




Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
 EM|consulte
www.em-consulte.com



REVUE GÉNÉRALE

Perturbateurs endocriniens environnementaux et cancers hormonodépendants. De nouveaux facteurs de risque ?[☆]

Environmental endocrine disruptors and hormone dependent cancers.
New risk factors?

P. Fénichel^{a,*,b}

^a Service d'endocrinologie-reproduction-diabétologie-lipidologie, CHU de Nice, hôpital de l'Archet, 151, route Saint-Antoine-de-Ginestière, BP 3079, 06202 Nice cedex 3, France

^b Inserm U895, équipe 5, C3M, université de Nice-Sophia-Antipolis, Nice, France

Disponible sur Internet le 2 juillet 2011

MOTS CLÉS

Perturbateurs endocriniens ;
Cancer hormonodépendant ;
Xénoestrogène ;
Exposition fœtale ;
Programmation épigénétique

Résumé La responsabilité des perturbateurs endocriniens environnementaux (PEE) comme facteurs de risque dans la physiopathologie des cancers hormonodépendants s'appuie à la fois sur : (1) l'exposition in utero au distilbène, un modèle expérimental humain involontaire ayant entraîné chez la jeune fille, un cancer rare, le cancer du vagin, et chez la femme de plus de 40 ans, un risque majoré de cancer du sein, le plus fréquent des cancers féminins ; (2) de nombreuses études épidémiologiques cas/contrôles qui, bien que d'interprétation difficile et soumises à de nombreux biais, mettent en évidence une relation avec les taux de PEE dans le sang, le tissu graisseux ou la tumeur (cancer du sein et biphenyls polychlorés [PCB], hydrocarbures polyaromatiques (PAH), dioxine ou organochlorés ; cancer de la prostate et chlordecone ; cancer du testicule et PCB, hexachlorobenzène [HCB] ou chlordane) ; (3) des modèles expérimentaux, permettant ainsi chez les rongeurs après exposition fœtale ou périnatale au diéthylstilbestrol (DES), au bisphénol A, ou à l'atrazine de reproduire chez l'animal adulte des lésions précancéreuses mammaires ou prostatiques ; (4) la possibilité d'interférer in vitro sur la croissance de lignées de cellules malignes humaines avec le bisphénol A neutralisant l'efficacité de la chimiothérapie (sein) ou stimulant la prolifération cellulaire (prostate, testicule). Bien que de nombreuses interrogations persistent, ces différents

[☆] Article issu d'un colloque sur les perturbateurs endocriniens, organisé par le réseau environnement santé le 14 septembre 2010.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : fenichel.p@chu-nice.fr

éléments orientent vers une nouvelle évaluation de la responsabilité carcinogénique des PEE, prenant en compte les faibles doses, dans des fenêtres d'exposition critiques surtout foetale, la synergie entre les molécules et l'induction de modifications épigénétiques stables ne touchant pas la structure du génome mais étant susceptibles de participer à la transformation maligne et/ou à la promotion tumorale.

© 2011 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

KEYWORDS

Endocrine disruptors;
Hormone dependent
cancers;
Xenoestrogens;
Fetal exposure;
Epigenetic
programming

Summary The involvement of environmental endocrine disruptors (EED) in hormone dependent carcinogenesis is supported by: (1) in utero exposure to distilbene, a human experimental model which led to vaginal adenocarcinoma in the young daughter and an increased risk of breast cancer after 40 years; (2) epidemiological case/control studies showing although many confounders and methodological bias, a correlation between blood, adipose tissue or tumoral EED levels and hormone dependent cancers (breast cancer and PCB, PAH and dioxine levels; prostate cancer and chlordecone levels; testicular germ cell cancer and of PCB, HCB or chlordane blood levels of the mothers); (3) experimental models able to induce in rodents after fetal or perinatal exposure to diéthylstilbestrol (DES), bisphenol A or atrazine, adult breast or prostate cancers; (4) in vitro malignant cell studies showing how EEDs like bisphenol A are able to interfere with prostate, breast or testicular germ cell proliferation, apoptosis and survey. All these reports suggest a reassessment of EED chemotoxicity during carcinogenesis which needs to include low doses of EEDs with additive or synergistic mixture during critical windows of exposure such as fetal or perinatal periods leading to stable epigenetic modifications which do not change the genetic code but may participate to the malignant transformation and/or promotion.

© 2011 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Introduction

Les données épidémiologiques humaines montrant une augmentation de certains cancers, en particulier le cancer du sein et de la prostate, l'impossibilité d'expliquer par des facteurs génétiques la majorité de ces cancers, le caractère bien établi de leur hormonodépendance et l'expérience du distilbène (un modèle expérimental humain involontaire d'exposition in utero aux xénoestrogènes, ayant entraîné chez la jeune fille un cancer rare l'adénocarcinome vaginal à cellules claires et chez la femme de plus de 40 ans un risque majoré de cancer du sein) ont suggéré depuis deux décennies de nouveaux facteurs de risque représentés par les perturbateurs endocriniens environnementaux (PEE). Leur présence ubiquitaire dans l'environnement comme l'eau, l'air, l'alimentation et dans les milieux biologiques, y compris le sang, le liquide amniotique, le lait maternel et le tissu adipeux où ils s'accumulent lorsqu'ils sont lipophiles, leurs effets souvent xénoestrogéniques (Fig. 1), leur aptitude à induire in vitro et chez l'animal d'expérience, un effet cocarcinogène, invitent à analyser attentivement leur participation éventuelle à l'étiopathogénie de ces cancers (sein, prostate, testicule). Nous étudieront particulièrement ces trois cancers car ils partagent entre eux une incidence croissante, une estrogénodépendance classique ou plus récemment reconnue, des données expérimentales d'exposition in vivo chez les rongeurs ou in vitro sur des lignées cancéreuses humaines, soutenant l'implication des PEE. Si ces différents éléments ont permis de passer d'une simple hypothèse il y a une dizaine d'années, recommandant le principe de précaution à une suspicion plus objective aujourd'hui, il reste beaucoup à faire pour évaluer exactement leur caractère délétère pour la santé humaine, leur part de responsabilité dans la survenue de ces cancers, leurs

différents mécanismes d'action, et au bout du compte pour permettre la détermination réglementaire des seuils maximums acceptables d'exposition quotidienne.

Le cancer du sein

Une véritable pandémie

Le cancer du sein est le plus fréquent des cancers féminins : un million de nouveaux cas par an dans le monde dont 40 000 en France soit 32 % des cancers féminins [1]. Il est responsable de 2 % des décès féminins soit la première cause de mortalité féminine par cancer. Son incidence déjà importante est en augmentation régulière avec un doublement en 20 ans : 2 à 5 % par an selon les régions du monde (avec une grande disparité avec effectivement des zones à forte incidence comme l'Amérique du Nord, l'Europe, l'Australie et des zones de faible incidence comme l'Asie ou l'Afrique [2]) suggérant déjà des facteurs d'environnement nutritionnels ou autres. Cette hypothèse est renforcée par le fait que moins de 10 % des cancers du sein sont familiaux et liés à des mutations germinales transmissibles et par la constatation de variations d'incidence chez les migrantes comme les femmes d'origine asiatique s'installant aux États-Unis avec, dès la seconde génération, une augmentation de l'incidence [2].

Un cancer estrogénodépendant

Le sein est une glande estrogénodépendante dont le développement démarre pendant la vie foetale, se poursuit pendant la péripuberté et les phases folliculaires mais dont la différenciation ne se complète qu'au cours de la ges-

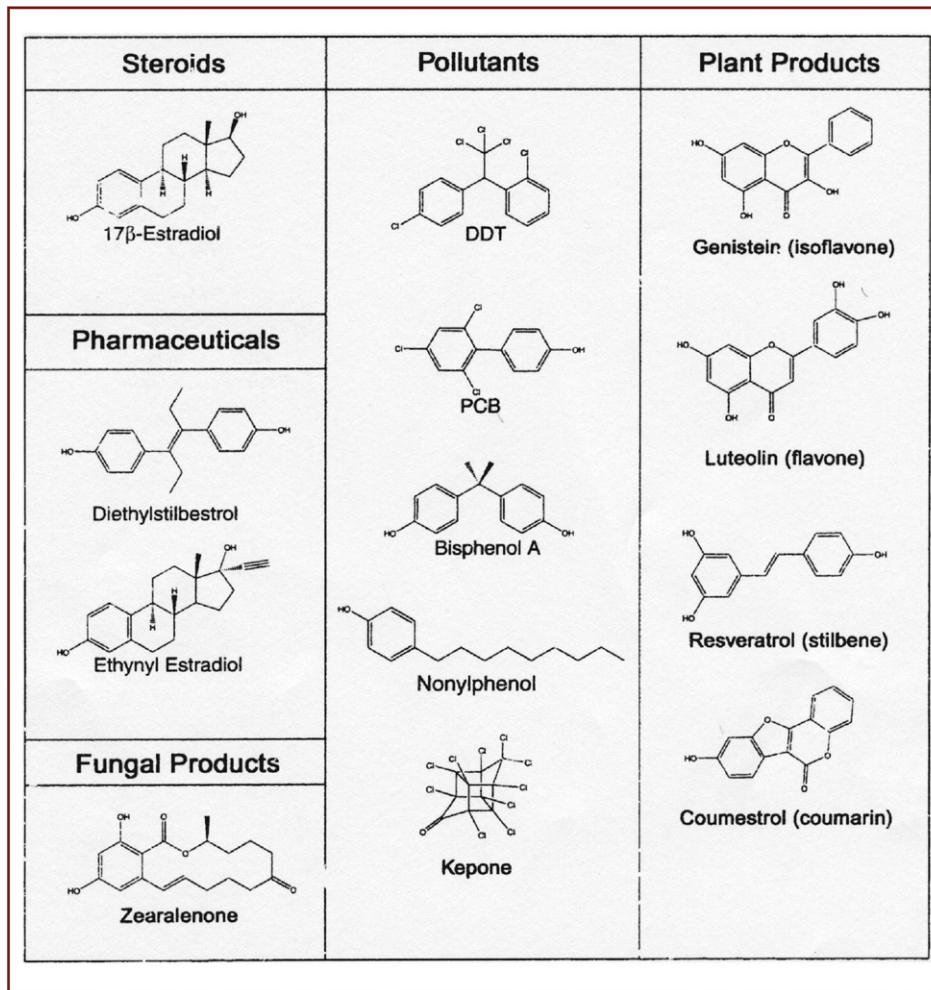


Figure 1. Les xénoestrogènes : hormones stéroïdes utilisées dans l'élevage, médicaments à usage humain ou vétérinaire, polluants chimiques à usage industriel ou agricole, substances naturelles (phytoestrogènes ou produits fongiques). À noter l'analogie structurale entre le distilbène, le bisphénol A, les PCB, et le DDT...

tation et l'allaitement. Le cancer du sein est un cancer dont l'estrogénodépendance est depuis longtemps reconnue. Plusieurs facteurs de risque de cancer du sein sont liés à l'exposition aux estrogènes endogènes (puberté précoce, ménopause tardive, nulliparité, obésité, etc.) ou exogènes (contraception orale, traitement hormonal de la ménopause, alcool). Il était par conséquent tout à fait logique d'évoquer la responsabilité des PEE estrogénomimétiques.

Perturbateurs endocriniens environnementaux et cancer du sein

Aussi depuis une quinzaine d'années des études épidémiologiques d'exposition ont-elles tenté de corréler les taux sanguins, gras ou tumoraux de PEE estrogénomimétiques avec la survenue du cancer du sein [3,4]. Dans la revue de Brody et al. [4], les auteurs en fonction de la méthodologie des études retiennent des arguments solides en faveur surtout des hydrocarbures polycycliques, certains organochlorés comme les biphenyles polychlorés (PCB), la dieldrine [5] ou l'hexachlorobenzène (HCB) [6] et la dioxine [7] avec une absence de lien retrouvée avec le DDE dérivé du DDT et une difficulté de conclure pour les

autres produits examinés [4]. Ces études se sont heurtées en fait à d'importants problèmes méthodologiques. Brody et al. en font une analyse critique remarquable [4] mettant en évidence les difficultés d'évaluation fiable de l'exposition, la prise en compte insuffisante des facteurs confondants comme les autres facteurs de risque du cancer du sein, le moment inadéquat du prélèvement par rapport à la période critique d'exposition, les mesures uniques face aux cocktails d'exposition et l'absence de véritables marqueurs précliniques. Cette analyse critique a le mérite d'identifier les difficultés de ce type d'étude de corrélation et de suggérer de nouvelles approches méthodologiques afin d'évaluer objectivement la part de responsabilité des PEE.

Une des critiques majeures faites dans un premier temps par les toxicologues traditionnels concernait les doses de PEE retrouvées dans l'environnement. Celles-ci leur semblaient, à première vue, particulièrement faibles comparées aux doses capables d'induire un effet notable en toxicologie classique à savoir un effet génotoxique. Néanmoins, cette approche toxicologique n'intégrait ni la notion plus récente d'effet non génotoxique à faibles doses comme nous le verrons plus loin, ni la notion de bioaccumulation, de

mélanges synergiques, de susceptibilité individuelle, ni celle de fenêtre d'exposition.

La bioaccumulation

Il est en effet important de tenir compte lors de l'exposition prolongée à ces produits souvent lipophiles, de leur bioaccumulation dans le tissu grasseux comme cela a été bien montré dans le monde animal [8]. Ainsi, il a été montré dans le lac Ontario que la concentration des PCB étaient multipliés par un facteur 10^6 entre le plancton et le tissu grasseux du goéland argenté qui se nourrit de poissons du lac [8]. Ces produits sont donc progressivement libérés dans le sang à partir du tissu grasseux avec des possibilités de fortes concentrations locales comme dans la graisse mammaire.

L'effet « cocktail »

Un autre aspect important qui apparaît depuis peu dans les travaux publiés est de considérer l'ensemble des molécules chimiques environnementales auxquelles un individu est soumis tout au long de son existence, ce que les Anglo-Saxons appellent « *mixture* ». Le dosage d'un seul de ces facteurs ne permet pas d'appréhender objectivement la toxicité, par exemple l'estrogénicité, à laquelle il a été soumis. L'effet de ces molécules peut en effet s'additionner ou se potentialiser [9]. Ainsi, utilisant un marqueur d'exposition globale aux xénoestrogènes, basé sur la prolifération de cellules cancéreuses mammaires *in vitro* après séparation des stéroïdes sexuels naturels des xénoestrogènes par chromatographie, Ibarluzea et al. [10] ont pu mettre en évidence dans la région agricole de Grenade, dans le cadre d'une étude prospective portant sur la graisse péri-tumorale, un risque de cancer du sein X5,47 lorsque le marqueur global était élevé alors que le dosage des 16 pesticides organochlorés pris individuellement ne montrait pas de corrélation significative [10].

L'équipe argentine de Munoz-de-Toro [11] démontre également que la somme des pesticides organochlorés retrouvés dans la graisse péri-tumorale de femmes ménopausées présentant un cancer du sein ER α positif est corrélée strictement à l'expression tumorale des récepteurs à la progestérone, ce qui atteste de l'estrogénicité de ces pesticides, et également à l'agressivité tumorale, ce qui atteste du rôle promoteur délétère de la persistance de ces résidus organochlorés groupés [12]. L'association de deux PEE peut conduire à des effets synergiques non prévisibles comme montré avec la dioxine et certains pesticides dont la combinaison entraîne sur des cellules de cancer du sein *in vitro* une modification du métabolisme des estrogènes [13]. Aussi est-il nécessaire de mettre au point des tests *in vitro* afin d'évaluer leurs effets en aval, soit sur les effets biologiques comme la prolifération cellulaire soit sur l'expression de gènes cibles.

La susceptibilité individuelle

Le cancer du sein est bien entendu multifactoriel. Plusieurs études épidémiologiques ont retrouvé une liaison avec le taux de PEE en stratifiant la population selon différents facteurs de susceptibilité. Ainsi, une hypothèse alternative consiste à considérer que la présence de taux plus élevés

d'organochlorés chez une femme représente un marqueur de risque lié à une détoxification imparfaite en rapport avec une susceptibilité génétique particulière. Ces composés sont en principe métabolisés par des enzymes de la famille des cytochromes P450 puis détoxiqués par conjugaison en glucuronides sous l'effet de la glutathione-S-transférase (GST). Or, des polymorphismes [14] des gènes *P450 CYP 1A1* et *CYP 1A2* et GST ont été rapportés associés aux tumeurs du sein. Les taux élevés d'organochlorés servent alors de révélateur d'un sous-groupe à susceptibilité génétique à développer un cancer du sein. Plusieurs études ont rapporté une corrélation significative entre les taux de PCB et la survenue de cancer du sein chez les femmes présentant un polymorphisme du gène codant pour CYP 1A1 [4,15]. Hoyer et al. [5] rapportent une corrélation pour les PCB chez les femmes présentant un polymorphisme de P53, un gène suppresseur très impliqué en cancérologie. Muscat et al. [16] ne trouvent une corrélation avec les PCB que pour les tumeurs graves et récidivantes et Demers et al. [17] pour les tumeurs graves et exprimant le récepteur ER α . Hoyer et al. [18] corrélient la dieldrine, un pesticide organochloré, seulement pour les tumeurs ER α négatif.

La fenêtre d'exposition

Les études retrouvant une corrélation entre le cancer du sein et la présence de tel ou tel produits organiques persistants (POP) dans le sang ou le tissu grasseux, concernent des prélèvements effectués une fois le diagnostic de cancer établi et présentent de ce fait une limitation importante vis-à-vis de la période d'exposition véritable. Cohn et al. [19] ont bénéficié de façon unique d'une collection de prélèvements sanguins effectués chez des jeunes accouchées à partir de 1960 et du suivi prospectif de cette cohorte de femmes. Le pp'DDT a été dosé dans des sérum prélevés avant et après son interdiction et la période d'exposition (l'âge de la femme) a été considérée. La courbe des valeurs de pp'DDT retrouvées suit, bien entendu, celle de l'introduction, l'utilisation et l'interdiction du DDT aux États-Unis. Mais de façon surprenante une corrélation très étroite est retrouvée entre l'importance de l'exposition au DDT pendant l'enfance et l'adolescence avant 20 ans et le risque de survenue de cancer du sein [19] alors qu'une telle corrélation n'est plus retrouvée lorsque l'exposition a eu lieu après 20 ans. Cela n'est pas sans rappeler la particulière sensibilité de la glande mammaire à se cancériser lorsqu'elle est irradiée en période de développement pré- ou péri-pubertaire [20].

L'importance de la fenêtre d'exposition, en particulier de la période fœtale dans la programmation de pathologies adultes et même éventuellement dans les générations suivantes, est aujourd'hui relativement bien documentée [21]. L'expérience malheureuse du distilbène chez l'homme reproduite chez les rongeurs illustre parfaitement cette notion de programmation fœtale. Ainsi, l'exposition *in utero* au distilbène a-t-elle été capable d'induire à l'âge adulte la survenue de cancer du vagin chez la fille [22] ou de l'utérus chez la ratte [23], risque persistant à la génération suivante suggérant des modifications du génome soit de type épigénétique [24] soit par une plus grande instabilité génomique [25]. Concernant les filles exposées *in utero* au distilbène prescrit à leur mère pour réduire le risque de

fausses couches, une étude prospective réalisée à Boston par Palmer et al. [26] rapporte en 2006, à partir d'une comparaison portant sur 4821 femmes exposées et 2095 contrôles suivies pendant 19 ans, un risque majoré de développer un cancer du sein à partir de 40 ans avec un R.R. de 2,5 et un intervalle de confiance de 1,0–6,3 [26], risque relatif qui devient égal à 3 (1,01–8,98) après 50 ans. Ces différentes observations suggèrent la vulnérabilité de l'exposition aux estrogènes lors de la période fœtale pour le développement de la glande mammaire et donc le risque lié à une exposition éventuelle aux xénoestrogènes. Cette notion de programmation fœtale et/ou périnatale par exposition à des xénoestrogènes, d'une susceptibilité à développer à l'âge adulte une tumeur mammaire maligne, a été parfaitement démontrée chez la souris exposée à des doses faibles de bisphénol A [27,28]. En effet de telles souris soumises in utero à des doses de 25 à 250 mg/kg par jour montrent dès la période pubertaire et à l'âge adulte une altération du développement et de l'histoarchitecture de leurs glandes mammaires [27,29]. Après la puberté, la prolifération cellulaire est exagérée dans le stroma et il existe une augmentation franche du développement des canaux, des canaux terminaux, des bourgeons terminaux et des bourgeons alvéolaires avec sécrétion alvéolaire exagérée, tous ces changements étant associés à la carcinogenèse aussi bien chez la souris que dans l'espèce humaine. Les mêmes souris soumises aux mêmes doses de bisphénol A en période périnatale montrent à la puberté une sensibilité exacerbée de la glande mammaire aux estrogènes, une augmentation de la surface et du nombre des bourgeons terminaux rapportés à l'ensemble des structures canalaire, avec une diminution de leur activité apoptotique, une augmentation du nombre de cellules épithéliales exprimant le récepteur à la progestérone [12], une augmentation des ramifications canalaire latérales et donc de leur densité; tous ces éléments évoquent une augmentation de la susceptibilité à développer un cancer aussi bien chez la souris que dans l'espèce humaine. L'atrazine, un pesticide organochloré très utilisé dans l'agriculture, est également capable d'induire chez le rat par exposition maternelle des lésions mammaires adultes [30].

Le cancer germlinal testiculaire

Épidémiologie

Le cancer germlinal testiculaire ne représente que 2 % de tous les cancers mais c'est le cancer le plus fréquent de l'homme jeune. C'est aussi la principale cause d'autoconservation dans les banques de spermes Centre d'étude et de conservation des oeufs et du sperme (CECOS), en raison de ses traitements stérilisants (chirurgie, radiochimiothérapie) et surtout il est en constante augmentation à travers le monde, augmentation estimée à 2 à 3 % par an [31]. Bien que cette augmentation reste inexpliquée, ses liens avec la cryptorchidie ou non-descente testiculaire et la stérilité masculine dans le cadre du syndrome de dysgénésie testiculaire [32] et les résultats de plusieurs études épidémiologiques suggèrent un lien avec l'exposition in utero aux PEE favorisant la transformation maligne des cellules germinales souches fœtales (les gonocytes) dont ces cancers sont issus [33]. Ainsi, il a été

retrouvé aux États-Unis six fois plus de cancer du testicule chez les ouvriers agricoles que dans la population témoin [34], en particulier ceux exposés à un pesticide organochloré l'atrazine [35], encore très utilisé dans nos régions agricoles de l'Ouest. Hardell et al. [36] rapportent en Suède une étude sur différents PEE mesurés chez les hommes atteints de cancer du testicule et chez leur mère. Une corrélation forte est retrouvée non pas avec les dosages sanguins des patients eux-mêmes mais avec les dosages maternels [36] avec un risque multiplié par quatre avec la somme de PCB, l'HCB, nonachlordane élevée et non le pp'DDE, un dérivé stable du DTT anti-androgénique, suggérant le rôle de l'exposition fœtale in utero aux xénoestrogènes.

Estrogénodépendance du cancer du testicule

Mais le cancer du testicule est-il comme le cancer du sein ou de la prostate estrogénodépendant ? Il s'agit d'une notion moins classique que pour le cancer du sein. En fait le séminome, cancer du testicule le plus fréquent, exprime bien l'aromatase, l'enzyme permettant la transformation de la testostérone en estradiol et ces cellules expriment également le récepteur des estrogènes ER β mais non ER α [37]. Malheureusement, contrairement au cancer de la prostate et du sein, il n'est pas possible d'induire chez les rongeurs de cancer germlinal testiculaire par exposition in utero ou périnatale à des xénoestrogènes. Il n'existe d'ailleurs aucun modèle expérimental connu chez ces animaux permettant d'induire un cancer testiculaire germlinal ressemblant au séminome. Force est donc d'utiliser des lignées de cellules cancéreuses humaines. C'est ce que nous avons fait pour démontrer que les estrogènes étaient capables de réguler la prolifération des cellules séminomateuses humaines in vitro [37,38]. L'estradiol, l'estrogène naturel, exerce sur les cellules séminomateuses un effet suppresseur sur la prolifération qui est médié par le récepteur nucléaire classique ER β . L'estradiol couplé à la sérum albumine bovine ne traversant pas la membrane, en revanche, stimule la prolifération des cellules cancéreuses germinales via un récepteur membranaire couplé aux protéines G. Il existe donc au moins deux mécanismes différents par lesquels des xénoestrogènes peuvent réguler les cellules séminomateuses. Nous avons ainsi testé sur ce modèle différents PEE (DES, atrazine, bisphénol A) et constaté que leur mode d'action prédominant et donc la résultante en termes de contrôle de la prolifération des cellules malignes testiculaires était variable.

Bisphénol A et cancer germlinal testiculaire

Ainsi, le bisphénol A est capable à dose très faible (Fig. 2), correspondant aux doses retrouvées dans le sang du cordon des nouveau-nés garçons [39] de l'ordre du nanomolaire (nM), de stimuler la prolifération des cellules séminomateuses humaines in vitro, via le récepteur membranaire couplé aux protéines G, GPER ou appelé aussi GPR30 différent de ER [40]. La courbe dose/réponse n'est pas linéaire mais en U renversé témoignant d'une double action du bisphénol A selon la dose et via les deux récepteurs totalement distincts évoqués précédemment [40] : à faibles doses pertinentes sur le plan environnemental, le bisphénol A exerce une action promotrice via le récepteur membranaire GPER [40]. À fortes doses, il agit sur le récepteur clas-

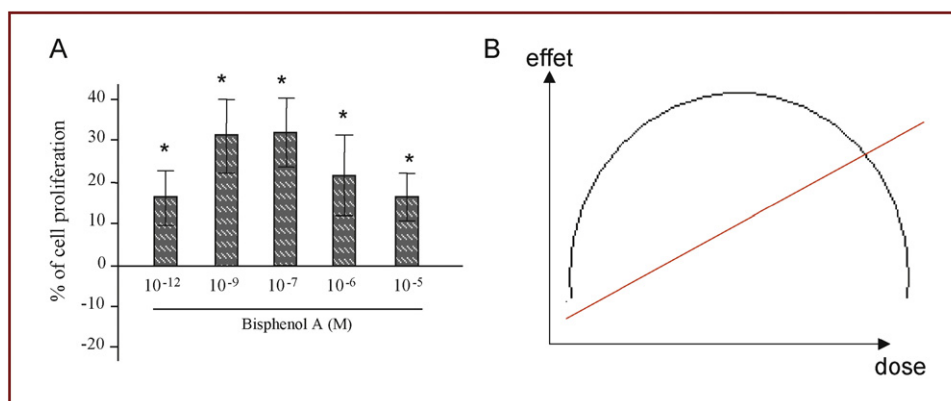


Figure 2. Le bisphénol A stimule la prolifération des cellules séminomateuses humaines JKT-1, à faibles doses de l'ordre du nanomolaire (nM) : noter que la courbe dose /réponse n'est pas linéaire mais en U renversé, lié vraisemblablement à une action différente du BPA selon la concentration.

sique ERβ et exerce alors de façon prédominante une action opposée suppressive [37]. Les doses faibles promotrices sont celles capables chez la souris par exposition in utero de programmer la capacité de développer à l'âge adulte des lésions cancéreuses mammaires [41] ou prostatiques [42] comme évoquées dans le paragraphe suivant.

Le cancer de la prostate

L'épidémiologie

Le cancer de la prostate est le plus fréquent des cancers de l'homme de plus de 50 ans et la deuxième cause de mortalité masculine par cancer. Son incidence continue à croître indépendamment de l'âge [43]. Malgré un meilleur dépistage et de meilleurs traitements, sa mortalité reste élevée lorsque la phase d'androgénodépendance est dépassée. Parmi les facteurs de risque, seuls des facteurs génétiques (familial et ethnique) et nutritionnels (régime riche en graisses) sont bien identifiés mais une forte suspicion existe à présent vis-à-vis des PEE [44].

La prostate est classiquement androgénodépendante et se développe sous l'effet des androgènes à partir de la puberté. L'androgénodépendance du cancer de la prostate, en tout cas dans sa phase initiale, est à la base du traitement anti-hormonal. Mais le rôle additif des estrogènes dans le développement de la prostate normale et cancéreuse est de plus en plus argumenté. La prostate exprime l'aromatase et les récepteurs des estrogènes ERα et ERβ [45] dont la localisation et le rôle fonctionnel diffèrent. Les estrogènes maternels au troisième trimestre de la grossesse contribuent au développement de la prostate chez l'homme. Les fils des mères traitées pendant leur grossesse par du distilbène présentent à la naissance une hyperplasie de la prostate [46].

Le risque de cancer de la prostate et de sa gravité n'est pas comme on pourrait le penser corrélé directement mais inversement au taux d'androgènes circulant. En revanche, il existe une corrélation positive entre le taux sanguin d'estradiol et le risque de survenue du cancer de la prostate qui pourrait expliquer en partie l'augmentation de sa fréquence avec l'âge étant donné une diminution de la

testostérone et une plus forte aromatisation des androgènes en estrogènes chez l'homme vieillissant [45].

Pour illustrer le rôle de l'exposition aux PEE, un article très frappant a été publié cette année dans une grande revue de cancérologie rapportant l'implication vraisemblable de la chlordecone dans l'augmentation du cancer de la prostate aux Antilles françaises [47]. La chlordecone ou kepone est un pesticide organochloré qui a été largement utilisé dans les Antilles françaises de 1973 à 1993 dans les bananeraies. Sa dégradation étant très lente, elle persiste dans les nappes phréatiques pendant plusieurs décennies. Chez les rongeurs elle est considérée comme un carcinogène et induit le cancer du foie. Chez l'homme elle a donné lieu à un débat houleux et contradictoire pendant plus de dix ans sur sa responsabilité dans la fréquence et l'augmentation de l'incidence du cancer de la prostate en Guadeloupe et en Martinique [47], certains se réfugiant pendant longtemps derrière le fait que le cancer de la prostate était plus fréquent chez l'homme d'origine africaine comparé à d'autres ethnies [47]. Cette étude d'exposition cas/contrôle menée par des épidémiologistes, des urologues et des toxicologues dans une zone géographique limitée avec une exposition contrôlée, a permis de vérifier le risque lié à l'exposition à la chlordecone, indépendamment de l'origine ethnique et d'autres biais statistiques ou facteurs confondants. Ainsi, le risque est d'autant plus élevé que le taux sanguin est haut, corrélation d'autant plus forte que l'homme a plus de 60 ans, une histoire familiale de cancer de la prostate ou un séjour prolongé en métropole (rôle de l'alimentation riche en graisses) et un polymorphisme génétique concernant la chlordecone reductase, une enzyme impliquée dans sa dégradation, évoquant une susceptibilité individuelle. En cas de cancer, l'indice d'agressivité tumorale est proportionnel au taux sanguin de chlordecone [47].

Modèles expérimentaux : des mécanismes épigénétiques

Ces données épidémiologiques sont soutenues par l'expérimentation animale. En effet, l'exposition in utero et périnatale aux estrogènes, dont le distilbène et le bisphénol A, entraîne chez les rongeurs à l'âge adulte des hyperplasies de la prostate et des lésions précancéreuses

[48]. L'exposition néonatale à l'estradiol entraîne chez le rat à l'âge adulte des lésions précancéreuses [48]. Cette exposition périnatale à l'estradiol ou au bisphénol A favorise à l'âge adulte la susceptibilité à développer un cancer spontané ou après induction estrogénique [42,45]. Lors de l'échappement thérapeutique aux anti-androgènes dans le cancer de la prostate devenant androgéno-indépendant, différents mécanismes physiopathologiques ont été évoqués dont la survenue de mutations somatiques du récepteur aux androgènes [49]. Il a été montré dans certains de ces cas sur des cellules cancéreuses in vitro qu'elles devenaient sensibles aux bisphénol A via ce récepteur, muté favorisant ainsi la prolifération tumorale.

La méthylation de l'ADN est une marque épigénétique impliquée dans l'initiation et la promotion des cancers [50]. Ho et Prins [42,45] ont étudié chez le rat les modifications épigénétiques induites dans la prostate adulte après exposition fœtale ou périnatale aux estrogènes et au bisphénol A. Ils ont retrouvé ainsi 50 séquences modifiées. Parmi celles-ci une séquence codant pour une enzyme particulièrement intéressante car impliquée dans le contrôle de la prolifération, la phosphodiesterase 4D4, enzyme dégradant l'AMP cyclique. Ce gène est d'autant plus hypométhylé que la protéine est surexprimée. Cette hypométhylation s'observe très tôt avant l'âge adulte, avant toute lésion histologique et peut donc servir de biomarqueur précoce [42]. De façon intéressante, ce gène est retrouvé également hypométhylé dans le cancer de la prostate humaine. Le gène codant pour le récepteur ER β exerce dans la prostate, comme nous l'avons vu pour le séminome, un rôle suppresseur tumoral [51]. Ce gène est retrouvé volontiers hyperméthylé au niveau de son promoteur dans le cancer de la prostate avec extinction de l'expression de ce gène et disparition de l'effet suppresseur. La réexpression après déméthylation de ce gène dans des cellules de cancer de la prostate in vitro, grâce à des agents pharmacologiques inhibant les ADN méthyltransférases (DNMTs), permet la reprise de l'effet suppresseur tumoral [51] et pourrait donc être utilisé en thérapeutique.

Mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens environnementaux

Une des questions majeures concernant l'hypothèse du rôle de l'exposition aux PEE dans l'induction des cancers hormonodépendants concerne leur(s) mécanisme(s) d'action. Sont-ils réellement cocarcinogènes aux taux présents dans l'environnement? Sont-ils cytotoxiques, génotoxiques ou épigénotoxiques? Participent-ils à l'initiation tumorale ou simplement à la promotion tumorale?

Peu d'arguments militent en faveur d'une véritable génotoxicité aux doses d'exposition en dehors de rares travaux sur le DES in vitro montrant des remaniements chromosomiques [25,52]. Il ne s'agit donc pas d'une action mutagène encore moins cytotoxique aux doses présentes dans l'environnement d'où l'inadaptation de la toxicologie traditionnelle pour leur évaluation. Néanmoins, certains PEE à activité *estrogène-like* sont métabolisés de façon similaire à l'estradiol vers la voie du 2-hydroxyestrone, métabolite bénin et peu actif ou la voie du 16- α -hydroxyestrone, un estrogène puissant et produisant des dérivés métabolites

oxygénés actifs délétères. Ces composés à pouvoir oxydant pourraient via les radicaux libres théoriquement altérer le matériel génétique. Il a ainsi été postulé que les organochlorés pouvaient orienter plus volontiers vers la voie délétère 16- α - et abaisser le rapport 2-hydroxyestrone/16- α -hydroxyestrone. Mais un éventuel effet mutagène par cette voie n'a jamais été formellement démontré même pour les estrogènes [53].

Les xénoestrogènes peuvent agir par un effet promoteur tumoral en se liant alors aux récepteurs classiques des estrogènes en agissant comme des agonistes ou des antagonistes. La plupart de ces xénoestrogènes ont cependant une affinité pour ces récepteurs nucléaires, ER α et ER β plus de 1000 fois plus faible [54] que l'estradiol, ce qui a fait douter de leur intervention effective et/ou de leur véritable estrogénicité [55,56]. Leur taux peu élevé et leur faible affinité pourraient en partie être compensés par l'effet cocktail avec des synergies entre les molécules. Mais surtout il a été mis récemment que les PEE pouvaient agir également par l'intermédiaire d'autres récepteurs, nucléaires ou membranaires [40,57,58]. Dans le modèle des cellules séminomateuses humaines comme montré plus haut, il n'y a pas de récepteur ER α , et ER β n'est pas impliqué pour l'action du bisphénol A. Le candidat pourrait être un récepteur membranaire couplé aux protéines G [40]. Le bisphénol A est également capable in vitro de neutraliser sur des cellules cancéreuses humaines mammaires à doses très faibles compatibles avec celles retrouvées dans le sang circulant [41] ou dans les urines [59] de l'ordre du nM comme pour les cellules séminomateuses, l'effet des drogues chimiothérapeutiques habituellement utilisées dans ces cancers évolutifs [60]. Cette inhibition était retrouvée aussi bien sur les cellules exprimant le récepteur ER α ou ne l'exprimant pas, suggérant l'intervention d'autres récepteurs.

Ainsi, le bisphénol A agit via le récepteur membranaire aux estrogènes couplé aux protéines G, GPR30 [57] ou appelé à présent récepteur des estrogènes couplé aux protéines G (GPER) exprimé sur plusieurs cancers hormonodépendants : sein [61], endomètre, ovaires [62] ou testicule comme évoqué plus haut [40]. D'autres récepteurs nucléaires non classiques des estrogènes ont également été impliqués : ERR γ pour le bisphénol [58] mais également pour le DES [63]. Néanmoins, dans le modèle DES chez le rongeur, les effets induits par l'exposition fœtale ou périnatale ne sont pas reproduits en l'absence du récepteur classique ER α , ce qui semble suggérer son intervention. Il est vraisemblable que les xénoestrogènes agissent sur un panel de récepteurs [64] sans exclure les récepteurs ERs et avec une affinité différente pour chacun selon leur configuration chimique (Fig. 2). Les PEE peuvent également modifier les interactions de ces récepteurs entre eux comme rapporté par Ohtabe et al. [65] pour la dioxine, leur récepteur AhR et le récepteur ER α .

Depuis une dizaine d'années, les concepts en cancérologie ont évolué, ne faisant plus jouer aux mutations itératives et aux remaniements chromosomiques un rôle exclusif dans l'initiation tumorale. Les modifications épigénétiques régulant l'expression des gènes sont de plus en plus mises en avant, en particulier celles touchant les gènes suppresseurs de tumeur et les oncogènes. Ainsi, le contrôle de la méthylation des promoteurs des gènes et l'état de la chromatine, en particulier les modifications biochimiques des histones,

semblent jouer un rôle essentiel y compris dans la transformation maligne [49,66].

Le concept d'une programmation différentielle très précoce au cours du développement par les hormones stéroïdes, estrogènes et/ou aux androgènes, est connu depuis longtemps influant à la fois la structure et la fonction de différents organes sexuellement différenciés dont le cerveau. L'effet délétère d'une estrogénisation ou d'une androgénisation précoce, anormale et asynchrone est connu dans différentes situations pathologiques aussi bien dans le monde animal qu'en clinique humaine. Mais c'est le modèle du distilbène, un modèle expérimental humain involontaire et dramatique, qui a suggéré un nouveau schéma d'intervention des PEE qui, lors de l'exposition in utero, induirait des modifications épigénétiques stables ne touchant pas le génome mais susceptibles, à l'âge adulte, de favoriser la transformation et/ou la promotion tumorale associée à des mutations et/ou favorisant alors des remaniements chromosomiques. Le distilbène est un médicament donné aux femmes enceintes entre les années 1955 et 1975 pour réduire le risque de fausses couches ayant entraîné à la fois des anomalies de l'appareil génital dans les deux sexes et la survenue de cancer (vagin, sein, testicule) chez les enfants devenus adultes [67].

C'est vraisemblablement en reproduisant les effets délétères de l'exposition in utero au distilbène chez les rongeurs que les premiers arguments en faveur de modifications épigénétiques ont été pour la première fois décrites [24] pour les anomalies utérines induites chez la souris par exposition néonatale au distilbène et le gène de la lactoferrine [24]. Plus récemment, Bromer et al. [67] ont précisé toujours pour le DES ces mécanismes pour l'induction du cancer de l'utérus chez la souris en précisant le devenir du gène *HOXA10*, un facteur de transcription impliqué dans le développement utérin, dont le promoteur est hypométhylé lors de l'exposition in utero entraînant une mémoire épigénétique altérée se traduisant à l'âge adulte par une surexpression du gène et une susceptibilité à développer un cancer de l'utérus. D'autres modifications épigénétiques induites par l'exposition au distilbène ont été rapportées : pour l'oncogène *c-fos* impliqué dans le contrôle de la prolifération cellulaire et qui devient hypométhylé conduisant à sa surexpression [68] dans l'utérus de souris adulte. Des anomalies épigénétiques induites du gène *HOXA10* dans le même modèle d'utérus de souris ont été rapportées avec le bisphénol A [69] et le méthoxychlor, un pesticide organochloré [70]. Le bisphénol A induit dans la prostate après exposition néonatale également des modifications épigénétiques comme décrites plus haut. Il est possible que ces modifications soient induites par l'action des PEE via les ADN méthyltransférases (DNMTs) les enzymes permettant la méthylation des îlots CpG de l'ADN [49]. Il est vraisemblable qu'elles impliquent à la fois une action via les récepteurs classiques des estrogènes ERs et/ou d'autres récepteurs [64,57,71].

La Fig. 3 résume ainsi le mécanisme d'action supposé des PEE lors de l'exposition fœtale in utero imprimant des modifications épigénétiques susceptibles à l'âge adulte de contribuer avec d'autres facteurs favorisants, à la cancérogenèse y compris la transformation et/ou la promotion tumorale.

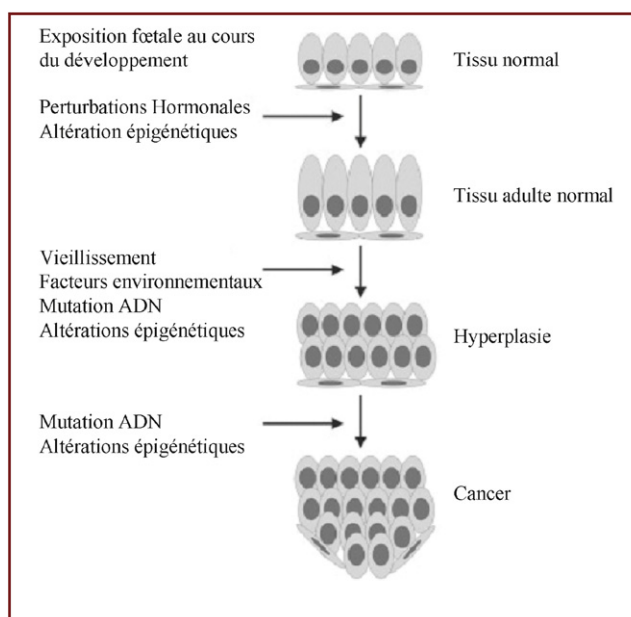


Figure 3. Exposition fœtale aux perturbateurs endocriniens environnementaux et cancers hormono-dépendants : mécanismes épigénétiques de l'empreinte environnementale.

Au total

Des arguments issus des études épidémiologiques du modèle expérimental humain d'exposition au distilbène, de l'expérimentation animale et des cultures de cellules cancéreuses humaines in vitro soutiennent aujourd'hui la responsabilité des PEE à l'activité estrogénique dans l'induction des cancers hormono-dépendants et orientent les recherches à la fois cliniques et expérimentales en modifiant les conceptions toxicologiques et carcinologiques traditionnelles. Une attention particulière doit à présent se porter sur les expositions dans des périodes critiques de la vie en particulier fœtale, périnatale ou péri-pubertaire à des mélanges de substances y compris à faibles doses, capables d'interférer entre elles, activant différents récepteurs nucléaires ou membranaires, en tenant compte de la susceptibilité génétique individuelle et entraînant des modifications épigénétiques stables n'altérant pas le génome mais participant à distance au processus de cancérisation.

Déclaration d'intérêts

L'auteur déclare ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] Institut national de veille sanitaire : projections de l'incidence et de la mortalité par cancer en France en 2010 : sein, www.invs.sante.fr.
- [2] Sasco AJ. Epidemiology of breast cancer: an environmental disease? *APMIS* 2001;109:321–32.
- [3] Fénichel P, Brucker-Davis F. Environmental endocrine disruptors and breast cancer: new risk factors? *Gynecol Obstet Fertil* 2008;36:969–77.

- [4] Brody JG, Moysich KB, Humblet O, Attfield KR, Beehler GP, Rudel RA. Environmental pollutants and breast cancer: epidemiologic studies. *Cancer* 2007;109:2667–71.
- [5] Høyer AP, Gerdes AM, Jørgensen T, Rank F, Hartvig HB. Organochlorines, p53 mutations in relation to breast cancer risk and survival. A Danish cohort-nested case-controls study. *Breast Cancer Res Treat* 2002;71:59–65.
- [6] Charlier C, Foidart JM, Pitance F, Herman P, Gaspard U, Meurisse M, et al. Environmental dichlorodiphenyl-trichlorethane or hexachlorobenzene exposure and breast cancer: is there a risk? *Clin Chem Lab Med* 2004;42:222–7.
- [7] Warner M, Eskenasi B, Mocarelli P, Gerthoux PM, Samuels S, Needham L, et al. Serum dioxin concentrations and breast cancer risk in the Seveso women's health study. *Environ Health Perspect* 2002;110:625–8.
- [8] Colborn T. *Our stolen future*. New York: A dutton book; 1996.
- [9] van Meeuwen JA, Ter Burg W, Piersma AH, van den Berg M, Sanderson JT. Mixture effects of estrogenic compounds on proliferation and p52 expression of MCF-7 human breast cancer cells. *Food Chem Toxicol* 2007;45:2319–30.
- [10] Ibarluzea J, Fernandez MF, Santa-Marina L, Olea-Serrano M, Rivas AM, Aurrekoetxea JJ, et al. Breast cancer risk and the combined effect of environmental estrogens. *Cancer Causes Control* 2004;15:591–600.
- [11] Munoz-de-Toro M, Markey CM, Wadia PR, Luque EH, Rubin BS, Sonnenschein C, et al. Perinatal exposure to bisphenol-A alters peripubertal mammary gland development in mice. *Endocrinology* 2005;146:4138–47.
- [12] Munoz-de-Toro M, Durando M, Beldomenico PM, Beldomenico HR, Kass L, Garcia SR, et al. Estrogenic microenvironment generated by organochlorine residues in adipose mammary tissue modulates biomarker expression in ERalpha-positive breast carcinomas. *Breast Cancer Res* 2006;8:R47.
- [13] Coumoul X, Diry M, Robillot C, Barouki R. Differential regulation of cytochrome P450 1A1 and 1B1 by a combination of dioxin and pesticides in the breast tumor cell line MCF-7. *Cancer Res* 2001;61:3942–8.
- [14] Van Emburgh BO, Hu JJ, Levine EA, Mosley LJ, Perrier ND, Freimanis RI, et al. Polymorphisms in CYP1B1, GSTM1, GSTT1 and GSTP1, and susceptibility to breast cancer. *Oncol Rep* 2008;19:1311–21.
- [15] Zhang Y, Wise JP, Holford TR, et al. Risk of breast cancer in Connecticut women. *Am J Epidemiol* 2004;160:1177–83.
- [16] Muscat JE, Britton JA, Djordjevic MV, Citron ML, Kemeny M, Busch-Devereaux E, et al. Adipose concentrations of organochlorine compounds and breast cancer recurrence in Long Island, New York. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12:1474–8.
- [17] Demers A, Ayotte P, Brisson J, Dodin S, Robert J, Dewailly E. Plasma concentrations of polychlorinated biphenyls and the risk of breast cancer: a congener-specific analysis. *Am J Epidemiol* 2002;155:975–82.
- [18] Hoyer AP, Jorgensen T, Brock JW, Grandjean P. Organochlorine exposure and breast cancer survival. *J Clin Epidemiol* 2000;53:323–30.
- [19] Cohn BA, Wolff MS, Cirillo PM, Sholtz RI. DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure. *Environ Health Perspect* 2007;115:1406–14.
- [20] Land CE, Tokunaga M, Koyama K, Soda M, Preston DL, Nishimori I, et al. Incidence of female breast cancer among atomic bomb survivors, Hiroshima and Nagasaki, 1950–1990. *Radiat Res* 2003;160:707–17.
- [21] Barker DJP. The developmental origins of adult disease. *Eur J Endocrinol* 2003;18:733–6.
- [22] Herbst AL. Clear cell adenocarcinoma and the current status of DES-exposed females. *Cancer* 1981;48:484–8.
- [23] Newbold RR, Padilla-Banks E, Jefferson WN. Adverse effects of the model environmental estrogen diethylstilbestrol are transmitted to subsequent generations. *Endocrinology* 2006;147:S11–7.
- [24] Li S, Washburn KA, Moore R, Uno T, Teng C, Newbold RR, et al. Development exposure to diethylstilbestrol elicits demethylation of estrogen-responsible lactoferrin gene in mouse uterus. *Cancer Res* 1997;57:4356–9.
- [25] Hill A, Wolff S. Sister chromatid exchanges and cell division delays induced by diethylstilbestrol, estradiol, and estriol in human lymphocytes. *Cancer Res* 1983;43:4114–8.
- [26] Palmer JR, Wise LA, Hatch EE, Troisi R, Titus-Ernstoff L, Strohsnitter W, et al. Prenatal diethylstilbestrol exposure and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:1509–14.
- [27] Markey CM, Luque EH, Munoz De Toro M, Sonnenschein C, Soto AM. In utero exposure to bisphenol A alters the development and tissue organization of the mouse mammary gland. *Biol Reprod* 2001;65:1215–23.
- [28] Markey CM, Wadia PR, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM. Long-term effects of fetal exposure to low doses of the xenoestrogen bisphenol-A in the female mouse genital tract. *Biol Reprod* 2005;72:1344–51.
- [29] Vandenberg LN, Maffini MV, Wadia PR, Sonnenschein C, Rubin BS, Soto AM. Exposure to environmentally relevant doses of the xenoestrogen bisphenol-A alters development of the fetal mouse mammary gland. *Endocrinology* 2007;148:116–27.
- [30] Rayner JL, Enoch RR, Fenton SE. Adverse effects of prenatal exposure to atrazine during a critical period of mammary gland growth. *Toxicol Sci* 2005;87:255–66.
- [31] Bray F, Richiardi L, Ekblom A, Pukkala E, Cuninkova M, Møller H. Trends in testicular cancer incidence and mortality in 22 European countries: continuing increases in incidence and declines in mortality. *Int J Cancer* 2006;118:3099–111.
- [32] Skakkebaeck NE, Rajpert-De Meyts E, Main KM. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod* 2001;16:972–8.
- [33] Rajpert-De Meyts E. Developmental model for the pathogenesis of testicular carcinoma in situ: genetic and environmental aspects. *Hum Reprod Update* 2006;12:303–23.
- [34] Mills PK, Newell GR, Johnson DE. Testicular cancer associated with employment in agriculture and oil and natural gas extraction. *Lancet* 1984;1:207–10.
- [35] Mills PK. Correlation analysis of pesticide use data and cancer incidence rates in California counties. *Arch Environ Health* 1998;53:410–3.
- [36] Hardell L, van Bavel B, Lindström G, Carlberg M, Dreifaldt AC, Wijkström H, et al. Increased concentrations of polychlorinated biphenyls, hexachlorobenzene, and chlordanes in mothers of men with testicular cancer. *Environ Health Perspect* 2003;111:930–4.
- [37] Roger C, Lombard S, Mograbi B, Chevallier D, Nebout M, Pointis G, et al. "Human testicular seminoma cells express functional aromatase, estrogen receptor and can be regulated in vitro by estradiol". *J Mol Endocrinol* 2005;35:191–99.
- [38] Bouskine AM, Nebout B, Mograbi F, Brucker-Davis C, Roger, Fenichel P. Estrogens promote human testicular germ cell cancer through a membrane-mediated activation of extracellular regulated kinase and protein kinase A. *Endocrinology* 2008;149:565–73.
- [39] Fenichel P, Déchaux H, Harthe C, Ferrari P, Wagner K, Bongain A, et al. Évaluation du bisphénol-A libre au sang du cordon en présence ou non de cryptorchidie idiopathique. *Ann Endocrinol* 2010;71:352.
- [40] Bouskine A, Nebout M, Brucker-Davis F, Benahmed M, Fenichel P. Low doses of bisphenol A promote human seminoma cell proliferation by activating PKA and PKG via a membrane G-protein-coupled estrogen receptor. *Environ Health Perspect* 2009;117:1053–8.

- [41] Vandenberg LN, Chahoud I, Heindel JJ, Padmanabhan V, Paumgartten FJ, Schoenfelder G. Urinary, circulating, and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol A. *Environ Health Perspect* 2010;118:1055–70.
- [42] Ho SM, Tang WY, Belmonte de Frausto J, Prins GS. Developmental exposure to estradiol and bisphenol A increases susceptibility to prostate carcinogenesis and epigenetically regulates phosphodiesterase type 4 variant 4. *Cancer Res* 2006;66:5624–32.
- [43] Rébillard X, Tretare B, Villers A. The epidemiology of prostate cancer. *Rev Prat* 2003;53:2224–8.
- [44] Prins GS. Estrogen imprinting: when your epigenetic memories come back to haunt you. *Endocrinology* 2008;149:5919–21.
- [45] Prins GS, Korach KS. The role of estrogens and estrogen receptors in normal prostate growth and disease. *Steroids* 2008;73:233–44.
- [46] Yomenura CY, Cunha GR, Sugimura Y, Mee SL. Temporal and spatial factors in diethyl stilbestrol-induced squamous metaplasia in the developing human prostate II. Persistent changes after removal of diethylstilbestrol. *Acta Anat* 1995;153:1–11.
- [47] Multigner L, Ndong JR, Giusti A, Romana M, Delacroix-Maillard H, Cordier S, et al. Chlordecone exposure and risk of prostate cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:3457–62.
- [48] Prins GS, Tang WY, Belmonte J, Ho SM. Perinatal exposure to oestradiol and bisphenol A alters the prostate epigenome and increases susceptibility to carcinogenesis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008;102:134–8.
- [49] Esteller M. Aberrant DNA methylation as a cancer inducing mechanism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005;45:629–56.
- [50] Hess-Wilson JK. Bisphenol A may reduce the efficacy of androgen deprivation therapy in prostate cancer. *Cancer Causes Control* 2009;20:1029–37.
- [51] Walton TJ, Li G, Seth R, McArdle SE, Bishop MC, Rees RC. DNA demethylation and histone deacetylation inhibition co-operate to re-express estrogen receptor beta and induce apoptosis in prostate cancer cell-lines. *Prostate* 2008;68:210–22.
- [52] Larson PS, Ungarelli RA, de as Morenas A, Cupples LA, Rowlings K, Palmer JR, et al. In utero exposure to diethylstilbestrol (DES) does not increase genomic instability in normal or neoplastic breast epithelium. *Cancer* 2006;107:2122–6.
- [53] Liehr JG. Is estradiol a genotoxic mutagenic carcinogen? *Endocr Rev* 2000;21:40–54.
- [54] Matthews JB, Twomey K, Zacharewski TR. In vitro and in vivo interactions of bisphenol A and its metabolite, bisphenol A glucuronide, with estrogen receptors α and β . *Chem Res Toxicol* 2001;14:149–57.
- [55] Sharpe RM. Is it time to end concerns over the estrogenic effects of bisphenol A? *Toxicol Sci* 2010;14:1–4.
- [56] Vandenberg LN, Maffini MV, Sonnenschein C, Rubin BS, Soto AM. Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocrine Rev* 2009;30:75–95.
- [57] Nadal A, Roperio AB, Laribi O, Maillet M, Fuentes E, Soria B. Non genomic actions of estrogens and xenoestrogens by binding at a plasma membrane receptor unrelated to estrogen receptor α and estrogen receptor β . *PNAS* 2000;97:11603–8.
- [58] Okada H, Tokunaga T, Liu X, Takayanagi S, Matsushima A, Shimohigashi Y. Direct evidence revealing structural elements essential for the high binding ability of bisphenol A to human estrogen-related receptor-gamma. *Environ Health Perspect* 2008;116:32–8.
- [59] Calafat AM, Kuklennyik Z, Reidy JA, Caudill SP, Ekong J, Needham LL. Urinary concentrations of bisphenol A and 4-nonylphenol in a human reference population. *Environ Health Perspect* 2005;113:391–5.
- [60] Lapensee EW, Tuttle TR, Fox SR, Ben-Jonathan N. Bisphenol A at low nanomolar doses confers chemoresistance in estrogen receptor-alpha-positive and -negative breast cancer cells. *Environ Health Perspect* 2009;117:175–80.
- [61] Thomas P, Pang Y, Filardo EJ, Dong J. Identity of an estrogen membrane receptor coupled to a G protein in human breast cancer cells. *Endocrinology* 2005;146:624–32.
- [62] Albanito L, Madeo A, Lappano R, Vivacqua A, Rago V, Carpino A. G protein-coupled receptor 30 (GPR30) mediates gene expression changes and growth response to 17beta-estradiol and selective GPR30 ligand G-1 in ovarian cancer cells. *Cancer Res* 2007;67:1859–66.
- [63] Nam K, Marshall P, Wolf RM, Cornell W. Simulation of the different biological activities of diethylstilbestrol (DES) on estrogen receptor alpha and estrogen-related receptor gamma. *Biopolymers* 2003;68:130–8.
- [64] Volle DH, Decourteix M, Garo E, McNeilly J, Fenichel P, Auwerx J, et al. The orphan nuclear receptor small heterodimer partner mediates male infertility induced by diethylstilbestrol in mice. *J Clin Invest* 2009;119:3752–64.
- [65] Ohtabe F, Takeyama K, Matsumoto T, et al. Modulation of estrogen receptor signalling by association with the activated dioxin receptor. *Nature* 2003;423:562–6.
- [66] Feinberg AP, Ohlsson R, Henikoff S. The epigenetic progenitor origin of human cancer. *Nat Rev Genet* 2006;7:21–33.
- [67] Bromer JG, Wu J, Zhou Y, Taylor HS. Hypermethylation of homeobox A10 by in utero diethylstilbestrol exposure: an epigenetic mechanism for altered developmental programming. *Endocrinology* 2009;150:3376–82.
- [68] Li S, Hansman R, Newbold R, Davis B, McLachlan JA, Barrett JC. Neonatal diethylstilbestrol exposure induces persistent elevation of c-fos expression and hypomethylation in its exon-4 in mouse uterus. *Mol Carcinog* 2003;38:78–84.
- [69] Bromer JG, Zhou Y, Taylor MB, Doherty L, Taylor HS. Bisphenol-A exposure in utero leads to epigenetic alterations in the developmental programming of uterine estrogen response. *FASEB J* 2010;24:2273–80.
- [70] Fei X, Chung H, Taylor HS. Methoxychlor disrupts uterine Hoxa10 gene expression. *Endocrinology* 2005;146:3445–51.
- [71] Tang WY, Newbold R, Mardilovitch, Jefferson W, Cheng S, Medvedovic M, Ho SM. Persistent hypomethylation in the promoter of nucleosomal binding protein 1 (Nsbp1) correlates with overexpression of Nsbp1 in mouse uteri neonatally exposed to diethylstilbestrol or genistein. *Endocrinology* 2008;149:5922–39.