

# Rayonnements et cancer

*D. Dormont, Laboratoire de neuropathologie expérimentale et neurovirologie, Centre de Recherches du Service de Santé des Armées, Commissariat à l'Énergie Atomique, 92 Fontenay aux Roses  
Cancérologie aujourd'hui, 1994 ; 3(5-6) : 217-235*

Si les effets cancérogènes des rayonnements ont été démontrés à la fin du siècle dernier, les mécanismes qui régissent l'apparition des cancers après irradiation restent encore mal compris. Ce manque relatif de connaissances tient à la nature plurifactorielle des mécanismes généraux de la cancérogenèse d'une part, et à la difficulté d'intégrer dans un même concept les données de l'épidémiologie et les résultats obtenus lors des expérimentations animales; ceci explique, entre autres, la méconnaissance des effets carcinogénétiques des rayonnements à faible dose. L'épidémiologie, par nature descriptive, s'appuie essentiellement sur les données recueillies après les explosions nucléaires d'Hiroshima et de Nagasaki, et sur les observations effectuées chez les individus présentant une tumeur maligne après exposition thérapeutique aux rayonnements, ainsi que chez les sujets soumis à une irradiation naturelle particulièrement élevée. La disparité de ces populations - ethnique donc génétique et «coutumier», géographique, âge au moment de l'irradiation, histoire médicale, nature de l'irradiation, doses reçues, caractère localisé ou global de l'irradiation, mode de délivrance de la dose - explique largement l'impossibilité de proposer un modèle satisfaisant à partir des données de l'observation humaine. Par ailleurs, les expérimentations animales utilisent des situations artificielles, chez des animaux souvent génétiquement identiques, ne permettant pas toujours d'intégrer les caractéristiques plurifactorielles des processus biologiques de cancérisation, dont l'importance va probablement croissant lorsque la dose de rayonnement diminue et s'étale dans le temps.

Néanmoins, la génétique, l'immunologie et la biologie moléculaire modernes ont permis d'avancer considérablement dans la compréhension de quelques mécanismes fondamentaux de l'action biologique des rayonnements : interaction «rayonnement - acides nucléiques», réparation de l'ADN et mutagenèse, instabilité chromosomique, paramètres moléculaires des maladies humaines génétiques dites de fragilité chromosomique ou «réparoses», conséquences moléculaires du burst oxydatif, etc. Cette progression des sciences fondamentales permet d'approcher les facteurs initiaux de la cancérogenèse radioinduite, laissant cependant dans un flou relatif les deux autres étapes conduisant à l'émergence des cancers que sont la promotion et la progression. A ce jour, la cancérogenèse peut être considérée comme un processus biologique au cours duquel semblent intervenir au moins deux événements intracellulaires. En effet, le nombre des cancers augmentant avec l'âge, et la

période de latence entre l'exposition au cancérogène et l'apparition du cancer étant toujours importante, une nature monofactorielle des cancers est fortement improbable dans la majorité des cas, ce qui impose une prise en compte pluri-événementielle du phénomène global de cancérogenèse radioinduite..

Au cours de ces dernières années, plusieurs séries de faits ont conduit à reconsidérer les effets cancérogènes des rayonnements: l'un est d'ordre épidémiologique et porte sur une réévaluation des doses délivrées lors des explosions nucléaires au Japon, l'autre est d'ordre expérimental et va dans le sens d'une susceptibilité génétique au développement des tumeurs radioinduites. Enfin, la notion de «réponse adaptative aux rayonnements» doit être prise en compte: ce concept recouvre le fait qu'une très faible dose d'irradiation est capable de diminuer les effets délétères de l'administration ultérieure d'une dose plus élevée.

# Radiobiologie moléculaire et cellulaire

## Les interactions rayonnements acides nucléiques

Les rayonnements sont capables d'interagir avec les acides nucléiques<sup>1,3</sup>. Cette action peut être directe ou indirecte via la genèse des radicaux libres obtenus par radiolyse de l'eau. Les lésions possibles sont :

- les altérations des bases (méthylation, méthoxylation, échange de bases, etc.)
- la destruction du désoxyribose
- les ruptures simple-brin
- les ruptures double brin
- les pontages intra-brin, inter-brins et ADN-protéine.

La proportion des divers types de lésion varie avec le volume irradié, la dose, le débit de dose, et la nature physique du rayonnement : ces lésions doivent être prises en compte selon un aspect probabilistique.

La corrélation entre la radiosensibilité et l'altération des processus génétiques conduisant à la réparation de l'ADN semble maintenant établie aussi bien chez les micro-organismes que dans les cellules de mammifères<sup>4</sup>.

## Les systèmes de réparation

Sous certaines conditions, la cellule est capable de réparer une lésion simple brin radio-induite de son ADN. La réparation s'effectue schématiquement comme suit :

- intervention d'une endonucléase et d'une exonucléase, qui excisent la lésion en coupant le brin d'ADN à distance du site lésé.
- intervention d'une ADN polymérase qui synthétise la portion manquante du brin d'ADN grâce à la matrice que constitue le brin resté intact.
- intervention d'une ligase qui réunit les divers morceaux d'ADN néosynthétisés avec le brin lésé et qui nécessite la présence du poly ADP ribose.
- intervention d'une cascade enzymatique, dont la topoisomérase, qui permet le "finissage" de la réparation et le recouvrement de la structure quaternaire de la molécule.

Classiquement, on admet que le système de réparation de l'ADN peut être à la source de l'induction de lésions potentiellement malignes. Lorsque deux lésions monobrins concernent deux brins de la même

molécule d'ADN, et lorsque les lésions sont très proches l'une de l'autre, il peut y avoir création d'une lésion double brin lors de la mise en jeu des systèmes de réparation. En effet, la première étape d'excision s'effectue grâce à une coupure à distance des lésions : si les deux zones ainsi excisées se recouvrent spatialement, l'ADN polymérase ne dispose plus d'aucune matrice pour reconstituer les séquences manquantes. La démonstration formelle de la réalité de ces phénomènes *in vivo* chez les eucaryotes n'a pas été encore apportée.

## Les interactions des rayonnements avec les autres compartiments cellulaires

Les autres sous-structures cellulaires ne sont atteintes que pour des doses en général supralétales : il s'agit des mécanismes de transport membranaires, de l'expression des récepteurs, des mécanismes généraux de détoxication, et de l'architecture générale de la cellule liée au maintien des structures du cytosquelette. Les interactions entre rayonnements et membranes cellulaires sont la conséquence d'une peroxydation par les radicaux libres (libérés lors de la radiolyse de l'eau) des phospholipides des systèmes membranaires. Des modifications des propriétés biophysiques de la double couche phospholipidique peuvent apparaître et retentir sur les protéines membranaires dont la structure quaternaire et la fonction sont souvent intimement liées à la nature de l'environnement lipidique. De même les interactions avec le cytosquelette apparaissent dans des gammes de dose de l'ordre de cent grays : les rayonnements sont capables d'induire des défauts de polymérisation des protéines du cytosquelette, et, plus généralement, des systèmes contractiles cellulaires. Bien que ces lésions n'aient pas été observées à des doses compatibles avec la survie cellulaire, on peut supposer cependant qu'elles existent à minima aux doses plus faibles, et que le retard à la mitose observé lors de l'irradiation de cellules en croissance dû à la survenue d'un allongement de la phase G2 pourrait être relié à une mauvaise mise en place du fuseau induit par une activité déficiente des systèmes de polymérisation des protéines de l'architecture cellulaire. Le développement et l'amélioration des méthodes de détection des anomalies fonctionnelles des systèmes lipidoprotéiques devrait permettre de confirmer ces hypothèses.

## Les mécanismes de la cancérogenèse cibles des rayonnements

Les mécanismes de la cancérogenèse radio-induite relèvent de 3 ordres au moins :

1) les rayonnements sont capables d'induire des mutations, allant de l'altération d'un seul gène jusqu'à l'atteinte d'un chromosome.

2) les rayonnements sont capables de moduler l'expression des gènes, sans pour cela atteindre la structure intime de ces derniers.

3) les rayonnements sont capables d'induire l'expression de virus oncogènes.

L'importance relative de ces facteurs est variable d'un individu à l'autre et d'un type de cancer à un autre, et l'apparition d'un cancer est fort probablement le résultat de leur action coordonnée. Par exemple, la présence de la même anomalie génique (Rb-) au niveau du chromosome 13 chez les patients atteints de rétinoblastome démontre le caractère causal d'une mutation dans la cancérogenèse, renforçant la théorie classique de la mutation somatique. Par ailleurs, les expériences anciennes de transfert de noyau provenant de cellules cancéreuses dans des ovocytes dénucléés capables alors de donner naissance à des organismes normaux montrent que la seule modulation de l'expression des gènes peut agir comme facteur de cancérogenèse. L'association des modulations de l'expression génique et des anomalies de type mutationnel étant, bien sûr, loin d'être exclue.

### Les relations «ADN - cancer»:

#### l'exemple des maladies par anomalie du système de réparation de l'ADN

Ce sont les classiques syndromes de «fragilité chromosomique» : l'ataxie télangiectasique, le syndrome de Bloom, le syndrome de Cockaine, la maladie de Chédiak-Higashi, l'anémie de Fanconi, et le *Xeroderma Pigmentosum* (XP). Ces maladies sont congénitales, et ne semblent pas impliquer l'un quelconque des gènes directement impliqués dans les processus de cancérogenèse<sup>5</sup>.

Dans chacun de ces cas, on a pu suspecter ou démontrer un déficit du système de réparation des lésions de l'ADN, dont la nature n'est parfois pas forcément identifiée, qui conduit à l'apparition de néoplasies dans l'évolution de ces patients<sup>4,5</sup> cancers cutanés après irradiation UV en ce qui concerne le XP, leucémie aiguë myélomonoblastique en ce qui concerne l'anémie de Fanconi (probablement due au déficit de la synthèse de l'ADP-ribose) lymphome lors

de l'ataxie télangiectasique, anomalies de la réparation des lésions de l'ADN dans la maladie de Chédiak-Higashi conduisant, entre autres, à une altération du cytosquelette. etc.

Parmi ces maladies, le *Xeroderma Pigmentosum* est particulièrement intéressant pour le radiobiologiste. Cliniquement, l'association d'une poikilodermie avec atrophie, dyschromie et télangiectasies, d'une débilité mentale, d'une microphthalmie et d'un hypogonadisme constitue la symptomatologie habituelle sous laquelle se présentent ces patients. Les lésions dégénératives épithéliomateuses peuvent aboutir à un épithélioma basocellulaire ou spinocellulaire, et, parfois, à un mélanome malin. Ces phénomènes de dégénérescence maligne se retrouvent le plus souvent après exposition des zones cutanées au rayonnement solaire. Au plan moléculaire, bon nombre des gènes impliqués dans la réparation des lésions radioinduites sont connus et caractérisés<sup>6</sup> : dans le *Xeroderma Pigmentosum*, il s'agit d'un déficit en endonucléase UV-spécifique, rendant impossible l'étape d'excision des lésions induites au niveau de l'ADN (dimères de thymidine, etc.) par le rayonnement ultraviolet. On peut donc directement relier dans ce cas précis l'exposition aux rayonnements avec une cancérisation des zones exposées. Néanmoins, certains travaux récents indiquent que les altérations du système de réparation de l'ADN, siégeant dans l'ensemble de l'organisme, peuvent induire, au niveau des cellules immunocompétentes chargées de l'élimination des cellules tumorales, un déficit fonctionnel dont la conséquence est l'impossibilité d'éradiquer les cellules malignes : ces microtumeurs peuvent alors croître aisément grâce au système immunitaire rendu déficient par la mauvaise réparation des lésions chromosomiques. L'identité de mécanismes moléculaires de la trichothiodystrophie, dans laquelle on n'observe pas de tumeurs, et de certaines formes de XD démontre qu'une anomalie donnée de la réparation de l'ADN n'est pas toujours associée à l'émergence d'une tumeur.

De nombreux travaux ont tenté de relier radiocarcinogénèse et sites de fragilité chromosomique : les résultats sont parfois opposés. A ce jour, il semble que de nombreux états prédisposant à l'émergence des cancers chez l'homme sont associés à une atteinte chromosomique dépendante du cycle cellulaire<sup>7</sup>. Les sites spécifiques de mutagenèse peuvent correspondre à des zones de cassures du chromosome 5q caractéristiques des syndromes myélodysplasiques, dont on sait qu'ils sont très probablement induits par l'irradiation<sup>8</sup>. La perte de la région 5q entraîne des altérations du facteur régulateur de l'interféron de type I<sup>9</sup>. Dans d'autres situations, l'instabilité chromo-

somique est le facteur génétique associé à la cancérisation : c'est le cas de l'HNPPC (*hereditary non-polyposis colorectal cancer*), ce qui souligne l'importance des séquences répétées et de l'instabilité chromosomique en pathologie cancéreuse<sup>10</sup>. Enfin, dans certains cas, alors qu'il existe une relation clinique directe entre irradiation et apparition de tumeur, aucune anomalie précise de la réparation dans les cellules n'a pu être associée à l'émergence des tumeurs : c'est le cas du *Basal Cell Nevus Syndrome*<sup>11</sup>.

### Les principaux acteurs de la cancérogenèse

Les progrès les plus importants enregistrés ces dernières années ont concerné la description et l'étude de l'activation des proto-oncogènes, et l'étude des gènes répresseurs de tumeurs. Brièvement, la découverte des gènes *v-onc* et *c-onc* dans les espèces aviaires<sup>12, 13</sup> a permis l'identification des proto-oncogènes. Ces oncogènes ont été retrouvés chez l'homme et chez l'animal au sein des tumeurs et dans des systèmes expérimentaux *in vitro*. Leur expression est associée à des modifications de la mécanique chromosomique (mutation, amplification génique, insertions, translocations, etc.) et à des modifications épigénétiques comme les modifications du taux de méthylation de l'ADN. Enfin, l'expression des oncogènes n'est pas spécifique d'une catégorie de tumeur, et un type donné de tumeur peut mettre en jeu l'activation différentielle de plusieurs oncogènes qui vont coopérer dans l'expression phénotypique de la tumeur<sup>14</sup>. Les gènes suppresseurs de tumeur ont été, quant à eux, identifiés à la suite de la description de pertes chromosomiques dans les tumeurs humaines<sup>15</sup>; la première démonstration expérimentale des propriétés des gènes répresseurs de tumeurs a été montrée par des expériences de fusion entre cellules tumorales et cellules normales<sup>16</sup>. La perte chromosomique correspondante a été identifiée dans plusieurs situations de la pathologie humaine, en particulier dans le rétinoblastome (délétion 13q). Si certaines tumeurs sont associées à la perte d'expression d'un seul gène répresseur de tumeur, d'autres, en revanche, impliquent un mécanisme plurigénique, dont le caractère séquentiel est fortement probable. Le rôle physiologique des oncogènes et des gènes répresseurs de tumeurs est multiple : transduction de signaux intracellulaires, facteurs de croissance, DNA binding proteins, facteurs de transcription, récepteurs aux facteurs de croissance (par exemple, les gènes *rb* et *p53* codent pour des protéines qui interviennent dans le cycle cellulaire)<sup>17</sup>. L'importance de la régulation bio-

chimique du cycle cellulaire est l'un des facteurs essentiels de la transformation néoplasique : ce contrôle pourrait être sous la dépendance d'un équilibre fin entre activité des proto-oncogènes et expression des gènes suppresseurs de tumeur, dont les produits ont pour point d'impact l'ensemble des compartiments cellulaires régulant le cycle. On assisterait alors à une perte des capacités de régulation du cycle cellulaire, indispensable aux événements précoces de la cancérogenèse (initiation). Cette approche encore théorique pourrait expliquer le fait que les mutations du gène *p53* soient retrouvées dans un nombre important de tumeurs solides humaines<sup>18</sup>.

Des sites spécifiques de fragilité ont été décrits dans les chromosomes humains. Ces sites d'instabilité seraient, pour certains, un des facteurs prédisposants de la cancérogenèse, et sont reconnus comme des cibles privilégiées de l'irradiation<sup>8</sup>: ces faits suggèrent que les lésions de l'ADN ne sont pas uniformément réparties dans le génome, et que certaines séquences sont à fréquence de recombinaison hautement élevée. Les structures moléculaires de ces sites de fragilité ne sont pas connus, même si les séquences télomériques répétées<sup>19</sup> ont été proposées comme zones de haute fréquence de recombinaison privilégiées.

### Les étapes cellulaires de l'oncogenèse

Les données les plus couramment admises font appel aux trois stades successifs de la cancérogenèse : initiation, promotion et progression. En théorie, l'initiation relève de l'activation d'un oncogène ou de l'inhibition d'un gène suppresseur.

#### 1) L'initiation

L'initiation est le premier stade de la cancérogenèse. A lui seul, il est le plus souvent insuffisant pour entraîner l'apparition d'une tumeur et nécessite la mise en jeu du phénomène de promotion, comme le démontre l'expérience suivante: l'administration d'une dose de cancérogène chimique sub-efficace n'est suivie d'effet que si elle est associée à l'administration répétée d'un agent promoteur, ce dernier étant incapable d'induire par lui-même une augmentation de l'incidence de la tumeur considérée (les agents initiateurs sont cancérogéniques, alors que les promoteurs ne le sont pas). De plus, le promoteur doit être administré de façon répétée pour obtenir l'induction de la tumeur ou l'augmentation de la fréquence spontanée de la tumeur.

Les événements d'initiation apparaissent dans un très grand nombre de cellules, et avec une fréquence très élevée, largement supérieure à la fréquence de mutation d'un locus déterminé. Cette notion suggère

que l'initiation est probablement plus un phénomène d'induction d'instabilité génomique qu'une mutation d'un locus donné. Quoiqu'il en soit, la conséquence de cette instabilité génétique conduit à un phénomène mutationnel, ou, du moins, à une série d'événements qui évoluent comme des mutations. En effet, la présence de cette instabilité génétique va avoir pour conséquence la mise en marche des grands processus de réparation, tel le système «SOS» chez la bactérie, et il est maintenant reconnu qu'un tel système peut être générateur de mutations. Un certain nombre de mutations associées à l'initiation oncogénique a été décrit pour les gènes *ras*, *rb*, *wt*, *nf-l* et *apc*. Chacun de ces proto-oncogènes est activé soit par atteinte spécifique de quelques rares paires de bases, comme c'est le cas pour *ras*, soit par interaction avec des zones nettement plus larges du gène conduisant à des translocations comme c'est le cas pour *ABL* et *BCL-2* par exemple; quelle que soit l'hypothèse, une atteinte de deux sites distincts du génome est indispensable. Pour ce qui concerne les gènes suppresseurs de tumeurs, des mutations ponctuelles ou des délétions importantes ont été rapportées<sup>18, 20, 21</sup>. Au total, les mutations à l'origine de l'initiation sont multiples, mais on admet à ce jour que, pour la cancérogenèse radio-induite, la mutation du gène suppresseur de tumeur est l'événement le plus probable.

## 2) La promotion

Les mécanismes de la promotion sont, quant à eux, très mal connus. Les agents à l'origine de la promotion dans les modèles animaux ont un très faible potentiel oncogène : la plupart d'entre eux interrompt les communications cellulaires (phorbol esters), sans induire directement de mutations, suggérant une modulation de l'expression des gènes. De plus, plusieurs promoteurs différents peuvent être nécessaires à l'apparition d'une tumeur. L'un des promoteurs principaux est le 12-O-tétradécanoyl phorbol acétate (TPA). Dans certains cas, l'administration de ce promoteur est capable de linéariser la relation transformation-dose d'irradiation. Les récepteurs cellulaires de haute affinité ont été identifiés : pour ce qui est du TPA, il s'agit d'une protéine kinase C  $Ca^{++}$  et lipide dépendante<sup>22, 24</sup>. Tout facteur capable d'augmenter l'activité protéine kinase C, comme les cytokines, les hormones, les facteurs de croissance et le diacyl glycérol pourront donc jouer un rôle dans la promotion. Enfin, un certain nombre de substances promotrices est capable d'augmenter le burst oxydatif donc la synthèse des espèces radicalaires capables de créer des lésions des systèmes membranaires et surtout de l'ADN et donc d'augmenter les anomalies cytogénétiques<sup>25</sup>.

Enfin, quelques substances sont capables d'exercer une action antipromotrice : c'est le cas de certains inhibiteurs des protéases<sup>26</sup>, dont on a montré qu'ils pouvaient empêcher de façon irréversible la transformation cellulaire induite par l'irradiation. Quoiqu'il en soit, la promotion requiert fort probablement une altération directe ou indirecte des phénomènes qui président à l'établissement des jonctions intercellulaires (des inhibitions de la promotion ont d'ailleurs été obtenues avec des substances antiradicalaires).

Les promoteurs «naturels» les plus connus appartiennent à la série hormonale et aux facteurs de croissance, dont on sait qu'ils partagent souvent des récepteurs de la même famille. Les mécanismes de la promotion hormonale sont encore très imparfaitement élucidés. Néanmoins, quelques informations récentes indiquent que certaines hormones se comportent comme des co-cancérogènes et qu'elles peuvent majorer l'instabilité chromosomique.

## 3) La progression

Plusieurs notions sont regroupées sous ce vocable : conversion du caractère bénin d'une prolifération en caractère malin, augmentation du potentiel de malignité d'une tumeur cancéreuse, etc. Ces diverses données font toutes appel à une sorte de «sélection clonale», aboutissant à la progression plus rapide des cellules de haut potentiel malin au sein d'une même tumeur, et à la disparition des cellules de faible potentiel de malignité. De plus, les propriétés métastasiantes font partie intégrante de cette étape de la cancérogenèse : là encore, la nature et la force des jonctions intercellulaires jouent un rôle prédominant. Les enzymes qui régulent les interactions entre la cellule et son environnement matriciel semblent modifiées au cours de la progression : par exemple, le caractère invasif du cancer du sein peut être relié à l'expression d'une métalloprotéinase, la stromelysine<sup>37</sup>. Par le biais de la stimulation de la croissance cellulaire, les rayonnements pourraient agir à ce stade de la cancérogenèse.

Il convient de faire une place à part au rôle de l'immunosurveillance dans la promotion et la progression. L'efficacité de l'immunosurveillance dépend d'une part de l'immunogénicité de la tumeur, et d'autre part de la fonctionnalité du système immunitaire. De nombreuses néoplasies sont associées à une immunodéficience, dont on ne sait avec précision si elle est cause ou conséquence de la progression de la tumeur. Dans les cancers associés à une réparation, des anomalies génétiques sont détectables au niveau des populations lymphocytaires : dans l'ataxie télangiectasique, des troubles de la recombinaison des gènes codant pour le récepteur des cellules T ont été démontrées,

pouvant ainsi expliquer, au moins partiellement, l'émergence de leucémies T au cours de cette réparation<sup>28</sup>. Si les fonctions T et B sont relativement bien connues dans les situations de tumorigénèse - leur rôle étant relativement mineur - il n'en n'est pas de même pour la fonction Natural Killer (NK), dont le niveau d'efficacité anti-tumorale n'est toujours pas déterminé. En revanche, son rôle inhibiteur de l'hématopoïèse après irradiation a été rapporté<sup>29</sup>. Quoiqu'il en soit, il est très difficile d'avoir aujourd'hui une vue synthétique de l'implication du système immunitaire dans la cancérisation, d'autant que certains phénomènes comme la fonction cytotoxique restreinte par le complexe majeur d'histocompatibilité et le rôle des cytokines sont encore peu connus.

## Aspects fondamentaux de la cancérogenèse liée aux rayonnements

### Généralités

L'impact des rayonnements peut, en théorie, se situer :

- 1) au niveau de l'altération (directe ou indirecte) de la molécule d'ADN.
- 2) au niveau des phénomènes post-irradiation induits directement par l'altération de l'ADN.
- 3) au niveau de la genèse de mutation au niveau des cibles impliquées dans l'oncogenèse.
- 4) au niveau de l'expansion clonale précoce des cellules transformées, c'est-à-dire de la promotion.
- 5) au niveau de l'accumulation des événements moléculaires épigénétiques ou génétiques conduisant à la progression.

Il est donc nécessaire d'approcher les mécanismes de la cancérogenèse radio-induite au travers, non seulement de l'action mutagène directe des rayonnements, mais aussi au travers de leur aptitude à désorganiser les communications intra et intercellulaires, le tout replacé dans le contexte génétique propre de l'individu.

## Tumorigénèse et radiobiologie cellulaire et moléculaire

La plus grande partie des auteurs s'accorde aujourd'hui pour admettre que les lésions radioinduites de l'ADN varient selon les cellules, en fonction de l'étape du cycle cellulaire, de l'état de différenciation, et de la présence potentielle de métabolites ou de drogues cytotoxiques ou cytostatiques<sup>31</sup>. La concentration en oxygène est un facteur critique de l'amplitude des dommages radio-induits : la production de radicaux libres oxygénés est fonction de la concentration en oxygène et constitue, entre autres, le déterminant moléculaire de l'altération des bases constituant les acides nucléiques. Cet effet délétère de l'oxygène (effet oxygène) peut être partiellement contrebalancé par la présence de groupements thiols (les substances soufrées sont parmi les radioprotecteurs les plus efficaces). La nature de l'environnement direct de la cible ADN est le second facteur moléculaire de la radiosensibilité : en effet, l'ADN nu est beaucoup plus radiosensible que l'ADN entouré de DNA Binding Proteins (bien que ces dernières soient rarement soufrées)<sup>32</sup>. Cet effet protecteur est probablement lié à la capacité des nucléoprotéines à absorber une partie de l'énergie du rayonnement. Ce résultat suggère que la phase de transcription au moment duquel l'irradiation a lieu détermine la probabilité de radiolésion : si le système est en phase de transcription active, l'ADN est débarrassé de sa coque d'histones et de protéines associées, et se trouve donc «nu», susceptible d'avoir une lésion maximale. On comprend donc que la simple mécanique de la transcription explique les différences de radiosensibilité qui peuvent exister entre les gènes d'une même cellule. Au sein de cellules tumorales d'une même origine, il est possible de cloner in vitro des cellules possédant une radiosensibilité différente : cette différence est reliée directement à la structure quaternaire de l'ADN et à la nature et à la quantité de protéines qui l'entourent<sup>34</sup>. Ce phénomène devient complexe, quant à son analyse, lorsque l'information génétique considérée est redondante. A l'échelon d'une culture cellulaire, seule une parfaite synchronisation des cellules dans leur cycle peut permettre une analyse des relations entre «dommage moléculaire de l'ADN» et conséquences fonctionnelles.

Les diverses phases du cycle cellulaire semblent posséder des radiosensibilités différentes, que certains auteurs ont relié à l'état de l'ADN dans la cellule : la cellule serait plus résistante en phase S, ce qui peut sembler en contradiction avec l'hypothèse d'une plus grande sensibilité des acides nucléiques lorsqu'ils sont débarrassés de leur gaine protéique. Toutefois, il

est difficile d'éliminer le rôle de l'activation métabolique spécifique de la phase S pendant laquelle, constitutionnellement, les enzymes de polymérisation et de réparation de l'ADN sont synthétisés à un très haut niveau<sup>35</sup>. Classiquement, l'irradiation de cellules en croissance conduit à un allongement de la transition G1-S et G2 M («délai d'apparition de la mitose» décrit autrefois) ; toutefois, les mécanismes moléculaires précis de ces allongements des délais de transition entre les diverses phases du cycle cellulaire ne sont pas encore connus avec précision. Récemment la p53 a été impliquée dans les modifications du cycle cellulaire : l'intégrité de la fonction p53 est nécessaire à l'apparition du blocage en G1<sup>36</sup>, sans pour autant participer aux phénomènes de cytotoxicité, bien que p53 ait été impliquée dans l'apoptose<sup>37, 38</sup>. La réponse du cycle cellulaire à l'atteinte de l'ADN est un procédé actif impliquant, outre le gène p53, le gène *ras*, et les gènes *gadd* (growth arrest and DNA damage), *sp* (small proline rich), *MyD* (myeloid differentiation), *gas* (growth arrest specific) et *c/EBP*<sup>39</sup>. L'irradiation ultraviolette est capable d'induire des mutations au niveau du gène *gadd* (*gadd45* et *gadd153*) ; le gène muté *gadd45* est aussi retrouvé après irradiation X dans les lymphoblastes humains<sup>40</sup>.

La relation entre cassure de l'ADN et mort cellulaire est difficile à démontrer expérimentalement. En revanche, les cassures chromosomiques sont plus faciles à identifier, mais leur liaison quantitative avec la létalité est difficilement démontrable, sauf peut-être dans les réparoses. In vivo, l'irradiation à des doses compatibles avec une certaine survie (doses inférieures à la dose létale 100%) est capable de provoquer la mort cellulaire : ce phénomène est visible dans l'organisme en voie de développement, particulièrement dans le système hématopoïétique et le système nerveux central. A ces doses, le mécanisme de la mort cellulaire sous irradiation possède les caractéristiques de la mort programmée (F. Ménétrier, communication personnelle). La nature des mutations induites par les rayonnements ne semble pas différer de façon majeure de celles des mutations habituellement rencontrées dans la nature ; cependant, certains hot-spots de cassure chromosomique sous rayonnement ont été décrits dans les lymphocytes (ces régions sont situées dans les bandes T, dont on sait qu'elles sont riches en séquences GC et ALU)(pour revue<sup>41</sup>).

La fidélité de la réparation est l'un des paramètres essentiels de la radiosensibilité<sup>42</sup>. L'avenir appartient probablement à l'approche de la radiosensibilité de la chromatine en fonction de sa structure quaternaire. Pour ce qui est de la cancérogenèse induite par les rayonnements, l'initiation oncogénique va dépendre

du degré de l'effet induit sur le phénotype et, si un proto-oncogène est concerné, de l'activation cellulaire au moment et dans les instants qui suivent la mutation ; l'instabilité chromosomique induite par l'irradiation dans les cellules de mammifères pourrait être à l'origine d'événements génomiques délétères à distance de la radiolésion stricto sensu<sup>43</sup>. Dans cette hypothèse, l'effet des rayonnements sur le génome n'est pas totalement le fruit du hasard mais serait «dirigée» vers les zones d'instabilité, ou liée à des anomalies de la recombinaison<sup>44</sup>. Il reste à démontrer que ces zones d'instabilité sont spécifiques de l'agression radiobiologique ; à ce jour, aucun fait d'observation clinique ou épidémiologique ne permet de le penser, et l'hypothèse d'un «syndrome cellulaire de réaction aux génotoxiques» semble plus probable.

A ce jour, quelques cas d'altérations de gènes suppresseurs de tumeurs ont pu être reliés à l'irradiation in vivo. Par exemple, chez l'homme, les mutations de p53 observées dans le cancer de la peau lié à l'exposition au rayonnement ultraviolet sont majoritairement des dimères de pyrimidine TT et CC, ce qui est conforme à ce qu'on connaît de l'action directe des UV sur le génome<sup>45</sup>. Néanmoins, les liaisons entre tumeurs induites par l'irradiation avec les rayonnements directement ionisants et mutations dans le gène p53 sont encore controversées<sup>46</sup>, en raison probablement du caractère non spécifique des sites directs d'interaction entre cette catégorie de rayonnements et l'ADN (ce qui n'est pas le cas pour les radiations ultraviolettes).

## Les aspects particuliers de la cancérogenèse sous irradiation

### Remarques préliminaires

Personne aujourd'hui ne conteste l'augmentation du taux des cancers et des leucémies après les explosions nucléaires d'Hiroshima et de Nagasaki. Cependant, si l'induction de cancers chez l'animal d'expérience exposé aux rayonnements ne fait pas de doute, si la relation «exposition aux rayonnements - transformation cellulaire in vitro» est bien établie et admise, en revanche, l'extrapolation des données quantitatives recueillies in vitro aux situations in vivo ne fait pas l'unanimité. Les systèmes d'irradiation de populations cellulaires in vitro ont l'avantage d'être, reproductibles, d'exclure le maximum de phénomènes intercurrents, et de pouvoir étudier la transformation radio-induite de la façon la plus pure

possible. Malheureusement, elles ne permettent pas l'appréhension systémique du phénomène, et laissent de côté l'ensemble des grandes régulations que seule l'expérimentation *in vivo* peut permettre d'approcher. Néanmoins, à ce jour, les expériences *in vitro* peuvent permettre de comprendre au moins partiellement les grands procédés de cancérisation sous rayonnements et d'en déduire les lois y afférant, en gardant présente à l'esprit la possibilité de modulation, parfois déterminante, par les systèmes de défense et par les processus de régulation de l'homéostasie.

En radiobiologie les caractéristiques d'une irradiation dépendent des paramètres physiques du rayonnement considéré et de la nature de la matière vivante irradiée. La dose, le débit de dose, le caractère aigu ou fractionné de la délivrance de la dose, et le transfert d'énergie linéaire (TEL) sont donc à prendre en considération dans l'étude de la cancérogenèse sous irradiation.

### Relations entre la cancérogenèse et la dose délivrée

Quatre grands types de courbes de survie cellulaire sous irradiation peuvent être obtenus expérimentalement :

- l'évolution du pourcentage de cellules survivantes à un temps donné en fonction de la dose reçue.
- l'évolution du pourcentage des transformations observées à un moment donné en fonction de la dose reçue.

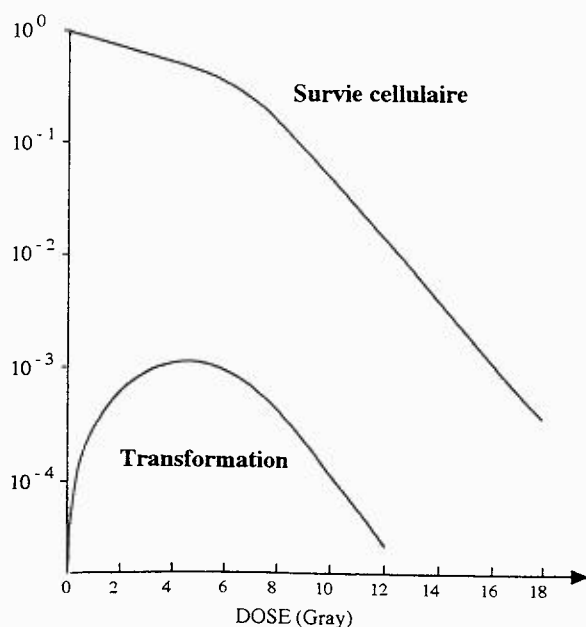


Figure 1. Exemples de courbes de survie et de transformation de cellules irradiées *in vitro*.

- l'évolution de la survie cellulaire en fonction du temps pour une dose donnée.

- l'évolution de la transformation en fonction du temps pour une dose donnée.

L'analyse de la relation effet transformant-dose (cf. Fig. 1) est la résultante de l'augmentation du nombre de cellules transformées liée avec la dose, et de l'augmentation de la mortalité cellulaire avec la dose. L'allure générale de la courbe varie avec le transfert d'énergie linéaire (TEL), c'est-à-dire avec la quantité d'énergie cédée à la matière par unité de longueur: en effet, pour les faibles TEL, la courbe est caractérisée par un épaulement puis par une partie exponentielle aux plus fortes doses. Aux faibles doses, l'incidence de la transformation augmente avec la dose, puis atteint un plateau. Du fait de la mortalité radio-induite aux fortes doses, le nombre total de cellules transformées diminue. La formulation mathématique de la courbe de transformation cellulaire sous irradiation gamma fait appel à un modèle linéaire quadratique, les premières transformations s'observant dès la dose de 1 CGy ; entre 0 et 0,3 à 0,5 Gy la relation effet dose est de l'ordre de la linéarité ; au dessus de 1 Gy, le nombre de cellules transformées augmente plus rapidement selon une relation polynomiale du second degré ; classiquement, au-delà de 4 à 4,5 Gy, le nombre de cellules transformées décroît, compte tenu de la mortalité observée dans ces gammes de dose. L'un des résultats majeurs ressortant de l'analyse de ces données, est que la mortalité des cellules destinées à être transformées est identique à celle des cellules normales qui le resteront.

### Effet du transfert d'énergie linéaire

A dose et à débit de dose identiques, les effets biologiques des rayonnements dépendent de la nature du rayonnement considéré ; l'efficacité biologique relative ou EBR se définit comme le rapport entre les doses du rayonnement de référence (rayons X émis sous 300 kV) et les doses du rayonnement à tester qui sont nécessaires à l'obtention d'un effet biologique donné. L'EBR est donc une quantité variable en fonction du tissu, du rayonnement et des caractéristiques de la dose.

L'effet transformant, l'effet cytotoxique *in vitro*, et *in vivo*, et l'effet cancérogénique augmentent avec l'EBR, donc avec le TEL.

Pour des radiations de TEL élevé (rayonnement alpha et neutrons), le maximum atteint par la courbe des cellules transformées est beaucoup plus important. Les courbes de survie des cellules irradiées avec des rayonnements de TEL élevé présentent un aspect très différent de celles irradiées avec un rayonnement

gamma : l'épaulement initial n'existe pas, et la courbe est quasi exponentielle d'emblée.

Si l'on compare les courbes de mortalité cellulaire et d'incidence de transformation obtenues avec différentes particules de TEL élevé, on constate qu'elles ne répondent pas aux mêmes paramètres descriptifs, suggérant d'une part, que les radiations à fort TEL possèdent un fort pouvoir transformant, et d'autre part, que le pouvoir transformant de ces rayonnements semble dissocié de leur pouvoir cytotoxique aux faibles et très faibles doses.

Des différences nettes sont observées dans le potentiel de réparation post-irradiation après exposition à une même dose de rayonnement gamma, neutrons ou alpha. De plus, le potentiel transformant est nettement plus élevé dans le cas des alphas que dans le cas des gammas. L'EBR de ces rayonnements est de l'ordre de 4 à 10. Les neutrons, quant à eux, possèdent aussi un pouvoir transformant très important, l'EBR des neutrons se situant aux alentours de 10 à 20. Signalons que la cytotoxicité est, elle aussi, augmentée sous rayonnement neutronique par rapport aux rayonnements gamma, toutes choses étant égales par ailleurs. Il semble que l'effet des neutrons sur la survie et la transformation soit dû à une mauvaise mise en jeu des systèmes de réparation des lésions sublétales, expliquant ainsi l'EBR élevée de ces particules.

### Effets du fractionnement et du débit de dose

Les résultats de la modification du débit de dose varient en fonction de la nature du rayonnement en cause: le TEL paraît être le paramètre critique de la variation. En effet, dans le cas des rayonnements gamma, le fractionnement de la dose et la diminution du débit de dose permettent d'augmenter la survie cellulaire, à dose totale équivalente. En revanche, les effets sur la transformation cellulaire sont contradictoires, certains auteurs décrivant une augmentation de la transformation, d'autres, au contraire, une diminution avec l'augmentation du débit de dose ou avec le fractionnement de la dose. En fait, les capacités de prolifération de la cellule irradiée semblent jouer un rôle déterminant : le fractionnement de la dose, ou la diminution du débit de dose, ont pour conséquence de diminuer considérablement la mortalité cellulaire post-irradiation, en raison, soit 1) du fait que les doses délivrées à un instant donné sont trop faibles pour entraîner une lésion non réparable, soit 2) du fait que la cellule va disposer d'un temps suffisant à la mise en jeu des mécanismes de réparation avant de subir une autre agression radiobiologique. Enfin, le potentiel inducteur de multiplication cellulaire des faibles doses d'irradiation a été rapporté, et pourrait

intervenir ici en masquant voire en surpassant la mortalité cellulaire, et donc en diminuant relativement la probabilité de transformation. A titre indicatif, aux doses faibles et moyennes, le passage d'un débit de dose de 1 Gy/mn à 1 mGy/mn diminue d'un facteur 3 la fréquence des transformations.

Le cas des rayonnements à TEL élevé porte moins à controverse : l'effet du débit de dose pour le rayonnement alpha semble très faible voire nul, en ce qui concerne la transformation. En revanche, selon un nombre restreint de publications, l'efficacité transformante des neutrons augmenterait très nettement avec le débit de dose. L'EBR des neutrons augmenterait donc avec le fractionnement de la dose et avec le débit de dose. Ces résultats n'ont pas été reproduits par d'autres laboratoires et doivent donc être considérés avec prudence.

### Les résultats obtenus en expérimentation animale

Les données recueillies chez l'animal sont très abondantes et confirment l'effet cancérogénique des rayonnements. De plus, elles ont permis de montrer la réalité *in vivo* du phénomène de promotion<sup>23</sup>, en démontrant les effets de l'administration d'une substance promotrice comme le phorbol-ester sur la relation «dose délivrée - incidence tumorale». Les relations effet - dose observées en expérimentation animale sont très variées, allant de l'aspect polynomial jusqu'à la diminution «paradoxe» dose-dépendante de l'incidence des tumeurs mammaires du rat Sprague Dawley irradié à des doses supérieures à 1 Gy<sup>46,47</sup>.

La radiosensibilité différentielle des divers tissus de l'organisme a pu être mise en évidence au plan du risque cancérogénique : les tumeurs de la glande mammaire et de la thyroïde sont les plus fréquemment induites par l'irradiation, les plus rares étant les tumeurs de la prostate et des testicules. Tout comme chez l'homme, la nature physique du rayonnement, donc son TEL, intervient dans la cancérogenèse : plus le TEL est élevé, plus l'EBR est donc importante, plus la relation effet - dose tendra vers un modèle linéaire. Enfin, dans le cas des rayonnement de faible TEL, (le modèle linéaire est alors exclu), la diminution du débit de dose est toujours suivie d'une atténuation de la cancérogenèse, quelque soit le cancer considéré. Cette atténuation revêt cependant des aspects quantitatifs variés en fonction de la dose ; par exemple, le passage d'un débit de dose de 78 mGy/h à un débit de dose de 1, 3 mGy/h diminue d'un facteur 3 le nombre de cancers induits chez le rat par une irradiation de 3 Gy (60 Co)<sup>46,47</sup>. Ceci confirme l'impossibilité d'extrapolation aux faibles débits de dose des résultats obtenus aux forts débits de dose, et sous-tend l'utilisation

d'un facteur de réduction de l'effet cancérogène lors de l'utilisation de faibles doses : les valeurs retenues habituellement pour ce facteur varient entre 2 et 10, en fonction de l'âge auquel s'effectue l'irradiation et de la fraction de durée de vie concernée par l'exposition.

Les modèles animaux sont les seuls systèmes expérimentaux permettant d'étudier les aspects cellulaires et moléculaires de l'oncogenèse radio-induite, en particulier dans son approche multifactorielle. L'étude moléculaire des ostéosarcomes murins radio-induits a montré que l'expression de K-ras, myc, sis, abl, bas et fos était très modifiée<sup>48</sup>.

Cependant, le plus souvent, les mécanismes de la radiocancérogénèse sont indirects. Le cas des lymphomes thymiques est, à cet égard, démonstratif.

En effet, ces tumeurs thymiques apparaissent chez les souris irradiées ; néanmoins, elles peuvent aussi apparaître, chez des animaux thymectomisés irradiés, à partir de cellules immatures greffées provenant d'un donneur sain<sup>49</sup>. Ces faits expérimentaux, et d'autres, suggèrent l'implication d'un rétrovirus, dont l'ADN proviral pourrait être activé par l'irradiation. Des séquences provirales sont d'ailleurs détectées dans les lymphomes radio-induits murins<sup>48</sup>. Néanmoins, il existe des situations expérimentales où le provirus n'est pas nécessaire à l'induction du lymphome par l'irradiation<sup>50</sup>.

On peut donc penser que la déplétion des précurseurs des cellules T dans la moelle et des cellules thymiques liée à l'irradiation suffit à permettre l'émergence de cellules thymiques présentant des niveaux d'expression pathologiques des gènes impliqués dans la croissance et la différenciation des thymocytes. Cette émergence pourrait avoir comme origine partielle la vitesse anormale de repopulation post-greffe du thymus, ainsi que les défauts d'immunosurveillance liés à l'immunodéficience radio-induite. La lymphomatogénèse radioinduite est donc bien un processus multifactoriel, très loin d'impliquer seulement l'effet mutagène putatif des rayonnements sur un anti-oncogène ou l'activation d'un oncogène comme cela a été parfois rapporté.

## La réponse adaptative

Depuis de nombreuses années, on sait que l'exposition répétée à de très faibles doses, de l'ordre du microgray au milligray, induit une augmentation de la croissance des procaryotes et de certaines cellules eucaryotes<sup>51, 52</sup>. Le terme de réponse adaptative a été proposé pour décrire l'ensemble des phénomènes liés

à l'irradiation à de très faibles doses et aptes à stimuler la réparation de dommages induits par des doses plus fortes ou de stimuler la prolifération : par exemple, le nombre d'aberrations chromosomiques induits par une irradiation aiguë de 1 Gy est significativement réduit par l'irradiation préalable de quelques dizaines de milligrays. L'explication la plus probable est que de très faibles doses sont aptes à mettre en place les processus de réparation capables d'assurer les réparations des lésions induites par des doses plus fortes. Ces processus de réparation doivent être entendus au sens large du terme, sans restreindre à la seule réparation de l'ADN, même si celle-ci joue le rôle primordial. La présence d'un délai obligatoire entre l'irradiation «protectrice» et l'administration de l'irradiation «lésionnelle» est compatible avec la mise en place ou avec l'amplification de ces systèmes de réparation<sup>53</sup>. En effet, le génome est en constante réparation, et on peut penser que seule une amplification des mécanismes habituels est requise pour l'efficacité de la réponse adaptative<sup>54, 58</sup>. Parmi les autres mécanismes supportant la réponse adaptative, la mise en place du piégeage des radicaux libres tient probablement une place importante<sup>59</sup>. Ces mécanismes moléculaires peuvent avoir des conséquences au niveau d'une fonction ou d'un tissu. Par exemple, l'irradiation de splénocytes à des doses de 0,01 à 0,1 Gy stimule la réponse prolifératrice à la concanavaline A et à la phytohémagglutinine A dans les heures suivant l'irradiation. Cette réponse adaptative des cellules immunocompétentes est associée à une production d'adénylate cyclase, traduisant l'activité de transduction des signaux dans la cellule, et avec la synthèse de protéines proches des protéines de stress<sup>59</sup>. Certains travaux montrent qu'une irradiation à moins de 500 mGy peut entraîner *in vivo* une réduction de la vitesse de la croissance tumorale ; cet effet d'une dose unique conditionnante sur un processus aussi lent et long que la croissance tumorale va dans le sens d'une implication du système immunitaire dans la réponse adaptative *in vivo*. On sait, par ailleurs, que le pool membranaire des cytokines de l'inflammation peut être modifiée dès les faibles doses de rayonnement à faible TEL, et que ces mêmes cytokines ont des propriétés radioprotectrices.

La réponse adaptative est mise en évidence au niveau de l'organisme en entier : par exemple, des chiens exposés à de très faibles doses auraient, pour certains auteurs, une incidence globale des tumeurs inférieure aux animaux non irradiés, sans modification de l'espérance de vie. L'ensemble de ces données, encore relativement imprécises quant à leurs mécanismes, permet de faire un parallèle avec la réponse globale non spécifique au stress.

Si la pertinence de la réponse adaptative était avérée, sa prise en compte compliquerait considérablement l'analyse des mécanismes cellulaires et moléculaires de la cancérogenèse humaine.

### Approche globale

Les rayonnements (directement ou indirectement ou non ionisants) ont la capacité d'interagir avec l'ADN cellulaire. Ces interactions entraînent l'apparition de lésions à l'échelon moléculaire, qui, lorsqu'elles sont mal ou non réparables et qu'elles sont compatibles avec la survie cellulaire, peuvent présenter des points communs avec les anomalies décrites au niveau génique et chromosomique dans les cellules cancéreuses. L'apparition de cancers et l'augmentation de l'incidence de certaines tumeurs lors de l'exposition aux rayonnements suggèrent que l'action cancérogène de l'irradiation peut se situer au niveau de la phase d'initiation: la lésion radio-induite peut intéresser un allèle d'un anti-oncogène. Rien ne se produit tant que l'autre allèle ne sera pas à son tour l'objet d'une mutation, radio-induite ou non. Dans cette hypothèse, l'anti-oncogène ne peut plus exercer son rôle répresseur, et la cancérisation de la cellule est alors possible. Une population cellulaire clonale maligne peut alors se développer, l'ultime étape étant l'apparition clinique du cancer. Le caractère polyfactoriel de la cancérogenèse peut ainsi être pris en compte, ainsi que la notion de latence entre l'initiation et le moment de l'apparition clinique de la tumeur. Si l'initiation constitue théoriquement le mécanisme d'action privilégié des rayonnements, les effets non stochastiques (immunomodulateurs, humoraux, hormonaux et neurobiologiques) et l'action stimulante de la croissance cellulaire des rayonnements sont le support d'un rôle non négligeable dans la promotion et la croissance de la population tumorale. Les rayonnements sont donc un cofacteur de l'ensemble des processus de cancérogenèse.

## Les données de l'épidémiologie

### Introduction

Toutes les études menées à ce jour démontrent qu'il n'y a aucune spécificité histologique des cancers survenant après l'irradiation médicale ou accidentelle. En revanche, la distribution des tumeurs peut différer dans les populations irradiées ; par exemple, les leu-

cémies lymphoïdes chroniques ne sont pas induites par l'irradiation, alors que les autres types histologiques et cliniques le sont. De plus, les cancers pulmonaires à petites cellules se développent préférentiellement dans une proportion statistiquement plus importante chez les individus irradiés à fortes doses<sup>46, 47, 60</sup>.

Les études qui ont permis d'approcher la cancérisation après irradiation regroupent les données recueillies chez les survivants d'Hiroshima et de Nagasaki<sup>46, 47, 61</sup>, chez les patients irradiés pour spondylarthrite ankylosante ou cancer, ainsi que chez les individus soumis à des irradiations professionnelles<sup>46, 47, 62, 63</sup>.

Seule sera abordée ici la cancérogenèse liée à l'irradiation externe (les phénomènes liés à l'apparition de cancers liée à la contamination par les radioéléments a été envisagée dans un précédent numéro par R. Masse). Les données recueillies depuis la dernière guerre mondiale ont permis d'approcher 1) le risque carcinogénétique lié à l'exposition de nombreux tissus et organes, et 2) les phénomènes de latence d'apparition des tumeurs, les populations japonaises irradiées étant suivies depuis presque 50 ans. Dans certains cas, la relation dose-effet a même pu être approchée (5 types de tumeur). Il n'existe aucun autre domaine de la cancérologie où les données soient aussi abondantes.

Les effectifs de ces groupes sont relativement importants puisque:

- 50 000 Japonais ont survécu aux explosions d'Hiroshima et de Nagasaki, et en 1990, 32 500 sont encore en vie.

- 100 000 patients ont été irradiés pour spondylarthrite ankylosante (14 000) ou cancer (86 000).

### La cohorte des survivants d'Hiroshima et de Nagasaki

L'augmentation nette de l'incidence des leucémies a été le premier fait épidémiologique rapporté : le délai d'apparition de cet excès de leucémies a été de 4 à 5 ans, le pic se situant entre 6 et 19 ans après l'irradiation<sup>46, 47, 50, 61, 63</sup> ; l'excès de leucoses a été relativement faible, puisqu'on estime qu'entre 1950 et 1974, seulement 1% de leucémies en excès par rapport à la population témoin peut être attribué à l'irradiation chez les sujets ayant reçu une dose moyenne de 3,5 Gy. En 1994, l'incidence des leucémies dans cette population survivante est revenue à une valeur identique à celle de la population générale. En revanche, depuis le milieu des années 60, on assiste à une augmentation régulière de l'incidence des tumeurs

125 / 82 000  
30 / 15  
0,15 %

solides de la glande mammaire, du poumon, de l'estomac et de la thyroïde<sup>46, 47, 61</sup>. Grâce à ces observations, un certain nombre de modèles de radiocancérogénèse a été proposé : jusqu'en 1977, on admettait que les constatations d'Hiroshima et de Nagasaki permettaient de prévoir un excès de cancers lié à l'irradiation de 100 cancers par Rem pour 10<sup>6</sup> individus exposés pendant toute leur vie. Ces calculs ont été effectués à partir des données concernant essentiellement la leucémogénèse, en considérant que les leucémies représentaient 15% des cancers, et que le facteur de réduction à appliquer aux situations de faible débit de dose était de 2. En 1988, on a atteint 250 cancers/ Rem/10<sup>6</sup> individus chez les survivants d'Hiroshima et de Nagasaki : il a donc fallu réexaminer les modèles à la hausse et, en 1990, la fourchette admise par les différents auteurs était de 400 à 1 100 cancers par Rem/10<sup>6</sup> individus pour toute l'existence.

Cependant, tout récemment, plusieurs faits concourent à proposer un réexamen des données obtenus à Hiroshima et Nagasaki. Il s'agit tout d'abord des données dosimétriques ; il semble que la dosimétrie sur laquelle étaient basés tous les calculs de risque soit entachée d'erreurs plus que significatives conduisant à la surestimation du risque<sup>64, 65</sup>. De plus, l'estimation de la composante neutronique de la bombe d'Hiroshima semble devoir être réévaluée à la hausse<sup>65, 66</sup> ; or une bonne partie des données permettant d'évaluer l'EBR des neutrons chez l'homme dérive de la comparaison des effets constatés à Hiroshima et à Nagasaki dont on pensait que la composante neutronique variait considérablement. Si tel n'était pas le cas, une réévaluation complète des risques carcinogénétiques devrait être effectuée. Enfin, jusqu'à présent, l'évaluation des risques carcinogénétiques ne prenait en compte que l'âge au moment de l'irradiation dans la comparaison entre sujets irradiés et population témoin ; des données récentes indiquent que l'âge atteint au moment de l'émergence de la tumeur serait plus représentatif de la réalité<sup>65, 66</sup>. Le calcul montre que les deux modes d'analyse conduisent à des résultats différents en termes d'évaluation du risque, et que le modèle « ancien » (âge au moment de l'irradiation) conduit à une surévaluation du risque d'un facteur 2.

Ces données nouvelles, si elles résistent à l'analyse minutieuse de la communauté scientifique internationale, devraient conduire à une réestimation à la baisse du risque carcinogénétique des rayonnements.

## Cancer et irradiation thérapeutique.

Les études principales ont concerné les patientes irradiées pour cancer de l'utérus, les patients irradiés

pour spondylarthrite ankylosante et les patients traités par radiothérapie pour maladie de Hodgkin<sup>46, 47, 62, 63</sup>. L'incidence du second cancer varie en fonction des doses reçues : 1) chez les 82 000 patientes irradiées pour cancer de l'utérus, 125 seconds cancers sont apparus sur une période de 20 ans; les tumeurs radio-induites concernent la vessie et le rectum lorsque ces organes ont reçu des doses supérieures à 1 Gy; il faut noter qu'aucune leucémie n'a été rapportée dans cette série. 2) l'irradiation thoracique des patients présentant une maladie de Hodgkin (40 Gy) induit un excès de leucémies inférieur à 1%, ce qui reste cependant faible en comparaison des effets leucémogènes de la polychimiothérapie habituellement utilisée chez ces patients (>5%).

Les données recueillies chez les patients irradiés au niveau du rachis pour spondylarthrite ankylosante sont différentes car, dans ces cas, la moelle osseuse a reçu des doses non négligeables. Les leucémies apparaissent avec un délai de 5 ans environ, certains auteurs évaluant leur incidence à 3 fois la normale, lorsque la moelle a reçu une dose de 2,5 à 6 Gy. Cependant, il semble que les leucémies puissent apparaître 25 ans après irradiation<sup>67, 68</sup>. Tout comme dans le cas des survivants d'Hiroshima et de Nagasaki, les tumeurs solides ont commencé à faire leur apparition 15 ans après l'irradiation au niveau des tissus fortement irradiés ; leur incidence est estimée à 1,5 fois l'incidence normale. Trente ans après, les incidences de leucémies et de cancers sont proches du niveau général de la population. Enfin, l'âge du sujet au moment de l'irradiation semble jouer un rôle non négligeable : l'excès de leucémies constaté chez les patients irradiés à un âge supérieur à 55 ans est 1,5 fois plus important que celui des sujets irradiés à moins de 25 ans. Par ailleurs, l'excès de risque leucémogène lié à l'irradiation varie relativement peu avec l'âge une fois le pic passé, lorsque l'irradiation a eu lieu à l'âge adulte<sup>69</sup>.

## Principaux concepts découlant de l'observation humaine

L'analyse de la bibliographie permet de dégager un certain nombre de faits :

- Il existe une cancérogénèse et une leucémogénèse radio-induites détectables en pathologie humaine.
- Il ne semble pas exister de type particulier de cancer ou de leucémie lié à l'irradiation : seule apparaît une amplification du risque existant au niveau de la population considérée.
- Le délai d'apparition des leucémies est de 2 à 10 ans, quelle que soit l'étude, lorsque la dose délivrée a

été supérieure à 1 Gy.

- Le délai d'apparition des tumeurs solides est beaucoup plus important : il varie de 10 à 40 ans en fonction du tissu considéré, de la population étudiée, et de l'âge au moment de l'irradiation. Ce délai peut exceptionnellement être inversement proportionnel à la dose délivrée à l'individu ; mais, le plus souvent, l'âge d'apparition de la tumeur est identique à celui constaté dans la population générale : dans ce cas, il n'existe aucune relation délai-dose, seule la fréquence du cancer à un âge donné augmentant chez les sujets irradiés.

- Les études rapportant un excès de cancers chez les individus exposés à de très faibles doses sont d'interprétation délicate ; en effet, bien souvent les groupes témoins pertinents sont absents de ces travaux épidémiologiques, ce qui explique que les chiffres rapportés soient contradictoires.

- L'ensemble des études conduites rigoureusement sur les personnels de l'industrie nucléaire et leur descendance ne permet pas d'identifier un risque cancérogène ou leucémogène particulier.

- L'évaluation actuelle du risque radiobiologique de l'induction d'un cancer varie entre 400 et 1100 cancers/Rem/10<sup>6</sup> individus sur la durée totale de l'exis-

tence. De telles évaluations ne sont pas disponibles avec autant de précision pour les carcinogènes chimiques.

## Les modèles

### Description des modèles

De nombreux modèles, d'expression mathématique plus ou moins complexe, ont été proposés durant ces dernières années. Un certain nombre d'entre eux est capable de rendre compte partiellement ou totalement des observations épidémiologiques effectuées dans les diverses grandes études citées précédemment. En revanche, le nombre de modèles permettant une prise en compte des données épidémiologiques et des données à l'échelon cellulaire et moléculaire est beaucoup plus restreint. Certaines distinctions doivent être faites d'emblée entre les modèles de cancérogenèse sous rayonnement à TEL élevé, et les modèles de cancérisation lors de l'exposition aux rayonnements de faible TEL.

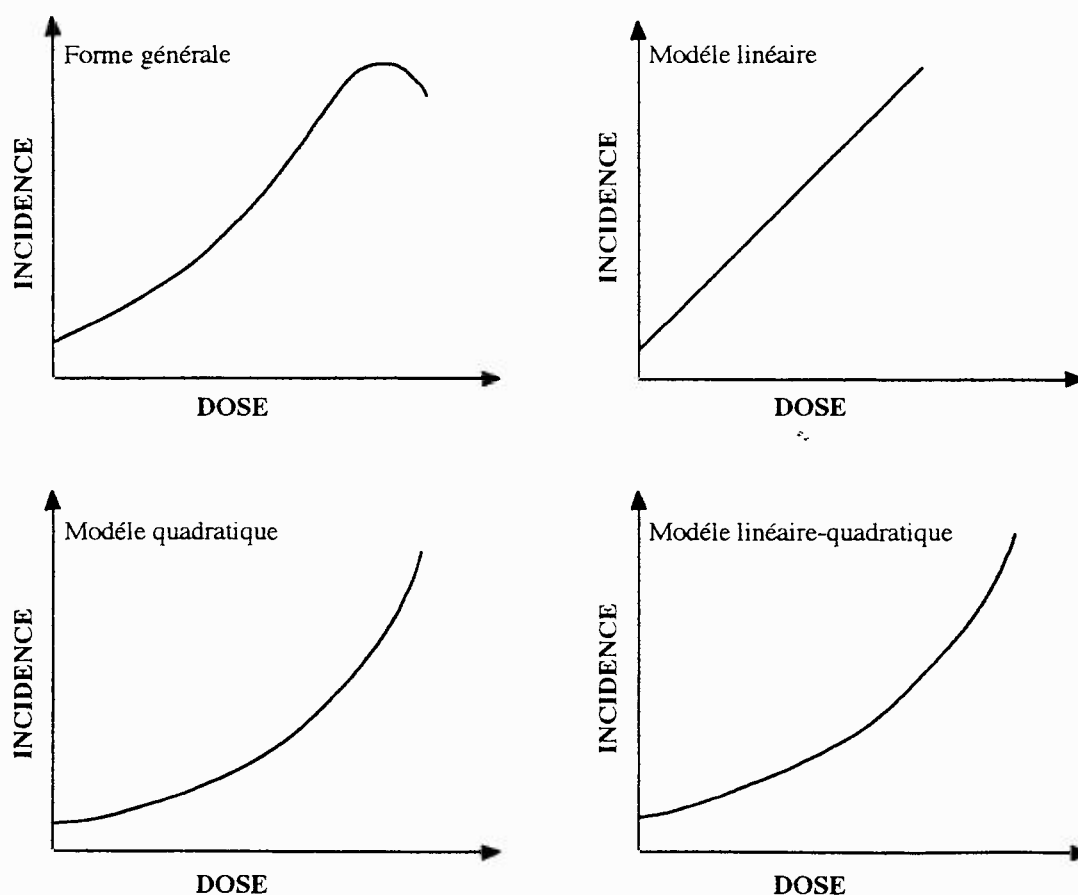


Figure 2. Les différents modèles de la cancérogenèse.

Deux approches sont possibles : 1) la première prend en compte les données les plus modernes de la radiobiologie, et relie le taux de cancers radio-induits aux paramètres du rayonnement considéré, c'est-à-dire la nature du rayonnement, la dose, le fractionnement de la dose, et le débit de dose. 2) la seconde se contente d'effectuer une approximation mathématique simple des courbes «incidence-dose».

Si l'on considère l'ensemble des données dont on dispose à ce jour, la sagesse voudrait que l'on propose un modèle pour chaque situation de la cancérogenèse radio-induite (pour un tissu considéré, avec un rayonnement donné, dans une population donnée) : en effet, certains types de cancers radio-induits présentent un seuil, comme par exemple le lymphome thymique de la souris C57 Black6 ; d'autres, et c'est la majorité dans les modèles expérimentaux, présentent des relations effet dose qui excluent la présence d'un seuil.

Tout modèle doit prendre en compte deux faits majeurs :

- l'incidence des tumeurs augmente avec la dose aux faibles doses : absence de seuil.
- aux fortes doses, en raison de la létalité cellulaire, l'incidence des tumeurs décroît.

Ceci implique que le modèle proposé puisse rendre compte du produit de ces deux termes : un terme dit «d'initiation tumorale» qui augmente avec la dose selon une relation mathématique qui reste à préciser, et un second terme dit «de survie cellulaire» qui décroît avec la dose, ce second terme pouvant être négligé aux très faibles doses. -

Les grands types de modèles qui peuvent être proposés sont (Fig. 2) :

- le modèle linéaire ;
- le modèle quadratique ;
- les modèles linéaires quadratiques.

1) Le modèle linéaire:  $I(D) = \alpha_0 + \alpha_1 D$ , où  $I$  est l'incidence du type de tumeur considéré, et  $D$  est la dose.

Ce modèle implique qu'à une interaction moléculaire correspond une mutation, et exclut la possibilité de réparation par la cellule. Il est trop simple pour être applicable à l'ensemble des situations de la radio-cancérogenèse : par exemple, en ce qui concerne les rayonnements à fort TEL, les auteurs s'accordent aujourd'hui pour admettre que la pente observée aux faibles doses doit être modifiée aux doses plus élevées, du fait, notamment, de la mort cellulaire. L'expression mathématique devient de la forme :

$$I(D) = \alpha_0 + \alpha_1 D e^{-\beta I D}$$

Au total: le modèle linéaire est peu applicable aux rayonnements de faible TEL, mais convient relativement bien aux rayonnements de TEL élevé.

2) Le modèle quadratique  $I(D) = \alpha_0 + \alpha_2 D^2$ . Dans ce modèle, la tumeur est liée à deux événements consécutifs ou suffisamment séparés dans l'espace pour ne pas être la conséquence d'un seul événement d'ionisation. Les situations expérimentales qui répondent à un tel modèle sont relativement fréquentes, sans être pour cela exclusives d'un autre modèle : par exemple, la leucémie radio-induite de la souris CBA/H soumise à une irradiation neutronique ou gamma, quelques cas de cancérogenèse cutanée et osseuse chez le rat, et l'ostéosarcome induit par le Radium chez l'homme. Cependant, les données de la microdosimétrie ne concordent qu'exceptionnellement avec le modèle quadratique.

3) Le modèle linéaire - quadratique:

$$I(D) = \alpha_0 + \alpha_1 D + \alpha_2 D^2$$

Dans les systèmes de tumorigénèse les plus simples, la courbe effet-dose est concave vers le haut. Cet type de relation est retrouvé aussi dans les interactions décrites à échelon de la cellule. La majeure partie des effets des radiations à faible TEL est reliée à la dose selon ce même ordre de relation. Ceci suggère que, dans la fraction initiale de la courbe au moins, plusieurs événements soient indispensables à la cancérogenèse, prenant donc en compte le fait que certaines lésions puissent être réparées. De plus, le modèle linéaire quadratique permet de formaliser les effets du fractionnement de la dose et du débit de dose, tout du moins en ce qui concerne les rayonnements à faible TEL. Par ailleurs, ce modèle a ses limites, même s'il a l'avantage de proposer des courbes proches de celles recueillies par l'expérimentation radiocancérogénique : il ne constitue pas une preuve de la réalité de la relation mathématique existant au niveau de l'induction du cancer. En effet, la simple relation potentielle entre l'inverse de la dose et la période de latence pourrait à elle seule expliquer l'allure de la courbe observée.

La généralisation du modèle linéaire quadratique pourrait être la suivante :

$$I(D) = (\alpha_0 + \alpha_1 D + \alpha_2 D^2) S(D)$$

où  $I(D)$  est l'incidence corrigée de la mortalité intercurrente,  $\alpha_0$  est l'incidence spontanée,  $\alpha_1$  et  $\alpha_2$  sont les coefficients de la réponse linéaire quadratique de l'initiation de la tumeur, et  $S(D)$  la probabilité de survie d'une cellule transformée (dont l'expression est exponentielle). Au plan mathématique, ce modèle peut être caractérisé par le rapport des termes constants  $\alpha_1 / \alpha_2$  : ce rapport va varier avec la nature du rayonnement et la cible biologique considérée (pour les rayonnements gamma, on admet que ce rapport est entre 0,5 et 1 Gy dans le cas de l'induction des aberrations chromosomiques, des mutations, et de quelques cancers).

De tous les modèles proposés, il semble que le modèle linéaire quadratique soit celui dont l'expression est le plus compatible avec les données de la microdosimétrie.

Le modèle linéaire quadratique est donc relativement satisfaisant, quant à son aptitude à décrire le phénomène de la radiocancérogénèse. En revanche, il ne peut en aucun cas constituer un modèle précis de la physiopathologie du cancer radio-induit, compte tenu de la complexité et du nombre des facteurs qui sont mis en jeu dans cette situation, et de leur évolution au cours du temps. La forme générale des courbes expérimentales et épidémiologiques ainsi que les approximations fournies par ce modèle montrent que plus la dose est faible, plus les cofacteurs prennent de l'importance ; corrélativement, aux doses supérieures à 1 à 2 Gy, la relation effet-dose devient beaucoup plus évidente. Au dessus de 4 Gy, la létalité intervient, et l'incidence décroît. Compte tenu de la faible importance des cofacteurs au-delà des doses de 1 à 2 Gy (en irradiation gamma), l'extrapolation de la courbe obtenue pour les doses supérieures à 2 Gy aux doses inférieures peut raisonnablement sous-tendre l'estimation des risques tels qu'on les conçoit dans le domaine de la protection vis-à-vis des faibles doses (établissement des normes), les corrections nécessaires devant être appliquées en ce qui concerne les radiations à TEL élevé.

Enfin, on doit garder présent à l'esprit que les effets létaux des rayonnements sont de nature stochastique, tout comme la probabilité de tumorigénèse. Ce phénomène de létalité intervient aussi dans la gamme des faibles doses, même pour les très faibles doses ; ceci implique que la courbe descriptive de l'incidence des cancers ait tendance à devenir encore plus quadratique que ne le laisserait supposer la simple prise en compte de la seule efficacité transformante du rayonnement.

Cependant, la tendance actuelle est de dichotomiser les modèles de leucémisation de ceux des tumeurs solides <sup>63</sup>, car, par exemple, le risque de leucémie varie significativement en fonction de l'âge au moment de l'irradiation, du sexe et du délai depuis l'irradiation<sup>47</sup>. A titre d'exemple, les expressions mathématiques suivantes ont été proposées :

Tumeurs solides :

$$EER(D, A) = \alpha_s D e^{\beta(A-25)}$$

où EER (D,e) est l'excès de risque lié à l'irradiation à une dose D,  $\alpha_s$  représente l'augmentation du risque lié au sexe exprimé par Sievert, D est la dose pondérée, A est l'âge au moment de l'irradiation en années, et  $\beta$  le coefficient de pondération lié à l'âge au moment de l'irradiation. Signalons que des modèles

plus précis existent en fonction de l'organe dans lequel se développe la tumeur.

Leucémies :

$$EER(D, t) = \alpha_{s,e} (D + \theta D^2) e^{\beta(A-25)}$$

où EER est le risque estimé pour la durée de la vie, D est la dose pondérée délivrée à la moelle osseuse, A l'âge au moment de l'irradiation, t le temps écoulé depuis l'exposition à l'irradiation,  $\theta$  vaut 0,79 / Sv,  $\alpha$  et  $\beta$  sont des paramètres dépendant de l'âge au moment de l'irradiation, et dont les valeurs varient en fonction du sexe. Compte tenu de l'absence de leucémie lymphoïde chronique chez les survivants d'Hiroshima et de Nagasaki, ce modèle n'est pas applicable aux LLC.

## Confrontations «modèles - enquêtes épidémiologiques»

### Les leucémies radio-induites

Les données recueillies chez les survivants des explosions nucléaires font apparaître que la fréquence d'apparition des leucémies chez les hommes est nettement supérieure à celle observée chez les femmes ; de plus, l'âge auquel l'irradiation est survenue influe sur le délai d'apparition, plus l'individu étant jeune au moment de l'irradiation plus le risque de développer une leucémie étant grand. La fourchette de leucémogénèse, tous types, tous âges et tous sexes confondus est de 4 à 25 ans environ.

Les patients traités pour spondylarthrite ankylosante présentent une répartition épidémiologique différente, puisque le taux des leucémies en fonction de l'âge suit les mêmes lois que l'incidence des leucémies chez les individus non irradiés. Les données de la dosimétrie font apparaître que la leucémogénèse survient pour des doses comprises entre 0,5 et 7 Gy, 90% des cas étant diagnostiqués pour des doses de moins de 5 Gy, et la dose moyenne reçue par la moelle de ces patients étant de 25 Gy. Compte tenu du paramètre mort cellulaire, et du fractionnement de la dose délivrée, les modèles linéaires quadratiques semblent, tout comme pour les survivants d'Hiroshima et de Nagasaki, les plus aptes à décrire correctement le phénomène.

Au total : la leucémogénèse radio-induite semble donc suivre une relation effet dose du type linéaire quadratique lors de l'irradiation avec des rayonnements de faible TEL; le débit de dose et le caractère partiel ou total de l'irradiation jouent probablement un rôle, compte tenu des différences notées dans les deux groupes de sujets exposés. Le risque est majeur entre 3 et 15 ans après l'irradiation, et décroît considérablement après cette période.

## Les cancers radio-induits du sein

Le sein est un organe cible privilégié pour la cancérogenèse radioinduite. L'âge auquel survient l'exposition aux rayonnements est déterminant. Les femmes exposées avant l'âge de 30 ans développent le plus de cancers, et, parmi elles, les jeunes filles de 10 à 19 ans ont le risque absolu le plus élevé. Les survivantes d'Hiroshima et de Nagasaki âgées de plus de 40 ans au moment des explosions nucléaires n'ont pas présenté d'augmentation de l'incidence des cancers du sein (encore faut-il pondérer ce résultat par la possible ménopause radio-induite par l'irradiation des ovaires, entraînant une stérilité dont on peut suspecter les effets protecteurs). Au plan quantitatif, l'incidence des cancers radio-induits est maximum après 30 ans, tout comme dans la population générale<sup>47,63</sup>. La latence d'apparition des tumeurs est de 10 à 15 ans si la femme est âgée de moins de 30 ans au moment de l'irradiation, et de 5 à 10 ans lorsque l'irradiation survient à un âge supérieur. Les doses pour lesquelles la cancérogenèse mammaire est maximum sont de 0,2 à 6 Gy ; en revanche, la relation entre l'inverse de la dose et la latence n'est pas démontrée. En ce qui concerne les rayonnements à faible TEL, le modèle applicable est soit linéaire soit polynomial du second degré ; aucun seuil n'a été retrouvé.

## Les cancers radio-induits de la thyroïde

Plusieurs milliers de sujets exposés ont été étudiés. L'analyse des résultats a abouti à la notion d'une cancérogenèse dose - dépendante au niveau de la thyroïde<sup>70</sup>. Le risque relatif estimé est de 44,6 (versus l'ensemble de la population). Tout comme dans la population générale, 3 fois plus de femmes que d'hommes font un cancer de la thyroïde. L'âge au moment de l'irradiation joue un rôle considérable : en effet, le risque est deux fois plus important lorsque l'irradiation a lieu avant l'âge de 9 ans, que lorsqu'elle a lieu entre 10 et 19 ans. La relation effet-dose peut être décrite grâce aux modèles linéaires quadratiques, en soulignant toutefois que le terme linéaire possède dans ce cas précis une contribution exceptionnellement forte à l'ensemble de la courbe. Cependant, l'unanimité n'est pas faite sur ces concepts : en effet, les résultats observés chez les patients irradiés à Hiroshima et Nagasaki permettent de recenser 9 cancers de la thyroïde, alors que les modélisations permettaient d'en attendre de 19 à 124 selon les modèles utilisés. Enfin, on pense maintenant que les radiations à faible TEL sont capables d'induire des cancers thyroïdiens dès la dose de 0,1 Gy chez l'enfant avant 10 ans<sup>47</sup>.

## Conclusion

La cancérogenèse liée aux rayonnements ionisants et non ionisants est donc une réalité, le phénomène étant sans seuil. Toutes les notions supportant les concepts classiques de l'oncogenèse radioinduite sont actuellement en plein mouvement, certaines étant même en voie d'abandon. Les progrès de la biologie moléculaire sont le plus souvent à l'origine de cette évolution : on possède maintenant, ou on va pouvoir disposer à court terme, des sondes moléculaires permettant d'étudier l'expression de gènes de susceptibilité aux génotoxiques et à l'irradiation<sup>71,74</sup>. Par ailleurs, les gènes impliqués dans la réparation de l'ADN et la radiosensibilité pourront être bientôt utilisés pour fabriquer des animaux transgéniques et « knock out » qui constitueront des outils d'investigation irremplaçables. Dès maintenant, on sait que les cellules des souris SCID sont plus radiosensibles que celles des animaux de la souche parentale : cette radiosensibilité serait liée à une anomalie du métabolisme de l'ADN<sup>75</sup>. Ces mêmes avancées de la biologie moléculaire devraient déboucher, à moyen terme, à la mise sur pied de tests de détection des états préneoplasiques, comme on en pratique actuellement déjà dans certains états pré-leucémiques où la PCR permet de détecter les fusions des gènes BCR et ABL<sup>76</sup>. Enfin, quelques résultats récents obtenus chez la souris font penser à l'existence d'une susceptibilité individuelle génétiquement déterminée à l'irradiation ; si cette notion se généralisait à d'autres espèces, les notions de norme d'exposition et de seuil devraient être réexaminées.

La latence de l'apparition clinique des tumeurs confirme la nature plurifactorielle de la cancérogenèse : l'approche expérimentale est donc difficile, surtout aux faibles doses. L'extrapolation au domaine des faibles doses des résultats obtenus aux doses moyennes ne permet pas de refléter la réalité des phénomènes mis en jeu ; cette extrapolation, du fait de la surévaluation des risques qu'elle entraîne, peut cependant être utile au législateur dans la détermination des normes applicables aux populations. Il faut cependant noter que les effets du fractionnement de la dose et de la réduction du débit de dose restent encore mal connus quant à leurs conséquences sur la cancérogenèse.

Quoiqu'il en soit, si l'initiation du processus tumoral peut être restreint à quelques phénomènes moléculaires radio-induits, l'ensemble des autres facteurs concourant à l'émergence clinique de la tumeur met en jeu les grandes fonctions de l'organisme que sont l'immunosurveillance, le système endocrinien, et les fonctions de relation. L'intrication des réseaux de communication moléculaire (nerveux, hormonal et immunologique) n'est plus à démontrer, nombre de leurs médiateurs étant communs. Seule une étude des grands processus de régulation au cours de la cancérogenèse radioinduite pourra permettre de faire le lien entre les avancées considérables de la biologie moléculaire et une approche physiopathologique rationnelle en clinique humaine.

## Références bibliographiques

1. LITTLE JB, YANDELL DW, LIBER HL. Molecular analysis of mutations at the tk and hprt loci in human cells. In: Cold Spring Harbor, 1987:
2. LITTLE J B, WHALEY J M H.L. . Role of energy distribution in DNA on the mutagenic effects of internal emitters. In: O.F. NYGAARD, A U, Mechanisms of anticarcinogenesis and radiation protection. New York: Plenum Press, 1991: 201 .
3. THACKER J. The use of recombinant DNA techniques to study radiation induced damage. *Int. J. Radiat. Biol.* 1986; 50: 1-15.
4. FRIBERG E C, HANAWALT P C. Mechanisms and Consequences of DNA Damage Processing. In: New York: A.R. Li ss) 1988.
5. HANAWALT P C, SARASIN A. Cancer prone hereditary diseases with DNA processing abnormalities. *Rends Genet.* 1986 ; 2 : 124-129.
6. TANAKA K IJ SATAKOTA I, OGITA Z. Molecular cloning of a mouse DNA repair gene that complements the defect of group A xeroderma pigmentosum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1986: 5512-5516.
7. SANDFORD K K, PARHAD R. Detection of cancer prone individuals using cytogenetic reponse to X-rays In: G. Obe, A T N, Chromosome aberrations: basic and applied aspects. Berlin: Springer Verlag 1990: 113-129.
8. YUNIS J J, SORENF A L, EOWE A E. Fragile sites are targets of diverse mutagens and carcinogens. *Oncogene.* 1987;1:59-70.
9. WILLMAN C L, SEVER C E, PALAVICINI M G. Deletion of IRF-1, mapping of chromosome 5q311., i, human leukaemia and pre-neoplastic myelodysplasia. *Science.* 1993; 259: 968-971.
10. PELTOMAKI P, AALTONEN L A, SISTONEN P. Genetic mapping of a locus predisposing to human colorectal cancer. *Science.* 1993; 260: 810-812.
11. NEWTON J A, BLACK A K, ARLETT C F. Radiobiological studies in the naevoid basal cell carcinoma syndrome. *Br. J. Dermatol.* 1990; 123: 573-580.
12. BISHOP JM. The molecular genetics of cancer. *Science,* 1987; 235: 305-311.
13. STEHELIN D, VARMUS H E, BISHOP J M. DNA related to the transforming gene(s) of avian sarcoma viruses is present in normal avian DNA. *Nature* 1976; 260: 170- 173.
14. HERRLICH P, PONTA H. Nuclear oncogenes convert extracellular stimuli into changes in the genetic programme. *Trends Genet.* 1989; 52: 112-116.
15. PONDER B. Gene losses in human tumours. *Nature.* 1988; 355: 400-402.
16. HARRIS H. The analysis of malignancy by cell fusion. *Cancer Res.* 1988; 48: 3302-3306.
17. NORBURY CJ Nurse P. Animal cell cycles and their control. *Annu. Rev. Biochem.* 1992; 61: 441-470.
18. HOLLSTEIN M, SIDRANSKY D, VOGELSTEIN B. p53 mutations in human cancers. *Science.* 1991; 253: 49-53
19. HASTIE N D, ALLSHIRE R. Human telomeres: fusion and interstitial sites *Trends Genet.* 1989; 5: 326-330.
20. SAGER R. Tumor suppressor genes: the puzzle and the promise. *Science* 1989; 246: 1406- 1412.
- 21 . WEINBERG R A. Tumor supressor genes. *Science.* 1991, 254 : 1138- 1146
22. SIEWEKE H, THOMPSON N L, SPORN M B. Mediation of wound-relate Rous sarcoma virus tumorigenesis by TGF- $\beta$ . *Science.* 1990; 251: 1656-1663.
23. WEINSTEIN J B. Protein kinase, phospholipid and control of growth. *Nature.* 1983; 302 : 750-751.
24. YUSPA J D E, POIRIER M C. Chemical carcinogenesis from animal models to molecular models in one decade. *Adv. Cancer Res.* 1988; 50: 25-70.
25. PETRUSEVSKA RT JURSTENBURGER GJ MARKS F. Cytogenetic effects caused by phorbol ester tumor promoters in primary mouse keratinocyte cultures: correlations with the convertogenix activity of TPA in multistage carcinogenesis. *Carcinogenesis.* 1988, 9: 1207-1215.
- 26 KENNEDY A R. Initiation and promotion of radiation-induced transformation in vitro: relevance of in vitro studies to radiation-induced cancer in human populations. In Chadwick, K, Cell transformation systems and radiation induced cancer in man. Bristol: Adam Hilger, 1989: 263-267
27. BASSER P, BELLOCQ J P, WOLFJ. A novel metalloproteinase gene specially expressed in stroma cells of breast carcinomas. *Nature.* 1990; 348: 699 704.
28. RABBITS T H, BOEHM T, MENGL-GAW L. Chromosomal abnormalities in lymphoid tumours: mechanisms and role in tumour pathogenesis *Trends Genet.* 1988, 4: 300-304.
29. PANTEL K, BOERTMAN A, NAKKEFF A. Inhibition of haematopoietic recovery from radiation-induced myelosuppression by natural killer cells. *Radiat. Res.* 1990; 122: 168-171.
30. MCMILLAN T J, PEACOCK J H.. Molecular determinant of radiosensitivity in mammalian cells. *Int. J. Radiat. Biol.* 1994; 65: 49-55.
31. RANDFORD I R. The level of induced DNA double strand breakage correlates with cell killing after X-irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 1990; 48: 45-54
32. WHITAKER SJ, MCMILLAN TJ. Oxygen effect for DNA double-strand break induction determined by pulsed-field gel electrophoresis. *Int. J. Radiat Bio* 1992, 61: 29-41 .
33. WATERS R L, LYONS B W. Detection of ionizing radiation-induced DNA double strand breaks by filter elution is affected by chromatid nuclear structure. *Radiat. Res.* 1990;124: 309-316.
34. MILNER A E, GORDON D J, TURNER B . A correlation between DNA-nuclear matrix binding and relative

- radiosensitivity in two human squamous cell carcinoma cell lines. *Int. J. Radiat. Biol.* 1993; 63: 13-20.
35. OKAYASU R, BLÖCHER D, ILIAKIS G. Variation through the cell cycle in dose response of DNA neutral filter elution in X-irradiated synchronous CHO cells. *Int. J. Radiat. Biol.* 1988; 5: 729-747.
  36. KASTAN MB, ONYERKWERE O, SIDRANSKY D. Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage. *Cancer Research*. 1991; 51: 6304-6311.
  37. LANE D P. p53 guardian of the genome. *Nature*. 1992; 358:15-16.
  38. LANE D P. A death in the life of p53. *Nature*. 1993; 362: 786-787.
  39. FORNACE A J. Mammalian genes induced by radiation : activation of genes associated with growth control *Ann. Rev. Genet.* 1992; 26 : 507-526.
  40. PAPATHANASIOU P A, KERR N C K, ROBBINS J H. Induction by ionizing radiation of the gadd45 gene in cultured human cells: lack of mediation by protein kinase C. *Mol. Cell. Biol.* 1991; 11: 1009-1016.
  41. SANKARANARAYANAN. Ionizing radiation, genetic risk estimation and molecular biology: impact and interferences. *Trends Genet.* 1993; 9: 79-84.
  42. POWELL S MCMILLAN T J. Clonal variation of DNA repair defect in a human glioma cell line. *Radiotherapy and Oncology*. 1991; 21: 225-232.
  43. KADHIM MA, MCDONALD D, GOODHEAD DT. Transmission of chromosomal instability after plutonium alpha particle irradiation. *Nature*. 1992; 355: 78-740.
  44. COX R. Molecular mechanisms of radiation oncogenesis. *Int. J. Radiat Biol.* 1994; 65: 57-64.
  45. BRASH D E, RUDOLPH J A, SIO J A. A role for sunlight in skin cancer: U.V. induced p53 squamous cell carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1991, 88: 10124-10128.
  46. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. Report of the General Assembly. 1986.
  47. United Nations. Sources and Effects of ionizing Radiation. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Bomb. Report to the General assembly With annexes. United Nations, New York. E.94. IX.2. 1993, 1993.
  48. JANOWSKI M R, COX R, STRAUSS G. The molecular biology of radiation induced carcinogenesis: thymic lymphoma, myeloid leukemia and osteosarcoma. *Int. J. Radiat. Biol.* 1990; 57: 677-691.
  49. MUTO M SATO T, HAYATA I. Reconfirmation of indirect induction of radiogenic lymphomas using thymectomized, irradiated B10 mice grafted with normal thymuses from Th1 congenic donors. *Cancer Res.* 1983; 43: 822-827.
  50. SADO T. Experimental radiation carcinogenesis studies at NIRS. In : *Proceeding of the International Conference on Radiation Effects and Protection*. Mito: Ibakari Japan, 1992: 36-42.
  51. CONTER A, DUPOUY D, PLANEL H. Demonstration of a biological effect of natural ionizing radiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 1983; 43: 421-432.
  52. CONTER A. Pre-irradiation of medium induces a subsequent stimulation or inhibition of growth according to the physiological state in *synechococcus lividus* in culture. *Radiat. Res.* 1987; 109: 342-46.
  53. YI P N, STANLEY W S, LEE W. Relationship between mitotic delay and the minimum dose rate of X irradiation required to stop cell proliferation. *Radiat. Res.* 1993, 133: 163-169.
  54. BILLEN D. Spontaneous DNA damage and its significance for the negligible dose controversy in radiation protection. *Radiat. Res.* 1990; 124: 242-245.
  55. LEADON S A. Production and repair on DNA damage in mammalian cells. *Health Phys.* 1990; 59: 15-22.
  56. HART R, CHOU , FEUERS R. DNA repair: As influenced by age, nutrition and exposure to toxic substances. In: E.J., C, *Biological effects of low level exposures to chemicals and radiation*. Boca Raton Lewis Publishers, 1992: 53-58.
  57. LINDAHL T. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 1993; 362: 543-546.
  58. LINDAHL T, NYBERG B. Rate of depurination of native deoxyribonucleic acid. *Biochemistry* 1972; 11: 3610-3621.
  59. Adaptive response to radiation in cells and organisms. United Nations Scientific Committee on the effects of Atomic Radiation. A/AC.82/R.542. 7 to 11 March 1994, 1994.
  60. LITTLE JB. Cellular, molecular and carcinogenic effects of radiation. *Hematology/oncology clinics of North America*. 1993; 7 : 337-352.
  61. SHIMIZU Y, KATO H, SCHULL W. Studies of the mortality of A-bomb survivors : 9, mortality. Part 2 : Cancer mortality based on the recently revised doses (DS86). *Radiation research* 1990; 121: 120-141.
  62. BOICE JD. Cancerogenesis-a synopsis of human experience with external exposure in medicine. *Health Phys.* 1988; 55: 621-630.
  63. BEIR V. Health effects of exposure to low levels of ionizing radiation. In. Washington DC: National Academy Press, 1990:
  64. PIERCE D A, STRAM D O, VAETH M. The errors-in-variables problem: considerations provided by radiation dose-response analysis of the A-bomb survivor data. *J. Am. Stat. Assoc.* 1992; 87: 51-59.
  65. SINCLAIR W K. Science, Radiation Protection, and the NCRP. RERF Update. 1994; Summer 1994: 3-5.
  66. Preston-D L. RERF Update. 1993; 4: 5.
  67. LEWIS J L. Estimated radiation doses to different organs among patients treated for ankylosis spondylitis with a single course of X rays. *Br. J. Radiol* 1988; 61: 212-220.
  68. DARBY S C, DOLL R, GILL S K. Long term mortality after a single treatment course with X-rays in patients treated

- ted for ankylosing spondilitis. *Br. J. Cancer.* 1987; 55: 179-190.
69. INSKIP P D, KEINERMAN R A, STOVALL M. Leukemia, lymphoma and multiple myeloma following pelvis radiotherapy for benign disease. *Rad Res* 1993; 135: 108-125.
70. SHORE R E. Issues and epidemiological evidence regarding radiation-induced thyroid cancer. *Radiat. Res;* 1992; 131: 98-111.
71. HOEIJMAKERS J H, BOOTSMA D. DNA repair: two pieces of the puzzle. *Nat Genet.* 1992; 1: 313-314.
72. KOMATSU K D, KODAMA S, OKUMARA Y. Restoration of radiation resistance in ataxia-telangectasia cells by the introduction of normal human chromosome 11. *Mutat. Res.* 1990; 235: 59-63
73. KYOIUMI S, AKIYAMA SM, HIRAI Y. Spontaneous loss and alteration of antigen receptor expression in mature CD4 T-cells. *J. Exp. Med* 1990; 171: 1981-1999.
74. THOMPSON L H, BROOKMAN K W, JONES N J. Molecular cloning of the human XRCCI gene which corrects defective DNA strand break repair and sister chromatid exchange. *Mol. Cell. Biol.* 1990; 10: 6160-6171.
75. BIEDERMAN K A, SUN J R, GIACCIA A J. Scid mutation in mice confers hypersensitivity to ionizing radiation and a deficiency in DNA double strand break repair. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA).* -1991; 88: 1394-197.
76. MAUER J, JANSSEN J W G, THIEL E. Detection of chimeric BCR-ABL genes in acute lymphoblastic leukaemia by the polymerase chain reaction. *Lancet.* 1991 ; 337: 1055-1058.