UE2 Cancérologie
Dr Jacqueline Lehmann-Che
Mardi 1er octobre
De 10H30 à 11H30
Ronéotypeuse : Eléonore SIMON
Ronéoficheuse : Alice MARSAUX

UE2 Cancérologie
Cours n°2 :
Le cancer par le gène

Sommaire

I/ Qu'est-ce que le cancer ?

II/ Les anomalies moléculaires des cancers

1) Principaux gènes altérés
   - Oncogènes
   - Gènes suppresseurs de tumeurs

2) Types d'altérations
   - Altérations qualitatives
   - Altérations quantitatives

III/ Quelques exemples clés d'oncogènes et de gènes suppresseurs de tumeurs

1) Oncogènes
   - Généralités
   - EGFR
   - Ras
   - BCR/ABL
   - C-myc
2) Gènes suppresseurs de tumeur
   - Généralités
   - Rb
   - P53
     - *a) Rappels sur sa découverte*
     - *b) P53 et cancers*
   - PTEN

Conclusion : quel est l'impact de ses altérations ?

I/ Qu'est-ce que le cancer ?

Le mot vient de « karkinos » et « karkinoma » ce qui signifie crabe car la cellule cancéreuse est difforme et possède des expansions.

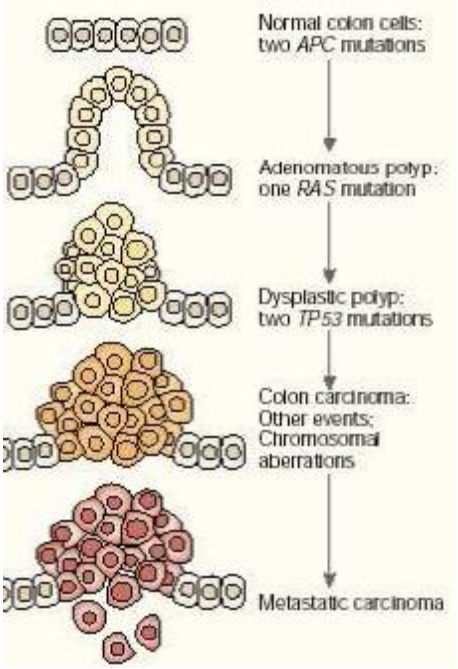
Le cancer a longtemps été considéré comme incurable. Aujourd'hui, certains sont guéris mais beaucoup sont vécus comme des maladies chroniques (traitements, rechutes...).

C'est une maladie **génétique acquise**, c'est-à-dire touchant les **gènes** et affectant les **cellules somatiques**. (quelques cas de cancers héréditaires existent également)

On observe des **modifications dynamiques du génome** de certaines cellules (qui n'est alors plus le même que celui des autres cellules de l'organisme). Cependant ces modifications sont acquises donc non transmises à la descendance.

La maladie est le fruit d'une **évolution cellulaire clonale** : une cellule subit une ou plusieurs altérations, puis sa descendance en subira de nouveau. C'est l'**accumulation successive** de ces anomalies génétiques qui conduit au cancer, une seule mutation n'est pas suffisante.

Ex : carcinome du colon :
Premières altérations des gènes de RAS => apparitions de polypes adénomateux
Puis perte des 2 allèles de p53 => dysplasie
Puis carcinome du colon
Puis carcinome métastasique



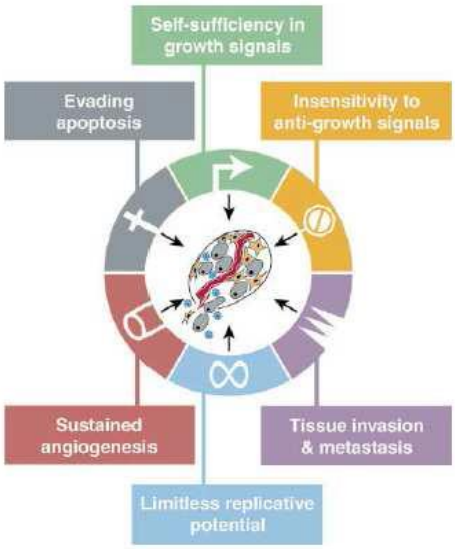
Plus l'âge avance, plus l'incidence du cancer augmente car il faut une accumulation d'altérations.

Le cancer peut aussi être définit comme une **prolifération incontrôlée**.

Normalement, dans notre organisme, 10^{18} cellules sont en renouvellement perpétuel. Cette prolifération est étroitement contrôlée, les cellules reçoivent des ordres pour :

- se diviser : contrôlé par des signaux d'entrée en cycle (facteurs de croissance)
- se suicider : apoptose

Caractéristiques des cellules cancéreuses, selon Hanahan et Weinberg. Acquisition des capacités :



- Autosuffisance : plus besoin de facteurs de croissance pour rentrer en cycle cellulaire.
- Insensibilité aux signaux anti-prolifératif et de quiescence.
- Perte de réponse aux signaux d'apoptose
- Potentiel de réplication illimité car surexpression de la télomérase.
- Angiogénèse qui permet à la tumeur d'apporter elle-même ses nutriments.
- Capacité métastasiques c'est-à-dire qu'elles peuvent migrer après digestion de l'environnement

⇨ Avantages sélectifs qui lui permettent de continuer son expansion clonale (Darwin).

II/ Les anomalies moléculaires des cancers

1) Les principaux gènes altérés

Il y a 3 grandes familles de gènes altérés :
- Les oncogènes dont le fonctionnement excessif ou la présence contribue à l'oncogenèse
- Les anti-oncogènes ou gènes suppresseurs de tumeurs qui sont des gènes dont l'absence ou le mauvais fonctionnement contribue à l'oncogenèse.
- Les gènes de la réparation de l'ADN dont la déficience favorise l'apparition d'anomalies génétiques. (pas vu dans ce cours)

- **Oncogènes**

Tout gène cellulaire (proto oncogène), susceptible de devenir à la suite d'une modification qualitative (séquence modifiée) ou quantitative (amplification du gène), un gène transformant qui est capable de conférer expérimentalement le phénotype cancéreux (transformation) à une cellule normale eucaryote...

L'altération d'**un allèle** suffit pour conférer une activation anormale = l'effet est **dominant**.

- **Gènes suppresseur de tumeurs :**

Gènes aptes à inhiber la croissance cellulaire lorsqu'ils sont introduits par transfection dans les cellules tumorales. Ils sont capables de :
- réguler négativement le cycle cellulaire
- induire l'apoptose (ou mort cellulaire programmée).

L'altération des **deux allèles** est nécessaire pour supprimer l'activité = l'effet est **récessif**

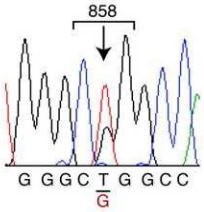
2) Les types d'altérations

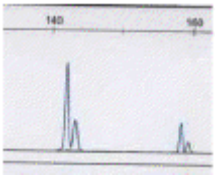
Elles peuvent être classées en deux grandes catégories :

- Les altérations qualitatives, c'est-à-dire qu'elles modifient le gène :

  - **Mutations ponctuelles**, pouvant provoquer l'activation d'oncogènes ou l'altération de gènes suppresseurs de tumeur.

A droite, l'électrophorégramme représente la séquence nucléotidique du gène de l'EGFR. Il y a deux pics en position 858, donc il y a eu une mutation sur l'un des allèles.





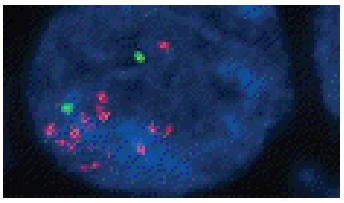
  - **Délétions,** (perte de nucléotide) ou **insertions**, (gain de nucléotide) ayant les mêmes conséquences, soit l'activation d'oncogènes soit l'altération gènes suppresseurs de tumeur.

Ici, on mesure la taille de deux fragments de gènes. Or, le malade (pics à gauche) n'a que 140 nucléotides. Il y a donc une délétion de 20 bases.

  - **Translocations chromosomiques** : deux gènes qui n'ont rien avoir se retrouve à côté, et la présence de nouveaux promoteurs va entrainer une surexpression de ces gènes peu exprimés normalement. Cela crée des oncogènes.

  - **Gains de gènes exogènes** (notamment viraux) aboutissant à une nouvelle protéine qui a des propriétés oncogéniques (peu développé par la prof)

- Les altérations quantitatives



  - **Amplifications** : augmentation du nombre de copies d'un gène qui devient un oncogène.
    Ceci est une FISH, la cellule est en bleu. Les spots verts reconnaissent le chromosome 17 de la cellule. Les spots rouges reconnaissent le gène HER2 porté par les chromosomes 17.
    On observe qu'il y a 2 spots verts (pour la paire de chromosomes 17), et 12 spots rouges. Ainsi le gène HER2 a été amplifié, son nombre de copie est augmenté sur les chromosomes. Normalement, on aurait dû avoir 2 spots verts et d'autres spots rouges.

  - **Surexpressions** : ce n'est pas forcément une augmentation du nombre de copies du gène, mais son expression est augmentée, il y a donc activation d'oncogènes.

  - **Modifications épigénétiques** comme les méthylations par exemple : perte d'expression de gènes suppresseurs de tumeurs.

NB : l'amplification conduit à une surexpression du gène. En revanche, la surexpression d'un gène ne veut pas forcément dire qu'il est amplifié (=que son nombre de copie a augmenté), cela peut être à cause du promoteur, de l'épigénétique…

III/ Quelques exemples clés d'oncogènes et de gènes suppresseurs de tumeurs

1) Les oncogènes

- Généralités

⇨ Ils miment un signal de prolifération.

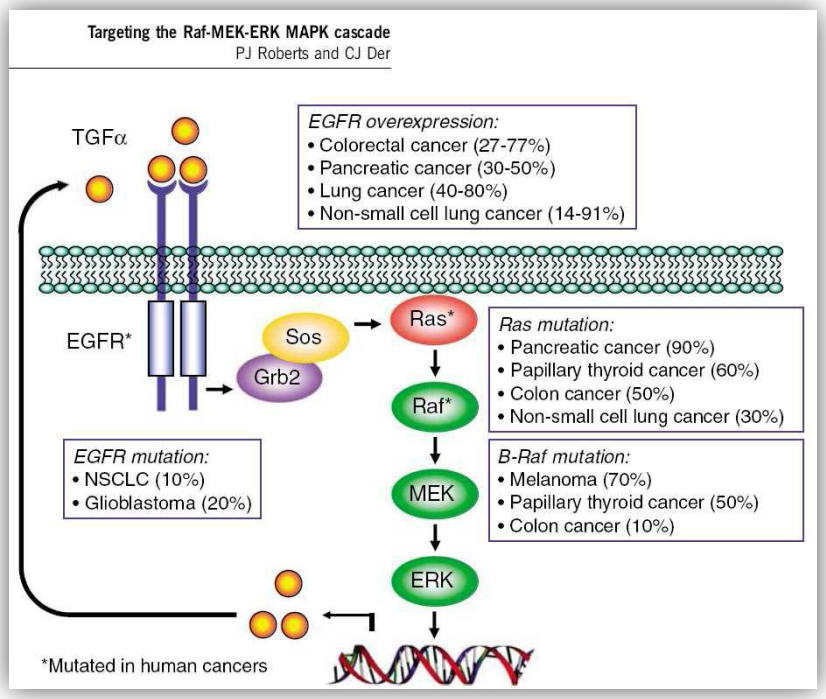
Ce signal de prolifération fait intervenir des **facteurs de croissance** qui sont surexprimés s'ils sont gouvernés par des oncogènes. (*exemple : TGFα)*

Ces facteurs agissent sur des **récepteurs transmembranaires** qui peuvent également être issus d'oncogènes et donc être présent en trop grand nombre. (*exemple : EGFR pour Epithelial Growth Factor Receptor*)

En dessous des récepteurs, il y a les voies de signalisations faisant intervenir des **protéines G** qui lient le GTP. Les oncogènes jouent sur cette activité GTPasique, et peuvent également mimer l'activité d'autre protéines comme **les tyrosines kinases membranaires** et les **kinases cytosoliques** *(exemple ABL1).*

En fin de voie de signalisation, se trouvent les **facteurs de transcription** (*exemple : m-myc)*

Voici la voie de l'EGFR :



Le recepteur est enchassé dans la membrane phospholipidiques.

Le ligand TGFα se fixe sur l'EGFR, qui induit un changement de conformation du recepteur, qui s'autophosphoryle grâce à son activité tyrosine kinase intrinsèque (rectangles sur les schéma), puis phosphoryle Grb2/Sos qui phosphoryle Ras, puis Raf, puis MEK et ERK.

Les altérations concernent tous les niveaux de la voie de signalisation :

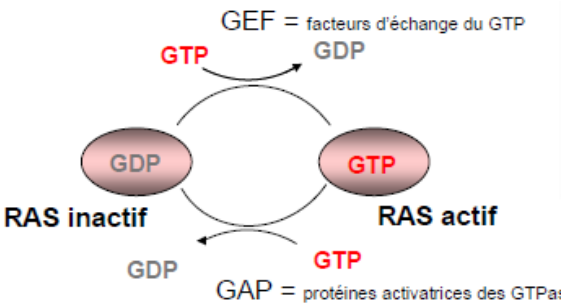
- <u>Le récepteur EGFR</u> est surexprimé dans de nombreux cancers (27-77% des cancers colorectaux, 50% des cancers du pancréas…).

La cellule est hypersensible car il y a plus de récepteurs à sa surface, cela induit un excès de prolifération. C'est une altération quantitative.

Il peut aussi y avoir des mutations qualitatives de l'EGFR : dans certains glioblastomes (20%), le récepteur est modifié et n'a plus besoin de ligand pour s'activer. Il est continuellement actif.

- <u>RAS</u> : petite protéine G dans la voie de l'EGFR

Rappel du fonctionnement d'une protéine G :
RAS est actif lorsqu'il fixe du GTP, il transduit alors le signal à Raf.
Après hydrolyse par la protéine activatrice GAP, le GTP devient du GDP et RAS est inactif.
Le facteur d'échange GEF intervient ensuite pour remplacer le GDP par du GTP pour que RAS transduise à nouveau un signal.



Quand il est muté, KRAS (6 exons, 21kDa) devient un oncogène. En effet, RAS est maintenu sous sa forma active, car il n'est plus capable de cliver le GTP en GDP. C'est une mutation qualitative qui maintient la voie de signalisation constitutionnellement active. Cette altération est fréquente dans les cancers (40%).

Il peut se passer la même chose pour RAF.

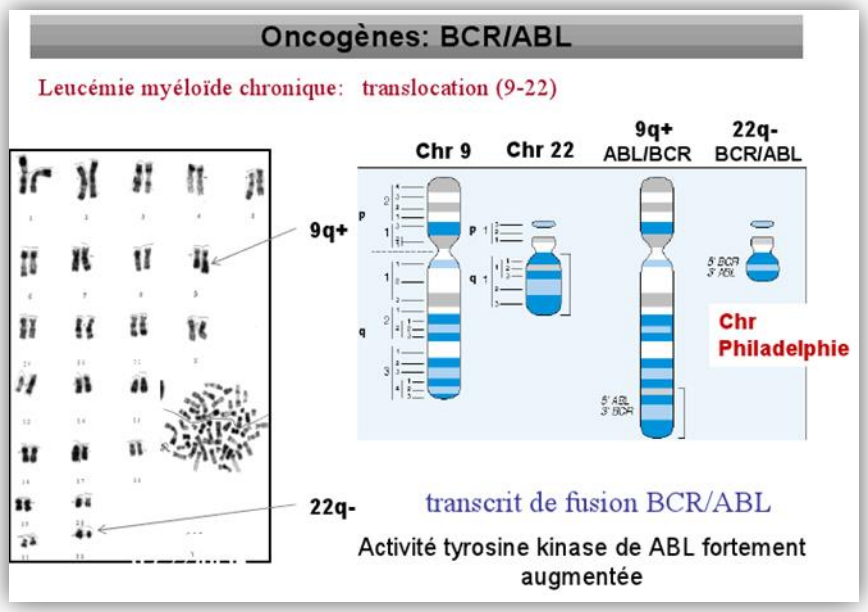
- <u>BCR/ABL</u>

C'est un exemple d'oncogène qui apparait par translocation.
Le chromosome 22 est particulièrement fragile au niveau de son bras long.

Dans la leucémie myéloïde, il y a une translocation d'un fragment du chromosome 22 sur le 9. Il y a alors une communication entre un bout du gène BCR et son promoteur et le gène d'ABL qui est une tyrosine kinase.

Or le promoteur de BCR est dit « fort », il transcrit davantage le gène d'ABL. On parle de transcrit de fusion. La tyrosine kinase d'ABL est alors surexprimée et son activité est donc très augmentée.

Une thérapie ciblée a été développé pour s'opposer spécifiquement à cette activité augmentée, c'est un succès.



- <u>c-myc</u>

On ne connait pas grand-chose, mais il est impliqué dans de nombreux cancers par surexpression. C'est un facteur de transcription de nombreux gènes du cycle cellulaire.

Les deux mécanismes principaux sont :
- Dans le lymphome de Burkitt : il y a une translocation juxtaposant c-myc avec un gène codant pour des immunoglobulines très fortement exprimées dans les LB. Ainsi l'expression de c-myc est très augmentée.

- Dans le neuroblastome, on a une amplification du gène de c-myc qui aboutit à aux même conséquences.

Les conséquences d'une surexpression de c-myc concernent : le cycle cellulaire, l'instabilité génétique, l'immortalisation, la diminution de l'apoptose, et le métabolisme.

2) Gènes suppresseurs de tumeurs

- <u>Généralités</u>

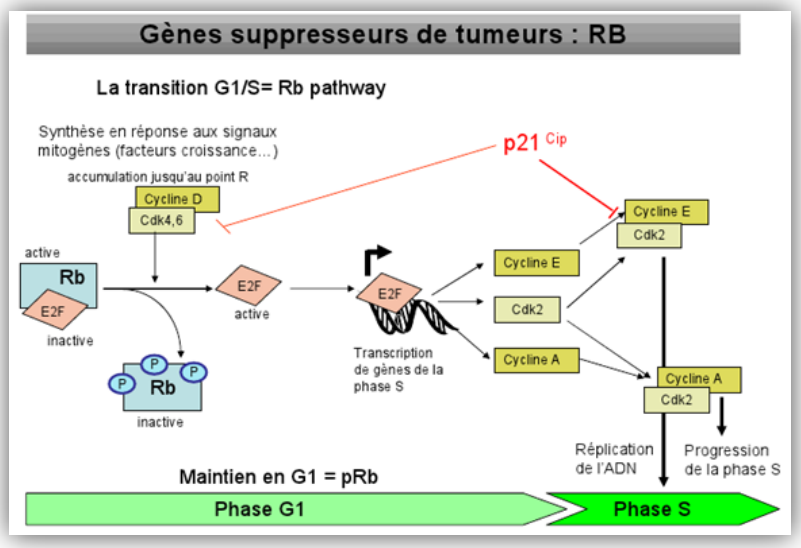
⇨ Ils freinent le cycle cellulaire ou induisent l'apoptose.

Ce sont des protéines
- de **contrôle du cycle cellulaire** (*Rb, p53, p16*),
- de **régulation de l'apoptose** *(p53)*
- de contrôle de la **signalisation cellulaire** *(PTEN).*

- Rb

Il existe des signaux mitogènes qui permettent l'avancée du cycle, notamment le passage en phase S et en phase M. *Rappel : points de régulation du cycle : G1/S et G2/M.*

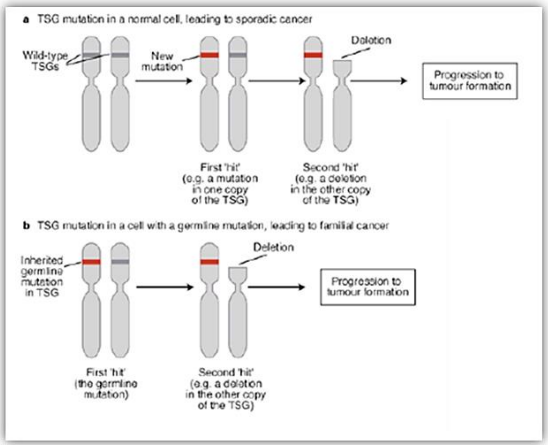
Les cyclines sont produites pour activer les cdk (kinases dépendantes des cyclines) et permettre l'entrée en cycle.



En phase G1, La forme active de Rb (retrouvé dans le rétinoblastome) séquestre E2F qui est inactif. E2F est un facteur de transcription des cyclines A et E qui déclenchent la phase S.

La synthèse de cycline D active les cdk 4 et 6, qui phosphorylent Rb et le rendent inactif. E2F est alors disponible pour transcrire les cyclines d'entrée en phase S.

Lorsque Rb est muté, il n'y a plus de frein pour empêcher l'action d'E2F. Rb est donc un gène suppresseur de tumeur.



Concernant le rétinoblastome, on retrouve **l'hypothèse de Knudson ou « principe des 2 hits » : *valable pour tous les gènes suppresseurs de tumeurs.***

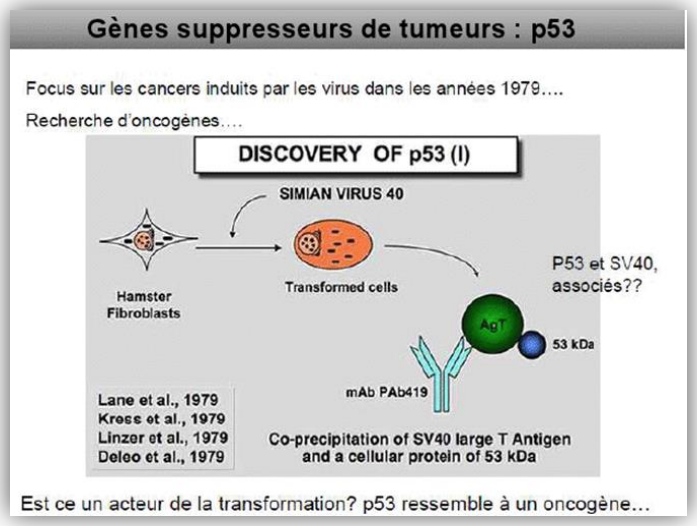
- Forme sporadique du rétinoblastome: il faut des altérations sur les 2 allèles du gène de Rb. En effet, les gènes suppresseurs de tumeur fonctionnent sur un mode récessif.
- Forme familiale, bilatérale (touchant les 2 yeux) : pré existence d'une altération germinale d'un des allèles du gène de Rb, qui est donc transmise à la descendance. Donc il faut un seul autre évènement pour déclencher le cancer. Attention, ce n'est qu'une pré disposition, le cancer ne survient pas obligatoirement !

- p53

a) Rappel sur sa découverte

A la fin des années 70, les chercheurs étudient les virus responsables de cancers. On cherchait des oncogènes viraux.

Ils ont introduits dans des fibroblastes de hamsters un virus transformant : le SIMIAN virus 40 (ou SV40). Les cellules obtenues étaient alors transformées, c'est-à-dire cancéreuses.



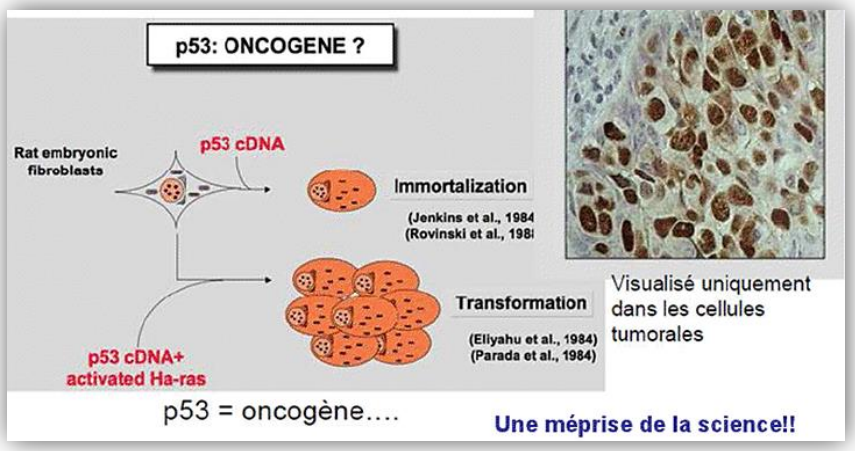
Ils ont alors tenté par immunoprécipitation, d'isoler une protéine du SV40 impliquée dans l'oncogenèse, un antigène nommé AgT. Or, avec AgT, avait co-précipité une protéine pesant 53kDa, qui a donc été nommé p53.

Ainsi on pensait à ce moment-là que p53 était un oncogène.

En effet selon la définition, un oncogène introduit dans une cellule doit conférer des propriétés transformantes à cette cellule.

Ils ont ensuite cloné l'ADN complémentaire de p53 et l'ont introduit dans fibroblastes de rats. Ceux-ci devenaient immortels, ce qui correspond à la définition d'un oncogène.

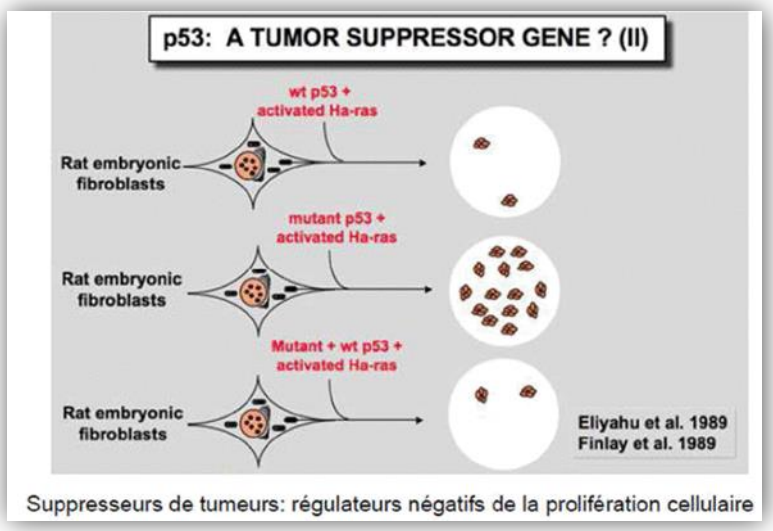
Puis en associant l'ADNc de p53 et la protéine RAS mutée, on obtenait bien de nombreuses cellules cancéreuses.



L'erreur a duré une dizaine d'années.

En réalité, p53 est physiologiquement tout le temps dégradée, elle n'est stabilisée qu'en situation de stress, ou lorsqu'elle est mutée.

Ils avaient réussi à la cloner car elle était alors mutée. En effet, lorsqu'ils ont isolé p53, ils ont utilisé des cellules cancéreuses.



Ils ont refait l'expérience avec p53 sauvage : pas de transformation des cellules. (première ligne sur le schéma).

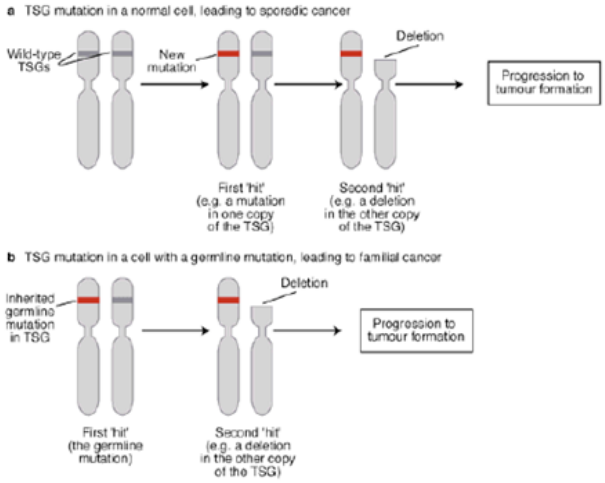
Puis, si on introduit p53 sauvage + p53 mutée + RAS mutée, il n'y a pas de transformation car les gènes suppresseurs de tumeur agissent selon un mode récessif. (dernière ligne)

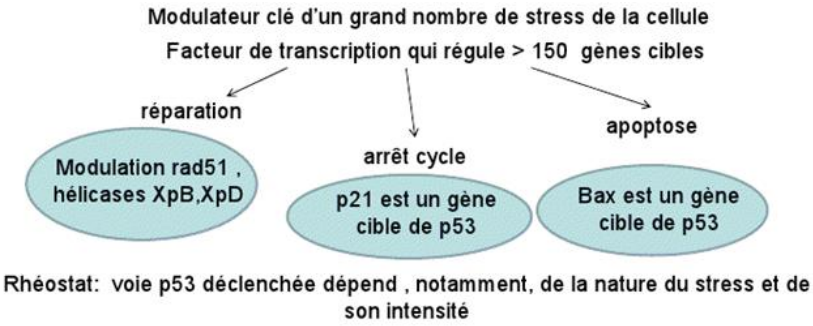
Seule la seconde ligne, lorsqu'on introduit p53 mutée et RAS mutée, aboutit à une transformation des cellules.

b) *P53 et cancers*

On peut alors reprendre le principe de Knudson pour les gènes suppresseurs de tumeur. Deux cas :

- On retrouve dans plus de 50% des cancers des mutations somatiques de p53, puis la perte de l'autre allèle.
- Syndrome de Li Fraumeni : forme familiale avec une mutation germinale de p53 qui provoque une prédisposition aux cancers.

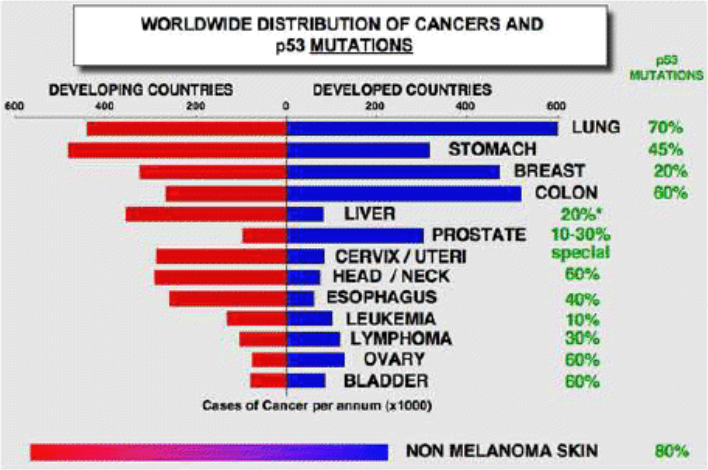




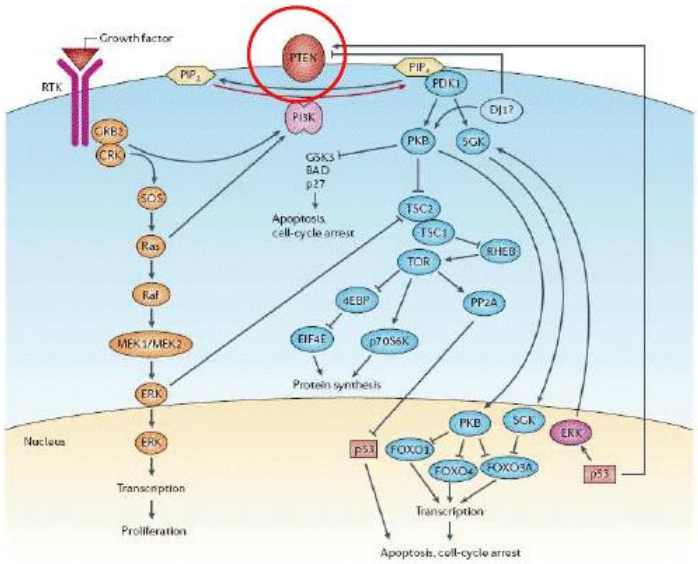
P53 est une molécule clé d'un grand nombre de stress, et le facteur de transcription de plus de 150 gènes. (diapo peu détaillée par la prof)

P53 est invalidée dans :
- 70% des cancers du poumon,
- 60% des cancers du côlon,
- 60% pour la tête et le cou,
- 45% pour l'estomac.

(Retenir que c'est muté dans de nombreux cancers !)



- PTEN



On retrouve à gauche la voie des MAPK. Ras active Ras mais aussi PI3K, qui permet la formation de PIP2 et d'activer PKB (aussi appelé AKT).

AKT permet la transcription de gènes impliqués dans l'apoptose, ainsi que l'activation de mTor impliqué dans la synthèse protéique.

PTEN joue un rôle d'inhibiteur de la voie d'AKT. Ainsi, en cas de mutation du gène de PTEN, la levée d'inhibition, et une activation continue de cette voie.

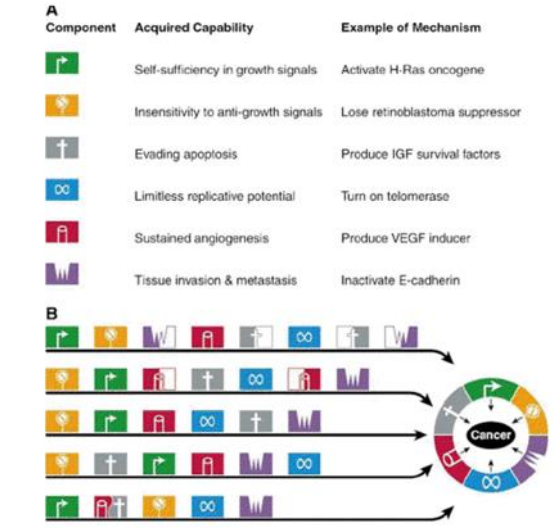
Conclusion : Quel est l'impact de ses altérations ?

Une seule altération ne suffit pas.

Il existe une combinatoire infinie d'altérations qui mènent à une croissance incontrôlée grâce l'acquisition de caractéristiques, notamment :

- L'autosuffisance
- L'insensibilité aux signaux anti prolifératifs
- La résistance à l'apoptose
- Le potentiel de réplication illimité
- L'angiogénèse
- L'invasion locorégionale et métastases.

(on l'a déjà dit au-dessus, la prof en a remis un couche)



Hanahan and Weinberg, Cell 2000

Les tumeurs ne possèdent pas forcément toutes ces caractéristiques, elles sont donc très hétérogènes.

Les altérations fondatrices sont très importantes pour la transformation d'une cellule.
Le défi est d'identifier les gènes de ces altérations fondatrices pour pouvoir agir grâce à une thérapie ciblée.

Dernière diapo-bilan :

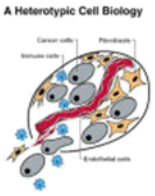
Mais toutes les altérations ne se « valent» pas:
- altérations fondatrices (drivers)
- altérations passagères (passengers)

Les voies de signalisation sont convergentes, redonantes

Les modifications du génome tumoral sont dynamiques

La cellule tumorale s'adapte à la pression de sélection

L'environnement de la tumeur joue un rôle important…..



Le défi:
identifier les altérations cruciales pour la survie de la cellule cancéreuse et agir dessus.

Dédicaaaaace !

A ma ronéoficheuse Alice (ah, on s' est bien débrouillé tiens !) que je préfère relire même si ses fautes sont mimi !

A E-B-I-S-O-L ♥ surtout au Pôle Intééé qui déchiiire : Claire, Aurélie et Gwen !
A tous les braves qui sont venus au gouter solidaire ! Surtout ceux de Grands Moulins !
A Noradrénaline, à tous ces déguisments !
A Lorraine, tu gères la fougère !
A Eléonore : même prénom, même promo, même asso : PRATIQUE !
A Gautier, Jérémie, Antoine, qui savent s' entourer !
A tous les membres en fait :p Trop de love !

A vous tous, des gens trop cool ! : Alice, Anne-Claire, Céline, Clara, Elise, Emma, Gary, Gilles, Laura, Lauriane, Marie, encore Marie, Mathilde, Natacha, Paul, Pauline, Pierre, Valentin (par ordre alphabétique hein)

Aux meilleurs P2 : Anne-Soooooo, Séverine, Camille, Amaury, Anna, Agathe, Claire, Noémie etc.
A Manuuuuu ! 666 is your number !

Aux autres de la secte, P7 poweeeer !

A ceux qui préfèrent profiter un an de plus de ces belles années de P2 et D1 : Mathilde et Nicolas !

A Joanna, sister de partiels, même combat, même galère, jusqu' à ce que l' internat nous sépare..

A Julien, tes fiches m' ont sauvée. Je t' engage à continuer !

Au VP foot, au fait, je déteste le foot ☺ mais t' es gentil quand même !

A Fabrice avec qui on a vendu plein de valises pourriiies et mangé 15 fois le menu Pony !

A Jérémie Gallet, oui, toi, merci ! :p
A Timon, tu me fais beaucoup trop rire. Et t' es un chouette type !

A mon fillot ultraaaaa cool, tu te reconnaitras bientôt :D

Aux nouveaux ordis de la BU (Parce que.. Facebooooook !)

A la team CDA de mon cœur ! A Issy ! Au ghetto matrat-vois' !
A cette année : WEI - SKI - SOIREES - et le reste. Merci les assos !