UE 2 Cancérologie

Pr De Crémoux et Pr Faivre

Le 02/10/13 de 10h30 à 12h30

Ronéotypeur : Clémentine Lorrach

Ronéolecteur : Virginie Bliah

**Cours n°3 :**

**Introduction aux récepteurs et facteurs de croissance et pertinence clinique**

*Cours introductif pour faciliter la compréhension des cours suivants.*

Sommaire

**PARTIE I** (Pr de Cremoux) : Récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK)

1. Structure
2. Domaine des récepteurs
3. Famille Erb
4. Activation du RTK et signalisation intracellulaire
5. Liaison du ligand
6. Dimérisation du récepteur
7. Autophosphorylation du récepteur
8. Activation des voies en aval
9. Pathologie tumorale : altération des RTK
10. Altération oncogéniques
11. Conséquences
12. Blocage et traitements

**PARTIE II** (Pr Faivre) : Fonctionnalité et implication clinique des RTK

1. Action sur les récepteurs tumoraux
2. HER2 ou ErbB2
3. HER1 ou EGFR ou ErbB1 : facteur de réponse ou de résistance
4. Synthèse
5. Action sur les vaisseaux tumoraux et thérapies multiciblées

**Partie I : Récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK)**

1. Structure
2. Domaine des récepteurs

Les RTK sont importants car ce sont essentiellement des récepteurs de facteurs de croissance qui sont souvent anormaux dans les cancers, induisant une prolifération non contrôlée des cellules tumorales.

Les RTK constituent une grande famille. Dans ce cours nous allons étudier la sous famille « Epidermal Growth Factor » (**EGF**). Nous verrons plus tard que le récepteur à l’insuline fait également parti de cette famille. Ces différents types de récepteurs sont **homologues** et répondent au **même mécanisme d’action**.

Les RTK se trouvent sur la membrane des cellules qu’elles soient normales ou tumorales. Ils sont **transmembranaires** avec une partie **extra-cellulaire** qui va permettre l’activation du récepteurs principalement grâce à une liaison du ligand, et une partie **intra-cellulaire** fondamentale qui est porteuse de l’activité enzymatique kinase du récepteur. Le récepteur lorsqu’il est activé va entrainer une activation d’autres protéines à l’intérieur de la cellule responsables des effets biologiques observés (dont la prolifération cellulaire).

Il existe 60 récepteurs répartis en une vingtaine de familles. Ils se retrouvent tous sur des cellules normales avec un fonctionnement normal ; c’est à dire qu’après activation par liaison du ligand, les récepteurs se dégradent rapidement avant de se re-synthétiser. Lorsque le système s’emballe, le fonctionnement du récepteur devient alors anormal.

1. La famille erbB

Il existe dans cette famille 4 récepteurs : erbB1 (ou EGFR ou HER1)

erbB2 (ou HER2)

erbB3 (ou HER 3)

erbB4 (ou HER4)

**ATTENTION** : Tous ont leurs ligands propres, sauf HER2 qui n’a pas de ligand.

Le fait que le récepteur soit transmembranaire est intéressant car cela nous permet de les reconnaître sur des lames histologiques.

**Mécanisme général d’action des RTK :**

* Fixation du ligand (généralement un facteur de croissance) sur la partie extra-cellulaire du récepteur
* Activation du domaine intra-cellulaire kinase
* Couplage avec des protéines à l’intérieur de la cellule qui correspond aux signaux de transduction. Ces signaux s’activent en cascade.
* Transcription de gènes
* Traduction en protéines
* Effet biologique

1. Activation du RTK et signalisation intra-cellulaire

La kinase a pour rôle de **phosphoryler** une protéine. C’est un des principes importants de l’activation de la signalisation intra-cellulaire physiologique et pathologique. Ces récepteurs vont s’auto-activer en phosphorylant leur propre kinase. Encore une fois, le mécanisme est le même pour tous les RTK (EGFR, récepteur à l’insuline, etc)

Il existe aussi d’autres protéines qui sont des phosphatases qui déphosphorylent les mêmes protéines.

Ici pour ces récepteurs, ce sont **toujours** les kinases qui interviennent et qui ont un rôle **activateur**.

1. La liaison du ligand

Le ligand va se lier au récepteur au niveau du domaine extra-cellulaire, entrainant une activation de la kinase.

Le domaine extra-cellulaire a lui même 4 domaines. Lorsqu’il est non lié à son ligand, il a une conformation ouverte. Pour qu’il puisse se mettre sous forme de dimère et activer la kinase il faut qu’il soit sous **forme fermée** ; une forme qui internalise le ligand.

1. La dimérisation du récepteur

Pour que l’activation de la kinase se produise, il est nécessaire que le récepteur interagisse avec un autre récepteur (soit lui-même soit de la même famille) pour former un dimère. Cette dimérisation est une **nécessité** impérieuse. Elle forme donc **un homo-dimère ou un hétéro-dimère**.

Si on prend quelques exemples on peut avoir un EGFR couplé à un autre EGFR, un HER2 avec un HER2 (etc…) ou bien un EGFR couplé à un HER2 ou HER3,4 (etc…). Une combinatoire complexe de ces récepteurs est alors possible.

**ATTENTION** : Les dimérisations s’effectuent entre récepteurs de la même famille (un EGFR ne va pas s’hétéro-dimériser avec un récepteur à l’insuline).

On est capable au plan préclinique d’évaluer l’activité biologique de ces différents hétéro-dimères. C’est important pour connaître les hétéro-dimères qui vont être les plus actifs biologiquement.

**ATTENTION** au cas particulier d’HER2 qui n’a pas de ligand !!! Il a une conformation naturelle déjà fermée.

Autre cas particulier : **HER3 a une kinase dite « muette »**, c’est à dire qu’elle est totalement inactive. Ainsi, même si le ligand active HER3, la kinase ne s’auto-phosphorylera pas. Il n’y aura donc aucun effet biologique.

Cependant, lorsque HER3 **s’hétéro-dimérise** avec HER2, HER1 ou HER4, il y aura une très bonne activité biologique médiée par la kinase du partenaire avec qui il s’hétérodimérise.

De plus le couple HER3/HER2 a une meilleure activité biologique que le couple HER2/HER2.

HER3 est donc très important au plan clinique malgré sa différence.

1. L’autophosphorylation du récepteur

C’est seulement après liaison du ligand et dimérisation du récepteur que la kinase s’active. S’ensuit **l’autophosphorylation** entrainant l‘activation du RTK.

1. L’activation des voies d’aval

Deux grandes voies d’activation, que l’on appelle les voies canoniques, vont être développées : la voie PI3K-AKT et la voie des MAPKinases.

* + - **Voie PI3K** : PI3K -> AKT -> MTor
    - **Voie MAPK** : SOS -> RAS -> RAF -> MEK -> MAPK

Toutes ces protéines sont phosphorylées dans la cascade de signalisation pour aboutir à la transcription de gènes régulant la prolifération et l’apoptose. Il existe une très **fine régulation** de ces gènes effectuée en fonction du ligand et du récepteur, qui va induire l’emballement plus ou moins important d’une voie et le choix de l’effet biologique.

*(Ces deux voies seront reprises dans beaucoup de cours car ce sont des voies majeures qui s’altèrent beaucoup et qui jouent des rôles importants en cancérologie.)*

**ATTENTION** : Il est important de comprendre ce qui se passe en aval car même si on arrive à bloquer le récepteur au niveau extra-cellulaire, on peut avoir une altération du gène et de la protéine intra-cellulaire qui la rendra **autonome** (et donc indépendante de la stimulation ou non par le ligand).

Dans la voie des MAPK, on verra qu’il y aura des mutations activatrices de RAS, ou RAF qui joueront un rôle en cancérologie. Par exemple, si RAF est altéré, ca ne sert à rien d’agir sur RAS car RAF est autonome.

Dans la voie de la PI3K il y a deux sous unités. Cette voie est bloquée physiologiquement par PTEN.

Les deux voies sont régulées en parallèle aussi bien au plan physiologique que pathologique.

Lorsque l’on observe une altération dans un tissu tumoral donné avec une réponse à un traitement donné, on ne peut pas extrapoler à un autre tissu. C’est à dire qu’il n’y a pas de transposition possible à d’autres tissus même si c’est le même récepteur (quelque soit l’altération).

1. Pathologie tumorale : Altération des RTK
2. Altérations oncogéniques

Ces altérations peuvent agir à **différents niveaux**:

* + - Facteurs de croissance : synthèse abondante provoquant un emballement de l’activation du système (facteurs de croissance oncogéniques)
    - Récepteurs des facteurs de croissance : surexpression de ces récepteurs

Ces altérations peuvent être de **différents types** :

* + - Qualitatives : mutations, méthylations ou autres altérations au niveau des gènes (cas de certains facteurs de croissance ou récepteurs à ces facteurs comme EGFR, KRAS, PI3K…)
    - Quantitatives : surexpression de la protéine par amplification du gène (HER2 qui est amplifié (plusieurs copies))

En général ces altérations conduisent à une ACTIVATION de la protéine correspondante (rarement à une inhibition).

Exemples :

- Mutations activatrices de la PI3K (diagnostic par séquençage) : la voie de signalisation s’emballe

- Amplification génique chez HER2 : HER2 se situe sur le chromosome 17.

On peut procéder avec la technique FISH : on étudie le nombre de gènes codant pour HER2 dans ce chromosome par comparaison avec un témoin (en général le centromère). On évalue alors le niveau d’amplification du gène.

1. Conséquences
   * + Activation constitutionnelle de la kinase du récepteur ou de la voie de transduction
     + Indépendance de la présence ou non du ligand
     + Activation des voies de signalisation en aval (mais attention, elles peuvent parfois être autonome)
     + Addiction oncogénique : la mutation est importante car la tumeur a besoin de cette altération pour continuer à proliférer de façon pathologique
2. Des traitements qui aboutissent à des blocages

On peut bloquer la liaison du ligand au domaine extra-cellulaire du récepteur grâce à des anticorps monoclonaux (suffixe -mab), ou bien inhiber l’activité kinase du récepteur par des inhibiteurs de tyrosine kinase (suffixe -nib).

**PARTIE II : Fonctionnalité et implication clinique des récepteurs tyrosines kinases (RTK)**

**L’activation du RTK et les voies de signalisation** qui en découlent sont :

* Liaison ligand-RTK
* Dimérisation du RTK (les hétérodimères ont souvent plus d’effet)
* Activation des 2 voies canoniques intra-cellulaire :

- PI3K : PI3K -> AKT -> mTOR

- MAPK : Sos -> RAS -> RAF -> MEK ->ERK -> MAPK

* mTOR et MAPK agissent alors sur l’expression de gènes régulant la prolifération, l’apoptose, l’angiogenèse et le développement de métastases (si cancer)

1. Action sur les récepteurs tumoraux :
2. Le récepteur HER2 ou erbB2 :

HER2 est une cible historique surexprimée dans les cancers : on prend pour exemple ceux du sein où HER2 est **surexprimé** la survie est moins bonne et le risque de rechute est plus important (tumeur plus agressive). C’est donc un **mauvais facteur pronostique**.

Pourtant, ce cas ne concerne pas la majorité des cancers du sein (20-30%)

L’herceptine (trastuzumab) est un anticorps thérapeutique anti-HER2 humanisé.

**ATTENTION** : Les anticorps ont une action sur HER2 même si ce récepteur n’a pas de ligand !!!

Les caractéristiques de l’herceptine sont :

* Cible oncoprotéique est HER2
* Forte affinité et spécificité
* Composition à 95% humain et 5% murin :

-> Diminution du risque immunogène

-> Hausse de la probabilité de recrutement des cellules immunitaires et effectrices

En situation métastatique dans le cancer du sein, l’ajout d’herceptine à la chimiothérapie augmente la survie des patientes.

En situation adjuvante après chirurgie de ce même cancer, l’herceptine permet une rechute différée et une augmentation de la survie.

Dans ces cancers du sein, l’analyse biologique est déterminante :

* D’abord, on fait une IHC (immuno-histochimie) : la coloration brune de la membrane montre une surexpression à la surface cellulaire de HER2
* Puis, si le résultat n’est pas clair, on peut faire un FISH où l’on pourra observer de nombreux spots rouges désignant un nombre de copies du gène codant pour HER2 augmenté.

Les **indications pour l’herceptine** sont donc :

* Les cancers du sein métastatiques surexprimant HER2
* Les cancers du sein localisés surexprimant HER2 (en situation adjuvante après chirurgie, chimiothérapie et radiothérapie)
* Les cancers gastriques surexprimant HER2

1. Le récepteur HER1 (EGFR ou erbB1) : facteur de réponse ou de résistance

Les EGF-R dans les cancers induisent :

* Un état prolifératif
* Une résistance à la chimiothérapie et à la radiothérapie
* Un effet pro-angiogénique :

- Recrutement de nouveaux vaisseaux

- Invasion

- Métastase

On peut bloquer EGFR par 2 moyens :

* Grâce à des anticorps monoclonaux (cetuximab)
* Grâce à des inhibiteurs de tyrosine kinase (gefitinib)

Les mutations de EGFR sont un **facteur de réponse** aux inhibiteurs de tyrosine kinase : ces mutations activatrices autonome du récepteur peuvent donc être traitées en bloquant le RTK par inhibiteurs du domaine tyrosine kinase sans chimiothérapie. On traite alors par prise orale de gefitinib.

Par exemple, dans le cancer du poumon on note une nette diminution de la taille de la tumeur par prise ce traitement oral. En revanche, ceux non mutés au niveau du RTK, avec un traitement par ces inhibiteurs, ont un taux de survie inférieur par rapport à ceux traités par chimiothérapie. Il est donc nécessaire d’évaluer les mutations présentes pour adapter le traitement.

Les mutations Kinase-Ras sont un **facteur de résistance** aux anticorps monoclonaux anti-EGFR : ces mutations ayant lieu après le récepteur, les anticorps et les inhibiteurs de TK sont court-circuités (par l’activation permanente de RAS).

Par exemple, dans les cancers du côlon, le bénéfice du cetuximab est restreint aux patients sans mutations de K-Ras.

1. Synthèse sur l‘inhibition des récepteurs HER1 et 2

IMPORTANCE DE LA SELECTION BIOLOGIQUE DES PATIENTS :

HER2 :

* **Surexpression forte (+++)**

Facteur pronostique négatif (cancer du sein)

Facteur de réponse au trastuzumab (cancer du sein et estomac)

HER1 :

* **Mutations activatrices**

Facteur de réponse aux inhibiteurs tyrosine kinase (cancer du poumon)

* **Mutation K-Ras**

Facteur de résistance au cetuximab (cancer colorectal)

1. Action sur les vaisseaux tumoraux et thérapies multiciblées :

Les modèles simplifiés de la signalisation cellulaire sont :

* Un seul RTK est en jeu dans le cancer : on pratique alors une **thérapie ciblée** sur la voie de signalisation prédominante
* Plusieurs RTK sont en jeu dans le cancer : on pratique alors des combinaisons de thérapies sur un **réseau interconnecté de signalisation**

La plupart des cancers dépendent de plusieurs RTK donc si on n’agit que sur un RTK et une voie de signalisation, les autres prendront le relais. Des thérapies multiciblées ont donc été mises en place.

Ces **thérapies multiciblées** agissent :

- sur les récepteurs des cellules tumorales

- sur les récepteurs des vaisseaux tumoraux constitués de manière anarchique (surtout VEGFR situé sur les cellules endothéliales formant ces nouveaux vaisseaux). Elles bloquent alors la prolifération des cellules tumorales ainsi que l’angiogenèse.

Le sunitib ou le sorafenib ont donc un effet **anti-tumoral direct** et un effet **anti-angiogénique.**

Par exemple, dans le cancer du foie, le sunitinib permet la liquéfaction de la tumeur et la diminution de perfusion de la tumeur (visible au CT-scan : bleu au lieu de rouge (qui montre une vascularisation))

Les anti-angiogéniques ont pour mécanisme d’action :

1- La mort des cellules endothéliales

2- Formation d’un caillot avec les cellules endothéliales altérées qui se sont détachées

3- Diminution de l’alimentation de la tumeur

4- Nécrose de la tumeur

**THEEEEE END**

**FICHE N°3 CANCEROLOGIE :**

**Introduction aux récepteurs et facteurs de croissance et pertinence clinique**

**PARTIE I : RTK**

1. Structure

* Généralités :
* RTK homologues
* Même mécanisme d’action pour tous les RTK
* Sur les cellules normales et tumorales
* Domaines :
* extracellulaire : liaison du ligand (le plus souvent facteur de croissance)
* transmembranaire
* intracellulaire : porte l’activité enzymatique kinase activatrice
* Famille erbB: 4 récepteurs (tous ont leur ligands propres):

- erbB1 (ou EGFR ou HER1)

- erbB2 (ou HER2) : pas de ligand (conformation déjà fermée)

- erbB3 (ou HER 3)

- erbB4 (ou HER4)

1. Activation du RTK et signalisation intracellulaire

1- Liaison du ligand : passage d’une conformation ouverte à fermée

2- Dimérisation du RTK :

* homo-dimérisation : ne marche pas pour HER3 (kinase muette)
* hétéro-dimérisation : dans la même famille

3- Autophosphorylation du RTK

4- Activation des voies d’aval : 2 grandes voies

* PI3K : PI3K -> AKT -> mTOR
* MAPK : Sos -> RAS -> RAF -> MEK ->ERK -> MAPK

Fine régulation en fonction du ligand et du RTK 🡪 emballement et effet bio différent

1. Pathologie tumorale : altérations du RTK

* Altérations : conduisant à une activation des protéines correspondantes
* à différents niveaux (facteurs de croissance et récepteurs aux facteurs de croissance)
* de différents types (qualitatives et quantitatives)
* Conséquences

- Activation constitutionnelle de la kinase du récepteur ou de la voie de transduction

- Indépendance de la présence ou non du ligand

- Activation des voies de signalisation en aval (mais attention, elles peuvent parfois être autonome)

- Addiction oncogénique : la mutation est importante car la tumeur a besoin de cette altération pour continuer à proliférer de façon pathologique

* Traitements
* extracellulaire : Ac monoclonaux humanisés (pas de liaison du ligand)
* intracellulaire : inhibiteurs de la TK (pas d’activité TK)

**PARTIE II : fonctionnalité et implication clinique des RTK**

1. Action sur les récepteurs tumoraux :

Importance de la sélection biologique des patients :

HER2 :

* **surexpression forte (+++)**

Facteur pronostique négatif (cancer du sein)

Facteur de réponse au trastuzumab (cancer du sein et estomac)

HER1 :

* **Mutations activatrices**

Facteur de réponse aux inhibiteurs tyrosine kinase (cancer du poumon)

* **Mutation K-Ras**

Facteur de résistance au cetuximab (cancer colorectal)

1. Action sur les vaisseaux tumoraux et thérapies multiciblées

* Modèles de signalisation :
* 1 RTK touché 🡪 thérapie ciblée (1 voie signalisation prédominante)
* plusieurs RTK touchés 🡪 thérapies multiciblées (réseau de signalisation interconnecté)
* Actions : anti-tumorale directe et anti-angiogénique :
* sur les récepteurs des cellules tumorales
* sur les vsx tumoraux (via VEGFR des cellules endothéliales)
* Les anti-angiogéniques ont pour mécanisme d’action :

1- La mort des cellules endothéliales

2- Formation d’un caillot avec les cellules endothéliales altérées qui se sont détachées

3- Diminution de l’alimentation de la tumeur

4- Nécrose de la tumeur