOPN) for 24 hours. A proliferative effect was observed under stimulation by 10 mg/mL hrOPN. Bars represent mean of triplicates \pm SEM. Statistical analyses were performed via Kruskal-Wallis' test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ and ns: non-significant.

pro-inflammatory status, associated with increased recruitment of immune cells (in particular phagocytes) to try to overcome deficient clearance of apoptotic cells. The phenomenon would then self-amplify through secretion of further pro-inflammatory cytokines by newly recruited cells. Interestingly, data from the literature demonstrate that LXR also exert a direct role as endogenous inhibitors of inflammatory response in macrophages. Indeed, LXR activation both *in vitro* and *in vivo* has been shown to downregulate the production of proinflammatory cytokines such as IL-1 β , IL-6 and TNF α in macrophages under LPS or bacterial stimulation and in models of contact dermatitis, atherosclerosis, lung inflammation and neuroinflammation (11)(12)(14)(15)(36)(37). LXRs have also been shown to inhibit osteopontin expression in macrophages (38)(39). Consistent with these observations in other tissues, our data show a massive increase in accumulation of IL-1 β , IL-6, TNF α and osteopontin in LXR DKO prostates. However, in this case, pro-inflammatory cytokines accumulation is triggered by castration rather than classical inflammatory stimuli. Chronic inflammation resulting from bacterial or viral infections (3) has been proposed to play a role in prostate cancer development, although a causal link has not been established (7). Interestingly, our data show that sterile chronic inflammation in LXR DKO prostates following castration, induces a massive accumulation of the cytokine osteopontin and development of prostate neoplasia. In line with the literature (40) (41), we further show that osteopontin is able to stimulate proliferation of normal prostate cells in culture. Interestingly, osteopontin has been associated with proliferation and progression of prostate cancer in a mouse model in which its expression gradually increased from early neoplasia to aggressive cancer stages (42). In patients, osteopontin is expressed by cancer cells as well as macrophages. Its expression increases together with Gleason score and could be associated with poor response to therapy (43)(44)(45)(46). Taken together, these observations and our data strongly suggest that osteopontin could be one of the key mediators of the pro-neoplastic effect of castration in LXR DKO prostates.

Prostate cancer incidence is higher in western countries, and this has been suggested to result from higher incidence of metabolic syndrome and obesity. However, despite an abundant literature on meta-analyses there is still no clear correlation between metabolic syndrome and prostate cancer in patients (7)(8)(9)(10). Data obtained from studies on mouse models demonstrate that a high fat diet induces a systemic low burden inflammation concomitant with activation of NF- κ B pathway and production of COX2 et iNOS inflammatory factors. This results in a STAT3/NF- κ B-dependent inflammation of the prostate gland (5)(47). Interestingly, another study shows that inflammation of the prostate, induced in mice fed a high fat diet, is associated with the development of

neoplastic lesions (48). Moreover, high fat diet-induced inflammatory cytokines secretion by prostatic macrophages, has been associated with prostate cancer progression (49)(50). Our data relying on gene ablation of key regulators of lipid metabolism, have previously demonstrated that a high cholesterol diet was sufficient to induce development of neoplasia in LXR DKO prostates, showing that alterations of cholesterol metabolism within the prostate can initiate prostate precancerous lesions (19). Here, we show that castration, as a model of androgen deprivation therapy (ADT), recapitulates both development of chronic inflammation of the prostate and the initiation of neoplasia in the absence of LXR. This shows that androgen deprivation exacerbates prostate inflammation induced by metabolic disorders, either as a consequence of a lipid-rich diet or cholesterol homeostasis deregulation (following LXR ablation) and suggests that this phenomenon could be relevant for prostate cancer patients with metabolic syndrome condition. Consistent with this, the response rate to ADT is affected in obese prostate cancer patients (51). Furthermore, patients with metabolic syndrome present a shorter time to biochemical progression and thus develop lethal castration-resistant pathology earlier than patients without metabolic syndrome (52). As a consequence, mCRPC patients with metabolic syndrome present a shorter progression-free survival than patients without metabolic syndrome (53). However, whether this relies on chronic prostate inflammation following ADT in this disturbed metabolic context remains to be determined. Interestingly, there is abundant literature showing that ADT itself increases the risk to develop a metabolic syndrome (54)(55)(56). Together with our data, this suggests that a self-sustaining loop between metabolic syndrome and ADT may be responsive for inflammation-mediated tumor recurrence.

Altogether, our results demonstrated that impaired macrophages response to androgen deprivation, promotes chronic inflammation and further development of neoplastic lesions in the prostate of mice deficient for LXR, key transcriptional regulators of cholesterol homeostasis. This raises the question of ADT triggered inflammation in patients, in particular in a context of cholesterol homeostasis deregulation.

Materials and Methods

Animals

All experiments were approved by Auvergne Ethics committee (CEMEAA). *Nr1h3*^{-/-}:*Nr1h2*^{-/-} referred to as LXR DKO mice as well as *Nr1h3*^{loxp/loxp}:*Nr1h2*^{loxp/loxp} referred to as *Lxra* β *pe*^{-/-} were obtained from Dr. David Mangeldorf's Lab (Department of Pharmacology and Biochemistry, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, TX). Control Wild-type (CW) are LXR sufficient (*Nr1h3*^{+/+}:*Nr1h2*^{+/+}) mice. All mice were maintained on a mixed background mostly composed of C57BL/6J and 129. All mice were castrated or sham

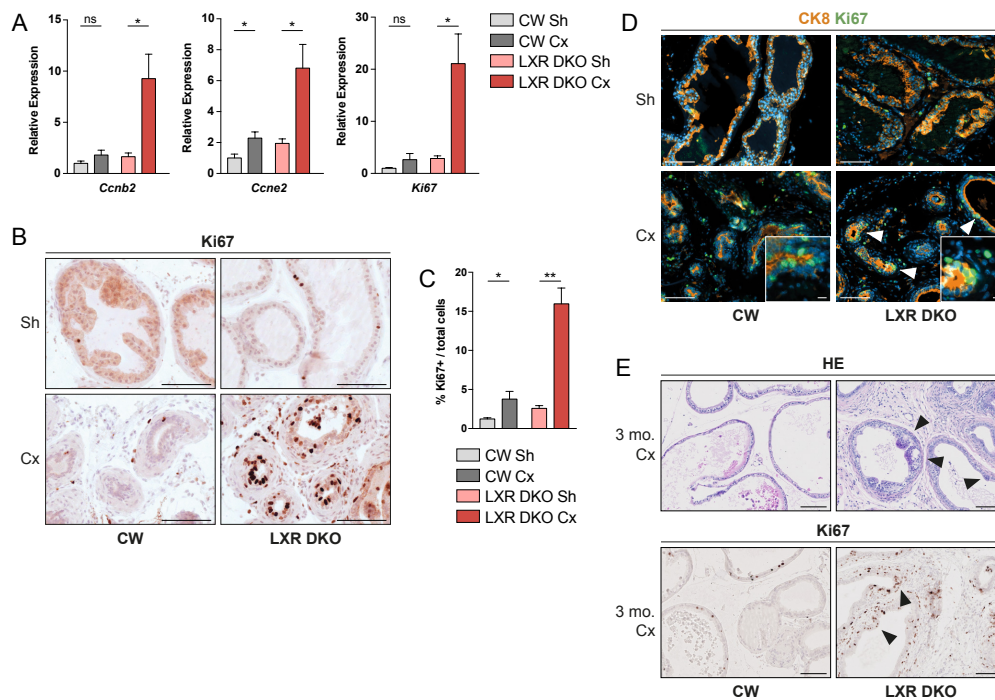


Figure 6 : Castration-induced chronic inflammation promotes prostate neoplasia development in LXR-null mice. (A) RT-qPCR analysis of cyclins genes *Ccnb2* and *Ccne2* and *Ki67* proliferation marker gene. (B and C) Immunohistochemical detection of Ki67 proliferation marker (B) and proliferation index of prostate in sham-operated or 1 month castrated mice (C). LXR DKO prostates are strongly proliferative in response to 1 month of castration. (D) Proliferation marker Ki67 colocalization with epithelial cells marker CK8 demonstrates high proliferation capacities of 1 month castrated LXR DKO prostate. (E) After 3 months of castration, highly proliferative lesions seen in response of 1 month of castration in LXR-null prostates progress to neoplastic PIN lesions as demonstrated by hematoxylin and eosin staining and Ki67 immunohistochemical detection. Groups are composed of at least four animals. Bars represent mean +/- SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ and ns: non-significant. Scale bars, 100 μm , insets 10 μm .

operated at 4 months of age for 1 week, 1 month, 3 months or 6 months and culled by cervical dislocation. Prostates were either frozen in liquid nitrogen or fixed in 4% paraformaldehyde. Total mRNAs were extracted using RNeasy nucleotide extraction kit (Macherey Nagel) according to manufacturer's instructions. Mice used for phagocytosis assays were euthanized at 2 months of age by CO₂ inhalation.

RNA sequencing analysis

RNA-seq libraries were prepared using the Directional mRNA-Seq Sample Prep with polyA selection (Illumina) following the manufacturer's protocol. Single-end sequencing Illumina HiSeq 4000 was performed by the GenomEast platform (ANR-10-INBS-0009) (GEO accession number GSE134137). The quality of reads was checked using FASTQC (v0.11.8). Filtered out reads correspond to reads with length lower than 40 bases after adapter and low bases quality removal. Reads were mapped onto the mm10 version of the *Mus musculus* genome using STAR version 2.5.3a. Normalized coverage was obtained by geneBodyCoverage tool from RSeQC version 2.6.4. Quantification of gene expression was performed using HTSeq version 0.6.1p1 with annotations coming from Ensembl version 90. Differential gene expression analysis was performed with DESeq2 package (v1.24.0). Comparisons of interest were performed using the statistical method proposed by Anders and Huber (Anders et Huber, 2010). P-values were computed using the Wald test and adjusted for multiple testing using the Benjamini and Hochberg method (Benjamini and Hochberg, 1995). A gene identified as differentially expressed has an adjusted p-value lower than 0.05 and an absolute log₂ Fold Change (log₂FC) value greater than 1.00. All RNA sequencing analyses were performed by R studio (v1.0.136).

Gene set enrichment analyses

Gene set enrichment analysis were conducted using GSEA 3.0 (Subramanian A, et al. 2005) with MSigDB gene sets. GSEA was run in preranked mode using 1000 permutations. Genes lists were ranked on the basis of log₂ FC between the different experimental conditions.

RT-qPCR

300 nanograms of total mRNAs from prostate tissues were reverse transcribed for 1 hour at 37°C with 5 pmoles of random hexamer primers, 200 units reverse transcriptase (MMLV RT, M1701, Promega), 2 mM dNTPs and 20 units RNAsin (N2615, Promega). Two microliter of a one tenth dilution of cDNA was used in each quantitative PCR. PCR reactions were conducted with SYBR qPCR Premix Ex Taq II Tli RNase H⁺ (TAKRR820W, Takara). Primer pairs are listed in SI Appendix Table S1. For each experiment and primer pairs, efficiency of PCR reactions was evaluated by amplification of serial dilutions of a mix of cDNAs. Relative gene expression was obtained by the $\Delta\Delta C_t$ method with normalization to expression of *36b4* housekeeping gene.

Histological analysis

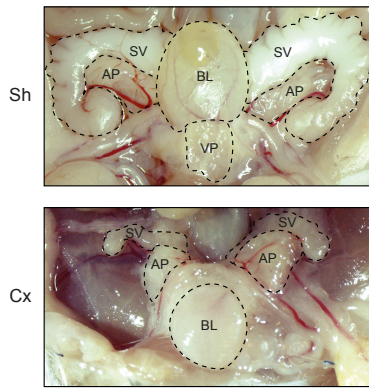
Paraffin embedded tissue sections were sectioned for hematoxylin and eosin staining. Alternatively, immunohistochemistry was performed on paraffin embedded tissues after antigen retrieval if necessary, by boiling for 20 min in sodium citrate 10 mM, Tween 0.05% pH 6 ; Tris 10mM, EDTA 1mM, pH 9.0; or Vector Unmasking Solution (H3300, Vector Laboratories), depending on the primary antibody. After 2.5% normal horse serum blocking for 1h, slides were incubated overnight at room temperature, with primary antibodies at the indicated concentrations (SI Appendix Table S2). Primary antibodies were detected with appropriate polymers (ImmPress Polymer Detection Kit, Vector Laboratories). Polymer-coupled HRP activity was then detected with either Vectastain ABC (PKD4000, Vector Laboratories) for brightfield images or Tyramide SuperBoost™ Kits with Alexa Fluor™ Tyramide for fluorescence (Invitrogen). Nuclei were counterstained with hematoxylin or Hoechst (Invitrogen). Images were acquired with a Zeiss Axioplan 2, Zeiss Axiomager with Apotome2 or Zeiss Axioscan Z1 slide scanner (Zeiss). They were minimally processed for global levels and white balance using Zeiss Zen® (Zeiss). Image settings and processing were identical across genotypes.

Western blot analysis

Proteins were extracted from tissues and cells using a high salt buffer solution with Hepes 25 mM, EDTA 0.2 M pH 8, MgCl₂ 1.5 mM, NaCl 0.4 M, Nonidet-P40 1% supplemented with NaF 1 mM, Na₃VO₄ 1 mM, phenylmethylsulfonyl fluoride 1 mM, and cOmplete™ protease inhibitor cocktail (Roche). 40 ug of total proteins were loaded on 4-12 % Invitrogen NuPAGE Bis-Tris protein precast polyacrylamide gels and transferred onto Trans-Blot® Turbo™ Mini PVDF membranes. Membranes were incubated overnight at 4 °C with primary antibodies either with 5 % non-fat dry milk or BSA. Primary antibody detection was performed using peroxidase-conjugated anti-rabbit or anti-mouse antibodies (Abliance) and Clarity™ or Clarity Max™ Western ECL Blotting Substrates (Bio-Rad). Antibodies used for western blots are listed in SI Appendix Table S3.

Cytokines quantification by multiplex assay

Prostates were lysed in TER buffer, pH 7.4 (Tris 50 mM, EDTA 5 mM, NaCl 250 mM) supplemented with NaF 1 mM, Na₃VO₄ 2 mM, phenylmethylsulfonyl fluoride 1 mM, and cOmplete™ protease inhibitor cocktail (Roche). Cytokines quantification from prostate lysates was then performed using LEGENDplex™ Mouse Inflammation Panel (13-plex) bead-based immunoassay (BioLegend® Ref. 140150) according to manufacturer's instructions. Data were acquired on an LSRII flow cytometer (BD Biosciences) and analyzed using LEGENDplex™ data analysis software v8.0.



SI Appendix Figure S1. Representative macroscopic observation of sham (Sh) operated and 1 month castrated (Cx) mice shows a drastic regression of seminal vesicles (SV). BL : bladder ; AP : anterior prostate ; VP : ventral prostate.

Flow cytometry

Single-cell suspensions of whole prostates were obtained from mice, after digestion in HBSS medium (Invitrogen) containing 1.25 mM CaCl₂, 0.4 mM MgSO₄, 1 mg/mL DNase I (Roche) and 1 mg/mL type II collagenase (Sigma-Aldrich) for 15 min at 37°C under gentle shaking. Digested tissues were washed with PBS supplemented with 2.5 mM EDTA, 0.1 mg/mL DNase I and 0.5% BSA, and filtered through 50 µm filters (BD™ Mediatech).

Viability was assessed using the LIVE/DEAD™ Fixable Near-IR Dead Cell Stain Kit (Invitrogen) according to the manufacturer's instructions. Cells were then washed and incubated in a blocking buffer (PBS, 2.5 mM EDTA, 0.5% BSA, 5 µg/mL anti-CD16/32 (Biolegend)) for 10 min at 4°C. Cells were incubated for 20 min at 4 °C with combinations of conjugated anti-mouse antibodies or corresponding isotypes (SI Appendix Table S4). Finally, cells were washed and kept at 4 °C until processing. Data were acquired on an LSRII flow cytometer (BD Biosciences) and analyzed using the FACSDiva™ Software (v6.1.3, BD Biosciences). Cells were first selected based on their size (FSC) and granularity (SSC) characteristics. Doublets were excluded from the analysis thanks to the FSC/SSC criteria. Finally, live cells were gated based on their negative staining for the viability marker before they were selected for the various markers tested. The percentages presented for each cell population are reported as positivity minus the corresponding isotype control.

In vivo phagocytosis assay

In vivo phagocytosis assays were carried out as described (Gonzalez et al., 2009). Briefly, cell suspensions from whole prostates of 4 days castrated CW or LXR DKO donor mice were labeled with CFSE Cell Tracker (Biolegend) according to the manufacturer's recommendations. 1 x 10⁶ labeled prostate cells from donor mice were injected i.p. into 2 months CW or LXR DKO receiver mice. Mice were sacrificed after 1 hour, and the peritoneal cavity was flushed with 5 mL cold HBSS (Invitrogen). A single-cell suspension of peritoneal flush was stained with APC-coupled anti-F4/80 (Biolegend Ref. 123116) to identify macrophages. Cells were analyzed on an Attune NxT Flow Cytometer with Attune NxT software v2.6 (Invitrogen). Phagocytic index was determined as double positive CFSE F4/80⁺ expressed in % CFSE labelled cells.

Cell Culture

The P69 human prostate cell line was obtained through Dr. Frédéric Bost's lab (C3M, Inserm U1065, France). P69 (passage 16 to 18) cells were cultured in 10% FBS RPMI medium (Invitrogen). Cells were treated with recombinant human osteopontin protein (R&D systems, 1433-OP-050/CF) at concentrations of 0.1, 1 or 10 mg/mL or PBS as negative control for 24 hours. After trypsinization, cell suspension count was performed on an automated LUNA cell counter (Logos Biosystems).

Statistical analysis

Data are expressed as mean ± SEM. Statistical analysis were performed with Mann-Whitney test except for proliferation assay of P69 cell line, which was performed with Kruskal-Wallis test. Values of p<0.05 were considered significant. Statistical analysis were performed with GraphPad Prism® Software v7.0a.

Data availability

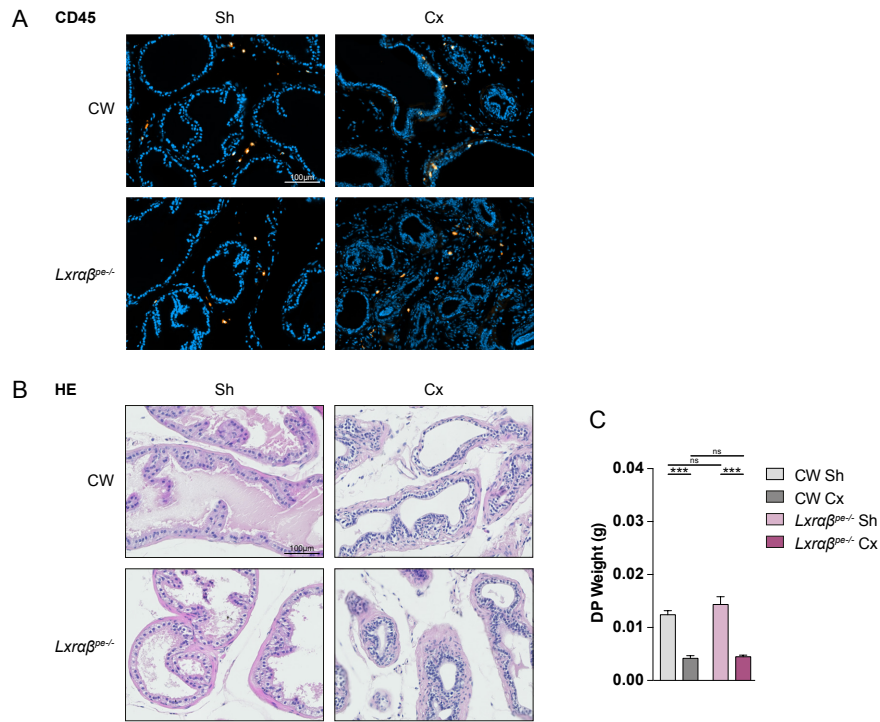
RNA sequencing data are available through the NCBI Gene Expression Omnibus database with accession number GSE134137.

Acknowledgments

RNA-Sequencing was performed by the IGBMC Microarray and Sequencing platform, a member of the 'France Génomique' consortium (ANR-10-INBS-0009). The authors thank Sandrine Plantade, Philippe Mazuel and Khirredine Ouchen for mouse care, Christelle Blavignac (Centre Imagerie Cellulaire Santé, CICS, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand) for technical support for flow cytometry analyses, Christelle Soubeyrand-Damon and Anipath (GReD, Clermont-Ferrand) staff for histological analyses, Jean-Paul Saru for western-blot analyses, Angélique De Haze for mouse genotyping, Jean-Christophe Pointud for mouse castration surgery, Yoan Renaud for NGS analysis. We thank Pierre Val for his helpful scientific discussions and his thoughtful editing of this manuscript. Human epithelial prostate P69 cell line was a kind of Frédéric Bost (C3M, Unice, Nice). This work was supported by institutional support from Centre National de la Recherche Scientifique, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Université Clermont Auvergne, and by grants from ERFD and AURA region (CPER/FEDER DEFI EPICURE AV001826/AV0010859), ARTP (Association de Recherche sur les Tumeurs Prostatiques), EDC-CaP Plan Cancer 2014-2019 INCa (Institut National du cancer) and CAP/TransCAP project INCa, CLARA (Canceropole Lyon Auvergne Rhône Alpes), AURA region. L.B. was funded by ERFD and AURA region (CPER/FEDER DEFI EPICURE AV0010836).

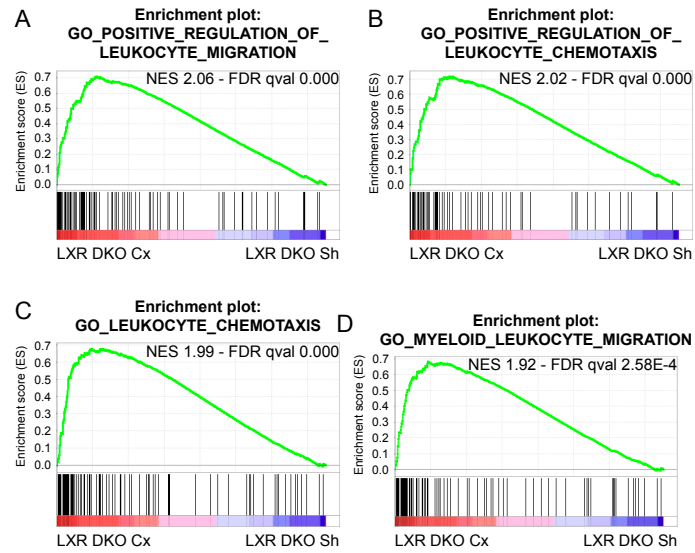
References

1. Ellem SJ, Wang H, Poutanen M, Risbridger GP (2009) Increased endogenous estrogen synthesis leads to the sequential induction of prostatic inflammation (prostatitis) and prostatic pre-malignancy. *Am J Pathol* 175(3):1187–1199.
2. Birbach A, et al. (2011) Persistent inflammation leads to proliferative neoplasia and loss of smooth muscle cells in a prostate tumor model. *Neoplasia* 13(8):692–703.
3. De Marzo AM, et al. (2007) Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nat Rev Cancer* 7(4):256–269.
4. Hotamisligil GS (2017) Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature* 542(7640):177–185.
5. Vykhovanets EV, Shankar E, Vykhovanets



SI Appendix Figure S2. (A) Immunohistological staining of pan-leukocytes marker CD45 shows no increased immune cells infiltration in response to 1 month castration of *Lxraβ^{pe/-}* in comparison with CW mice. Epithelial ablation of LXR did not induce obvious histological alterations after staining (B) or differential regression of dorsal lobes in response to castration (C). Groups are composed of at least six animals. Bars represent mean \pm SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ and ns: non-significant. Scale bars, 100 μ m.

- OV, Shukla S, Gupta S (2011) High-fat diet increases NF- κ B signaling in the prostate of reporter mice. *The Prostate* 71(2):147–156.
6. Steiner GE, et al. (2003) Cytokine expression pattern in benign prostatic hyperplasia infiltrating T cells and impact of lymphocytic infiltration on cytokine mRNA profile in prostatic tissue. *Lab Invest* 83(8):1131–1146.
7. De Nunzio C, Aronson W, Freedland SJ, Giovannucci E, Parsons JK (2012) The correlation between metabolic syndrome and prostatic diseases. *Eur Urol* 61(3):560–570.
8. Gacci M, et al. (2017) Meta-analysis of metabolic syndrome and prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 20(2):146–155.
9. Conteduca V, et al. (2018) Association among metabolic syndrome, inflammation, and survival in prostate cancer. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* 36(5):240.e1–240.e11.
10. De Nunzio C, et al. (2016) Metabolic syndrome is associated with advanced prostate cancer in patients treated with radical retropubic prostatectomy: results from a multicentre prospective study. *BMC Cancer* 16(1):407.
11. Joseph SB, Castrillo A, Laffitte BA, Mangelsdorf DJ, Tontonoz P (2003) Reciprocal regulation of inflammation and lipid metabolism by liver X receptors. *Nat Med* 9(2):213–219.
12. Tangirala RK, et al. (2002) Identification of macrophage liver X receptors as inhibitors of atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 99(18):11896–11901.
13. Ito A, et al. (2015) LXRs link metabolism to inflammation through Abca1-dependent regulation of membrane composition and TLR signaling. *Elife* 4:e08009.
14. Birrell MA, et al. (2007) Novel role for the liver X nuclear receptor in the suppression of lung inflammatory responses. *J Biol Chem* 282(44):31882–31890.
15. Myhre AE, et al. (2008) Liver X receptor is a key regulator of cytokine release in human monocytes. *Shock* 29(4):468–474.
16. Mercader M, et al. (2001) T cell infiltration of the prostate induced by androgen withdrawal in patients with prostate cancer. *PNAS* 98(25):14565–14570.
17. Gannon PO, et al. (2009) Characterization of the intra-prostatic immune cell infiltration in androgen-deprived prostate cancer patients. *J Immunol Methods* 348(1–2):9–17.
18. Nonomura N, et al. (2011) Infiltration of tumour-associated macrophages in prostate biopsy specimens is predictive of disease progression after hormonal therapy for prostate cancer. *BJU International* 107(12):1918–1922.
19. Pommier AJC, et al. (2013) Liver X Receptors Protect from Development of Prostatic Intra-Epithelial Neoplasia in Mice. *PLoS Genetics* 9(5):e1003483.
20. Feng Z, et al. (1998) Apoptosis during castration-induced regression of the prostate is Fos dependent. *Oncogene* 17(20):2593–2600.
21. Hayward SW, Cunha GR (2000) THE PROSTATE: DEVELOPMENT AND PHYSIOLOGY. *Radiologic Clinics of North America* 38(1):1–14.
22. Huggins C, Hodges CV (1941) Studies on Prostatic Cancer. I. The Effect of Castration, of Estrogen and of Androgen Injection on Serum Phosphatases in Metastatic Carcinoma of the Prostate. *Cancer Res* 1(4):293–297.
23. Hoon Lee J, et al. (2008) Androgen Deprivation by Activating the Liver X Receptor. *Endocrinology* 149(8):3778–3788.
24. Viennois E, et al. (2012) Lxra regulates the androgen response in prostate epithelium. *Endocrinology* 153(7):3211–3223.
25. Sorrentino C, Musiani P, Pompa P, Cipollone G, Carlo ED (2011) Androgen Deprivation Boosts Prostatic Infiltration of Cytotoxic and Regulatory T Lymphocytes and Has No Effect on Disease-Free Survival in Prostate Cancer Patients. *Clin Cancer Res* 17(6):1571–1581.
26. Kerr JFR, Searle J (1973) Deletion of cells by apoptosis during castration-induced involution of the rat prostate. *Virchows Arch Abt B Zellpath* 13(1):87.
27. Evans GS, Chandler JA (1987) Cell proliferation studies in the rat prostate: II. The effects of castration and androgen-induced regeneration upon basal and secretory cell proliferation. *The Prostate* 11(4):339–351.
28. Arandjelovic S, Ravichandran KS (2015) Phagocytosis of apoptotic cells in homeostasis. *Nat Immunol* 16(9):907–917.
29. Gordon S, Plüddemann A (2018) Macrophage Clearance of Apoptotic Cells: A Critical Assessment. *Front Immunol* 9. doi:10.3389/fimmu.2018.00127.
30. Silva JAF, et al. (2018) Macrophage roles in the clearance of apoptotic cells and control of inflammation in the prostate gland after castration. *Prostate* 78(2):95–103.
31. Meng M-B, et al. (2016) Necroptosis in tumorigenesis, activation of anti-tumor immunity, and cancer therapy. *Oncotarget* 7(35):57391–57413.
32. A-Gonzalez N, et al. (2009) Apoptotic Cells Promote Their Own Clearance and Immune Tolerance through Activation of the Nuclear Receptor LXR. *Immunity* 31(2):245–258.
33. Scott RS, et al. (2001) Phagocytosis and clearance of apoptotic cells is mediated by MER. *Nature* 411(6834):207–211.
34. Rébé Cédric, et al. (2009) Induction of Transglutaminase 2 by a Liver X Receptor/Retinoic Acid Receptor α Pathway Increases the Clearance of Apoptotic Cells by Human Macrophages. *Circulation Research* 105(4):393–401.
35. Elliott MR, Koster KM, Murphy PS (2017) Efferocytosis signaling in the regulation of macrophage inflammatory responses. *J Immunol* 198(4):1387–1394.
36. Endo-Umeda K, et al. (2018) Liver X receptors regulate hepatic F4/80 + CD11b+ Kupffer



SI Appendix Figure S3. Gene ontology from the biological process sub-collection analysis of RNA-sequencing, reveals that the four first enriched gene sets are related to leukocytes migration and chemotaxis after 1 month of castration in LXR DKO compared to sham operated LXR DKO mice.

- cells/macrophages and innate immune responses in mice. *Sci Rep* 8(1):9281.
37. Pascual-García M, et al. (2013) Reciprocal negative cross-talk between liver X receptors (LXRs) and STAT1: effects on IFN- γ -induced inflammatory responses and LXR-dependent gene expression. *J Immunol* 190(12):6520–6532.
38. Ogawa D, et al. (2005) Liver X Receptor Agonists Inhibit Cytokine-Induced Osteopontin Expression in Macrophages Through Interference With Activator Protein-1 Signaling Pathways. *Circ Res* 96(7):e59–e67.
39. Tachibana H, et al. (2012) Activation of Liver X Receptor Inhibits Osteopontin and Ameliorates Diabetic Nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 23(11):1835–1846.
40. Angelucci A, et al. (2004) Osteopontin enhances the cell proliferation induced by the epidermal growth factor in human prostate cancer cells. *Prostate* 59(2):157–166.
41. Dang T, Liou G-Y (2018) Macrophage Cytokines Enhance Cell Proliferation of Normal Prostate Epithelial Cells through Activation of ERK and Akt. *Scientific Reports* 8(1):7718.
42. Khodavirdi AC, et al. (2006) Increased Expression of Osteopontin Contributes to the Progression of Prostate Cancer. *Cancer Res* 66(2):883–888.
43. Caruso DJ, et al. (2008) Osteopontin and Interleukin-8 Expression is Independently Associated with Prostate Cancer Recurrence. *Clin Cancer Res* 14(13):4111–4118.
44. Tozawa K, et al. (1999) Osteopontin expression in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *Urol Int* 62(3):155–158.
45. Thoms JW, et al. (2012) Plasma osteopontin as a biomarker of prostate cancer aggression: relationship to risk category and treatment response. *Br J Cancer* 107(5):840–846.
46. Forootan SS, et al. (2006) Prognostic significance of osteopontin expression in human prostate cancer. *International Journal of Cancer* 118(9):2255–2261.
47. Shankar E, et al. (2012) High-fat diet activates pro-inflammatory response in the prostate through association of Stat-3 and NF- κ B. *Prostate* 72(3):233–243.
48. Kwon O-J, Zhang B, Zhang L, Xin L (2016) High fat diet promotes prostatic basal-to-luminal differentiation and accelerates initiation of prostate epithelial hyperplasia originated from basal cells. *Stem Cell Res* 16(3):682–691.
49. Hu M-B, et al. (2018) High-fat diet-induced adipokine and cytokine alterations promote the progression of prostate cancer in vivo and in vitro. *Oncol Lett* 15(2):1607–1615.
50. Hayashi T, et al. (2018) High-fat Diet-induced Inflammation Accelerates Prostate Cancer Growth via IL6 Signaling. *Clin Cancer Res*. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-0106.
51. Smith MR (2007) Obesity and sex steroids during gonadotropin-releasing hormone agonist treatment for prostate cancer. *Clin Cancer Res* 13(1):241–245.
52. Flanagan J, et al. (2011) Presence of the metabolic syndrome is associated with shorter time to castration-resistant prostate cancer. *Ann Oncol* 22(4):801–807.
53. Conteduca V, et al. (2015) Metabolic syndrome in castration-resistant prostate cancer patients treated with abiraterone. *Prostate* 75(12):1329–1338.
54. Braga-Basaria M, et al. (2006) Metabolic Syndrome in Men With Prostate Cancer Undergoing Long-Term Androgen-Deprivation Therapy. *JCO* 24(24):3979–3983.
55. Saylor PJ, Smith MR (2009) Metabolic Complications of Androgen Deprivation Therapy for Prostate Cancer. *The Journal of Urology* 181(5):1998–2008.
56. Nguyen PL, et al. (2015) Adverse Effects of Androgen Deprivation Therapy and Strategies to Mitigate Them. *European Urology* 67(5):825–836.

C. Conclusion

Le but de cette étude était de déterminer le rôle des récepteurs nucléaires LXR dans la réponse à la castration de la prostate. L'analyse du phénotype des souris déficientes pour les LXR a montré que 1) l'absence des LXR ne perturbe pas l'expression des gènes androgéno-régulés en réponse à la castration, mais 2) qu'elle induit le recrutement massif de cellules immunitaires, notamment de cellules F4/80⁺. 3) *In vivo*, les cellules F4/80⁺ déficientes pour les LXR présentent un défaut de phagocytose des cellules apoptotiques induites par la castration, ce qui permettrait 4) l'installation d'une inflammation chronique de la prostate. Au final, 5) le relargage de cytokines inflammatoires, dont l'ostéopontine, favoriserait la prolifération des cellules épithéliales prostatiques adjacentes, et 6) le développement de néoplasies plus tardivement. Ainsi l'inactivation des LXR perturbe la réponse du système immunitaire à la castration, ce qui conduit à l'installation d'une inflammation chronique de la prostate, favorisant l'apparition de lésions précancéreuses.

Ces résultats confirment l'importance des récepteurs nucléaires LXR dans la fonction des cellules immunitaires et plus particulièrement dans l'activité de phagocytose des macrophages. Plus largement, cette étude confirme *in vivo* qu'une inflammation chronique de la prostate favorise la survenue de lésions précancéreuses, avec la particularité ici d'être dues à une inflammation stérile de la prostate, exacerbée par la castration d'un modèle déficient pour les LXR.

Cette étude pose la question de la réponse du système immunitaire à la privation androgénique au sein des tumeurs, où l'hormonothérapie induit certes une régression, mais pourrait participer, dans un contexte particulier d'anomalie du métabolisme lipidique, à l'installation d'un terrain immunitaire favorisant la progression ou la réémergence de lésions tumorales.

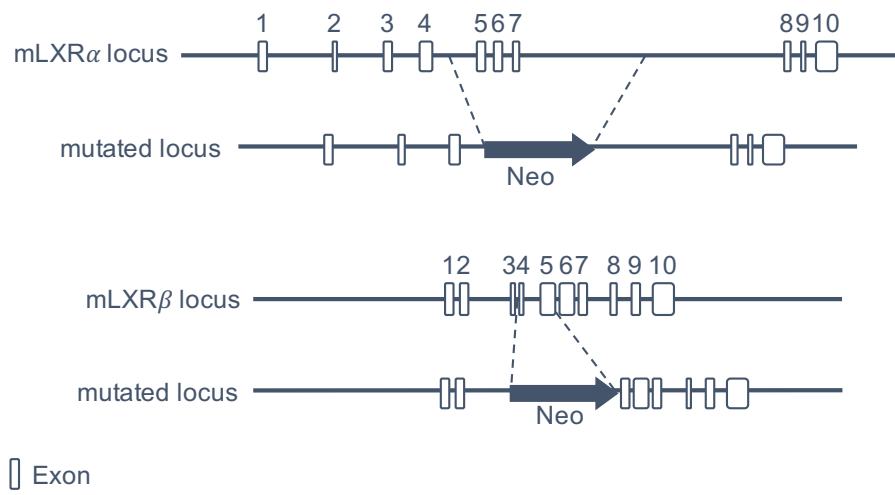


FIGURE 69 | SCHEMATIC DESCRIPTION OF TARGETING STRATEGY TO GENERATE LXR KNOCK OUT MICE

II. INVALIDATION DES LXR ET REPONSE A LA PRIVATION ANDROGENIQUE DU CANCER DE LA PROSTATE : ETUDE DE LA REPONSE A LA CASTRATION DES SOURIS *PTEN^{PC-/-};LXRDKO*

A. Présentation du contexte de l'étude

A la suite de ces travaux, nous nous sommes posé la question du rôle des récepteurs nucléaires LXR sur la réponse à la castration de la prostate en contexte tumoral. Pour cela, nous avons procédé de la même façon, en étudiant le phénotype d'un modèle murin de carcinogenèse prostatique, sauvage (*Pten^{pc-/-}*) ou muté (*Pten^{pc-/-};LxrDKO*) pour les récepteurs nucléaires LXR et la réponse à la castration de ces souris. Cette étude a été réalisée dans l'hypothèse de confirmer nos résultats précédemment obtenus en modèle non tumoral, concernant le rôle promoteur de l'absence des LXR dans l'installation d'une inflammation chronique, et avec l'objectif d'évaluer le rôle éventuel de cette inflammation chronique sur la mise en place de la résistance à la castration des tumeurs prostatiques.

B. Matériels et méthodes

Les analyses présentées ici ont été conduites en parallèle de l'étude précédente, selon le même matériels et méthodes que celui présenté dans l'article 1. Les animaux *Pten^{pc-/-}* (Pb-Cre4:*Pten^{loxp/loxp}*;ROSA^{mT/mG}) présentent une invalidation conditionnelle de l'exon 5 de *Pten*, dirigée au niveau de l'épithélium prostatique par l'activité de la recombinase Pb-Cre4, sous le contrôle du promoteur modifié de la probasine. Ces souris ont été croisées avec des souris présentant une invalidation totale des récepteurs nucléaires LXR, les *LxrDKO* (Figure 69), afin de générer le modèle murin *Pten^{pc-/-};LxrDKO*.

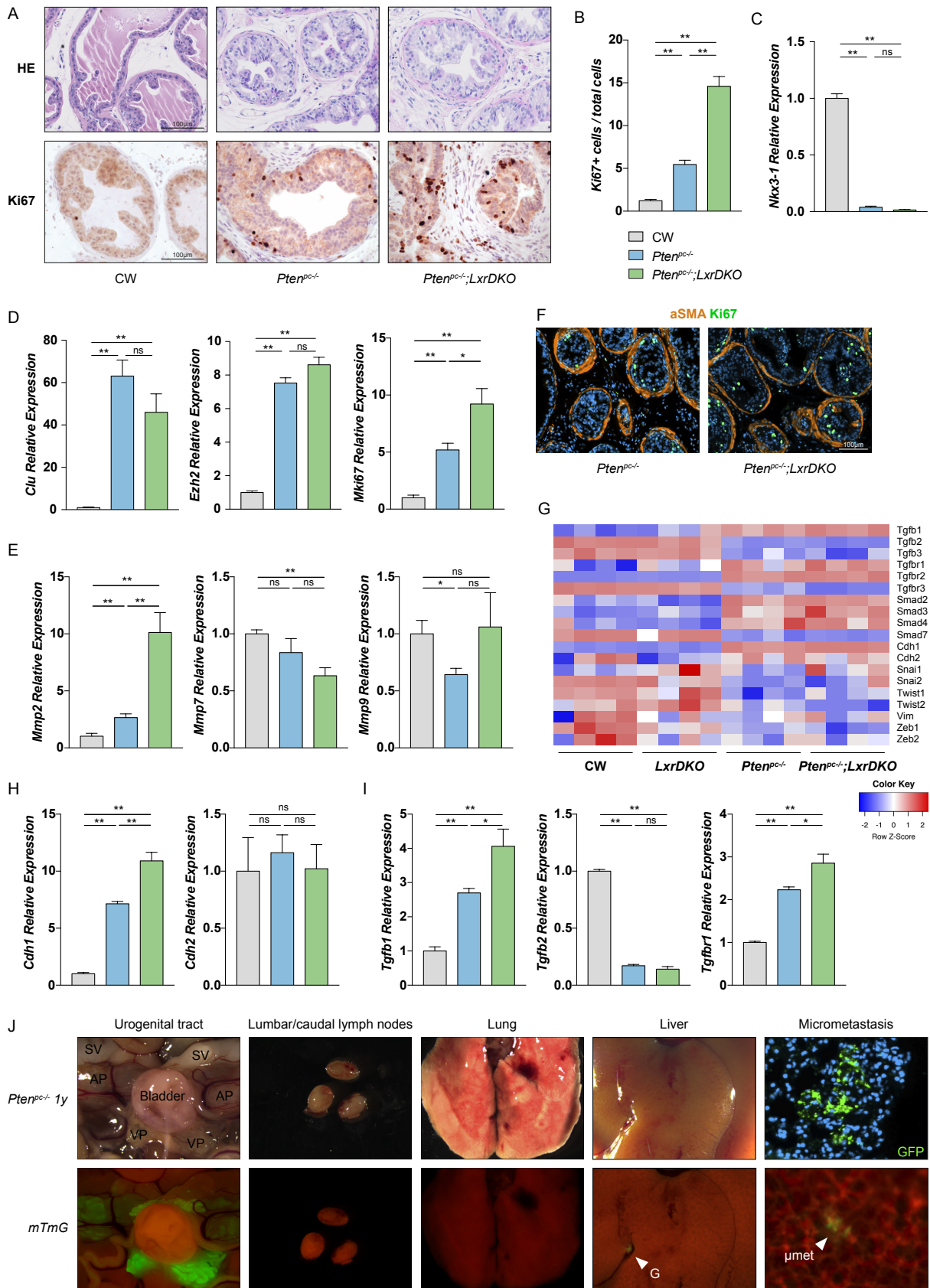


FIGURE 70 | LXR ABLATION INCREASES PROSTATE PROLIFERATION OF *Pten^{pc}-/-</sup>* MICE

C. Résultats

L'invalidation des récepteurs nucléaires LXR accroît la prolifération des tumeurs prostatiques des souris *Pten^{pc/-}*

Nous venons de démontrer que l'invalidation des récepteurs nucléaires LXR peut conduire, en réponse à la privation androgénique des prostates, à l'initiation de la tumorigenèse par le développement de lésions précancéreuses. Nous nous sommes alors intéressés à la tumorigenèse des souris invalidées pour les LXR en contexte mutant pour *Pten*, et ce afin de déterminer si les LXR ont un rôle à jouer dans la progression tumorale. A l'âge de 5 mois, les souris invalidées pour *Pten* présentent des tumeurs épithéliales prostatiques, visualisables à la suite d'une coloration hématoxyline éosine (Figure 70A). L'observation histologique des lobes dorsaux des prostates mutantes pour *Pten* ne semble pas révéler de différences dans l'agressivité des lésions en présence ou en l'absence des LXR. Une augmentation importante de la prolifération est observée dans les prostates des souris *Pten^{pc/-};LxrDKO* en comparaison des prostates des souris *Pten^{pc/-}* (Figure 70A et 70B), avec un index de prolifération de près de 15 % *versus* 5 % environ chez les simples mutants pour *Pten*. L'analyse par RT-qPCR a confirmé la perte d'expression du marqueur *Nkx3-1*, observée classiquement lors de l'installation d'une néoplasie chez l'homme (Figure 70C), sans mettre en évidence de différence d'expression selon le statut LXR. De plus, l'invalidation de *Pten* est associée à une augmentation de l'expression des marqueurs d'agressivité *Clusterin* et *Ezh2*, indépendamment de la présence ou de l'absence des LXR (Figure 70D). Seule l'expression de *Mki67* est augmentée suite à l'invalidation des LXR (Figure 70D). Afin d'évaluer une éventuelle modulation de l'agressivité des lésions tumorales prostatiques en l'absence des LXR, nous nous sommes intéressés au potentiel invasif des cellules tumorales prostatiques. Parmi les MMP connues pour être impliquées dans la dégradation de la matrice extracellulaire et donc dans la

Figure 70 | (A) Hematoxylin and eosin staining of prostates and immunohistochemical detection of Ki67 proliferation marker from Control Wild-type mice (CW), *PbCre4;Pten^{loxP}* mice (*Pten^{pc/-}*) and LXR $\alpha\beta$ Double Knock-Out x *Pten^{pc/-}* mice (*Pten^{pc/-};LxrDKO*) at 22 weeks of age. (B) Proliferation index of dorsal prostate of same mice. (C) Loss of *Nkx3-1* expression in *Pten^{pc/-}* and *Pten^{pc/-};LxrDKO* in comparison with CW is associated with tumor development. (D) Prostate expression of several markers of tumorigenesis (*Clusterin*, *Ezh2*, *Mki67*) is increased in tumor developing mice. (E) RT-qPCR analysis of metalloproteases *Mmp2*, *Mmp7* and *Mmp9* expression. (F) Co-immunodetection of myofibrillar layer marker α SMA and proliferation marker Ki67 reveals no acini breaks or invasion of proliferative tumor cells in stroma of *Pten^{pc/-}* and *Pten^{pc/-};LxrDKO* prostates. (G) RNA sequencing analysis of EMT markers expression (Log2FC) reveals no difference in presence or in absence of LXR in *Pten^{pc/-}* mouse model of prostate cancer. RT-qPCR analysis of *Cdh1* (E-cadherin) and *Cdh2* (N-cadherin), epithelial and mesenchymal markers respectively (H) and TGF- β ligands *Tgfb1/2* and receptor *Tgfb1* (I) implicated in EMT. (J) Macroscopic observation of urogenital tract, lumbar and caudal lymph nodes, lung, liver and lung micrometastasis of a one year aged *Pten^{pc/-}* mouse. Lung micrometastasis was assayed for GFP immunodetection. Groups are composed of 7/7/5/6 animals. Bars represent mean \pm SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and ns: non-significant. Scale bars, 100 μ m.



FIGURE 71 | SYSTEME RAPPORTEUR mTMG

L'allèle $ROSA^{mT/mG}$ est un allèle rapporteur permettant l'expression dirigée à la membrane plasmique d'une molécule fluorescente. En l'absence de la recombinaise Cre, toutes les cellules de l'individu expriment à partir du locus Rosa26 la protéine fluorescente Tomato, dont la protéine est dirigée à la membrane. Lorsqu'une cellule exprime la recombinaise Cre, la séquence codant la mTomato, flanquée de deux séquences loxP, est excisée, permettant l'expression de l'EGFP à la membrane de la cellule. L'expression de l'EGFP est ensuite maintenue dans la descendance de chaque cellule recombinaise.

capacité de migration et d'invasion stromale des cellules tumorales, seul le transcrite *Mmp2* est significativement surexprimé en contexte tumoral, et de façon 3 fois plus importante en l'absence des LXR (Figure 70E). Cependant, l'analyse histologique par co-immunodétection du marqueur de prolifération Ki67 et du marqueur myofibrillaire α SMA n'a pas permis de mettre en évidence d'invasion stromale de masses prolifératives, indépendamment de la présence ou non des récepteurs LXR (Figure 70F). Nous avons également étudié par séquençage ARN l'expression d'acteurs de la voie du TGF β /SMAD et des facteurs de transcription associés à l'EMT. Les données présentées figure 70G ne nous permettent pas de mettre en évidence d'augmentation de l'expression des facteurs de transcription associés à l'EMT (*Snai1*, *Snai2*, *Twist1*, *Twist2*, *Zeb1*, *Zeb2*), bien que l'on note une augmentation de l'expression du gène codant la E-cadhérine (*Cdh1*) en contexte tumoral, sans variation de l'expression du gène codant la N-cadhérine (*Cdh2*) ; données que nous avons confirmé par analyse en RT-qPCR (Figure 70H). Les acteurs de la voie du TGF β médiée par les SMAD semblent cependant être surexprimés en contexte tumoral (Figure 70G), et nous avons confirmé en RT-qPCR une augmentation de l'expression du ligand *Tgfb1* et de son récepteur *Tgfb1* en contexte mutant pour *Pten*, accrue par l'inactivation des LXR (Figure 70I). Bien que ces données ne suggèrent pas d'invasion stromale de cellules tumorales prostatiques ou la mise en place d'EMT dans notre modèle murin de carcinogénèse prostatique, nous avons inséré le locus rapporteur ROSA^{mT/mG} dans les modèles murins tumoraux *Pten*^{pc-/-} et *Pten*^{pc-/-} ; *LxrDKO* afin de pouvoir suivre les cellules recombinaisons, exprimant la GFP à leur membrane plasmique, et les différencier des cellules non recombinaisons, exprimant le traceur Tomato (Figure 71). Nous avons recherché la présence de cellules GFP⁺ à distance chez des souris *Pten*^{pc-/-} et *Pten*^{pc-/-} ; *LxrDKO* de 6 mois et de 1 an. Comme observé sur la figure 70J, la recombinase Cre est active au niveau des différents lobes prostatiques, exprimant la GFP. Cette analyse, réalisée sur un nombre restreint d'individus, n'a pas permis la mise en évidence de tumeurs GFP⁺ à distance, chez les individus âgés de 6 mois comme ceux d'un an, quel que soit le statut LXR des souris. Par contre, nous avons pu noter chez quelques individus la présence de micrométastases, définies par un nombre restreint de cellules GFP⁺. C'est le cas de la micrométastase pulmonaire présentée ici et observée sur un individu *Pten*^{pc-/-} âgé d'un an, dans laquelle l'expression de la GFP a été confirmée par immunohistodétection (Figure 70J). Au final, ces données mettent en évidence l'effet limité de l'inactivation des récepteurs nucléaires LXR sur la tumorigénèse prostatique induite par la perte de *Pten* en modèle murin. Les souris ne présentent aucun signe d'agressivité tumorale accrue, seule la prolifération prostatique étant augmentée en l'absence des LXR.

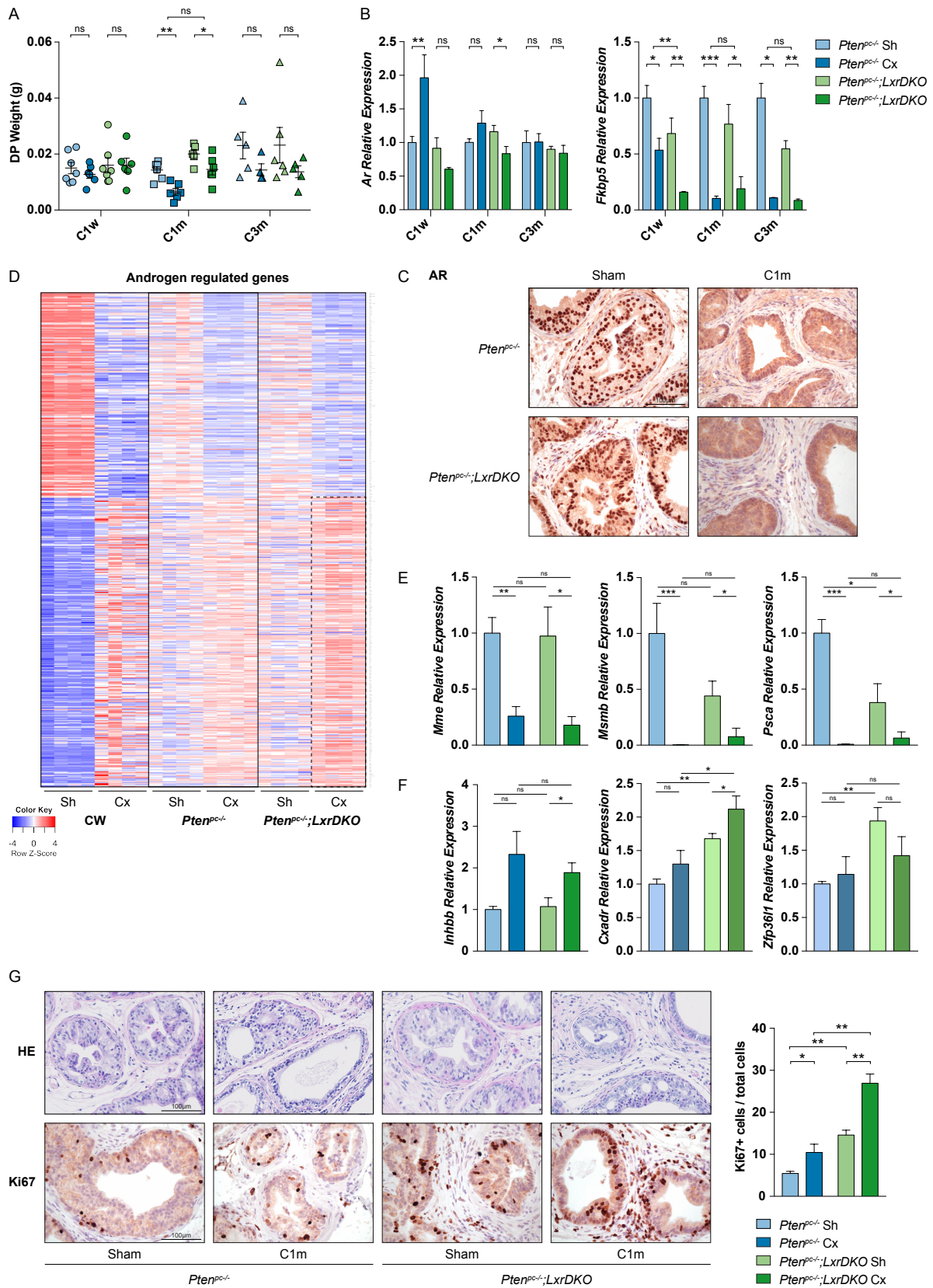


FIGURE 72 | CASTRATION OF $PTEN^{PC-/-};LXRDKO$ MICE EXACERBATES PROLIFERATION RATE OF PROSTATE TUMOR

La castration exacerbe le phénotype hyperprolifératif des tumeurs invalidées pour *Pten* et pour les récepteurs nucléaires LXR

Comme il a précédemment été décrit, la perte de *Pten* est intrinsèquement liée au développement de tumeurs prostatiques résistantes à la castration (Mulholland et al., 2011) (Carver et al., 2011). Or comme présenté précédemment, l'invalidation des LXR conduit à une réponse anormale de la glande prostatique après la castration des animaux. Aussi, nous nous sommes intéressés dans un second temps à l'effet de l'absence des LXR sur la réponse à la castration des tumeurs prostatiques induites par la perte de *Pten*. Afin de caractériser la réponse à la castration, nous avons évalué la régression des tumeurs en observant la variation du poids des lobes dorsaux. En réponse à une semaine de castration, nous n'observons pas de variations significatives du poids des prostates (Figure 72A). Après un mois de castration, le poids des prostates des souris *Pten^{pc/-};LxrDKO* et *Pten^{pc/-}* diminue, sans variation significative entre les deux génotypes. De même, nous n'observons pas de variation significative du poids des prostates après 3 mois de castration. L'expression de *Ar* analysée par RT-qPCR ne semble pas varier au cours des différents points de la cinétique de la réponse à la castration, quel que soit le statut de LXR (Figure 72B). L'immunodétection de AR a permis l'observation d'une classique relocalisation cytoplasmique du récepteur en l'absence de ligand après un mois de castration (Figure 72C), mais qui ne semble pas différer selon le statut de LXR. L'étude de l'expression des gènes androgéno-régulés, définis comme les gènes différentiellement exprimés en réponse à la castration dans les prostates des souris sauvages, ne montre pas de différence entre les souris contrôles (non castrées) *Pten^{pc/-}* et *Pten^{pc/-};LxrDKO* (Figure 72D). Nous pouvons cependant noter une augmentation de l'expression des gènes surexprimés en réponse à la castration chez les souris *Pten^{pc/-};LxrDKO* castrées par rapport au souris *Pten^{pc/-}* castrées (pointillés, Figure 72D). Nous avons par la suite validé l'expression en RT-qPCR de plusieurs gènes positivement et négativement régulés par les androgènes. Cependant, la variation de leur expression en réponse à la castration n'est visiblement pas statistiquement différente selon le

Figure 72 | (A) Whole prostate weight of *Pten^{pc/-}* and *Pten^{pc/-};LxrDKO* mice sham operated (Sh) or in response to 1 week (C1w), 1 month (C1m) and 3 month (C3m) of castration. (B) RT-qPCR analysis of *Ar* and AR target gene *Fkbp5* prostate expression in sham operated or castrated *Pten^{pc/-}* and *Pten^{pc/-};LxrDKO* mice. (C) Immunohistochemical detection of AR showing nuclear to cytoplasmic relocalization following 1 month of castration. (D) RNA-sequencing analysis of Androgen Responsive Genes (ARG) demonstrates a slight upregulation of negatively regulated androgen responsive genes expression in *Pten^{pc/-};LxrDKO* prostates in response to 1 month castration. RT-qPCR analysis of mRNAs encoding *Mme* and *Msmb* positively regulated ARG (E) and *Cxadr*, *Inhbb* and *Zfp361l* negatively ARG (F). (G) Hematoxylin and eosin staining of prostates and immunohistochemical detection of Ki67 proliferation marker from sham operated or 1 month castrated *Pten^{pc/-}* and *Pten^{pc/-};LxrDKO* mice. Proliferation index of prostate is exacerbate in response to 1 month of castration. Groups are composed of 7/7/5/6 animals. Bars represent mean +/- SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 and ns: non-significant. Scale bars, 100 µm.

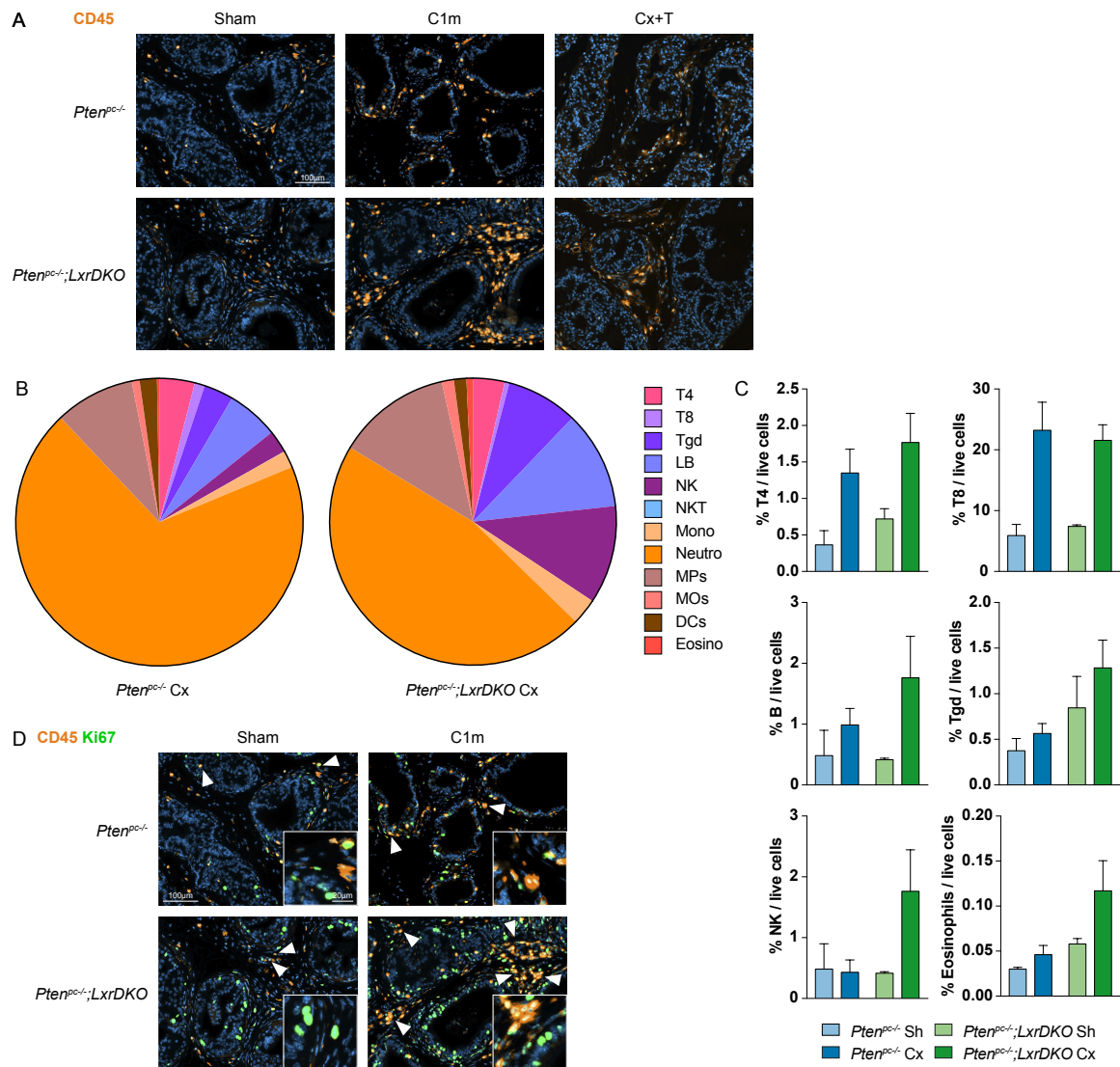


FIGURE 73 | IMMUNE CELLS INFILTRATION IS EXACERBATED IN LXR-DEFICIENT PROSTATE TUMORS IN RESPONSE TO CASTRATION

(A) Immunohistological staining of the pan-leucocytes marker CD45 in sham operated (Sh), 1 month castrated (C1m) or testosterone-supplemented 1 month castrated (Cx+T) mice. (B and C) Flow cytometry analysis of different immune cells populations representation. CD45⁺ immune cells were defined as : CD4⁺ T4 lymphocytes ; CD8⁺ T8 lymphocytes, TCR $\gamma\delta$ ⁺ T $\gamma\delta$ lymphocytes, CD19⁺ B cells, CD49b⁺ TCRb⁻ NK cells, CD49b⁺ TCRb⁺ NKT cells, CD11b⁺ LY6C⁺ monocytes (Mono), CD11b⁺ Ly6G⁺ neutrophils (Neutro), CD11b⁺ Ly6C⁻ Ly6G⁻ F4/80⁺ SCC^{high} eosinophils (Eosino), CD11b⁺ Ly6C⁻ Ly6G⁻ F4/80⁺ SCC^{low} macrophages (MOs), CD11b⁻ CD11c⁺ MHC-II⁺ dendritic cells (DCs) and CD11b⁺ Ly6C⁻ Ly6G⁻ F4/80⁻ and CD11b⁻ CD11c⁻ F4/80⁺ others mononuclear phagocytes (MPs). Groups are composed of 7/7/5/6 animals for immunohistological analyses, 2/4/2/3 for flow cytometry analysis. Bars represent mean +/- SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 and ns: non-significant. Scale bars, 100 μ m, insets 20 μ m.

statut de LXR (Figure 72E et 72F). Enfin, nous nous sommes intéressés au statut prolifératif des tumeurs induites par la perte de *Pten* en réponse à un mois de castration. Si la castration induit une augmentation de la prolifération des prostates des souris *Pten^{pc-/-}*, cette variation est d'autant plus importante concernant les souris *Pten^{pc-/-};LxrDKO* castrées (Figure 72G). Malgré une augmentation du nombre de cellules Ki67⁺, les tumeurs des souris *Pten^{pc-/-}* et des *Pten^{pc-/-};LxrDKO* castrées semblent présenter une régression des lésions en réponse à la castration, comme le suggère l'observation histologique après une coloration hématoxyline éosine (Figure 72G). Une observation plus précise et poussée des lésions tumorales sera cependant nécessaire pour conclure sur l'agressivité des tumeurs en réponse à la castration. Ainsi, l'inactivation des LXR ne semble pas moduler la signalisation androgénique en réponse à la castration mais conduit à une hyperprolifération prostatique.

La privation androgénique exacerbe l'infiltration immunitaire des tumeurs déficientes pour les récepteurs nucléaires LXR

Comme nous l'avons vu dans l'article 1, la castration des individus déficient pour les LXR induit, en condition non tumorale, une infiltration massive de cellules immunitaires au niveau des prostates. Aussi, comme la littérature scientifique fait état d'une augmentation de l'infiltration immunitaire chez les patients sous hormonothérapie (Mercader et al., 2001) (Gannon et al., 2009) (Nonomura et al., 2011), nous avons voulu objectiver l'infiltration immunitaire dans nos modèles murins de tumeurs prostatiques en réponse à la castration. L'immunodétection du marqueur pan-leucocytaire CD45 a confirmé une augmentation du nombre de cellules CD45⁺ dans les prostates des souris *Pten^{pc-/-}* en réponse à un mois de castration (Figure 73A). L'inactivation des LXR conduit à une infiltration accrue de cellules immunitaires en réponse à la castration. Cette infiltration est bien dépendante de la privation androgénique comme le suggère la diminution de l'infiltration observée dans les prostates des souris castrées et complémentées en testostérone (Figure 73A). L'analyse par cytométrie en flux nous a permis de caractériser les différentes populations immunitaires en présence (Figure 73B et 73C). Bien que les analyses en cytométrie n'aient été réalisées que sur un faible nombre d'individus (2 à 4), nous avons pu confirmer une augmentation de l'infiltration par des lymphocytes T4, T8 et B en réponse à la castration (Figure 73C), comme cela a déjà été décrit précédemment chez les patients (Mercader et al., 2001) (Gannon et al., 2009). Il est également possible de noter une augmentation de la population de lymphocytes T $\gamma\delta$, de cellules NK et d'éosinophiles chez les souris *Pten^{pc-/-};LxrDKO* en réponse à la castration, qui n'est pas retrouvée chez les souris sauvages pour les LXR (Figure 73C). Les cellules NK sont des cellules

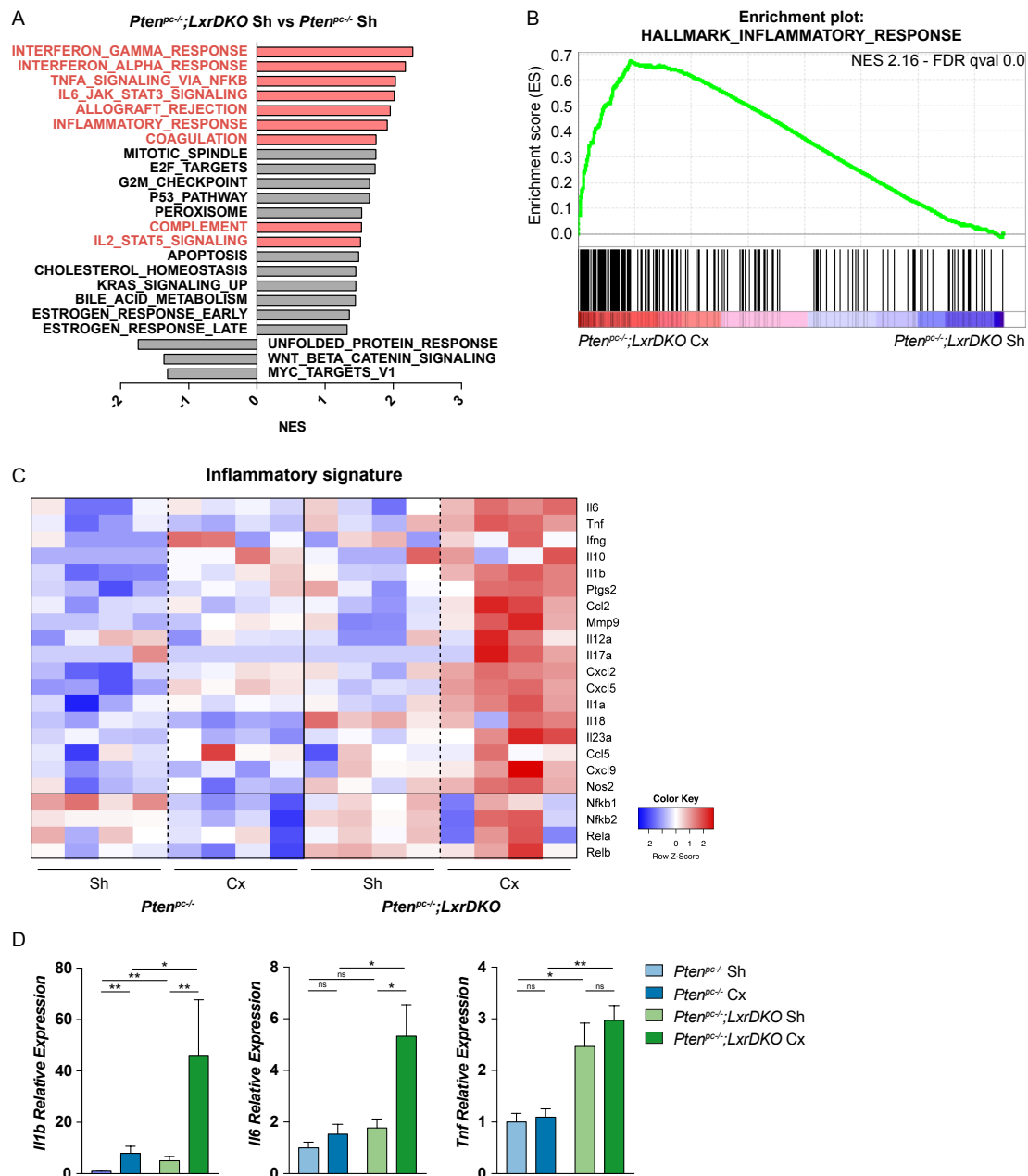


FIGURE 74 | ANDROGEN DEPRIVATION FAVORS INFLAMMATION IN LXR-DEFICIENT PROSTATE CANCER

(A) GSEA analysis of RNA-sequencing shows enrichment of hallmarks gene sets mainly annotated for immune response in sham operated *Pten^{pc-/-};LxrDKO* in comparison with sham operated *Pten^{pc-/-}* mice. (B) Enrichment plot of inflammatory response gene set in 1 month castrated *Pten^{pc-/-};LxrDKO* mice in comparison to sham operated *Pten^{pc-/-};LxrDKO* mice. (C) RNA-sequencing analysis of pro-inflammatory genes expression (log₂FC) confirms a proinflammatory environment in 1 month castrated *Pten^{pc-/-};LxrDKO* mice. (D) Inflammatory *Il1b*, *Il6* and *Tnf* gene expression analysis by RT-qPCR. Groups are composed of 7/7/5/6 animals. Bars represent mean +/- SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 and ns: non-significant.

cytotoxiques de l'immunité innée ; elles ont également un rôle à jouer dans l'immunité anti-tumorale. De même, les lymphocytes $T\gamma\delta$ peuvent avoir un rôle cytotoxique et une action anti-tumorale, mais ils sont également recrutés sur les sites d'inflammation, pour lutter contre les infections notamment. Enfin si les éosinophiles sont principalement liés à certaines pathologies comme l'asthme ou les réponses allergiques, ils jouent également un rôle important dans l'inflammation par le relargage de différents facteurs. Comme ces populations immunitaires ne sont pas augmentées en réponse à la castration chez les souris $Pten^{pc/-}$, nous pouvons supposer que leur recrutement dans les prostates des souris castrées invalidées pour les LXR n'est pas lié au contexte tumoral induit par la perte de *Pten*. Ces données suggèrent ainsi l'induction d'une inflammation de la prostate des souris $Pten^{pc/-};LxrDKO$ en réponse à la castration. De façon intéressante, une proportion non négligeable de cellules immunitaires localisées au niveau du stroma est en prolifération, comme l'atteste la co-immunodétection du marqueur pan-leucocytaire CD45 et du marqueur de prolifération Ki67 chez les souris $Pten^{pc/-};LxrDKO$ castrées (Figure 73D). L'expansion de cellules immunitaires, par la prolifération locale de macrophages, constitue une caractéristique d'une inflammation liée à une réponse T auxiliaire, et conforte l'idée de la mise en place d'un environnement pro-inflammatoire (Jenkins et al., 2011).

La privation androgénique induit une inflammation chronique des prostates des souris $Pten^{pc/-};LxrDKO$

Si l'analyse des populations immunitaires présentes ne semble pas montrer de différentiel entre les prostates des souris $Pten^{pc/-}$ et celles des souris $Pten^{pc/-};LxrDKO$ non castrées, l'analyse GSEA des données de séquençage ARN fait pourtant ressortir des listes de gènes associées à la réponse immunitaire suite à l'invalidation des LXR en contexte mutant pour *Pten* (Figure 74A). De plus, chez les souris $Pten^{pc/-};LxrDKO$, la principale voie dérégulée positivement en réponse à la castration est la réponse inflammatoire (Figure 74B). L'analyse par séquençage ARN d'une signature inflammatoire montre très clairement une augmentation de l'expression de gènes inflammatoires ainsi que des gènes codant des acteurs de la signalisation NF- κ B, en réponse à un mois de castration chez les souris $Pten^{pc/-};LxrDKO$ (Figure 74C). L'expression de certains gènes codant pour des cytokines inflammatoires (IL-1 β , IL-6 et TNF α) a été validée en RT-qPCR (Figure 74D). Ainsi, dans les tumeurs prostatiques invalidées pour *Pten*, l'invalidation des LXR conduit à une perturbation du système immunitaire. En réponse à un mois de castration, ces souris présentent un profil d'expression en faveur de l'installation d'une inflammation chronique. Ainsi, de même qu'en contexte non tumoral, présenté dans notre

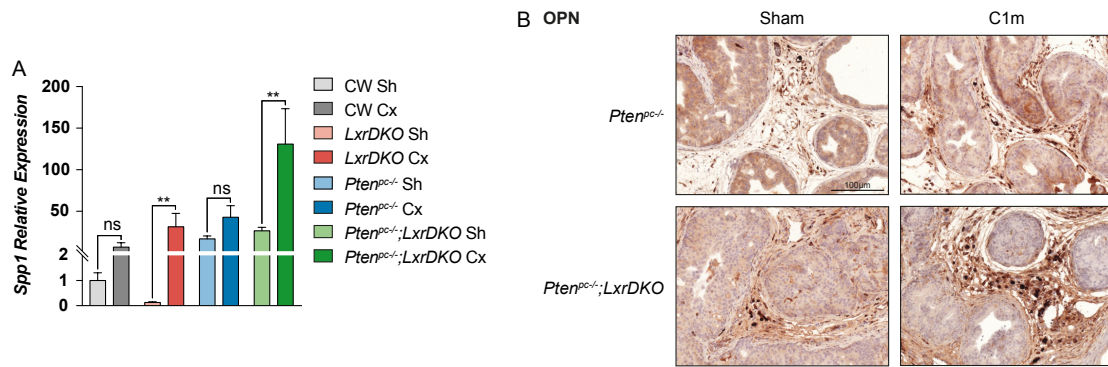


FIGURE 75 | ANDROGEN DEPRIVATION INCREASES OSTEOPONTIN EXPRESSION IN LXR-DEFICIENT PROSTATE TUMOR

(A) RT-qPCR analysis of osteopontin coding gene *Spp1* in response to 1 month of castration or in sham operated CW, *LxrDKO*, *Pten^{pc-/-}* and *Pten^{pc-/-};LxrDKO* mice. (B) Immunohistochemical detection of osteopontin (OPN) shows increased staining of some stromal cells of 1 month castrated *Pten^{pc-/-};LxrDKO* in comparison with sham operated *Pten^{pc-/-}* mice. Bars represent mean \pm SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ and ns: non-significant. Scale bars, 100 μ m.

premier article, la privation androgénique semble induire chez les souris tumorales déficientes pour LXR une inflammation prostatique marquée.

Dans l'article 1 présenté précédemment, nous avons noté une augmentation de l'expression d'une cytokine inflammatoire, l'ostéopontine, chez les souris mutantes pour les LXR en réponse à la castration. L'analyse en RT-qPCR a montré une augmentation de l'expression de *Spp1*, gène codant l'ostéopontine, chez les souris tumorales invalidées pour *Pten* (Figure 75A). De même qu'en contexte non tumoral, la castration induit une forte augmentation de son expression chez les souris mutantes pour *Pten* et invalidées pour les récepteurs LXR. Ces données ont été confirmées par des analyses histologiques qui montrent une augmentation du nombre de cellules OPN⁺ localisées au niveau du stroma des prostates des souris *Pten^{pc-/-};LxrDKO* castrées (Figure 75B). Ainsi, l'inflammation prostatique observée chez les souris *Pten^{pc-/-};LxrDKO* après un mois de castration est également associée à une augmentation de l'expression de l'ostéopontine.

La perte de *Pten* module l'expression des gènes cibles de LXR en réponse à la castration

Nous nous sommes par la suite posé la question de l'activité transcriptionnelle des récepteurs nucléaires LXR : (1) en réponse à la castration et (2) suite à l'invalidation de *Pten*. Dans un premier temps, nous avons confirmé l'absence d'expression de *Nr1h3* (LXR α) et de *Nr1h2* (LXR β) dans les souris invalidées pour les LXR (Figure 76A). De façon intéressante, l'expression de *Nr1h3* est augmentée en réponse à la castration en contexte non tumoral, et tend vers l'augmentation en contexte tumoral. Nous avons ensuite analysé l'expression des gènes cibles des LXR par séquençage ARN (Figure 76B) et confirmé pour la plupart leur expression en RT-qPCR (Figure 76C). Plusieurs points peuvent être soulevés. D'une part, si l'expression des gènes cibles des LXR est bien réduite suite à l'invalidation des récepteurs nucléaires, on note une augmentation de leur expression en réponse à la castration, en contexte non tumoral, d'un facteur 1.5 à 4, et ce, y compris en l'absence des LXR. Ainsi, la castration augmente l'expression des gènes cibles de LXR indépendamment des LXR. D'autre part, l'invalidation de *Pten* conduit également à une augmentation de l'expression des gènes cibles des LXR, dépendante cette fois de la présence des récepteurs. Cependant, concernant la majorité des gènes cibles des LXR, la castration des souris mutantes pour *Pten* n'induit pas d'augmentation de leur expression, quel que soit le statut des LXR. Au final, si les gènes cibles des LXR sont sensibles à la privation androgénique, leur surexpression induite par l'invalidation de *Pten* n'est pas modulée en réponse à la castration.

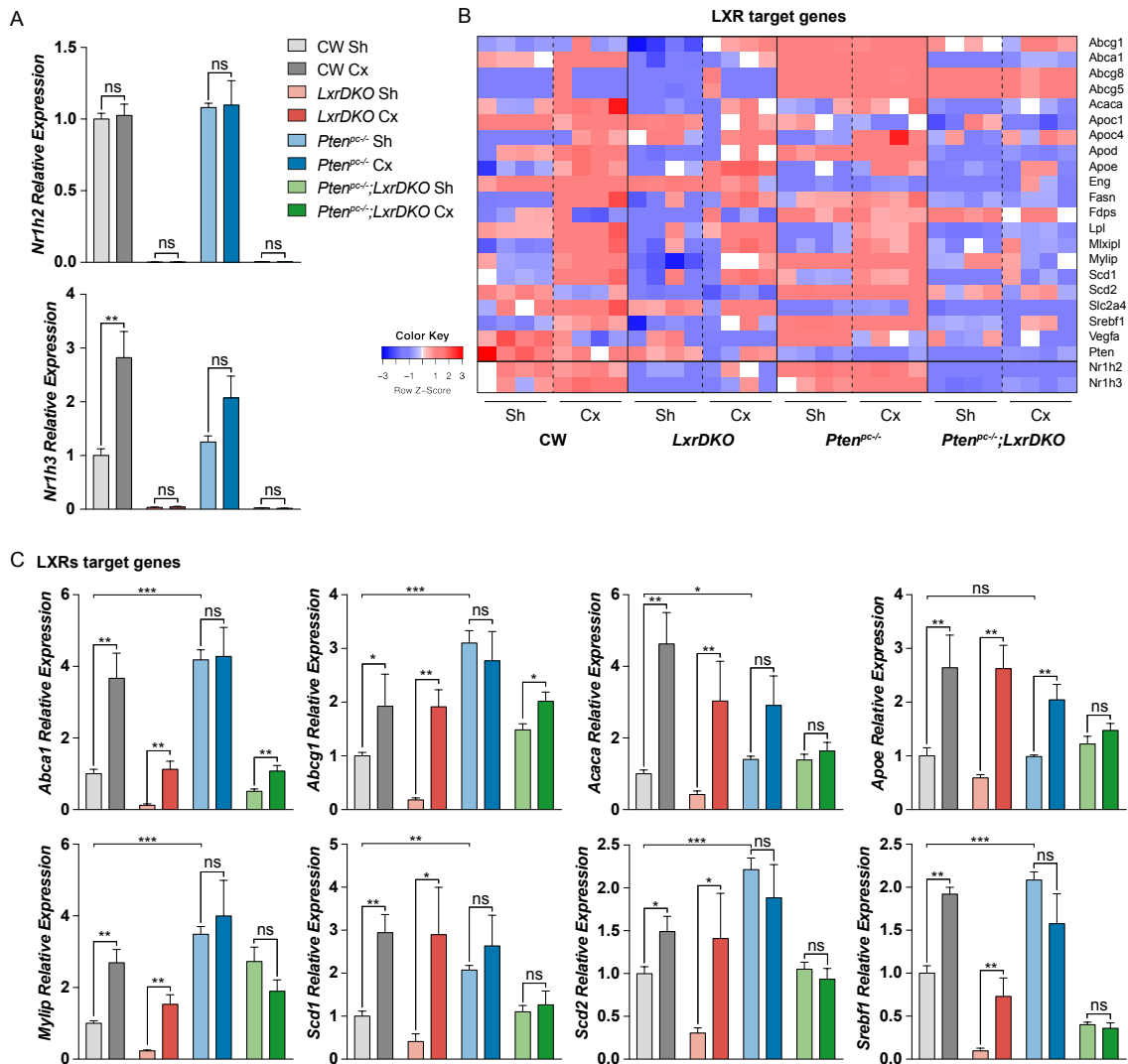


FIGURE 76 | LOSS OF *PTEN* MODULATES PROSTATE LXR TARGET GENES EXPRESSION IN RESPONSE TO CASTRATION

(A) RT-qPCR analysis of LXR α/β coding genes *Nr1h3/Nr1h2* expression. (B) RNA-sequencing analysis shows upregulation of LXR targets genes in response to castration in non-tumor mice independently of LXR status. (C) RT-qPCR validation of several LXR target genes expression (*Abca1*, *Abcg1*, *Acaca*, *Apoe*, *Myliip*, *Scd1*, *Scd2*, *Sreb1*). Groups are composed of 7/7/5/6 animals. Bars represent mean \pm SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ and ns: non-significant.

L'invalidation de *Pten* est associée à une surexpression du programme transcriptionnel de SREBP-2

Il est décrit et bien caractérisé que les tumeurs prostatiques dépendent de façon importante du métabolisme lipidique et qu'elles accumulent à ce titre du cholestérol. Si l'activité des récepteurs nucléaires LXR vise entre autres à diminuer les taux intracellulaires de cholestérol, l'activité du facteur de transcription SREBP-2 soutient au contraire la synthèse et l'accumulation de cholestérol (Brown and Goldstein, 1997). De manière intéressante, l'analyse des gènes cibles de SREBP-2 par séquençage ARN montre une forte augmentation de leur expression suite à l'invalidation de *Pten*. Cette augmentation semble en effet intimement liée au contexte tumoral mutant pour *Pten*, et n'est pas modulée en réponse à la castration ou par le statut des LXR (Figure 77A). L'expression de *Srebf2*, codant pour la protéine SREBP-2 est également augmentée en contexte tumoral (Figure 77B). Cependant, des analyses protéiques, par western blot, devront être réalisées pour confirmer une augmentation de la forme clivée, mature, de SREBP-2 suite à la perte de *Pten*. L'expression de gènes codant pour des enzymes de la voie de biosynthèse du cholestérol régulées par SREBP-2 (*Dhcr24*, *Fdps*, *Hmgcr*, *Hmgcs*, *Sqle*) a été validée par RT-qPCR, confirmant leur surexpression en contexte mutant pour *Pten* (Figure 77C). De plus, l'expression des gènes codant pour les récepteurs aux LDL-cholestérol et HDL-cholestérol LDLR et SR-B1 est également augmentée en contexte tumoral. De façon intéressante, si *Ldlr* est réprimé en l'absence des LXR, l'expression de *Scarb1* est augmentée en réponse à la castration en contexte non tumoral (Figure 77D). Ainsi la tumorigenèse prostatique dépendante de la perte de *Pten* est associée à une surexpression du programme transcriptionnel de SREBP-2. Son activité semble cependant être indépendante de celle des récepteurs nucléaires LXR ou du statut androgénique. Des analyses de dosage des taux intra-prostatiques de cholestérol devront cependant être réalisées pour déterminer l'effet métabolique de l'activité de SREBP-2. Aussi, à la vue des résultats obtenus, nous pouvons émettre l'hypothèse que la surexpression des gènes cibles des LXR observée en contexte mutant pour *Pten* pourrait constituer un mécanisme de rétrocontrôle négatif pour contrer la suractivité du facteur SREBP-2 et éventuellement l'accumulation excessive de cholestérol ainsi induite.

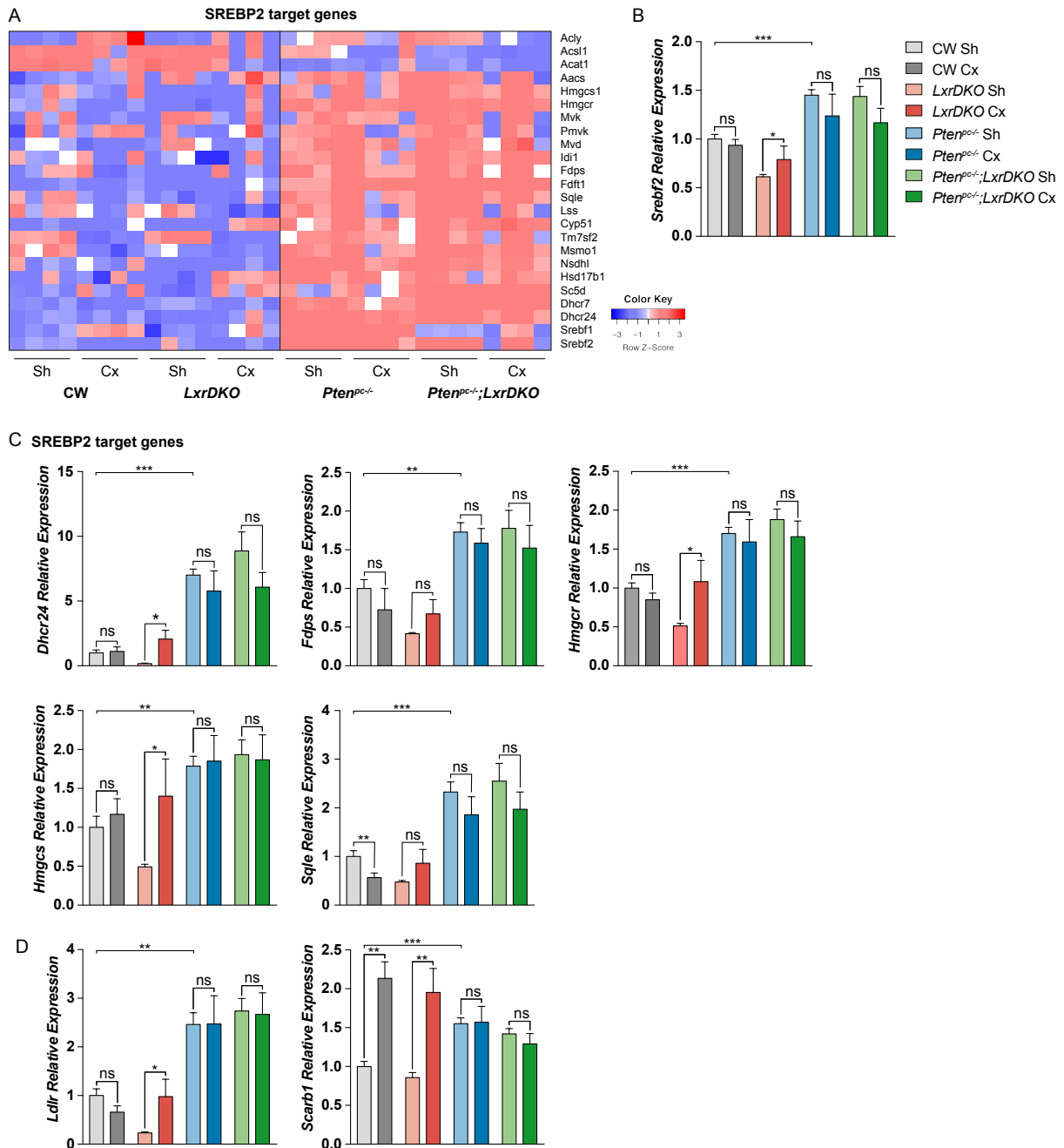


FIGURE 77 | *PTEN*-NULL PROSTATE TUMOR SHOWS OVEREXPRESSION OF SREBP-2 TRANSCRIPTIONAL PROGRAM

(A) RNA-sequencing analysis demonstrates upregulation of SREBP-2 target genes expression in *Pten*^{pc-/-} mouse model of prostate cancer. (B) Expression of *Srebf2* is slightly increased in response to *Pten* loss. (C) RT-qPCR analysis of SREBP-2 target genes confirms increased expression in tumor mice. (D) RT-qPCR analysis of cholesterol receptors *Ldlr* and *Scarb1*. Groups are composed of 7/7/5/6 animals. Bars represent mean \pm SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ and ns: non-significant.

D. Conclusion

Le but de ce deuxième axe de recherche était de déterminer l'effet de l'inactivation des récepteurs nucléaires LXR dans la réponse à la castration du cancer de la prostate *in vivo*. Tout d'abord, nous avons mis en évidence 1) que l'inactivation des LXR ne semble pas modifier l'agressivité des tumeurs induites par la perte de *Pten*, ces souris présentant des carcinomes *in situ* à l'âge de 22 semaines quel que soit le statut LXR, et qui ne disséminent que très rarement plus tardivement, à l'âge de 1 an. Cependant, 2) l'inactivation des LXR conduit à une augmentation de l'index de prolifération des prostates tumorales. 3) Cette hyperprolifération est exacerbée en réponse à 1 mois de castration. 4) L'inactivation des LXR ne semble pas moduler la signalisation des androgènes *in vivo*, en réponse à la castration. Par contre, l'inactivation des LXR conduit en réponse à la castration 5) à une augmentation de l'infiltration immunitaire et 6) à une inflammation chronique de la prostate, qui peuvent être corrélées à l'hyperprolifération observée dans ce même contexte. Ainsi, de même qu'en contexte non tumoral, l'inactivation des LXR perturbe la réponse immunitaire en réponse à la castration, qui peut être corrélée à l'inflammation et à l'hyperprolifération des prostates tumorales mutantes pour *Pten*.

Par ailleurs, 7) la castration induit une augmentation de l'expression des gènes cibles des LXR en contexte non tumoral, et ce de façon indépendante des LXR. De plus, 8) la perte de *Pten* est associée à une augmentation de l'expression des gènes cibles des LXR, dépendante de la présence de ces récepteurs. 9) La perte de *Pten* est également associée à l'activation du programme transcriptionnel de SREBP-2. Ainsi, en contexte mutant pour *Pten*, la surexpression des gènes cibles des LXR pourrait constituer une réponse à l'accumulation excessive de cholestérol par les prostates tumorales, qu'il nous appartient de valider par la réalisation d'un dosage des taux de cholestérol intra-prostatique.

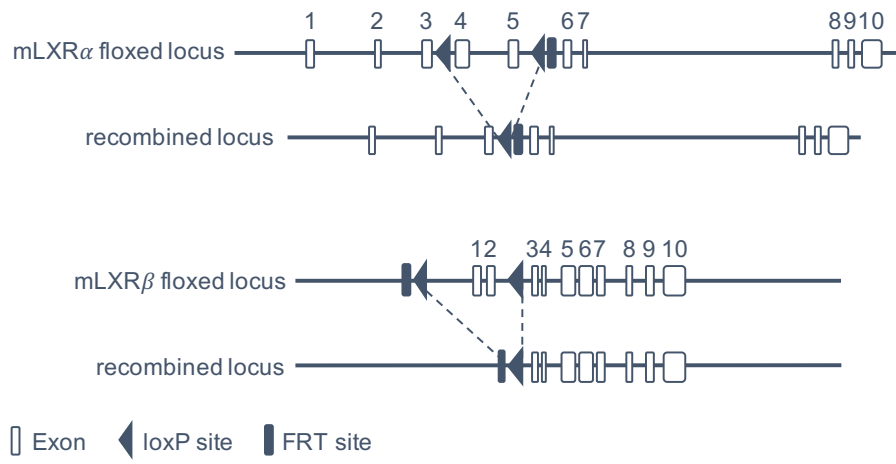


FIGURE 78 | SCHEMATIC DESCRIPTION OF TARGETING STRATEGY TO GENERATE LXR FLOXED MICE

III. EFFETS DE L'INVALIDATION EPITHELIALE DES RECEPTEURS NUCLEAIRES LXR DANS LA REPONSE DE LA PROSTATE BENIGNE ET TUMORALE A LA CASTRATION

A. Présentation du contexte de l'étude

Que ce soit en contexte non tumoral (article 1) ou tumoral induit par la perte de *Pten* comme précédemment décrit dans le deuxième axe de recherche, l'invalidation des LXR semble majoritairement associée à une réponse inflammatoire des prostates en réponse à la castration, et corrélée à une augmentation de la prolifération. Afin de s'affranchir de l'effet de l'absence des LXR dans le compartiment micro-environnemental et plus particulièrement sur le système immunitaire, nous avons généré un modèle d'invalidation conditionnelle des LXR, spécifiquement au niveau de l'épithélium prostatique, grâce à l'utilisation *in vivo* de la Pb-Cre4 recombinase et des allèles floxés de LXR α et LXR β . Ces souris, Pb-Cre4 ::*Nr1h3*^{loxp/loxp}; *Nr1h2*^{loxp/loxp}, que nous nommerons par la suite *Lxr $\alpha\beta$* ^{pe/-}, ont également été croisées avec le modèle murin de carcinogenèse prostatique invalidé pour *Pten*, les souris *Pten*^{pc/-}, afin de générer un modèle de tumeurs prostatiques déficientes pour les LXR, les souris *Pten;Lxr $\alpha\beta$* ^{pc/-}. De même que précédemment, nous avons analysé la réponse des prostates des différents modèles murins en réponse à un mois de castration avec deux objectifs : (1) mieux caractériser l'effet cellule-autonome de l'invalidation des LXR sur les cellules épithéliales prostatiques, en contexte bénin et tumoral, (2) étudier la réponse à la privation androgénique de l'épithélium prostatique déficient pour les LXR ; et ce avec l'objectif de s'affranchir de l'effet de l'invalidation des LXR dans les autres types cellulaires.

B. Matériels et méthodes

Les analyses présentées ici ont été conduites selon les mêmes protocoles que ceux décrits dans l'article 1. Les souris floxées pour les récepteurs nucléaires LXR $\alpha\beta$, *Nr1h3*^{loxp/loxp} :: *Nr1h2*^{loxp/loxp} (Figure 78), ont été obtenues du laboratoire du Dr. David Mangeldorf (Department of Pharmacology and Biochemistry, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, TX). Les individus *Lxr $\alpha\beta$* ^{pe/-} correspondent aux souris Pb-Cre4 ::*Nr1h3*^{loxp/loxp}; *Nr1h2*^{loxp/loxp}, ces derniers ayant été croisés avec des individus *Pten*^{loxp/loxp} pour générer les souris *Pten;Lxr $\alpha\beta$* ^{pc/-}. Les souris contrôles (CW) correspondent aux individus floxés n'exprimant pas la recombinase Cre.

Coloration à l'huile rouge

Les coupes de tissus cryocongelés de 10 µm ont été décongelées et séchées à température ambiante puis fixées en formaline 10 % pendant 5 minutes à température ambiante. Elles ont ensuite été incubées 1 min dans du 1,2 propanediol à température ambiante. Les lames ont ensuite été incubées dans de l'huile rouge (Sigma, O-0625) 0,5 % reprise dans du 1,2 propanediol, pendant 10 min à 55°C. Elles ont ensuite été rincées à température ambiante dans des bains successifs de 1,2 propanediol et d'eau, avant d'être contre-colorées par une solution d'hématoxyline de Harris.

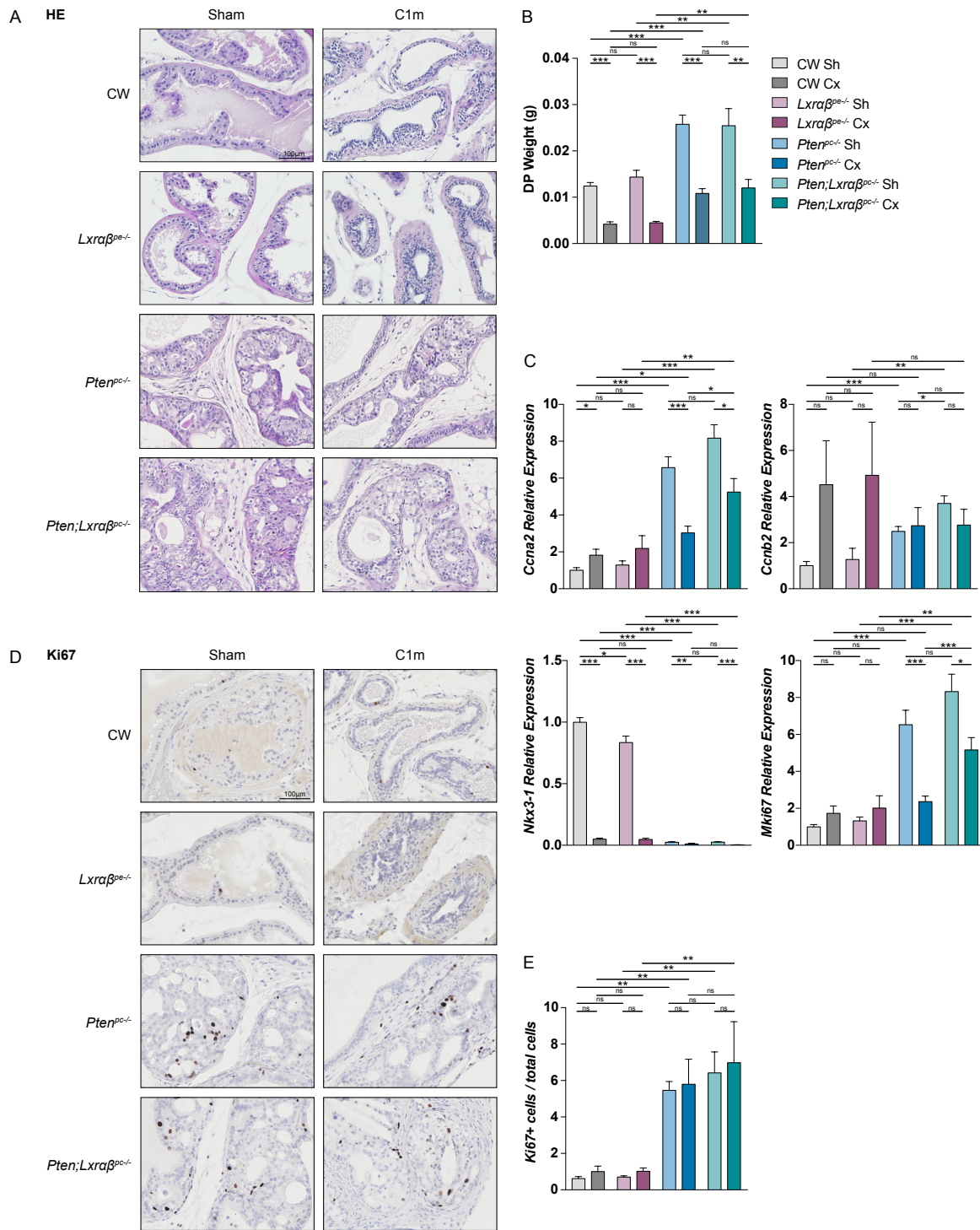


FIGURE 79 | PHENOTYPIC ANALYSIS OF EPITHELIAL CONDITIONAL ABLATION OF LXR $\alpha\beta$ IN BENIGN AND TUMOR PROSTATES

(A) Hematoxylin and eosin staining of prostates from 1 month castrated or sham operated CW, *PbCre4;Lxraβ^{loxp} (Lxraβ^{pe/-})*, *Pten^{pc/-}* and *Pten^{pc/-} x Lxraβ^{pe/-} (Pten; Lxraβ^{pc/-})*. (B) Whole prostate weight analysis of the same mice. (C) RT-qPCR analysis of *Ccna2* and *Ccnb2* cyclins, *Mki67* and *Nkx3-1* expression. (D and E) Immunohistochemical detection of Ki67 proliferation marker (D) and proliferation index (E) of prostates of sham-operated or 1 month castrated mice. Groups are composed of at least 8 animals. Bars represent mean \pm SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ and ns: non-significant. Scale bars, 100 μ m.

C. Résultats

Analyse phénotypique de l'effet de l'inactivation épithéliale des récepteurs nucléaires LXR en contexte prostatique bénin et tumoral

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés au phénotype histologique des prostates présentant une inactivation épithéliale des LXR. La coloration hématoxyline éosine n'a pas mis en évidence d'atteinte de l'épithélium prostatique en l'absence des LXR (Figure 79A). En contexte tumoral, les souris *Pten;Lxrαβ^{pc/-}* âgées de 6 mois présentent des carcinomes prostatiques *in situ*, tout comme les simples mutantes *Pten^{pc/-}*. Une étude histologique plus précise serait requise pour permettre de déterminer avec plus de précision la gravité des lésions observées, et la présence d'un éventuel différentiel entre les deux génotypes analysés. De façon cohérente, nous n'observons pas de variation du poids des prostates en fonction du statut LXR, que ce soit en contexte bénin ou tumoral (Figure 79B). En réponse à un mois de castration, on note une atrophie de l'épithélium prostatique des modèles bénins. De même, on semble observer une régression des tumeurs en contexte invalidé pour *Pten*, indépendamment de leur statut LXR. Ces observations sont cohérentes avec la variation du poids des lobes dorsaux qui diminuent fortement en réponse à la castration, en contexte bénin comme tumoral (Figure 79B). Nous nous sommes ensuite intéressés à la prolifération des prostates. L'analyse par RT-qPCR n'a pas mis en évidence de différences de l'expression des cyclines A2 et B2 ou du gène codant le marqueur de prolifération Ki67 liées à l'inactivation épithéliale des LXR ; de plus la réponse à la castration est similaire, en contexte bénin comme en contexte tumoral, entre les groupes sauvages ou invalidés pour les LXR (Figure 79C). Par ailleurs, on note en RT-qPCR une très faible diminution de l'expression du marqueur de néoplasie *Nkx3-1*, dans les prostates des souris *Lxrαβ^{pc/-}* par rapport aux souris contrôles (Figure 79C). On observe par contre la perte d'expression de *Nkx3-1* chez les souris invalidées pour *Pten*, comme classiquement observé chez les patients dès l'installation des premières lésions précancéreuses (Figure 79C). Par ailleurs, ce gène étant androgéno-régulé, son expression est réprimée en réponse à la castration, quel que soit le génotype des souris. En histologie, si le nombre de cellules Ki67⁺ augmente suite à l'inactivation de *Pten*, nous n'observons pas de variation suite à l'inactivation des LXR ou en réponse à la castration (Figure 79D et 79E). Au final, d'un point de vue histologique, l'inactivation conditionnelle des LXR ne semble pas induire de phénotype particulier en condition bénigne. Elle ne modifie pas non plus les lésions tumorales induites par la perte de *Pten* et ne module pas non plus la réponse des prostates à un mois de castration.

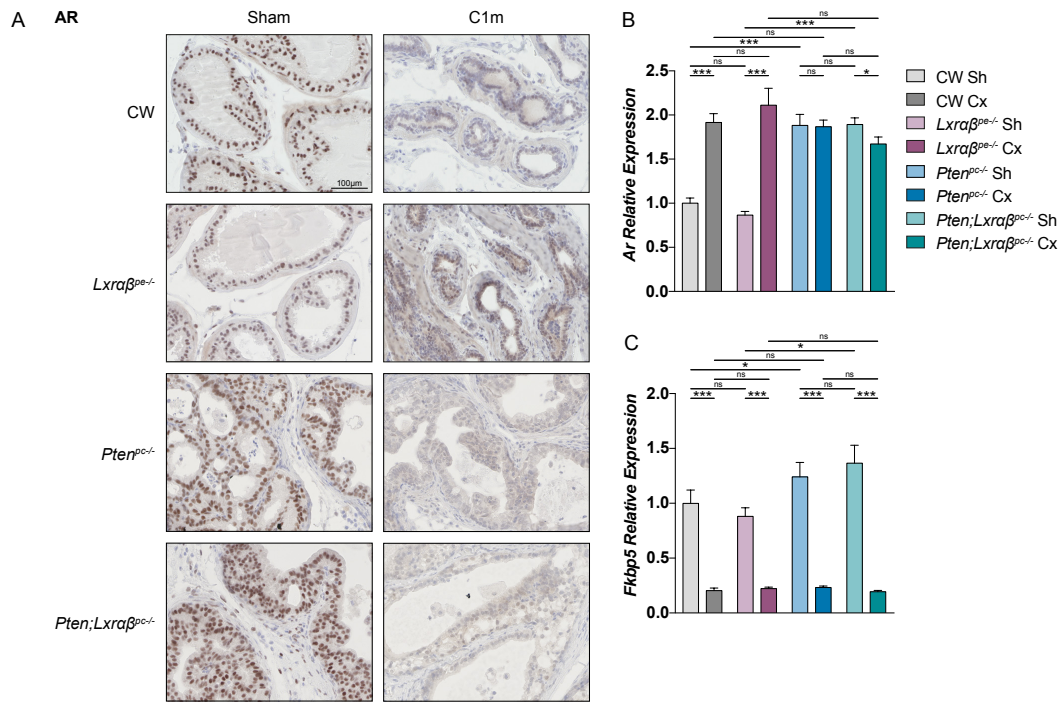


FIGURE 80 | ANDROGEN DEPRIVATION RESPONSE OF LXR $\alpha\beta$ EPITHELIAL-DEFICIENT BENIGN AND TUMOR PROSTATES

(A) Immunohistochemical detection of AR showing nuclear to cytoplasmic relocation following 1 month castration. (B and C) RT-qPCR analysis of *Ar* (B) and AR target gene *Fkbp5* (C) expression in sham-operated or 1 month castrated mice. Groups are composed of at least 8 animals. Bars represent mean \pm SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ and ns: non-significant. Scale bars, 100 μm .

Réponse à la castration des prostates bénignes et tumorales en contexte d'invalidation épithéliale des récepteurs nucléaires LXR

Nous nous sommes ensuite intéressés à la réponse à la castration des prostates des souris invalidées de façon conditionnelle pour les LXR. L'analyse immunohistochimique de AR montre une classique relocalisation du récepteur du noyau dans le compartiment cytoplasmique, en réponse à un mois de castration, en contexte bénin et tumoral, et ce indépendamment du statut LXR (Figure 80A). L'expression de *Ar*, bien qu'augmentée en réponse à la castration en contexte bénin, ainsi qu'en contexte mutant pour *Pten*, ne présente pas de différence entre les groupes déficients pour les LXR et leurs groupes contrôles respectifs, sauvages pour les LXR (Figure 80B). L'analyse en RT-qPCR du gène cible de AR *Fkbp5* montre une légère augmentation de son expression en contexte tumoral invalidé pour *Pten*, ainsi qu'une forte diminution de son expression en réponse à la castration. Celle-ci n'est toutefois pas modulée par le statut des LXR (Figure 80C). Ainsi, ces données suggèrent que la présence ou l'absence des LXR au niveau de l'épithélium n'influence pas la réponse à la castration des prostates bénignes ou tumorales.

Modulation du métabolisme lipidique des prostates bénignes et tumorales en réponse à la castration

Nous avons confirmé en RT-qPCR la diminution de l'expression des gènes *Nr1h2* et *Nr1h3* codant respectivement LXR β et LXR α suite à leur invalidation (Figure 81A). De façon étonnante, *Nr1h2* semble réprimé en réponse à la castration chez les souris contrôles. L'analyse en RT-qPCR de l'expression de *Nr1h3* codant pour LXR α a par ailleurs confirmé sa sensibilité aux androgènes. Son expression est en effet augmentée en réponse à la castration quel que soit le génotype des souris. Les gènes cibles des LXR *Abca1* et *Abcg1* sont tout comme *Nr1h3* lui-même, surexprimés en réponse à la castration chez les souris bénignes *Lxr $\alpha\beta$ ^{pc-/-}* et les souris contrôles (Figure 81B). On peut constater une augmentation de leur expression chez les souris *Pten^{pc-/-}*, qui se montre dans ce contexte insensible à la castration. De façon intéressante, l'invalidation conditionnelle des LXR restaure la sensibilité de ces gènes à la castration comme nous l'avions observé précédemment chez les souris *Pten^{pc-/-};LxrDKO* (présentant une invalidation totale des LXR). Les récepteurs nucléaires LXR étant impliqués dans le maintien de l'homéostasie intracellulaire du cholestérol, nous nous sommes par la suite intéressés au métabolisme lipidique des modèles murins conditionnellement invalidés pour les LXR. L'expression des gènes *Hmgcr* et *Hmgcs*, codant pour des enzymes impliquées dans la voie de biosynthèse du cholestérol, augmente en contexte tumoral, mutant pour *Pten* (Figure 81C).

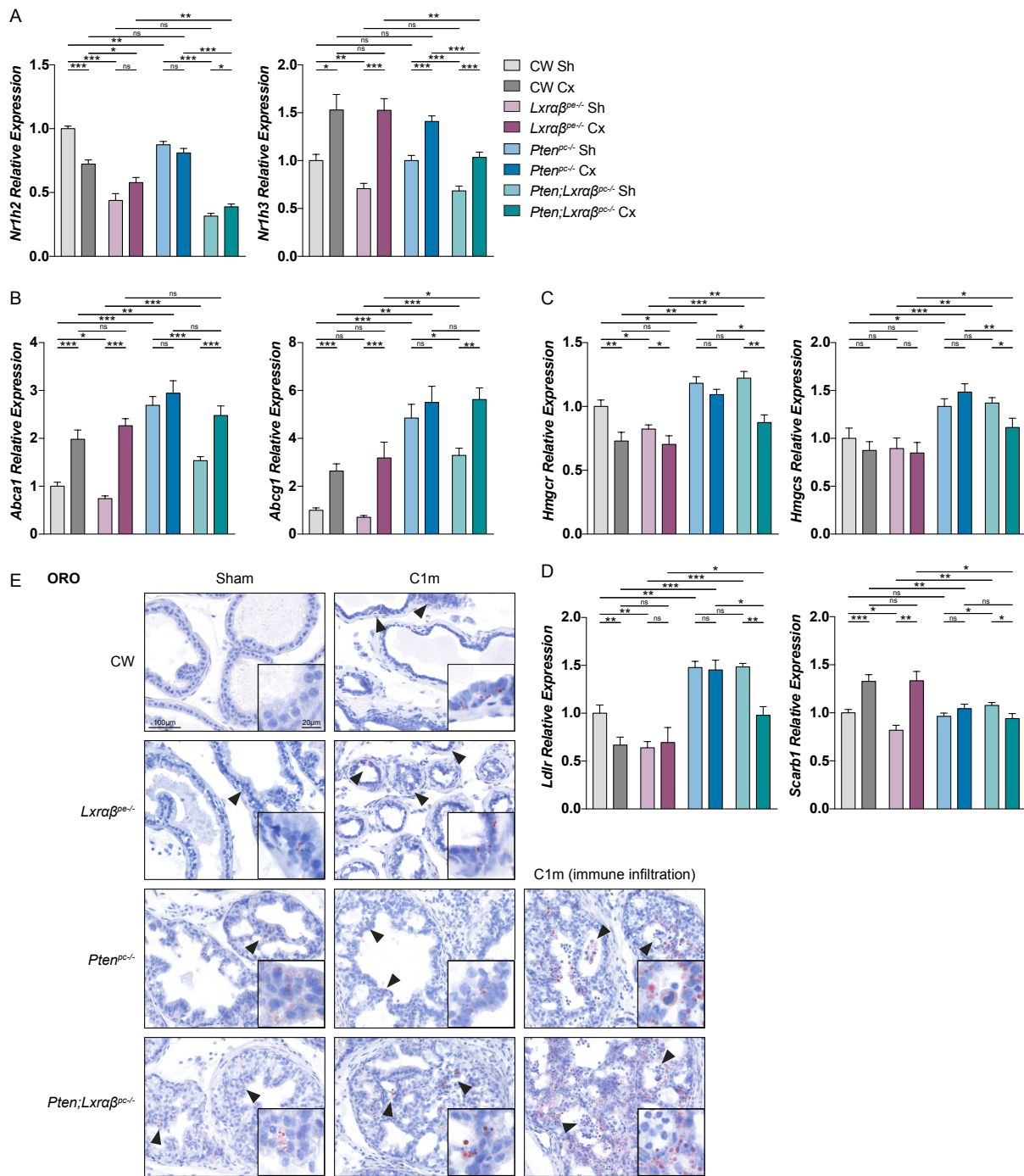


FIGURE 81 | LIPID METABOLISM MODULATION IN RESPONSE TO ANDROGEN DEPRIVATION IN LXR α/β EPITHELIAL-DEFICIENT BENIGN AND TUMOR PROSTATES

(A and B) RT-qPCR analysis of LXR α/β coding genes *Nr1h3/Nr1h2* and LXR target genes *Abca1* and *Abcg1* expression (B). (C) RT-qPCR analysis of cholesterol biosynthesis pathway enzymes coding genes *Hmgcr* and *Hmgcs*. (D) RT-qPCR analysis of cholesterol receptors *Ldlr* and *Scarb1* expression. (E) Oil Red O staining of neutral lipid in prostate. In response to 1 month of castration, immune cells infiltrated prostate tumors present the highest staining for neutral lipids. Groups are composed of at least 8 animals. Bars represent mean \pm SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ and ns: non-significant. Scale bars, 100 μ m, insets 20 μ m.

Seule l'expression de *Hmgcr* diminue suite à l'invalidation des LXR en contexte bénin, ainsi qu'en réponse à la castration. On peut également noter une diminution de l'expression de ces gènes en réponse à la castration chez les souris *Pten;Lxr $\alpha\beta$ ^{pc/-}*. Concernant les gènes codant pour des récepteurs membranaires au LDL-cholestérol et au HDL-cholestérol, l'expression de *Ldlr* est de la même façon diminuée en contexte bénin en réponse à la castration et suite à l'invalidation des LXR (Figure 81D). De même, son expression est augmentée en contexte tumoral, et diminuée en réponse à la castration spécifiquement chez les souris *Pten;Lxr $\alpha\beta$ ^{pc/-}*. L'expression de *Scarb1* est quant à elle augmentée en réponse à la castration chez les souris bénignes, indépendamment du statut des LXR. Afin d'estimer l'effet de ces variations d'expression génique sur l'accumulation lipidique des cellules épithéliales prostatiques, nous avons réalisé une coloration à l'huile rouge afin de mettre en évidence l'accumulation de lipides neutres dans les cellules prostatiques (Figure 81E). Les souris *Lxr $\alpha\beta$ ^{pc/-}* semblent présenter une légère accumulation de lipides neutres au niveau des cellules épithéliales par rapport aux souris contrôles qui ne présentent pas ou très peu de marquage. En réponse à un mois de castration, les souris bénignes présentent une accumulation accrue de lipides neutres au niveau de l'épithélium. Suite à l'invalidation de *Pten*, l'accumulation des lipides neutres est plus importante dans les tumeurs que dans l'épithélium sain, indépendamment du statut LXR. La castration semble majorer l'accumulation lipidique en contexte tumoral. Il est intéressant de noter que les zones tumorales touchées par une importante infiltration immunitaire sont également celles qui présentent le plus d'accumulation de lipides. Ces observations histologiques ne permettent cependant pas de conclure sur la teneur en lipides des prostates et sur l'éventuel effet de l'invalidation épithéliale des LXR sur le métabolisme lipidique. Des dosages de lipides, du cholestérol et de ses précurseurs, devront être réalisés pour apprécier plus précisément et de façon quantitative les modifications du métabolisme prostatique. Cependant, en prenant l'ensemble de ces résultats dans leur globalité, nous pouvons suggérer une augmentation de l'accumulation du cholestérol chez les souris *Lxr $\alpha\beta$ ^{pc/-}*, qui expliquerait par le jeu d'un rétrocontrôle négatif, la diminution de l'expression de gènes impliqués dans la synthèse et le captage du cholestérol. Avec le même raisonnement, il est possible que la castration accroisse l'accumulation lipidique chez les souris, ce qui expliquerait la diminution de l'expression des gènes *Hmgcr*, *Hmgcs* et *Ldlr*.

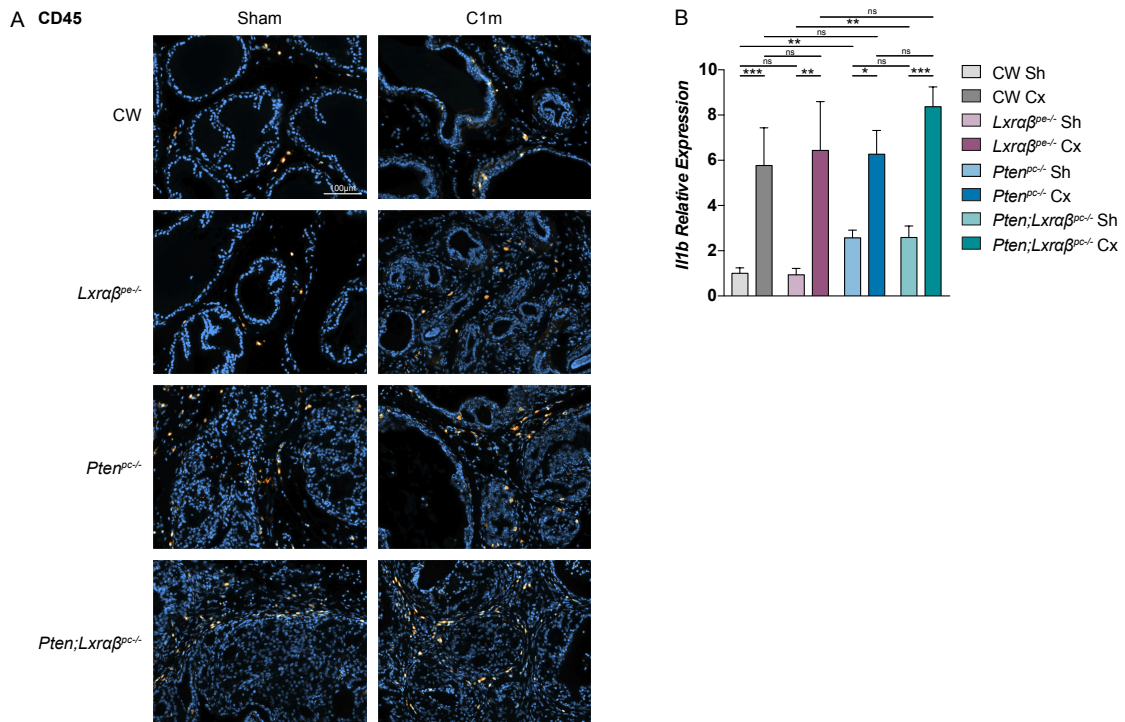


FIGURE 82 | IMMUNE PHYSIOLOGY OF EPITHELIAL CONDITIONAL INVALIDATION OF LXR $\alpha\beta$ EPITHELIAL-DEFICIENT BENIGN AND TUMOR PROSTATES

(A) Immunohistological staining of the pan-leucocytes marker CD45 in sham operated (Sh) or in 1 month castrated (C1m) mice. (B) RT-qPCR analysis of inflammatory gene *IIfb* expression. Groups are composed of at least 8 animals. Bars represent mean \pm SEM. Statistical analyses were performed via Mann-Whitney's test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ and ns: non-significant. Scale bars, 100 μm .

Physiologie immunitaire des prostates murines présentant une invalidation épithéliales des récepteurs nucléaires LXR en condition bénigne et tumorale, et réponse à la castration

Si la littérature est abondante sur l'importance du rôle des LXR dans la fonction des cellules immunitaires et bien que les données de notre premier article confirme leur importance dans la réponse immunitaire induite par la castration, il n'est pas à exclure que l'invalidation épithéliale des LXR concoure, par le biais de facteurs paracrines notamment, à moduler l'activité du système immunitaire. Pour répondre à cette question, nous nous sommes finalement intéressés aux cellules immunitaires par l'étude histologique du marqueur pan-leucocytaire CD45. Si une augmentation du nombre de cellules immunitaires est observée au sein des prostates mutantes pour *Pten*, il n'existe pas de différence entre les épithéliums prostatiques des animaux sauvages ou invalidés pour les LXR (Figure 82A). De même, la castration, en contexte bénin comme tumoral induit une augmentation du nombre de cellules CD45⁺, quel que soit le statut LXR. Afin d'évaluer le statut inflammatoire des prostates, nous avons analysé en RT-qPCR l'expression du gène codant pour la cytokine inflammatoire IL-1 β (Figure 82B). Son expression est logiquement augmentée en contexte tumoral, par rapport au contexte bénin, ainsi qu'en réponse à la castration. L'expression de *Il1b* n'est cependant pas modifiée par l'invalidation des LXR. Il est donc probable que la réponse inflammatoire exacerbée par l'invalidation totale des LXR précédemment observée en réponse à la castration soit liée à l'absence des LXR au niveau de la composante non épithéliale des prostates, en l'occurrence, des cellules immunitaires. Ainsi, ces données préliminaires montrent que l'absence des LXR au niveau de l'épithélium ne semble pas moduler ni le recrutement immunitaire ni l'inflammation liés au contexte tumoral ou induits en réponse à la castration.

D. Conclusion

Le but de ce troisième axe de recherche était de déterminer l'effet de l'inactivation des récepteurs nucléaires LXR spécifiquement au niveau des cellules épithéliales prostatiques par l'étude phénotypique des prostates des souris *Lxrαβ^{pc-/-}* et *Pten;Lxrαβ^{pc-/-}*, afin de se prémunir de la fonction des LXR dans les cellules immunitaires notamment. Nos résultats préliminaires montrent que l'inactivation épithéliale des LXR 1) ne semble pas induire de phénotype prostatique, 2) ne semble pas moduler la réponse à la castration et 3) ne semble pas influencer le recrutement de cellules immunitaires ou 4) le développement d'une inflammation de la prostate en contexte bénin comme en contexte tumoral. Cependant, 5) l'inactivation épithéliale des LXR pourrait moduler l'accumulation de lipides par l'épithélium prostatique, notamment en réponse à la castration. Des analyses complémentaires de dosages intra-prostatiques de différentes espèces lipidiques seront nécessaires pour conclure sur ce point.

DISCUSSION

Les différentes études conduites au cours de ce travail de thèse ont permis d'approfondir les connaissances scientifiques sur le rôle et la fonction des récepteurs nucléaires LXR *in vivo* dans la glande prostatique normale et tumorale, et particulièrement dans sa réponse à la privation androgénique. Ces travaux ont notamment permis de mettre en avant le rôle de ces récepteurs dans la réponse du système immunitaire à la privation androgénique de la prostate, en contexte bénin et en contexte tumoral. Par ailleurs, le rôle des récepteurs nucléaires et plus particulièrement des LXR dans le cancer de la prostate a fait l'objet d'une revue présentée en annexes (Bousset et al., 2018).

Nos résultats montrent que les souris invalidées pour les récepteurs nucléaires LXR présentent une réponse aberrante à la castration, caractérisée par une infiltration massive de cellules immunitaires, et notamment des macrophages inflammatoires. Ces derniers favorisent l'installation d'une inflammation chronique de la prostate, qui conduit, via la sécrétion de cytokines inflammatoires telles que l'ostéopontine, à une hyperprolifération et plus tardivement au développement de néoplasies prostatiques. En contexte tumoral, induit par la perte du suppresseur de tumeurs *Pten*, nous observons un mécanisme similaire, où la privation androgénique des souris porteuses de tumeurs déficientes pour les LXR conduit à la mise en place d'un microenvironnement inflammatoire, associé à une hyperprolifération prostatique. Afin de s'affranchir du rôle des récepteurs nucléaires LXR dans les cellules stromales et immunitaires, nous avons développé un modèle murin d'invalidation ciblée de ces récepteurs, au niveau de l'épithélium prostatique. Si l'invalidation épithéliale de ces récepteurs ne semble pas induire de phénotype prostatique particulier, en contexte normal comme tumoral, elle pourrait être associée à des anomalies du métabolisme lipidique qui restent cependant à élucider. A la vue de ces résultats, plusieurs points restent en suspens et seront discutés dans cette partie :

- Par quels mécanismes les récepteurs nucléaires LXR, et plus largement les altérations du métabolisme lipidique peuvent initier et/ou promouvoir le développement du cancer de la prostate ?
- Quel est le rôle de l'ostéopontine dans l'initiation et la progression du cancer de la prostate ?
- Comment les récepteurs nucléaires LXR et/ou les altérations du métabolisme du cholestérol peuvent perturber l'activité des macrophages ?
- Les signalisations dépendantes des LXR et de PTEN peuvent-elles moduler la signalisation androgénique et la réponse à la castration ?
- L'invalidation de *Pten* est-elle associée à une perturbation du métabolisme du cholestérol ?

I. PAR QUELS MECANISMES LES LXR, ET PLUS LARGEMENT LES ALTERATIONS DU METABOLISME LIPIDIQUE PEUVENT-ILS INITIER ET/OU PROMOUVOIR LE DEVELOPPEMENT DU CANCER DE LA PROSTATE ?

Comme nous l'avons présenté en introduction, les récepteurs nucléaires LXR ont un rôle à jouer dans les pathologies tumorales, et plus particulièrement dans le cancer de la prostate (De Boussac et al., 2013). Le travail réalisé dans le cadre de cette thèse a mis en évidence qu'en contexte de castration, l'inactivation des LXR est associée au développement de néoplasies prostatiques *in vivo*. Si la privation androgénique constitue ici un stress hormonal qui initie la survenue de lésions précancéreuses, une étude précédemment publiée par l'équipe a montré qu'un stress métabolique, induit par un régime riche en cholestérol, peut de la même façon conduire à une hyperprolifération et au développement de néoplasies du lobe dorsal de la prostate des souris invalidées pour les LXR (Pommier et al., 2013). D'un point de vue moléculaire, l'administration d'un régime riche en cholestérol aux souris invalidées pour les LXR conduit à une augmentation des taux d'esters de cholestérol intra-prostatiques et de cholestérol libre, expliquée par une diminution de l'efflux dépendant du transporteur ABCA1 et par une augmentation de l'influx via le récepteur LDLR. Bien que les mécanismes soient encore inconnus, cette accumulation de cholestérol est associée à une augmentation de l'expression de la méthyltransférase EZH2 qui inhibe l'expression des suppresseurs de tumeurs *Nkx3-1* et *Msmb*, ce qui pourrait contribuer directement au développement néoplasique (Pommier et al., 2013).

Il serait donc intéressant d'étudier l'accumulation protéique de EZH2 et éventuellement de confirmer sa surexpression dans les cellules en prolifération dans les prostates des souris castrées invalidées pour les LXR développant des néoplasies. Cependant, les gènes associés à la néoplasie *Nkx3-1* et *Msmb* étant des gènes androgéno-régulés, leur expression est par définition effondrée dans notre modèle de castration, indépendamment de la présence ou non des récepteurs LXR, ce qui ne permet pas d'établir un lien direct entre l'absence des LXR et la dérégulation de l'expression de ces gènes dans ce contexte particulier.

De plus, chez les souris invalidées pour les LXR et nourries avec un régime riche en cholestérol, le taux de renouvellement des cellules épithéliales est augmenté, principalement caractérisé par une augmentation de la prolifération des cellules luminales CK18⁺ mais également des cellules basales p63⁺, associée à une augmentation de l'apoptose des cellules prostatiques (Pommier et al., 2013). De façon intéressante, une autre étude a montré que l'administration d'un régime riche en lipides chez des souris sauvages pendant 4 mois, induisait de la même façon la

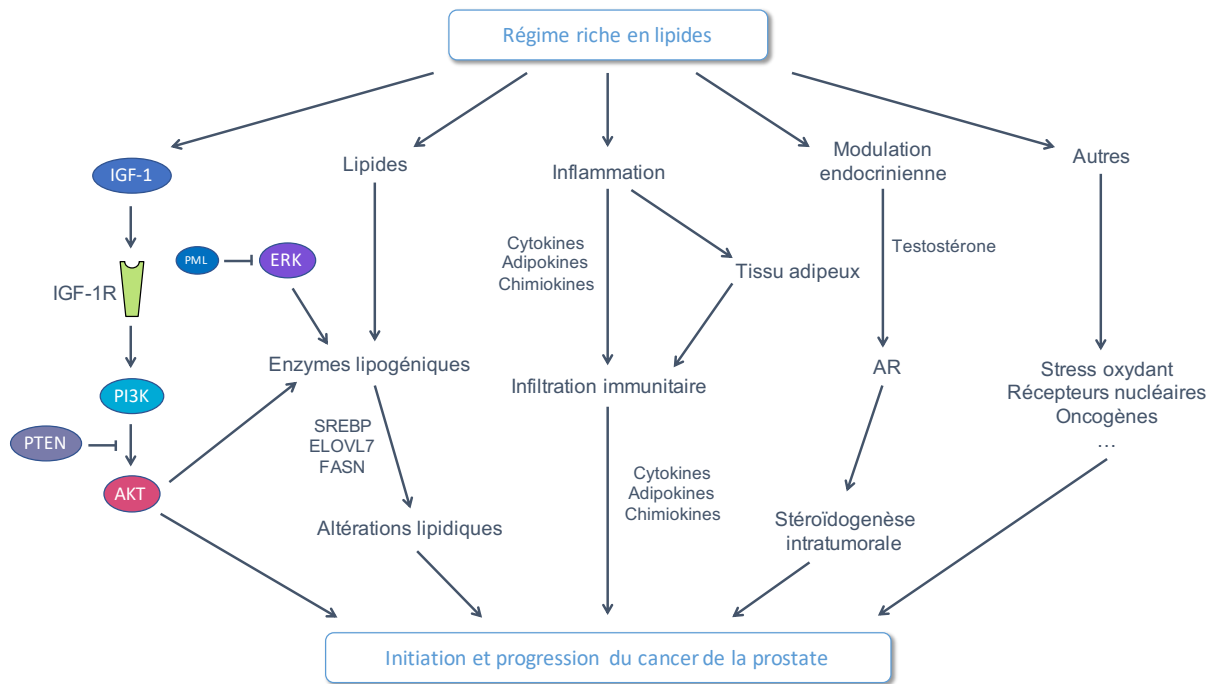


FIGURE 83 | MÉCANISMES POTENTIELS PAR LESQUELS UN RÉGIME RICHE EN LIPIDES PEUT INITIER ET PROMOUVOIR LE CANCER

Modifié d'après (Narita et al., 2019).

formation de néoplasies prostatiques (Kwon et al., 2016b). Ce phénotype pré-tumoral est associé à une infiltration de cellules immunitaires, à l'expression de cytokines inflammatoires mais aussi à une augmentation de la différenciation des cellules basales vers luminales. Ainsi, le régime riche en lipides serait capable de promouvoir la différenciation de certaines cellules basales en cellules luminales, conduisant à une augmentation de la prolifération. Bien que nous ayons identifié une augmentation de la prolifération des cellules luminales CK8⁺, il serait intéressant d'étudier dans nos modèles si l'inflammation observée en réponse à la castration est également associée à une augmentation de la différenciation basale vers luminale, par la réalisation d'un co-marquage p63/CK8.

Par ailleurs, d'autres modèles de surcharge en lipides et/ou en cholestérol ont conduit *in vivo* au développement de néoplasies prostatiques. Ces données ont permis de poser différentes hypothèses pour expliquer les mécanismes par lesquels des altérations métaboliques peuvent contribuer au cancer, bien que les relations restent complexes et controversées : la mobilisation de signalisations dépendantes des facteurs de croissance, la perturbation du métabolisme lipidique, l'installation d'une inflammation de la prostate, ou encore la modulation des signalisations hormonales (Narita et al., 2019) (Figure 83).

Afin d'expliquer le rôle de l'alimentation sur la survenue d'inflammation et l'initiation de la tumorigenèse prostatique, Vykhovanets et ses collaborateurs ont publié une série d'articles sur l'implication de la voie NF- κ B. Ils ont montré en modèle murin, que l'administration d'IL-1 β induit une augmentation de l'activation de la voie NF- κ B concomitante à l'infiltration leucocytaire et la production d'IL-17 au niveau de la prostate (Vykhovanets et al., 2009). De façon intéressante, les animaux nourris par un régime riche en lipides présentent de façon systémique une sur-activation de la voie NF- κ B, notamment au niveau de la prostate, due à une augmentation du stress oxydant. Ce phénotype est corrélé avec une augmentation de l'expression des cibles de la voie NF- κ B COX2 et NOS (Vykhovanets et al., 2011). Il a par la suite été confirmé qu'un régime riche en lipides augmente les taux plasmatiques et prostatiques de cytokines inflammatoires dont l'IL-6, qui est associée à l'activation de l'axe STAT3/NF- κ B (Shankar et al., 2012). Ainsi, en modèle murin, un régime riche en lipides conduit à l'activation de la voie NF- κ B et l'induction de stress oxydant, des facteurs pouvant relier l'alimentation à l'inflammation prostatique et le développement de lésions précancéreuses. Un autre exemple de modèle murin d'inflammation « stérile », induite par l'activation constitutive de la kinase IKK2 (*I κ B kinase 2*) dans l'épithélium prostatique confirme le rôle central de la voie NF- κ B. Ce modèle d'inflammation ne permet pas l'initiation tumorale dans un contexte sauvage.

Cependant, en combinaison avec la perte hétérozygote du suppresseur de tumeurs *Pten*, les auteurs ont corrélé la présence d'une inflammation persistante, caractérisée par l'infiltration de neutrophiles et de macrophages, avec une hyperplasie et une dysplasie de l'épithélium prostatique, ainsi qu'avec la perte des cellules myofibrillaires entourant les acini. Au final, l'induction de l'inflammation, causée par l'activation constitutive de la voie NF- κ B, conduit à une augmentation de la taille des tumeurs, mais sans dissémination métastatique (Birbach et al., 2011).

L'administration d'un régime riche en cholestérol favorise également la progression du cancer de la prostate *in vivo*. En effet, l'administration d'un régime riche en lipides ou de type *western diet* accélère la progression tumorale, augmente l'agressivité des lésions et la dissémination métastatique des tumeurs prostatiques développées par le modèle murin TRAMP (présentant une expression ciblée de l'antigène SV40 T au niveau de l'épithélium prostatique, sous le contrôle du promoteur de la probasine) (Hu et al., 2018) (Cho et al., 2015) (Llaverias et al., 2010). Ces souris présentent également les signes d'une inflammation systémique, caractérisée par une augmentation de l'expression de cytokines inflammatoires et d'adipokines plasmatiques. Ces données ont été confirmées en modèle *Pten^{pc-/-}*, où l'administration d'un régime riche en lipides accélère également la croissance tumorale (Hayashi et al., 2018). La progression tumorale, qui est associée à une augmentation de l'infiltration par les MDSC et des macrophages M2, est réversée par l'administration de celecoxib, un anti-inflammatoire non stéroïdien. Ces données confirment l'hypothèse que l'inflammation serait un médiateur important de la progression tumorale favorisée par les régimes riches en lipides.

Ainsi, la perturbation du métabolisme lipidique est corrélée à l'induction d'une inflammation de la prostate. Nos modèles murins invalidés pour les récepteurs nucléaires LXR présentent une réponse inflammatoire accrue en réponse à la castration. Compte-tenu du rôle des LXR dans le maintien de l'homéostasie intracellulaire du cholestérol, il serait donc intéressant de mieux caractériser leur métabolisme lipidique prostatique. Pour ce faire, nous proposons d'analyser par western blot et immunohistochimie l'expression de protéines impliquées dans l'influx du cholestérol (SR-B1 et LDLR) ainsi que dans son efflux (ABCA1 et ABCG1). De même, des analyses de dosages des lipides et plus particulièrement du cholestérol pourraient nous permettre de lier l'inflammation observée en réponse à la castration chez les souris invalidées pour les LXR, à une éventuelle suraccumulation du cholestérol.

II. QUEL EST LE ROLE DE L'OSTEOPONTINE DANS L'INITIATION ET LA PROGRESSION DU CANCER DE LA PROSTATE ?

L'ostéopontine (OPN) est une sialoprotéine osseuse, impliquée dans l'attachement des ostéoclastes à la matrice osseuse minéralisée. Cette protéine versatile est également une cytokine inflammatoire. L'ostéopontine est principalement sécrétée par les ostéoblastes, les ostéocytes, et différents types de cellules immunitaires dont les macrophages activés. De nombreuses études ont démontré une augmentation de la sécrétion d'OPN dans différents cancers dont celui de la prostate, du sein, les mélanomes, les ostéosarcomes ou encore les glioblastomes (Rangaswami et al., 2006).

L'expression de l'ostéopontine a été confirmée dans des lignées cellulaires de cancer de la prostate ainsi que dans les tumeurs des patients (Thalmann et al., 1999). Il a également été rapporté une élévation des taux sériques d'OPN chez les patients atteints de cancer de la prostate par rapport aux sujets sains (Fedarko et al., 2001). L'augmentation de l'expression de l'ostéopontine est de plus associée à une diminution de la survie des patients et elle se trouve corrélée au score de Gleason (Forootan et al., 2006). Ce phénomène est également retrouvé dans d'autres types de cancers (poumon, sein, foie...) où une méta-analyse a montré une corrélation entre l'expression de l'ostéopontine et la survie totale et sans récurrence des patients (Weber et al., 2010).

Lors de mes travaux de thèse, nous avons montré que la réponse inflammatoire observée chez les souris castrées invalidées pour les récepteurs nucléaires LXR est caractérisée par une forte surexpression d'ostéopontine par le microenvironnement tumoral. En culture cellulaire, cette cytokine est capable de stimuler la prolifération des cellules épithéliales prostatiques. Nous n'avons cependant pas étudié les mécanismes moléculaires expliquant le rôle pro-prolifératif de l'ostéopontine dans le contexte de notre modèle murin. Toutefois, de nombreuses études ont identifié plusieurs voies altérées en réponse à cette cytokine pro-inflammatoire. Concernant le cancer de la prostate, une étude menée *in vitro* a montré que le traitement des cellules LNCaP par de l'ostéopontine induit leur prolifération via l'activation de la signalisation EGFR, en favorisant l'interaction du récepteur avec l'intégrine $\beta 1$, un ligand de l'ostéopontine (Angelucci et al., 2004). De plus, une étude originale de co-culture a montré que les macrophages, via la sécrétion de cytokines dont l'OPN, favorisent la prolifération de cellules épithéliales prostatiques de manière dépendante de la phosphorylation des kinases AKT et ERK1/2 (Dang and Liou, 2018). Par ailleurs, il avait déjà été démontré que l'ostéopontine pouvait stimuler l'expression de VEGF via la phosphorylation de ERK1/2 (Gupta et al., 2013) ainsi que

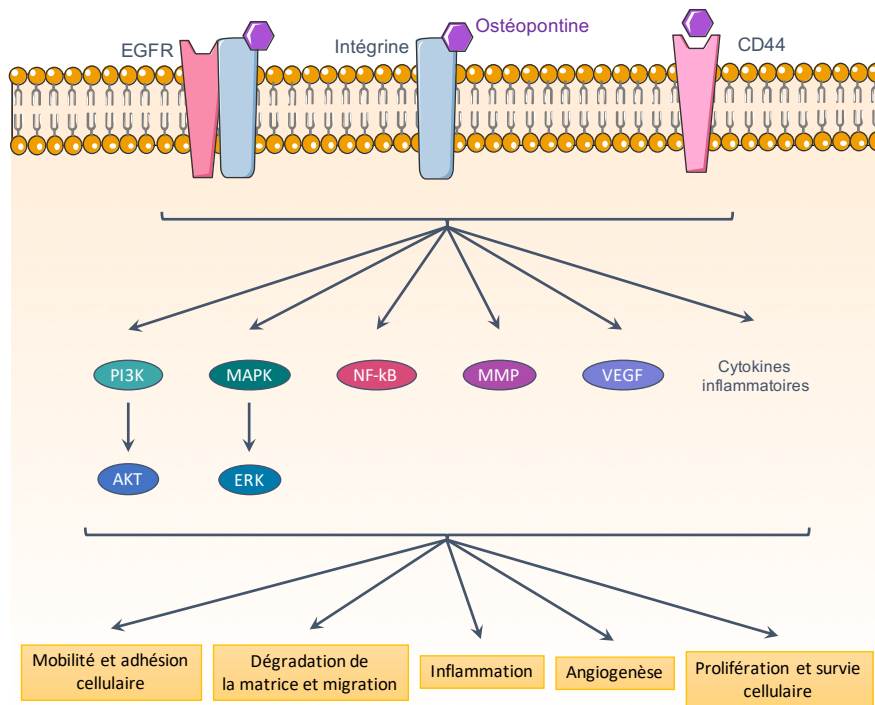


FIGURE 84 | ACTION PRO-TUMORALE DE L'OSTEOPONTINE

L'ostéopontine peut se lier au récepteur CD44 ou aux intégrines pour activer plusieurs voies de signalisation. L'ostéopontine, en se liant aux intégrines, peut favoriser l'activité du récepteur EGFR. Au final, l'ostéopontine a une action pro-tumorale en favorisant, la mobilité et l'adhésion cellulaire, la dégradation de la matrice et la migration cellulaire, l'inflammation, l'angiogenèse, la prolifération et la survie cellulaire.

l'activation de AKT via l'intégrine $\alpha v \beta 3$ ou le récepteur de surface CD44 (Robertson et al., 2010). D'autres études ont également démontré que l'ostéopontine favorise, en plus de la prolifération cellulaire, la migration des cellules tumorales prostatiques (Khodavirdi et al., 2006) et la croissance de colonies cellulaires non adhérentes (Thalman et al., 1999). A la lumière de ces données, il serait intéressant d'étudier, dans notre contexte, si le traitement de cellules épithéliales prostatiques par l'OPN conduit également à une stimulation de la prolifération dépendante de l'activation des kinases AKT et ERK (Figure 84).

De façon intéressante, les LXR semblent capables de réguler l'expression de l'ostéopontine. En effet, des agonistes synthétiques des LXR inhibent l'expression de l'ostéopontine et son accumulation protéique par les macrophages, en réponse à des signaux inflammatoires tels que le LPS ou au traitement par du $TNF\alpha$, de l' $IL-1\beta$ ou de l' $IFN\gamma$ (Ogawa et al., 2005). De même, en modèle de lithiase urinaire, l'activation des LXR par l'administration d'un ligand synthétique inhibe *in vivo*, l'accumulation protéique de l'OPN (Chen et al., 2019). Ce phénomène est dépendant de l'inhibition de la fixation des facteurs c-Fos et c-JUN sur le site AP-1 du promoteur de l'ostéopontine, empêchant ainsi sa transcription, en réponse à l'activation des LXR par des agonistes (Tachibana et al., 2012). Dans nos modèles murins invalidés pour les LXR, la castration induit une augmentation de l'expression prostatique de l'ostéopontine. On peut ainsi supposer que l'absence des LXR lève la répression sur la transcription de l'OPN, favorisant son expression en réponse à la castration. Il serait donc intéressant de vérifier dans nos modèles que la castration induit la fixation des facteurs c-Fos et c-Jun sur le site AP-1 du promoteur de l'ostéopontine, par des expériences d'immunoprécipitation de la chromatine, particulièrement en l'absence des récepteurs LXR.

L'ensemble de ces données suggère que l'ostéopontine pourrait constituer un médiateur clé de l'inflammation qui favoriserait l'initiation et la promotion du cancer (Castello et al., 2017). En effet, si l'ostéopontine initie des processus clés pour la progression tumorale comme la prolifération, l'adhésion ou la migration cellulaire, elle joue également un rôle dans les réponses immunitaires. L'ostéopontine régule en effet la fonction des cellules immunitaires comme l'adhésion des monocytes (Giachelli et al., 1998), leur migration (Weber et al., 2002), ainsi que leur différenciation (Crawford et al., 1998) ; elle est également impliquée dans la régulation du processus de phagocytose (McKee and Nanci, 1996) (Kahles et al., 2014). Si l'ostéopontine est exprimée à faible niveau dans les monocytes et plus fortement lors de la différenciation des macrophages, plusieurs cytokines comme le TNF, IL-6, $IFN\gamma$, IL-10, CSF1, IL-1 β , peuvent induire son expression par les macrophages tout comme une infection bactérienne (Rittling,

2011). *In vivo*, les données de la littérature suggèrent que l'expression de l'ostéopontine par les macrophages est fréquemment associée à l'inflammation. L'ostéopontine régulerait différentes fonctions des macrophages comme la production de cytokines et de chimiokines, la fonction de phagocytose ainsi que la présentation des antigènes. Par ailleurs, une étude récente a montré que l'ostéopontine est chimioattractante pour les macrophages et qu'elle favorise l'infiltration de glioblastomes par des TAM (Wei et al., 2019). A l'inverse, l'invalidation de l'ostéopontine inhibe le recrutement de TAM en modèle murin de mélanome (Kale et al., 2014) ou d'hépatocarcinome (Zhu et al., 2019).

Ainsi il serait intéressant de confirmer dans le modèle invalidé pour les LXR que l'ostéopontine est exprimée et sécrétée par les macrophages en réponse à la castration, notamment par la réalisation d'un co-marquage F4/80-OPN. L'utilisation d'un anticorps bloquant dirigé contre l'ostéopontine ou le croisement des souris LXR DKO avec des souris invalidées pour l'OPN (Rittling et al., 1998) nous permettrait de déterminer si cette cytokine joue effectivement un rôle clé dans le recrutement de cellules immunitaires ainsi que dans la stimulation de la prolifération cellulaire et le développement de néoplasies prostatiques, induites par l'inflammation en réponse à la castration.

III. COMMENT LES RECEPTEURS NUCLEAIRES LXR ET LES ALTERATIONS DU METABOLISME DU CHOLESTEROL PEUVENT-ILS PERTURBER L'ACTIVITE DES MACROPHAGES ?

Comme nous l'avons présenté en introduction, les récepteurs nucléaires LXR jouent un rôle important dans la physiologie du système immunitaire et plus particulièrement dans la fonction des macrophages. Dans notre article, nous avons noté l'installation d'une inflammation chronique de la prostate chez les souris invalidées pour les LXR, en réponse à la castration. Nous expliquons ce phénomène par un défaut de phagocytose des cellules épithéliales entrant en apoptose en réponse à la castration, par les macrophages invalidés pour les LXR. Ce défaut de phagocytose est associé à une production accrue de cytokines inflammatoires.

D'autres études ont démontré l'importance de la signalisation LXR pour la clairance des cellules apoptotiques et le maintien de la tolérance immunitaire par les macrophages (A-Gonzalez et al., 2009) (Rébé et al., 2009). En effet, les récepteurs LXR activent la signalisation MerTK pour permettre la clairance des cellules apoptotiques, ainsi que l'expression des transporteurs ABCA1 et ABCG1 pour favoriser l'efflux de cholestérol afin de contrer notamment, l'accumulation de cholestérol dérivé des membranes phagocytées (A-Gonzalez et al., 2009). En retour, la signalisation MerTK induit l'expression des LXR et leur activité transcriptionnelle pour favoriser la résolution de l'inflammation (Choi et al., 2015). De fait, les cellules F4/80⁺ des souris LXR DKO présentent un défaut de phagocytose et d'élimination des cellules apoptotiques, au niveau de la rate notamment. Ce défaut de phagocytose est associé à l'absence d'expression du récepteur MerTK, suite à la stimulation de macrophages invalidés pour les LXR par des cellules apoptotiques. De plus, l'inactivation des LXR est associée dans ce contexte, à l'expression de cytokines inflammatoires (IL-1 β) et non de cytokines pro-tolérologènes (comme IL-10 ou TGF β 1), pour permettre la résolution de l'inflammation suite à la phagocytose (A-Gonzalez et al., 2009).

En plus de leur rôle dans l'activité de phagocytose, les LXR, en régulant l'homéostasie du cholestérol des macrophages, ont également un effet sur leur polarisation et leurs capacités de réponse aux signaux pro et anti-inflammatoires (Castrillo and Tontonoz, 2004) (Goossens et al., 2019). Ces phénomènes impliquent les transporteurs d'efflux du cholestérol ABCA1 et ABCG1, deux gènes cibles des LXR qui sont responsables du transport inverse du cholestérol et dont l'absence chez la souris, induit une accumulation du cholestérol libre et estérifié dans les macrophages (Yvan-Charvet et al., 2007). Cette accumulation conduit à une réponse inflammatoire exacerbée en réponse aux ligands TLR, dont le LPS (Yvan-Charvet et al., 2007)

(Fessler and Parks, 2011). Ceci implique une amplification de la signalisation TLR en réponse à l'accumulation de cholestérol (Yvan-Charvet et al., 2008) (Tall and Yvan-Charvet, 2015). Ce phénomène, induit artificiellement dans les souris invalidées pour ABCA1 ou ABCG1, est mobilisé naturellement par la signalisation TLR qui inhibe l'activité des LXR, conduisant à une diminution de l'efflux de cholestérol des macrophages et à une amplification du signal TLR (Feingold and Grunfeld, 2010) (Castrillo et al., 2003). A l'inverse, l'expression de ABCA1 et de ABCG1 est fortement augmentée dans les macrophages pendant l'efférocytose (Gerbod-Giannone et al., 2006), en lien avec la suppression de la réponse inflammatoire dépendante des TLR dans ce contexte. Ainsi, l'effet anti-inflammatoire clé des LXR sur les macrophages, pourrait s'expliquer en partie par la stimulation du transport réverse du cholestérol (Ito et al., 2015). Ce mécanisme est complété par un effet inhibiteur de l'efflux de cholestérol sur la prolifération des cellules immunitaires en réponse aux cytokines inflammatoires (Yvan-Charvet et al., 2010) et sur l'expression des chimiokines inflammatoires CCL2 et CCL3 dans les radeaux lipidiques membranaires riches en cholestérol (Westerterp et al., 2013).

Parallèlement, chez les souris déficientes pour ABCA1, l'accumulation de cholestérol induit une inhibition de la réponse à des stimuli anti-inflammatoires tels que IL-4 et IL-13 (Pradel et al., 2009). Dans le même ordre d'idée, l'inhibition de l'expression de *Dhcr24*, l'enzyme responsable de la synthèse du desmostérol, un ligand naturel des LXR, conduit à une augmentation de l'expression des gènes inflammatoires et à l'activation de la polarisation M1 des macrophages des souris nourries avec un régime riche en lipides (Spann et al., 2012). A l'inverse, dans un modèle de cancer de l'ovaire, les cellules tumorales induisent l'efflux de cholestérol hors des macrophages, favorisant la réponse à IL-4. Ceci permet une différenciation de TAM avec un phénotype M2, associée à une activité pro-tumorale (Goossens et al., 2019). Ainsi la modulation de l'efflux de cholestérol membranaire est associée à la capacité de polarisation des macrophages.

L'ensemble de ces données montre que le maintien de l'homéostasie du cholestérol des macrophages est important pour garantir leur fonction de phagocytose et la résolution de l'inflammation afin d'éviter un emballement de la réponse inflammatoire. Dans notre contexte, il serait intéressant de confirmer que le défaut de phagocytose et la réponse inflammatoire exacerbée qui en découle soient bien dus aux effets cellule-autonome de l'inactivation des LXR dans les cellules immunitaires et plus particulièrement dans les phagocytes. Pour cela, il serait intéressant d'étudier la réponse à la castration de souris invalidées pour les LXR spécifiquement au niveau des cellules immunitaires par l'utilisation d'une recombinaison dirigeant leur inactivation ciblée dans les macrophages telle que *Lyz2-Cre*, *Csf1r-Cre* ou *Cx3cr1-Cre* (Shi et al., 2018).

IV. LES SIGNALISATIONS DEPENDANTES DES LXR ET DE PTEN PEUVENT-ELLES MODULER LA SIGNALISATION ANDROGENIQUE ET LA REPONSE A LA CASTRATION ?

Comme nous l'avons vu dans l'introduction, les signalisations AR et LXR sont capables d'interférer entre elles. Des travaux précédemment conduit dans l'équipe ont montré que les souris *LXR α ^{-/-}* présentaient une hypersensibilité aux androgènes, restreinte au lobe ventral de la prostate murine (Viennois et al., 2012). Ce phénotype, caractérisé par une surexpression du gène *Sbp*, cible de AR, est associé à une hypersécrétion et une hypertrophie prostatique. D'autres études ont suggéré un dialogue entre les signalisations AR et LXR. En modèle cellulaire, l'expression de *ABCA1* et *ABCG1*, des gènes cibles des LXR, est sensible aux androgènes (Fukuchi et al., 2004b). La signalisation AR n'affectant pas la transcription des LXR, la stabilité des protéines ni leur liaison à l'ADN, les auteurs ont émis l'hypothèse d'une compétition entre ces récepteurs nucléaires pour les co-activateurs (Krycer and Brown, 2011). Nos données montrent que réciproquement, la castration induit une augmentation de l'expression des gènes cibles des LXR (Figure 76). Cependant, ce mécanisme semble indépendant des récepteurs nucléaires LXR puisque leur invalidation ne modifie pas la réponse à la castration de leurs gènes cibles.

De façon intéressante, les gènes cibles des LXR ne sont pas sensibles à la castration en contexte mutant pour *Pten*. Ceci suggère que la perte de *Pten* modifie la réponse à la castration de la prostate. En effet, comme nous l'avons vu figure 72, les gènes androgéno-régulés présentent une moindre réponse à la castration chez les souris *Pten^{pc/-}* par rapport aux souris sauvages. De plus, il est intéressant de noter une plus faible expression des gènes positivement régulés par les androgènes, et inversement, une plus forte expression des gènes négativement régulés par les androgènes chez les souris invalidées pour *Pten* par rapport aux souris sauvages (non castrées) (Figure 72).

Quels peuvent être les mécanismes moléculaires expliquant ces interactions complexes ? Il a été démontré que la perte de *Pten* inhibe l'expression des gènes androgéno-régulés en modulant l'activité de AR (Mulholland et al., 2011). Parmi les hypothèses émises par les auteurs, des facteurs comme EZH2, EGR1 ou JUN, qui exercent une répression sur l'activité de AR, pourraient être inhibés par PTEN. A l'inverse, l'inhibition de la voie PI3K/AKT activerait la signalisation AR en levant la répression sur la signalisation HER (Carver et al., 2011). De plus, ces deux études ont montré que l'activation de AR, via l'expression de son gène cible *Fkbp5*, favoriserait l'activation de la phosphatase PHLPP qui inhiberait ainsi l'activité de AKT. Ces

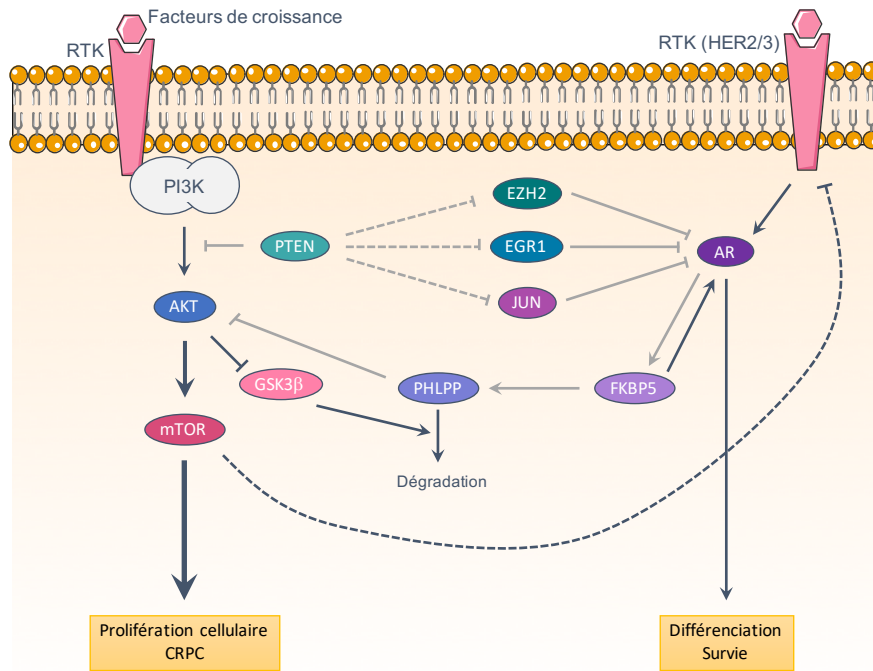


FIGURE 85 | REGULATION DE L'ACTIVITE DE AR PAR PTEN

En régulant l'expression et l'activité de EZH2, EGR2 et c-JUN, la perte de *Pten* inhibe l'activité transcriptionnelle de AR, ce qui conduit à une diminution de la différenciation et de la survie des cellules épithéliales prostatiques. Collectivement, la perte de *Pten* active la signalisation PI3K/AKT et diminue le rétrocontrôle négatif exercé par la phosphatase PHLPP, en aval de la signalisation AR. Cette suractivation de AKT favorise la prolifération épithéliale androgéno-indépendante des cellules prostatiques. Par ailleurs, la perte de *Pten* conduit à la suractivation de AR via l'inhibition de la signalisation HER2/3. Modifié d'après (Mulholland et al., 2011) et (Carver et al., 2011).

données confirment donc l'existence d'un dialogue entre les signalisations dépendantes de PTEN et de AR. Ainsi la résistance à la castration serait une propriété intrinsèque des tumeurs mutantes pour *Pten* (Figure 85).

Dans ce contexte où l'invalidation prostatique des LXR induit une hypersensibilité aux androgènes et où, au contraire, la perte de *Pten* favorise la résistance à la castration des tumeurs, il est possible d'imaginer que les souris *Pten^{pc-/-};LxrDKO* présenteraient une re-sensibilisation aux androgènes par rapport aux souris simples mutantes pour *Pten*. En effet, l'invalidation des LXR en favorisant la signalisation AR, pourrait freiner la résistance à la castration des souris *Pten^{pc-/-}*. Cependant, l'analyse de l'expression des gènes androgéno-régulés chez les souris *Pten^{pc-/-};LxrDKO* (Figure 72) ne permet pas de conclure sur l'effet de l'invalidation des LXR sur l'expression des gènes androgéno-régulés en contexte mutant pour *Pten*. Il serait néanmoins intéressant d'approfondir ces études et de les compléter par une analyse histologique dans le but de grader les lésions tumorales en réponse à la castration, afin de déterminer plus précisément si l'invalidation des LXR module la réponse à la castration des tumeurs prostatiques mutantes pour *Pten*.

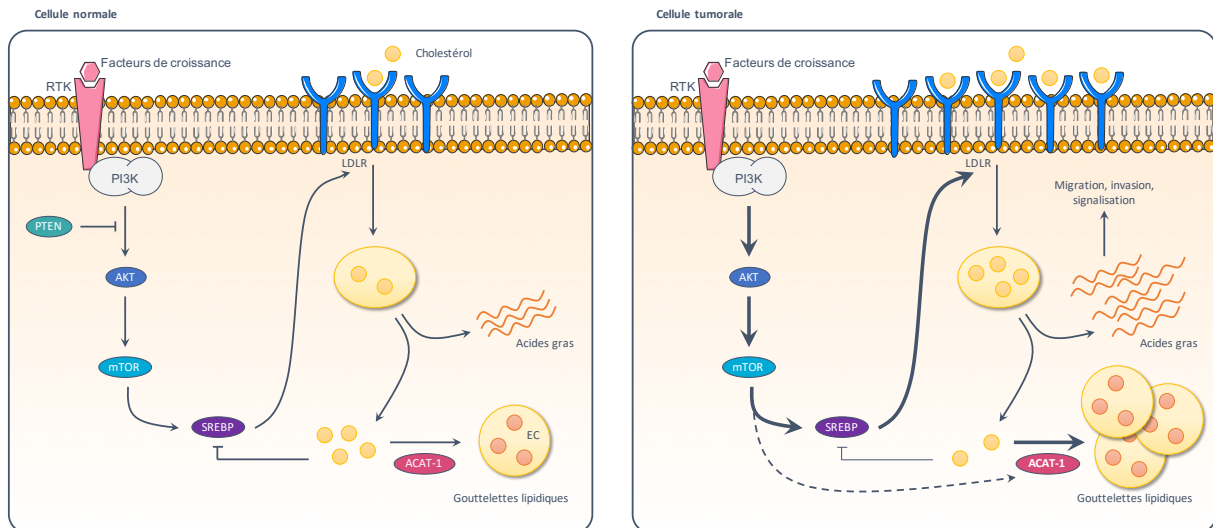


FIGURE 86 | REGULATION DU METABOLISME DU CHOLESTEROL DEPENDANTE DE SREBP FAVORISE LA PROLIFERATION ET LA SURVIE DES CELLULES TUMORALES PROSTATIQUES

Les cellules normales ne présentent pas d'hyperactivation de la voie PI3K/AKT. L'activité des facteurs SREBP est limitée par l'accumulation de cholestérol libre. Au contraire, les cellules tumorales présentent une suractivation de la voie PI3K/AKT suite à la perte de *PTEN*. Le cholestérol libre est estérifié par l'activité de l'enzyme ACAT-1. Les esters de cholestérol sont ensuite stockés dans des gouttelettes lipidiques. L'activité de SREBP est ainsi maintenue par les taux bas de cholestérol libre disponibles. Ceci favorise la prolifération, la migration et l'invasion des cellules tumorales et peut potentiellement influencer également sur le microenvironnement tumoral. EC : esters de cholestérol. *Modifié d'après (Peck and Schulze, 2014).*

V. L'INVALIDATION DE *PTEN* EST-ELLE ASSOCIEE A UNE PERTURBATION DU METABOLISME DU CHOLESTEROL ?

Ce travail de thèse a confirmé que l'inactivation de *Pten* conduit à des altérations du métabolisme lipidique. Les tumeurs des souris *Pten^{pc-/-}* présentent une augmentation de l'expression des gènes cibles de SREBP-2, un facteur de transcription clé de la régulation du métabolisme du cholestérol (Figure 73). Nous avons également noté une augmentation de l'expression des gènes codant les transporteurs du cholestérol LDLR et SR-B1. Enfin, la coloration à l'huile rouge a permis de mettre en évidence une légère accumulation de lipides neutres au sein des tumeurs, qui semble exacerbée en réponse à la castration (Figure 81). Ainsi, à la fois une augmentation de la synthèse *de novo* et du captage pourraient être responsable de l'accumulation de cholestérol dans les tumeurs.

L'altération du métabolisme lipidique est une caractéristique des cellules tumorales prostatiques. L'accumulation excessive de cholestérol est effectivement connue depuis bien longtemps dans les tumeurs prostatiques (White, 1909) (Swyer, 1942). Une étude récente a permis de mettre en évidence que l'accumulation d'esters de cholestérol par les tumeurs prostatiques était la conséquence directe de la perte de *Pten* et de l'activation de la voie PI3K/AKT (Yue et al., 2014). Cette accumulation est en partie liée au captage du cholestérol circulant via le récepteur au LDL-cholestérol LDLR et serait dépendante des facteurs SREBP. L'excès de cholestérol libre intracellulaire serait ensuite converti en esters de cholestérol par ACAT. Ainsi on retrouve une accumulation excessive d'esters de cholestérol dans les tumeurs de haut grade et métastatiques, et la déplétion en esters de cholestérol perturberait l'agressivité du cancer de la prostate (Figure 86).

Les cellules tumorales prostatiques tirent profit de la forme estérifiée du cholestérol pour limiter la toxicité cellulaire du cholestérol libre mais également pour maintenir des taux de cholestérol libre intracellulaire suffisamment bas afin que les facteurs SREBP demeurent actifs. Ce mécanisme permet d'expliquer comment les cellules tumorales maintiennent la surexpression de LDLR via SREBP2, alors que les cellules tumorales perdent le rétrocontrôle négatif exercé par les stérols sur SREBP2 et LDLR (Chen and Hughes-Fulford, 2001). Pour autant, il a été démontré la présence de forts taux de cholestérol dans les métastases osseuses du cancer de la prostate, en lien avec une augmentation de l'influx médié par les récepteurs LDLR et SR-B1 (Thysell et al., 2010). Une autre étude a noté une augmentation de l'expression de SR-B1, corrélée à l'élévation du score de Gleason chez les patients atteints de cancer de la prostate (Schörghofer et al., 2015). De plus, les patients présentant les plus fort taux d'expression de

SR-B1 présentent une diminution de la survie sans récurrence. Les auteurs ont de plus noté une corrélation entre la détection de SR-B1 et pS6 en immunohistochimie, soutenant l'idée que la voie AKT/mTOR pourrait être liée à l'expression de SR-B1. Les travaux de l'équipe, présentés en annexes, n'ont pas permis de mettre en évidence de variations des taux de cholestérol libre et d'esters de cholestérol dans les tumeurs des patients par rapport aux tissus sains (Celhay et al., 2018). Cependant il a été noté une augmentation de l'expression de SR-B1, et non de LDLR. De façon intéressante, il a été relevé une augmentation des taux d'oxystérols (7 β -OHC, 7-KC, 7 α -OHC). Ainsi, on constate en plus d'une perturbation du captage du cholestérol une augmentation des taux d'oxystérols, qui pourrait être responsable d'une activation des récepteurs nucléaires LXR. Ces données mettent en lumière la dérégulation de la balance SREBP/LXR dans le maintien de l'homéostasie du cholestérol dans le cancer de la prostate.

In vivo, la perte de deux suppresseurs de tumeurs, *Pten* et *Pml*, conduit au développement de cancers plus agressifs, avec 30 % de souris présentant une dissémination métastatique au niveau des ganglions, contrairement aux simples mutantes pour *Pten* qui ne présentent globalement qu'un cancer localisé de la prostate (Chen et al., 2018b). La comparaison des deux modèles a permis de mettre en évidence, parmi les principales fonctions biologiques altérées, des anomalies du métabolisme lipidique, renforçant l'idée que l'altération du métabolisme lipidique favorise l'agressivité tumorale. Les auteurs ont démontré que l'accumulation lipidique était due à l'activation de la voie des MAPK, fréquemment altérée dans le cancer de la prostate. Dans cette logique, les auteurs ont étudié l'effet d'un régime riche en lipides sur la tumorigenèse induite par la perte de *Pten* et ont constaté une augmentation de l'agressivité tumorale et de la dissémination métastatique. A l'inverse, le traitement de ces souris par la fatostatine, un inhibiteur de l'activation des facteurs SREBP, réduit la croissance tumorale et la dissémination métastatique.

Les altérations du métabolisme exercent donc un effet cellule-autonome sur les propriétés d'agressivité des cellules tumorales, qui est au moins en partie dépendant des facteurs SREBP (Abate-Shen, 2018). Bien que les mécanismes par lesquels la voie PTEN/PI3K/AKT régule les SREBP restent controversés, plusieurs hypothèses ont été validées jusqu'à maintenant (Krycer et al., 2010). (a) L'insuline conduit à l'activation de la kinase AKT qui peut phosphoryler le précurseur de SREBP pour favoriser l'affinité du complexe SCAP/SREBP pour les vésicules COPII et ainsi permettre son activation post-traductionnelle (Yellaturu et al., 2009). (b) De plus, AKT peut également favoriser le transport de SREBP2 du réticulum endoplasmique vers l'appareil de Golgi (Du et al., 2006). (c) Une autre étude a montré que la voie PI3K/AKT est

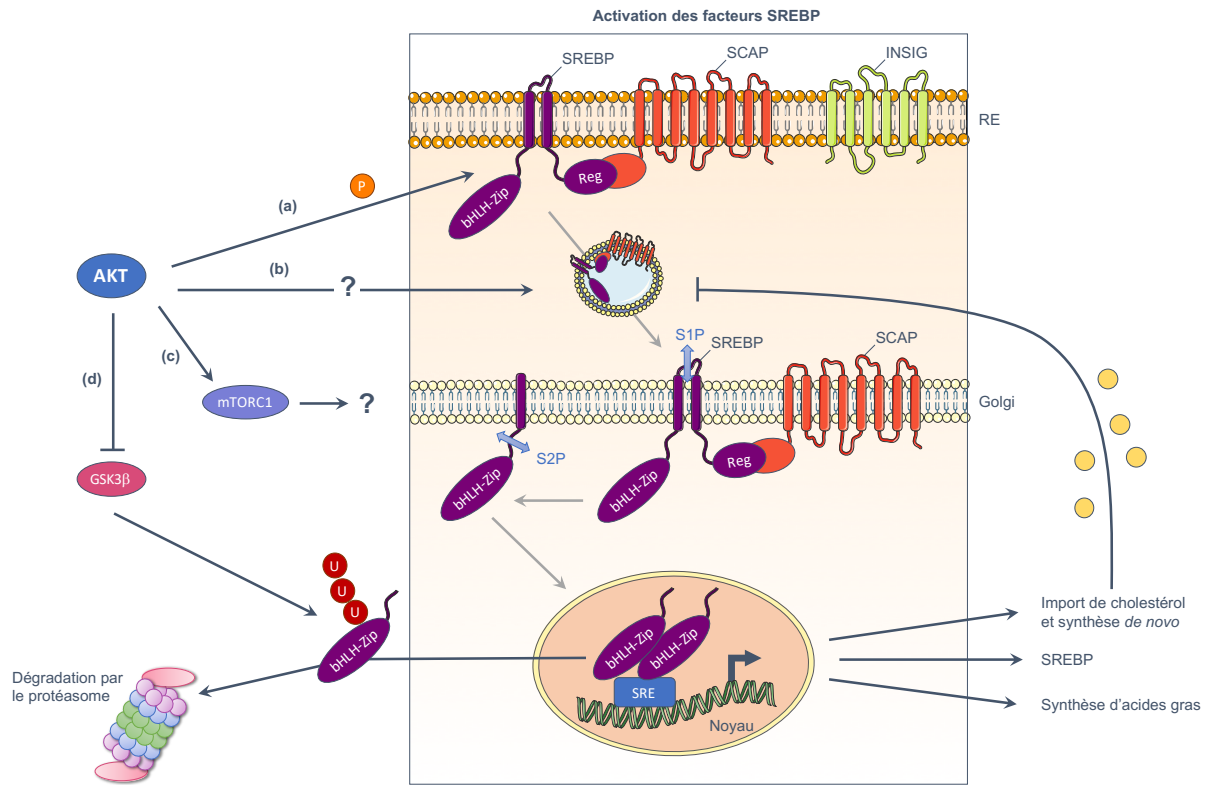


FIGURE 87 | MECANISMES POTENTIELS PAR LESQUELS AKT PEUT MODIFIER L'ACTIVITE DES FACTEURS SREBP

Modifié d'après (Krycer et al., 2010).

capable de réguler la lipogenèse via l'axe AKT/mTORC1/SREBP1 (Porstmann et al., 2008). (d) Enfin, AKT peut augmenter la stabilité de la forme mature de SREBP1 en inhibant sa phosphorylation et sa dégradation par le protéasome dépendante de GSK3 (Sundqvist et al., 2005) (Figure 87).

L'ensemble de ces données suggère que la suractivation de la voie PI3K/AKT dans le cancer de la prostate est liée à une augmentation de l'accumulation du cholestérol, à la fois par une augmentation de sa captation, mais aussi par une augmentation de sa synthèse *de novo*, au travers de l'activation des facteurs SREBP. De façon intéressante, nous avons observé une augmentation de l'expression des gènes cibles des LXR dans les souris *Pten^{pc-/-}* par rapport aux souris contrôles (Figure 72). Ainsi il serait possible d'imaginer que l'accumulation excessive de cholestérol soit responsable de l'activation des récepteurs nucléaires LXR dans le but de venir limiter la surcharge lipidique des cellules tumorales prostatiques. Il serait donc intéressant de quantifier les taux d'oxystérols dans les tumeurs prostatiques du modèle murin *Pten^{pc-/-}* pour éventuellement corrélérer une augmentation de l'accumulation de ligands des LXR à leur activité transcriptionnelle. Cependant, si la surcharge en cholestérol retrouvée chez les souris *Pten^{pc-/-}* nourries avec un régime riche en lipides conduit à une augmentation de l'agressivité des tumeurs (Chen et al., 2018b), l'invalidation des LXR ne semble pas suffisante pour accroître l'accumulation de cholestérol par les tumeurs et ainsi favoriser leur agressivité puisque nous n'observons pas d'aggravation des lésions des souris *Pten;Lxr^{pc-/-}* par rapport aux simples mutantes *Pten^{pc-/-}* (Figure 79). Ceci suggère que la dérégulation de l'homéostasie du cholestérol observée dans les tumeurs mutantes pour *Pten* serait préférentiellement dépendante d'une dérégulation de la balance SREBP/LXR en faveur d'une suractivité des facteurs SREBP. Il serait néanmoins intéressant d'étudier *in vivo* si l'activation des récepteurs nucléaires LXR, par l'administration d'agonistes synthétiques tels que le T0901317 ou le GW3965, peuvent limiter l'accumulation de cholestérol dans les tumeurs, et ainsi freiner leur agressivité, pour favoriser un retour à l'équilibre de la balance SREBP/LXR.

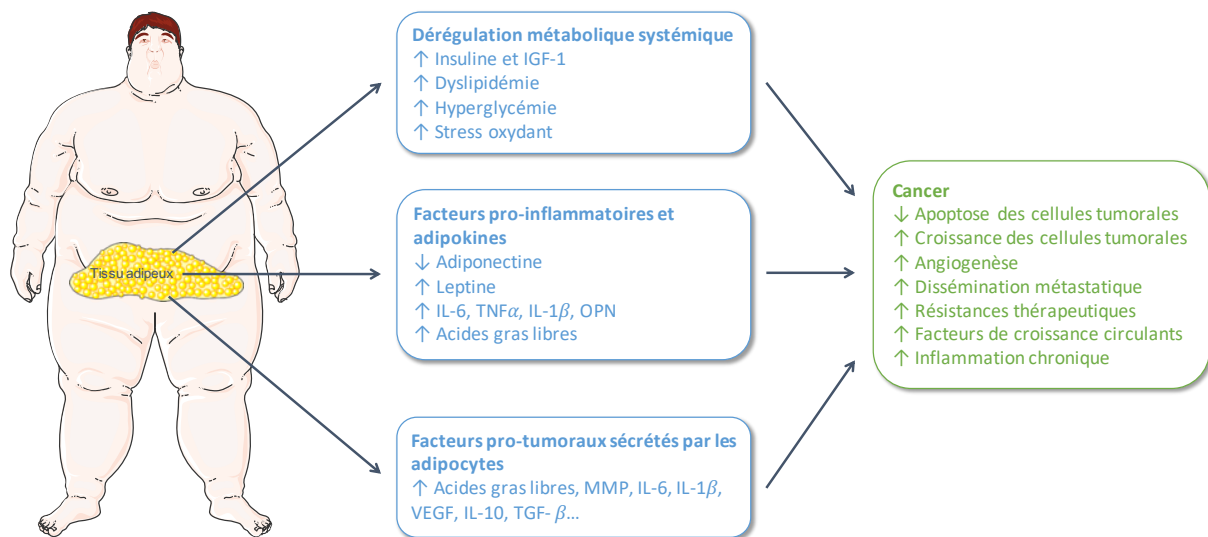


FIGURE 88 | MECANISMES LIANT L'OBESITE AU CANCER

L'obésité est associée à des dérégulations métaboliques systémiques ainsi qu'à l'installation d'une inflammation chronique. Le tissu adipeux est de plus un organe endocrinien important, produisant des cytokines, des adipokines et autres facteurs capables de promouvoir la croissance tumorale et la dissémination métastatique. *Modifié d'après (Deng et al., 2016).*

VI. PERSPECTIVES, OU COMMENT MIEUX DEFINIR LE LIEN ENTRE OBESITE, INFLAMMATION ET CANCER

Mes travaux de thèse, centrés sur le rôle des récepteurs nucléaires LXR dans le cancer de la prostate et la mise en place de la résistance à la castration ont permis de conforter leur rôle dans la régulation de l'homéostasie du cholestérol et dans la régulation de la fonction du système immunitaire. Ces données en support de la littérature déjà existante, ouvrent des perspectives sur une autre question d'importance : comment les dérégulations du métabolisme, et notamment l'obésité, peuvent être responsables d'un terrain inflammatoire favorisant le développement et l'agressivité des pathologies tumorales ?

On constate au 21^{ème} siècle une « épidémie » mondiale d'obésité, notamment aux États-Unis où est concerné un adulte sur trois (Ogden et al., 2014). L'obésité se développe à la suite d'un excès chronique d'apport calorique. L'énergie en excès est stockée sous forme de lipides au niveau du tissu adipeux mais elle peut également s'accumuler dans d'autres organes métaboliques comme le foie ou les muscles squelettiques. Une augmentation des taux de lipides altère l'environnement métabolique qui transmet alors de façon chronique un signal d'excès de nutriments pour la cellule. Ainsi, les signalisations impliquées dans le captage du glucose, la croissance cellulaire, la prolifération cellulaire, l'angiogenèse sont suractivées et favorisent la transformation oncogénique.

Généralement, trois mécanismes sont proposés pour expliquer l'association entre l'obésité et l'agressivité du cancer : la réponse aux facteurs de croissance et notamment à l'IGF-1, les stéroïdes sexuels et l'inflammation (Roberts et al., 2010) (Hopkins et al., 2016). Ainsi les facteurs sécrétés de façon paracrine par le tissu adipeux peuvent réguler à la fois le comportement des cellules tumorales mais aussi celui des cellules du stroma ou des cellules immunitaires (Figure 88).

Localement, le tissu adipeux péri-tumoral peut être une source de nutriments et de cytokines/chimiokines favorisant la progression et l'agressivité des tumeurs mais aussi les résistances thérapeutiques (dont celles à la chimiothérapie). De plus, un excès de tissu adipeux via ses capacités pro-inflammatoires, peut potentiellement altérer le microenvironnement tumoral. En effet, il a été noté une association entre l'épaisseur du tissu adipeux péri-prostatique et le diagnostic de cancer de la prostate, le grade et l'agressivité des tumeurs (Bhindi et al., 2012) (van Roermund et al., 2011). Par ailleurs, la sécrétion de CCL7 par le tissu adipeux péri-prostatique, particulièrement chez les patients obèses, peut favoriser la migration des cellules tumorales prostatiques, exprimant le récepteur CCR3 (Laurent et al., 2016). Effectivement,

chez les patients, l'expression de CCR3 par les tumeurs est associée avec un risque d'extension et de récurrence biochimique. A l'inverse, la sécrétion de facteurs paracrines par les tumeurs peut réguler l'expression d'adipokines pro-tumorales (comme l'ostéopontine, le TNF α , l'IL-6 ou l'adiponectine) et de métalloprotéinases par le tissu adipeux péri-prostatique (Ribeiro et al., 2012b).

L'obésité est liée à un stade chronique d'inflammation, qui a été associé avec le développement de cancers ou de pathologies tumorales plus agressives (Deng et al., 2016) (Hopkins et al., 2016). L'inflammation chronique est en effet une caractéristique centrale de l'obésité, et elle constitue un facteur de risque supplémentaire au-delà de l'obésité en elle-même. Avec l'obésité, il a été constaté une altération des capacités de stockage des cellules du tissu adipeux où la surcharge en nutriments induit une hypertrophie des adipocytes, une dysfonction mitochondriale responsable de stress oxydatif et du réticulum endoplasmique, conduisant à augmentation de la signalisation inflammatoire et de la sécrétion d'adipokines (McNelis and Olefsky, 2014). Par ailleurs, l'accumulation de macrophages pro-inflammatoires est une caractéristique centrale de l'obésité et une composante essentielle de l'inflammation adipeuse, responsable des complications systémiques de l'obésité (Xu et al., 2003) (Bai and Sun, 2015).

L'obésité est connue pour être un facteur de risque pour de nombreux cancers dont les cancers du sein, de l'endomètre, de la prostate, du pancréas ou encore du colon (Bhaskaran et al., 2014). De plus, les patients obèses présentent un plus fort taux de mortalité du cancer (Calle et al., 2003). Concernant le cancer de la prostate, on constate une association entre l'obésité et son incidence, l'agressivité des tumeurs, la présence de récurrences et la mortalité spécifique du cancer (Allott et al., 2013) (Ferro et al., 2016). Ces données doivent inciter à la fois à mieux comprendre l'incidence et l'agressivité du cancer mais aussi à adapter le choix des thérapies utilisées chez ces patients à risque.

Dans le cas du cancer de la prostate, la privation androgénique favorise chez les patients l'apparition d'un syndrome métabolique caractérisé par l'installation d'une obésité, d'une diminution de la sensibilité à l'insuline, d'une altération des profils lipidiques plasmatiques et d'une augmentation de l'incidence d'un diabète et de pathologies cardio-vasculaires (Braga-Basaria et al., 2006) (Nguyen et al., 2015) (Saylor and Smith, 2009) (Basaria et al., 2002). La présence d'un syndrome métabolique ou d'une obésité est associée à une augmentation du risque de progression précoce vers la résistance à la castration des tumeurs (Flanagan et al., 2011) (Keto et al., 2012). Ainsi, la privation androgénique, en favorisant l'installation de l'obésité, pourrait présenter une efficacité moindre dans le temps. La prévention de

l'installation d'altérations métaboliques, observées en réponse à l'hormonothérapie, pourrait éventuellement retarder la mise en place de la résistance à la castration.

La privation androgénique favorise également l'infiltration immunitaire des tumeurs (Gannon et al., 2009) (Mercader et al., 2001) (Nonomura et al., 2011). Il serait donc intéressant de déterminer chez les patients, si la présence d'une obésité ou d'un syndrome métabolique est associée à une modulation de l'infiltration immunitaire des tumeurs en réponse à l'hormonothérapie. De plus, peu d'études se sont intéressées à caractériser d'un point de vue fonctionnel la réponse immunitaire à la privation androgénique. Ainsi, il nous apparaît important aujourd'hui de déterminer plus précisément comment l'inflammation relative aux pathologies métaboliques perturbe l'immunité des tumeurs prostatiques, particulièrement en contexte de résistance à la castration, et si et comment la privation androgénique induit une réponse immunitaire différentielle chez les patients développant un syndrome métabolique ou non. Car si les nombreuses données de la littérature n'ont montré qu'un bénéfice limité des thérapies visant à limiter les taux de cholestérol (statines), l'inflammation (anti-inflammatoires) ou à favoriser la réponse immunitaire anti-tumorale (immunothérapie), l'utilisation de ces thérapies co-administrées lors de la mise en place de l'hormonothérapie chez des patients présentant une obésité, ou à risque de développer une obésité en réponse à la privation androgénique, pourrait permettre de freiner la mise en place de la résistance à la castration chez ces patients. Toutes ces questions soulèvent l'intérêt qui doit être porté au lien entre obésité, inflammation et cancer de la prostate, afin de mieux comprendre leur interaction, pour permettre une meilleure prévention et offrir de nouvelles opportunités thérapeutiques.

ANNEXES

ARTICLE 2

**Individual Comparison of Cholesterol Metabolism in Normal and Tumour Areas in Radical Prostatectomy Specimens from Patients with Prostate Cancer :
Results of the CHOMECAP Study.**

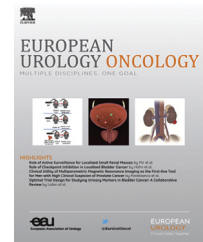
Celhay O., Bousset L., Guy L., Kemeny J.-L., Leoni V., Caccia C., Trousson A., Damon-Soubeyrand C., De Haze A., Sabourin L., Godfraind C., De Jossineau C., Pereira B., Morel L., Lobaccaro J-M. and Baron S.

Eur. Urol. Oncol. *0*. (2018).

available at www.sciencedirect.com
journal homepage: euoncolology.europeanurology.com



European Association of Urology



Individual Comparison of Cholesterol Metabolism in Normal and Tumour Areas in Radical Prostatectomy Specimens from Patients with Prostate Cancer: Results of the CHOMECA Study

Olivier Celhay^{a,b,c,d}, Laura Bousset^{a,b}, Laurent Guy^d, Jean-Louis Kemeny^e, Valerio Leoni^f, Claudio Caccia^f, Amalia Trousson^{a,b}, Christelle Damon-Soubeyrant^{a,b}, Angélique De Haze^{a,b}, Laura Sabourin^c, Catherine Godfraind^e, Cyrille de Jossineau^{a,b}, Bruno Pereira^g, Laurent Morel^{a,b}, Jean Marc Lobaccaro^{a,b}, Silvère Baron^{a,b,*}

^aLaboratoire Génétique, Reproduction et Développement, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France; ^bCentre de Recherche en Nutrition Humaine d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France; ^cUrologie Bordeaux Saint-Gatien, Clinique Tivoli-Ducos, Bordeaux, France; ^dService d'Urologie, Centre Hospitalier Universitaire de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France; ^eService d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier Universitaire de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France; ^fLaboratory of Clinical Chemistry, Hospital of Varese, ASST-Settelaghi, Varese, Italy; ^gUnité de biostatistiques, Centre Hospitalier Universitaire de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

Article info

Article history:

Accepted August 1, 2018

Associate Editor:

Alberto Briganti

Keywords:

Cholesterol
Sterols
Esters
Oxysterols
Prostate cancer
SCARB1
Deregulation

Abstract

Background: Deregulation of cholesterol metabolism represents a hallmark of prostate cancer (PCa) and promotes its development.

Objective: To compare cholesterol metabolism on individual paired normal and tumour prostate tissues obtained from patients with PCa.

Design, setting, and participants: Between 2008 and 2012, normal and tumour paired tissue samples were collected from radical prostatectomy specimens from a cohort of 69 patients treated for localised PCa.

Outcome measurements and statistical analysis: Tumour and normal tissues were subjected to gene analysis, sterol measurement, and immunohistochemistry. The Wilcoxon paired test and Spearman test were applied for comparison and correlation analyses, respectively. Principal component analysis was also carried out to investigate relationships between quantitative variables.

Results and limitations: Overall, cholesterol concentrations were not significantly different between tissue pairs. However, tumour samples were significantly associated with downregulated de novo cholesterol synthesis, but exhibited 54.7% overexpression of SCARB1 that could increase high-density lipoprotein uptake in PCa. Tumour tissues showed different trafficking of available cholesterol, with significantly lower ACAT1, and an altered efflux via APOE. Furthermore, cholesterol metabolism in tumour tissues was characterised by higher accumulation of 7 α -hydroxycholesterol (OHC), 7 β OHC, and 7-ketosterol, and a lower level of 27OHC.

Conclusions: Focusing on individually paired prostate tissues, our results highlighted several differences between normal and tumour samples linked to a metabolic shift in cholesterol flux. PCa samples exhibited a specific tissue signature

* Corresponding author. Laboratoire Génétique, Reproduction et Développement, 28 place Henri Dunant, F63001, Clermont-Ferrand, France. Tel.: +33 4 73407412; Fax: +33 4 73407042.
E-mail address: silvere.baron@uca.fr (S. Baron).

<https://doi.org/10.1016/j.euo.2018.08.001>

2588-9311/© 2018 Published by Elsevier B.V. on behalf of European Association of Urology.

Please cite this article in press as: Celhay O, et al. Individual Comparison of Cholesterol Metabolism in Normal and Tumour Areas in Radical Prostatectomy Specimens from Patients with Prostate Cancer: Results of the CHOMECA Study. Eur Urol Oncol (2018), <https://doi.org/10.1016/j.euo.2018.08.001>

characterised by higher *SCARB1* expression, higher accumulation of OHC species, and clear downregulation of de novo cholesterol synthesis.

Patient summary: Comparing normal and tumour tissues from the same prostates, our study identified a set of alterations in prostate cancer samples in terms of their use of cholesterol. These included higher cholesterol uptake, accumulation of oxidised cholesterol derivatives, and autonomous cellular production of cholesterol. Together, these data provide promising clinical targets to fight prostate cancer.

© 2018 Published by Elsevier B.V. on behalf of European Association of Urology.

1. Introduction

Prostate cancer (PCa) is the second most common tumour among males worldwide, and the fifth highest cause of cancer mortality among males [1]. The global incidence of PCa increased in the last decade and represents a major health concern [2,3]. Even though cholesterol is recognised as a central metabolic crossroads in tumour cells, its metabolism in PCa tumours is poorly documented [4–7]. Cholesterol is an essential component for cellular functioning, and is involved in physiological processes such as cell growth, proliferation, and membrane fluidity, which can subsequently contribute to tumour development [4,5]. More importantly, cholesterol can be metabolised to androgens in prostatic cells, giving a tumour the ability to stimulate the androgen receptor through this endogenous synthesis [6]. Cellular cholesterol has two distinct origins: the mevalonate pathway allows prostatic cells to produce their own cholesterol from acetyl CoA, while membrane receptors such as *SCARB1* and *LDLR* give cells the ability to dispose of cholesterol from extracellular sources [4,5]. The objective of this study was to compare the individual characteristics of cholesterol homeostasis in normal and tumour prostate tissues obtained from a cohort of patients undergoing radical prostatectomy for PCa.

2. Patients and methods

2.1. Patients and tissues

The study included 69 consecutive patients undergoing radical prostatectomy between 2008 and 2012 at the University Hospital of Clermont-Ferrand (France) for a diagnosis of localised PCa. The study was approved by the institutional review board and the French Ministry for Superior Education and Research for tissue collection (agreement number DC-2008-558). All patients gave consent for histological and molecular studies. Patient characteristics are listed in Table 1.

Figure 1 shows the procedure followed to obtain normal and tumour tissues from a single prostatectomy specimen. Immediately after organ extraction, a pathologist used an extemporaneous analysis to collect three samples of normal and tumour tissues from each prostate. For patients with multiple lesions in the prostatectomy specimen, the largest and more representative localisation was selected to collect at least three samples from tumour areas. The samples were snap-frozen, subjected to cryogrounding, and stored at -80°C . The process for tissue analysis is shown in Figure 1. Prostatectomy specimens were routinely analysed by two pathologists using conventional haematoxylin and eosin (H&E) staining and were scored for a consensual Gleason sum; the Gleason 7 subgroup exclusively comprises 4 + 3 scores.

2.2. Quantitative polymerase chain reaction (qPCR)

RNA was isolated using RNA Nucleospin columns (Macherey-Nagel, Düren, Germany). RNA integrity was analysed on an Agilent 2100 platform with RNA Nano chips (Agilent Technologies, Richardson, TX, USA). Patients with an RNA integrity number ≥ 6 (42 of the 69 patients with adequate tissue available) were included in the qPCR analysis, which was performed with a Roche Light Cycler 480 (Roche, Boulogne-Billancourt, France) using SYBR Premix Ex Taq II (Takara Bio, Shiga, Japan) with the primers listed in the Supplementary material.

2.3. Tissue microarray (TMA) construction and immunohistochemistry (IHC)

Prostate tissues were fixed in 4% formaldehyde overnight, paraffin-embedded, sectioned, and stained with H&E. Normal and tumour areas were simultaneously contoured by two pathologists. Three samples of normal and tumour tissues for each of the 69 patients were transferred from the original paraffin blocks to the TMA block using a 0.6-mm punch mounted on a TMAbooster semi-automated platform (Alphélys, Plaisir, France). Paraffin-embedded sections were deparaffinated and rehydrated according to standard procedure, and boiled in Tris-EDTA-Tween 20 0.05% buffer for 30 min. The primary antibody incubations and secondary systems were as follows. Samples were incubated with anti-*SCARB1* (EP1556Y, diluted 1:100 with 0.1% phosphate-buffered saline

Table 1 – Patient characteristics.

Parameter	Result
Patients (n)	69
Median age, yr (range)	62 (58–67)
Pathological T stage, n (%)	
T2a	1 (1.4)
T2b	2 (3.0)
T2c	40 (58.0)
T3a	15 (21.7)
T3b	10 (14.5)
T4	1 (1.4)
Gleason score, n (%)	
7	51 (73.9)
8	11 (15.9)
9	7 (10.1)
Median prostate-specific antigen PSA, ng/ml (range)	6.7 (5.6–9.6)
Median body mass index, kg/m ² (range)	26.4 (24.4–28.3)
Median high-density lipoprotein cholesterol, g/l (range)	0.52 (0.46–0.66)
Median low-density lipoprotein cholesterol, g/l (range)	1.38 (1.15–1.67)
Median triglycerides, g/l (range)	1.02 (0.79–1.50)
Comorbidities, n (%)	
Diabetes	6 (8.7)
Statin use	20 (29.0)

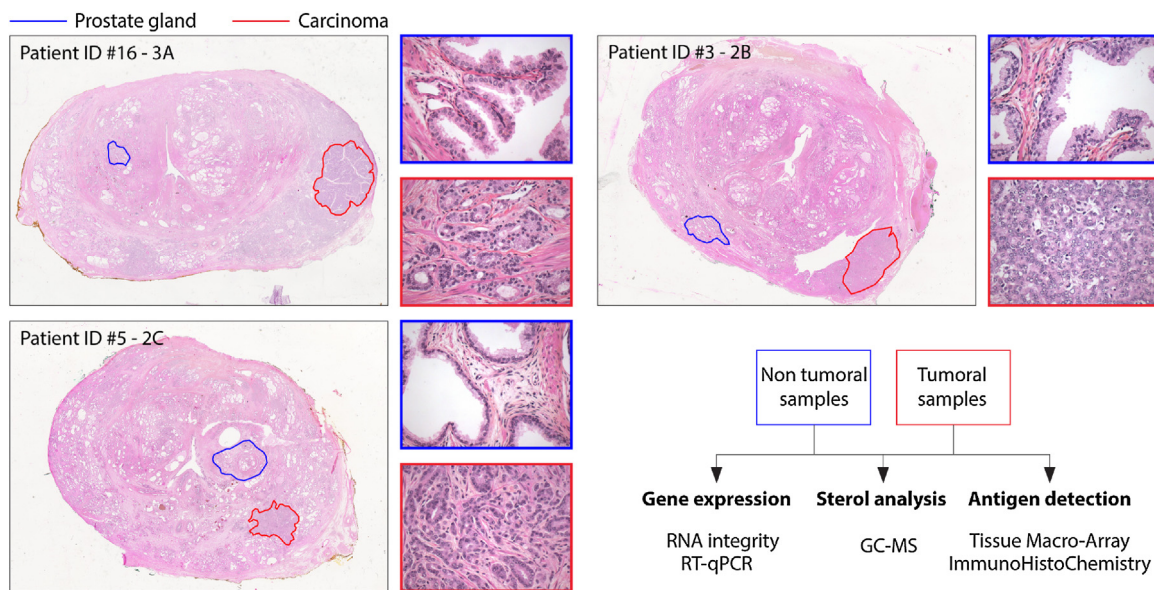


Fig. 1 – After radical prostatectomy, samples of normal and tumour tissues were collected from each organ and frozen. Prostate specimens were retrospectively fixed, paraffin-embedded, and stained with haematoxylin and eosin. Three examples are shown. Normal tissue (blue) and carcinoma (red) areas in samples were confirmed by a pathologist to validate the sample collection. Tissues were then processed for gene analysis, sterol measurement, and immunohistochemistry.

[PBS]-bovine serum albumin [BSA]; Novus Biologicals, Littleton, CO, USA) overnight at 4 °C, then incubated with anti-rabbit biotin secondary antibodies (diluted 1:500 with PBS-BSA 0.1%; Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA, USA) for 1 h for detection, and amplified for 30 min with streptavidin-HRP (diluted 1:500; Jackson ImmunoResearch Laboratories) and Novared chromogen (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA). Staining was scored simultaneously by two pathologists according to the staining intensity (0, 1, 2, or 3) and the percentage of positive prostate gland cells (0–100%). Positive controls (epididymis tissues) showed strong staining, and negative controls showed no staining after incubation without primary antibodies. Results are summarised using the H-score, defined as: average intensity × percentage of positively stained cells [7].

2.4. Sterol measurement

Thirty-one patients were eligible for sterol quantification; the 15 mg of tissue necessary for analysis was not available for the other patients. Among the 31 patients with tissue available, 23 were eligible for both qPCR and sterol measurements. Prostate sample homogenates from normal and tumour samples were prepared in PBS and a volume corresponding to 15 mg of tissue was added to a screw-capped vial sealed with a Teflon-lined septum, together with 500 ng of D4-lathosterol (CDN Isotopes, Pointe-Claire, Canada), 100 ng of D6-lathosterol, 50 ng of D7-7 α -hydroxycholesterol (OHC), 50 ng of 7 β -OHC, 50 ng of 7-ketocholesterol (KC), 50 ng of D7-24S-OHC, 50 ng of D6-27-OHC, and 2.5 μ g of D6-cholesterol (Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL, USA) as internal standards. Sterol levels were quantified via gas chromatography-mass spectrometry as previously described [8,9].

2.5. Statistical analyses

Data are described using the median value and interquartile range for continuous variables, and the frequency and range for categorical variables. The assumption of normality was not met according to the Shapiro-Wilk test, so the Wilcoxon paired test and Spearman test were applied for comparison and correlation analyses, respectively. The level of

significance was set at $p < 0.05$. SPSS software was used for statistical analysis (IBM, Armonk, NY, USA). Principal component analysis was carried out to investigate relationships between quantitative variables using R software (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

3. Results

3.1. De novo cholesterol synthesis was lower in prostate tumour tissues

The expression of two genes implicated in de novo cholesterol synthesis, *HMGCS1* (–15%, 0.059 vs 0.046; $p = 0.019$) and *FDPS* (–13%, 0.061 vs 0.050; $p = 0.036$), was significantly lower in tumour than in normal tissues. However, mRNA levels were not significantly different for *HMGCS2* (0.051 vs 0.058; $p = 0.71$), *HMGCR* (0.050 vs 0.037; $p = 0.14$), *SQLE* (0.055 vs 0.062; $p = 0.18$), *DHCR7* (0.072 vs 0.047; $p = 0.72$), or *DHCR24* (0.075 vs 0.075; $p = 0.85$). Consistent with these observations, cholesterol precursor levels were significantly lower in tumour compared to normal tissues for citric acid (–33%, 36.89 vs 247.21; $p = 0.015$), lathosterol (–28%, 1.15 vs 0.83; $p < 0.001$), desmosterol (–15%, 17.53 vs 14.91; $p < 0.001$), and lanosterol (–19%, 0.16 vs 0.13; $p < 0.001$). Regardless of the de novo synthesis pathway, instantaneous cholesterol concentrations did not significantly differ between paired tissues. The results are listed in Table 2. Taken together, the gene expression signatures and cholesterol precursor levels indicate slowing down of the mevalonate pathway in tumour tissues. Considering statin intake, treatment status did not lead to any expression differences for the genes investigated, even for *HMGCR*, in normal or tumour tissue subgroups (data not shown). Nevertheless, in comparison to patients not taking statins, tumour tissues from patients

Table 2 – Analysis of the de novo cholesterol synthesis pathway.

Target	Normal tissue	Tumor tissue	p value ^a
Gene expression			
<i>HMGCS1</i>	0.059 (0.044–0.080)	0.046 (0.028–0.060)	0.019 [*]
<i>HMGCS2</i>	0.51 (0.034–0.112)	0.058 (0.027–0.111)	0.72
<i>HMGCR</i>	0.050 (0.036–0.057)	0.037 (0.030–0.054)	0.14
<i>FDPS</i>	0.061 (0.049–0.072)	0.050 (0.040–0.067)	0.039 [†]
<i>SQLE</i>	0.055 (0.031–0.075)	0.062 (0.024–0.062)	0.18
<i>DHCR7</i>	0.072 (0.037–0.105)	0.047 (0.032–0.102)	0.72
<i>DHCR24</i>	0.075 (0.047–0.125)	0.075 (0.048–0.115)	0.85
Sterol levels			
Citrate	368.89 (137.17–695.46)	247.21 (82.97–384.81)	0.015 [*]
Lathosterol	1.15 (0.87–1.34)	0.83 (0.65–1.23)	<0.001 [†]
Desmosterol	17.53 (15.75–18.88)	14.91 (13.10–16.89)	<0.001 [†]
Lanosterol	0.16 (0.13–0.22)	0.13 (0.10–0.14)	<0.001 [†]
Cholesterol	1876.04 (1382.33–2529.20)	2083.36 (1523.70–2588.88)	0.64

^a Wilcoxon paired test.
[†] Significant difference.

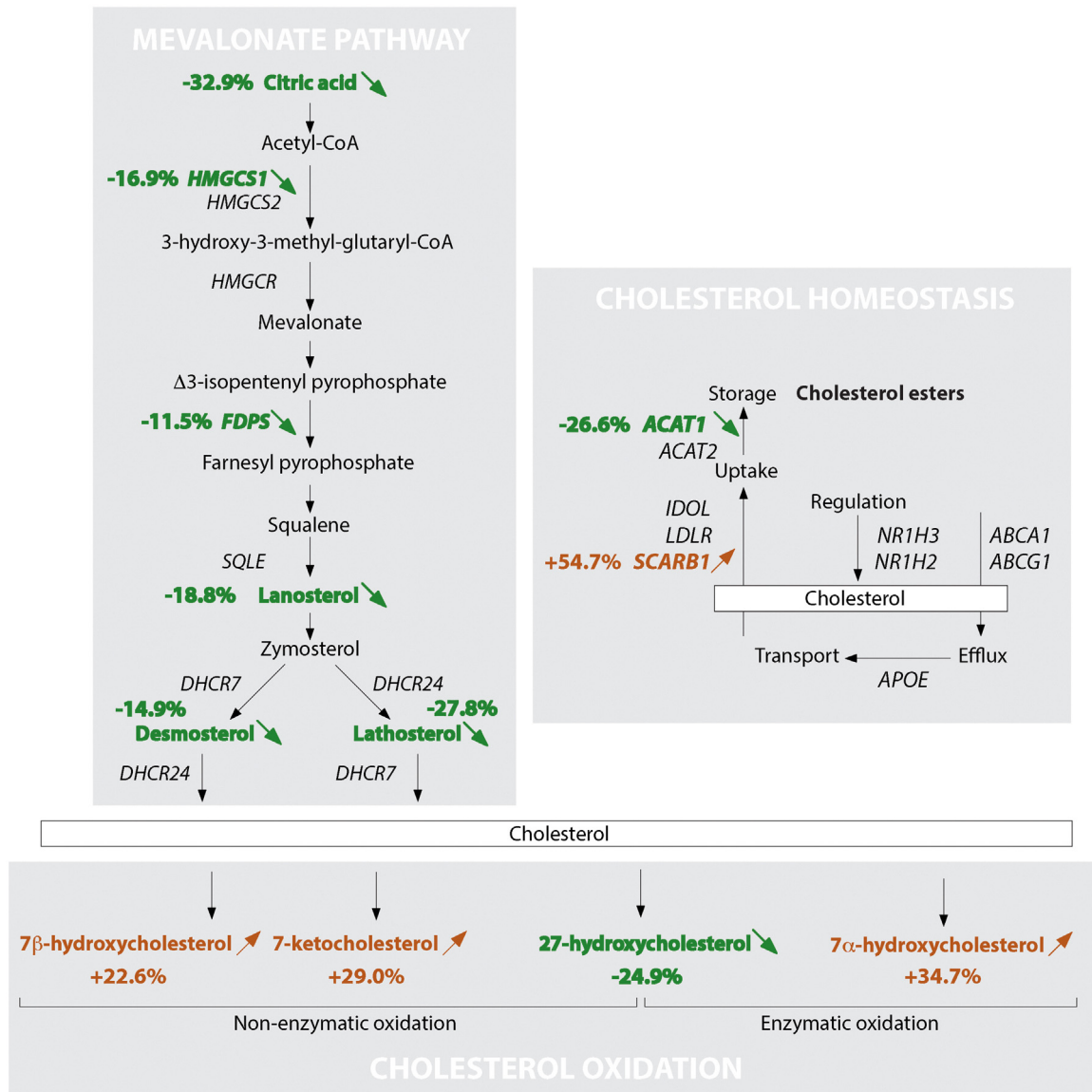


Fig. 2 – Graphical summary of individual comparisons of tumour and normal tissues. The cholesterol pathway is represented by three boxes: the mevalonate pathway, cholesterol homeostasis, and cholesterol oxidation. Gene expression and metabolites showing significant differences are indicated in green for downregulation and red for upregulation. The magnitude of changes is indicated as a percentage.

treated with statins exhibited lower concentrations of de novo synthesis precursors (desmosterol: 13.62 vs 15.76; $p < 0.001$; lathosterol: 0.65 vs 0.92; $p < 0.001$), similar lanosterol levels, and higher cholesterol accumulation (2279.2 vs 1909.2; $p < 0.001$), suggesting higher cholesterol intake. Figure 2 shows a schematic representation of the enzymes, transcription factors, cholesterol precursors, and oxysterols investigated.

3.2. Tumour tissues exhibit differential accumulation of oxysterol species

Expression of two genes encoding cholesterol efflux transporters, *ABCA1* and *ABCG1*, did not differ between normal and tumour tissues (Table 3). Expression of *APOE*, which is involved in reverse cholesterol transport, was 24.6% lower in tumour tissues (0.046 vs 0.042; $p = 0.026$). Expression of *ACAT1*, which contributes to esterification, was 26.6% lower in tumour tissues (0.071 vs 0.042; $p = 0.008$). However, *ACAT2* expression ($p = 0.40$) and cholesterol ester accumulation ($p = 0.24$) remained stable. Cholesterol conversion to oxysterols was significantly different in tumour samples, with higher levels of $7\alpha\text{OHC}$ (+34%, 1.19 vs 1.60; $p < 0.001$), $7\beta\text{OHC}$ (+23%, 1.04 vs 1.27; $p < 0.001$), and 7KC (+29%, 1.33 vs 1.72; $p < 0.001$), and lower level of 27OHC (–25%, 0.81 vs 0.60; $p < 0.001$), resulting in a global higher oxysterol concentration (4.5 vs 5.2; $p < 0.001$). Oxysterol accumulation was positively correlated with the amount of tissue cholesterol ($7\alpha\text{OHC}$: $p < 0.001$, $\rho = 0.60$; $7\beta\text{OHC}$: $p < 0.03$, $\rho = 0.52$; 7KC : $p = 0.065$, $\rho = 0.34$; 27OHC : $p = 0.046$, $\rho = 0.36$; global: $p < 0.001$, $\rho = 0.61$), strongly suggesting enhanced conversion to oxidative metabolites in tumour tissues.

3.3. Intracellular cholesterol regulation

The expression of *SREBP2*, which encodes a transcription factor involved in cholesterol synthesis mainly by supporting de novo synthesis and *LDLR* gene expression, was similar (0.053 vs 0.046; $p = 0.25$) in the tissue pairs. The results are summarized in Table 4. When pairing results by patient, the

Table 4 – Analysis of cholesterol homeostasis regulation.

Gene	Normal tissue	Tumor tissue	<i>p</i> value ^a
<i>SREBP2</i>	0.053 (0.043–0.061)	0.046 (0.037–0.061)	0.25
<i>NR1H3</i>	0.043 (0.035–0.054)	0.041 (0.035–0.049)	0.36
<i>NR1H2</i>	0.107 (0.067–0.136)	0.074 (0.056–0.109)	0.07

^a Wilcoxon paired test.

difference between *SREBP2* tumor expression and *SREBP2* normal tissue expression tended to be negatively correlated with the difference in global oxysterol accumulation between tissues ($p = 0.07$, $r = -0.38$), indicating a probable effect of oxysterol accumulation on the differential expression of *SREBP2* between paired tissues. In parallel, expression of genes encoding the LXR nuclear receptors, two negative regulators of cholesterol accumulation, was stable for LXR α (*NR1H3*; 0.043 vs 0.041; $p = 0.36$) but tended to be lower in tumour samples for LXR β (*NR1H2*; 0.107 vs 0.074; $p = 0.07$). These observations are in agreement with the similar expression levels between the tissues for their target genes, such as *ABCA1*, *ABCG1* and *IDOL*. Oxysterol global accumulation was not correlated with LXR expression in tumour tissues (LXR α : $p = 0.95$; LXR β : $p = 0.59$) or with expression of the target genes mentioned (data not shown). When pairing results by patient, the difference between *LXR β* tumour expression and *LXR β* normal tissue expression was negatively correlated with the difference in global oxysterol accumulation between tissues ($p = 0.01$, $r = -0.51$), suggesting a possible effect of global oxysterol accumulation on the differential expression of *LXR β* between paired tissues.

3.4. SCARB1 accumulation increases cholesterol uptake

Tumour tissues exhibited 54.7% higher expression of *SCARB1* (0.051 vs 0.079; $p < 0.001$), while expression of *LDLR* ($p = 0.24$) and *NPC1L1* ($p = 0.75$) remained unchanged (Table 5). This observation prompted us to test *SCARB1*, a scavenger receptor implicated in high-density lipoprotein (HDL) cholesterol uptake, as a marker for PCa using IHC staining. This analysis revealed a significant increase in

Table 3 – Analysis of cholesterol storage, efflux, and metabolism.

Target	Normal tissue	Tumor tissue	<i>p</i> value ^a
Gene expression			
<i>ABCG1</i>	0.040 (0.035–0.055)	0.052 (0.040–0.066)	0.18
<i>ABCA1</i>	0.051 (0.038–0.065)	0.052 (0.037–0.068)	0.65
<i>APOE</i>	0.046 (0.025–0.071)	0.042 (0.023–0.066)	0.026*
<i>CYP27A1</i>	0.064 (0.047–0.072)	0.047 (0.033–0.068)	0.10
<i>ACAT1</i>	0.071 (0.043–0.115)	0.042 (0.033–0.077)	0.008*
<i>ACAT2</i>	0.070 (0.058–0.086)	0.067 (0.053–0.082)	0.40
Sterol levels			
27-Hydroxycholesterol	0.81 (0.60–1.04)	0.60 (0.46–0.73)	<0.001*
7 α -Hydroxycholesterol	1.19 (0.74–1.72)	1.60 (1.12–1.82)	<0.001*
7 β -Hydroxycholesterol	1.04 (0.73–1.39)	1.27 (0.87–1.64)	<0.001*
7-Ketocholesterol	1.33 (0.89–1.74)	1.72 (1.30–2.41)	<0.001*
Ester levels			
Cholesterol esters	0.27 (0.15–0.41)	0.22 (0.05–0.29)	0.24

^a Wilcoxon paired test.
* Significant difference.

Table 5 – Analysis of genes involved in cholesterol uptake.

Target	Normal tissue	Tumor tissue	p value ^a
Gene expression			
SCARB1	0.051 (0.039–0.058)	0.079 (0.047–0.104)	<0.001*
LDLR	0.077 (0.054–0.099)	0.057 (0.028–0.109)	0.24
IDOL	0.041 (0.034–0.059)	0.041 (0.030–0.051)	0.16
NPC1L1	0.105 (0.072–0.198)	0.093 (0.044–0.161)	0.75
Immunohistochemistry			
SCARB1 H-score	230.0 (178.9–276.7)	262.5 (214.2–350.0)	0.006*

^a Wilcoxon paired test
* Significant difference.

H-score for SCARB1 staining in tumour tissues (230.0 vs 262.5; $p = 0.006$) that was correlated to SCARB1 expression ($p = 0.004$, $r = 0.32$; Table 5 and Fig. 3). SCARB1 expression and the H-score were not correlated to cholesterol or global oxysterol accumulation in tumours (data not shown). No correlation with patient characteristics (plasma low-densi-

ty lipoprotein [LDL] or HDL cholesterol or triglyceride levels) was observed except for body mass index, which tended to be positively correlated to SCARB1 staining ($p = 0.069$, $r = 0.23$). These findings highlight SCARB1 as a relevant potential marker of cholesterol deregulation in tumour tissues.

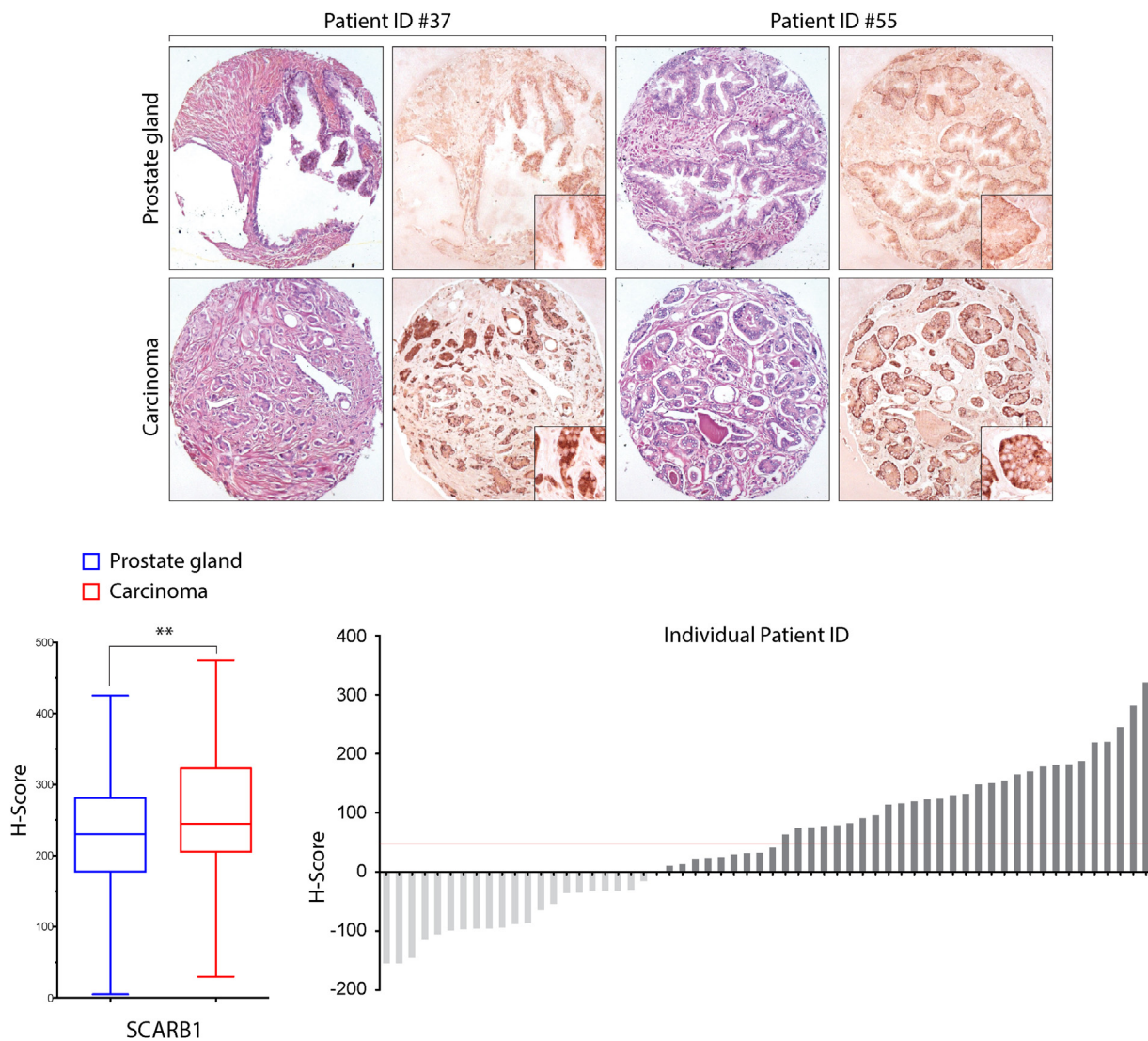


Fig. 3 – Haematoxylin and eosin (left) and SCARB1 immunostaining (right) for two examples of normal and tumour prostate tissues pairs. The boxplot shows the H-scores for SCARB1 staining in both tissues. ** $p \leq 0.01$. The histogram depicts the difference in SCARB1 H-score between tumour and normal tissues for each individual patient. The red line indicates the median H-score.

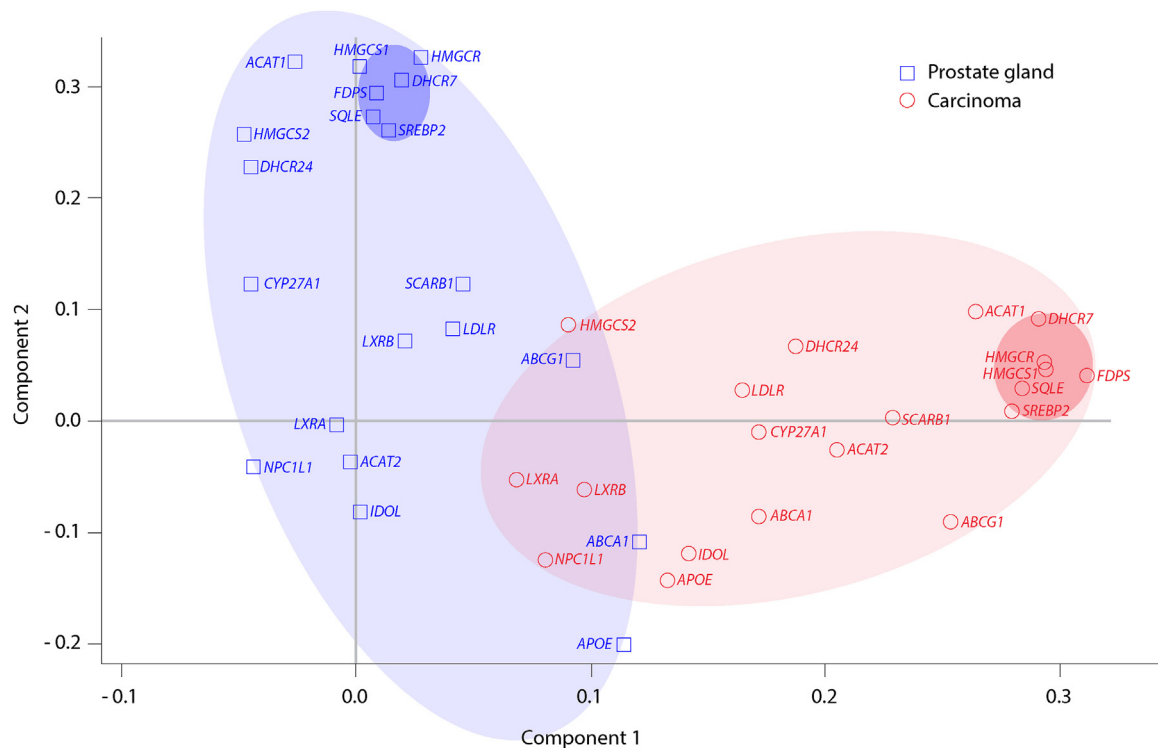


Fig. 4 – Principal component analysis for gene expression results. Global vectors are shown for tumour and normal tissues using red and blue areas, respectively, and the heading for each vector denotes genes with the most deregulated expression in the tissue pairs. Deep blue/red circles indicate genes involved in de novo cholesterol synthesis that form an aggregated cluster.

3.5. Principal component analysis

Owing to a poor distribution of high-grade tumours, patient stratification according to Gleason score did not reveal any significant variations in the molecular markers investigated (data not shown). Principal component analysis (PCA) allowed us to discriminate between normal and tumour tissues (Fig. 4) and strengthened our other findings. Orthogonal vectors identified for tumour and normal samples indicated a loss of correlation between tissues for particular sets of genes: *SREBP2*, consistently with de novo synthesis genes (*HMGC1*, *HMGC2*, *FDPS*, *SQLE*, *DHCR7*), *ACAT1* and *SCARB1*. These genes were closely and positively correlated together, revealing self-regulation for each tissue and thereby demonstrating a clear shift in tumour cholesterol metabolism.

4. Discussion

Cholesterol metabolism is an essential pathway for cellular functioning, and it is suspected that its deregulation contributes to cancer promotion [10,5]. A peculiar signature of synthesized oxysterols has been identified in tumour tissues compared to normal gland. 27OHC concentrations are 24.9% lower in tumour tissues, consistent with bioinformatics analyses highlighting low *CYP27A1* expression as predictive of high-grade PCa, lymph node involvement, and tumour recurrence after radical prostatectomy [11]. Apart from

27OHC, the other oxysterols investigated, which originate mainly from autooxidation were significantly higher in our study. Less is known about these species, although it has been reported that some of them interfere with cell proliferation.

Tumour tissues were characterised by higher *SCARB1* expression that was correlated to IHC staining. It has already been demonstrated in in vitro and in vivo studies that *SCARB1* is overexpressed in PCa and breast cancer [12–14,18–20]. This receptor is a bidirectional transmembrane transporter for HDL, LDL, and cholesterol esters in tissues involved in cholesterol metabolism and steroid hormone synthesis, and is expressed in prostate and breast tissues [15–17,21–23]. Although HDL lipoprotein removes excess cholesterol from peripheral tissues to the liver, our results show the opportunistic ability of PCa cells to draw on this source of bioavailable cholesterol [17]. In support of our results, Twiddy et al. [18] demonstrated poor survival for LNCaP and C4-2 tumour cells after *SCARB1* knockdown using siRNA. Together, these findings suggest that *SCARB1* could support tumour cell proliferation and development.

The apparent puzzle is the unchanged cholesterol concentration despite *SCARB1* accumulation, an apparent decrease in storage, and unchanged export with *ABCA1/G1* accumulations. Besides, de novo synthesis was lower in tumour tissue. The latter could be explained by oxysterol accumulation, which inhibits *SREBP2* activity [23]. Sterol accumulation can act as a potent inhibitor of *SREBP2* cleavage that lead to repression of genes involved in de novo

cholesterol synthesis. We assume that the stable cellular cholesterol concentration occurs through its transformation, as shown by the higher 7OHC levels. However, cholesterol conversion to androgen precursors could not be excluded. Overall, this snapshot of cholesterol metabolism underlines the high activity of this pathway in tumour compared to normal tissue. This conclusion is confirmed by the PCA results, which indicate a shift in cholesterol metabolism that results in a decrease in de novo cholesterol synthesis. In accordance with the higher abundance of cholesterol derivatives and the increase in cholesterol supply via SCARB1, we could hypothesise that de novo cholesterol synthesis slows down as cholesterol requirements are warranted. The PCA results indicate that the expression of genes involved in the mevalonate pathway could be highly informative regarding the metabolic status of tumour tissue.

On the basis of our observations, we postulate that targeting of cholesterol metabolism in prostate tumours could be of therapeutic interest. Besides statins, drugs that target cholesterol metabolism are already available and some of them have been used in clinical trials. Inhibitors of SCARB1, such as ITX5061, are used in patients with hepatitis C virus infection undergoing liver transplantation (NCT01292824). SCARB1 was also identified as a promising putative target for prostate cancer therapy. Increasing data for human tissue samples, mouse models, and cell lines emphasize SCARB1 as a promoter of malignancy, androgen-independent growth, and survival phenotypes [18,23,24]. SCARB1 overexpression seems to be a hallmark of a large panel of tumours [14] and thus could represent an inhibition target to impair the cholesterol supply for cancer cells [7]; alternatively, this receptor could be targeted as an avenue for anticancer therapeutics. Various inhibitors with less deleterious effects have been developed (BLT-1, ITX5061, and more recently ML278/279/312) and could be more suitable for use in humans [25–27]. Recent studies revealed that tumour cells overexpressing SCARB1 could be targeted using nanocomplexes that mimic HDL delivery and could thus be used in selective therapy approaches [28–30]. Together, these studies indicate that SCARB1 represents a relevant therapeutic target despite its presence on the surface of normal cells such as hepatocytes and macrophages.

5. Conclusions

Comparison of tissues from the same prostatectomy specimen revealed that tumour areas exhibited deregulation of cholesterol metabolism. In particular, SCARB1 was overexpressed in tumour tissues, whereas de novo cholesterol synthesis was significantly lower. These results indicate that the cholesterol flux is greater in tumour cells.

Author contributions: Silvère Baron had full access to all the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

Study concept and design: Celhay, Guy, Baron.

Acquisition of data: Celhay, Kemeny, Godfraind, Leoni, Caccia, Sabourin.

Analysis and interpretation of data: Celhay, Baron.

Drafting of the manuscript: Celhay, Baron.

Critical revision of the manuscript for important intellectual content: Bousset, Trousson, De Jousineau, Morel, Lobaccaro.

Statistical analysis: Pereira.

Obtaining funding: Baron.

Administrative, technical, or material support: Damon-Soubeyrant, De Haze.

Supervision: Baron.

Other: None.

Financial disclosures: Silvère Baron certifies that all conflicts of interest, including specific financial interests and relationships and affiliations relevant to the subject matter or materials discussed in the manuscript (eg, employment/affiliation, grants or funding, consultancies, honoraria, stock ownership or options, expert testimony, royalties, or patents filed, received, or pending), are the following: None.

Funding/Support and role of the sponsor: This work was supported by Canceropole CLARA (grant AAP4_07CHOMECA), Association de Recherche sur les Tumeurs Prostatiques ARTP, Region Auvergne Rhône Alpes, Fonds Européens de Développement Régional, Institut National du Cancer/INSERM AAP Plan Cancer Environnement 2016, and PNRPE (13-MRES-PNRPE-1-CVS043). Laura Bousset is funded by a research program from Auvergne Rhône-Alpes region, Fonds Européens de Développement Régional, and Délégation Régionale à la Recherche et à la Technologie. The sponsors played no direct role in the study.

Acknowledgments: We would like to thank Christelle Damon-Soubeyrant and the Anip@th platform (GReD, Clermont-Ferrand) for excellent work in immunohistochemistry exploration of tissue microarrays. We are grateful to Canceropole CLARA for providing management support of the project and to Association de Recherche sur les Tumeurs Prostatiques. We thank the Délégation de la Recherche Clinique et des Innovations department in C.H.U. Gabriel Montpied Hospital.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.euo.2018.08.001.

References

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015;136:E359–86. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.29210>.
- [2] Center MM, Jemal A, Lortet-Tieulent J, et al. International variation in prostate cancer incidence and mortality rates. *Eur Urol* 2012;61:1079–92. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2012.02.054>.
- [3] Mottet N, Bellmunt J, Bolla M, et al. EAU-ESTRO-SIOG guidelines on prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent. *Eur Urol* 2017;71:618–29. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2016.08.003>.
- [4] Cruz PMR, Mo H, McConathy WJ, Sabnis N, Lacko AG. The role of cholesterol metabolism and cholesterol transport in carcinogenesis: a review of scientific findings, relevant to future cancer therapeutics. *Front Pharmacol* 2013;4:119. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2013.00119>.
- [5] Baenke F, Peck B, Miess H, Schulze A. Hooked on fat: the role of lipid synthesis in cancer metabolism and tumour development. *Dis*

- Model Mech 2013;6:1353–63. <http://dx.doi.org/10.1242/dmm.011338>.
- [6] Leon CG, Locke JA, Adomat HH, et al. Alterations in cholesterol regulation contribute to the production of intratumoral androgens during progression to castration-resistant prostate cancer in a mouse xenograft model. *Prostate* 2010;70:390–400. <http://dx.doi.org/10.1002/pros.21072>.
- [7] Patel R, Gao M, Ahmad I, et al. Sprouty2, PTEN, and PP2A interact to regulate prostate cancer progression. *J Clin Invest* 2013;123:1157–75. <http://dx.doi.org/10.1172/JCI63672>.
- [8] Acimovic J, Lövgren-Sandblom A, Monostory K, et al. Combined gas chromatographic/mass spectrometric analysis of cholesterol precursors and plant sterols in cultured cells. *J Chromatogr B* 2009;877:2081–6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.05.050>.
- [9] Leoni V, Strittmatter L, Zorzi G, et al. Metabolic consequences of mitochondrial coenzyme A deficiency in patients with PANK2 mutations. *Mol Genet Metab* 2012;105:463–71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2011.12.005>.
- [10] De Bussac H, Alioui A, Viennois E, et al. Oxysterol receptors and their therapeutic applications in cancer conditions. *Expert Opin Ther Targets* 2013;17:1029–38. <http://dx.doi.org/10.1517/14728222.2013.820708>.
- [11] Alfaqih MA, Nelson ER, Liu W, et al. CYP27A1 loss dysregulates cholesterol homeostasis in prostate cancer. *Cancer Res* 2017;77:1662–73. <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-2738>.
- [12] Danilo C, Gutierrez-Pajares JL, Mainieri MA, Mercier I, Lisanti MP, Frank PG. Scavenger receptor class B type I regulates cellular cholesterol metabolism and cell signaling associated with breast cancer development. *Breast Cancer Res* 2013;15:R87. <http://dx.doi.org/10.1186/bcr3483>.
- [13] Mooberry LK, Sabnis NA, Panchoo M, Nagarajan B, Lacko AG. Targeting the SR-B1 receptor as a gateway for cancer therapy and imaging. *Front Pharmacol* 2016;7:466. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2016.00466>.
- [14] Gutierrez-Pajares JL, Ben Hassen C, Chevalier S, Frank PG. SR-BI: linking cholesterol and lipoprotein metabolism with breast and prostate cancer. *Front Pharmacol* 2016;7:338. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2016.00338>.
- [15] Yancey PG, de la Llera-Moya M, Swarnakar S, et al. High density lipoprotein phospholipid composition is a major determinant of the bi-directional flux and net movement of cellular free cholesterol mediated by scavenger receptor BI. *J Biol Chem* 2000;275:36596–604. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M006924200>.
- [16] Fidge NH. High density lipoprotein receptors, binding proteins, and ligands. *J Lipid Res* 1999;40:187–201.
- [17] Shen W-J, Hu J, Hu Z, Kraemer FB, Azhar S. Scavenger receptor class B type I (SR-BI): a versatile receptor with multiple functions and actions. *Metabolism* 2014;63:875–86. <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2014.03.011>.
- [18] Twiddy AL, Cox ME, Wasan KM. Knockdown of scavenger receptor class B type I reduces prostate specific antigen secretion and viability of prostate cancer cells. *The Prostate* 2012;72:955–65. <http://dx.doi.org/10.1002/pros.21499>.
- [19] Espenshade PJ. SREBPs: sterol-regulated transcription factors. *J Cell Sci* 2006;119:973–6. <http://dx.doi.org/10.1242/jcs02866>.
- [20] Goldstein JL, DeBose-Boyd RA, Brown MS. Protein sensors for membrane sterols. *Cell* 2006;124:35–46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2005.12.022>.
- [21] Sun L-P, Seemann J, Goldstein JL, Brown MS. Sterol-regulated transport of SREBPs from endoplasmic reticulum to Golgi: Insig renders sorting signal in Scap inaccessible to COPII proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:6519–26. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0700907104>.
- [22] Eberlé D, Hegarty B, Bossard P, Ferré P, Foufelle F. SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis. *Biochimie* 2004;86:839–48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2004.09.018>.
- [23] Schörghofer D, Kinslechner K, Preitschopf A, et al. The HDL receptor SR-BI is associated with human prostate cancer progression and plays a possible role in establishing androgen independence. *Reprod Biol Endocrinol* 2015;13:88. <http://dx.doi.org/10.1186/s12958-015-0087-z>.
- [24] Llavérias G, Danilo C, Wang Y, et al. A Western-type diet accelerates tumor progression in an autochthonous mouse model of prostate cancer. *Am J Pathol* 2010;177:3180–91. <http://dx.doi.org/10.2353/ajpath.2010.100568>.
- [25] Faloon PW, Dockendorff C, Youngsaye W, et al. A small molecule inhibitor of scavenger receptor BI-mediated lipid uptake—probe 1. Probe reports from the NIH molecular library program. Bethesda, MD: National Center for Biotechnology Information; 2010.
- [26] Faloon PW, Dockendorff C, Germain A, et al. A small molecule inhibitor of scavenger receptor BI-mediated lipid uptake—probe 2. Probe reports from the NIH molecular library program. Bethesda, MD: National Center for Biotechnology Information; 2010.
- [27] Faloon PW, Dockendorff C, Yu M, et al. A small molecule inhibitor of scavenger receptor BI-mediated lipid uptake—probe 3. Probe reports from the NIH molecular library program. Bethesda, MD: National Center for Biotechnology Information; 2010.
- [28] Zheng Y, Liu Y, Jin H, et al. Scavenger receptor B1 is a potential biomarker of human nasopharyngeal carcinoma and its growth is inhibited by HDL-mimetic nanoparticles. *Theranostics* 2013;3:477–86. <http://dx.doi.org/10.7150/thno.6617>.
- [29] McMahon KM, Foit L, Angeloni NL, Giles FJ, Gordon LI, Thaxton CS. Synthetic high-density lipoprotein-like nanoparticles as cancer therapy. *Cancer Treat Res* 2015;166:129–50. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-16555-4_6.
- [30] Julovi SM, Xue A, Thanh LETN, et al. Apolipoprotein A-II plus lipid emulsion enhance cell growth via SR-B1 and target pancreatic cancer in vitro and in vivo. *PLoS One* 2016;11:e0151475. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0151475>.

ARTICLE 3

New Insights in Prostate Cancer Development and Tumor Therapy: Modulation of Nuclear Receptors and the Specific Role of Liver X Receptors.

Bousset L., Rambur A., Fouache A., Bunay J., Morel L., Lobaccaro J.-M.A., Baron S., Trousson A., and de Jossineau C.

Int. J. Mol. Sci. *19*. Review. (2018).



Review

New Insights in Prostate Cancer Development and Tumor Therapy: Modulation of Nuclear Receptors and the Specific Role of Liver X Receptors

Laura Bousset ^{1,2,†}, Amandine Rambur ^{1,2,†}, Allan Fouache ^{1,2,†}, Julio Bunay ^{1,2} , Laurent Morel ^{1,2}, Jean-Marc A. Lobaccaro ^{1,2,*} , Silvère Baron ^{1,2,*}, Amalia Trousson ^{1,2,‡} and Cyrille de Jossineau ^{1,2,‡}

¹ Université Clermont Auvergne, GReD, CNRS UMR 6293, INSERM U1103, 28, place Henri Dunant, BP38, F63001 Clermont-Ferrand, France; laura.bousset@uca.fr (L.B.); amandine.rambur@uca.fr (A.R.); allanfouache76@gmail.com (A.F.); julio.bunay_noboa@uca.fr (J.B.); laurent.morel@uca.fr (L.M.); amalia.trousson@uca.fr (A.T.); cyrille.de_jossineau@uca.fr (C.d.J.)

² Centre de Recherche en Nutrition Humaine d'Auvergne, 58 Boulevard Montalembert, F-63009 Clermont-Ferrand, France

* Correspondence: j-marc.lobaccaro@uca.fr (J.-M.A.L.); silvere.baron@uca.fr (S.B.); Tel.: +33-473-407-416 (J.-M.A.L.); +33-473-407-412 (S.B.); Fax: +33-473-407-042 (J.-M.A.L.); +33-473-178-387 (S.B.)

† These authors contributed equally to this work.

‡ These authors contributed equally to this work.

Received: 29 June 2018; Accepted: 9 August 2018; Published: 28 August 2018



Abstract: Prostate cancer (PCa) incidence has been dramatically increasing these last years in westernized countries. Though localized PCa is usually treated by radical prostatectomy, androgen deprivation therapy is preferred in locally advanced disease in combination with chemotherapy. Unfortunately, PCa goes into a castration-resistant state in the vast majority of the cases, leading to questions about the molecular mechanisms involving the steroids and their respective nuclear receptors in this relapse. Interestingly, liver X receptors (LXR α /NR1H3 and LXR β /NR1H2) have emerged as new actors in prostate physiology, beyond their historical roles of cholesterol sensors. More importantly LXRs have been proposed to be good pharmacological targets in PCa. This rationale has been based on numerous experiments performed in PCa cell lines and genetic animal models pointing out that using selective liver X receptor modulators (SLiMs) could actually be a good complementary therapy in patients with a castration resistant PCa. Hence, this review is focused on the interaction among the androgen receptors (AR/NR3C4), estrogen receptors (ER α /NR3A1 and ER β /NR3A2), and LXRs in prostate homeostasis and their putative pharmacological modulations in parallel to the patients' support.

Keywords: prostate cancer; metastasis; LXRs; androgens; estrogens; cholesterol; oxysterols; signaling pathway

1. Introduction

Prostate cancer (PCa) rarely appears before the age of 40 years and is diagnosed in men of approximately 70 years old. Already known risk factors include age, family history, ethnicity, and internal steroid hormones levels, whilst there are also emerging carcinogenic factors, including diet, lifestyle, and exposure to xenobiotics. PCa requires androgens for growth, and androgen deprivation has, for decades, been the principal strategy to treating advanced disease. The increased incidence of PCa in many countries has been partly attributed to changes in diagnostic methods. Despite its

controversy, introduction of the prostate-specific antigen (PSA) assay as a screening method during the last decade has led to an increase in incidence. However, this alone does not explain the observed continuing rise. Besides, epidemiological studies have also pointed out that environmental factors could influence PCa risks, even though they are difficult to define [1]. PCa is the paradigm of the endocrine-related tumors, together with breast cancer. Various hormones, mainly steroids and their respective nuclear receptors (NRs), have a prominent role in the development of PCa. Hence, unusual levels of testosterone and dihydrotestosterone (DHT) in prostate tissue are suspected to increase the risk of developing cancer [2], and estrogens are believed to have an important role as well [3,4].

NRs are part of a superfamily encompassing 48 members within humans. As DNA-binding proteins, they can control the transcription of genes whose products are fundamental for important physiological functions (for a review see Evans and Mangelsdorf [5]). Schematically, NRs are composed of three major independent functioning domains (Figure 1): a N-terminal involved in the regulation of the non-ligand dependent transcriptional activity, a central DNA-binding domain, and a C-terminal ligand-binding domain carrying a potential ligand-binding pocket controlling the ligand-dependent transcriptional activation function [6].

The steroid receptors are within the cytoplasm in the absence of a ligand and are bound to heat shock proteins that impede the shuttling to the nucleus (Figure 1).

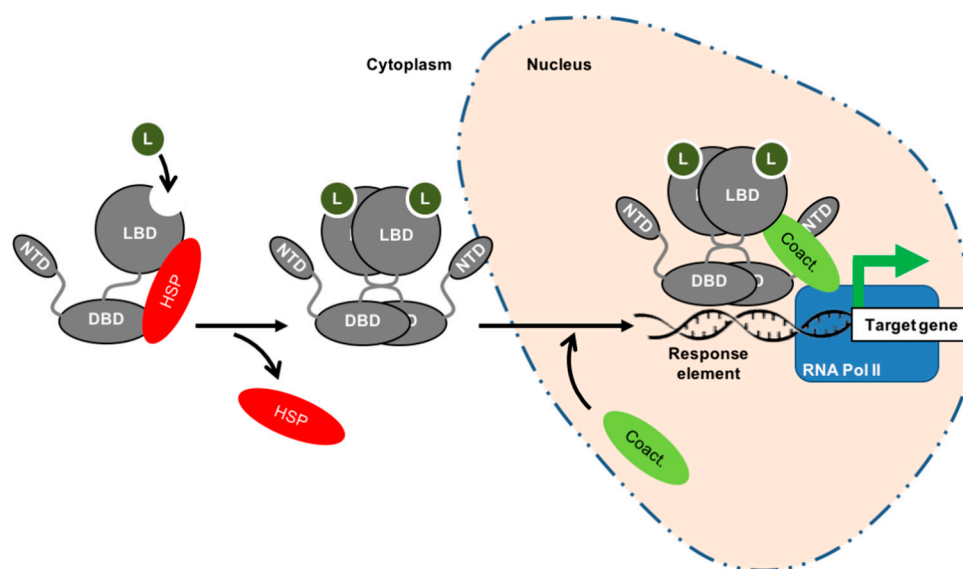


Figure 1. Schematic structure and functioning of steroid receptors. Nuclear receptors are composed of an N-terminal domain (NTD), a DNA-binding domain (DBD) responsible of the binding to the DNA-target sequences usually located within the promoters of the targets genes and a C-terminal ligand-binding domain (LBD), which is specific to the molecule. Canonically, it is admitted that steroid receptors are located within the cytoplasm in the absence of hormone, bound to heat shock proteins (HSP) that impede shuttling to the nucleus. The binding of the steroid (L) allows the chaperones to unbind from the receptor and migrate to the nucleus after a homodimerization. The binding of co-activators (Coact.) makes the recruitment of the transcriptional machinery possible, along with the RNA polymerase II (RNA Pol II), the transcription of the target gene, and the physiological effects.

However, other types of NR, such as the liver X receptors (LXR α /NR1H3 and LXR β /NR1H), function in a heterodimer with retinoid X receptors (RXRs, the receptor for 9-cis retinoic acid, NR2B1-3). In such signaling systems, the heterodimer complex resides bound to DNA in the absence of a ligand, with transcription blocked by the presence of co-repressors (Figure 2).

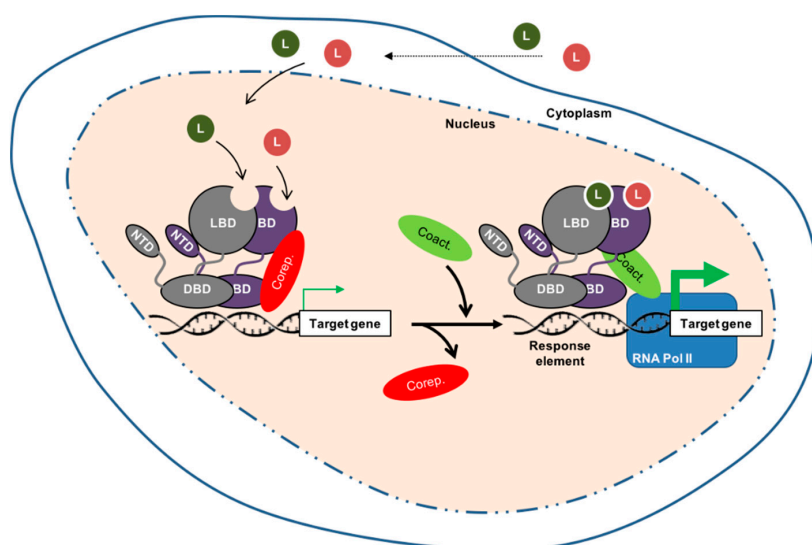


Figure 2. Schematic structure and functioning of nuclear receptors bound as heterodimers with retinoid X receptors (RXR). The non-steroid nuclear receptor (grey) is supposed to be bound with RXRs, a receptor for 9-*cis* retinoic acid (deep purple), to the DNA. In absence of ligand, the transcriptional activity is blocked (thin green arrow) by co-repressors (Corep.). As for the steroid receptors, the binding of co-activators (Coact.) makes possible the recruitment of the transcriptional machinery, along with the RNA polymerase II (RNA Pol II), the transcription of the target gene (thick green arrow), and the physiological effects.

Ligand binding triggers major conformational changes in the receptor's ligand-binding domain which leads to the dissociation of chaperones and/or corepressors, nuclear translocation (when necessary) and DNA-binding, and the recruitment of coactivators. Thus, it initiates gene transcription [7] (Figures 1 and 2). Hence, in the presence of an agonist in the ligand-binding pocket, corepressors dissociate and the recruitment of transcriptional coactivators is favored. Reciprocally, interactions with an antagonist represses association with coactivators and enables corepressor recruitment. The ligand-binding domain may also contribute to the modulation of the N-terminal AF-1 through inter-domain crosstalk, allowing activating domains to recruit coactivators individually or in a synergistic manner [7].

2. Nuclear Receptors Are Fundamental for Prostate Physiology

Androgen [8] and/or estrogen [9] deregulations have been associated with the development of PCa. Their respective NRs are targeted in the treatment of this tumor. Besides these classical steroid NRs, newly considered steroid receptors such as LXR α and LXR β [10] have emerged as interesting players in both prostate homeostasis and carcinogenesis [11–13]. This section will be focused on the androgen (AR/NR3C4), estrogen (ER α /NR3A1 and ER β /NR3A2), and oxysterol (LXRs) receptors, and their putative interactions in maintaining prostate physiology.

2.1. Role of AR in Prostate Physiology and in PCa

Since pioneering work from Higgins and Hodges was published in 1941 [8], it has been well established that androgen regulation signaling is one of the hallmarks of PCa. If testosterone is the principle circulating androgen, the most active androgen in the prostate remains 5 α -dihydrotestosterone (DHT), produced by conversion of testosterone by 5 α -reductase type 2 (SRD5A2), which binds their nuclear receptor with two to ten-fold higher affinity than testosterone [14]. DHT exerts its activity through AR-regulated transcription of genes involved in cell differentiation, development, survival, and function of the prostate in adulthood. Androgens may

also exert rapid, AR-dependent non-genomic effects. In this process, cytoplasmic AR can induce kinase-signaling pathways such as mitogen-activated protein kinases (MAPK) or phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/AKT, which ultimately influence AR signaling through the phosphorylation of AR itself or AR co-regulators (for a review see [15]). Part of this mechanism could explain therapeutic failures when anti-androgens have no effect on androgen target genes despite AR remaining active.

2.1.1. Androgens Are Involved in Prostate Differentiation, Growth, and Functioning

Various knock-out models for AR have pointed out that the initiation of prostate development needs a functional AR [16], even though a correct organization of the future prostate also involves mesenchymal/epithelial interactions, in which AR is required at the stromal level. Cunha and colleagues [17] showed that AR signaling is needed in the mesenchymal compartment for initiation of prostate development, but not in the epithelial compartment. The stromal cells express AR and secrete peptide growth factors in response to androgen signaling [18,19], which contribute to the prostate differentiation. Binding of these growth factors to their respective receptors on basal cells promotes their proliferation and differentiation first into intermediate cells, then into fully differentiated luminal cells [20]. Conversely, basal cells do not have AR [21,22]. In adulthood, maintenance of the prostate gland depends on the balance of growth-survival/apoptosis driven by androgens, which promote the survival of luminal epithelial cells. In animal models, supra-physiological levels of androgens result in an increase in cellular proliferation in the prostate [23]. Conversely, castration induces apoptosis in about 70% of luminal epithelial cells in adult male rats but has little or no effect on basal and stromal cells [24].

2.1.2. Androgens Drive Proliferation of Luminal Epithelial Cells in PCa

The malignant switch from benign luminal cells to cancerous adenocarcinoma cells is poorly understood, but regardless, AR activity still drives proliferation. This applies both in tumors which are dependent on circulating androgens and in more advanced, castrate resistant disease [25–27]. This signaling pathway pathologically allows androgen/AR complexes to bind to and enhance expression of survival and proliferation genes that are normally not regulated by these complexes in either intermediate cells or luminal cells [25–27]. Using ChIP-on-Chip and ChIP-Seq experiments, research groups have reported thousands of AR direct binding events in PCa cell lines and tissues, furthermore showing different binding patterns depending on the stages of cancer [28–30].

2.2. Role of ER in Prostate Physiology and in PCa

The physiological functions of estrogens in the prostate, other than their activity as antiandrogens, have been unclear for many years. The development of genetic mouse models and their study have helped decipher the role of 17 β -estradiol and its receptors in the prostate. 17 β -estradiol activity is mainly mediated through its specific nuclear receptors, ER α (NR3A1) and ER β (NR3A2) (for a review see Yaşar et al. [31]). As with AR, ERs control transcription via binding to distinct DNA sequences at target genes or through their non-genomic activity. In non-malignant human adult prostate tissue, ER α is mainly expressed in the stromal compartment where it is involved in stromal cell proliferation and differentiation [32], and it can be found in less than 2% of epithelial cells where it drives estrogen-mediation epithelial cell proliferation [33,34]. Conversely ER β is detected in 90% of epithelial cells [35–37], where it promotes cell homeostasis and differentiation [38].

During PCa initiation and progression, stromal ER α expression remains but up to 80% of all epithelial cells show an expression of ER α that rises from 0–2 to 80% in PCa [37]. Inversely, epithelial cells lose ER β , as it drops from 90 to 15% of cells in PCa [35,39,40]. Finally, the TRAMP and PB-Cre4/*Pten*^{loxP} PCa mouse models have helped to understand the respective opposite roles of both ERs, along with the significance of this change that is seen in PCa. While epithelial ER α is thought to be responsible of estrogen-mediated PCa growth, epithelial ER β is believed to have protective roles [41].

Epidemiological data have shown controversial results regarding the role of circulating estrogens. Local steroid production by prostate tumors, rather than circulating steroids, may play a major role in

driving PCa growth in men following androgen deprivation therapy [42]. While current research on the role of intracrine steroids focuses on intratumoral androgens, it is important to note that aromatase (CYP19A1), which catalyzes estradiol production from testosterone, is also altered in PCa tissues [43] and CYP19A1 expression could be 30-fold higher than normal in PCa metastatic tissues [44].

2.3. LXRs as Emerging Factors Regulating Prostate Physiology

LXR α and LXR β , encoded by two distinct genes, are composed of 447 and 460 amino acids, respectively (for a review see [10,45]). They cannot be formally considered as true isoforms; however, they share 77% of their identity within their DNA- and ligand-binding domains. Initially described as orphan receptors, Mangelsdorf's group demonstrated more than 20 years ago that LXRs were actually the receptors for oxysterols, oxidized derivatives of cholesterol [46,47]. Because oxysterols were described as bona fide ligands, it was suspected that LXRs could be involved in the regulation of cholesterol metabolism. Indeed, this was further demonstrated by the phenotype analysis of LXR-deficient mice [48]. Hence, the activation of both LXRs by their cognate oxysterol ligands reduces the intracellular concentration of cholesterol. This occurs through several means: (1) the increase of the cholesterol efflux via the transcription of *ABCG1* and *ABCA1*, two membrane transporters and target of LXRs; (2) the inhibition of the cholesterol influx by increasing the ubiquitin ligase inducible degrader of the LDL receptor (IDOL), which targets the LDL receptor; (3) the increase of cholesterol metabolism into bile acids (induction of CYP7A1) or steroids (induction of StAR); and (4) the increase of cholesterol storage.

In the prostate, we and others have explored the physiologic role of LXRs. Both isoforms are expressed in the prostate, in epithelial as well as in stromal cells. However, so far, it has not been possible to dissociate the exact role of each LXR isoform as they both compensate each other [49]. Fukuchi et al. first pointed out that *ABCA1* was downregulated by AR in LNCaP cells [50]. Furthermore, the same group showed that the activation of LXRs by the synthetic agonist T0901317 slows down LNCaP proliferation [51], suggesting a role of LXRs in the progression of CaP, or at least showing that these receptors could be pharmacologically targeted. LXRs and some of their target genes were found to be less accumulated during the progression of the androgen-dependent into androgen-independent relapsed tumors in a xenograft model [52].

The role of LXRs in the control of the apoptosis of prostate cells was also shown using various natural or synthetic ligands [11]; this occurs through the modulation of the membrane cholesterol content associated with the lipid rafts, thus decreasing the PI3K and survival pathways. Using new cellular models derived from the dorsal prostate, we showed that LXRs control both protein kinase B (or AKT) and MAPK phosphorylation pathways in a normal prostate's cell cycle [12]. This point is of importance as the Ras/MAPK pathway is essential to maintaining cellular homeostasis because of its implication in cell proliferation and differentiation. Additionally, this pathway is the second major signaling pathway whose deregulation has been associated to prostate tumorigenesis: it has been found up-regulated in 43% of primary tumors and in the greatest majority of metastases [53]. Furthermore, the suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3), which is able to inhibit p42/p44 MAPK signaling [54] and the proliferation and migratory ability of cancer cells, is upregulated upon LXR activation [55,56]. Janus kinase/signal transducers and activators of transcription (JAK/STAT) and Wingless/Integrated (Wnt) pathways could also be deregulated in PCa [53]. Interestingly, LXR activation represses the JAK/STAT signaling pathway in the liver and decreases β -catenin accumulation, a crucial mediator of the Wnt pathway [57].

In parallel, our group pointed out that LXR-deficient mice fed with a high cholesterol diet presented a neoplasia within the prostate epithelium, characterized by the downregulation of the tumor suppressor Homeobox protein NKX3.1 and beta-microseminoprotein MSMB and the upregulation of pro-oncogenic factors such as CyclinD1 and CyclinD2 [58]. This was definitively due to the accumulation of the oncogene and histone methyl transferase enhancer of Zeste Homolog 2 (EZH2), whose overexpression has been described in patients with an aggressive PCa [59]. The question

regarding any expression change with cancer progression is unclear. Indeed, Oncomine[®] analysis did not show any difference for LXR α , while a slight significant difference was observed for LXR β [58].

Altogether, ex vivo and in vivo studies suggest that LXRs could be implicated in the progression of PCa and, thus, could represent a pharmacological target for its treatment (Figure 3).

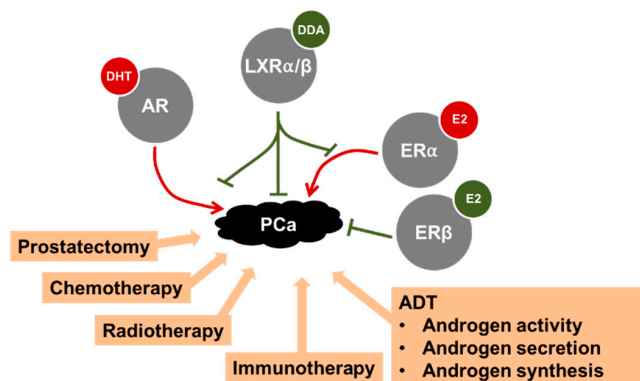


Figure 3. Summary of the various treatments proposed to treat PCa. A focus is made on some nuclear receptors. The androgen (AR) and estrogen receptor (ER) α have deleterious effects on prostate cancer (PCa) progression when activated by their respective ligands dihydrotestosterone (DHT) and 17 β -estradiol (E2). Conversely, nuclear oxysterol receptors (LXR α/β) and ER β block the progression of PCa in animal models when activated by their respective ligands. As indicated, AR and ER α activity in PCa could be modulated by LXRs, directly or indirectly. For more details see the text. DDA: dendraogenin A.

2.4. Androgens, Estrogens, and Oxysterols Interact in the Prostate

Despite their specific respective physiological roles on prostate physiology (see above sections), androgens, estrogens, and oxysterols cross interact through the transcriptional activation of their respective NRs.

2.4.1. LXRs Regulate the Availability of Active Steroids

As described above, prostate homeostasis is sensitive to steroids such as androgens and estrogens. All of these molecules derive from cholesterol. Regarding the binding to their respective receptors, the availability of androgens [60] and estrogens can be modulated by sulfotransferases, which inactivate the steroid activity [61]. Previous work has reported that sulfotransferase family 2A member 1 (SULT2A1) deactivating androgens is a LXR-target gene [62]. Indeed, ligand activated LXRs deprive cells from androgens through the increase of SULT2A1. Conversely, LXRs inhibit the expression of steroid sulfatase STS, an enzyme involved in the activation of androgens in prostate [63]. The level of active estrogens is also dependent of the levels of the estrogen sulfotransferase EST/SULT1E1. As for androgens, sulfated estrogens cannot bind to and activate ER activities [64].

2.4.2. AR, ER, and LXR Interaction within the Prostate

PC-3 AR-negative cells display a higher accumulation of LXR target genes [65], such as *ABCA1* and *ABCG1* [13,50,52]. A similar accumulation is also seen mouse models and in patients receiving androgen deprivation therapy [66]. Benign prostatic hyperplasia is a pathological situation due to an excessive activity of AR and the production of DHT [67]. Using transgenic animals, we [49] and others [68] described LXR α as a key modulator of the cross talk between the stromal and epithelial compartments, which is essential for the integration of androgen signaling in the prostate and its effect on the epithelium. We pointed out that LXR α -deficient mice have increased secretory activity in the epithelium resulting from a deregulation of the androgen signaling. No clear specific role

was identified for LXRs between the epithelial and the stromal compartments, suggesting a complex paracrine network regulated by these receptors [49]. Likewise, Tsui et al. [69] pointed out that LXR expression was higher in androgen-sensitive LNCaP cells than in other PCa cell lines, and activating LXRs by T0901317 in LNCaP cells decreases their AR accumulation and PSA production. Overall, AR and LXRs are definitively interconnected. Even it is not fully demonstrated for the prostate, it has also been shown that ERs down-regulate *LXRα* mRNA in mouse macrophages [70,71], through an estrogen response element in the *LXRα* promoter [70], suggesting a putative interaction between these two classes of receptors.

2.5. NR Activity Can Be Altered in Prostate Physiology by Environmental Disrupting Chemicals

Cholesterol-derived molecules are not the only ones that are able to modulate AR, ER, and LXR transcriptional activity (Figure 3). Indeed, environmental disrupting chemicals (EDCs) (reviewed in Delfosse et al. [72]) affect physiology in various ways by mimicking natural endogenous molecule activity, antagonizing their action, or modifying the synthesis, metabolism, and transport of these endogenous compounds. Due to their estrogen-like structure, the main harmful effects of EDCs have been attributed to their interference with hormone signaling mediated by NRs [72]. Hence, the physiologic roles controlled by the targeted NRs are altered. Historically, studies were focused on ER α and ER β , AR, and thyroid receptors TR α (NR1A1) and TR β (NR1A2). Then, because disorders of metabolic pathways have been associated to a higher risk of developing PCa, NRs controlling these processes have been the center of interest. Among them, peroxisome proliferator activated receptors (PPAR γ /NR1C3), rexinoid receptors (RXRs/NR2B1-3), and LXR α and β /NR1H3 and 2 are abundantly studied due to their potential to be pharmacologically targeted (for a review on LXRs please refer to Maqdasy et al. [10]).

3. Lipid Metabolism, Angiogenesis and Immunity Are Altered in PCa

As for other cancers, prostate tumorigenesis is a multifactorial process that depends on cell modifications to allow for proliferation and growth. For that purpose, tumor cells usually (1) adapt their metabolism to produce enough cell components [73] and (2) induce molecular modifications to escape from cell cycle control.

3.1. Lipid and Cholesterol Metabolism in Cancer Cells

Among the numerous metabolic alterations that fuel cells and allow for the increased rate of growth and proliferation in cancer cells, the Warburg effect is a metabolic switch where cancer cells reprogram their glucose metabolism for “aerobic glycolysis”, a process usually favored in anaerobic conditions [74]. Another example of an adaptation is citrate and fatty acid production. While citrate, necessary for secretion in prostatic fluid, is produced in large amount, it is used as a substrate for de novo fatty acid synthesis [75], which is found to be increased in PCa development [76].

A deregulation in cholesterol homeostasis has also long been associated to PCa [77,78]. Indeed, White described an “accumulation of crystals of lipid nature in tumors” suggesting that “cholesterol might be associated in some way with the regulation of cell proliferation” [78]. Interestingly this suspicion was later confirmed by Swyer who identified a two-fold increase of cholesterol content when prostates were affected by a hypertrophy [77]. More recently and using imaging data, prostate cancer aggressiveness has been associated with an aberrant accumulation of esterified cholesterol in lipid droplets [79]. However, no clear link has been made between cholesterolemia and Gleason score, positive nodal status, and/or positive surgical margins [80]. Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (HMGCR) is the key enzyme in endogenous de novo cholesterol synthesis and is inhibited by statins. Interestingly, the use of statin by patients suffering a hypercholesterolemia has been associated with improved PCa specific survival, particularly in men undergoing radiotherapy [81].

Additionally, and as presented above, LXRs increase the apoptosis of PCa cell lines by modifying the membrane distribution of cholesterol. Indeed, we pointed out that activated LXRs by various

natural or synthetic ligands could induce smaller and thinner lipid rafts and downregulate AKT phosphorylation in these lipid rafts [13]. LXRs also regulate the first step of prostate carcinogenesis since, as previously presented, LXR-deficient mice fed a high cholesterol diet have prostatic intra-epithelial neoplasia while wild-type mice do not. This indicates that LXRs could act as gatekeepers against PCa when cholesterol homeostasis tends to be destabilized.

Conversely, AR and androgens have been implicated in the increase of the intracellular concentration of cholesterol in PCa cells by inducing the accumulation of HMGCoA and transcription factor sterol response element binding protein (SREBP2), which increases cholesterol de novo synthesis, and by decreasing the amount of ABCA1 [82]. AR also decreases LXR activation in PCa by competing for their coactivators. For a review regarding the interaction between AR and LXRs refer to Cariello et al. [83].

Besides an increased endogenous synthesis of lipids, environmental factors such as food intake play a critical role in cancer development. Hence, it has been considered that food intake could represent the principal source of cholesterol [84]. It is thus not surprising that an enriched lipid diet could be described as a risk factor for developing PCa [85]. A similar positive association with a higher risk of developing PCa has been found for the consumption of products of animal origin [86].

3.2. Modification of Angiogenesis and Immunity

Immune system dysregulation is another feature of cancer development. Some studies show an interesting correlation between recurrent prostatitis and PCa, suggesting the importance of the immune system in prostate carcinogenesis [87]. Indeed, systemic and in situ inflammation could be observed in the tumor and stromal microenvironment. This inflammation is suspected to contribute to the tumor development by the supply of bioactive molecules, such as growth factors produced by the microenvironment immune cells. PCa has also been associated with the accumulation of inducible nitric oxide synthase (iNOS) [88]. Cyclooxygenase (COX) 2, a pro-inflammatory enzyme synthesizing iNOS is highly expressed in tumor-associated macrophages [89]. In the same way, IL6 is highly expressed in PCa and promotes tumor growth at least in part via PI3K/AKT signaling activation [90,91]. Noteworthy, LXRs downregulate inflammation by the parallel inhibition of iNOS, COX2, and IL6 expression [92,93]. Moreover, LXR activation is able to stimulate an antitumor immune response by promoting the secretion of IFN γ by macrophages and T-cells, a phenomenon that has been associated with an increase in survival of mice injected with lung carcinoma cells [94].

Tumor expansion depends on the availability of nutrients and oxygen and the ability to eliminate the waste produced by the high metabolism of the tumor cells. To avoid the microenvironment becoming hypoxic and poor in nutrients, cancer cells favor angiogenesis by increasing the production of vascular endothelial growth factor (VEGF). In PCa cells, VEGF is highly expressed. Moreover it has been shown that LXRs are able to decrease VEGF signaling by modifying the distribution of cholesterol at the membrane [95,96]. Logically, synthetic LXR agonist T0901317 blocks migration of endothelial cells and vessel tube formation [97].

Altogether, modulation of cholesterol homeostasis has a strong effect both on inflammation and angiogenesis within the prostate, two steps that are important for the progression of PCa to an advanced form of disease. Hence, the fact that identified metabolisms are altered during tumor development and metastasis process allows for the future possibility of using inhibitors of lipid synthesis, inflammation, and/or angiogenesis in patients with PCa.

4. Management of Prostate Cancer and Treatments

Even though this review is focused on the NRs in PCa, it is important to have a clear overview of the various management strategies as, according to what was described in the previous sections, anti-steroid therapy or novel molecules targeting LXRs could be applied depending on the stage of PC. Hence, medical care of the patients is based on whether the tumor is localized, if it is advanced, metastasized, or resistant to castration. Apart from classical treatments such as radio- or chemotherapy, specific strategies have been developed to target steroid production and have shown some efficacy.

Still, new strategies are to be developed to increase treatment efficacy. The treatments could also be combined in order to increase their efficacy.

4.1. Local PCa

Less than 5–10% of patients with low-grade, low-volume tumors will develop a PCa in the 10 years following diagnosis [98]. Based on the usually late age of diagnosis (usually above 70 years of age), deferred treatment and active surveillance are proposed to patients in order to prevent over-treatment that reduces mortality while decreasing the quality of life. About 80% of men with PCa have a localized disease [99]. For localized or locally advanced disease, the choice of treatment will be depending on the risk of progression of the tumor, life expectancy, and patient wishes. According to the European Association of Urology guidelines, radical prostatectomy is usually proposed to patients with low to high-risk PCa since they have a life expectancy >10 years. Radiation therapy is a suitable option for low-risk PCa and should be used in combination with androgen deprivation therapy (ADT) for intermediate/high-risk localized and locally advanced PCa.

4.2. Advanced and Metastatic PCa

Median survival for a patient newly diagnosed with metastatic PCa (about 5%) is at least 42 months. However, this is largely heterogeneous [100], and the first line standard approach for patient with advanced PCa is ADT [101]. Three main pharmacological treatments are proposed to block androgen effects. The first is treatment with LHRH ligands [102]. On one hand, agonists (mainly goserelin leuproline, and triptorelin) are able to downregulate the LHRH receptor, resulting in a huge decrease of LH/FSH secretions and testosterone production. On the other hand, LHRH antagonists (abarelix and degarelix) directly block the LHRL receptor and also result in the shut-down of testosterone production. The second treatment is the blockade of androgen synthesis. CYP17, the limiting enzyme for the production of androgens, is upregulated in CRPC [44] and can be inhibited by abiraterone treatment [103]. Ketoconazole has also been shown to block the adrenal steroidogenesis. This metabolic pathway is important as HSD3B1, which converts DHEA to androstenedione in prostate tissue as well as in the adrenal gland, is sometimes found highly expressed in PCa [104]. Likewise, AKR1C3, which converts weak adrenal androgens (e.g., DHEA and androstenedione) into T and DHT, is a good pharmacological target [105]. The third treatment is antiandrogens to antagonize AR and androgen action. These compounds could have either a steroid structure as cyproterone acetate or a non-steroid backbone, such as bicalutamide, flutamide, or nilutamide. Enzalutamide, also a non-steroidal antiandrogen, prevents AR nuclear translocation and has a higher affinity for AR than the widely used bicalutamide [106].

Together with ADT, chemotherapy may be performed. Recent clinical trials and meta-analyses show a 9% improved benefit on overall survival at four years of using docetaxel chemotherapy in combination with ADT for metastatic hormone-sensitive PCa [100].

4.3. Castration Resistant Prostate Cancer

Most patients experience tumor growth recovery despite being on ADT within a median of 18 to 24 months [107] and progress to a lethal stage called castration-resistant PCa (CRPC). The emergence of this aggressive form of PCa is diagnosed when blood PSA increases despite a low serum testosterone, followed by a progression of the disease with the appearance of new symptoms and bone or soft tissue lesions [108]. About 33% of men with a rise of PSA level will develop bone metastasis within two years [109], even though patients with CRPC are highly heterogeneous. Various genetic alterations have been associated to this CRPC, such as alterations in PI3K or in Wnt pathways and in the cell cycle or DNA repair processes [110].

However, AR pathway harbors the main alterations. Five general mechanisms are usually described to explain the emergence of CRPC. The first is the overexpression of the protein AR [111,112], even though AR expression is lost in a subset of metastatic CRPC (mCRPC) [113] and the mechanisms

associated to this complete androgen independence remain unclear. The second are the mutations of AR [114], which could induce a hypersensitivity to low levels of androgens, an antagonist-to-agonist switch for antiandrogens, or a receptor able to respond to non-canonical agonists like non-androgen steroids. The third is the upregulation of AR coactivators such as ARA70, which plays an important role in the antiandrogen antagonist-to-agonist switch in the DU145 PCa cell line [115], the forkhead box protein (FOXA1) [116], immunoglobulin transcription factor (ITF2), steroid receptor coactivator (SRC1) [117], lysine methyltransferase (EZH2) [118], and aldo-keto-reductase (AKR1C3) [119]. Conversely to breast cancer, no downregulation of co-repressors has been reported so far. The fourth is the activation of AR by tyrosine-kinase receptors linking the androgen regulated pathway with the growth factor signaling pathways. Hence, insulin like growth factor (IGF-1), keratin growth factor (KGF), and epidermal growth factor (EGF) can activate AR in vitro in the absence of a ligand [120]. Likewise, receptor tyrosine-protein kinase erbB-2 (Her-2/neu) overexpression has been observed in 67% of CRPC tissue versus 20% of hormone-naïve tissue [121,122] and participates in the activation of AR in absence of androgen through MAPK signaling [123]. Her-2/neu activation also increases AR stability [124]. The fifth is the intratumoral synthesis of active androgens. The primary source of androgens for the tumor cells are the testes, even though the adrenal glands [125] could, to a less extent, provide inactive androgens that are transformed into active hormones (5–10%). Additionally, as described above, some tumors synthesize their own active androgens by the abnormal production of cytochrome CYP17A1 and AKR1C3 or a higher activity of SRD5A1/3, which allows for the conversion of testosterone into DHT [126].

4.4. New Therapeutic Strategies for PCa Beside Steroids and NRs

For few years, therapeutic strategies have attempted to reduce overtreatment of metastatic CRPC (mCRPC) patients, which only offers little benefits to life expectancy while having a negative effect on quality of life. One strategy to prevent over-diagnosis of PCa has been to limit systematic PSA screening. However, metastatic PCa has been increasing in the USA. As PCa mortality is due to the progression of the disease, the new challenge for physicians and researchers is to propose new options to treat advanced and metastatic forms of PCa.

Chemotherapy with cabazitaxel, a novel taxane-derivate drug, is now a second-line option for docetaxel-resistant cancer. A TROPIC phase III clinical trial demonstrated an overall survival benefit of cabazitaxel (15.1 months) versus mitoxantrone (12.7 months) in docetaxel-resistant CRPC [127].

As PCa preferentially metastasizes in bone (90%) and primarily forms osteoblastic lesions [128], these metastases are incurable and contribute to tumor-specific morbidity and mortality [129]. Hence, radium 223, which is a radiopharmaceutical molecule, similar to calcium, improves overall survival by binding to newly formed bone and emitting radiation to induce apoptosis in the surrounding tumor cells [130]. Bisphosphonates slow down bone resorption and prevent loss of bone mass by binding hydroxyapatite and inhibiting osteoclast activity. Among them, zoledronic acid shows a delay in the emergence of skeletal-related events by 36% [131]. Targeting the bone microenvironment can also reduce skeletal-related events. Denosumab is a monoclonal antibody, which binds to receptor activator of nuclear factor kappa-B (RANK) ligand, interfering with the activation of RANK at the surface of osteoclasts and thus inhibiting their proliferation, function, and survival while decreasing bone resorption. This molecule delays the time of apparition of first bone metastasis for about four months [132].

Cancer therapy is now facing the new era of immunotherapy. Recently, focus was made on immunotherapy of PCa since sipuleucel-T demonstrated significant, even limited, benefit on overall survival in a clinical trial on asymptomatic or little symptomatic mCRPC patients [133].

Even in CRPC, AR remains active and PCa cells are sensitive to a second-line of ADT. For CRPC patients, specific drugs have been developed such as abiraterone acetate and enzalutamide (see above).

Unfortunately, initial responders to second generation ADT inevitably become resistant to enzalutamide and abiraterone, and others develop acquired resistance [134]. So, for the last few

years, research has been focused on the comprehension of the molecular mechanisms inducing these resistances [134].

The discovery of new mechanisms of resistance will allow for the deciphering of new molecular pathways and encourage the development of future molecules, such as the currently under trial apalutamide (ARN-509, Janssen, Horsham, PA, USA), darolutamide (ODM-201, Orion, Espoo, Finland), proxalutamide (GT0918, Suzhou Kintor Pharmaceuticals, Suzhou, China), seviteronel (Viamet Pharmaceuticals, Research Triangle Park, NC/Innocrin Pharmaceuticals, Durham, NC, USA), ASN001 (Asana Biosciences, Lawrenceville, NJ, USA), and TRC253 (Janssen).

Recent results suggest that oxysterols and LXRs have a protective role against progression and dissemination of tumor cells. Indeed 27-hydroxycholesterol, a LXR ligand, reduces the invasive potential of LNCaP and PC3 PCa cells in in vitro cell invasion assays [135]. Pencheva and colleagues demonstrated in a melanoma model that treatment with an LXR agonist affected secretion of APOE by stromal cells resulted in a decrease in tumor growth, neoangiogenesis, and metastatic dissemination [136]. Likewise, Segala et al. pointed out that dendrogenin A, a newly discovered cholesterol metabolite and activator of LXRs, is able to specifically induce lethal autophagy of cancer cells in vitro and in vivo [137].

5. Conclusions

As already presented, cholesterol is an important molecule whose concentration needs to be controlled in prostate physiology. Since cholesterol is associated with the aggressiveness of prostate adenocarcinoma, targeting its metabolism appears to be an interesting theoretical therapy. Two pathways can be targeted: the mevalonate pathway, which is inhibited by the statins, and the LXR signaling pathway, which could be activated to tighten the control of cholesterol homeostasis. The modulation of both pathways will have a hypocholesterolemic effect.

Various epidemiological studies and meta-analyses have shown that the use of statins reduces the risk of PCa mortality [138] and, more importantly, decreases the risks associated with the development of advanced PCa [139] to present aggressive pathological features in histological analysis of prostatectomy specimens [140] or to develop distant metastasis in patients who were diagnosed with non-metastatic PCa [141]. A decrease in the time of response to ADT has also been reported in patients with hypercholesterolemia. Conversely, statins delay the emergence of CRPC in ADT treated patients [142]. However, it should be kept in mind that statins have numerous side effects.

Since the primary use of statins in PCa therapy is still controversial, the development of new selective liver X receptor modulators (SLiMs, [143]) is theoretically a good option to regulate the intra-prostatic levels of cholesterol. These tissue-specific LXR agonists would modulate intracellular levels of cholesterol in prostate tissue, be specific for each LXR isoform, and prevent any highly adverse side effect. Such a specific SLiM, GW6340, has already been developed. It promotes macrophage reverse cholesterol transport in vivo and thus exerts an anti-atherogenic effect without side effects linked to hepatic LXRs activation like elevated plasma triglycerides [144]. As LXR α seems to be the isoform responsible for the hepatic adverse effects observed upon pan-LXRs activation, the development of LXR β isoform-specific agonists actually mobilizes intense efforts from researchers. Currently, many molecules are under development [145]. Recently, BMS-852927, a novel partial LXR β -selective compound, was successfully tested in healthy human volunteers in a phase 1 ascending-dose study [146]. This study reported an increase in plasma and hepatic lipids and a decrease in circulating neutrophils in mice that was not observed in monkeys. These findings highlight the greatest difficulty in drug discovery to predict clinical responses in animal models. To date, RGX-104, a LXR β -selective agonist, is currently being tested in patients with advanced solid malignancies and lymphoma (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02922764). Expected effects of this molecule are a stimulation of antitumor immunity and an inhibitory action on angiogenesis. Likewise, Segala et al. showed that dendrogenin A is a natural specific activator of LXR usable in the treatment of cancers [137].

As the development of selective LXR agonists and in vitro/in vivo test is ongoing, the safe and effective use of SLiMs appears to will be promising notably for prostate cancer treatment, as well as other steroid-dependent tumors. Given the heterogeneity of the mechanisms of emergence of castration-resistance, the focus of interest should be combinatorial treatment in cancer therapeutic. SLiMs may be used in combination with current standard of care for the treatment of advanced PCa/mCRPC, like ADT, chemotherapy, or immunotherapy to potentiate their effects or to target multiple cancer-associated pathways and to reduce the risk of resistance development overall. Another benefit of combinatorial therapy is to diminish doses of administrated drugs and, likewise, to reduce deleterious side effect. In a xenograft mouse model of melanoma, combining LXR agonist treatment to frontline chemotherapy (dacarbazine) has shown a synergistic effect in reducing tumor growth [136]. This seems to be a direction for the future.

Funding: Funding was provided by the Région Auvergne-Rhône-Alpes, Fond Européen de Développement Régional (FEDER), Association de Recherche sur les Tumeurs Prostatiques (ARTP), Fondation ARC, Ligue contre le Cancer, and AAP Plan Cancer Environnement 2016 for SB-JMAL lab. The funders had no role in data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Acknowledgments: We are deeply grateful to James Wilmouth (GReD Lab) for his help in editing the manuscript.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Abbreviations

ABCA1/G1	ATP-binding cassette A1/G1
ADT	androgen deprivation therapy
AF1/2	activating function 1/2
AR	androgen receptor
COX2	cyclooxygenase 2
DHT	dihydrotestosterone
CRPC	castration-resistant prostate cancer
mCRPC	metastatic CRPC
ER	estrogen receptor
EST	estrogen sulfotransferase
EZH2	enhancer of Zeste homolog 2
Her-2/neu	receptor tyrosine-protein kinase erbB-2
HMGCR	hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase
IDOL	inducible degrader of the LDL receptor
iNOS	inducible nitric oxide synthase
JAK/STAT	Janus kinase/signal transducers and activators of transcription
LDLR	LDL receptor
LXR	liver X receptor
MAPK	mitogen-activated protein kinases
MSMB	beta-microseminoprotein
NKX3.1	homeobox protein Nkx-3.1
NR	nuclear receptor
PCa	prostate cancer
PI3K	phosphoinositide 3-kinase
PSA	prostate specific antigen
RXR	retinoid X receptor
SOCS3	suppressor of cytokine signaling 3
SR5A2	5 α -reductase type 2
SREBP	sterol response element binding protein
SLiMs	selective liver X receptor modulators
SULT2A1	sulfotransferase family 2A member 1
VEGF	vascular endothelial growth factor
Wnt	Wingless/Integrated

References

1. Bostwick, D.G.; Burke, H.B.; Djakiew, D.; Euling, S.; Ho, S.; Landolph, J.; Morrison, H.; Sonawane, B.; Shifflett, T.; Waters, D.J.; et al. Human prostate cancer risk factors. *Cancer* **2004**, *101*, 2371–2490. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Hsing, A.W.; Chu, L.W.; Stanczyk, F.Z. Androgen and prostate cancer: Is the hypothesis dead? *Cancer Epidemiol. Biomark.* **2008**, *17*, 2525–2530. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Härkönen, P.L.; Mäkelä, S.I. Role of estrogens in development of prostate cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2004**, *92*, 297–305. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Prins, G.S.; Korach, K.S. The role of estrogens and estrogen receptors in normal prostate growth and disease. *Steroids* **2008**, *73*, 233–244. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Evans, R.M.; Mangelsdorf, D.J. Nuclear Receptors, RXR, and the Big Bang. *Cell* **2014**, *157*, 255–266. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. McKenna, N.J. Research Resources for Nuclear Receptor Signaling Pathways. *Mol. Pharmacol.* **2016**, *90*, 153–159. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Helsen, C.; Claessens, F. Looking at nuclear receptors from a new angle. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2014**, *382*, 97–106. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Huggins, C.; Hodges, C.V. Studies on Prostatic Cancer. I. The Effect of Castration, of Estrogen and of Androgen Injection on Serum Phosphatases in Metastatic Carcinoma of the Prostate. *Cancer Res.* **1941**, *1*, 293–297. [[CrossRef](#)]
9. Bonkhoff, H. Estrogen receptor signaling in prostate cancer: Implications for carcinogenesis and tumor progression. *Prostate* **2018**, *78*, 2–10. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Maqdasy, S.; Trousson, A.; Tauveron, I.; Volle, D.H.; Baron, S.; Lobaccaro, J.-M.A. Once and for all, LXR α and LXR β are gatekeepers of the endocrine system. *Mol. Aspects Med.* **2016**, *49*, 31–46. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. De Boussac, H.; Pommier, A.J.; Dufour, J.; Trousson, A.; Caira, F.; Volle, D.H.; Baron, S.; Lobaccaro, J.-M.A. LXR, prostate cancer and cholesterol: The Good, the Bad and the Ugly. *Am. J. Cancer Res.* **2013**, *3*, 58–69. [[PubMed](#)]
12. Dufour, J.; Pommier, A.; Alves, G.; de Boussac, H.; Lours-Calet, C.; Volle, D.H.; Lobaccaro, J.-M.A.; Baron, S. Lack of Liver X Receptors Leads to Cell Proliferation in a Model of Mouse Dorsal Prostate Epithelial Cell. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e58876. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Pommier, A.J.C.; Alves, G.; Viennois, E.; Bernard, S.; Communal, Y.; Sion, B.; Marceau, G.; Damon, C.; Mouzat, K.; Caira, F.; et al. Liver X Receptor activation downregulates AKT survival signaling in lipid rafts and induces apoptosis of prostate cancer cells. *Oncogene* **2010**, *29*, 2712–2723. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Abdelgadir, S.E.; Connolly, P.B.; Resko, J.A. Androgen binding in peripheral tissues of fetal rhesus macaques: Effects of androgen metabolism in liver. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **1990**, *37*, 545–551. [[CrossRef](#)]
15. Heinlein, C.A.; Chang, C. The Roles of Androgen Receptors and Androgen-Binding Proteins in Nongenomic Androgen Actions. *Mol. Endocrinol.* **2002**, *16*, 2181–2187. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Yeh, S.; Tsai, M.-Y.; Xu, Q.; Mu, X.-M.; Lardy, H.; Huang, K.-E.; Lin, H.; Yeh, S.-D.; Altuwaijri, S.; Zhou, X.; et al. Generation and characterization of androgen receptor knockout (ARKO) mice: An in vivo model for the study of androgen functions in selective tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 13498–13503. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Cunha, G.R. The role of androgens in the epithelio-mesenchymal interactions involved in prostatic morphogenesis in embryonic mice. *Anat. Rec.* **1973**, *175*, 87–96. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Lu, W.; Luo, Y.; Kan, M.; McKeehan, W.L. Fibroblast Growth Factor-10 A second candidate stromal to epithelial cell andromedin in prostate. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 12827–12834. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Planz, B.; Aretz, H.T.; Wang, Q.; Tabatabaei, S.; Kirley, S.D.; Lin, C.W.; McDougal, W.S. Immunolocalization of the keratinocyte growth factor in benign and neoplastic human prostate and its relation to androgen receptor. *Prostate* **1999**, *41*, 233–242. [[CrossRef](#)]
20. Wikström, P.; Westin, P.; Stattin, P.; Damber, J.E.; Bergh, A. Early castration-induced upregulation of transforming growth factor beta1 and its receptors is associated with tumor cell apoptosis and a major decline in serum prostate-specific antigen in prostate cancer patients. *Prostate* **1999**, *38*, 268–277. [[CrossRef](#)]

21. Bonkhoff, H.; Remberger, K. Widespread distribution of nuclear androgen receptors in the basal cell layer of the normal and hyperplastic human prostate. *Virchows Arch. Pathol. Anat. Histopathol.* **1993**, *422*, 35–38. [[CrossRef](#)]
22. Mirosevich, J.; Bentel, J.M.; Zeps, N.; Redmond, S.L.; D'Antuono, M.F.; Dawkins, H.J. Androgen receptor expression of proliferating basal and luminal cells in adult murine ventral prostate. *J. Endocrinol.* **1999**, *162*, 341–350. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Berry, S.J.; Isaacs, J.T. Comparative Aspects of Prostatic Growth and Androgen Metabolism with Aging in the Dog Versus the Rat. *Endocrinology* **1984**, *114*, 511–520. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. English, H.F.; Kyprianou, N.; Isaacs, J.T. Relationship between DNA fragmentation and apoptosis in the programmed cell death in the rat prostate following castration. *Prostate* **1989**, *15*, 233–250. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Gao, J.; Isaacs, J.T. Development of an androgen receptor-null model for identifying the initiation site for androgen stimulation of proliferation and suppression of programmed (apoptotic) death of PC-82 human prostate cancer cells. *Cancer Res.* **1998**, *58*, 3299–3306. [[PubMed](#)]
26. Gao, J.; Arnold, J.T.; Isaacs, J.T. Conversion from a paracrine to an autocrine mechanism of androgen-stimulated growth during malignant transformation of prostatic epithelial cells. *Cancer Res.* **2001**, *61*, 5038–5044. [[PubMed](#)]
27. Memarzadeh, S.; Cai, H.; Janzen, D.M.; Xin, L.; Lukacs, R.; Riedinger, M.; Zong, Y.; DeGendt, K.; Verhoeven, G.; Huang, J.; et al. Role of autonomous androgen receptor signaling in prostate cancer initiation is dichotomous and depends on the oncogenic signal. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 7962–7967. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Massie, C.E.; Lynch, A.; Ramos-Montoya, A.; Boren, J.; Stark, R.; Fazli, L.; Warren, A.; Scott, H.; Madhu, B.; Sharma, N.; et al. The androgen receptor fuels prostate cancer by regulating central metabolism and biosynthesis. *EMBO J.* **2011**, *30*, 2719–2733. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Jin, H.-J.; Kim, J.; Yu, J. Androgen receptor genomic regulation. *Transl. Androl. Urol.* **2013**, *2*, 157–177. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Sharma, N.L.; Massie, C.E.; Ramos-Montoya, A.; Zecchini, V.; Scott, H.E.; Lamb, A.D.; MacArthur, S.; Stark, R.; Warren, A.Y.; Mills, I.G.; et al. The androgen receptor induces a distinct transcriptional program in castration-resistant prostate cancer in man. *Cancer Cell* **2013**, *23*, 35–47. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Yaşar, P.; Ayaz, G.; User, S.D.; Güpür, G.; Muyan, M. Molecular mechanism of estrogen-estrogen receptor signaling. *Reprod. Med. Biol.* **2017**, *16*, 4–20. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Chen, M.; Hsu, I.; Wolfe, A.; Radovick, S.; Huang, K.; Yu, S.; Chang, C.; Messing, E.M.; Yeh, S. Defects of prostate development and reproductive system in the estrogen receptor- α null male mice. *Endocrinology* **2009**, *150*, 251–259. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Chen, M.; Yeh, C.-R.; Chang, H.-C.; Vitkus, S.; Wen, X.-Q.; Bhowmick, N.A.; Wolfe, A.; Yeh, S. Loss of epithelial oestrogen receptor α inhibits oestrogen-stimulated prostate proliferation and squamous metaplasia via in vivo tissue selective knockout models. *J. Pathol.* **2012**, *226*, 17–27. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Vitkus, S.; Yeh, C.-R.; Lin, H.-H.; Hsu, I.; Yu, J.; Chen, M.; Yeh, S. Distinct function of estrogen receptor α in smooth muscle and fibroblast cells in prostate development. *Mol. Endocrinol.* **2013**, *27*, 38–49. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Leav, I.; Lau, K.M.; Adams, J.Y.; McNeal, J.E.; Taplin, M.E.; Wang, J.; Singh, H.; Ho, S.M. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *Am. J. Pathol.* **2001**, *159*, 79–92. [[CrossRef](#)]
36. Lau, K.M.; LaSpina, M.; Long, J.; Ho, S.M. Expression of estrogen receptor (ER)- α and ER- β in normal and malignant prostatic epithelial cells: Regulation by methylation and involvement in growth regulation. *Cancer Res.* **2000**, *60*, 3175–3182. [[PubMed](#)]
37. Royuela, M.; de Miguel, M.P.; Bethencourt, F.R.; Sánchez-Chapado, M.; Fraile, B.; Arenas, M.I.; Paniagua, R. Estrogen receptors α and β in the normal, hyperplastic and carcinomatous human prostate. *J. Endocrinol.* **2001**, *168*, 447–454. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Imamov, O.; Morani, A.; Shim, G.-J.; Omoto, Y.; Thulin-Andersson, C.; Warner, M.; Gustafsson, J.-A. Estrogen receptor β regulates epithelial cellular differentiation in the mouse ventral prostate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 9375–9380. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

39. Latil, A.; Bièche, I.; Vidaud, D.; Lidereau, R.; Berthon, P.; Cussenot, O.; Vidaud, M. Evaluation of androgen, estrogen (ER α and ER β), and progesterone receptor expression in human prostate cancer by real-time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction assays. *Cancer Res.* **2001**, *61*, 1919–1926. [[PubMed](#)]
40. Bonkhoff, H.; Fixemer, T.; Hunsicker, I.; Remberger, K. Estrogen Receptor Expression in Prostate Cancer and Premalignant Prostatic Lesions. *Am. J. Pathol.* **1999**, *155*, 641–647. [[CrossRef](#)]
41. Slusarz, A.; Jackson, G.A.; Day, J.K.; Shenouda, N.S.; Bogener, J.L.; Browning, J.D.; Fritsche, K.L.; MacDonald, R.S.; Besch-Williford, C.L.; Lubahn, D.B. Aggressive prostate cancer is prevented in ER α KO mice and stimulated in ER β KO TRAMP mice. *Endocrinology* **2012**, *153*, 4160–4170. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Mohler, J.L.; Gregory, C.W.; Ford, O.H.; Kim, D.; Weaver, C.M.; Petrusz, P.; Wilson, E.M.; French, F.S. The androgen axis in recurrent prostate cancer. *Clin. Cancer Res.* **2004**, *10*, 440–448. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Ellem, S.J.; Schmitt, J.F.; Pedersen, J.S.; Frydenberg, M.; Risbridger, G.P. Local aromatase expression in human prostate is altered in malignancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2004**, *89*, 2434–2441. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Montgomery, R.B.; Mostaghel, E.A.; Vessella, R.; Hess, D.L.; Kalhorn, T.F.; Higano, C.S.; True, L.D.; Nelson, P.S. Maintenance of intratumoral androgens in metastatic prostate cancer: A mechanism for castration-resistant tumor growth. *Cancer Res.* **2008**, *68*, 4447–4454. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Wang, B.; Tontonoz, P. Liver X receptors in lipid signalling and membrane homeostasis. *Nat. Rev. Endocrinol.* **2018**, *14*, 452–463. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Janowski, B.A.; Willy, P.J.; Devi, T.R.; Falck, J.R.; Mangelsdorf, D.J. An oxysterol signalling pathway mediated by the nuclear receptor LXR α . *Nature* **1996**, *383*, 728–731. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Janowski, B.A.; Grogan, M.J.; Jones, S.A.; Wisely, G.B.; Kliewer, S.A.; Corey, E.J.; Mangelsdorf, D.J. Structural requirements of ligands for the oxysterol liver X receptors LXR α and LXR β . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 266–271. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Peet, D.J.; Turley, S.D.; Ma, W.; Janowski, B.A.; Lobaccaro, J.M.; Hammer, R.E.; Mangelsdorf, D.J. Cholesterol and bile acid metabolism are impaired in mice lacking the nuclear oxysterol receptor LXR α . *Cell* **1998**, *93*, 693–704. [[CrossRef](#)]
49. Viennois, E.; Esposito, T.; Dufour, J.; Pommier, A.; Fabre, S.; Kemeny, J.-L.; Guy, L.; Morel, L.; Lobaccaro, J.-M.; Baron, S. LXR α Regulates the Androgen Response in Prostate Epithelium. *Endocrinology* **2012**, *153*, 3211–3223. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Fukuchi, J.; Hiipakka, R.A.; Kokontis, J.M.; Hsu, S.; Ko, A.L.; Fitzgerald, M.L.; Liao, S. Androgenic suppression of ATP-binding cassette transporter A1 expression in LNCaP human prostate cancer cells. *Cancer Res.* **2004**, *64*, 7682–7685. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Fukuchi, J.; Kokontis, J.M.; Hiipakka, R.A.; Chuu, C.; Liao, S. Antiproliferative Effect of Liver X Receptor Agonists on LNCaP Human Prostate Cancer Cells. *Cancer Res.* **2004**, *64*, 7686–7689. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Chuu, C.; Hiipakka, R.A.; Kokontis, J.M.; Fukuchi, J.; Chen, R.-Y.; Liao, S. Inhibition of tumor growth and progression of LNCaP prostate cancer cells in athymic mice by androgen and liver X receptor agonist. *Cancer Res.* **2006**, *66*, 6482–6486. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Taylor, B.S.; Schultz, N.; Hieronymus, H.; Gopalan, A.; Xiao, Y.; Carver, B.S.; Arora, V.K.; Kaushik, P.; Cerami, E.; Reva, B.; et al. Integrative Genomic Profiling of Human Prostate Cancer. *Cancer Cell* **2010**, *18*, 11–22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Puhr, M.; Santer, F.R.; Neuwirt, H.; Marcias, G.; Hobisch, A.; Culig, Z. SOCS-3 antagonises the proliferative and migratory effects of fibroblast growth factor-2 in prostate cancer by inhibition of p44/p42 MAPK signalling. *Endocr. Relat. Cancer* **2010**, *17*, 525–538. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Fu, W.; Yao, J.; Huang, Y.; Li, Q.; Li, W.; Chen, Z.; He, F.; Zhou, Z.; Yan, J. LXR Agonist Regulates the Carcinogenesis of PCa via the SOCS3 Pathway. *Cell. Physiol. Biochem.* **2014**, *33*, 195–204. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Xiong, H.; Zhang, Y.; Chen, S.; Ni, Z.; He, J.; Li, X.; Li, B.; Zhao, K.; Yang, F.; Zeng, Y.; et al. Induction of SOCS3 by liver X receptor suppresses the proliferation of hepatocellular carcinoma cells. *Oncotarget* **2017**, *8*, 64083–64094. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Youlin, K.; Li, Z.; Weiyang, H.; Jian, K.; Siming, L.; Xin, G. Liver X receptor activation inhibits PC-3 prostate cancer cells via the beta-catenin pathway. *Pathol. Res. Pract.* **2017**, *213*, 267–270. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

58. Pommier, A.J.C.; Dufour, J.; Alves, G.; Viennois, E.; de Boussac, H.; Trousson, A.; Volle, D.H.; Caira, F.; Val, P.; Arnaud, P.; et al. Liver X receptors protect from development of prostatic intra-epithelial neoplasia in mice. *PLoS Genet.* **2013**, *9*, e1003483. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Varambally, S.; Dhanasekaran, S.M.; Zhou, M.; Barrette, T.R.; Kumar-Sinha, C.; Sanda, M.G.; Ghosh, D.; Pienta, K.J.; Sewalt, R.G.A.B.; Otte, A.P.; et al. The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer. *Nature* **2002**, *419*, 624–629. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Tamae, D.; Mostaghel, E.; Montgomery, B.; Nelson, P.S.; Balk, S.P.; Kantoff, P.W.; Taplin, M.-E.; Penning, T.M. The DHEA-sulfate depot following P450c17 inhibition supports the case for AKR1C3 inhibition in high risk localized and advanced castration resistant prostate cancer. *Chem. Biol. Interact.* **2015**, *234*, 332–338. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
61. Pasqualini, J.R. Estrogen sulfotransferases in breast and endometrial cancers. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2009**, *1155*, 88–98. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Lee, J.H.; Gong, H.; Khadem, S.; Lu, Y.; Gao, X.; Li, S.; Zhang, J.; Xie, W. Androgen deprivation by activating the liver X receptor. *Endocrinology* **2008**, *149*, 3778–3788. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Gong, H.; Guo, P.; Zhai, Y.; Zhou, J.; Uppal, H.; Jarzynka, M.J.; Song, W.-C.; Cheng, S.-Y.; Xie, W. Estrogen deprivation and inhibition of breast cancer growth in vivo through activation of the orphan nuclear receptor liver X receptor. *Mol. Endocrinol.* **2007**, *21*, 1781–1790. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Song, W.C. Biochemistry and reproductive endocrinology of estrogen sulfotransferase. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2001**, *948*, 43–50. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Dozmorov, M.G.; Hurst, R.E.; Culkin, D.J.; Kropp, B.P.; Frank, M.B.; Osban, J.; Penning, T.M.; Lin, H.-K. Unique patterns of molecular profiling between human prostate cancer LNCaP and PC-3 cells. *Prostate* **2009**, *69*, 1077–1090. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Sekine, Y.; Demosky, S.J.; Stonik, J.A.; Furuya, Y.; Koike, H.; Suzuki, K.; Remaley, A.T. High-density lipoprotein induces proliferation and migration of human prostate androgen-independent cancer cells by an ABCA1-dependent mechanism. *Mol. Cancer Res.* **2010**, *8*, 1284–1294. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Füllhase, C.; Schneider, M.P. 5- α -Reductase Inhibitors and Combination Therapy. *Urol. Clin.* **2016**, *43*, 325–336. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Kim, H.-J.; Andersson, L.C.; Bouton, D.; Warner, M.; Gustafsson, J.-A. Stromal growth and epithelial cell proliferation in ventral prostates of liver X receptor knockout mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 558–563. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Tsui, K.-H.; Chung, L.-C.; Feng, T.-H.; Lee, T.-Y.; Chang, P.-L.; Chen, W.-T.; Juang, H.-H. Divergent effect of liver X receptor agonists on prostate-specific antigen expression is dependent on androgen receptor in prostate carcinoma cells. *Prostate* **2015**, *75*, 603–615. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
70. Lundholm, L.; Moverare, S.; Steffensen, K.R.; Nilsson, M.; Otsuki, M.; Ohlsson, C.; Gustafsson, J.A.; Dahlman-Wright, K. Gene expression profiling identifies liver X receptor α as an estrogen-regulated gene in mouse adipose tissue. *J. Mol. Endocrinol.* **2004**, *32*, 879–892. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
71. Kramer, P.R.; Wray, S. 17- β -estradiol regulates expression of genes that function in macrophage activation and cholesterol homeostasis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2002**, *81*, 203–216. [[CrossRef](#)]
72. Delfosse, V.; le Maire, A.; Balaguer, P.; Bourguet, W. A structural perspective on nuclear receptors as targets of environmental compounds. *Acta Pharmacol. Sin.* **2015**, *36*, 88–101. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Schulze, A.; Harris, A.L. How cancer metabolism is tuned for proliferation and vulnerable to disruption. *Nature* **2012**, *491*, 364–373. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Warburg, O. On respiratory impairment in cancer cells. *Science* **1956**, *124*, 269–270. [[PubMed](#)]
75. Mycielska, M.E.; Patel, A.; Rizaner, N.; Mazurek, M.P.; Keun, H.; Patel, A.; Ganapathy, V.; Djamgoz, M.B.A. Citrate transport and metabolism in mammalian cells. *BioEssays* **2009**, *31*, 10–20. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
76. Swinnen, J.V.; Roskams, T.; Joniau, S.; van Poppel, H.; Oyen, R.; Baert, L.; Heyns, W.; Verhoeven, G. Overexpression of fatty acid synthase is an early and common event in the development of prostate cancer. *Int. J. Cancer* **2002**, *98*, 19–22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
77. Swyer, G.I.M. The Cholesterol Content of Normal and Enlarged Prostates. *Cancer Res.* **1942**, *2*, 372–375.
78. White, C.P. On the occurrence of crystals in tumours. *J. Pathol. Bacteriol.* **1909**, *13*, 3–10. [[CrossRef](#)]
79. Yue, S.; Li, J.; Lee, S.-Y.; Lee, H.J.; Shao, T.; Song, B.; Cheng, L.; Masterson, T.A.; Liu, X.; Ratliff, T.L.; et al. Cholesteryl Ester Accumulation Induced by PTEN Loss and PI3K/AKT Activation Underlies Human Prostate Cancer Aggressiveness. *Cell Metab.* **2014**, *19*, 393–406. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

80. Wettstein, M.S.; Saba, K.; Umbehr, M.H.; Murtola, T.J.; Fankhauser, C.D.; Adank, J.-P.; Hofmann, M.; Sulser, T.; Hermanns, T.; Moch, H.; et al. Prognostic Role of Preoperative Serum Lipid Levels in Patients Undergoing Radical Prostatectomy for Clinically Localized Prostate Cancer. *Prostate* **2017**, *77*, 549–556. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
81. Alfaqih, M.A.; Allott, E.H.; Hamilton, R.J.; Freeman, M.R.; Freedland, S.J. The current evidence on statin use and prostate cancer prevention: Are we there yet? *Nat. Rev. Urol.* **2017**, *14*, 107–119. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
82. Krycer, J.R.; Brown, A.J. Cross-talk between the androgen receptor and the liver X receptor: Implications for cholesterol homeostasis. *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 20637–20647. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
83. Cariello, M.; Ducheix, S.; Maqdasy, S.; Baron, S.; Moschetta, A.; Lobaccaro, J. LXRs, SHP and FXR in prostate cancer: Enemies or Ménage-à-quatre with AR? *Nucl. Recept. Signal.* **2018**, in press.
84. Morris, M.D.; Chaikoff, I.L. The origin of cholesterol in liver, small intestine, adrenal gland, and testis of the rat: Dietary versus endogenous contributions. *J. Biol. Chem.* **1959**, *234*, 1095–1097. [[PubMed](#)]
85. Schaffner, C.P. Prostatic cholesterol metabolism: Regulation and alteration. *Prog. Clin. Biol. Res.* **1981**, *75A*, 279–324. [[PubMed](#)]
86. Michaud, D.S.; Augustsson, K.; Rimm, E.B.; Stampfer, M.J.; Willet, W.C.; Giovannucci, E. A prospective study on intake of animal products and risk of prostate cancer. *Cancer Causes Control* **2001**, *12*, 557–567. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
87. De Marzo, A.M.; Platz, E.A.; Sutcliffe, S.; Xu, J.; Grönberg, H.; Drake, C.G.; Nakai, Y.; Isaacs, W.B.; Nelson, W.G. Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nat. Rev. Cancer* **2007**, *7*, 256–269. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
88. Aaltoma, S.H.; Lipponen, P.K.; Kosma, V.M. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression and its prognostic value in prostate cancer. *Anticancer Res.* **2001**, *21*, 3101–3106. [[PubMed](#)]
89. Tsai, C.-S.; Chen, F.-H.; Wang, C.-C.; Huang, H.-L.; Jung, S.-M.; Wu, C.-J.; Lee, C.-C.; McBride, W.H.; Chiang, C.-S.; Hong, J.-H. Macrophages From Irradiated Tumors Express Higher Levels of iNOS, Arginase-I and COX-2, and Promote Tumor Growth. *Int. J. Radiat. Oncol.* **2007**, *68*, 499–507. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
90. Twillie, D.A.; Eisenberger, M.A.; Carducci, M.A.; Hsieh, W.-S.; Kim, W.Y.; Simons, J.W. Interleukin-6: A candidate mediator of human prostate cancer morbidity. *Urology* **1995**, *45*, 542–549. [[CrossRef](#)]
91. Siegmund, M.J.; Yamazaki, H.; Pastan, I. Interleukin 6 receptor mRNA in prostate carcinomas and benign prostate hyperplasia. *J. Urol.* **1994**, *151*, 1396–1399. [[CrossRef](#)]
92. Castrillo, A.; Joseph, S.B.; Vaidya, S.A.; Haberland, M.; Fogelman, A.M.; Cheng, G.; Tontonoz, P. Crosstalk between LXR and toll-like receptor signaling mediates bacterial and viral antagonism of cholesterol metabolism. *Mol. Cell* **2003**, *12*, 805–816. [[CrossRef](#)]
93. Joseph, S.B.; Castrillo, A.; Laffitte, B.A.; Mangelsdorf, D.J.; Tontonoz, P. Reciprocal regulation of inflammation and lipid metabolism by liver X receptors. *Nat. Med.* **2003**, *9*, 213–219. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
94. Wang, Q.; Ma, X.; Chen, Y.; Zhang, L.; Jiang, M.; Li, X.; Xiang, R.; Miao, R.; Hajjar, D.P.; Duan, Y.; et al. Identification of interferon- γ as a new molecular target of liver X receptor. *Biochem. J.* **2014**, *459*, 345–354. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
95. Labrecque, L.; Royal, I.; Surprenant, D.S.; Patterson, C.; Gingras, D.; Béliveau, R. Regulation of Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 Activity by Caveolin-1 and Plasma Membrane Cholesterol. *Mol. Biol. Cell* **2003**, *14*, 334–347. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
96. Noghero, A.; Perino, A.; Seano, G.; Saglio, E.; Lo Sasso, G.; Veglio, F.; Primo, L.; Hirsch, E.; Bussolino, F.; Morello, F. Liver X receptor activation reduces angiogenesis by impairing lipid raft localization and signaling of vascular endothelial growth factor receptor-2. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. Thromb. Vasc. Biol.* **2012**, *32*, 2280–2288. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
97. Lai, C.-J.; Cheng, H.-C.; Lin, C.-Y.; Huang, S.-H.; Chen, T.-H.; Chung, C.-J.; Chang, C.-H.; Wang, H.-D.; Chuu, C.-P. Activation of liver X receptor suppresses angiogenesis via induction of ApoD. *FASEB J.* **2017**, *31*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
98. Albertsen, P.C. Observational studies and the natural history of screen-detected prostate cancer. *Curr. Opin. Urol.* **2015**, *25*, 232–237. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
99. Siegel, R.L.; Miller, K.D.; Jemal, A. Cancer statistics, 2016. *CA. Cancer J. Clin.* **2016**, *66*, 7–30. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
100. James, N.D.; Sydes, M.R.; Clarke, N.W.; Mason, M.D.; Dearnaley, D.P.; Spears, M.R.; Ritchie, A.W.S.; Parker, C.C.; Russell, J.M.; Attard, G.; et al. Addition of docetaxel, zoledronic acid, or both to first-line long-term hormone therapy in prostate cancer (STAMPEDE): Survival results from an adaptive, multiarm, multistage, platform randomised controlled trial. *Lancet Lond. Engl.* **2016**, *387*, 1163–1177. [[CrossRef](#)]

101. Sweeney, C.J.; Chen, Y.-H.; Carducci, M.; Liu, G.; Jarrard, D.F.; Eisenberger, M.; Wong, Y.-N.; Hahn, N.; Kohli, M.; Cooney, M.M.; et al. Chemohormonal Therapy in Metastatic Hormone-Sensitive Prostate Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2015**, *373*, 737–746. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
102. Klotz, L.; Boccon-Gibod, L.; Shore, N.D.; Andreou, C.; Persson, B.-E.; Cantor, P.; Jensen, J.-K.; Olesen, T.K.; Schröder, F.H. The efficacy and safety of degarelix: A 12-month, comparative, randomized, open-label, parallel-group phase III study in patients with prostate cancer. *BJU Int.* **2008**, *102*, 1531–1538. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
103. Attard, G.; Reid, A.H.M.; A'Hern, R.; Parker, C.; Oommen, N.B.; Folkerd, E.; Messiou, C.; Molife, L.R.; Maier, G.; Thompson, E.; et al. Selective Inhibition of CYP17 With Abiraterone Acetate Is Highly Active in the Treatment of Castration-Resistant Prostate Cancer. *J. Clin. Oncol.* **2009**, *27*, 3742–3748. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
104. Chang, K.-H.; Li, R.; Kuri, B.; Lotan, Y.; Roehrborn, C.G.; Liu, J.; Vessella, R.; Nelson, P.S.; Kapur, P.; Guo, X.; et al. A gain-of-function mutation in DHT synthesis in castration-resistant prostate cancer. *Cell* **2013**, *154*, 1074–1084. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
105. Hamid, A.R.A.H.; Pfeiffer, M.J.; Verhaegh, G.W.; Schaafsma, E.; Brandt, A.; Sweep, F.C.G.J.; Sedelaar, J.P.M.; Schalken, J.A. Aldo-keto reductase family 1 member C3 (AKR1C3) is a biomarker and therapeutic target for castration-resistant prostate cancer. *Mol. Med. Camb. Mass* **2013**, *18*, 1449–1455. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
106. Tran, C.; Ouk, S.; Clegg, N.J.; Chen, Y.; Watson, P.A.; Arora, V.; Wongvipat, J.; Smith-Jones, P.M.; Yoo, D.; Kwon, A.; et al. Development of a Second-Generation Antiandrogen for Treatment of Advanced Prostate Cancer. *Science* **2009**, *324*, 787–790. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
107. Sharifi, N.; Dahut, W.L.; Steinberg, S.M.; Figg, W.D.; Tarassoff, C.; Arlen, P.; Gulley, J.L. A retrospective study of the time to clinical endpoints for advanced prostate cancer. *BJU Int.* **2005**, *96*, 985–989. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
108. Cornford, P.; Bellmunt, J.; Bolla, M.; Briers, E.; de Santis, M.; Gross, T.; Henry, A.M.; Joniau, S.; Lam, T.B.; Mason, M.D.; et al. EAU-ESTRO-SIOG Guidelines on Prostate Cancer. Part II: Treatment of Relapsing, Metastatic, and Castration-Resistant Prostate Cancer. *Eur. Urol.* **2017**, *71*, 630–642. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
109. Smith, M.R.; Kabbavar, F.; Saad, F.; Hussain, A.; Gittelman, M.C.; Bilhartz, D.L.; Wynne, C.; Murray, R.; Zinner, N.R.; Schulman, C.; et al. Natural history of rising serum prostate-specific antigen in men with castrate nonmetastatic prostate cancer. *J. Clin. Oncol.* **2005**, *23*, 2918–2925. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
110. Robinson, D.; van Allen, E.M.; Wu, Y.-M.; Schultz, N.; Lonigro, R.J.; Mosquera, J.-M.; Montgomery, B.; Taplin, M.-E.; Pritchard, C.C.; Attard, G.; et al. Integrative Clinical Genomics of Advanced Prostate Cancer. *Cell* **2015**, *162*, 454. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
111. Visakorpi, T.; Hyytinen, E.; Koivisto, P.; Tanner, M.; Keinänen, R.; Palmberg, C.; Palotie, A.; Tammela, T.; Isola, J.; Kallioniemi, O.-P. In vivo amplification of the androgen receptor gene and progression of human prostate cancer. *Nat. Genet.* **1995**, *9*, 401–406. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
112. Chen, C.D.; Welsbie, D.S.; Tran, C.; Baek, S.H.; Chen, R.; Vessella, R.; Rosenfeld, M.G.; Sawyers, C.L. Molecular determinants of resistance to antiandrogen therapy. *Nat. Med.* **2004**, *10*, 33–39. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
113. Komiya, A.; Yasuda, K.; Watanabe, A.; Fujiuchi, Y.; Tsuzuki, T.; Fuse, H. The prognostic significance of loss of the androgen receptor and neuroendocrine differentiation in prostate biopsy specimens among castration-resistant prostate cancer patients. *Mol. Clin. Oncol.* **2013**, *1*, 257–262. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
114. Waltering, K.K.; Urbanucci, A.; Visakorpi, T. Androgen receptor (AR) aberrations in castration-resistant prostate cancer. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2012**, *360*, 38–43. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
115. Miyamoto, H.; Yeh, S.; Wilding, G.; Chang, C. Promotion of agonist activity of antiandrogens by the androgen receptor coactivator, ARA70, in human prostate cancer DU145 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 7379–7384. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
116. Gerhardt, J.; Montani, M.; Wild, P.; Beer, M.; Huber, F.; Hermanns, T.; Müntener, M.; Kristiansen, G. FOXA1 Promotes Tumor Progression in Prostate Cancer and Represents a Novel Hallmark of Castration-Resistant Prostate Cancer. *Am. J. Pathol.* **2012**, *180*, 848–861. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
117. Gregory, C.W.; He, B.; Johnson, R.T.; Ford, O.H.; Mohler, J.L.; French, F.S.; Wilson, E.M. A Mechanism for Androgen Receptor-mediated Prostate Cancer Recurrence after Androgen Deprivation Therapy. *Cancer Res.* **2001**, *61*, 4315–4319. [[PubMed](#)]

118. Xu, K.; Wu, Z.J.; Groner, A.C.; He, H.H.; Cai, C.; Lis, R.T.; Wu, X.; Stack, E.C.; Loda, M.; Liu, T.; et al. EZH2 oncogenic activity in castration-resistant prostate cancer cells is Polycomb-independent. *Science* **2012**, *338*, 1465–1469. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
119. Yepuru, M.; Wu, Z.; Kulkarni, A.; Yin, F.; Barrett, C.M.; Kim, J.; Steiner, M.S.; Miller, D.D.; Dalton, J.T.; Narayanan, R. Steroidogenic enzyme AKR1C3 is a novel androgen receptor-selective coactivator that promotes prostate cancer growth. *Clin. Cancer Res.* **2013**, *19*, 5613–5625. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
120. Culdig, Z.; Hobisch, A.; Cronauer, M.V.; Radmayr, C.; Trapman, J.; Hittmair, A.; Bartsch, G.; Klocker, H. Androgen receptor activation in prostatic tumor cell lines by insulin-like growth factor-I, keratinocyte growth factor, and epidermal growth factor. *Cancer Res.* **1994**, *54*, 5474–5478. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
121. Signoretti, S.; Montironi, R.; Manola, J.; Altimari, A.; Tam, C.; Bubley, G.; Balk, S.; Thomas, G.; Kaplan, I.; Hlatky, L.; et al. Her-2-neu Expression and Progression Toward Androgen Independence in Human Prostate Cancer. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **2000**, *92*, 1918–1925. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
122. Osman, I.; Scher, H.I.; Drobnjak, M.; Verbel, D.; Morris, M.; Agus, D.; Ross, J.S.; Cordon-Cardo, C. HER-2/neu (p185neu) Protein Expression in the Natural or Treated History of Prostate Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2001**, *7*, 2643–2647. [[PubMed](#)]
123. Yeh, S.; Lin, H.-K.; Kang, H.-Y.; Thin, T.H.; Lin, M.-F.; Chang, C. From HER2/Neu signal cascade to androgen receptor and its coactivators: A novel pathway by induction of androgen target genes through MAP kinase in prostate cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 5458–5463. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
124. Mellinghoff, I.K.; Vivanco, I.; Kwon, A.; Tran, C.; Wongvipat, J.; Sawyers, C.L. HER2/neu kinase-dependent modulation of androgen receptor function through effects on DNA binding and stability. *Cancer Cell* **2004**, *6*, 517–527. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
125. Labrie, F. Adrenal androgens and intracrinology. *Semin. Reprod. Med.* **2004**, *22*, 299–309. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
126. Mitsiades, N.; Sung, C.C.; Schultz, N.; Danila, D.C.; He, B.; Eedunuri, V.K.; Fleisher, M.; Sander, C.; Sawyers, C.L.; Scher, H.I. Distinct patterns of dysregulated expression of enzymes involved in androgen synthesis and metabolism in metastatic prostate cancer tumors. *Cancer Res.* **2012**, *72*, 6142–6152. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
127. De Bono, J.S.; Oudard, S.; Ozguroglu, M.; Hansen, S.; Machiels, J.-P.; Kocak, I.; Gravis, G.; Bodrogi, I.; Mackenzie, M.J.; Shen, L.; et al. Prednisone plus cabazitaxel or mitoxantrone for metastatic castration-resistant prostate cancer progressing after docetaxel treatment: A randomised open-label trial. *Lancet* **2010**, *376*, 1147–1154. [[CrossRef](#)]
128. Bubendorf, L.; Schöpfer, A.; Wagner, U.; Sauter, G.; Moch, H.; Willi, N.; Gasser, T.C.; Mihatsch, M.J. Metastatic patterns of prostate cancer: An autopsy study of 1589 patients. *Hum. Pathol.* **2000**, *31*, 578–583. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
129. Weinfurt, K.P.; Li, Y.; Castel, L.D.; Saad, F.; Timbie, J.W.; Glendenning, G.A.; Schulman, K.A. The significance of skeletal-related events for the health-related quality of life of patients with metastatic prostate cancer. *Ann. Oncol.* **2005**, *16*, 579–584. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
130. Parker, C.; Nilsson, S.; Heinrich, D.; Helle, S.I.; O’Sullivan, J.M.; Fosså, S.D.; Chodacki, A.; Wiechno, P.; Logue, J.; Seke, M.; et al. Alpha emitter radium-223 and survival in metastatic prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* **2013**, *369*, 213–223. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
131. Saad, F.; Gleason, D.M.; Murray, R.; Tchekmedyian, S.; Venner, P.; Lacombe, L.; Chin, J.L.; Vinholes, J.J.; Goas, J.A.; Zheng, M. Long-term efficacy of zoledronic acid for the prevention of skeletal complications in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* **2004**, *96*, 879–882. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
132. Smith, M.R.; Saad, F.; Coleman, R.; Shore, N.; Fizazi, K.; Tombal, B.; Miller, K.; Sieber, P.; Karsh, L.; Damião, R.; et al. Denosumab and bone-metastasis-free survival in men with castration-resistant prostate cancer: Results of a phase 3, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Lond. Engl.* **2012**, *379*, 39–46. [[CrossRef](#)]
133. Kantoff, P.W.; Higano, C.S.; Shore, N.D.; Berger, E.R.; Small, E.J.; Penson, D.F.; Redfern, C.H.; Ferrari, A.C.; Dreicer, R.; Sims, R.B.; et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* **2010**, *363*, 411–422. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
134. Antonarakis, E.S.; Lu, C.; Wang, H.; Luber, B.; Nakazawa, M.; Roeser, J.C.; Chen, Y.; Mohammad, T.A.; Chen, Y.; Fedor, H.L.; et al. AR-V7 and Resistance to Enzalutamide and Abiraterone in Prostate Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2014**, *371*, 1028–1038. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

135. Raza, S.; Meyer, M.; Goodyear, C.; Hammer, K.D.P.; Guo, B.; Ghribi, O. The cholesterol metabolite 27-hydroxycholesterol stimulates cell proliferation via ER β in prostate cancer cells. *Cancer Cell Int.* **2017**, *17*, 52. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
136. Pencheva, N.; Buss, C.G.; Posada, J.; Merghoub, T.; Tavazoie, S.F. Broad-Spectrum Therapeutic Suppression of Metastatic Melanoma through Nuclear Hormone Receptor Activation. *Cell* **2014**, *156*, 986–1001. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
137. Segala, G.; David, M.; de Medina, P.; Poirot, M.C.; Serhan, N.; Vergez, F.; Mougel, A.; Saland, E.; Carayon, K.; Leignadier, J.; et al. Dendrogenin A drives LXR to trigger lethal autophagy in cancers. *Nat. Commun.* **2017**, *8*, 1903. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
138. Zhong, S.; Zhang, X.; Chen, L.; Ma, T.; Tang, J.; Zhao, J. Statin use and mortality in cancer patients: Systematic review and meta-analysis of observational studies. *Cancer Treat. Rev.* **2015**, *41*, 554–567. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
139. Platz, E.A.; Leitzmann, M.F.; Visvanathan, K.; Rimm, E.B.; Stampfer, M.J.; Willett, W.C.; Giovannucci, E. Statin drugs and risk of advanced prostate cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* **2006**, *98*, 1819–1825. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
140. Loeb, S.; Kan, D.; Helfand, B.T.; Nadler, R.B.; Catalona, W.J. Is statin use associated with prostate cancer aggressiveness? *BJU Int.* **2010**, *105*, 1222–1225. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
141. Harshman, L.C.; Wang, X.; Nakabayashi, M.; Xie, W.; Valenca, L.; Werner, L.; Yu, Y.; Kantoff, A.M.; Sweeney, C.J.; Mucci, L.A.; et al. Statin Use at the Time of Initiation of Androgen Deprivation Therapy and Time to Progression in Patients With Hormone-Sensitive Prostate Cancer. *JAMA Oncol.* **2015**, *1*, 495–504. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
142. Harshman, L.C.; Werner, L.; Tripathi, A.; Wang, X.; Maughan, B.L.; Antonarakis, E.S.; Nakabayashi, M.; McKay, R.; Pomerantz, M.; Mucci, L.A.; et al. The impact of statin use on the efficacy of abiraterone acetate in patients with castration-resistant prostate cancer. *Prostate* **2017**, *77*, 1303–1311. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
143. Viennois, E.; Pommier, A.J.C.; Mouzat, K.; Oumeddour, A.; El Hajjaji, F.-Z.; Dufour, J.; Caira, F.; Volle, D.H.; Baron, S.; Lobaccaro, J.-M.A. Targeting liver X receptors in human health: Deadlock or promising trail? *Expert. Opin. Ther. Targets* **2011**, *15*, 219–232. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
144. Yasuda, T.; Grillot, D.; Billheimer, J.T.; Briand, F.; Delerive, P.; Huet, S.; Rader, D.J. Tissue-specific liver X receptor activation promotes macrophage RCT in vivo. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2010**, *30*, 781–786. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
145. Stachel, S.J.; Zerbinatti, C.; Rudd, M.T.; Cosden, M.; Suon, S.; Nanda, K.K.; Wessner, K.; DiMuzio, J.; Maxwell, J.; Wu, Z.; et al. Identification and in Vivo Evaluation of Liver X Receptor β -Selective Agonists for the Potential Treatment of Alzheimer's Disease. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 3489–3498. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
146. Kirchgessner, T.G.; Sleph, P.; Ostrowski, J.; Lupisella, J.; Ryan, C.S.; Liu, X.; Fernando, G.; Grimm, D.; Shipkova, P.; Zhang, R.; et al. Beneficial and Adverse Effects of an LXR Agonist on Human Lipid and Lipoprotein Metabolism and Circulating Neutrophils. *Cell Metab.* **2016**, *24*, 223–233. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- Abate-Shen, C. (2018). Prostate Cancer Metastasis — Fueled by Fat? *N. Engl. J. Med.* *378*, 1643–1645.
- Abate-Shen, C., and Shen, M.M. (2000). Molecular genetics of prostate cancer. *Genes Dev.* *14*, 2410–2434.
- Abida, W., Cyrta, J., Heller, G., Prandi, D., Armenia, J., Coleman, I., Cieslik, M., Benelli, M., Robinson, D., Allen, E.M.V., et al. (2019). Genomic correlates of clinical outcome in advanced prostate cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *116*, 11428–11436.
- Aceto, N., Bardia, A., Miyamoto, D.T., Donaldson, M.C., Wittner, B.S., Spencer, J.A., Yu, M., Pely, A., Engstrom, A., Zhu, H., et al. (2014). Circulating Tumor Cell Clusters Are Oligoclonal Precursors of Breast Cancer Metastasis. *Cell* *158*, 1110–1122.
- Adam, R.M., Mukhopadhyay, N.K., Kim, J., Vizio, D.D., Cinar, B., Boucher, K., Solomon, K.R., and Freeman, M.R. (2007). Cholesterol Sensitivity of Endogenous and Myristoylated Akt. *Cancer Res.* *67*, 6238–6246.
- A-Gonzalez, N., Bensinger, S.J., Hong, C., Beceiro, S., Bradley, M.N., Zelcer, N., Deniz, J., Ramirez, C., Díaz, M., Gallardo, G., et al. (2009). Apoptotic Cells Promote Their Own Clearance and Immune Tolerance through Activation of the Nuclear Receptor LXR. *Immunity* *31*, 245–258.
- Albala, D., Kemeter, M.J., Febbo, P.G., Lu, R., John, V., Stoy, D., Denes, B., McCall, M., Shindel, A.W., and Dubeck, F. (2016). Health Economic Impact and Prospective Clinical Utility of Oncotype DX® Genomic Prostate Score. *Rev. Urol.* *18*, 123–132.
- Albertsen, P.C. (2015). Observational studies and the natural history of screen-detected prostate cancer. *Curr. Opin. Urol.* *25*, 232–237.
- Allott, E.H., Masko, E.M., and Freedland, S.J. (2013). Obesity and Prostate Cancer: Weighing the Evidence. *Eur. Urol.* *63*, 800–809.
- Alves de Inda, M., van Strijp, D., den Biezen-Timmermans, E., van Brussel, A., Wrobel, J., van Zon, H., Vos, P., Baillie, G.S., Tennstedt, P., Schlomm, T., et al. (2018). Validation of Cyclic Adenosine Monophosphate Phosphodiesterase-4D7 for its Independent Contribution to Risk Stratification in a Prostate Cancer Patient Cohort with Longitudinal Biological Outcomes. *Eur. Urol. Focus* *4*, 376–384.
- Ammirante, M., Luo, J.-L., Grivennikov, S., Nedospasov, S., and Karin, M. (2010). B-cell-derived lymphotoxin promotes castration-resistant prostate cancer. *Nature* *464*, 302–305.
- Andersen, M.K., Rise, K., Giskeødegård, G.F., Richardsen, E., Bertilsson, H., Størkersen, Ø., Bathen, T.F., Rye, M., and Tessem, M.-B. (2018). Integrative metabolic and transcriptomic profiling of prostate cancer tissue containing reactive stroma. *Sci. Rep.* *8*, 1–11.
- Angadi, P., and Kale, A. (2015). Epithelial-mesenchymal transition - A fundamental mechanism in cancer progression: An overview. *Indian J. Health Sci. Biomed. Res. KLEU* *8*, 77–84.
- Angelucci, A., Festuccia, C., Gravina, G.L., Muzi, P., Bonghi, L., Vicentini, C., and Bologna, M. (2004). Osteopontin enhances the cell proliferation induced by the epidermal growth factor in human prostate cancer cells. *The Prostate* *59*, 157–166.
- Antonarakis, E.S., Lu, C., Wang, H., Lubber, B., Nakazawa, M., Roeser, J.C., Chen, Y., Mohammad, T.A., Chen, Y., Fedor, H.L., et al. (2014). AR-V7 and Resistance to Enzalutamide and Abiraterone in Prostate Cancer. *N. Engl. J. Med.* *371*, 1028–1038.
- Aran, D., Hu, Z., and Butte, A.J. (2017). xCell: digitally portraying the tissue cellular heterogeneity landscape. *Genome Biol.* *18*, 220.
- Armenia, J., Wankowicz, S.A.M., Liu, D., Gao, J., Kundra, R., Reznik, E., Chatila, W.K., Chakravarty, D., Han, G.C., Coleman, I., et al. (2018). The long tail of oncogenic drivers in prostate cancer. *Nat. Genet.* *50*, 645.
- Armstrong, A.J., Halabi, S., Luo, J., Nanus, D.M., Giannakakou, P., Szmulewitz, R.Z., Danila, D.C., Healy, P., Anand, M., Rothwell, C., et al. (2018). The PROPHECY trial: Multicenter prospective trial of circulating tumor cell (CTC) AR-V7 detection in men with mCRPC receiving abiraterone (A) or enzalutamide (E). *J. Clin. Oncol.* *36*, 5004–5004.
- Arvidson, G., Ronquist, G., Wikander, G., and Öjteg, A.-C. (1989). Human prostatesome membranes exhibit very high cholesterol/phospholipid ratios yielding high molecular ordering. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.* *984*, 167–173.
- Arya, M., Bott, S.R., Shergill, I.S., Ahmed, H.U., Williamson, M., and Patel, H.R. (2006). The metastatic cascade in prostate cancer. *Surg. Oncol.* *15*, 117–128.
- Ashida, S., Nakagawa, H., Katagiri, T., Furihata, M., Iizumi, M., Anazawa, Y., Tsunoda, T., Takata, R., Kasahara, K., Miki, T., et al. (2004). Molecular Features of the Transition from Prostatic Intraepithelial Neoplasia (PIN) to Prostate Cancer: Genome-wide Gene-expression Profiles of Prostate Cancers and PINs. *Cancer Res.* *64*, 5963–5972.

- Ashok, A., Keener, R., Rubenstein, M., Stookey, S., Bajpai, S., Hicks, J., Alme, A.K., Drake, C.G., Zheng, Q., Trabzonlu, L., et al. (2019). Consequences of interleukin 1 β -triggered chronic inflammation in the mouse prostate gland: Altered architecture associated with prolonged CD4⁺ infiltration mimics human proliferative inflammatory atrophy. *The Prostate* 79, 732–745.
- Atkin, N.B., and Baker, M.C. (1985). Chromosome 10 deletion in carcinoma of the prostate. *N. Engl. J. Med.* 312, 315.
- Attard, G., Reid, A.H.M., A'Hern, R., Parker, C., Oommen, N.B., Folkard, E., Messiou, C., Molife, L.R., Maier, G., Thompson, E., et al. (2009). Selective Inhibition of CYP17 With Abiraterone Acetate Is Highly Active in the Treatment of Castration-Resistant Prostate Cancer. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 27, 3742–3748.
- Attard, G., Sydes, M.R., Mason, M.D., Clarke, N.W., Aebbersold, D., de Bono, J.S., Dearnaley, D.P., Parker, C.C., Ritchie, A.W.S., Russell, J.M., et al. (2014). Combining enzalutamide with abiraterone, prednisone, and androgen deprivation therapy in the STAMPEDE trial. *Eur. Urol.* 66, 799–802.
- Autio, K.A., Dreicer, R., Anderson, J., Garcia, J.A., Alva, A., Hart, L.L., Milowsky, M.I., Posadas, E.M., Ryan, C.J., Graf, R.P., et al. (2018). Safety and Efficacy of BIND-014, a Docetaxel Nanoparticle Targeting Prostate-Specific Membrane Antigen for Patients With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: A Phase 2 Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 4, 1344–1351.
- Baca, S.C., Prandi, D., Lawrence, M.S., Mosquera, J.M., Romanel, A., Drier, Y., Park, K., Kitabayashi, N., MacDonald, T.Y., Ghandi, M., et al. (2013). Punctuated evolution of prostate cancer genomes. *Cell* 153, 666–677.
- Bachmann, I.M., Halvorsen, O.J., Collett, K., Stefansson, I.M., Straume, O., Haukaas, S.A., Salvesen, H.B., Otte, A.P., and Akslen, L.A. (2006). EZH2 Expression Is Associated With High Proliferation Rate and Aggressive Tumor Subgroups in Cutaneous Melanoma and Cancers of the Endometrium, Prostate, and Breast. *J. Clin. Oncol.* 24, 268–273.
- Baena, E., Shao, Z., Linn, D.E., Glass, K., Hamblen, M.J., Fujiwara, Y., Kim, J., Nguyen, M., Zhang, X., Godinho, F.J., et al. (2013). ETV1 directs androgen metabolism and confers aggressive prostate cancer in targeted mice and patients. *Genes Dev.* 27, 683–698.
- Bai, Y., and Sun, Q. (2015). Macrophage recruitment in obese adipose tissue. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* 16, 127–136.
- Bailey, S.R., Nelson, M.H., Himes, R.A., Li, Z., Mehrotra, S., and Paulos, C.M. (2014). Th17 cells in cancer: the ultimate identity crisis. *Front. Immunol.* 5, 276.
- Bandyopadhyay, S., Pai, S.K., Watabe, M., Gross, S.C., Hirota, S., Hosobe, S., Tsukada, T., Miura, K., Saito, K., Markwell, S.J., et al. (2005). FAS expression inversely correlates with PTEN level in prostate cancer and a PI 3-kinase inhibitor synergizes with FAS siRNA to induce apoptosis. *Oncogene* 24, 5389–5395.
- Bao, B., Ahmad, A., Kong, D., Ali, S., Azmi, A.S., Li, Y., Banerjee, S., Padhye, S., and Sarkar, F.H. (2012). Hypoxia Induced Aggressiveness of Prostate Cancer Cells Is Linked with Deregulated Expression of VEGF, IL-6 and miRNAs That Are Attenuated by CDF. *PLOS ONE* 7, e43726.
- Barbieri, C.E., Baca, S.C., Lawrence, M.S., Demichelis, F., Blattner, M., Theurillat, J.-P., White, T.A., Stojanov, P., Van Allen, E., Stransky, N., et al. (2012). Exome sequencing identifies recurrent SPOP, FOXA1 and MED12 mutations in prostate cancer. *Nat. Genet.* 44, 685–689.
- Barfeld, S.J., Itkonen, H.M., Urbanucci, A., and Mills, I.G. (2014). Androgen-regulated metabolism and biosynthesis in prostate cancer. *Endocr. Relat. Cancer* 21, T57-66.
- Barron, D.A., and Rowley, D.R. (2012). The Reactive Stroma Microenvironment and Prostate Cancer Progression. *Endocr. Relat. Cancer* 19, R187–R204.
- Barry, M., and Bleackley, R.C. (2002). Cytotoxic T lymphocytes: all roads lead to death. *Nat. Rev. Immunol.* 2, 401.
- Basaria, S., Lieb, J., Tang, A.M., DeWeese, T., Carducci, M., Eisenberger, M., and Dobs, A.S. (2002). Long-term effects of androgen deprivation therapy in prostate cancer patients. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 56, 779–786.
- Becares, N., Gage, M.C., and Pineda-Torra, I. (2016). Posttranslational Modifications of Lipid-Activated Nuclear Receptors: Focus on Metabolism. *Endocrinology* 158, 213–225.
- Beer, T.M., Vogelzang, N., Bartůňková, J., Miller, K., Oh, W., Oudard, S., Pandha, H., Sartor, A.O., Špišek, R., Toole, T.O., et al. (2015). Autologous dendritic cell immunotherapy (DCVAC/PCa) added to docetaxel chemotherapy in a Phase III trial (viable) in men with advanced (mCRPC) prostate cancer. *J. Immunother. Cancer* 3, P164.
- Bensinger, S.J., Bradley, M.N., Joseph, S.B., Zelcer, N., Janssen, E.M., Hausner, M.A., Shih, R., Parks, J.S., Edwards, P.A., Jamieson, B.D., et al. (2008). LXR signaling couples sterol metabolism to proliferation in the acquired immune response. *Cell* 134, 97–111.

- Bernard, D., Pourtier-Manzanedo, A., Gil, J., and Beach, D.H. (2003). Myc confers androgen-independent prostate cancer cell growth. *J. Clin. Invest.* *112*, 1724–1731.
- Berney, D.M., Beltran, L., Fisher, G., North, B.V., Greenberg, D., Møller, H., Soosay, G., Scardino, P., and Cuzick, J. (2016). Validation of a contemporary prostate cancer grading system using prostate cancer death as outcome. *Br. J. Cancer* *114*, 1078–1083.
- Berquin, I.M., Min, Y., Wu, R., Wu, H., and Chen, Y.Q. (2005). Expression Signature of the Mouse Prostate. *J. Biol. Chem.* *280*, 36442–36451.
- Berwick, D.C., Hers, I., Heesom, K.J., Moule, S.K., and Tavaré, J.M. (2002). The identification of ATP-citrate lyase as a protein kinase B (Akt) substrate in primary adipocytes. *J. Biol. Chem.* *277*, 33895–33900.
- Bezzi, M., Seitzer, N., Ishikawa, T., Reschke, M., Chen, M., Wang, G., Mitchell, C., Ng, C., Katon, J., Lunardi, A., et al. (2018). Diverse genetic-driven immune landscapes dictate tumor progression through distinct mechanisms. *Nat. Med.* *24*, 165–175.
- Bhaskaran, K., Douglas, I., Forbes, H., dos-Santos-Silva, I., Leon, D.A., and Smeeth, L. (2014). Body-mass index and risk of 22 specific cancers: a population-based cohort study of 5·24 million UK adults. *Lancet Lond. Engl.* *384*, 755–765.
- Bhindi, B., Trottier, G., Elharram, M., Fernandes, K.A., Lockwood, G., Toi, A., Hersey, K.M., Finelli, A., Evans, A., van der Kwast, T.H., et al. (2012). Measurement of peri-prostatic fat thickness using transrectal ultrasonography (TRUS): a new risk factor for prostate cancer. *BJU Int.* *110*, 980–986.
- Bhowmick, N.A., Chytil, A., Plieth, D., Gorska, A.E., Dumont, N., Shappell, S., Washington, M.K., Neilson, E.G., and Moses, H.L. (2004). TGF-beta signaling in fibroblasts modulates the oncogenic potential of adjacent epithelia. *Science* *303*, 848–851.
- Bindal, P., Jalil, S.A., Holle, L.M., and Clement, J.M. (2018). Potential role of rituximab in metastatic castrate-resistant prostate cancer. *J. Oncol. Pharm. Pract. Off. Publ. Int. Soc. Oncol. Pharm. Pract.* 1078155218790338.
- Bindea, G., Mlecnik, B., Tosolini, M., Kirilovsky, A., Waldner, M., Obenauf, A.C., Angell, H., Fredriksen, T., Lafontaine, L., Berger, A., et al. (2013). Spatiotemporal dynamics of intratumoral immune cells reveal the immune landscape in human cancer. *Immunity* *39*, 782–795.
- Birbach, A., Eisenbarth, D., Kozakowski, N., Ladenhauf, E., Schmidt-Supprian, M., and Schmid, J.A. (2011). Persistent inflammation leads to proliferative neoplasia and loss of smooth muscle cells in a prostate tumor model. *Neoplasia N. Y. N* *13*, 692–703.
- Birrell, M.A., Catley, M.C., Hardaker, E., Wong, S., Willson, T.M., McCluskie, K., Leonard, T., Farrow, S.N., Collins, J.L., Haj-Yahia, S., et al. (2007). Novel role for the liver X nuclear receptor in the suppression of lung inflammatory responses. *J. Biol. Chem.* *282*, 31882–31890.
- Bishop, J.L., Thaper, D., and Zoubeidi, A. (2014). The Multifaceted Roles of STAT3 Signaling in the Progression of Prostate Cancer. *Cancers* *6*, 829–859.
- Biswas, S.K., Gangi, L., Paul, S., Schioppa, T., Sacconi, A., Sironi, M., Bottazzi, B., Doni, A., Vincenzo, B., Pasqualini, F., et al. (2006). A distinct and unique transcriptional program expressed by tumor-associated macrophages (defective NF-kappaB and enhanced IRF-3/STAT1 activation). *Blood* *107*, 2112–2122.
- Blume-Jensen, P., Berman, D.M., Rimm, D.L., Shipitsin, M., Putzi, M., Nifong, T.P., Small, C., Choudhury, S., Capela, T., Coupal, L., et al. (2015). Development and Clinical Validation of an In Situ Biopsy-Based Multimarker Assay for Risk Stratification in Prostate Cancer. *Clin. Cancer Res.*
- Bonaccorsi, L., Luciani, P., Nesi, G., Mannucci, E., Deledda, C., Dichiarà, F., Paglierani, M., Rosati, F., Masieri, L., Serni, S., et al. (2008). Androgen receptor regulation of the seladin-1/DHCR24 gene: altered expression in prostate cancer. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* *88*, 1049–1056.
- Bono, J.S. de, Scher, H.I., Montgomery, R.B., Parker, C., Miller, M.C., Tissing, H., Doyle, G.V., Terstappen, L.W.W.M., Pienta, K.J., and Raghavan, D. (2008). Circulating Tumor Cells Predict Survival Benefit from Treatment in Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *Clin. Cancer Res.* *14*, 6302–6309.
- Bono, J.S. de, Oudard, S., Ozguroglu, M., Hansen, S., Machiels, J.-P., Kocak, I., Gravis, G., Bodrogi, I., Mackenzie, M.J., Shen, L., et al. (2010). Prednisone plus cabazitaxel or mitoxantrone for metastatic castration-resistant prostate cancer progressing after docetaxel treatment: a randomised open-label trial. *The Lancet* *376*, 1147–1154.
- Bostwick, D.G., Shan, A., Qian, J., Darson, M., Maihle, N.J., Jenkins, R.B., and Cheng, L. (1998). Independent origin of multiple foci of prostatic intraepithelial neoplasia. *Cancer* *83*, 1995–2002.
- Bostwick, D.G., de la Roza, G., Dundore, P., Corica, F.A., and Iczkowski, K.A. (2003). Intraepithelial and stromal lymphocytes in the normal human prostate. *The Prostate* *55*, 187–193.

- Bousset, L., Rambur, A., Fouache, A., Bunay, J., Morel, L., Lobaccaro, J.-M.A., Baron, S., Trousson, A., and de Jossineau, C. (2018). New Insights in Prostate Cancer Development and Tumor Therapy: Modulation of Nuclear Receptors and the Specific Role of Liver X Receptors. *Int. J. Mol. Sci.* *19*.
- Boutros, P.C., Fraser, M., Harding, N.J., de Borja, R., Trudel, D., Lalonde, E., Meng, A., Hennings-Yeomans, P.H., McPherson, A., Sabelnykova, V.Y., et al. (2015). Spatial genomic heterogeneity within localized, multifocal prostate cancer. *Nat. Genet.* *47*, 736–745.
- Bowen, C., Bubendorf, L., Voeller, H.J., Slack, R., Willi, N., Sauter, G., Gasser, T.C., Koivisto, P., Lack, E.E., Kononen, J., et al. (2000). Loss of NKX3.1 Expression in Human Prostate Cancers Correlates with Tumor Progression^{1,2}. *Cancer Res.* *60*, 6111–6115.
- Braga-Basaria, M., Dobs, A.S., Muller, D.C., Carducci, M.A., John, M., Egan, J., and Basaria, S. (2006). Metabolic Syndrome in Men With Prostate Cancer Undergoing Long-Term Androgen-Deprivation Therapy. *J. Clin. Oncol.* *24*, 3979–3983.
- Bratt, O. (2002). Hereditary prostate cancer: clinical aspects. *J. Urol.* *168*, 906–913.
- Breast Cancer Linkage Consortium (1999). Cancer risks in BRCA2 mutation carriers. *J. Natl. Cancer Inst.* *91*, 1310–1316.
- Brede, C.M., and Shoskes, D.A. (2011). The etiology and management of acute prostatitis. *Nat. Rev. Urol.* *8*, 207–212.
- Brehmer, B., Biesterfeld, S., and Jakse, G. (2003). Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2 and -9) and their inhibitors (TIMP-1 and -2) in prostate cancer tissue. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* *6*, 217–222.
- Brierley, J.D., Gospodarowicz, M.K., and Wittekind (2017). *TNM Classification of Malignant Tumours*, 8th Edition.
- Brown, A.J. (2007). Cholesterol, Statins and Cancer. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* *34*, 135–141.
- Brown, M.S., and Goldstein, J.L. (1997). The SREBP Pathway: Regulation of Cholesterol Metabolism by Proteolysis of a Membrane-Bound Transcription Factor. *Cell* *89*, 331–340.
- Bruckner, M., Dickel, D., Singer, E., and Legler, D.F. (2012). Converse regulation of CCR7-driven human dendritic cell migration by prostaglandin E₂ and liver X receptor activation. *Eur. J. Immunol.* *42*, 2949–2958.
- Bruner, D.W., Moore, D., Parlanti, A., Dorgan, J., and Engstrom, P. (2003). Relative risk of prostate cancer for men with affected relatives: systematic review and meta-analysis. *Int. J. Cancer* *107*, 797–803.
- Bruxvoort, K.J., Charbonneau, H.M., Giambernardi, T.A., Goolsby, J.C., Qian, C.-N., Zylstra, C.R., Robinson, D.R., Roy-Burman, P., Shaw, A.K., Buckner-Berghuis, B.D., et al. (2007). Inactivation of Apc in the Mouse Prostate Causes Prostate Carcinoma. *Cancer Res.* *67*, 2490–2496.
- Bubendorf, L., Schöpfer, A., Wagner, U., Sauter, G., Moch, H., Willi, N., Gasser, T.C., and Mihatsch, M.J. (2000). Metastatic patterns of prostate cancer: an autopsy study of 1,589 patients. *Hum. Pathol.* *31*, 578–583.
- Burnet, F.M. (1970). The concept of immunological surveillance. *Prog. Exp. Tumor Res.* *13*, 1–27.
- Buyyounouski, M.K., Choyke, P.L., McKenney, J.K., Sartor, O., Sandler, H.M., Amin, M.B., Kattan, M.W., and Lin, D.W. (2017). Prostate Cancer – Major Changes in the American Joint Committee on Cancer Eighth Edition Cancer Staging Manual. *CA. Cancer J. Clin.* *67*, 245–253.
- Buzzoni, C., Auvinen, A., Roobol, M.J., Carlsson, S., Moss, S.M., Puliti, D., de Koning, H.J., Bangma, C.H., Denis, L.J., Kwiatkowski, M., et al. (2015). Metastatic Prostate Cancer incidence and prostate-specific antigen testing: new insights from the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer. *Eur. Urol.* *68*, 885–890.
- Cabel, L., Loir, E., Gravis, G., Lavaud, P., Massard, C., Albiges, L., Baciarello, G., Loriot, Y., and Fizazi, K. (2017). Long-term complete remission with ipilimumab in metastatic castrate-resistant prostate cancer: case report of two patients. *J. Immunother. Cancer* *5*, 31.
- Calcinotto, A., Spataro, C., Zagato, E., Di Mitri, D., Gil, V., Crespo, M., De Bernardis, G., Losa, M., Mirenda, M., Pasquini, E., et al. (2018). IL-23 secreted by myeloid cells drives castration-resistant prostate cancer. *Nature* *559*, 363–369.
- Calkin, A., and Tontonoz, P. (2010). LXR signaling pathways and atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* *30*.
- Calle, E.E., Rodriguez, C., Walker-Thurmond, K., and Thun, M.J. (2003). Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N. Engl. J. Med.* *348*, 1625–1638.
- Candelaria, N.R., Addanki, S., Zheng, J., Nguyen-Vu, T., Karaboga, H., Dey, P., Gabbi, C., Vedin, L.-L., Liu, K., Wu, W., et al. (2014). Antiproliferative effects and mechanisms of liver X receptor ligands in pancreatic ductal adenocarcinoma cells. *PLoS One* *9*, e106289.

- Cao, J., Liu, J., Xu, R., Zhu, X., Zhao, X., and Qian, B.-Z. (2017). Prognostic role of tumour-associated macrophages and macrophage scavenger receptor 1 in prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget* 8, 83261–83269.
- Carlsson, L., Nilsson, O., Larsson, A., Stridsberg, M., Sahlén, G., and Ronquist, G. (2003). Characteristics of human prostasomes isolated from three different sources. *The Prostate* 54, 322–330.
- Carmeliet, P., and Jain, R.K. (2011). Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature* 473, 298–307.
- Carracedo, A., Cantley, L.C., and Pandolfi, P.P. (2013). Cancer metabolism: fatty acid oxidation in the limelight. *Nat. Rev. Cancer* 13, 227–232.
- Carver, B.S., Tran, J., Gopalan, A., Chen, Z., Shaikh, S., Carracedo, A., Alimonti, A., Nardella, C., Varmeh, S., Scardino, P.T., et al. (2009). Aberrant ERG expression cooperates with loss of PTEN to promote cancer progression in the prostate. *Nat. Genet.* 41, 619–624.
- Carver, B.S., Chapinski, C., Wongvipat, J., Hieronymus, H., Chen, Y., Chandralapaty, S., Arora, V.K., Le, C., Koutcher, J., Scher, H., et al. (2011). Reciprocal feedback regulation of PI3K and androgen receptor signaling in PTEN-deficient prostate cancer. *Cancer Cell* 19, 575–586.
- Castello, L.M., Raineri, D., Salmi, L., Clemente, N., Vaschetto, R., Quaglia, M., Garzaro, M., Gentili, S., Navalesi, P., Cantaluppi, V., et al. (2017). Osteopontin at the Crossroads of Inflammation and Tumor Progression. *Mediators Inflamm.* 2017, 4049098.
- Castrillo, A., and Tontonoz, P. (2004). Nuclear receptors in macrophage biology: at the crossroads of lipid metabolism and inflammation. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 20, 455–480.
- Castrillo, A., Joseph, S.B., Vaidya, S.A., Haberland, M., Fogelman, A.M., Cheng, G., and Tontonoz, P. (2003). Crosstalk between LXR and Toll-like Receptor Signaling Mediates Bacterial and Viral Antagonism of Cholesterol Metabolism. *Mol. Cell* 12, 805–816.
- Celhay, O., Bousset, L., Guy, L., Kemeny, J.-L., Leoni, V., Caccia, C., Trousson, A., Damon-Soubeyrant, C., Haze, A.D., Sabourin, L., et al. (2018). Individual Comparison of Cholesterol Metabolism in Normal and Tumour Areas in Radical Prostatectomy Specimens from Patients with Prostate Cancer: Results of the CHOMECAP Study. *Eur. Urol. Oncol.* 0.
- Cha, J.-Y., and Repa, J.J. (2007). The liver X receptor (LXR) and hepatic lipogenesis. The carbohydrate-response element-binding protein is a target gene of LXR. *J. Biol. Chem.* 282, 743–751.
- Chai, H., and Brown, R.E. (2009). Field effect in cancer—an update. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 39, 331–337.
- Chang, K.-H., Li, R., Kuri, B., Lotan, Y., Roehrborn, C.G., Liu, J., Vessella, R., Nelson, P.S., Kapur, P., Guo, X., et al. (2013). A gain-of-function mutation in DHT synthesis in castration-resistant prostate cancer. *Cell* 154, 1074–1084.
- Chen, Y., and Hughes-Fulford, M. (2001). Human prostate cancer cells lack feedback regulation of low-density lipoprotein receptor and its regulator, SREBP2. *Int. J. Cancer* 91, 41–45.
- Chen, C.D., Welsbie, D.S., Tran, C., Baek, S.H., Chen, R., Vessella, R., Rosenfeld, M.G., and Sawyers, C.L. (2004). Molecular determinants of resistance to antiandrogen therapy. *Nat. Med.* 10, 33–39.
- Chen, J., Guccini, I., Di Mitri, D., Brina, D., Revandkar, A., Sarti, M., Pasquini, E., Alajati, A., Pinton, S., Losa, M., et al. (2018a). Compartmentalized activities of the pyruvate dehydrogenase complex sustain lipogenesis in prostate cancer. *Nat. Genet.* 50, 219–228.
- Chen, J., Zhang, D., Ji, M.-F., Liu, T., Mei, C., and Tang, X.-J. (2019). Activation of liver X receptor suppresses osteopontin expression and ameliorates nephrolithiasis. *J. Cell. Physiol.* 234, 14109–14122.
- Chen, M., Bradley, M.N., Beaven, S.W., and Tontonoz, P. (2006). Phosphorylation of the liver X receptors. *FEBS Lett.* 580, 4835–4841.
- Chen, M., Pratt, C.P., Zeeman, M.E., Schultz, N., Taylor, B.S., O’Neill, A., Castillo-Martin, M., Nowak, D.G., Naguib, A., Grace, D.M., et al. (2011a). Identification of PHLPP1 as a Tumor Suppressor Reveals the Role of Feedback Activation in PTEN-Mutant Prostate Cancer Progression. *Cancer Cell* 20, 173–186.
- Chen, M., Carkner, R., and Buttyan, R. (2011b). The hedgehog/Gli signaling paradigm in prostate cancer. *Expert Rev. Endocrinol. Metab.* 6, 453–467.
- Chen, M., Zhang, J., Sampieri, K., Clohessy, J.G., Mendez, L., Gonzalez-Billalabeitia, E., Liu, X.-S., Lee, Y.-R., Fung, J., Katon, J.M., et al. (2018b). An aberrant SREBP-dependent lipogenic program promotes metastatic prostate cancer. *Nat. Genet.* 50, 206.
- Chen, Y.-C., Page, J.H., Chen, R., and Giovannucci, E. (2008). Family history of prostate and breast cancer and the risk of prostate cancer in the PSA era. *The Prostate* 68, 1582–1591.

- Chen, Z., Trotman, L.C., Shaffer, D., Lin, H.-K., Dotan, Z.A., Niki, M., Koutcher, J.A., Scher, H.I., Ludwig, T., Gerald, W., et al. (2005). Crucial role of p53-dependent cellular senescence in suppression of Pten-deficient tumorigenesis. *Nature* 436, 725–730.
- Chinni, S.R., Sivalogan, S., Dong, Z., Filho, J.C.T., Deng, X., Bonfil, R.D., and Cher, M.L. (2006). CXCL12/CXCR4 signaling activates Akt-1 and MMP-9 expression in prostate cancer cells: The role of bone microenvironment-associated CXCL12. *The Prostate* 66, 32–48.
- Cho, H.J., Kwon, G.T., Park, H., Song, H., Lee, K.W., Kim, J.-I., and Park, J.H.Y. (2015). A High-Fat Diet Containing Lard Accelerates Prostate Cancer Progression and Reduces Survival Rate in Mice: Possible Contribution of Adipose Tissue-Derived Cytokines. *Nutrients* 7, 2539–2561.
- Choi, J.-Y., Seo, J.Y., Yoon, Y.-S., Lee, Y.-J., Kim, H.-S., and Kang, J.L. (2015). Mer signaling increases the abundance of the transcription factor LXR to promote the resolution of acute sterile inflammation. *Sci. Signal.* 8, ra21.
- Christian, J.D., Lamm, T.C., Morrow, J.F., and Bostwick, D.G. (2005). Corpora amylacea in adenocarcinoma of the prostate: incidence and histology within needle core biopsies. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* 18, 36–39.
- Chu, K., Miyazaki, M., Man, W.C., and Ntambi, J.M. (2006). Stearoyl-coenzyme A desaturase 1 deficiency protects against hypertriglyceridemia and increases plasma high-density lipoprotein cholesterol induced by liver X receptor activation. *Mol. Cell. Biol.* 26, 6786–6798.
- Chuu, C.-P., and Lin, H.-P. (2010). Antiproliferative Effect of LXR Agonists T0901317 and 22(R)-Hydroxycholesterol on Multiple Human Cancer Cell Lines. *Anticancer Res.* 30, 3643–3648.
- Clark, J., Attard, G., Jhavar, S., Flohr, P., Reid, A., De-Bono, J., Eeles, R., Scardino, P., Cuzick, J., Fisher, G., et al. (2008). Complex patterns of ETS gene alteration arise during cancer development in the human prostate. *Oncogene* 27, 1993–2003.
- Coleman, R.E. (2006). Clinical Features of Metastatic Bone Disease and Risk of Skeletal Morbidity. *Clin. Cancer Res.* 12, 6243s–6249s.
- Comito, G., Giannoni, E., Segura, C.P., Barcellos-de-Souza, P., Raspollini, M.R., Baroni, G., Lanciotti, M., Serni, S., and Chiarugi, P. (2014). Cancer-associated fibroblasts and M2-polarized macrophages synergize during prostate carcinoma progression. *Oncogene* 33, 2423–2431.
- Conteduca, V., Caffo, O., Galli, L., Maugeri, A., Scarpi, E., Maines, F., Chiuri, V.E., Lolli, C., Kinspergher, S., Schepisi, G., et al. (2018). Association among metabolic syndrome, inflammation, and survival in prostate cancer. *Urol. Oncol. Semin. Orig. Investig.* 36, 240.e1–240.e11.
- Cooper, C.S., Eeles, R., Wedge, D.C., Van Loo, P., Gundem, G., Alexandrov, L.B., Kremeyer, B., Butler, A., Lynch, A.G., Camacho, N., et al. (2015). Analysis of the genetic phylogeny of multifocal prostate cancer identifies multiple independent clonal expansions in neoplastic and morphologically normal prostate tissue. *Nat. Genet.* 47, 367–372.
- Costello, L.C., and Franklin, R.B. (1998). Novel role of zinc in the regulation of prostate citrate metabolism and its implications in prostate cancer. *The Prostate* 35, 285–296.
- Costello, L.C., and Franklin, R.B. (2006). The clinical relevance of the metabolism of prostate cancer; zinc and tumor suppression: connecting the dots. *Mol. Cancer* 5, 17.
- Costello, L., Feng, P., Milon, B., Tan, M., and Franklin, R. (2004). Role of zinc in the pathogenesis and treatment of prostate cancer: critical issues to resolve. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 7, 111–117.
- Costello, L.C., Liu, Y., Franklin, R.B., and Kennedy, M.C. (1997). Zinc inhibition of mitochondrial aconitase and its importance in citrate metabolism of prostate epithelial cells. *J. Biol. Chem.* 272, 28875–28881.
- Costello, L.C., Franklin, R.B., and Feng, P. (2005). Mitochondrial function, zinc, and intermediary metabolism relationships in normal prostate and prostate cancer. *Mitochondrion* 5, 143–153.
- Costello, L.C., Franklin, R.B., Zou, J., Feng, P., Bok, R., Swanson, M.G., and Kurhanewicz, J. (2011). Human prostate cancer ZIP1/zinc/citrate genetic/metabolic relationship in the TRAMP prostate cancer animal model. *Cancer Biol. Ther.* 12, 1078–1084.
- Costet, P., Luo, Y., Wang, N., and Tall, A.R. (2000). Sterol-dependent transactivation of the ABC1 promoter by the liver X receptor/retinoid X receptor. *J. Biol. Chem.* 275, 28240–28245.
- Craft, N., Shostak, Y., Carey, M., and Sawyers, C.L. (1999). A mechanism for hormone-independent prostate cancer through modulation of androgen receptor signaling by the HER-2/neu tyrosine kinase. *Nat. Med.* 5, 280–285.

- Crawford, E.D., Scholz, M.C., Kar, A.J., Fegan, J.E., Haregewoin, A., Kaldate, R.R., and Brawer, M.K. (2014). Cell cycle progression score and treatment decisions in prostate cancer: results from an ongoing registry. *Curr. Med. Res. Opin.* *30*, 1025–1031.
- Crawford, H.C., Matrisian, L.M., and Liaw, L. (1998). Distinct Roles of Osteopontin in Host Defense Activity and Tumor Survival during Squamous Cell Carcinoma Progression in Vivo. *Cancer Res.* *58*, 5206–5215.
- Cruz, P.M., Mo, H., McConathy, W., Sabnis, N.A., and Lacko, A.G. (2013). The role of cholesterol metabolism and cholesterol transport in carcinogenesis: a review of scientific findings, relevant to future cancer therapeutics. *Front. Pharmacol.* *4*.
- Cui, G., Qin, X., Wu, L., Zhang, Y., Sheng, X., Yu, Q., Sheng, H., Xi, B., Zhang, J.Z., and Zang, Y.Q. (2011). Liver X receptor (LXR) mediates negative regulation of mouse and human Th17 differentiation. *J. Clin. Invest.* *121*, 658–670.
- Culig, Z., and Puhr, M. (2018). Interleukin-6 and prostate cancer: Current developments and unsolved questions. *Mol. Cell. Endocrinol.* *462*, 25–30.
- Culig, Z., Hobisch, A., Cronauer, M.V., Cato, A.C., Hittmair, A., Radmayr, C., Eberle, J., Bartsch, G., and Klocker, H. (1993). Mutant androgen receptor detected in an advanced-stage prostatic carcinoma is activated by adrenal androgens and progesterone. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* *7*, 1541–1550.
- Culig, Z., Hobisch, A., Cronauer, M.V., Radmayr, C., Trapman, J., Hittmair, A., Bartsch, G., and Klocker, H. (1994). Androgen receptor activation in prostatic tumor cell lines by insulin-like growth factor-I, keratinocyte growth factor, and epidermal growth factor. *Cancer Res.* *54*, 5474–5478.
- Culig, Z., Steiner, H., Bartsch, G., and Hobisch, A. (2005). Interleukin-6 regulation of prostate cancer cell growth. *J. Cell. Biochem.* *95*, 497–505.
- Cummins, C.L., Volle, D.H., Zhang, Y., McDonald, J.G., Sion, B., Lefrançois-Martinez, A.-M., Caira, F., Veysi re, G., Mangelsdorf, D.J., and Lobaccaro, J.-M.A. (2006). Liver X receptors regulate adrenal cholesterol balance. *J. Clin. Invest.* *116*, 1902–1912.
- Currie, E., Schulze, A., Zechner, R., Walther, T.C., and Farese Jr., R.V. (2013). Cellular Fatty Acid Metabolism and Cancer. *Cell Metab.* *18*, 153–161.
- Cutruzzol , F., Giardina, G., Marani, M., Macone, A., Paiardini, A., Rinaldo, S., and Paone, A. (2017). Glucose Metabolism in the Progression of Prostate Cancer. *Front. Physiol.* *8*.
- Cuzick, J., Swanson, G.P., Fisher, G., Brothman, A.R., Berney, D.M., Reid, J.E., Mesher, D., Speights, V., Stankiewicz, E., Foster, C.S., et al. (2011). Prognostic value of an RNA expression signature derived from cell cycle proliferation genes in patients with prostate cancer: a retrospective study. *Lancet Oncol.* *12*, 245–255.
- Cuzick, J., Yang, Z.H., Fisher, G., Tikishvili, E., Stone, S., Lanchbury, J.S., Camacho, N., Merson, S., Brewer, D., Cooper, C.S., et al. (2013). Prognostic value of PTEN loss in men with conservatively managed localised prostate cancer. *Br. J. Cancer* *108*, 2582–2589.
- Dai, Y., Miao, Y., Wu, W., Li, Y., D’Errico, F., Su, W., Burns, A.R., Huang, B., Maneix, L., Warner, M., et al. (2016). Ablation of Liver X receptors α and β leads to spontaneous peripheral squamous cell lung cancer in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *113*, 7614–7619.
- Dakhova, O., Ozen, M., Creighton, C.J., Li, R., Ayala, G., Rowley, D., and Ittmann, M. (2009). Global Gene Expression Analysis of Reactive Stroma in Prostate Cancer. *Clin. Cancer Res.* *15*, 3979–3989.
- Dagleish, A., Featherstone, P., Vlassov, V., and Rogosnitzky, M. (2014). Rituximab for treating CD20+ prostate cancer with generalized lymphadenopathy: a case report and review of the literature. *Invest. New Drugs* *32*, 1048–1052.
- Dang, T., and Liou, G.-Y. (2018). Macrophage Cytokines Enhance Cell Proliferation of Normal Prostate Epithelial Cells through Activation of ERK and Akt. *Sci. Rep.* *8*, 7718.
- De Angelis, R., Sant, M., Coleman, M.P., Francisci, S., Baili, P., Pierannunzio, D., Trama, A., Visser, O., Brenner, H., Ardanaz, E., et al. (2014). Cancer survival in Europe 1999–2007 by country and age: results of EURO-CARE-5-a population-based study. *Lancet Oncol.* *15*, 23–34.
- De Boussac, H., Alioui, A., Viennois, E., Dufour, J., Trousson, A., Vega, A., Guy, L., Volle, D.H., Lobaccaro, J.-M.A., and Baron, S. (2013). Oxysterol receptors and their therapeutic applications in cancer conditions. *Expert Opin. Ther. Targets* *17*, 1029–1038.
- De Marzo, A.M., Marchi, V.L., Epstein, J.I., and Nelson, W.G. (1999). Proliferative Inflammatory Atrophy of the Prostate. *Am. J. Pathol.* *155*, 1985–1992.
- De Marzo, A.M., Platz, E.A., Sutcliffe, S., Xu, J., Gr nberg, H., Drake, C.G., Nakai, Y., Isaacs, W.B., and Nelson, W.G. (2007). Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nat. Rev. Cancer* *7*, 256–269.

- De Nunzio, C., Kramer, G., Marberger, M., Montironi, R., Nelson, W., Schröder, F., Sciarra, A., and Tubaro, A. (2011). The Controversial Relationship Between Benign Prostatic Hyperplasia and Prostate Cancer: The Role of Inflammation. *Eur. Urol.* *60*, 106–117.
- De Nunzio, C., Simone, G., Brassetti, A., Mastroianni, R., Collura, D., Muto, G., Gallucci, M., and Tubaro, A. (2016). Metabolic syndrome is associated with advanced prostate cancer in patients treated with radical retropubic prostatectomy: results from a multicentre prospective study. *BMC Cancer* *16*, 407.
- Debelec-Butuner, B., Ertunc, N., and Korkmaz, K.S. (2015). Inflammation contributes to NKX3.1 loss and augments DNA damage but does not alter the DNA damage response via increased SIRT1 expression. *J. Inflamm. Lond. Engl.* *12*.
- DeLongchamps, N.B., de la Roza, G., Chandan, V., Jones, R., Sunheimer, R., Threatte, G., Jumbelic, M., and Haas, G.P. (2008). Evaluation of prostatitis in autopsied prostates—is chronic inflammation more associated with benign prostatic hyperplasia or cancer? *J. Urol.* *179*, 1736–1740.
- Denechaud, P.-D., Bossard, P., Lobaccaro, J.-M.A., Millatt, L., Staels, B., Girard, J., and Postic, C. (2008). ChREBP, but not LXRs, is required for the induction of glucose-regulated genes in mouse liver. *J. Clin. Invest.* *118*, 956–964.
- Deng, T., Lyon, C.J., Bergin, S., Caligiuri, M.A., and Hsueh, W.A. (2016). Obesity, Inflammation, and Cancer. *Annu. Rev. Pathol.* *11*, 421–449.
- Di Mitri, D., Toso, A., Chen, J.J., Sarti, M., Pinton, S., Jost, T.R., D’Antuono, R., Montani, E., Garcia-Escudero, R., Guccini, I., et al. (2014). Tumour-infiltrating Gr-1+ myeloid cells antagonize senescence in cancer. *Nature* *515*, 134–137.
- Dillard, P.R., Lin, M.-F., and Khan, S.A. (2008). Androgen-independent prostate cancer cells acquire the complete steroidogenic potential of synthesizing testosterone from cholesterol. *Mol. Cell. Endocrinol.* *295*, 115–120.
- Ding, Z., Wu, C.-J., Jaskeliouff, M., Ivanova, E., Kost-Alimova, M., Protopopov, A., Chu, G.C., Wang, G., Lu, X., Labrot, E.S., et al. (2012). Telomerase Reactivation following Telomere Dysfunction Yields Murine Prostate Tumors with Bone Metastases. *Cell* *148*, 896–907.
- Djulgovic, M., Beyth, R.J., Neuberger, M.M., Stoffs, T.L., Vieweg, J., Djulgovic, B., and Dahm, P. (2010). Screening for prostate cancer: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* *341*, c4543.
- Doat, S., Cénéé, S., Trétarre, B., Rebillard, X., Lamy, P., Bringer, J., Iborra, F., Murez, T., Sanchez, M., Menegaux, F., et al. (2017). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and prostate cancer risk: results from the EPICAP study. *Cancer Med.* *6*, 2461–2470.
- Du, X., Kristiana, I., Wong, J., and Brown, A.J. (2006). Involvement of Akt in ER-to-Golgi transport of SCAP/SREBP: a link between a key cell proliferative pathway and membrane synthesis. *Mol. Biol. Cell* *17*, 2735–2745.
- Dueregger, A., Schöpf, B., Eder, T., Höfer, J., Gnaiger, E., Aufinger, A., Kenner, L., Perktold, B., Ramoner, R., Klocker, H., et al. (2015). Differential Utilization of Dietary Fatty Acids in Benign and Malignant Cells of the Prostate. *PLoS One* *10*, e0135704.
- Dufour, J., Pommier, A., Alves, G., De Boussac, H., Lours-Calet, C., Volle, D.H., Lobaccaro, J.-M.A., and Baron, S. (2013). Lack of Liver X Receptors Leads to Cell Proliferation in a Model of Mouse Dorsal Prostate Epithelial Cell. *PLoS ONE* *8*.
- Dunn, G.P., Bruce, A.T., Ikeda, H., Old, L.J., and Schreiber, R.D. (2002). Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat. Immunol.* *3*, 991–998.
- Ebelt, K., Babaryka, G., Frankenberger, B., Stief, C.G., Eisenmenger, W., Kirchner, T., Schendel, D.J., and Noessner, E. (2009). Prostate cancer lesions are surrounded by FOXP3+, PD-1+ and B7-H1+ lymphocyte clusters. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* *1990* *45*, 1664–1672.
- Eberlé, D., Hegarty, B., Bossard, P., Ferré, P., and Foufelle, F. (2004). SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis. *Biochimie* *86*, 839–848.
- Eidelman, E., Twum-Ampofo, J., Ansari, J., and Siddiqui, M.M. (2017). The Metabolic Phenotype of Prostate Cancer. *Front. Oncol.* *7*.
- Eisenbarth, S.C. (2019). Dendritic cell subsets in T cell programming: location dictates function. *Nat. Rev. Immunol.* *19*, 89.
- El Roz, A., Bard, J.-M., Valin, S., Huvelin, J.-M., and Nazih, H. (2013). Macrophage apolipoprotein E and proliferation of MCF-7 breast cancer cells: role of LXR. *Anticancer Res.* *33*, 3783–3789.

- Ellem, S.J., Wang, H., Poutanen, M., and Risbridger, G.P. (2009). Increased endogenous estrogen synthesis leads to the sequential induction of prostatic inflammation (prostatitis) and prostatic pre-malignancy. *Am. J. Pathol.* *175*, 1187–1199.
- Ellwood-Yen, K., Graeber, T.G., Wongvipat, J., Iruela-Arispe, M.L., Zhang, J., Matusik, R., Thomas, G.V., and Sawyers, C.L. (2003). Myc-driven murine prostate cancer shares molecular features with human prostate tumors. *Cancer Cell* *4*, 223–238.
- Endo-Umeda, K., Nakashima, H., Komine-Aizawa, S., Umeda, N., Seki, S., and Makishima, M. (2018). Liver X receptors regulate hepatic F4/80 + CD11b+ Kupffer cells/macrophages and innate immune responses in mice. *Sci. Rep.* *8*, 9281.
- Engel, T., Lorkowski, S., Lueken, A., Rust, S., Schlüter, B., Berger, G., Cullen, P., and Assmann, G. (2001). The human ABCG4 gene is regulated by oxysterols and retinoids in monocyte-derived macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *288*, 483–488.
- Epstein, J.I., Egevad, L., Humphrey, P.A., Montironi, R., and Members of the ISUP Immunohistochemistry in Diagnostic Urologic Pathology Group (2014). Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the prostate: report from the International Society of Urologic Pathology consensus conference. *Am. J. Surg. Pathol.* *38*, e6–e19.
- Epstein, J.I., Egevad, L., Amin, M.B., Delahunt, B., Srigley, J.R., Humphrey, P.A., and Grading Committee (2016). The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. *Am. J. Surg. Pathol.* *40*, 244–252.
- Erho, N., Crisan, A., Vergara, I.A., Mitra, A.P., Ghadessi, M., Buerki, C., Bergstrahl, E.J., Kollmeyer, T., Fink, S., Haddad, Z., et al. (2013). Discovery and Validation of a Prostate Cancer Genomic Classifier that Predicts Early Metastasis Following Radical Prostatectomy. *PLOS ONE* *8*, e66855.
- Erlandsson, A., Carlsson, J., Lundholm, M., Fält, A., Andersson, S.-O., Andrén, O., and Davidsson, S. (2019). M2 macrophages and regulatory T cells in lethal prostate cancer. *The Prostate* *79*, 363–369.
- Escamilla, J., Schokrpur, S., Liu, C., Priceman, S.J., Moughon, D., Jiang, Z., Pouliot, F., Magyar, C., Sung, J.L., Xu, J., et al. (2015). CSF1 Receptor Targeting in Prostate Cancer Reverses Macrophage-Mediated Resistance to Androgen Blockade Therapy. *Cancer Res.* *75*, 950–962.
- Ettinger, S.L., Sobel, R., Whitmore, T.G., Akbari, M., Bradley, D.R., Gleave, M.E., and Nelson, C.C. (2004). Dysregulation of Sterol Response Element-Binding Proteins and Downstream Effectors in Prostate Cancer during Progression to Androgen Independence. *Cancer Res.* *64*, 2212–2221.
- Fedarko, N.S., Jain, A., Karadag, A., Eman, M.R.V., and Fisher, L.W. (2001). Elevated Serum Bone Sialoprotein and Osteopontin in Colon, Breast, Prostate, and Lung Cancer. *Clin. Cancer Res.* *7*, 4060–4066.
- Feingold, K.R., and Grunfeld, C. (2000). Introduction to Lipids and Lipoproteins. In *Endotext*, K.R. Feingold, B. Anawalt, A. Boyce, G. Chrousos, K. Dungan, A. Grossman, J.M. Hershman, G. Kaltsas, C. Koch, P. Kopp, et al., eds. (South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.), p.
- Feingold, K.R., and Grunfeld, C. (2010). The acute phase response inhibits reverse cholesterol transport. *J. Lipid Res.* *51*, 682–684.
- Feng, P., Li, T.-L., Guan, Z.-X., Franklin, R.B., and Costello, L.C. (2002). Direct effect of zinc on mitochondrial apoptosis in prostate cells. *The Prostate* *52*, 311–318.
- Ferlay, F., Soerjomataram, I., Ervik, M., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, D., Forman, D., and Bray, F. (2013). GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012 v1.0.
- Ferraldeschi, R., Nava Rodrigues, D., Riisnaes, R., Miranda, S., Figueiredo, I., Rescigno, P., Ravi, P., Pezaro, C., Omlin, A., Lorente, D., et al. (2015). PTEN Protein Loss and Clinical Outcome from Castration-resistant Prostate Cancer Treated with Abiraterone Acetate. *Eur. Urol.* *67*, 795–802.
- Ferro, M., Terracciano, D., Buonerba, C., Lucarelli, G., Bottero, D., Perdonà, S., Autorino, R., Serino, A., Cantiello, F., Damiano, R., et al. (2016). The emerging role of obesity, diet and lipid metabolism in prostate cancer. *Future Oncol.* *13*, 285–293.
- Fessler, M.B., and Parks, J.S. (2011). Intracellular Lipid Flux and Membrane Microdomains as Organizing Principles in Inflammatory Cell Signaling. *J. Immunol.* *187*, 1529–1535.
- Figuroa, M.E., Abdel-Wahab, O., Lu, C., Ward, P.S., Patel, J., Shih, A., Li, Y., Bhagwat, N., Vasanthakumar, A., Fernandez, H.F., et al. (2010). Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. *Cancer Cell* *18*, 553–567.
- Filella, X., and Giménez, N. (2012). Evaluation of [−2] proPSA and Prostate Health Index (phi) for the detection of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Chem. Lab. Med.* *51*, 729–739.

- Filella, X., Fernández-Galan, E., Fernández Bonifacio, R., and Foj, L. (2018). Emerging biomarkers in the diagnosis of prostate cancer. *Pharmacogenomics Pers. Med.* *11*, 83–94.
- Filson, C.P. (2018). Quality of care and economic considerations of active surveillance of men with prostate cancer. *Transl. Androl. Urol.* *7*, 203–213.
- Finley, D.S., Calvert, V.S., Inokuchi, J., Lau, A., Narula, N., Petricoin, E.F., Zaldivar, F., Santos, R., Tyson, D.R., and Ornstein, D.K. (2009). Periprostatic adipose tissue as a modulator of prostate cancer aggressiveness. *J. Urol.* *182*, 1621–1627.
- Fizazi, K., Jones, R., Oudard, S., Efstathiou, E., Saad, F., de Wit, R., De Bono, J., Cruz, F.M., Fountzilias, G., Ulys, A., et al. (2015). Phase III, Randomized, Double-Blind, Multicenter Trial Comparing Orteronel (TAK-700) Plus Prednisone With Placebo Plus Prednisone in Patients With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer That Has Progressed During or After Docetaxel-Based Therapy: ELM-PC 5. *J. Clin. Oncol.* *33*, 723–731.
- Fizazi, K., Tran, N., Fein, L., Matsubara, N., Rodriguez-Antolin, A., Alekseev, B.Y., Özgüroğlu, M., Ye, D., Feyerabend, S., Protheroe, A., et al. (2017). Abiraterone plus Prednisone in Metastatic, Castration-Sensitive Prostate Cancer. *N. Engl. J. Med.* *377*, 352–360.
- Fizazi, K., Shore, N., Tammela, T.L., Ulys, A., Vjaters, E., Polyakov, S., Jievaltas, M., Luz, M., Alekseev, B., Kuss, I., et al. (2019). Darolutamide in Nonmetastatic, Castration-Resistant Prostate Cancer. *N. Engl. J. Med.* *380*, 1235–1246.
- Flammiger, A., Bayer, F., Cirugeda-Kühnert, A., Huland, H., Tennstedt, P., Simon, R., Minner, S., Bokemeyer, C., Sauter, G., Schlomm, T., et al. (2012). Intratumoral T but not B lymphocytes are related to clinical outcome in prostate cancer. *APMIS Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.* *120*, 901–908.
- Flanagan, J., Gray, P.K., Hahn, N., Hayes, J., Myers, L.J., Carney-Doebbeling, C., and Sweeney, C.J. (2011). Presence of the metabolic syndrome is associated with shorter time to castration-resistant prostate cancer. *Ann. Oncol.* *22*, 801–807.
- Flaveny, C.A., Griffett, K., El-Gendy, B.E.-D.M., Kazantzis, M., Sengupta, M., Amelio, A.L., Chatterjee, A., Walker, J., Solt, L.A., Kamenecka, T.M., et al. (2015). Broad Anti-tumor Activity of a Small Molecule that Selectively Targets the Warburg Effect and Lipogenesis. *Cancer Cell* *28*, 42–56.
- Fordyce, C.A., Heaphy, C.M., Joste, N.E., Smith, A.Y., Hunt, W.C., and Griffith, J.K. (2005). Association between cancer-free survival and telomere DNA content in prostate tumors. *J. Urol.* *173*, 610–614.
- Forootan, S.S., Foster, C.S., Aachi, V.R., Adamson, J., Smith, P.H., Lin, K., and Ke, Y. (2006). Prognostic significance of osteopontin expression in human prostate cancer. *Int. J. Cancer* *118*, 2255–2261.
- Francis, J.C., Thomsen, M.K., Taketo, M.M., and Swain, A. (2013). β -Catenin Is Required for Prostate Development and Cooperates with Pten Loss to Drive Invasive Carcinoma. *PLOS Genet.* *9*, e1003180.
- Franz, M.-C., Anderle, P., Bürzle, M., Suzuki, Y., Freeman, M.R., Hediger, M.A., and Kovacs, G. (2013). Zinc transporters in prostate cancer. *Mol. Aspects Med.* *34*, 735–741.
- Fraser, M., Sabelnykova, V.Y., Yamaguchi, T.N., Heisler, L.E., Livingstone, J., Huang, V., Shiah, Y.-J., Yousif, F., Lin, X., Masella, A.P., et al. (2017). Genomic hallmarks of localized, non-indolent prostate cancer. *Nature* *541*, 359–364.
- Freeman, M.R., and Solomon, K.R. (2004). Cholesterol and prostate cancer. *J. Cell. Biochem.* *91*, 54–69.
- Freeman, M.R., and Solomon, K.R. (2011). Cholesterol and Benign Prostate Disease. *Differ. Res. Biol. Divers.* *82*, 244–252.
- Freeman, M.R., Solomon, K.R., and Moyad, M. (2006). Statins and the risk of cancer. *JAMA* *295*, 2720–2721; author reply 2721–2722.
- Fridlender, Z.G., Sun, J., Kim, S., Kapoor, V., Cheng, G., Ling, L., Worthen, G.S., and Albelda, S.M. (2009). Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: “N1” versus “N2” TAN. *Cancer Cell* *16*, 183–194.
- Friedl, P., and Alexander, S. (2011). Cancer Invasion and the Microenvironment: Plasticity and Reciprocity. *Cell* *147*, 992–1009.
- Fritz, V., Benfodda, Z., Rodier, G., Henriquet, C., Iborra, F., Avancès, C., Allory, Y., de la Taille, A., Culine, S., Blancou, H., et al. (2010). Abrogation of de novo lipogenesis by stearoyl-CoA desaturase 1 inhibition interferes with oncogenic signaling and blocks prostate cancer progression in mice. *Mol. Cancer Ther.* *9*, 1740–1754.
- Fucikova, J., Podrazil, M., Jarolim, L., Bilkova, P., Hensler, M., Becht, E., Gasova, Z., Klouckova, J., Kayserova, J., Horvath, R., et al. (2018). Phase I/II trial of dendritic cell-based active cellular immunotherapy with DCVAC/PCa in patients with rising PSA after primary prostatectomy or salvage radiotherapy for the treatment of prostate cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* *CII* *67*, 89–100.

- Fukuchi, J., Kokontis, J.M., Hiipakka, R.A., Chuu, C.-P., and Liao, S. (2004a). Antiproliferative effect of liver X receptor agonists on LNCaP human prostate cancer cells. *Cancer Res.* *64*, 7686–7689.
- Fukuchi, J., Hiipakka, R.A., Kokontis, J.M., Hsu, S., Ko, A.L., Fitzgerald, M.L., and Liao, S. (2004b). Androgenic Suppression of ATP-binding Cassette Transporter A1 Expression in LNCaP Human Prostate Cancer Cells. *Cancer Res.* *64*, 7682–7685.
- Gacci, M., Russo, G.I., De Nunzio, C., Sebastianelli, A., Salvi, M., Vignozzi, L., Tubaro, A., Morgia, G., and Serni, S. (2017). Meta-analysis of metabolic syndrome and prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* *20*, 146–155.
- Gandaglia, G., Abdollah, F., Schiffmann, J., Trudeau, V., Shariat, S.F., Kim, S.P., Perrotte, P., Montorsi, F., Briganti, A., Trinh, Q.-D., et al. (2014). Distribution of metastatic sites in patients with prostate cancer: A population-based analysis. *The Prostate* *74*, 210–216.
- Gannon, P.O., Poisson, A.O., Delvoye, N., Lapointe, R., Mes-Masson, A.-M., and Saad, F. (2009). Characterization of the intra-prostatic immune cell infiltration in androgen-deprived prostate cancer patients. *J. Immunol. Methods* *348*, 9–17.
- Gao, S.P., Mark, K.G., Leslie, K., Pao, W., Motoi, N., Gerald, W.L., Travis, W.D., Bornmann, W., Veach, D., Clarkson, B., et al. (2007). Mutations in the EGFR kinase domain mediate STAT3 activation via IL-6 production in human lung adenocarcinomas. *J. Clin. Invest.* *117*, 3846–3856.
- Garcia, A.J., Ruscetti, M., Arenzana, T.L., Tran, L.M., Bianci-Frias, D., Sybert, E., Priceman, S.J., Wu, L., Nelson, P.S., Smale, S.T., et al. (2014). Pten Null Prostate Epithelium Promotes Localized Myeloid-Derived Suppressor Cell Expansion and Immune Suppression during Tumor Initiation and Progression. *Mol. Cell. Biol.* *34*, 2017–2028.
- García-Hernández, M. de la L., Uribe-Urbe, N.O., Espinosa-González, R., Kast, W.M., Khader, S.A., and Rangel-Moreno, J. (2017). A Unique Cellular and Molecular Microenvironment Is Present in Tertiary Lymphoid Organs of Patients with Spontaneous Prostate Cancer Regression. *Front. Immunol.* *8*.
- Gascard, P., and Tlsty, T.D. (2016). Carcinoma-associated fibroblasts: orchestrating the composition of malignancy. *Genes Dev.* *30*, 1002–1019.
- Gasparian, A.V., Yao, Y.J., Kowalczyk, D., Lyakh, L.A., Karseladze, A., Slaga, T.J., and Budunova, I.V. (2002). The role of IKK in constitutive activation of NF-kappaB transcription factor in prostate carcinoma cells. *J. Cell Sci.* *115*, 141–151.
- Gazi, E., Gardner, P., Lockyer, N.P., Hart, C.A., Brown, M.D., and Clarke, N.W. (2007). Direct evidence of lipid translocation between adipocytes and prostate cancer cells with imaging FTIR microspectroscopy. *J. Lipid Res.* *48*, 1846–1856.
- Gerbod-Giannone, M.-C., Li, Y., Holleboom, A., Han, S., Hsu, L.-C., Tabas, I., and Tall, A.R. (2006). TNF α induces ABCA1 through NF- κ B in macrophages and in phagocytes ingesting apoptotic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *103*, 3112–3117.
- Gerhardt, J., Montani, M., Wild, P., Beer, M., Huber, F., Hermanns, T., Müntener, M., and Kristiansen, G. (2012). FOXA1 Promotes Tumor Progression in Prostate Cancer and Represents a Novel Hallmark of Castration-Resistant Prostate Cancer. *Am. J. Pathol.* *180*, 848–861.
- Ghisletti, S., Huang, W., Jepsen, K., Benner, C., Hardiman, G., Rosenfeld, M.G., and Glass, C.K. (2009). Cooperative NCoR/SMRT interactions establish a corepressor-based strategy for integration of inflammatory and anti-inflammatory signaling pathways. *Genes Dev.* *23*, 681–693.
- Giachelli, C.M., Lombardi, D., Johnson, R.J., Murry, C.E., and Almeida, M. (1998). Evidence for a role of osteopontin in macrophage infiltration in response to pathological stimuli in vivo. *Am. J. Pathol.* *152*, 353–358.
- Giannoni, E., Bianchini, F., Masieri, L., Serni, S., Torre, E., Calorini, L., and Chiarugi, P. (2010). Reciprocal Activation of Prostate Cancer Cells and Cancer-Associated Fibroblasts Stimulates Epithelial-Mesenchymal Transition and Cancer Stemness. *Cancer Res.* *70*, 6945–6956.
- Giunchi, F., Fiorentino, M., and Loda, M. (2019). The Metabolic Landscape of Prostate Cancer. *Eur. Urol. Oncol.* *2*, 28–36.
- Godfrey, D.I., MacDonald, H.R., Kronenberg, M., Smyth, M.J., and Kaer, L.V. (2004). NKT cells: what's in a name? *Nat. Rev. Immunol.* *4*, 231.
- Gollapudi, K., Galet, C., Grogan, T., Zhang, H., Said, J.W., Huang, J., Elashoff, D., Freedland, S.J., Rettig, M., and Aronson, W.J. (2013). Association between tumor-associated macrophage infiltration, high grade prostate cancer, and biochemical recurrence after radical prostatectomy. *Am. J. Cancer Res.* *3*, 523–529.
- Gong, H., Guo, P., Zhai, Y., Zhou, J., Uppal, H., Jarzynka, M.J., Song, W.-C., Cheng, S.-Y., and Xie, W. (2007). Estrogen Deprivation and Inhibition of Breast Cancer Growth in Vivo through Activation of the Orphan Nuclear Receptor Liver X Receptor. *Mol. Endocrinol.* *21*, 1781–1790.

- Gonnissen, A., Isebaert, S., and Haustermans, K. (2013). Hedgehog Signaling in Prostate Cancer and Its Therapeutic Implication. *Int. J. Mol. Sci.* *14*, 13979–14007.
- Goossens, P., Rodriguez-Vita, J., Etzerodt, A., Masse, M., Rastoin, O., Gouirand, V., Ulas, T., Papantonopoulou, O., Van Eck, M., Auphan-Anezin, N., et al. (2019). Membrane Cholesterol Efflux Drives Tumor-Associated Macrophage Reprogramming and Tumor Progression. *Cell Metab.*
- Gorlov, I.P., Byun, J., Gorlova, O.Y., Aparicio, A.M., Efstathiou, E., and Logothetis, C.J. (2009). Candidate pathways and genes for prostate cancer: a meta-analysis of gene expression data. *BMC Med. Genomics* *2*, 48.
- Graham, M.K., and Meeker, A. (2017). Telomeres and telomerase in prostate cancer development and therapy. *Nat. Rev. Urol.* *14*, 607–619.
- Grasso, C.S., Wu, Y.-M., Robinson, D.R., Cao, X., Dhanasekaran, S.M., Khan, A.P., Quist, M.J., Jing, X., Lonigro, R.J., Brenner, J.C., et al. (2012). The Mutational Landscape of Lethal Castrate Resistant Prostate Cancer. *Nature* *487*, 239–243.
- Gregory, C.W., He, B., Johnson, R.T., Ford, O.H., Mohler, J.L., French, F.S., and Wilson, E.M. (2001). A Mechanism for Androgen Receptor-mediated Prostate Cancer Recurrence after Androgen Deprivation Therapy. *Cancer Res.* *61*, 4315–4319.
- Grivennikov, S.I., and Karin, M. (2010). Dangerous liaisons: STAT3 and NF-kappaB collaboration and crosstalk in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.* *21*, 11–19.
- Grivennikov, S.I., Greten, F.R., and Karin, M. (2010). Immunity, Inflammation, and Cancer. *Cell* *140*, 883–899.
- Guilliams, M., Ginhoux, F., Jakubzick, C., Naik, S.H., Onai, N., Schraml, B.U., Segura, E., Tussiwand, R., and Yona, S. (2014). Dendritic cells, monocytes and macrophages: a unified nomenclature based on ontogeny. *Nat. Rev. Immunol.* *14*, 571–578.
- Gundem, G., Van Loo, P., Kremeyer, B., Alexandrov, L.B., Tubio, J.M.C., Papaemmanuil, E., Brewer, D.S., Kallio, H.M.L., Högnäs, G., Annala, M., et al. (2015). The evolutionary history of lethal metastatic prostate cancer. *Nature* *520*, 353–357.
- Gupta, A., Zhou, C.Q., and Chellaiiah, M.A. (2013). Osteopontin and MMP9: Associations with VEGF Expression/Secretion and Angiogenesis in PC3 Prostate Cancer Cells. *Cancers* *5*, 617–638.
- Gurel, B., Lucia, M.S., Thompson, I.M., Goodman, P.J., Tangen, C.M., Kristal, A.R., Parnes, H.L., Hoque, A., Lippman, S.M., Sutcliffe, S., et al. (2014). Chronic inflammation in benign prostate tissue is associated with high-grade prostate cancer in the placebo arm of the prostate cancer prevention trial. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol.* *23*, 847–856.
- Haenszel, W., and Kurihara, M. (1968). Studies of Japanese migrants. I. Mortality from cancer and other diseases among Japanese in the United States. *J. Natl. Cancer Inst.* *40*, 43–68.
- Halabi, S., Kelly, W.K., Ma, H., Zhou, H., Solomon, N.C., Fizazi, K., Tangen, C.M., Rosenthal, M., Petrylak, D.P., Hussain, M., et al. (2016). Meta-Analysis Evaluating the Impact of Site of Metastasis on Overall Survival in Men With Castration-Resistant Prostate Cancer. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* *34*, 1652–1659.
- Hamid, A.A., Gray, K.P., Huang, Y., Bowden, M., Pomerantz, M., Loda, M., and Sweeney, C.J. (2018). Loss of PTEN Expression Detected by Fluorescence Immunohistochemistry Predicts Lethal Prostate Cancer in Men Treated with Prostatectomy. *Eur. Urol. Oncol.*
- Hamid, A.R.A.H., Pfeiffer, M.J., Verhaegh, G.W., Schaafsma, E., Brandt, A., Sweep, F.C.G.J., Sedelaar, J.P.M., and Schalken, J.A. (2013). Aldo-keto reductase family 1 member C3 (AKR1C3) is a biomarker and therapeutic target for castration-resistant prostate cancer. *Mol. Med. Camb. Mass* *18*, 1449–1455.
- Han, W., Gao, S., Barrett, D., Ahmed, M., Han, D., Macoska, J.A., He, H.H., and Cai, C. (2017). Reactivation of androgen receptor-regulated lipid biosynthesis drives the progression of castration-resistant prostate cancer. *Oncogene.*
- Hanahan, D., and Weinberg, R.A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell* *100*, 57–70.
- Hanahan, D., and Weinberg, R.A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* *144*, 646–674.
- Hanna, F., Prakash, A., Allan, E., and Khalafallah, A.A. (2018). Successful treatment of concomitant metastatic prostate cancer and B-cell non-Hodgkin's lymphoma with R-EPOCH chemotherapy regimen and antiandrogen therapy. *Case Rep.* *2018*, bcr-2017-223637.
- Hara, T., Miyazaki, J., Araki, H., Yamaoka, M., Kanzaki, N., Kusaka, M., and Miyamoto, M. (2003). Novel mutations of androgen receptor: a possible mechanism of bicalutamide withdrawal syndrome. *Cancer Res.* *63*, 149–153.
- Hatzivassiliou, G., Zhao, F., Bauer, D.E., Andreadis, C., Shaw, A.N., Dhanak, D., Hingorani, S.R., Tuveson, D.A., and Thompson, C.B. (2005). ATP citrate lyase inhibition can suppress tumor cell growth. *Cancer Cell* *8*, 311–321.

- Haverkamp, J., Charbonneau, B., and Ratliff, T.L. (2008). Prostate inflammation and its potential impact on prostate cancer: A current review. *J. Cell. Biochem.* *103*, 1344–1353.
- Hayashi, T., Fujita, K., Nojima, S., Hayashi, Y., Nakano, K., Ishizuya, Y., Wang, C., Yamamoto, Y., Kinouchi, T., Matsuzaki, K., et al. (2018). High-fat Diet-induced Inflammation Accelerates Prostate Cancer Growth via IL6 Signaling. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.*
- Heaphy, C.M., Yoon, G.S., Peskoe, S.B., Joshu, C.E., Lee, T.K., Giovannucci, E., Mucci, L.A., Kenfield, S.A., Stampfer, M.J., Hicks, J.L., et al. (2013). Prostate Cancer Cell Telomere Length Variability and Stromal Cell Telomere Length as Prognostic Markers for Metastasis and Death. *Cancer Discov.* *3*, 1130–1141.
- Heemers, H., Maes, B., Fougelle, F., Heyns, W., Verhoeven, G., and Swinnen, J.V. (2001). Androgens stimulate lipogenic gene expression in prostate cancer cells by activation of the sterol regulatory element-binding protein cleavage activating protein/sterol regulatory element-binding protein pathway. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* *15*, 1817–1828.
- Heemers, H., Verrijdt, G., Organe, S., Claessens, F., Heyns, W., Verhoeven, G., and Swinnen, J.V. (2004). Identification of an androgen response element in intron 8 of the sterol regulatory element-binding protein cleavage-activating protein gene allowing direct regulation by the androgen receptor. *J. Biol. Chem.* *279*, 30880–30887.
- Heemers, H.V., Verhoeven, G., and Swinnen, J.V. (2006). Androgen Activation of the Sterol Regulatory Element-Binding Protein Pathway: Current Insights. *Mol. Endocrinol.* *20*, 2265–2277.
- Heine, G., Dahten, A., Hilt, K., Ernst, D., Milovanovic, M., Hartmann, B., and Worm, M. (2009). Liver X receptors control IgE expression in B cells. *J. Immunol. Baltim. Md* *1950* *182*, 5276–5282.
- Heinlein, C.A., and Chang, C. (2002). The Roles of Androgen Receptors and Androgen-Binding Proteins in Nongenomic Androgen Actions. *Mol. Endocrinol.* *16*, 2181–2187.
- Heinlein, C.A., and Chang, C. (2004). Androgen receptor in prostate cancer. *Endocr. Rev.* *25*, 276–308.
- Hemminki, K., and Chen, B. (2005). Familial association of prostate cancer with other cancers in the Swedish Family-Cancer Database. *The Prostate* *65*, 188–194.
- Henderson, D.J.P., Houslay, M.D., Bangma, C.H., and Hoffmann, R. (2019). Creating a potential diagnostic for prostate cancer risk stratification (InformMDx™) by translating novel scientific discoveries concerning cAMP degrading phosphodiesterase-4D7 (PDE4D7). *Clin. Sci. Lond. Engl.* *1979* *133*, 269–286.
- Herold, M., Breuer, J., Hucke, S., Knolle, P., Schwab, N., Wiendl, H., and Klotz, L. (2017). Liver X receptor activation promotes differentiation of regulatory T cells. *PloS One* *12*, e0184985.
- Hieronimus, H., Schultz, N., Gopalan, A., Carver, B.S., Chang, M.T., Xiao, Y., Heguy, A., Huberman, K., Bernstein, M., Assel, M., et al. (2014). Copy number alteration burden predicts prostate cancer relapse. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *111*, 11139–11144.
- Higano, C.S., Schellhammer, P.F., Small, E.J., Burch, P.A., Nemunaitis, J., Yuh, L., Provost, N., and Frohlich, M.W. (2009). Integrated data from 2 randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trials of active cellular immunotherapy with sipuleucel-T in advanced prostate cancer. *Cancer* *115*, 3670–3679.
- Hofman, M.S., Violet, J., Hicks, R.J., Ferdinandus, J., Thang, S.P., Akhurst, T., Iravani, A., Kong, G., Kumar, A.R., Murphy, D.G., et al. (2018). [177Lu]-PSMA-617 radionuclide treatment in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer (LuPSMA trial): a single-centre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol.* *19*, 825–833.
- Hong, C., Kidani, Y., A-Gonzalez, N., Phung, T., Ito, A., Rong, X., Ericson, K., Mikkola, H., Beaven, S.W., Miller, L.S., et al. (2012). Coordinate regulation of neutrophil homeostasis by liver X receptors in mice. *J. Clin. Invest.* *122*, 337–347.
- Hoon Lee, J., Gong, H., Khadem, S., Lu, Y., Gao, X., Li, S., Zhang, J., and Xie, W. (2008). Androgen Deprivation by Activating the Liver X Receptor. *Endocrinology* *149*, 3778–3788.
- Hopkins, B.D., Goncalves, M.D., and Cantley, L.C. (2016). Obesity and Cancer Mechanisms: Cancer Metabolism. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* *34*, 4277–4283.
- Horton, J.D., and Shimomura, I. (1999). Sterol regulatory element-binding proteins: activators of cholesterol and fatty acid biosynthesis. *Curr. Opin. Lipidol.* *10*, 143–150.
- Horton, J.D., Shimomura, I., Brown, M.S., Hammer, R.E., Goldstein, J.L., and Shimano, H. (1998). Activation of cholesterol synthesis in preference to fatty acid synthesis in liver and adipose tissue of transgenic mice overproducing sterol regulatory element-binding protein-2. *J. Clin. Invest.* *101*, 2331–2339.
- Hotamisligil, G.S. (2017). Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature* *542*, 177–185.

- Hrkach, J., Hoff, D.V., Ali, M.M., Andrianova, E., Auer, J., Campbell, T., Witt, D.D., Figa, M., Figueiredo, M., Horhota, A., et al. (2012). Preclinical Development and Clinical Translation of a PSMA-Targeted Docetaxel Nanoparticle with a Differentiated Pharmacological Profile. *Sci. Transl. Med.* *4*, 128ra39-128ra39.
- Hu, M.-B., Xu, H., Zhu, W.-H., Bai, P.-D., Hu, J.-M., Yang, T., Jiang, H.-W., and Ding, Q. (2018). High-fat diet-induced adipokine and cytokine alterations promote the progression of prostate cancer in vivo and in vitro. *Oncol. Lett.* *15*, 1607–1615.
- Hu, X., Li, S., Wu, J., Xia, C., and Lala, D.S. (2003). Liver X Receptors Interact with Corepressors to Regulate Gene Expression. *Mol. Endocrinol.* *17*, 1019–1026.
- Hua, X., Yokoyama, C., Wu, J., Briggs, M.R., Brown, M.S., Goldstein, J.L., and Wang, X. (1993). SREBP-2, a second basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that stimulates transcription by binding to a sterol regulatory element. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *90*, 11603–11607.
- Huang, R.Y.-J., Guilford, P., and Thiery, J.P. (2012a). Early events in cell adhesion and polarity during epithelial-mesenchymal transition. *J. Cell Sci.* *125*, 4417–4422.
- Huang, W.-C., Zhau, H.E., and Chung, L.W.K. (2010). Androgen receptor survival signaling is blocked by anti-beta2-microglobulin monoclonal antibody via a MAPK/lipogenic pathway in human prostate cancer cells. *J. Biol. Chem.* *285*, 7947–7956.
- Huang, W.-C., Li, X., Liu, J., Lin, J., and Chung, L.W.K. (2012b). Activation of androgen receptor, lipogenesis, and oxidative stress converged by SREBP-1 is responsible for regulating growth and progression of prostate cancer cells. *Mol. Cancer Res. MCR* *10*, 133–142.
- Huggins, C., and Hodges, C.V. (1941). Studies on Prostatic Cancer. I. The Effect of Castration, of Estrogen and of Androgen Injection on Serum Phosphatases in Metastatic Carcinoma of the Prostate. *Cancer Res.* *1*, 293–297.
- Humphrey, P.A., Moch, H., Cubilla, A.L., Ulbright, T.M., and Reuter, V.E. (2016). The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Bladder Tumours. *Eur. Urol.* *70*, 106–119.
- Hussain, M., Tangen, C.M., Berry, D.L., Higano, C.S., Crawford, E.D., Liu, G., Wilding, G., Prescott, S., Kanaga Sundaram, S., Small, E.J., et al. (2013). Intermittent versus Continuous Androgen Deprivation in Prostate Cancer. *N. Engl. J. Med.* *368*, 1314–1325.
- Hussain, S.P., Hofseth, L.J., and Harris, C.C. (2003). Radical causes of cancer. *Nat. Rev. Cancer* *3*, 276–285.
- INCa (2019). Les cancers en France en 2018 - L'essentiel des faits et chiffres (INCa).
- Ito, A., Hong, C., Rong, X., Zhu, X., Tarling, E.J., Hedde, P.N., Gratton, E., Parks, J., and Tontonoz, P. (2015). LXRs link metabolism to inflammation through Abca1-dependent regulation of membrane composition and TLR signaling. *ELife* *4*, e08009.
- James, N.D., Spears, M.R., Clarke, N.W., Dearnaley, D.P., De Bono, J.S., Gale, J., Hetherington, J., Hoskin, P.J., Jones, R.J., Laing, R., et al. (2015). Survival with Newly Diagnosed Metastatic Prostate Cancer in the “Docetaxel Era”: Data from 917 Patients in the Control Arm of the STAMPEDE Trial (MRC PR08, CRUK/06/019). *Eur. Urol.* *67*, 1028–1038.
- James, N.D., Sydes, M.R., Clarke, N.W., Mason, M.D., Dearnaley, D.P., Spears, M.R., Ritchie, A.W.S., Parker, C.C., Russell, J.M., Attard, G., et al. (2016). Addition of docetaxel, zoledronic acid, or both to first-line long-term hormone therapy in prostate cancer (STAMPEDE): survival results from an adaptive, multiarm, multistage, platform randomised controlled trial. *Lancet Lond. Engl.* *387*, 1163–1177.
- James, N.D., de Bono, J.S., Spears, M.R., Clarke, N.W., Mason, M.D., Dearnaley, D.P., Ritchie, A.W.S., Amos, C.L., Gilson, C., Jones, R.J., et al. (2017). Abiraterone for Prostate Cancer Not Previously Treated with Hormone Therapy.
- Janowski, B.A., Willy, P.J., Devi, T.R., Falck, J.R., and Mangelsdorf, D.J. (1996). An oxysterol signalling pathway mediated by the nuclear receptor LXR α . *Nature* *383*, 728–731.
- Jefferies, M.T., Cox, A.C., Shorning, B.Y., Meniel, V., Griffiths, D., Kynaston, H.G., Smalley, M.J., and Clarke, A.R. (2017). PTEN loss and activation of K-RAS and β -catenin cooperate to accelerate prostate tumorigenesis. *J. Pathol.* *243*, 442–456.
- Jenkins, M.K., Khoruts, A., Ingulli, E., Mueller, D.L., McSorley, S.J., Reinhardt, R.L., Itano, A., and Pape, K.A. (2001). In vivo activation of antigen-specific CD4 T cells. *Annu. Rev. Immunol.* *19*, 23–45.
- Jenkins, S.J., Ruckerl, D., Cook, P.C., Jones, L.H., Finkelman, F.D., van Rooijen, N., MacDonald, A.S., and Allen, J.E. (2011). Local macrophage proliferation, rather than recruitment from the blood, is a signature of TH2 inflammation. *Science* *332*, 1284–1288.

- Jin, R.J., Lho, Y., Connelly, L., Wang, Y., Yu, X., Jean, L.S., Case, T.C., Ellwood-Yen, K., Sawyers, C.L., Bhowmick, N.A., et al. (2008). The NF- κ B Pathway Controls Progression of Prostate Cancer to Androgen Independent Growth. *Cancer Res.* 68, 6762–6769.
- Johns, L.E., and Houlston, R.S. (2003). A systematic review and meta-analysis of familial prostate cancer risk. *BJU Int.* 91, 789–794.
- Joseph, I.B., Nelson, J.B., Denmeade, S.R., and Isaacs, J.T. (1997). Androgens regulate vascular endothelial growth factor content in normal and malignant prostatic tissue. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 3, 2507–2511.
- Joseph, S.B., Laffitte, B.A., Patel, P.H., Watson, M.A., Matsukuma, K.E., Walczak, R., Collins, J.L., Osborne, T.F., and Tontonoz, P. (2002). Direct and indirect mechanisms for regulation of fatty acid synthase gene expression by liver X receptors. *J. Biol. Chem.* 277, 11019–11025.
- Joseph, S.B., Castrillo, A., Laffitte, B.A., Mangelsdorf, D.J., and Tontonoz, P. (2003). Reciprocal regulation of inflammation and lipid metabolism by liver X receptors. *Nat. Med.* 9, 213–219.
- Kahles, F., Findeisen, H.M., and Bruemmer, D. (2014). Osteopontin: A novel regulator at the cross roads of inflammation, obesity and diabetes. *Mol. Metab.* 3, 384–393.
- Kale, S., Raja, R., Thorat, D., Soundararajan, G., Patil, T.V., and Kundu, G.C. (2014). Osteopontin signaling upregulates cyclooxygenase-2 expression in tumor-associated macrophages leading to enhanced angiogenesis and melanoma growth via α 9 β 1 integrin. *Oncogene* 33, 2295–2306.
- Kantoff, P.W., Higano, C.S., Shore, N.D., Berger, E.R., Small, E.J., Penson, D.F., Redfern, C.H., Ferrari, A.C., Dreicer, R., Sims, R.B., et al. (2010). Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* 363, 411–422.
- Karazanashvili, G. (2008). Editorial Comment on: The Relationship between Prostate Inflammation and Lower Urinary Tract Symptoms: Examination of Baseline Data from the REDUCE Trial. *Eur. Urol.* 54, 1383–1384.
- Kärjä, V., Aaltomaa, S., Lipponen, P., Isotalo, T., Talja, M., and Mokka, R. (2005). Tumour-infiltrating lymphocytes: A prognostic factor of PSA-free survival in patients with local prostate carcinoma treated by radical prostatectomy. *Anticancer Res.* 25, 4435–4438.
- Karnes, R.J., Bergstralh, E.J., Davicioni, E., Ghadessi, M., Buerki, C., Mitra, A.P., Crisan, A., Erho, N., Vergara, I.A., Lam, L.L., et al. (2013). Validation of a genomic classifier that predicts metastasis following radical prostatectomy in an at risk patient population. *J. Urol.* 190, 2047–2053.
- Kelly, R.S., Sinnott, J.A., Rider, J.R., Ebot, E.M., Gerke, T., Bowden, M., Pettersson, A., Loda, M., Sesso, H.D., Kantoff, P.W., et al. (2016). The role of tumor metabolism as a driver of prostate cancer progression and lethal disease: results from a nested case-control study. *Cancer Metab.* 4, 22.
- Kennedy, M.A., Venkateswaran, A., Tarr, P.T., Xenarios, I., Kudoh, J., Shimizu, N., and Edwards, P.A. (2001). Characterization of the human ABCG1 gene: liver X receptor activates an internal promoter that produces a novel transcript encoding an alternative form of the protein. *J. Biol. Chem.* 276, 39438–39447.
- Kessenbrock, K., Plaks, V., and Werb, Z. (2010). Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell* 141, 52–67.
- Keto, C.J., Aronson, W.J., Terris, M.K., Presti, J.C., Kane, C.J., Amling, C.L., and Freedland, S.J. (2012). Obesity is associated with castration-resistant disease and metastasis in men treated with androgen deprivation therapy after radical prostatectomy: results from the SEARCH database. *BJU Int.* 110, 492–498.
- Khandrika, L., Kumar, B., Koul, S., Maroni, P., and Koul, H.K. (2009). Oxidative stress in prostate cancer. *Cancer Lett.* 282, 125–136.
- Kheirandish, P., and Chingwundoh, F. (2011). Ethnic differences in prostate cancer. *Br. J. Cancer* 105, 481–485.
- Khera, A.V., and Rader, D.J. (2010). Future Therapeutic Directions in Reverse Cholesterol Transport. *Curr. Atheroscler. Rep.* 12, 73–81.
- Khodavirdi, A.C., Song, Z., Yang, S., Zhong, C., Wang, S., Wu, H., Pritchard, C., Nelson, P.S., and Roy-Burman, P. (2006). Increased Expression of Osteopontin Contributes to the Progression of Prostate Cancer. *Cancer Res.* 66, 883–888.
- Kiciński, M., Vangronsveld, J., and Nawrot, T.S. (2011). An epidemiological reappraisal of the familial aggregation of prostate cancer: a meta-analysis. *PloS One* 6, e27130.
- Kim, J., Adam, R.M., Solomon, K.R., and Freeman, M.R. (2004). Involvement of Cholesterol-Rich Lipid Rafts in Interleukin-6-Induced Neuroendocrine Differentiation of LNCaP Prostate Cancer Cells. *Endocrinology* 145, 613–619.

- Kim, M.J., Bhatia-Gaur, R., Banach-Petrosky, W.A., Desai, N., Wang, Y., Hayward, S.W., Cunha, G.R., Cardiff, R.D., Shen, M.M., and Abate-Shen, C. (2002). Nkx3.1 Mutant Mice Recapitulate Early Stages of Prostate Carcinogenesis. *Cancer Res.* *62*, 2999–3004.
- Kim, S.-J., Choi, H., Park, S.-S., Chang, C., and Kim, E. (2011). Stearoyl CoA desaturase (SCD) facilitates proliferation of prostate cancer cells through enhancement of androgen receptor transactivation. *Mol. Cells* *31*, 371–377.
- Kimura, T. (2012). East meets West: ethnic differences in prostate cancer epidemiology between East Asians and Caucasians. *Chin. J. Cancer* *31*, 421–429.
- King, J.C., Xu, J., Wongvipat, J., Hieronymus, H., Carver, B.S., Leung, D.H., Taylor, B.S., Sander, C., Cardiff, R.D., Couto, S.S., et al. (2009). Cooperativity of *TMPRSS2-ERG* with PI3-kinase pathway activation in prostate oncogenesis. *Nat. Genet.* *41*, 524–526.
- Kirchgesner, T.G., Sleph, P., Ostrowski, J., Lupisella, J., Ryan, C.S., Liu, X., Fernando, G., Grimm, D., Shipkova, P., Zhang, R., et al. (2016). Beneficial and Adverse Effects of an LXR Agonist on Human Lipid and Lipoprotein Metabolism and Circulating Neutrophils. *Cell Metab.* *24*, 223–233.
- Klein, E.A., Cooperberg, M.R., Magi-Galluzzi, C., Simko, J.P., Falzarano, S.M., Maddala, T., Chan, J.M., Li, J., Cowan, J.E., Tsatis, A.C., et al. (2014). A 17-gene assay to predict prostate cancer aggressiveness in the context of Gleason grade heterogeneity, tumor multifocality, and biopsy undersampling. *Eur. Urol.* *66*, 550–560.
- Klein, E.A., Haddad, Z., Yousefi, K., Lam, L.L.C., Wang, Q., Choeurng, V., Palmer-Aronsten, B., Buerki, C., Davicioni, E., Li, J., et al. (2016). Decipher Genomic Classifier Measured on Prostate Biopsy Predicts Metastasis Risk. *Urology* *90*, 148–152.
- Klezovitch, O., Risk, M., Coleman, I., Lucas, J.M., Null, M., True, L.D., Nelson, P.S., and Vasioukhin, V. (2008). A causal role for ERG in neoplastic transformation of prostate epithelium. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *105*, 2105–2110.
- Klotz, L., Boccon-Gibod, L., Shore, N.D., Andreou, C., Persson, B.-E., Cantor, P., Jensen, J.-K., Olesen, T.K., and Schröder, F.H. (2008). The efficacy and safety of degarelix: a 12-month, comparative, randomized, open-label, parallel-group phase III study in patients with prostate cancer. *BJU Int.* *102*, 1531–1538.
- Kobayashi, A., Okuda, H., Xing, F., Pandey, P.R., Watabe, M., Hirota, S., Pai, S.K., Liu, W., Fukuda, K., Chambers, C., et al. (2011). Bone morphogenetic protein 7 in dormancy and metastasis of prostate cancer stem-like cells in bone. *J. Exp. Med.* *208*, 2641–2655.
- Kolaczowska, E., and Kubes, P. (2013). Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* *13*, 159–175.
- Kolonel, L.N., Altshuler, D., and Henderson, B.E. (2004). The multiethnic cohort study: exploring genes, lifestyle and cancer risk. *Nat. Rev. Cancer* *4*, 519–527.
- Komiya, A., Yasuda, K., Watanabe, A., Fujiuchi, Y., Tsuzuki, T., and Fuse, H. (2013). The prognostic significance of loss of the androgen receptor and neuroendocrine differentiation in prostate biopsy specimens among castration-resistant prostate cancer patients. *Mol. Clin. Oncol.* *1*, 257–262.
- Korpai, M., Korn, J.M., Gao, X., Rakiec, D.P., Ruddy, D.A., Doshi, S., Yuan, J., Kovats, S.G., Kim, S., Cooke, V.G., et al. (2013). An F876L Mutation in Androgen Receptor Confers Genetic and Phenotypic Resistance to MDV3100 (Enzalutamide). *Cancer Discov.* *3*, 1030–1043.
- Kronz, J.D., Allan, C.H., Shaikh, A.A., and Epstein, J.I. (2001). Predicting cancer following a diagnosis of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia on needle biopsy: data on men with more than one follow-up biopsy. *Am. J. Surg. Pathol.* *25*, 1079–1085.
- Krycer, J.R., and Brown, A.J. (2011). Cross-talk between the androgen receptor and the liver X receptor: implications for cholesterol homeostasis. *J. Biol. Chem.* *286*, 20637–20647.
- Krycer, J.R., and Brown, A.J. (2013a). Cholesterol accumulation in prostate cancer: A classic observation from a modern perspective. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Rev. Cancer* *1835*, 219–229.
- Krycer, J.R., and Brown, A.J. (2013b). Does changing androgen receptor status during prostate cancer development impact upon cholesterol homeostasis? *PLoS One* *8*, e54007.
- Krycer, J.R., Sharpe, L.J., Luu, W., and Brown, A.J. (2010). The Akt–SREBP nexus: cell signaling meets lipid metabolism. *Trends Endocrinol. Metab.* *21*, 268–276.
- Ku, S.Y., Rosario, S., Wang, Y., Mu, P., Seshadri, M., Goodrich, Z.W., Goodrich, M.M., Labbé, D.P., Gomez, E.C., Wang, J., et al. (2017). Rb1 and Trp53 cooperate to suppress prostate cancer lineage plasticity, metastasis, and antiandrogen resistance. *Science* *355*, 78–83.
- Kuemmerle, N.B., Rysman, E., Lombardo, P.S., Flanagan, A.J., Lipe, B.C., Wells, W.A., Pettus, J.R., Froehlich, H.M., Memoli, V.A., Morganelli, P.M., et al. (2011). Lipoprotein lipase links dietary fat to solid tumor cell proliferation. *Mol. Cancer Ther.* *10*, 427–436.

- Kulac, I., Gumuskaya, B., Drake, C.G., Gonzalez, B., Arnold, K.B., Goodman, P.J., Kristal, A.R., Lucia, M.S., Thompson, I.M., Isaacs, W.B., et al. (2016). Peripheral Zone Inflammation Is Not Strongly Associated With Lower Urinary Tract Symptom Incidence and Progression in the Placebo Arm of the Prostate Cancer Prevention Trial. *The Prostate* 76, 1399–1408.
- Kumar, A., Coleman, I., Morrissey, C., Zhang, X., True, L.D., Gulati, R., Etzioni, R., Bolouri, H., Montgomery, B., White, T., et al. (2016). Substantial interindividual and limited intraindividual genomic diversity among tumors from men with metastatic prostate cancer. *Nat. Med.* 22, 369–378.
- Kuraishy, A., Karin, M., and Grivennikov, S.I. (2011). Tumor Promotion via Injury- and Death-induced Inflammation. *Immunity* 35, 467–477.
- van der Kwast, T.H., Schalken, J., Ruizeveld de Winter, J.A., van Vroonhoven, C.C., Mulder, E., Boersma, W., and Trapman, J. (1991). Androgen receptors in endocrine-therapy-resistant human prostate cancer. *Int. J. Cancer* 48, 189–193.
- Kwon, O.-J., Zhang, L., Wang, J., Su, Q., Feng, Q., Zhang, X.H.F., Mani, S.A., Paulter, R., Creighton, C.J., Ittmann, M.M., et al. (2016a). Notch promotes tumor metastasis in a prostate-specific Pten-null mouse model. *J. Clin. Invest.* 126, 2626–2641.
- Kwon, O.-J., Zhang, B., Zhang, L., and Xin, L. (2016b). High fat diet promotes prostatic basal-to-luminal differentiation and accelerates initiation of prostate epithelial hyperplasia originated from basal cells. *Stem Cell Res.* 16, 682–691.
- Labrie, F. (2004). Adrenal androgens and intracrinology. *Semin. Reprod. Med.* 22, 299–309.
- Laffitte, B.A., Chao, L.C., Li, J., Walczak, R., Hummasti, S., Joseph, S.B., Castrillo, A., Wilpitz, D.C., Mangelsdorf, D.J., Collins, J.L., et al. (2003). Activation of liver X receptor improves glucose tolerance through coordinate regulation of glucose metabolism in liver and adipose tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100, 5419–5424.
- Lambert, A.W., Pattabiraman, D.R., and Weinberg, R.A. (2017). Emerging Biological Principles of Metastasis. *Cell* 168, 670–691.
- Lamouille, S., Xu, J., and Derynck, R. (2014). Molecular mechanisms of epithelial–mesenchymal transition. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 15, 178–196.
- Lanciotti, M., Masieri, L., Raspollini, M.R., Minervini, A., Mari, A., Comito, G., Giannoni, E., Carini, M., Chiarugi, P., and Serni, S. (2014). The Role of M1 and M2 Macrophages in Prostate Cancer in relation to Extracapsular Tumor Extension and Biochemical Recurrence after Radical Prostatectomy. *BioMed Res. Int.* 2014.
- Latil, A., Vidaud, D., Valéri, A., Fournier, G., Vidaud, M., Lidereau, R., Cussenot, O., and Bièche, I. (2000). hert expression correlates with MYC over-expression in human prostate cancer. *Int. J. Cancer* 89, 172–176.
- Laurent, V., Guérard, A., Mazerolles, C., Le Gonidec, S., Toulet, A., Nieto, L., Zaidi, F., Majed, B., Garandeau, D., Socrier, Y., et al. (2016). Periprostatic adipocytes act as a driving force for prostate cancer progression in obesity. *Nat. Commun.* 7, 10230.
- Lawrence, T., and Natoli, G. (2011). Transcriptional regulation of macrophage polarization: enabling diversity with identity. *Nat. Rev. Immunol.* 11, 750–761.
- Lawrence, M.S., Stojanov, P., Polak, P., Kryukov, G.V., Cibulskis, K., Sivachenko, A., Carter, S.L., Stewart, C., Mermel, C.H., Roberts, S.A., et al. (2013). Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. *Nature* 499, 214–218.
- LeBien, T.W., and Tedder, T.F. (2008). B lymphocytes: how they develop and function. *Blood* 112, 1570–1580.
- Leclerc, B.G., Charlebois, R., Chouinard, G., Allard, B., Pommey, S., Saad, F., and Stagg, J. (2016). CD73 Expression Is an Independent Prognostic Factor in Prostate Cancer. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 22, 158–166.
- Lee, B.H., Taylor, M.G., Robinet, P., Smith, J.D., Schweitzer, J., Sehayek, E., Falzarano, S.M., Magi-Galluzzi, C., Klein, E.A., and Ting, A.H. (2013). Dysregulation of Cholesterol Homeostasis in Human Prostate Cancer through Loss of ABCA1. *Cancer Res.* 73, 1211–1218.
- Lee, H., Herrmann, A., Deng, J.-H., Kujawski, M., Niu, G., Li, Z., Forman, S., Jove, R., Pardoll, D.M., and Yu, H. (2009). Persistently Activated Stat3 Maintains Constitutive NF- κ B Activity in Tumors. *Cancer Cell* 15, 283–293.
- van Leenders, G.J.L.H., Dukers, D., Hessels, D., van den Kieboom, S.W.M., Hulsbergen, C.A., Witjes, J.A., Otte, A.P., Meijer, C.J., and Raaphorst, F.M. (2007). Polycomb-Group Oncogenes EZH2, BMI1, and RING1 Are Overexpressed in Prostate Cancer With Adverse Pathologic and Clinical Features. *Eur. Urol.* 52, 455–463.
- Lehmann, J.M., Kliewer, S.A., Moore, L.B., Smith-Oliver, T.A., Oliver, B.B., Su, J.L., Sundseth, S.S., Winegar, D.A., Blanchard, D.E., Spencer, T.A., et al. (1997). Activation of the nuclear receptor LXR by oxysterols defines a new hormone response pathway. *J. Biol. Chem.* 272, 3137–3140.

- Leon, C.G., Locke, J.A., Adomat, H.H., Ettinger, S.L., Twiddy, A.L., Neumann, R.D., Nelson, C.C., Guns, E.S., and Wasan, K.M. (2010). Alterations in cholesterol regulation contribute to the production of intratumoral androgens during progression to castration-resistant prostate cancer in a mouse xenograft model. *The Prostate* *70*, 390–400.
- Leongamornlert, D., Saunders, E., Dadaev, T., Tymrakiewicz, M., Goh, C., Jugurnauth-Little, S., Kozarewa, I., Fenwick, K., Assiotis, I., Barrowdale, D., et al. (2014). Frequent germline deleterious mutations in DNA repair genes in familial prostate cancer cases are associated with advanced disease. *Br. J. Cancer* *110*, 1663–1672.
- Li, J., Yen, C., Liaw, D., Podsypanina, K., Bose, S., Wang, S.I., Puc, J., Miliareis, C., Rodgers, L., McCombie, R., et al. (1997). PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science* *275*, 1943–1947.
- Li, J., Ren, S., Piao, H., Wang, F., Yin, P., Xu, C., Lu, X., Ye, G., Shao, Y., Yan, M., et al. (2016). Integration of lipidomics and transcriptomics unravels aberrant lipid metabolism and defines cholesteryl oleate as potential biomarker of prostate cancer. *Sci. Rep.* *6*, 20984.
- Li, X., Zhang, S., Blander, G., Tse, J.G., Krieger, M., and Guarente, L. (2007). SIRT1 deacetylates and positively regulates the nuclear receptor LXR. *Mol. Cell* *28*, 91–106.
- Li, X., Chen, Y.-T., Hu, P., and Huang, W.-C. (2014). Fatostatin displays high antitumor activity in prostate cancer by blocking SREBP-regulated metabolic pathways and androgen receptor signaling. *Mol. Cancer Ther.* *13*, 855–866.
- Li, Y.C., Park, M.J., Ye, S.-K., Kim, C.-W., and Kim, Y.-N. (2006). Elevated Levels of Cholesterol-Rich Lipid Rafts in Cancer Cells Are Correlated with Apoptosis Sensitivity Induced by Cholesterol-Depleting Agents. *Am. J. Pathol.* *168*, 1107–1118.
- Lin, W.-W., and Karin, M. (2007). A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J. Clin. Invest.* *117*, 1175–1183.
- Lin, H.-K., Chen, Z., Wang, G., Nardella, C., Lee, S.-W., Chan, C.-H., Yang, W.-L., Wang, J., Egia, A., Nakayama, K.I., et al. (2010). *Skp2* targeting suppresses tumorigenesis by *Arf-p53*-independent cellular senescence. *Nature* *464*, 374–379.
- Lissbrant, I.F., Stattin, P., Wikstrom, P., Damber, J.E., Egevad, L., and Bergh, A. (2000). Tumor associated macrophages in human prostate cancer: relation to clinicopathological variables and survival. *Int. J. Oncol.* *17*, 445–451.
- Liu, C., Lou, W., Zhu, Y., Yang, J.C., Nadiminty, N., Gaikwad, N.W., Evans, C.P., and Gao, A.C. (2015). Intracrine Androgens and AKR1C3 Activation Confer Resistance to Enzalutamide in Prostate Cancer. *Cancer Res.*
- Liu, Y., Zuckier, L.S., and Ghesani, N.V. (2010). Dominant Uptake of Fatty Acid over Glucose by Prostate Cells: A Potential New Diagnostic and Therapeutic Approach. *Anticancer Res.* *30*, 369–374.
- Llaverias, G., Danilo, C., Wang, Y., Witkiewicz, A.K., Daumer, K., Lisanti, M.P., and Frank, P.G. (2010). A Western-Type Diet Accelerates Tumor Progression in an Autochthonous Mouse Model of Prostate Cancer. *Am. J. Pathol.* *177*, 3180–3191.
- Llorente, A., Skotland, T., Sylvänne, T., Kauhanen, D., Róg, T., Orłowski, A., Vattulainen, I., Ekroos, K., and Sandvig, K. (2013). Molecular lipidomics of exosomes released by PC-3 prostate cancer cells. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* *1831*, 1302–1309.
- Lloyd, T., Hounsome, L., Mehay, A., Mee, S., Verne, J., and Cooper, A. (2015). Lifetime risk of being diagnosed with, or dying from, prostate cancer by major ethnic group in England 2008–2010. *BMC Med.* *13*, 171.
- Lo Sasso, G., Bovenga, F., Murzilli, S., Salvatore, L., Di Tullio, G., Martelli, N., D’Orazio, A., Rainaldi, S., Vacca, M., Mangia, A., et al. (2013). Liver X Receptors Inhibit Proliferation of Human Colorectal Cancer Cells and Growth of Intestinal Tumors in Mice. *Gastroenterology* *144*, 1497–1507.e13.
- Locke, J.A., Guns, E.S., Lubik, A.A., Adomat, H.H., Hendy, S.C., Wood, C.A., Ettinger, S.L., Gleave, M.E., and Nelson, C.C. (2008). Androgen Levels Increase by Intratumoral De novo Steroidogenesis during Progression of Castration-Resistant Prostate Cancer. *Cancer Res.* *68*, 6407–6415.
- London, C.A., Sekhon, H.S., Arora, V., Stein, D.A., Iversen, P.L., and Devi, G.R. (2003). A novel antisense inhibitor of MMP-9 attenuates angiogenesis, human prostate cancer cell invasion and tumorigenicity. *Cancer Gene Ther.* *10*, 823–832.
- Luckheeram, R.V., Zhou, R., Verma, A.D., and Xia, B. (2012). CD4+T Cells: Differentiation and Functions. *Clin. Dev. Immunol.* *2012*.
- Luo, Y., and Tall, A.R. (2000). Sterol upregulation of human CETP expression in vitro and in transgenic mice by an LXR element. *J. Clin. Invest.* *105*, 513–520.

- Maddison, L.A., Sutherland, B.W., Barrios, R.J., and Greenberg, N.M. (2004). Conditional Deletion of Rb Causes Early Stage Prostate Cancer. *Cancer Res.* *64*, 6018–6025.
- Majumder, P.K., Grisanzio, C., O’Connell, F., Barry, M., Brito, J.M., Xu, Q., Guney, I., Berger, R., Herman, P., Bikoff, R., et al. (2008). A Prostatic Intraepithelial Neoplasia-Dependent p27Kip1 Checkpoint Induces Senescence and Inhibits Cell Proliferation and Cancer Progression. *Cancer Cell* *14*, 146–155.
- Mani, R.S., Amin, M.A., Li, X., Kalyana-Sundaram, S., Veeneman, B.A., Wang, L., Ghosh, A., Aslam, A., Ramanand, S.G., Rabquer, B.J., et al. (2016). Inflammation-Induced Oxidative Stress Mediates Gene Fusion Formation in Prostate Cancer. *Cell Rep.* *17*, 2620–2631.
- Mantovani, A., Allavena, P., Sica, A., and Balkwill, F. (2008). Cancer-related inflammation. *Nature* *454*, 436–444.
- Markowski, M.C., Bowen, C., and Gelmann, E.P. (2008). Inflammatory Cytokines Induce Phosphorylation and Ubiquitination of Prostate Suppressor Protein NKX3.1. *Cancer Res.* *68*, 6896–6901.
- Massie, C.E., Lynch, A., Ramos-Montoya, A., Boren, J., Stark, R., Fazli, L., Warren, A., Scott, H., Madhu, B., Sharma, N., et al. (2011). The androgen receptor fuels prostate cancer by regulating central metabolism and biosynthesis. *EMBO J.* *30*, 2719–2733.
- McKee, M.D., and Nanci, A. (1996). Secretion of osteopontin by macrophages and its accumulation at tissue surfaces during wound healing in mineralized tissues: A potential requirement for macrophage adhesion and phagocytosis. *Anat. Rec.* *245*, 394–409.
- McKiernan, J., Donovan, M.J., O’Neill, V., Bentink, S., Noerholm, M., Belzer, S., Skog, J., Kattan, M.W., Partin, A., Andriole, G., et al. (2016). A Novel Urine Exosome Gene Expression Assay to Predict High-grade Prostate Cancer at Initial Biopsy. *JAMA Oncol.* *2*, 882–889.
- McNair, C., Xu, K., Mandigo, A.C., Benelli, M., Leiby, B., Rodrigues, D., Lindberg, J., Gronberg, H., Crespo, M., Laere, B.D., et al. (2018). Differential impact of RB status on E2F1 reprogramming in human cancer. *J. Clin. Invest.* *128*, 341–358.
- McNeel, D.G., Smith, H.A., Eickhoff, J.C., Lang, J.M., Staab, M.J., Wilding, G., and Liu, G. (2012). Phase I trial of tremelimumab in combination with short-term androgen deprivation in patients with PSA-recurrent prostate cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* *61*, 1137–1147.
- McNelis, J.C., and Olefsky, J.M. (2014). Macrophages, Immunity, and Metabolic Disease. *Immunity* *41*, 36–48.
- Meeker, A.K., Hicks, J.L., Platz, E.A., March, G.E., Bennett, C.J., Delannoy, M.J., and Marzo, A.M.D. (2002). Telomere Shortening Is an Early Somatic DNA Alteration in Human Prostate Tumorigenesis. *Cancer Res.* *62*, 6405–6409.
- Mehrotra, J., Varde, S., Wang, H., Chiu, H., Vargo, J., Gray, K., Nagle, R.B., Neri, J.R., and Mazumder, A. (2008). Quantitative, spatial resolution of the epigenetic field effect in prostate cancer. *The Prostate* *68*, 152–160.
- Mehta, P.B., Jenkins, B.L., McCarthy, L., Thilak, L., Robson, C.N., Neal, D.E., and Leung, H.Y. (2003). MEK5 overexpression is associated with metastatic prostate cancer, and stimulates proliferation, MMP-9 expression and invasion. *Oncogene* *22*, 1381–1389.
- Mellinghoff, I.K., Vivanco, I., Kwon, A., Tran, C., Wongvipat, J., and Sawyers, C.L. (2004). HER2/neu kinase-dependent modulation of androgen receptor function through effects on DNA binding and stability. *Cancer Cell* *6*, 517–527.
- Menendez, J.A., and Lupu, R. (2007). Fatty acid synthase and the lipogenic phenotype in cancer pathogenesis. *Nat. Rev. Cancer* *7*, 763–777.
- Mercader, M., Bodner, B.K., Moser, M.T., Kwon, P.S., Park, E.S.Y., Manecke, R.G., Ellis, T.M., Wojcik, E.M., Yang, D., Flanigan, R.C., et al. (2001). T cell infiltration of the prostate induced by androgen withdrawal in patients with prostate cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *98*, 14565–14570.
- de Miguel, F., Lee, S.O., Onate, S.A., and Gao, A.C. (2003). Stat3 enhances transactivation of steroid hormone receptors. *Nucl. Recept.* *1*, 3.
- Miserez, A.R., Cao, G., Probst, L.C., and Hobbs, H.H. (1997). Structure of the human gene encoding sterol regulatory element binding protein 2 (SREBF2). *Genomics* *40*, 31–40.
- Mitchell, T., and Neal, D.E. (2015). The genomic evolution of human prostate cancer. *Br. J. Cancer* *113*, 193–198.
- Mitra, R., Chao, O., Urasaki, Y., Goodman, O.B., and Le, T.T. (2012). Detection of Lipid-Rich Prostate Circulating Tumour Cells with Coherent Anti-Stokes Raman Scattering Microscopy. *BMC Cancer* *12*, 540.
- Mitsiades, N., Sung, C.C., Schultz, N., Danila, D.C., He, B., Eedunuri, V.K., Fleisher, M., Sander, C., Sawyers, C.L., and Scher, H.I. (2012). Distinct patterns of dysregulated expression of enzymes involved in androgen synthesis and metabolism in metastatic prostate cancer tumors. *Cancer Res.* *72*, 6142–6152.

- Miyamoto, H., Yeh, S., Wilding, G., and Chang, C. (1998). Promotion of agonist activity of antiandrogens by the androgen receptor coactivator, ARA70, in human prostate cancer DU145 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *95*, 7379–7384.
- Mizokami, A., Koh, E., Fujita, H., Maeda, Y., Egawa, M., Koshida, K., Honma, S., Keller, E.T., and Namiki, M. (2004). The adrenal androgen androstenediol is present in prostate cancer tissue after androgen deprivation therapy and activates mutated androgen receptor. *Cancer Res.* *64*, 765–771.
- Mohler, J.L., Titus, M.A., Bai, S., Kennerley, B.J., Lih, F.B., Tomer, K.B., and Wilson, E.M. (2011). Activation of the androgen receptor by intratumoral bioconversion of androstenediol to dihydrotestosterone in prostate cancer. *Cancer Res.* *71*, 1486–1496.
- Molinié, V., Vieillefond, A., and Michiels, J.-F. (2008). Évaluation des marqueurs p63 et p504s dans le diagnostic du cancer de prostate. *Ann. Pathol.* *28*, 417–423.
- Montanari, M., Rossetti, S., Cavaliere, C., D’Aniello, C., Malzone, M.G., Vanacore, D., Franco, R.D., Mantia, E.L., Iovane, G., Piscitelli, R., et al. (2017). Epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer: an overview. *Oncotarget* *8*, 35376–35389.
- Montgomery, R.B., Mostaghel, E.A., Vessella, R., Hess, D.L., Kalthorn, T.F., Higano, C.S., True, L.D., and Nelson, P.S. (2008). Maintenance of intratumoral androgens in metastatic prostate cancer: a mechanism for castration-resistant tumor growth. *Cancer Res.* *68*, 4447–4454.
- Mosquera, J.-M., Perner, S., Genega, E.M., Sanda, M., Hofer, M.D., Mertz, K.D., Paris, P.L., Simko, J., Bismar, T.A., Ayala, G., et al. (2008). Characterization of TMPRSS2-ERG fusion high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and potential clinical implications. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* *14*, 3380–3385.
- Mostaghel, E.A. (2013). Steroid hormone synthetic pathways in prostate cancer. *Transl. Androl. Urol.* *2*, 212–227–227.
- Mostaghel, E.A., Page, S.T., Lin, D.W., Fazli, L., Coleman, I.M., True, L.D., Knudsen, B., Hess, D.L., Nelson, C.C., Matsumoto, A.M., et al. (2007). Intraprostatic Androgens and Androgen-Regulated Gene Expression Persist after Testosterone Suppression: Therapeutic Implications for Castration-Resistant Prostate Cancer. *Cancer Res.* *67*, 5033–5041.
- Mostaghel, E.A., Solomon, K.R., Pelton, K., Freeman, M.R., and Montgomery, R.B. (2012). Impact of Circulating Cholesterol Levels on Growth and Intratumoral Androgen Concentration of Prostate Tumors. *PLOS ONE* *7*, e30062.
- Mottet, N., Bellmunt, J., Bolla, M., Briers, E., Cumberbatch, M.G., Santis, M.D., Fossati, N., Gross, T., Henry, A.M., Joniau, S., et al. (2017). EAU-ESTRO-SIOG Guidelines on Prostate Cancer. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent. *Eur. Urol.* *71*, 618–629.
- Mu, P., Zhang, Z., Benelli, M., Karthaus, W.R., Hoover, E., Chen, C.-C., Wongvipat, J., Ku, S.-Y., Gao, D., Cao, Z., et al. (2017). SOX2 promotes lineage plasticity and antiandrogen resistance in TP53- and RB1-deficient prostate cancer. *Science* *355*, 84–88.
- Mulholland, D.J., Tran, L.M., Li, Y., Cai, H., Morim, A., Wang, S., Plaisier, S., Garraway, I.P., Huang, J., Graeber, T.G., et al. (2011). Cell Autonomous Role of PTEN in Regulating Castration-Resistant Prostate Cancer Growth. *Cancer Cell* *19*, 792–804.
- Mulholland, D.J., Kobayashi, N., Ruscetti, M., Zhi, A., Tran, L.M., Huang, J., Gleave, M., and Wu, H. (2012). Pten Loss and RAS/MAPK Activation Cooperate to Promote EMT and Metastasis Initiated from Prostate Cancer Stem/Progenitor Cells. *Cancer Res.* *72*, 1878–1889.
- Müller, C., Umbricht, C.A., Gracheva, N., Tschan, V.J., Pellegrini, G., Bernhardt, P., Zeevaart, J.R., Köster, U., Schibli, R., and van der Meulen, N.P. (2019). Terbium-161 for PSMA-targeted radionuclide therapy of prostate cancer. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* *46*, 1919–1930.
- Murillo-Garzón, V., and Kypta, R. (2017). WNT signalling in prostate cancer. *Nat. Rev. Urol.* *14*, 683–696.
- Murtola, T.J., Syvälä, H., Pennanen, P., Bläuer, M., Solakivi, T., Ylikomi, T., and Tammela, T.L.J. (2012). The importance of LDL and cholesterol metabolism for prostate epithelial cell growth. *PloS One* *7*, e39445.
- Mutemberezi, V., Guillemot-Legrès, O., and Muccioli, G.G. (2016). Oxysterols: From cholesterol metabolites to key mediators. *Prog. Lipid Res.* *64*, 152–169.
- Myers, R.B., Oelschlager, D.K., Weiss, H.L., Frost, A.R., and Grizzle, W.E. (2001). Fatty acid synthase: an early molecular marker of progression of prostatic adenocarcinoma to androgen independence. *J. Urol.* *165*, 1027–1032.
- Myhre, A.E., Agren, J., Dahle, M.K., Tamburstuen, M.V., Lyngstadaas, S.P., Collins, A.J.L., Foster, S.J., Thiemermann, C., Aasen, A.O., and Wang, J.E. (2008). Liver X receptor is a key regulator of cytokine release in human monocytes. *Shock August* *29*, 468–474.

- Narita, S., Nara, T., Sato, H., Koizumi, A., Huang, M., Inoue, T., and Habuchi, T. (2019). Research Evidence on High-Fat Diet-Induced Prostate Cancer Development and Progression. *J. Clin. Med.* *8*.
- Ness, N., Andersen, S., Valkov, A., Nordby, Y., Donnem, T., Al-Saad, S., Busund, L.-T., Bremnes, R.M., and Richardsen, E. (2014). Infiltration of CD8+ lymphocytes is an independent prognostic factor of biochemical failure-free survival in prostate cancer. *The Prostate* *74*, 1452–1461.
- Newman, A.M., Liu, C.L., Green, M.R., Gentles, A.J., Feng, W., Xu, Y., Hoang, C.D., Diehn, M., and Alizadeh, A.A. (2015). Robust enumeration of cell subsets from tissue expression profiles. *Nat. Methods* *12*, 453–457.
- Nguyen, D.P., Li, J., Yadav, S.S., and Tewari, A.K. (2014). Recent insights into NF- κ B signalling pathways and the link between inflammation and prostate cancer. *BJU Int.* *114*, 168–176.
- Nguyen, P.L., Alibhai, S.M.H., Basaria, S., D'Amico, A.V., Kantoff, P.W., Keating, N.L., Penson, D.F., Rosario, D.J., Tombal, B., and Smith, M.R. (2015). Adverse Effects of Androgen Deprivation Therapy and Strategies to Mitigate Them. *Eur. Urol.* *67*, 825–836.
- Nickel, J., Wein, A., Kavoussi, L., Novick, A., Partin, A., and Peters, C. (2007). *Campbell-Walsh urology*.
- Nickel, J.C., Roehrborn, C.G., O'Leary, M.P., Bostwick, D.G., Somerville, M.C., and Rittmaster, R.S. (2008). The relationship between prostate inflammation and lower urinary tract symptoms: examination of baseline data from the REDUCE trial. *Eur. Urol.* *54*, 1379–1384.
- Nieman, K.M., Romero, I.L., Van Houten, B., and Lengyel, E. (2013). Adipose tissue and adipocytes supports tumorigenesis and metastasis. *Biochim. Biophys. Acta* *1831*, 1533–1541.
- Nishiyama, T. (2014). Serum testosterone levels after medical or surgical androgen deprivation: a comprehensive review of the literature. *Urol. Oncol.* *32*, 38.e17-28.
- Nishiyama, T., Hashimoto, Y., and Takahashi, K. (2004). The influence of androgen deprivation therapy on dihydrotestosterone levels in the prostatic tissue of patients with prostate cancer. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* *10*, 7121–7126.
- Nisticò, P., Bissell, M.J., and Radisky, D.C. (2012). Epithelial-mesenchymal transition: general principles and pathological relevance with special emphasis on the role of matrix metalloproteinases. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* *4*.
- Nonomura, N., Takayama, H., Nakayama, M., Nakai, Y., Kawashima, A., Mukai, M., Nagahara, A., Aozasa, K., and Tsujimura, A. (2011). Infiltration of tumour-associated macrophages in prostate biopsy specimens is predictive of disease progression after hormonal therapy for prostate cancer. *BJU Int.* *107*, 1918–1922.
- Noushmehr, H., Weisenberger, D.J., Diefes, K., Phillips, H.S., Pujara, K., Berman, B.P., Pan, F., Pelloski, C.E., Sulman, E.P., Bhat, K.P., et al. (2010). Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma. *Cancer Cell* *17*, 510–522.
- Ogawa, D., Stone, J.F., Takata, Y., Blaschke, F., Chu, V.H., Towler, D.A., Law, R.E., Hsueh, W.A., and Bruemmer, D. (2005). Liver X Receptor Agonists Inhibit Cytokine-Induced Osteopontin Expression in Macrophages Through Interference With Activator Protein-1 Signaling Pathways. *Circ. Res.* *96*, e59–e67.
- Ogden, C.L., Carroll, M.D., Kit, B.K., and Flegal, K.M. (2014). Prevalence of Childhood and Adult Obesity in the United States, 2011–2012. *JAMA* *311*, 806–814.
- Oh, H.Y., Lee, E.J., Yoon, S., Chung, B.H., Cho, K.S., and Hong, S.J. (2007). Cholesterol level of lipid raft microdomains regulates apoptotic cell death in prostate cancer cells through EGFR-mediated Akt and ERK signal transduction. *The Prostate* *67*, 1061–1069.
- Osman, I., Scher, H.I., Drobnjak, M., Verbel, D., Morris, M., Agus, D., Ross, J.S., and Cordon-Cardo, C. (2001). HER-2/neu (p185neu) Protein Expression in the Natural or Treated History of Prostate Cancer. *Clin. Cancer Res.* *7*, 2643–2647.
- Otaegui-Arrazola, A., Menéndez-Carreño, M., Ansorena, D., and Astiasarán, I. (2010). Oxysterols: A world to explore. *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* *48*, 3289–3303.
- Page, S.T., Lin, D.W., Mostaghel, E.A., Hess, D.L., True, L.D., Amory, J.K., Nelson, P.S., Matsumoto, A.M., and Bremner, W.J. (2006). Persistent intraprostatic androgen concentrations after medical castration in healthy men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *91*, 3850–3856.
- Pagès, F., Galon, J., Dieu-Nosjean, M.-C., Tartour, E., Sautès-Fridman, C., and Fridman, W.-H. (2010). Immune infiltration in human tumors: a prognostic factor that should not be ignored. *Oncogene* *29*, 1093–1102.
- Palucka, A.K., and Coussens, L.M. (2016). The Basis of Oncoimmunology. *Cell* *164*, 1233–1247.
- Pan, C., Liu, C., Lara, P., Evans, C.P., Dall'Era, M., Yap, S., Lou, W., and Gao, A. (2017). Indomethacin to inhibit AKR1C3 intracrine androgen production and sensitizes prostate cancer (PCa) to enzalutamide. *J. Clin. Oncol.* *35*, 161–161.

- Parker, C., Nilsson, S., Heinrich, D., Helle, S.I., O'Sullivan, J.M., Fosså, S.D., Chodacki, A., Wiechno, P., Logue, J., Seke, M., et al. (2013). Alpha emitter radium-223 and survival in metastatic prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* *369*, 213–223.
- Parker, C.C., James, N.D., Brawley, C.D., Clarke, N.W., Hoyle, A.P., Ali, A., Ritchie, A.W.S., Attard, G., Chowdhury, S., Cross, W., et al. (2018). Radiotherapy to the primary tumour for newly diagnosed, metastatic prostate cancer (STAMPEDE): a randomised controlled phase 3 trial. *The Lancet* *392*, 2353–2366.
- Pascual-García, M., Carbó, J.M., León, T., Matalonga, J., Out, R., Van Berkel, T., Sarrias, M.-R., Lozano, F., Celada, A., and Valledor, A.F. (2011). Liver X receptors inhibit macrophage proliferation through downregulation of cyclins D1 and B1 and cyclin-dependent kinases 2 and 4. *J. Immunol. Baltim. Md* *190*, 4656–4667.
- Pascual-García, M., Rué, L., León, T., Julve, J., Carbó, J.M., Matalonga, J., Auer, H., Celada, A., Escolà-Gil, J.C., Steffensen, K.R., et al. (2013). Reciprocal negative cross-talk between liver X receptors (LXRs) and STAT1: effects on IFN- γ -induced inflammatory responses and LXR-dependent gene expression. *J. Immunol. Baltim. Md* *190*, 6520–6532.
- Patel, V., Liaw, B., and Oh, W. (2018). The role of ketoconazole in current prostate cancer care. *Nat. Rev. Urol.* *15*, 643–651.
- Paulo, P., Barros-Silva, J.D., Ribeiro, F.R., Ramalho-Carvalho, J., Jerónimo, C., Henrique, R., Lind, G.E., Skotheim, R.I., Lothe, R.A., and Teixeira, M.R. (2012). FLI1 is a novel ETS transcription factor involved in gene fusions in prostate cancer. *Genes. Chromosomes Cancer* *51*, 240–249.
- Pearson, H.B., McCarthy, A., Collins, C.M.P., Ashworth, A., and Clarke, A.R. (2008). Lkb1 deficiency causes prostate neoplasia in the mouse. *Cancer Res.* *68*, 2223–2232.
- Pearson, H.B., Phesse, T.J., and Clarke, A.R. (2009). K-ras and Wnt signaling synergize to accelerate prostate tumorigenesis in the mouse. *Cancer Res.* *69*, 94–101.
- Peet, D.J., Turley, S.D., Ma, W., Janowski, B.A., Lobaccaro, J.-M.A., Hammer, R.E., and Mangelsdorf, D.J. (1998). Cholesterol and Bile Acid Metabolism Are Impaired in Mice Lacking the Nuclear Oxysterol Receptor LXR α . *Cell* *93*, 693–704.
- Pelton, K., Freeman, M.R., and Solomon, K.R. (2012). Cholesterol and Prostate Cancer. *Curr. Opin. Pharmacol.* *12*, 751–759.
- Pencheva, N., Tran, H., Buss, C., Huh, D., Drobnyak, M., Busam, K., and Tavazoie, S.F. (2012). Convergent multi-miRNA targeting of ApoE drives LRP1/LRP8-dependent melanoma metastasis and angiogenesis. *Cell* *151*, 1068–1082.
- Pencheva, N., Buss, C.G., Posada, J., Merghoub, T., and Tavazoie, S.F. (2014). Broad-Spectrum Therapeutic Suppression of Metastatic Melanoma through Nuclear Hormone Receptor Activation. *Cell* *156*, 986–1001.
- Pencik, J., Schleder, M., Gruber, W., Unger, C., Walker, S.M., Chalaris, A., Marié, I.J., Hassler, M.R., Javaheri, T., Aksoy, O., et al. (2015). STAT3 regulated ARF expression suppresses prostate cancer metastasis. *Nat. Commun.* *6*, 7736.
- Penfold, L., Woods, A., Muckett, P., Nikitin, A.Y., Kent, T.R., Zhang, S., Graham, R., Pollard, A., and Carling, D. (2018). CAMKK2 Promotes Prostate Cancer Independently of AMPK via Increased Lipogenesis. *Cancer Res.* *78*, 6747–6761.
- Peng, W., Chen, J.Q., Liu, C., Malu, S., Creasy, C., Tetzlaff, M.T., Xu, C., McKenzie, J.A., Zhang, C., Liang, X., et al. (2016). Loss of PTEN Promotes Resistance to T Cell-Mediated Immunotherapy. *Cancer Discov.* *6*, 202–216.
- Perera, M., Papa, N., Roberts, M., Williams, M., Udovicich, C., Vela, I., Christidis, D., Bolton, D., Hofman, M.S., Lawrentschuk, N., et al. (2019). Gallium-68 Prostate-specific Membrane Antigen Positron Emission Tomography in Advanced Prostate Cancer-Updated Diagnostic Utility, Sensitivity, Specificity, and Distribution of Prostate-specific Membrane Antigen-avid Lesions: A Systematic Review and Meta-analysis. *Eur. Urol.*
- Petitprez, F., Fossati, N., Vano, Y., Freschi, M., Becht, E., Lucianò, R., Calderaro, J., Guédet, T., Lacroix, L., Rancoita, P.M.V., et al. (2019). PD-L1 Expression and CD8+ T-cell Infiltrate are Associated with Clinical Progression in Patients with Node-positive Prostate Cancer. *Eur. Urol. Focus* *5*, 192–196.
- Pinthus, J.H., Lu, J.-P., Bidaisee, L.A., Lin, H., Bryskine, I., Gupta, R.S., and Singh, G. (2007). Androgen-dependent regulation of medium and long chain fatty acids uptake in prostate cancer. *The Prostate* *67*, 1330–1338.
- Pommier, A.J.C., Alves, G., Viennois, E., Bernard, S., Communal, Y., Sion, B., Marceau, G., Damon, C., Mouzat, K., Caira, F., et al. (2010). Liver X Receptor activation downregulates AKT survival signaling in lipid rafts and induces apoptosis of prostate cancer cells. *Oncogene* *29*, 2712–2723.
- Pommier, A.J.C., Dufour, J., Alves, G., Viennois, E., De Boussac, H., Trousson, A., Volle, D.H., Caira, F., Val, P., Arnaud, P., et al. (2013). Liver X Receptors Protect from Development of Prostatic Intra-Epithelial Neoplasia in Mice. *PLoS Genet.* *9*, e1003483.

- Porstmann, T., Griffiths, B., Chung, Y.-L., Delpuech, O., Griffiths, J.R., Downward, J., and Schulze, A. (2005). PKB/Akt induces transcription of enzymes involved in cholesterol and fatty acid biosynthesis via activation of SREBP. *Oncogene* *24*, 6465–6481.
- Porstmann, T., Santos, C.R., Griffiths, B., Cully, M., Wu, M., Leever, S., Griffiths, J.R., Chung, Y.-L., and Schulze, A. (2008). SREBP activity is regulated by mTORC1 and contributes to Akt-dependent cell growth. *Cell Metab.* *8*, 224–236.
- Poulose, N., Amoroso, F., Steele, R.E., Singh, R., Ong, C.W., and Mills, I.G. (2018). Genetics of lipid metabolism in prostate cancer. *Nat. Genet.* *50*, 169–171.
- Pourmand, G., Ziaee, A.-A., Abedi, A.R., Mehrsai, A., Alavi, H.A., Ahmadi, A., and Saadati, H.R. (2007). Role of PTEN gene in progression of prostate cancer. *Urol. J.* *4*, 95–100.
- Pradel, L.C., Mitchell, A.J., Zarubica, A., Dufort, L., Chasson, L., Naquet, P., Broccardo, C., and Chimini, G. (2009). ATP-binding cassette transporter hallmarks tissue macrophages and modulates cytokine-triggered polarization programs. *Eur. J. Immunol.* *39*, 2270–2280.
- Pratt, W.B., and Toft, D.O. (1997). Steroid Receptor Interactions with Heat Shock Protein and Immunophilin Chaperones. *Endocr. Rev.* *18*, 306–360.
- Prins, G.S. (2008). Endocrine disruptors and prostate cancer risk. *Endocr. Relat. Cancer* *15*, 649.
- Priolo, C., Pyne, S., Rose, J., Regan, E.R., Zadra, G., Photopoulos, C., Cacciatore, S., Schultz, D., Scaglia, N., McDunn, J., et al. (2014). AKT1 and MYC Induce Distinctive Metabolic Fingerprints in Human Prostate Cancer. *Cancer Res.* *74*, 7198–7204.
- Punt, S., Langenhoff, J.M., Putter, H., Fleuren, G.J., Gorter, A., and Jordanova, E.S. (2015). The correlations between IL-17 vs. Th17 cells and cancer patient survival: a systematic review. *Oncoimmunology* *4*, e984547.
- Putzi, M.J., and De Marzo, A.M. (2000). Morphologic transitions between proliferative inflammatory atrophy and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Urology* *56*, 828–832.
- Pyka, T., Okamoto, S., Dahlbender, M., Tauber, R., Retz, M., Heck, M., Tamaki, N., Schwaiger, M., Maurer, T., and Eiber, M. (2016). Comparison of bone scintigraphy and ⁶⁸Ga-PSMA PET for skeletal staging in prostate cancer. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* *43*, 2114–2121.
- Rajasekhar, V.K., Studer, L., Gerald, W., Succi, N.D., and Scher, H.I. (2011). Tumour-initiating stem-like cells in human prostate cancer exhibit increased NF- κ B signalling. *Nat. Commun.* *2*, 162.
- Rangaswami, H., Bulbule, A., and Kundu, G.C. (2006). Osteopontin: role in cell signaling and cancer progression. *Trends Cell Biol.* *16*, 79–87.
- Réb , C., Raveneau, M., Chevriaux, A., Lakomy, D., Sberna, A.-L., Costa, A., Bess de, G., Athias, A., Steinmetz, E., Lobaccaro, J.M.A., et al. (2009). Induction of transglutaminase 2 by a liver X receptor/retinoic acid receptor alpha pathway increases the clearance of apoptotic cells by human macrophages. *Circ. Res.* *105*, 393–401.
- Ren, D., Dai, Y., Yang, Q., Zhang, X., Guo, W., Ye, L., Huang, S., Chen, X., Lai, Y., Du, H., et al. (2019). Wnt5a induces and maintains prostate cancer cells dormancy in bone. *J. Exp. Med.* *216*, 428–449.
- Repa, J.J., and Mangelsdorf, D.J. (2000). The Role of Orphan Nuclear Receptors in the Regulation of Cholesterol Homeostasis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* *16*, 459–481.
- Repa, J.J., Liang, G., Ou, J., Bashmakov, Y., Lobaccaro, J.-M.A., Shimomura, I., Shan, B., Brown, M.S., Goldstein, J.L., and Mangelsdorf, D.J. (2000a). Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene (SREBP-1c) by oxysterol receptors, LXR α and LXR β . *Genes Dev.* *14*, 2819–2830.
- Repa, J.J., Turley, S.D., Lobaccaro, J.A., Medina, J., Li, L., Lustig, K., Shan, B., Heyman, R.A., Dietschy, J.M., and Mangelsdorf, D.J. (2000b). Regulation of absorption and ABC1-mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers. *Science* *289*, 1524–1529.
- Repa, J.J., Berge, K.E., Pomajzl, C., Richardson, J.A., Hobbs, H., and Mangelsdorf, D.J. (2002). Regulation of ATP-binding cassette sterol transporters ABCG5 and ABCG8 by the liver X receptors alpha and beta. *J. Biol. Chem.* *277*, 18793–18800.
- Ribeiro, R., Monteiro, C., Cunha, V., Oliveira, M.J., Freitas, M., Fraga, A., Pr ncipe, P., Lobato, C., Lobo, F., Morais, A., et al. (2012a). Human periprostatic adipose tissue promotes prostate cancer aggressiveness in vitro. *J. Exp. Clin. Cancer Res. CR* *31*, 32.
- Ribeiro, R.J.T., Monteiro, C.P.D., Cunha, V.F.P.M., Azevedo, A.S.M., Oliveira, M.J., Monteiro, R., Fraga, A.M., Pr ncipe, P., Lobato, C., Lobo, F., et al. (2012b). Tumor cell-educated periprostatic adipose tissue acquires an aggressive cancer-promoting secretory profile. *Cell. Physiol. Biochem. Int. J. Exp. Cell. Physiol. Biochem. Pharmacol.* *29*, 233–240.
- Richardsen, E., Uglehus, R.D., Due, J., Busch, C., and Busund, L.-T.R. (2008). The prognostic impact of M-CSF, CSF-1 receptor, CD68 and CD3 in prostatic carcinoma. *Histopathology* *53*, 30–38.

- Rittling, S.R. (2011). Osteopontin in macrophage function. *Expert Rev. Mol. Med.* *13*.
- Rittling, S.R., Matsumoto, H.N., McKee, M.D., Nanci, A., An, X.R., Novick, K.E., Kowalski, A.J., Noda, M., and Denhardt, D.T. (1998). Mice lacking osteopontin show normal development and bone structure but display altered osteoclast formation in vitro. *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.* *13*, 1101–1111.
- Roberts, D.L., Dive, C., and Renehan, A.G. (2010). Biological mechanisms linking obesity and cancer risk: new perspectives. *Annu. Rev. Med.* *61*, 301–316.
- Robertson, B.W., Bonsal, L., and Chellaiah, M.A. (2010). Regulation of Erk1/2 activation by osteopontin in PC3 human prostate cancer cells. *Mol. Cancer* *9*, 260.
- Robinson, D., Van Allen, E.M., Wu, Y.-M., Schultz, N., Lonigro, R.J., Mosquera, J.-M., Montgomery, B., Taplin, M.-E., Pritchard, C.C., Attard, G., et al. (2015). Integrative Clinical Genomics of Advanced Prostate Cancer. *Cell* *161*, 1215–1228.
- van Roermund, J.G.H., Hinnen, K.A., Tolman, C.J., Bol, G.H., Witjes, J.A., Bosch, J.L.H.R., Kiemeny, L.A., and van Vulpen, M. (2011). Periprostatic fat correlates with tumour aggressiveness in prostate cancer patients. *BJU Int.* *107*, 1775–1779.
- Rossi, S., Graner, E., Febbo, P., Weinstein, L., Bhattacharya, N., Onody, T., Bubley, G., Balk, S., and Loda, M. (2003). Fatty acid synthase expression defines distinct molecular signatures in prostate cancer. *Mol. Cancer Res. MCR* *1*, 707–715.
- Rough, J.J., Monroy, M.A., Yerrum, S., and Daly, J.M. (2010). Anti-proliferative effect of LXR agonist T0901317 in ovarian carcinoma cells. *J. Ovarian Res.* *3*, 13.
- Rozet, F., Hennequin, C., Beauval, J.-B., Beuzeboc, P., Cormier, L., Fromont, G., Mongiat-Artus, P., Ouzzane, A., Ploussard, G., Azria, D., et al. (2016). Recommandations en onco-urologie 2016-2018 du CCAFU : Cancer de la prostate. /data/revues/11667087/v27sS1/S1166708716307059/.
- Rubin, M.A., and Demichelis, F. (2019). The Genomics of Prostate Cancer: A Historic Perspective. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* *9*.
- Rubin, M.A., Buyounouski, M., Bagiella, E., Sharir, S., Neugut, A., Benson, M., de la Taille, A., Katz, A.E., Olsson, C.A., and Ennis, R.D. (1999). Microvessel density in prostate cancer: lack of correlation with tumor grade, pathologic stage, and clinical outcome. *Urology* *53*, 542–547.
- Rubin, M.A., Zhou, M., Dhanasekaran, S.M., Varambally, S., Barrette, T.R., Sanda, M.G., Pienta, K.J., Ghosh, D., and Chinnaiyan, A.M. (2002). alpha-Methylacyl coenzyme A racemase as a tissue biomarker for prostate cancer. *JAMA* *287*, 1662–1670.
- Ruppender, N., Larson, S., Lakely, B., Kollath, L., Brown, L., Coleman, I., Coleman, R., Nguyen, H., Nelson, P.S., Corey, E., et al. (2015). Cellular Adhesion Promotes Prostate Cancer Cells Escape from Dormancy. *PLOS ONE* *10*, e0130565.
- Russo, G., Mischi, M., Scheepens, W., Rosette, J.J.D. la, and Wijkstra, H. (2012). Angiogenesis in prostate cancer: onset, progression and imaging. *BJU Int.* *110*, E794–E808.
- Russo, G.I., Regis, F., Castelli, T., Favilla, V., Privitera, S., Giardina, R., Cimino, S., and Morgia, G. (2017). A Systematic Review and Meta-analysis of the Diagnostic Accuracy of Prostate Health Index and 4-Kallikrein Panel Score in Predicting Overall and High-grade Prostate Cancer. *Clin. Genitourin. Cancer* *15*, 429-439.e1.
- Rysman, E., Brusselmans, K., Scheys, K., Timmermans, L., Derua, R., Munck, S., Van Veldhoven, P.P., Waltregny, D., Daniëls, V.W., Machiels, J., et al. (2010). De novo lipogenesis protects cancer cells from free radicals and chemotherapeutics by promoting membrane lipid saturation. *Cancer Res.* *70*, 8117–8126.
- Saad, F., Gleason, D.M., Murray, R., Tchekmedyian, S., Venner, P., Lacombe, L., Chin, J.L., Vinholes, J.J., Goas, J.A., Zheng, M., et al. (2004). Long-term efficacy of zoledronic acid for the prevention of skeletal complications in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* *96*, 879–882.
- Saad, F., Fizazi, K., Jinga, V., Efstathiou, E., Fong, P.C., Hart, L.L., Jones, R., McDermott, R., Wirth, M., Suzuki, K., et al. (2015). Orteronel plus prednisone in patients with chemotherapy-naïve metastatic castration-resistant prostate cancer (ELM-PC 4): a double-blind, multicentre, phase 3, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol.* *16*, 338–348.
- Sacca, P.A., Creydt, V.P., Choi, H., Mazza, O.N., Fletcher, S.J., Vallone, V.B.F., Scorticati, C., Chasseing, N.A., and Calvo, J.C. (2012). Human periprostatic adipose tissue: its influence on prostate cancer cells. *Cell. Physiol. Biochem. Int. J. Exp. Cell. Physiol. Biochem. Pharmacol.* *30*, 113–122.
- Sakr, W.A., Grignon, D.J., Crissman, J.D., Heilbrun, L.K., Cassin, B.J., Pontes, J.J., and Haas, G.P. (1994). High grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) and prostatic adenocarcinoma between the ages of 20-69: an autopsy study of 249 cases. *Vivo Athens Greece* *8*, 439–443.

- Sakr, W.A., Grignon, D.J., Haas, G.P., Heilbrun, L.K., Pontes, J.E., and Crissmana, J.D. (1996). Age and Racial Distribution of Prostatic Intraepithelial Neoplasia. *Eur. Urol.* *30*, 138–144.
- Santa, F.D., Totaro, M.G., Prosperini, E., Notarbartolo, S., Testa, G., and Natoli, G. (2007). The Histone H3 Lysine-27 Demethylase Jmjd3 Links Inflammation to Inhibition of Polycomb-Mediated Gene Silencing. *Cell* *130*, 1083–1094.
- Saramäki, O.R., Tammela, T.L.J., Martikainen, P.M., Vessella, R.L., and Visakorpi, T. (2006). The gene for polycomb group protein enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) is amplified in late-stage prostate cancer. *Genes Chromosomes Cancer* *45*, 639–645.
- Sartor, A.O., Oudard, S., Sengelov, L., Daugaard, G., Saad, F., Hansen, S., Hjelm-Eriksson, M., Jassem, J., Thiery-Vuillemin, A., Caffo, O., et al. (2016). Cabazitaxel vs docetaxel in chemotherapy-naïve (CN) patients with metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC): A three-arm phase III study (FIRSTANA). *J. Clin. Oncol.* *34*, 5006–5006.
- Sathekge, M., Bruchertseifer, F., Knoesen, O., Reyneke, F., Lawal, I., Lengana, T., Davis, C., Mahapane, J., Corbett, C., Vorster, M., et al. (2019). 225Ac-PSMA-617 in chemotherapy-naïve patients with advanced prostate cancer: a pilot study. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* *46*, 129–138.
- Sato, R. (2010). Sterol metabolism and SREBP activation. *Arch. Biochem. Biophys.* *501*, 177–181.
- Sautès-Fridman, C., Petitprez, F., Calderaro, J., and Fridman, W.H. (2019). Tertiary lymphoid structures in the era of cancer immunotherapy. *Nat. Rev. Cancer* *1*.
- Saylor, P.J., and Smith, M.R. (2009). Metabolic Complications of Androgen Deprivation Therapy for Prostate Cancer. *J. Urol.* *181*, 1998–2008.
- Scher, H.I., Lu, D., Schreiber, N.A., Louw, J., Graf, R.P., Vargas, H.A., Johnson, A., Jendrisak, A., Bambury, R., Danila, D., et al. (2016). Association of AR-V7 on Circulating Tumor Cells as a Treatment-Specific Biomarker With Outcomes and Survival in Castration-Resistant Prostate Cancer. *JAMA Oncol.* *2*, 1441–1449.
- Scher, H.I., Graf, R.P., Schreiber, N.A., Jayaram, A., Winquist, E., McLaughlin, B., Lu, D., Fleisher, M., Orr, S., Lowes, L., et al. (2018). Assessment of the Validity of Nuclear-Localized Androgen Receptor Splice Variant 7 in Circulating Tumor Cells as a Predictive Biomarker for Castration-Resistant Prostate Cancer. *JAMA Oncol.* *4*, 1179–1186.
- Schiewer, M.J., and Knudsen, K.E. (2019). DNA Damage Response in Prostate Cancer. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* *9*.
- Schneider, J.A., and Logan, S.K. (2018). Revisiting the role of Wnt/ β -catenin signaling in prostate cancer. *Mol. Cell. Endocrinol.* *462*, 3–8.
- Schöder, H., and Larson, S.M. (2004). Positron emission tomography for prostate, bladder, and renal cancer. *Semin. Nucl. Med.* *34*, 274–292.
- Schörghofer, D., Kinslechner, K., Preitschopf, A., Schütz, B., Röhl, C., Hengstschläger, M., Stangl, H., and Mikula, M. (2015). The HDL receptor SR-BI is associated with human prostate cancer progression and plays a possible role in establishing androgen independence. *Reprod. Biol. Endocrinol.* *13*, 88.
- Schraml, B.U., van Blijswijk, J., Zelenay, S., Whitney, P.G., Filby, A., Acton, S.E., Rogers, N.C., Moncaut, N., Carvajal, J.J., and Reis e Sousa, C. (2013). Genetic tracing via DNGR-1 expression history defines dendritic cells as a hematopoietic lineage. *Cell* *154*, 843–858.
- Schröder, F.H., Hugosson, J., Roobol, M.J., Tammela, T.L.J., Zappa, M., Nelen, V., Kwiatkowski, M., Lujan, M., Määttä, L., Lilja, H., et al. (2014). Screening and prostate cancer mortality: results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 years of follow-up. *Lancet Lond. Engl.* *384*, 2027–2035.
- Schultz, J.R., Tu, H., Luk, A., Repa, J.J., Medina, J.C., Li, L., Schwendner, S., Wang, S., Thoolen, M., Mangelsdorf, D.J., et al. (2000). Role of LXRs in control of lipogenesis. *Genes Dev.* *14*, 2831–2838.
- Schulz, C., Gomez Perdiguero, E., Chorro, L., Szabo-Rogers, H., Cagnard, N., Kierdorf, K., Prinz, M., Wu, B., Jacobsen, S.E.W., Pollard, J.W., et al. (2012). A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells. *Science* *336*, 86–90.
- Schuster, D.M., Nanni, C., and Fanti, S. (2016). PET Tracers Beyond FDG in Prostate Cancer. *Semin. Nucl. Med.* *46*, 507–521.
- Sengupta, R., and Honey, K. (2018). AACR Cancer Progress Report 2018: Harnessing Research Discoveries for Patient Benefit. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* *24*, 4351.
- Servian, P., Celma, A., Planas, J., Placer, J., Torres, I.M. de, Olivan, M., and Morote, J. (2015). Clinical significance of proliferative inflammatory atrophy finding in prostatic biopsies. *The Prostate* *75*, 1669–1675.
- Sfanos, K.S., and De Marzo, A.M. (2012). Prostate cancer and inflammation: the evidence. *Histopathology* *60*, 199–215.

- Sfanos, K.S., Bruno, T.C., Maris, C.H., Xu, L., Thoburn, C.J., DeMarzo, A.M., Meeker, A.K., Isaacs, W.B., and Drake, C.G. (2008). Phenotypic analysis of prostate-infiltrating lymphocytes reveals TH17 and Treg skewing. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* *14*, 3254–3261.
- Sfanos, K.S., Yegnasubramanian, S., Nelson, W.G., and De Marzo, A.M. (2018). The inflammatory microenvironment and microbiome in prostate cancer development. *Nat. Rev. Urol.* *15*, 11–24.
- Shah, R.B., Mehra, R., Chinnaiyan, A.M., Shen, R., Ghosh, D., Zhou, M., MacVicar, G.R., Varambally, S., Harwood, J., Bismar, T.A., et al. (2004). Androgen-Independent Prostate Cancer Is a Heterogeneous Group of Diseases: Lessons from a Rapid Autopsy Program. *Cancer Res.* *64*, 9209–9216.
- Shankar, E., Vykhovanets, E.V., Vykhovanets, O.V., Maclennan, G.T., Singh, R., Bhaskaran, N., Shukla, S., and Gupta, S. (2012). High-fat diet activates pro-inflammatory response in the prostate through association of Stat-3 and NF- κ B. *The Prostate* *72*, 233–243.
- Sharifi, N., Dahut, W.L., Steinberg, S.M., Figg, W.D., Tarassoff, C., Arlen, P., and Gulley, J.L. (2005). A retrospective study of the time to clinical endpoints for advanced prostate cancer. *BJU Int.* *96*, 985–989.
- Sharma, A., Yeow, W.-S., Ertel, A., Coleman, I., Clegg, N., Thangavel, C., Morrissey, C., Zhang, X., Comstock, C.E.S., Witkiewicz, A.K., et al. (2010). The retinoblastoma tumor suppressor controls androgen signaling and human prostate cancer progression. *J. Clin. Invest.* *120*, 4478–4492.
- Sharma, N.L., Massie, C.E., Ramos-Montoya, A., Zecchini, V., Scott, H.E., Lamb, A.D., MacArthur, S., Stark, R., Warren, A.Y., Mills, I.G., et al. (2013). The androgen receptor induces a distinct transcriptional program in castration-resistant prostate cancer in man. *Cancer Cell* *23*, 35–47.
- Shen, M.M., and Abate-Shen, C. (2010). Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges. *Genes Dev.* *24*, 1967–2000.
- Sheng, T., Li, C., Zhang, X., Chi, S., He, N., Chen, K., McCormick, F., Gatalica, Z., and Xie, J. (2004). Activation of the hedgehog pathway in advanced prostate cancer. *Mol. Cancer* *3*, 29.
- Shi, J., Hua, L., Harmer, D., Li, P., and Ren, G. (2018). Cre Driver Mice Targeting Macrophages. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* *1784*, 263–275.
- Shimano, H., Horton, J.D., Hammer, R.E., Shimomura, I., Brown, M.S., and Goldstein, J.L. (1996). Overproduction of cholesterol and fatty acids causes massive liver enlargement in transgenic mice expressing truncated SREBP-1a. *J. Clin. Invest.* *98*, 1575–1584.
- Shimano, H., Horton, J.D., Shimomura, I., Hammer, R.E., Brown, M.S., and Goldstein, J.L. (1997). Isoform 1c of sterol regulatory element binding protein is less active than isoform 1a in livers of transgenic mice and in cultured cells. *J. Clin. Invest.* *99*, 846–854.
- Shimizu, H., Ross, R.K., Bernstein, L., Yatani, R., Henderson, B.E., and Mack, T.M. (1991). Cancers of the prostate and breast among Japanese and white immigrants in Los Angeles County. *Br. J. Cancer* *63*, 963–966.
- Shimomura, I., Shimano, H., Horton, J.D., Goldstein, J.L., and Brown, M.S. (1997). Differential expression of exons 1a and 1c in mRNAs for sterol regulatory element binding protein-1 in human and mouse organs and cultured cells. *J. Clin. Invest.* *99*, 838–845.
- Shinar, D.M., Endo, N., Rutledge, S.J., Vogel, R., Rodan, G.A., and Schmidt, A. (1994). NER, a new member of the gene family encoding the human steroid hormone nuclear receptor. *Gene* *147*, 273–276.
- Shipitsin, M., Small, C., Choudhury, S., Giladi, E., Friedlander, S., Nardone, J., Hussain, S., Hurley, A.D., Ernst, C., Huang, Y.E., et al. (2014). Identification of proteomic biomarkers predicting prostate cancer aggressiveness and lethality despite biopsy-sampling error. *Br. J. Cancer* *111*, 1201–1212.
- Siegel, R.L., Miller, K.D., and Jemal, A. (2016). Cancer statistics, 2016. *CA. Cancer J. Clin.* *66*, 7–30.
- Siegel, R.L., Miller, K.D., and Jemal, A. (2019). Cancer statistics, 2019. *CA. Cancer J. Clin.* *69*, 7–34.
- Signoretti, S., Montironi, R., Manola, J., Altimari, A., Tam, C., Bubley, G., Balk, S., Thomas, G., Kaplan, I., Hlatky, L., et al. (2000). Her-2-neu Expression and Progression Toward Androgen Independence in Human Prostate Cancer. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* *92*, 1918–1925.
- Silva-Santos, B., Serre, K., and Norell, H. (2015). $\gamma\delta$ T cells in cancer. *Nat. Rev. Immunol.* *15*, 683–691.
- Simons, K., and Ikonen, E. (2000). How cells handle cholesterol. *Science* *290*, 1721–1726.
- Singh, S., Singh, U.P., Grizzle, W.E., and Lillard, J.W. (2004). CXCL12–CXCR4 interactions modulate prostate cancer cell migration, metalloproteinase expression and invasion. *Lab. Invest.* *84*, 1666–1676.
- Small, E.J. (2017). Redefining Hormonal Therapy for Advanced Prostate Cancer: Results from the LATITUDE and STAMPEDE Studies. *Cancer Cell* *32*, 392.
- Smith, M.R., Saad, F., Coleman, R., Shore, N., Fizazi, K., Tombal, B., Miller, K., Sieber, P., Karsh, L., Damião, R., et al. (2012). Denosumab and bone-metastasis-free survival in men with castration-resistant prostate cancer: results of a phase 3, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Lond. Engl.* *379*, 39–46.

- Smith, M.R., Saad, F., Chowdhury, S., Oudard, S., Hadaschik, B.A., Graff, J.N., Olmos, D., Mainwaring, P.N., Lee, J.Y., Uemura, H., et al. (2018). Apalutamide Treatment and Metastasis-free Survival in Prostate Cancer. *N. Engl. J. Med.* *378*, 1408–1418.
- Solomon, K.R., and Freeman, M.R. (2011). The Complex Interplay Between Cholesterol and Prostate Malignancy. *Urol. Clin. North Am.* *38*, 243–259.
- Song, C., Kokontis, J.M., Hiipakka, R.A., and Liao, S. (1994). Ubiquitous receptor: a receptor that modulates gene activation by retinoic acid and thyroid hormone receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *91*, 10809–10813.
- Sorrentino, C., Musiani, P., Pompa, P., Cipollone, G., and Carlo, E.D. (2011). Androgen Deprivation Boosts Prostatic Infiltration of Cytotoxic and Regulatory T Lymphocytes and Has No Effect on Disease-Free Survival in Prostate Cancer Patients. *Clin. Cancer Res.* *17*, 1571–1581.
- Spann, N.J., and Glass, C.K. (2013). Sterols and oxysterols in immune cell function. *Nat. Immunol.* *14*, 893–900.
- Spann, N.J., Garmire, L.X., McDonald, J.G., Myers, D.S., Milne, S.B., Shibata, N., Reichart, D., Fox, J.N., Shaked, I., Heudobler, D., et al. (2012). Regulated accumulation of desmosterol integrates macrophage lipid metabolism and inflammatory responses. *Cell* *151*, 138–152.
- Spector, A.A., and Yorek, M.A. (1985). Membrane lipid composition and cellular function. *J. Lipid Res.* *26*, 1015–1035.
- Spinedi, E., Suescun, M.O., Hadid, R., Daneva, T., and Gaillard, R.C. (1992). Effects of gonadectomy and sex hormone therapy on the endotoxin-stimulated hypothalamo-pituitary-adrenal axis: evidence for a neuroendocrine-immunological sexual dimorphism. *Endocrinology* *131*, 2430–2436.
- Spranger, S., Luke, J.J., Bao, R., Zha, Y., Hernandez, K.M., Li, Y., Gajewski, A.P., Andrade, J., and Gajewski, T.F. (2016). Density of immunogenic antigens does not explain the presence or absence of the T-cell-inflamed tumor microenvironment in melanoma. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *113*, E7759–E7768.
- Stanbrough, M., Bubley, G.J., Ross, K., Golub, T.R., Rubin, M.A., Penning, T.M., Febbo, P.G., and Balk, S.P. (2006). Increased expression of genes converting adrenal androgens to testosterone in androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res.* *66*, 2815–2825.
- Stashenko, P., Nadler, L.M., Hardy, R., and Schlossman, S.F. (1980). Characterization of a human B lymphocyte-specific antigen. *J. Immunol.* *125*, 1678–1685.
- Steck, P.A., Pershouse, M.A., Jasser, S.A., Yung, W.K., Lin, H., Ligon, A.H., Langford, L.A., Baumgard, M.L., Hattier, T., Davis, T., et al. (1997). Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. *Nat. Genet.* *15*, 356–362.
- Steiner, G.E., Stix, U., Handisurya, A., Willheim, M., Haitel, A., Reithmayr, F., Paikl, D., Ecker, R.C., Hrachowitz, K., Kramer, G., et al. (2003). Cytokine expression pattern in benign prostatic hyperplasia infiltrating T cells and impact of lymphocytic infiltration on cytokine mRNA profile in prostatic tissue. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* *83*, 1131–1146.
- Stopsack, K.H., Gerke, T.A., Andrén, O., Andersson, S.-O., Giovannucci, E.L., Mucci, L.A., and Rider, J.R. (2017). Cholesterol uptake and regulation in high-grade and lethal prostate cancers. *Carcinogenesis* *38*, 806–811.
- Strasner, A., and Karin, M. (2015). Immune Infiltration and Prostate Cancer. *Front. Oncol.* *5*.
- Su, Q., and Xin, L. (2016). Notch signaling in prostate cancer: refining a therapeutic opportunity. *Histol. Histopathol.* *31*, 149–157.
- Sulli, G., Di Micco, R., and di Fagagna, F. d'Adda (2012). Crosstalk between chromatin state and DNA damage response in cellular senescence and cancer. *Nat. Rev. Cancer* *12*, 709–720.
- Summers, C., Rankin, S.M., Condliffe, A.M., Singh, N., Peters, A.M., and Chilvers, E.R. (2010). Neutrophil kinetics in health and disease. *Trends Immunol.* *31*, 318–324.
- Sundqvist, A., Bengoechea-Alonso, M.T., Ye, X., Lukiyanchuk, V., Jin, J., Harper, J.W., and Ericsson, J. (2005). Control of lipid metabolism by phosphorylation-dependent degradation of the SREBP family of transcription factors by SCFFbw7. *Cell Metab.* *1*, 379–391.
- Sutherland, J.S., Goldberg, G.L., Hammett, M.V., Uldrich, A.P., Berzins, S.P., Heng, T.S., Blazar, B.R., Millar, J.L., Malin, M.A., Chidgey, A.P., et al. (2005). Activation of thymic regeneration in mice and humans following androgen blockade. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *175*, 2741–2753.
- Sweeney, C.J., Chen, Y.-H., Carducci, M., Liu, G., Jarrard, D.F., Eisenberger, M., Wong, Y.-N., Hahn, N., Kohli, M., Cooney, M.M., et al. (2015). Chemohormonal Therapy in Metastatic Hormone-Sensitive Prostate Cancer. *N. Engl. J. Med.* *373*, 737–746.
- Swinnen, J.V., Van Veldhoven, P.P., Esquenet, M., Heyns, W., and Verhoeven, G. (1996). Androgens markedly stimulate the accumulation of neutral lipids in the human prostatic adenocarcinoma cell line LNCaP. *Endocrinology* *137*, 4468–4474.

- Swinnen, J.V., Esquenet, M., Goossens, K., Heyns, W., and Verhoeven, G. (1997a). Androgens Stimulate Fatty Acid Synthase in the Human Prostate Cancer Cell Line LNCaP. *Cancer Res.* *57*, 1086–1090.
- Swinnen, J.V., Ulrix, W., Heyns, W., and Verhoeven, G. (1997b). Coordinate regulation of lipogenic gene expression by androgens: Evidence for a cascade mechanism involving sterol regulatory element binding proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *94*, 12975–12980.
- Swinnen, J.V., Vanderhoydonc, F., Elgamal, A.A., Eelen, M., Vercaeren, I., Joniau, S., Poppel, H.V., Baert, L., Goossens, K., Heyns, W., et al. (2000a). Selective activation of the fatty acid synthesis pathway in human prostate cancer. *Int. J. Cancer* *88*, 176–179.
- Swinnen, J.V., Heemers, H., Deboel, L., Fougelle, F., Heyns, W., and Verhoeven, G. (2000b). Stimulation of tumor-associated fatty acid synthase expression by growth factor activation of the sterol regulatory element-binding protein pathway. *Oncogene* *19*, 5173–5181.
- Swinnen, J.V., Roskams, T., Joniau, S., Van Poppel, H., Oyen, R., Baert, L., Heyns, W., and Verhoeven, G. (2002). Overexpression of fatty acid synthase is an early and common event in the development of prostate cancer. *Int. J. Cancer* *98*, 19–22.
- Swinnen, J.V., Van Veldhoven, P.P., Timmermans, L., De Schrijver, E., Brusselmans, K., Vanderhoydonc, F., Van de Sande, T., Heemers, H., Heyns, W., and Verhoeven, G. (2003). Fatty acid synthase drives the synthesis of phospholipids partitioning into detergent-resistant membrane microdomains. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *302*, 898–903.
- Swinnen, J.V., Heemers, H., de Sande, T.V., Schrijver, E.D., Brusselmans, K., Heyns, W., and Verhoeven, G. (2004). Androgens, lipogenesis and prostate cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* *92*, 273–279.
- Swinnen, J.V., Brusselmans, K., and Verhoeven, G. (2006). Increased lipogenesis in cancer cells: new players, novel targets. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* *9*, 358–365.
- Swyer, G.I.M. (1942). The Cholesterol Content of Normal and Enlarged Prostates. *Cancer Res.* *2*, 372–375.
- Tachibana, H., Ogawa, D., Matsushita, Y., Bruemmer, D., Wada, J., Teshigawara, S., Eguchi, J., Sato-Horiguchi, C., Uchida, H.A., Shikata, K., et al. (2012). Activation of Liver X Receptor Inhibits Osteopontin and Ameliorates Diabetic Nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* *23*, 1835–1846.
- de la Taille, A., Houlgatte, A., Houdelette, P., Berlizot, P., Ramirez, J., and Ricordel, I. (1997). [Value of free/total prostate specific antigen in the early diagnosis of prostate cancer (study of 105 patients)]. *Progres En Urol. J. Assoc. Francaise Urol. Soc. Francaise Urol.* *7*, 240–245.
- de la Taille, A., Katz, A.E., Bagiella, E., Buttyan, R., Sharir, S., Olsson, C.A., Burchardt, T., Ennis, R.D., and Rubin, M.A. (2000). Microvessel density as a predictor of PSA recurrence after radical prostatectomy. A comparison of CD34 and CD31. *Am. J. Clin. Pathol.* *113*, 555–562.
- Tall, A.R., and Yvan-Charvet, L. (2015). Cholesterol, inflammation and innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.* *15*, 104–116.
- Talukdar, S., and Hillgartner, F.B. (2006). The mechanism mediating the activation of acetyl-coenzyme A carboxylase- α gene transcription by the liver X receptor agonist T0-901317. *J. Lipid Res.* *47*, 2451–2461.
- Tamae, D., Mostaghel, E., Montgomery, B., Nelson, P.S., Balk, S.P., Kantoff, P.W., Taplin, M.-E., and Penning, T.M. (2015). The DHEA-sulfate depot following P450c17 inhibition supports the case for AKR1C3 inhibition in high risk localized and advanced castration resistant prostate cancer. *Chem. Biol. Interact.* *234*, 332–338.
- Tamura, K., Makino, A., Hullin-Matsuda, F., Kobayashi, T., Furihata, M., Chung, S., Ashida, S., Miki, T., Fujioka, T., Shuin, T., et al. (2009). Novel Lipogenic Enzyme ELOVL7 Is Involved in Prostate Cancer Growth through Saturated Long-Chain Fatty Acid Metabolism. *Cancer Res.* *69*, 8133–8140.
- Tangirala, R.K., Bischoff, E.D., Joseph, S.B., Wagner, B.L., Walczak, R., Laffitte, B.A., Daige, C.L., Thomas, D., Heyman, R.A., Mangelsdorf, D.J., et al. (2002). Identification of macrophage liver X receptors as inhibitors of atherosclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *99*, 11896–11901.
- Taplin, M.-E., Bubley, G.J., Shuster, T.D., Frantz, M.E., Spooner, A.E., Ogata, G.K., Keer, H.N., and Balk, S.P. (1995). Mutation of the Androgen-Receptor Gene in Metastatic Androgen-Independent Prostate Cancer. *N. Engl. J. Med.* *332*, 1393–1398.
- Tavazoie, M.F., Pollack, I., Tanqueco, R., Ostendorf, B.N., Reis, B.S., Gonsalves, F.C., Kurth, I., Andreu-Agullo, C., Derbyshire, M.L., Posada, J., et al. (2018). LXR/ApoE Activation Restricts Innate Immune Suppression in Cancer. *Cell* *172*, 825-840.e18.
- Taylor, B.S., Schultz, N., Hieronymus, H., Gopalan, A., Xiao, Y., Carver, B.S., Arora, V.K., Kaushik, P., Cerami, E., Reva, B., et al. (2010). Integrative Genomic Profiling of Human Prostate Cancer. *Cancer Cell* *18*, 11–22.

- Thalmann, G.N., Sikes, R.A., Devoll, R.E., Kiefer, J.A., Markwalder, R., Klima, I., Farach-Carson, C.M., Studer, U.E., and Chung, L.W.K. (1999). Osteopontin: Possible Role in Prostate Cancer Progression. *Clin. Cancer Res.* *5*, 2271–2277.
- Thangavel, C., Boopathi, E., Liu, Y., Haber, A., Ertel, A., Bhardwaj, A., Addya, S., Williams, N., Ciment, S.J., Cotzia, P., et al. (2017). RB Loss Promotes Prostate Cancer Metastasis. *Cancer Res.* *77*, 982–995.
- The Cancer Genome Atlas Research Network (2015). The molecular taxonomy of primary prostate cancer. *Cell* *163*, 1011–1025.
- Thomas, L. (1982). On immunosurveillance in human cancer. *Yale J. Biol. Med.* *55*, 329–333.
- Thorsson, V., Gibbs, D.L., Brown, S.D., Wolf, D., Bortone, D.S., Ou Yang, T.-H., Porta-Pardo, E., Gao, G.F., Plaisier, C.L., Eddy, J.A., et al. (2018). The Immune Landscape of Cancer. *Immunity* *48*, 812–830.e14.
- Thyssel, E., Surowiec, I., Hörnberg, E., Crnalic, S., Widmark, A., Johansson, A.I., Stattin, P., Bergh, A., Moritz, T., Antti, H., et al. (2010). Metabolomic characterization of human prostate cancer bone metastases reveals increased levels of cholesterol. *PLoS One* *5*, e14175.
- Tomlins, S.A., Rhodes, D.R., Perner, S., Dhanasekaran, S.M., Mehra, R., Sun, X.-W., Varambally, S., Cao, X., Tchinda, J., Kuefer, R., et al. (2005). Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science* *310*, 644–648.
- Tomlins, S.A., Mehra, R., Rhodes, D.R., Smith, L.R., Roulston, D., Helgeson, B.E., Cao, X., Wei, J.T., Rubin, M.A., Shah, R.B., et al. (2006). TMPRSS2:ETV4 gene fusions define a third molecular subtype of prostate cancer. *Cancer Res.* *66*, 3396–3400.
- Tomlins, S.A., Mehra, R., Rhodes, D.R., Cao, X., Wang, L., Dhanasekaran, S.M., Kalyana-Sundaram, S., Wei, J.T., Rubin, M.A., Pienta, K.J., et al. (2007). Integrative molecular concept modeling of prostate cancer progression. *Nat. Genet.* *39*, 41–51.
- Tomlins, S.A., Laxman, B., Varambally, S., Cao, X., Yu, J., Helgeson, B.E., Cao, Q., Prensner, J.R., Rubin, M.A., Shah, R.B., et al. (2008). Role of the TMPRSS2-ERG Gene Fusion in Prostate Cancer. *Neoplasia N. Y. N* *10*, 177–188.
- Tomlins, S.A., Day, J.R., Lonigro, R.J., Hovelson, D.H., Siddiqui, J., Kunju, L.P., Dunn, R.L., Meyer, S., Hodge, P., Groskopf, J., et al. (2016). Urine TMPRSS2:ERG Plus PCA3 for Individualized Prostate Cancer Risk Assessment. *Eur. Urol.* *70*, 45–53.
- Torra, I.P., Ismaili, N., Feig, J.E., Xu, C.-F., Cavasotto, C., Pancratov, R., Rogatsky, I., Neubert, T.A., Fisher, E.A., and Garabedian, M.J. (2008). Phosphorylation of liver X receptor alpha selectively regulates target gene expression in macrophages. *Mol. Cell. Biol.* *28*, 2626–2636.
- Torrano, V., Valcarcel-Jimenez, L., Cortazar, A.R., Liu, X., Urosevic, J., Castillo-Martin, M., Fernández-Ruiz, S., Morciano, G., Caro-Maldonado, A., Guiu, M., et al. (2016). The metabolic co-regulator PGC1 α suppresses prostate cancer metastasis. *Nat. Cell Biol.* *18*, 645–656.
- Torre, L.A., Bray, F., Siegel, R.L., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J., and Jemal, A. (2015). Global cancer statistics, 2012. *CA. Cancer J. Clin.* *65*, 87–108.
- Tosoian, J.J., Alam, R., Ball, M.W., Carter, H.B., and Epstein, J.I. (2018). Managing high-grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) and atypical glands on prostate biopsy. *Nat. Rev. Urol.* *15*, 55–66.
- Tousignant, K.D., Rockstroh, A., Fard, A.T., Lehman, M.L., Wang, C., McPherson, S.J., Philp, L.K., Bartonicek, N., Dinger, M.E., Nelson, C.C., et al. (2019). Lipid Uptake Is an Androgen-Enhanced Lipid Supply Pathway Associated with Prostate Cancer Disease Progression and Bone Metastasis. *Mol. Cancer Res.* *17*, 1166–1179.
- Tran, C., Ouk, S., Clegg, N.J., Chen, Y., Watson, P.A., Arora, V., Wongvipat, J., Smith-Jones, P.M., Yoo, D., Kwon, A., et al. (2009). Development of a Second-Generation Antiandrogen for Treatment of Advanced Prostate Cancer. *Science* *324*, 787–790.
- Tsui, K.-H., Chang, P.-L., and Juang, H.-H. (2006). Zinc blocks gene expression of mitochondrial aconitase in human prostatic carcinoma cells. *Int. J. Cancer* *118*, 609–615.
- Tuxhorn, J.A., Ayala, G.E., Smith, M.J., Smith, V.C., Dang, T.D., and Rowley, D.R. (2002). Reactive Stroma in Human Prostate Cancer: Induction of Myofibroblast Phenotype and Extracellular Matrix Remodeling. *Clin. Cancer Res.* *8*, 2912–2923.
- Twiddy, A.L., Cox, M.E., and Wasan, K.M. (2012). Knockdown of scavenger receptor class B type I reduces prostate specific antigen secretion and viability of prostate cancer cells. *The Prostate* *72*, 955–965.
- Uygur, B., and Wu, W.-S. (2011). SLUG promotes prostate cancer cell migration and invasion via CXCR4/CXCL12 axis. *Mol. Cancer* *10*, 139.

- Valdman, A., Jaraj, S.J., Comp erat, E., Charlotte, F., Roupret, M., Pisa, P., and Egevad, L. (2010). Distribution of Foxp3-, CD4- and CD8-positive lymphocytic cells in benign and malignant prostate tissue. *APMIS Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.* *118*, 360–365.
- Vale, C.L., Burdett, S., Rydzewska, L.H.M., Albiges, L., Clarke, N.W., Fisher, D., Fizazi, K., Gravis, G., James, N.D., Mason, M.D., et al. (2016). Addition of docetaxel or bisphosphonates to standard of care in men with localised or metastatic, hormone-sensitive prostate cancer: a systematic review and meta-analyses of aggregate data. *Lancet Oncol.* *17*, 243–256.
- Valle, J.A.B.-D., Zheng, Q., Esopi, D.M., Rubenstein, M., Hubbard, G.K., Moncaliano, M.C., Hruszkewycz, A., Vaghasia, A., Yegnasubramanian, S., Wheelan, S.J., et al. (2018). MYC drives overexpression of telomerase RNA (hTR/TERC) in prostate cancer. *J. Pathol.* *244*, 11–24.
- Van de Sande, T., De Schrijver, E., Heyns, W., Verhoeven, G., and Swinnen, J.V. (2002). Role of the phosphatidylinositol 3'-kinase/PTEN/Akt kinase pathway in the overexpression of fatty acid synthase in LNCaP prostate cancer cells. *Cancer Res.* *62*, 642–646.
- Van de Sande, T., Roskams, T., Lerut, E., Joniau, S., Van Poppel, H., Verhoeven, G., and Swinnen, J.V. (2005). High-level expression of fatty acid synthase in human prostate cancer tissues is linked to activation and nuclear localization of Akt/PKB. *J. Pathol.* *206*, 214–219.
- Van Den Eeden, S.K., Lu, R., Zhang, N., Quesenberry, C.P., Shan, J., Han, J.S., Tsiatis, A.C., Leimpeter, A.D., Lawrence, H.J., Febbo, P.G., et al. (2018). A Biopsy-based 17-gene Genomic Prostate Score as a Predictor of Metastases and Prostate Cancer Death in Surgically Treated Men with Clinically Localized Disease. *Eur. Urol.* *73*, 129–138.
- Van Neste, L., Hendriks, R.J., Dijkstra, S., Trooskens, G., Cornel, E.B., Jannink, S.A., de Jong, H., Hessels, D., Smit, F.P., Melchers, W.J.G., et al. (2016a). Detection of High-grade Prostate Cancer Using a Urinary Molecular Biomarker-Based Risk Score. *Eur. Urol.* *70*, 740–748.
- Van Neste, L., Partin, A.W., Stewart, G.D., Epstein, J.I., Harrison, D.J., and Van Criekinge, W. (2016b). Risk score predicts high-grade prostate cancer in DNA-methylation positive, histopathologically negative biopsies. *The Prostate* *76*, 1078–1087.
- Varambally, S., Dhanasekaran, S.M., Zhou, M., Barrette, T.R., Kumar-Sinha, C., Sanda, M.G., Ghosh, D., Pienta, K.J., Sewalt, R.G.A.B., Otte, A.P., et al. (2002). The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer. *Nature* *419*, 624–629.
- Vedin, L.-L., Lewandowski, S.A., Parini, P., Gustafsson, J.-Å., and Steffensen, K.R. (2009). The oxysterol receptor LXR inhibits proliferation of human breast cancer cells. *Carcinogenesis* *30*, 575–579.
- Veldscholte, J., Ris-Stalpers, C., Kuiper, G.G., Jenster, G., Berrevoets, C., Claassen, E., van Rooij, H.C., Trapman, J., Brinkmann, A.O., and Mulder, E. (1990). A mutation in the ligand binding domain of the androgen receptor of human LNCaP cells affects steroid binding characteristics and response to anti-androgens. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *173*, 534–540.
- Veldscholte, J., Berrevoets, C.A., Ris-Stalpers, C., Kuiper, G.G., Jenster, G., Trapman, J., Brinkmann, A.O., and Mulder, E. (1992). The androgen receptor in LNCaP cells contains a mutation in the ligand binding domain which affects steroid binding characteristics and response to antiandrogens. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* *41*, 665–669.
- Venkateswaran, A., Repa, J.J., Lobaccaro, J.M., Bronson, A., Mangelsdorf, D.J., and Edwards, P.A. (2000). Human white/murine ABC8 mRNA levels are highly induced in lipid-loaded macrophages. A transcriptional role for specific oxysterols. *J. Biol. Chem.* *275*, 14700–14707.
- Vesalainen, S., Lipponen, P., Talja, M., and Syrj anen, K. (1994). Histological grade, perineural infiltration, tumour-infiltrating lymphocytes and apoptosis as determinants of long-term prognosis in prostatic adenocarcinoma. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* *1990* *30A*, 1797–1803.
- Vesely, M.D., Kershaw, M.H., Schreiber, R.D., and Smyth, M.J. (2011). Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annu. Rev. Immunol.* *29*, 235–271.
- Vidal, A.C., Howard, L.E., Moreira, D.M., Castro-Santamaria, R., Andriole, G.L., and Freedland, S.J. (2015). Aspirin, NSAIDs, and risk of prostate cancer: results from the REDUCE study. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* *21*, 756–762.
- Vidotto, T., Saggiaro, F.P., Jamaspishvili, T., Chesca, D.L., Picanço de Albuquerque, C.G., Reis, R.B., Graham, C.H., Berman, D.M., Siemens, D.R., Squire, J.A., et al. (2019). PTEN-deficient prostate cancer is associated with an immunosuppressive tumor microenvironment mediated by increased expression of IDO1 and infiltrating FoxP3+ T regulatory cells. *The Prostate* *79*, 969–979.
- Viennois, E., Pommier, A.J., Mouzat, K., Oumeddour, A., Hajjaji, F.-Z. El, Dufour, J., Caira, F., Volle, D.H., Baron, S., and Lobaccaro, J.-M.A. (2011). Targeting liver X receptors in human health: deadlock or promising trail? *Expert Opin. Ther. Targets* *15*, 219–232.

- Viennois, E., Esposito, T., Dufour, J., Pommier, A., Fabre, S., Kemeny, J.-L., Guy, L., Morel, L., Lobaccaro, J.-M., and Baron, S. (2012). *Lxra* regulates the androgen response in prostate epithelium. *Endocrinology* *153*, 3211–3223.
- Villablanca, E.J., Raccosta, L., Zhou, D., Fontana, R., Maggioni, D., Negro, A., Sanvito, F., Ponzoni, M., Valentinis, B., Bregni, M., et al. (2010). Tumor-mediated liver X receptor- α activation inhibits CC chemokine receptor-7 expression on dendritic cells and dampens antitumor responses. *Nat. Med.* *16*, 98–105.
- Visakorpi, T., Kallioniemi, A.H., Syvänen, A.C., Hyytinen, E.R., Karhu, R., Tammela, T., Isola, J.J., and Kallioniemi, O.P. (1995a). Genetic changes in primary and recurrent prostate cancer by comparative genomic hybridization. *Cancer Res.* *55*, 342–347.
- Visakorpi, T., Hyytinen, E., Koivisto, P., Tanner, M., Keinänen, R., Palmberg, C., Palotie, A., Tammela, T., Isola, J., and Kallioniemi, O.-P. (1995b). In vivo amplification of the androgen receptor gene and progression of human prostate cancer. *Nat. Genet.* *9*, 401–406.
- Vivier, E., Tomasello, E., Baratin, M., Walzer, T., and Ugolini, S. (2008). Functions of natural killer cells. *Nat. Immunol.* *9*, 503–510.
- Vlaeminck-Guillem, V., Campos-Fernandes, J.-L., Champetier, D., Chikh, K., Decaussin-Petrucci, M., Devonec, M., Gobeaux, N., Paparel, P., Perrin, P., Rodriguez-Lafrasse, C., et al. (2011). [Value of PCA3 urinary test for prostate biopsy decision: the Lyon-Sud University Hospital experience]. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* *69*, 31–39.
- Volle, D.H., Mouzat, K., Duggavathi, R., Siddeek, B., Déchelotte, P., Sion, B., Veyssièrre, G., Benahmed, M., and Lobaccaro, J.-M.A. (2007). Multiple Roles of the Nuclear Receptors for Oxysterols Liver X Receptor to Maintain Male Fertility. *Mol. Endocrinol.* *21*, 1014–1027.
- Vukovic, B., Park, P.C., Al-Maghrabi, J., Beheshti, B., Sweet, J., Evans, A., Trachtenberg, J., and Squire, J. (2003). Evidence of multifocality of telomere erosion in high-grade prostatic intraepithelial neoplasia (HPIN) and concurrent carcinoma. *Oncogene* *22*, 1978–1987.
- Vykhovanets, E.V., Shukla, S., MacLennan, G.T., Vykhovanets, O.V., Bodner, D.R., and Gupta, S. (2009). IL-1 beta-induced post-transition effect of NF- κ B provides time-dependent wave of signals for initial phase of intrapostatic inflammation. *The Prostate* *69*, 633–643.
- Vykhovanets, E.V., Shankar, E., Vykhovanets, O.V., Shukla, S., and Gupta, S. (2011). High-fat diet increases NF- κ B signaling in the prostate of reporter mice. *The Prostate* *71*, 147–156.
- Waltering, K.K., Urbanucci, A., and Visakorpi, T. (2012). Androgen receptor (AR) aberrations in castration-resistant prostate cancer. *Mol. Cell. Endocrinol.* *360*, 38–43.
- Wang, H.Q., Altomare, D.A., Skele, K.L., Poulidakos, P.I., Kuhajda, F.P., Di Cristofano, A., and Testa, J.R. (2005a). Positive feedback regulation between AKT activation and fatty acid synthase expression in ovarian carcinoma cells. *Oncogene* *24*, 3574–3582.
- Wang, Q., Li, W., Zhang, Y., Yuan, X., Xu, K., Yu, J., Chen, Z., Beroukhi, R., Wang, H., Lupien, M., et al. (2009a). Androgen Receptor Regulates a Distinct Transcription Program in Androgen-Independent Prostate Cancer. *Cell* *138*, 245–256.
- Wang, S., Gao, J., Lei, Q., Rozengurt, N., Pritchard, C., Jiao, J., Thomas, G.V., Li, G., Roy-Burman, P., Nelson, P.S., et al. (2003). Prostate-specific deletion of the murine *Pten* tumor suppressor gene leads to metastatic prostate cancer. *Cancer Cell* *4*, 209–221.
- Wang, W., Bergh, A., and Damber, J.-E. (2005b). Cyclooxygenase-2 expression correlates with local chronic inflammation and tumor neovascularization in human prostate cancer. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* *11*, 3250–3256.
- Wang, W., Bergh, A., and Damber, J.-E. (2009b). Morphological transition of proliferative inflammatory atrophy to high-grade intraepithelial neoplasia and cancer in human prostate. *The Prostate* *69*, 1378–1386.
- Warburg, O. (1956). On the origin of cancer cells. *Science* *123*, 309–314.
- Warburg, O., Wind, F., and Negelein, E. (1927). THE METABOLISM OF TUMORS IN THE BODY. *J. Gen. Physiol.* *8*, 519–530.
- Wassef, M., Rodilla, V., Teissandier, A., Zeitouni, B., Gruel, N., Sadacca, B., Irondelle, M., Charruel, M., Ducos, B., Michaud, A., et al. (2015). Impaired PRC2 activity promotes transcriptional instability and favors breast tumorigenesis. *Genes Dev.* *29*, 2547–2562.
- Weber, G.F., Zawaideh, S., Hikita, S., Kumar, V.A., Cantor, H., and Ashkar, S. (2002). Phosphorylation-dependent interaction of osteopontin with its receptors regulates macrophage migration and activation. *J. Leukoc. Biol.* *72*, 752–761.
- Weber, G.F., Lett, G.S., and Haubein, N.C. (2010). Osteopontin is a marker for cancer aggressiveness and patient survival. *Br. J. Cancer* *103*, 861–869.

- Wei, J., Marisetty, A., Schrand, B., Gabrusiewicz, K., Hashimoto, Y., Ott, M., Grami, Z., Kong, L.-Y., Ling, X., Caruso, H., et al. (2019). Osteopontin mediates glioblastoma-associated macrophage infiltration and is a potential therapeutic target. *J. Clin. Invest.* *129*, 137–149.
- Weinfurt, K.P., Li, Y., Castel, L.D., Saad, F., Timbie, J.W., Glendenning, G.A., and Schulman, K.A. (2005). The significance of skeletal-related events for the health-related quality of life of patients with metastatic prostate cancer. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* *16*, 579–584.
- Wen, Y., Hu, M.C.-T., Makino, K., Spohn, B., Bartholomeusz, G., Yan, D.-H., and Hung, M.-C. (2000). HER-2/neu Promotes Androgen-independent Survival and Growth of Prostate Cancer Cells through the Akt Pathway. *Cancer Res.* *60*, 6841–6845.
- Westerterp, M., Murphy, A.J., Wang, M., Pagler, T.A., Vengrenyuk, Y., Kappus, M.S., Gorman, D.J., Nagareddy, P.R., Zhu, X., Abramowicz, S., et al. (2013). Deficiency of ATP-binding cassette transporters A1 and G1 in macrophages increases inflammation and accelerates atherosclerosis in mice. *Circ. Res.* *112*, 1456–1465.
- White, C. (1909). The occurrence of crystals in tumours. *J. Pathol. Bacteriol.* *13*, 3–10.
- Willy, P.J., Umesono, K., Ong, E.S., Evans, R.M., Heyman, R.A., and Mangelsdorf, D.J. (1995a). LXR, a nuclear receptor that defines a distinct retinoid response pathway. *Genes Dev.* *9*, 1033–1045.
- Willy, P.J., Umesono, K., Ong, E.S., Evans, R.M., Heyman, R.A., and Mangelsdorf, D.J. (1995b). LXR, a nuclear receptor that defines a distinct retinoid response pathway. *Genes Dev.* *9*, 1033–1045.
- Witte, J.S. (2009). Prostate cancer genomics: towards a new understanding. *Nat. Rev. Genet.* *10*, 77–82.
- Woo, J.R., Liss, M.A., Muldong, M.T., Palazzi, K., Strasner, A., Ammirante, M., Varki, N., Shabaik, A., Howell, S., Kane, C.J., et al. (2014). Tumor infiltrating B-cells are increased in prostate cancer tissue. *J. Transl. Med.* *12*, 30.
- Wu, C., Hussein, M.A., Shrestha, E., Leone, S., Aiyegbo, M.S., Lambert, W.M., Pourcet, B., Cardozo, T., Gustafson, J.-A., Fisher, E.A., et al. (2015). Modulation of Macrophage Gene Expression via Liver X Receptor α Serine 198 Phosphorylation. *Mol. Cell. Biol.* *35*, 2024–2034.
- Wu, K.J., Grandori, C., Amacker, M., Simon-Vermot, N., Polack, A., Lingner, J., and Dalla-Favera, R. (1999). Direct activation of TERT transcription by c-MYC. *Nat. Genet.* *21*, 220–224.
- Wu, L., Wen, H., Zhou, Y., Yu, H., Liu, Y., Bai, L., Kijlstra, A., and Yang, P. (2014). Activation of the liver X receptor inhibits Th17 and Th1 responses in Behcet's disease and Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Curr. Mol. Med.* *14*, 712–722.
- Wu, X., Wu, J., Huang, J., Powell, W.C., Zhang, J., Matusik, R.J., Sangiorgi, F.O., Maxson, R.E., Sucov, H.M., and Roy-Burman, P. (2001). Generation of a prostate epithelial cell-specific Cre transgenic mouse model for tissue-specific gene ablation. *Mech. Dev.* *101*, 61–69.
- Xie, H., Xie, B., Liu, C., Wang, J., and Xu, Y. (2017). Association of PTEN expression with biochemical recurrence in prostate cancer: results based on previous reports. *OncoTargets Ther.* *10*, 5089–5097.
- Xiong, H., Zhang, Y., Chen, S., Ni, Z., He, J., Li, X., Li, B., Zhao, K., Yang, F., Zeng, Y., et al. (2017). Induction of SOCS3 by liver X receptor suppresses the proliferation of hepatocellular carcinoma cells. *Oncotarget* *8*, 64083–64094.
- Xu, H., Barnes, G.T., Yang, Q., Tan, G., Yang, D., Chou, C.J., Sole, J., Nichols, A., Ross, J.S., Tartaglia, L.A., et al. (2003). Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.* *112*, 1821–1830.
- Xu, K., Wu, Z.J., Groner, A.C., He, H.H., Cai, C., Lis, R.T., Wu, X., Stack, E.C., Loda, M., Liu, T., et al. (2012). EZH2 oncogenic activity in castration-resistant prostate cancer cells is Polycomb-independent. *Science* *338*, 1465–1469.
- Yamamoto, T., Sato, N., Sekine, Y., Yumioka, T., Imoto, S., Junicho, A., Fuse, H., and Matsuda, T. (2003). Molecular interactions between STAT3 and protein inhibitor of activated STAT3, and androgen receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *306*, 610–615.
- Yang, Y.A., and Yu, J. (2013). EZH2, an epigenetic driver of prostate cancer. *Protein Cell* *4*, 331–341.
- Yang, Y.-A., Han, W.F., Morin, P.J., Chrest, F.J., and Pizer, E.S. (2002). Activation of fatty acid synthesis during neoplastic transformation: role of mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase. *Exp. Cell Res.* *279*, 80–90.
- Yeh, S., Lin, H.-K., Kang, H.-Y., Thin, T.H., Lin, M.-F., and Chang, C. (1999). From HER2/Neu signal cascade to androgen receptor and its coactivators: A novel pathway by induction of androgen target genes through MAP kinase in prostate cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *96*, 5458–5463.

- Yellaturu, C.R., Deng, X., Cagen, L.M., Wilcox, H.G., Mansbach, C.M., Siddiqi, S.A., Park, E.A., Raghov, R., and Elam, M.B. (2009). Insulin enhances post-translational processing of nascent SREBP-1c by promoting its phosphorylation and association with COPII vesicles. *J. Biol. Chem.* *284*, 7518–7532.
- Yepuru, M., Wu, Z., Kulkarni, A., Yin, F., Barrett, C.M., Kim, J., Steiner, M.S., Miller, D.D., Dalton, J.T., and Narayanan, R. (2013). Steroidogenic enzyme AKR1C3 is a novel androgen receptor-selective coactivator that promotes prostate cancer growth. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* *19*, 5613–5625.
- Yilmaz, M., and Christofori, G. (2009). EMT, the cytoskeleton, and cancer cell invasion. *Cancer Metastasis Rev.* *28*, 15–33.
- Yokoyama, C., Wang, X., Briggs, M.R., Admon, A., Wu, J., Hua, X., Goldstein, J.L., and Brown, M.S. (1993). SREBP-1, a basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that controls transcription of the low density lipoprotein receptor gene. *Cell* *75*, 187–197.
- Yoshimoto, M., Joshua, A.M., Cunha, I.W., Coudry, R.A., Fonseca, F.P., Ludkovski, O., Zielenska, M., Soares, F.A., and Squire, J.A. (2008). Absence of *TMPRSS2:ERG* fusions and *PTEN* losses in prostate cancer is associated with a favorable outcome. *Mod. Pathol.* *21*, 1451–1460.
- Yu, H., Pardoll, D., and Jove, R. (2009a). STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. *Nat. Rev. Cancer* *9*, 798–809.
- Yu, J., Yu, J., Mani, R.-S., Cao, Q., Brenner, C.J., Cao, X., Wang, X., Wu, L., Li, J., Hu, M., et al. (2010). An Integrated Network of Androgen Receptor, Polycomb, and *TMPRSS2-ERG* Gene Fusions in Prostate Cancer Progression. *Cancer Cell* *17*, 443–454.
- Yu, X., Wang, Y., Jiang, M., Bierie, B., Roy-Burman, P., Shen, M.M., Taketo, M.M., Wills, M., and Matusik, R.J. (2009b). Activation of beta-Catenin in mouse prostate causes HGPIN and continuous prostate growth after castration. *The Prostate* *69*, 249–262.
- Yu, X., Wang, Y., DeGraff, D.J., Wills, M.L., and Matusik, R.J. (2011). Wnt/ β -Catenin activation promotes prostate tumor progression in a mouse model. *Oncogene* *30*, 1868–1879.
- Yue, S., Li, J., Lee, S.-Y., Lee, H.J., Shao, T., Song, B., Cheng, L., Masterson, T.A., Liu, X., Ratliff, T.L., et al. (2014). Cholesteryl Ester Accumulation Induced by PTEN Loss and PI3K/AKT Activation Underlies Human Prostate Cancer Aggressiveness. *Cell Metab.* *19*, 393–406.
- Yumoto, K., Eber, M.R., Wang, J., Cackowski, F.C., Decker, A.M., Lee, E., Nobre, A.R., Aguirre-Ghiso, J.A., Jung, Y., and Taichman, R.S. (2016). Axl is required for TGF- β 2-induced dormancy of prostate cancer cells in the bone marrow. *Sci. Rep.* *6*, 36520.
- Yvan-Charvet, L., Ranalletta, M., Wang, N., Han, S., Terasaka, N., Li, R., Welch, C., and Tall, A.R. (2007). Combined deficiency of ABCA1 and ABCG1 promotes foam cell accumulation and accelerates atherosclerosis in mice. *J. Clin. Invest.* *117*, 3900–3908.
- Yvan-Charvet, L., Welch, C., Pagler, T.A., Ranalletta, M., Lamkanfi, M., Han, S., Ishibashi, M., Li, R., Wang, N., and Tall, A.R. (2008). Increased inflammatory gene expression in ABC transporter-deficient macrophages: free cholesterol accumulation, increased signaling via toll-like receptors, and neutrophil infiltration of atherosclerotic lesions. *Circulation* *118*, 1837–1847.
- Yvan-Charvet, L., Pagler, T., Gautier, E.L., Avagyan, S., Siry, R.L., Han, S., Welch, C.L., Wang, N., Randolph, G.J., Snoeck, H.W., et al. (2010). ATP-binding cassette transporters and HDL suppress hematopoietic stem cell proliferation. *Science* *328*, 1689–1693.
- Zadra, G., Ribeiro, C.F., Chetta, P., Ho, Y., Cacciatore, S., Gao, X., Syamala, S., Bango, C., Photopoulos, C., Huang, Y., et al. (2019). Inhibition of de novo lipogenesis targets androgen receptor signaling in castration-resistant prostate cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *116*, 631–640.
- Zaidi, N., Royaux, I., Swinnen, J.V., and Smans, K. (2012). ATP citrate lyase knockdown induces growth arrest and apoptosis through different cell- and environment-dependent mechanisms. *Mol. Cancer Ther.* *11*, 1925–1935.
- Zaidi, N., Lupien, L., Kuemmerle, N.B., Kinlaw, W.B., Swinnen, J.V., and Smans, K. (2013). Lipogenesis and lipolysis: the pathways exploited by the cancer cells to acquire fatty acids. *Prog. Lipid Res.* *52*, 585–589.
- Zang, T., Taplin, M.-E., Tamae, D., Xie, W., Mesaros, C., Zhang, Z., Bublely, G., Montgomery, B., Balk, S.P., Mostaghel, E.A., et al. (2017). Testicular vs adrenal sources of hydroxy-androgens in prostate cancer. *Endocr. Relat. Cancer* *24*, 393–404.
- Zelcer, N., Hong, C., Boyadjian, R., and Tontonoz, P. (2009). LXR regulates cholesterol uptake through Idol-dependent ubiquitination of the LDL receptor. *Science* *325*, 100–104.
- Zhang, E., Dai, F., Mao, Y., He, W., Liu, F., Ma, W., and Qiao, Y. (2019). Differences of the immune cell landscape between normal and tumor tissue in human prostate. *Clin. Transl. Oncol. Off. Publ. Fed. Span. Oncol. Soc. Natl. Cancer Inst. Mex.*

- Zhao, S.G., Lehrer, J., Chang, S.L., Das, R., Erho, N., Liu, Y., Sjöström, M., Den, R.B., Freedland, S.J., Klein, E.A., et al. (2019). The Immune Landscape of Prostate Cancer and Nomination of PD-L2 as a Potential Therapeutic Target. *J. Natl. Cancer Inst.* *111*, 301–310.
- Zhao, X.Y., Malloy, P.J., Krishnan, A.V., Swami, S., Navone, N.M., Peehl, D.M., and Feldman, D. (2000). Glucocorticoids can promote androgen-independent growth of prostate cancer cells through a mutated androgen receptor. *Nat. Med.* *6*, 703–706.
- Zhong, H., Chiles, K., Feldser, D., Laughner, E., Hanrahan, C., Georgescu, M.-M., Simons, J.W., and Semenza, G.L. (2000). Modulation of Hypoxia-inducible Factor 1 α Expression by the Epidermal Growth Factor/Phosphatidylinositol 3-Kinase/PTEN/AKT/FRAP Pathway in Human Prostate Cancer Cells: Implications for Tumor Angiogenesis and Therapeutics. *Cancer Res.* *60*, 1541–1545.
- Zhou, Z., Flesken-Nikitin, A., Corney, D.C., Wang, W., Goodrich, D.W., Roy-Burman, P., and Nikitin, A.Y. (2006). Synergy of p53 and Rb Deficiency in a Conditional Mouse Model for Metastatic Prostate Cancer. *Cancer Res.* *66*, 7889–7898.
- Zhu, P., Baek, S.H., Bourk, E.M., Ohgi, K.A., Garcia-Bassets, I., Sanjo, H., Akira, S., Kotol, P.F., Glass, C.K., Rosenfeld, M.G., et al. (2006). Macrophage/cancer cell interactions mediate hormone resistance by a nuclear receptor derepression pathway. *Cell* *124*, 615–629.
- Zhu, Y., Yang, J., Xu, D., Gao, X.M., Zhang, Z., Hsu, J.L., Li, C.-W., Lim, S.-O., Sheng, Y.Y., Zhang, Y., et al. (2019). Disruption of tumour-associated macrophage trafficking by the osteopontin-induced colony-stimulating factor-1 signalling sensitises hepatocellular carcinoma to anti-PD-L1 blockade. *Gut* *68*, 1653–1666.
- Zhuang, L., Lin, J., Lu, M.L., Solomon, K.R., and Freeman, M.R. (2002). Cholesterol-rich Lipid Rafts Mediate Akt-regulated Survival in Prostate Cancer Cells. *Cancer Res.* *62*, 2227–2231.
- Zhuang, L., Kim, J., Adam, R.M., Solomon, K.R., and Freeman, M.R. (2005). Cholesterol targeting alters lipid raft composition and cell survival in prostate cancer cells and xenografts. *J. Clin. Invest.* *115*, 959–968.
- Zong, Y., Xin, L., Goldstein, A.S., Lawson, D.A., Teitell, M.A., and Witte, O.N. (2009). ETS family transcription factors collaborate with alternative signaling pathways to induce carcinoma from adult murine prostate cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *106*, 12465–12470.
- Zwarts, I., Zutphen, T. van, Kruit, J.K., Liu, W., Oosterveer, M.H., Verkade, H.J., Uhlenhaut, N.H., and Jonker, J.W. (2019). Identification of the fructose transporter GLUT5 (SLC2A5) as a novel target of nuclear receptor LXR. *Sci. Rep.* *9*, 9299.

Résumé

Les formes avancées du cancer de la prostate sont classiquement traitées par hormonothérapie. Malheureusement, la plupart des patients, répondant initialement à la privation androgénique, font l'expérience d'une reprise de la croissance tumorale sous traitement qui progresse inévitablement vers un stade létal de la pathologie, le cancer de la prostate résistant à la castration (CRPC).

Les altérations du métabolisme lipidique représentent une caractéristique clé des cellules tumorales prostatiques. Parmi ces anomalies, les tumeurs prostatiques accumulent de manière excessive du cholestérol. De façon cohérente, les études épidémiologiques associent de forts taux de cholestérol avec un risque plus élevé de survenue d'un cancer de la prostate et des formes agressives de la pathologie. Les récepteurs nucléaires LXR jouent un rôle important dans le maintien de l'homéostasie intracellulaire du cholestérol. Par ailleurs, ils jouent également un rôle clé dans la physiologie immunitaire en régulant notamment les processus inflammatoires. Enfin, des travaux précédemment menés notamment dans l'équipe ont démontré les effets anti-prolifératifs et pro-apoptotiques des LXR dans le cancer de la prostate.

Dans ce contexte, l'objectif de mes travaux de thèse a été d'étudier le rôle des récepteurs nucléaires LXR dans le cancer de la prostate et plus particulièrement dans sa réponse à la castration. Les résultats montrent que les souris invalidées pour les LXR présentent en réponse à la castration une inflammation chronique de la prostate qui conduit plus tardivement à l'émergence de lésions néoplasiques. En modèle murin de tumorigenèse induite par la perte du suppresseur de tumeurs *Pten*, l'inactivation des LXR ne modifie pas l'agressivité des tumeurs. Cependant, en réponse à la castration, les souris mutantes pour *Pten* et pour les LXR présentent une exacerbation de l'inflammation qui est associée à une prolifération accrue de la prostate, sans modification de l'agressivité des tumeurs. Pour s'affranchir du rôle des LXR dans le microenvironnement tumoral, et plus particulièrement dans le contrôle de la réponse immunitaire à la castration, nous avons développé et étudié le phénotype des souris invalidées de façon conditionnelle pour les LXR au niveau de l'épithélium prostatique. Des données préliminaires ont montré que l'inactivation épithéliale des LXR ne semble pas induire de phénotype épithélial prostatique.

Au final, ces résultats montrent que les récepteurs nucléaires LXR, en régulant l'inflammation en réponse à la castration, peuvent favoriser l'initiation et augmenter la prolifération de lésions tumorales de la prostate.

Mots clés : Cancer de la prostate ; Privation androgénique ; LXR ; Inflammation

Abstract

Androgen deprivation therapy remains the gold standard treatment for advanced prostate cancer. Unfortunately, most of the patients who initially respond to androgen deprivation therapy, later experience tumor relapse, which inevitably progresses to a lethal pathology, named castration-resistant prostate cancer (CRPC).

Lipid metabolism anomalies are a key feature of prostate tumor cells. Among these, prostate tumors present excessive cholesterol accumulation. Consistently, epidemiologic studies associate high level of cholesterol with an increased risk of prostate cancer and advanced pathology. LXR nuclear receptors are key regulators of intracellular cholesterol homeostasis that are also implicated in immune physiology through regulation of inflammatory processes. Previous studies conducted in our lab also demonstrated the anti-proliferative and pro-apoptotic effects of LXR in prostate cancer, suggesting a potential central role of these nuclear receptors in this disease.

In this context, the goal of my work was to study the role of nuclear receptors LXR in prostate cancer and especially in response to castration. My results show that in response to castration, LXR knockout mice present chronic inflammation of the prostate that eventually induces development of neoplasia. In a *Pten*-null tumor mouse model, LXR deletion exacerbates inflammation and results in a concomitant increase in proliferation of the prostate. However, this has no significant impact on tumor aggressiveness. To bypass the role of LXR in tumor microenvironment, and especially in the control of immune response to castration, we developed and studied the phenotype mice with conditional ablation of LXR restricted to prostate epithelium. Preliminary analyses did not show a significant phenotype in the prostate of these mice, suggesting that most of the effects of LXR ablation in the prostate result from its activity in the microenvironment.

Altogether, these results demonstrate that LXR nuclear receptors, by regulating inflammation in response to castration, can favor epithelial tumor initiation and increase proliferation of the prostate.

Key words : Prostate cancer ; androgen deprivation ; LXR ; Inflammation